# วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออีโบลา 50

กมลวิช เลาประสพวัฒนา

## บทนำ

ไวรัสอีโบลาพบเป็นปัญหาสำคัญในทวีปแอฟริกา ก่อให้เกิดโรคไข้เลือดออกอีโบลา (Ebola hemorrhagic fever) ชื่อไวรัสอีโบลาเรียกตามแหล่งที่พบครั้งแรกคือที่ลุ่มแม่น้ำอีโบลาในสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกในตอนกลางของทวีปแอฟริกา การระบาดของไวรัสอีโบลาพบเป็นครั้งคราวในประชาชนที่อาศัยในเขตชนบทที่ติดกับป่าร้อนชื้นในทวีปแอฟริกา การระบาดครั้งแรกพบในปี พ.ศ. 2519 และล่าสุดในปี พ.ศ. 2551 เนื่องจากโรคนี้มีอัตราตายสูงถึงร้อยละ 25-90 องค์การอนามัยโลกจึงจัดให้ไวรัสอีโบลาเป็นเชื้อโรคอันตราย การตรวจเชื้อไวรัสอีโบลาต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยในระดับสูงสุดคือ biosafety level 4 ในทศวรรษที่ผ่านมามีการระบาดของไวรัสอีโบลาในทวีปแอฟริกาหลายครั้ง ทำให้มีความกังวลเรื่องการนำเชื้อไวรัสอีโบลามาทำเป็นอาวุธชีวภาพ[1] ปัจจุบันได้มีความพยายามพัฒนาวัคซีนป้องกันไวรัสอีโบลาและยาป้องกันก่อนและหลังสัมผัสโรคแต่การศึกษาส่วนใหญ่ยังอยู่ในสัตว์ทดลอง

ประเทศไทยยังไม่พบผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสอีโบลา แต่ในประเทศฟิลิปปินส์พบเชื้อไวรัสอีโบลาในลิง[2] และในหมู[3] เนื่องจากการเดินทางที่สะดวกขึ้นอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงทำให้คนหรือสัตว์ที่มีเชื้อมาอยู่ในประเทศไทย บทความนี้จะนำเสนอเรื่องโรคไข้เลือดออกอีโบลา การศึกษาเรื่องวัคซีนและยาที่ใช้ป้องกันที่อาจนำมาใช้กับมนุษย์ได้ในอนาคต

## โรคไข้เลือดออกอีโบลา

**เชื้อก่อโรค**

ไวรัสอีโบลาอยู่ใน family Filoviridae คำว่า Filo ในภาษาละตินแปลว่า ลักษณะยาวเหมือนเส้นด้าย ไวรัสอีโบลาและไวรัส Marburg อยู่ใน family Filoviridae เหมือนกัน มีอาการแสดงของโรคคล้ายกัน และเชื้อไวรัสทั้งสองมีรูปร่างคล้ายกันคือเป็นท่อขดต่างกันหลายแบบ เช่น คล้ายตัว “U” เลข “6” เป็นต้น แต่เนื่องจากรหัสพันธุกรรมของไวรัสทั้งสองต่างกันมาก ไวรัสอีโบลาจึงถูกจัดแยกออกมาจากไวรัส Marburg[4]

ไวรัสอีโบลาเป็น RNA สายลบและเป็นสายเดี่ยว (non-segmented, negative-sense single stand RNA) มีความยาว 19 กิโลเบส ไวรัสอีโบลาประกอบด้วยยีนส่วนโครงสร้างทั้งหมด 7 ชนิด ตามลำดับดังนี้คือ nucleoprotein (NP), virion protein (VP) 24, VP30, glycoprotein (GP), VP35, VP40และ RNA-dependent RNA polymerase[4]

ไวรัสอีโบลามี 5 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มีรหัสพันธุกรรม (amino acid sequence) ที่ต่างกันค่อนข้างมาก ได้แก่ สายพันธุ์ Ebola-Zaire, Ebola-Sudan, Ebola-Reston, Ebola-Côte d’Ivoire และEbola-Bundibugyo เฉพาะสายพันธุ์ Ebola-Zaire, Ebola-Sudan และ Ebola-Bundibugyo เท่านั้นที่ก่อให้เกิดการระบาดในคน ผู้ที่ติดเชื้อสายพันธุ์ Ebola-Zaire จะมีอัตราตายสูงสุดคือ ร้อยละ 60-90 รองลงมาคือสายพันธุ์ Ebola-Sudan และ Ebola-Bundibugyo มีอัตราตายร้อยละ 40-60 และ 25 ตามลำดับ[5-7]สายพันธุ์ Ebola-Côte d’Ivoire ก่อให้เกิดโรคในคนได้แต่มีรายงานผู้ติดเชื้อเพียง 1 คนเท่านั้น[8]

สายพันธุ์ Ebola-Reston พบในประเทศฟิลิปปินส์ ทำให้เกิดโรครุนแรงในลิง แต่คนที่ได้รับเชื้อจะไม่แสดงอาการ[2,7]

**ระบาดวิทยา**[5]

ไวรัสอีโบลามักจะระบาดในชุมชนเล็กๆ ในเขตชนบทใกล้ป่าฝนหรือป่าร้อนชื้นในทวีปแอฟริกาตอนกลาง ทำให้มีผู้ติดเชื้อในแต่และครั้งจำนวนไม่มาก (หลักสิบถึงหลักร้อย) แต่มีอัตราตายสูง นับตั้งแต่พ.ศ. 2519 ที่ไวรัสอีโบลาได้ถูกค้นพบครั้งแรกจนถึง พ.ศ. 2551 มีรายงานผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสอีโบลาแล้วมากกว่า 2,100 ราย และเสียชีวิตมากกว่า 1,500 ราย ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดแต่ละครั้งเกิดจากการสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยรายแรกๆ ที่ไม่ทราบว่าติดเชื้อไวรัสอีโบลา ทำให้มีบุคคลากรทางการแพทย์ที่ดูแลรักษาผู้ป่วยได้รับเชื้อจากการสัมผัสใกล้ชิดเนื่องจากขาดมาตรการป้องกันที่ดี ต่อมาเชื้อได้แพร่กระจายจากโรงพยาบาลเข้าสู่ชุมชน การระบาดครั้งแรกที่สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก พบว่าเกิดจากการใช้เข็มฉีดยาที่ปนเปื้อนเชื้อร่วมกันและการสัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วย[5]

ไวรัสอีโบลาถูกค้นพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2519 ที่ประเทศซูดานและประเทศซาอีร์ (ปัจจุบันคือสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก) ในประเทศซูดานพบผู้ติดเชื้อจำนวน 284 ราย เสียชีวิต 151 ราย (อัตราป่วยตายร้อยละ 53) ต่อมาในช่วงปลายปีเดียวกันในสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก มีผู้ติดเชื้อไวรัสอีโบลาจำนวน 318 รายเสียชีวิต 280 ราย (อัตราป่วยตายร้อยละ 88) การระบาดในสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกมีอัตราป่วยตายมากกว่าการระบาดในประเทศซูดานซึ่งอาจอธิบายได้จากไวรัสที่พบในทั้งสองประเทศมีรหัสพันธุกรรมที่ต่างกันจึงตั้งชื่อสายพันธุ์ตามประเทศที่มีการระบาดคือ Ebola-Sudan และ Ebola-Zaire จากนั้นใน พ.ศ. 2522 พบการระบาดในพื้นที่เดิมของประเทศซูดาน มีรายงานผู้ป่วย 34 ราย เสียชีวิต 22 ราย[5]

พ.ศ. 2532-2533 พบเชื้อไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ใหม่คือ Ebola-Reston ในลิงจากประเทศฟิลิปปินส์ในสถานกักกันของห้องปฏิบัติการที่เมือง Reston ประเทศสหรัฐอเมริกา มีลิงตายจำนวนมากและมีคนติดเชื้อ 4 ราย แต่ไม่มีใครแสดงอาการเจ็บป่วยจากเชื้อนี้[2]

พ.ศ. 2537 พบเชื้อไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ใหม่คือ Ebola-Cote d'Ivoire ที่ประเทศ Cote d'Ivoire มีลิงป่วยหลายตัว และมีผู้ป่วย 1 รายติดเชื้อจากการชำแหละลิง ผู้ป่วยรายนี้มีอาการแสดงของโรคแต่ไม่เสียชีวิต[8]

พ.ศ. 2538 เกิดการระบาดของ Ebola-Zaire ครั้งใหญ่ในสาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโกมีผู้ป่วย 315 ราย และอัตราป่วยตายร้อยละ 81[9] คาดว่าค้างคาวกินผลไม้และค้างคาวกินแมลงเป็นแหล่งรังโรค10พ.ศ. 2537-2540 มีการระบาดของ Ebola-Zaire 3 ครั้งในประเทศ Gabon การระบาดแต่ละครั้งมีผู้ป่วย 30-60 รายอัตราป่วยตายร้อยละ 60-70

พ.ศ. 2543-2544 เกิดการระบาดครั้งแรกในประเทศ Uganda โดย Ebola-Sudan มีผู้ป่วย 425 ราย และอัตราป่วยตายร้อยละ 53

พ.ศ. 2544-2546 เกิดการระบาดหลายระลอกของ Ebola-Zaire ในสาธารณรัฐคองโกและในประเทศ Gabon มีรายงานผู้ป่วยรวม 302 รายอัตราป่วยตายเฉลี่ยร้อยละ 84

พ.ศ. 2547 เกิดการระบาดของ Ebola-Sudan ในประเทศซูดาน การระบาดแต่ละครั้งมีรายงานผู้ป่วย 17 และ 20 ราย และมีอัตราป่วยตายร้อยละ 41และ 25 ตามลำดับ

พ.ศ. 2550 มีการค้นพบเชื้อไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ใหม่คือ Bundibugyo ซึ่งระบาดที่ตำบล Bundibugyo ที่ประเทศ Uganda มีผู้ป่วยจำนวน 149 ราย และมีอัตราป่วยตายร้อยละ 25[6]

พ.ศ. 2550-2551 เกิดการระบาดของ Ebola-Zaire ที่สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก 2 ระลอก มีรายงานผู้ป่วยในการระบาดแต่ละครั้ง 187 และ32 ราย และมีอัตราป่วยตายร้อยละ 88 และ 47 ตามลำดับ

แหล่งรังโรค แหล่งรังโรคยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เชื่อว่าไวรัสอีโบลาแพร่จากสัตว์มาสู่คน (zoonotic virus) ค้างคาวกินผลไม้แอฟริกาบางสายพันธุ์อาจเป็นแหล่งรังโรค เนื่องจากค้างคาวติดเชื้อแล้วไม่ตายทำให้เกิดสมมติฐาน

ว่าค้างคาวประเภทนี้อาจเป็นแหล่งรังโรค อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับการติดต่อจากค้างคาวมาสู่คน/ลิง และแหล่งรังโรคอื่นๆยังไม่ทราบแน่ชัด มนุษย์และลิงไม่น่าจะเป็นแหล่งรังโรคเนื่องจากทั้งมนุษย์และลิงที่ติดเชื้อไวรัสอีโบลามีอัตราตายสูงมาก[5,10]

การติดต่อ พบการติดต่อจากคนสู่คน และจากลิงสู่คน การติดต่อจากคนสู่คนมักเกิดจากการสัมผัสสิ่งคัดหลั่ง เลือด และอวัยวะภายใน การติดต่อทางเพศสัมพันธ์อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากสามารถตรวจพบเชื้อในอสุจิของผู้ป่วยนานถึง 91 วันหลังจากป่วย[11] นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อจากการจับต้องซากลิงชิมแพนซีในการระบาดที่ Cote d'Ivoire และ Gabon[5, 8]

**ระยะแพร่เชื้อ**

ตั้งแต่เริ่มมีไข้ และตลอดระยะที่มีอาการ

**การควบคุมการระบาด**[1,5]

1. ต้องแยกรักษาผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสอีโบลาออกจากผู้ป่วยรายอื่นโดยมีอ่างล้างมือหน้าห้องผู้ป่วยที่เสียชีวิตควรเผาหรือฝังทันทีเนื่องจากเชื้อไวรัสสามารถก่อให้การติดเชื้อได้หลายวัน แต่จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60° ซ. ในเวลา 30 นาที

2. บุคลากรทางการแพทย์ที่ต้องดูแลผู้ป่วยควรได้รับความรู้เกี่ยวกับเชื้อไวรัสอีโบลา การติดต่อ และมีการเตรียมพร้อมเพื่อรับสถานการณ์เมื่อมีการระบาด โดยใช้มาตรการป้องกันการติดเชื้อแบบ universal precaution และ contact precaution เช่น สวมชุดกาวน์ยาวกันน้ำได้ ใช้ผ้าปิดจมูก สวมแว่นตาหมวก ถุงมือยาว ผ้ากันเปื้อน รองเท้าบู๊ทยาว ควรใช้อุปกรณ์แบบครั้งเดียวทิ้ง แต่ถ้าจะนำอุปกรณ์ที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่อุปกรณ์ดังกล่าวต้องผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3. บุคลากรที่สงสัยว่าติดเชื้อและผู้สัมผัสโรคต้องอยู่ภายใต้การเฝ้าระวังอย่างใกล้ชิดนาน 3 สัปดาห์โดยการวัดอุณหภูมิร่างกายวันละ 2 ครั้ง ถ้ามีไข้สูงกว่า 38.3° ซ. ต้องแยกเพื่อให้การวินิจฉัยและรักษาทันที

จะถือว่าสิ้นสุดการระบาดเมื่อไม่พบผู้ป่วยรายใหม่อย่างน้อย 42 วัน (สองเท่าของระยะฟักตัว)หลังจากพบผู้ป่วยรายสุดท้าย

**พยาธิกำเนิด**

ความรู้เกี่ยวกับพยาธิกำเนิดของเชื้อไวรัสอีโบลาส่วนใหญ่มาจากการศึกษาในลิง พบว่าเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสอีโบลาจะถูกทำลาย ระบบภูมิคุ้มกันจะถูกกระตุ้นให้สร้าง proinflammatory cytokine จำนวนมาก ไวรัสอีโบลากระตุ้นการใช้ coagulation factors และทำให้เกิด disseminated intravascular coagulopathy (DIC) ทำให้มีเลือดออกง่าย และกดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน[7,12] ดังนี้คือ

**1. ทำลายเซลล์**

เมื่อร่างกายได้รับเชื้อไวรัสอีโบลา เชื้อจะเข้าสู่เซลล์ macrophage และ dendritic cells จากนั้นเชื้อจะแบ่งตัวทำให้เซลล์ดังกล่าวตายและปล่อยเชื้อไวรัสจำนวนมากเข้าสู่อวัยวะต่างๆ เช่น ตับ ม้าม ไธมัสต่อมหมวกไต และต่อมน้ำเหลือง ทำให้อวัยวะที่ติดเชื้อถูกทำลาย[12]

**2. Systemic inflammatory response**

ไวรัสอีโบลากระตุ้นการสร้าง cytokine, chemokine และ proinflammatory cytokine หลายชนิด เช่น tumor necrosis factor (TNF)-alpha, interleukin (IL)-1beta, IL-6, macrophage chemotactic protein และ nitric oxide[13] เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้นให้หลั่งสารต่างๆ ดังกล่าวจำนวนมาก ทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง เส้นเลือดขยายตัว vascular permeability เพิ่มขึ้น และเกิดภาวะช็อก[14]

**3. การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ (Coagulation defect)**

การแข็งตัวของเลือดผิดปกติอาจอธิบายจาก macrophage ที่ติดเชื้อไวรัสอีโบลาสร้าง tissue factor (TF)[15] ซึ่งกระตุ้น extrinsic coagulation pathway ทำให้มีการใช้ coagulation factor จำนวนมาก นอกจากนี้ proinflammatory cytokines ข้างต้นยังเหนี่ยวนำให้ macrophage

สร้าง TF ดังนั้นผู้ป่วยที่ติดไวรัสอีโบลาจึงมีเลือดออกผิดปกติได้เร็วและเกิดรุนแรง พบว่าลิงที่ติดไวรัสอีโบลาจะตรวจพบ D-dimer ภายใน 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ในภาวะตับอักเสบจะทำให้ coagulation factor บางตัวลดลง ส่งผลให้ผู้ป่วยมีภาวะเลือดออกผิดปกติมากขึ้น[15,16]

**4. กดการทำงานของ adaptive immunity**

ไวรัสอีโบลาจะกดการทำงานของเซลล์ dendritic และเซลล์ lymphocyte ทำให้เซลล์ดังกล่าวตายจำนวนมาก (apoptosis) นอกจากนี้ไวรัสอีโบลายังทำให้เซลล์ dendritic ไม่สามารถเจริญต่อ (maturation) และไม่สามารถเสนอแอนติเจนเพื่อกระตุ้น lymphocyte ได้ มีการศึกษาพบว่าผู้ที่เสียชีวิตจาก ไวรัสอีโบลาจะตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเชื้อเลย[17] นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสอีโบลาส่วน VP24 และ VP35 สามารถยับยั้งการตอบสนองของ interferon ได้ ทำให้เชื้อแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว[18,19]

## อาการทางคลินิก[7]

ระยะฟักตัว ประมาณ 2-21 วันโดยเฉลี่ย 4-10 วัน

อาการและอาการแสดงผู้ป่วยจะมีอาการเหมือนติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง (septic shock) โดยจะมีไข้สูงเฉียบพลัน หนาวสั่น ปวดเมื่อยตัว ปวดศีรษะ คลื่นไส้อาเจียน ถ่ายเหลว ปวดท้อง ไอแห้งๆ เจ็บคอ ซึ่งไม่จำเพาะกับโรคใด ทำให้ในช่วงแรกผู้ป่วยอาจถูกวินิจฉัยว่าเป็นไข้ทัยฟอยด์ ไข้หวัดใหญ่ ไข้มาลาเรีย หรือโรคอื่นๆ การแพร่ระบาดในโรงพยาบาลและชุมชนจะเกิดในช่วงนี้เพราะผู้ป่วยมีอาการไม่จำเพาะทำให้ไม่มีการป้องกัน หลังจากนั้น 2-3 วัน ผู้ป่วยบางรายจะมีอาการรุนแรง เช่น ซึม ความดันเลือดต่ำ และเลือดออกผิดปกติ ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงจะมีเลือดออกมาก โดยเฉพาะในระบบทางเดินอาหาร สาเหตุการตายมักเกิดจากภาวะช็อก และมีการล้มเหลวของหลายอวัยวะ (multiple organ failure) อย่างไรก็ตามภาวะเลือดออกในผู้ป่วยที่เสียชีวิตพบร่วมน้อยกว่าร้อยละ 50 ตั้งแต่เริ่มป่วยจนเสียชีวิตอาจใช้เวลาเพียง 6-16 วันเท่านั้น[7,20] ผู้ป่วยที่เสียชีวิตส่วนใหญ่จะยังคงตรวจพบเชื้อในกระแสเลือด หรือพบเชื้อเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากเริ่มป่วย ในผู้ที่รอดชีวิตอาการจะดีขึ้นใน 6-11 วัน จะตรวจไม่พบเชื้อในกระแสเลือดและตรวจพบแอนติบอดี[21,22] ในระยะฟื้นตัวผู้ป่วยกว่าครึ่งจะยังคงมีอาการปวดข้อแต่ไม่มีอาการข้ออักเสบ และกว่า 1 ใน 5 จะมีอาการปวดกล้ามเนื้อ อาการดังกล่าวมักไม่รุนแรงและหายได้เอง[11]

## ภาวะแทรกซ้อน[7]

ไวรัสอีโบลาเมื่อเข้าสู่อวัยวะต่างๆ เช่น ตับ ม้าม ไธมัส ต่อมหมวกไตและต่อมน้ำเหลือง ทำให้อวัยวะที่ติดเชื้อถูกทำลาย ดังนั้นภาวะแทรกซ้อนอาจเกิดจากไวรัสอีโบลาโดยตรง หรือเกิดจากอาการข้างเคียงเนื่องจากภาวะช็อก เป็นต้น

1. ภาวะช็อก ส่วนใหญ่เกิดจาก hypovolemic shock นอกจากนี้อาจเกิดจาก adrenal insufficiency[4]

2. ระบบประสาท ผู้ป่วยอาจมีความรู้สึกตัวลดลง ในรายที่อาการรุนแรงอาจมีอาการชัก และโคมา

3. เลือดออกผิดปกติ เกิดจากหลายปัจจัยร่วมกันดังกล่าวข้างต้น

4. ต่อมหมวกไตทำงานลดลง ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำและเกลือแร่ และอาจเกิดภาวะช็อกตามมาผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะมีภาวะนี้ควรได้สเตียรอยด์ทดแทน

5. ตับอักเสบ ไวรัสอีโบลาทำลายเซลล์ตับทำให้เกิด hepatocellular necrosis แต่ภาวะตับอักเสบมักไม่รุนแรงจนทำให้เสียชีวิต

## การวินิจฉัย

**การตรวจทางห้องปฏิบัติการทั่วไป[4]**

1. Complete blood count (CBC) มักพบเม็ดเลือดขาวต่ำ อาจต่ำน้อยกว่า 1,000 ตัว/ลบ.มม. พบเม็ดเลือดขาวตัวอ่อนเพิ่มขึ้นและเกร็ดเลือดต่ำ โดยเกร็ดเลือดมักพบต่ำที่สุดประมาณวันที่ 6-8 ของการป่วย[21]

2. การทำงานของตับ เนื่องจากไวรัสอีโบลาทำให้เซลล์ตับตายได้ (multifocal hepatic necrosis) ดังนั้นจะตรวจพบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ตับ คือ aspartate (AST) และ alanine (ALT) aminotransferase โดยพบว่า

AST จะสูงกว่า ALT และตรวจพบอัลบูมินต่ำลงจากที่มีการรั่วของพลาสมาออกนอกหลอดเลือด[23]

3. การแข็งตัวของเลือด (coagulogram) ผู้ป่วยมักมีการแข็งตัวของเลือดผิดปกติจากภาวะ DIC ทำให้ตรวจพบการเพิ่มขึ้นของ prothrombin time, partial thromboplastin times และ D-dimer

**การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัย**

การตรวจเชื้อไวรัสอีโบลาต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยในระดับสูงสุดคือ biosafety level 4

1. การตรวจหาไวรัสแอนติเจนหรือ nucleic acid จากตัวอย่างส่งตรวจโดยตรงเป็นการวินิจฉัยที่นิยมทำมากที่สุด[7,11] เช่น

- การตรวจหาแอนติเจนของไวรัสโดยใช้แอนติบอดีจำเพาะ เช่น enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

- การตรวจหายีนของไวรัสโดยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

- การตรวจหาไวรัสโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แต่จะไม่สามารถแยกไวรัสอีโบลาจากไวรัส Marburg ได้เนื่องจากมีรูปร่างเหมือนกัน

2. การแยกเชื้อไวรัสจากเลือดของผู้ป่วยในระยะไข้ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสในเซลล์ และย้อมหาเชื้อโดยวิธีอิมมูนเรืองแสง

3. การตรวจหาแอนติบอดี

IgM อาจตรวจพบได้ตั้งแต่ 2 วันหลังป่วย และจะตรวจไม่พบหลังจากนั้น 30-168 วัน

IgG จะตรวจพบประมาณ 6-18 วันหลังป่วย และจะตรวจพบหลังจากนั้นอีกหลายปี 11

การตรวจพบ IgM และการเพิ่มขึ้นของ IgG (four-fold) บ่งบอกว่าผู้ป่วยพึ่งได้รับเชื้อ

## การรักษา

ปัจจุบันยังไม่มียาที่สามารถรักษาไวรัสอีโบลา และไม่มียาที่ใช้ป้องกันโรคก่อนและหลังสัมผัสไวรัสอีโบลาได้ ดังนั้นการรักษาในปัจจุบันจึงรักษาตามอาการ เช่น ให้สารน้ำ ให้เลือดในผู้ป่วยที่มีเลือดออกมาก เป็นต้น

ยาและวัคซีนที่ใช้ป้องกันก่อนและหลังสัมผัสโรคที่อยู่ในระหว่างการพัฒนา เช่น

1. Antisense oligonucleotides หรือ RNA interference เช่น positively charged phosphorodiamidatemorpholino oligomer (PMO plus) จะยับยั้งการ translation ของ VP24 ในไวรัสอีโบลา การศึกษาในลิงที่ได้รับ PMO plus ภายใน 30-60 นาที หลังจากฉีดเชื้อไวรัสอีโบลา พบว่าอัตราตายลดลงร้อยละ 60 ดังนั้น PMO plus น่าจะมีประโยชน์ในแง่การป้องกันหลังได้รับเชื้อ[24]

2. Anticoagulation เช่น

2.1 Recombinant nematode anticoagulant protein c2 (rNAPc2) ใช้รักษาการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ โดย rNAPc2 จะยับยั้ง tissue factor ไม่ให้กระตุ้น coagulation pathway การศึกษาในลิงที่ติดเชื้อ Ebola-Zaire แล้วให้ rNAPc2 ภายใน 10 นาที และ 24 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มที่ได้ rNAPc2 ตายร้อยละ 33 แต่กลุ่มควบคุมตายเกือบทั้งหมด[25]

2.2 Recombinant human activated protein c(rhAPC) เป็น anticoagulant ที่สำคัญ การศึกษาในลิงที่ติดเชื้อ Ebola-Zaire แล้วให้ rhAPC พบว่าลดอัตราตายได้คล้ายกับการให้ rNAPc2[26]

3. การให้วัคซีนหลังสัมผัสโรค เช่น recombinant vesicular stomatitis virus (rVSV) expressing

Multivalent Ebola vaccine คือการนำส่วนของไวรัสอีโบลา 3 สายพันธุ์ (Ebola-Zaire, Ebola-Sudan และ Ebola-Côte d'Ivoire) มาใส่ใน rVSV การศึกษาในลิงพบว่าวัคซีนชนิดนี้สามารถป้องกันไวรัสอีโบลาได้ทั้ง 3 สายพันธุ์[27] การศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันหลังสัมผัสโรคในลิงพบว่า ถ้าให้วัคซีนภายใน 30 นาที สามารถป้องกันการตายจาก Ebola-Sudan ได้ร้อยละ 100 แต่ป้องกันการตายจาก Ebola-Zaire ได้เพียงร้อยละ 50[28,29]

## Passive immunization

มีการศึกษาที่สนับสนุนและคัดค้านผลของ passive immunization ในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสอีโบลา การศึกษาที่สนับสนุนการให้ passive immunization ว่าสามารถป้องกันไวรัสอีโบลาได้ เช่น การศึกษาเมื่อ พ.ศ. 2519 มีนักวิทยาศาสตร์เกิดอุบัติเหตุได้รับไวรัสอีโบลาจากการทดลองในสัตว์ นักวิทยาศาสตร์คนนี้ได้รับ interferon หลังมีไข้ได้ 1 วัน วันที่ 2 ผู้ป่วยอาการแย่ลงจึงได้เซรุ่มของผู้ป่วยที่หายจาก Ebola-Zaire (convalescent serum) จำนวน 450 มล. วันที่ 6 ผู้ป่วยอาการแย่ลงอีกจึงได้เซรุ่มของผู้ป่วยที่หายจาก Ebola-Sudan จำนวน 330 มล. จากนั้นอาการค่อยๆ ดีขึ้นตามลำดับใน 10 สัปดาห์[30] ในปี พ.ศ. 2538 มีการระบาดของ Ebola-Zaire ที่สาธารณรัฐประชาธิปไตยคองโก ได้มีการศึกษาให้เซรุ่มของผู้ป่วยที่หายจากไวรัสอีโบลาแก่ผู้ป่วย 8 ราย ที่เริ่มมีอาการของไข้เลือดออกอีโบลา พบว่า 7 รายรอดชีวิต (อัตราตายร้อยละ 12.5) ในขณะที่อัตราตายเฉลี่ยในผู้ติดเชื้อขณะนั้นพบร้อยละ 80 อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่ได้รับเซรุ่มจะได้รับการดูแลรักษาอย่างดี ซึ่งอาจดีกว่าผู้ป่วยทั่วไป ทำให้บอกไม่ได้ว่าอัตราตายที่น้อยกว่าเกิดจากการดูแลรักษาที่ดีกว่าหรือผลจากการให้เซรุ่ม[31]เนื่องจากผู้ป่วยได้รับเซรุ่มเฉลี่ย 10 วันหลังจากป่วย ทำให้แปลผลยากว่าผู้ป่วยรอดชีวิตจากการได้รับเซรุ่มหรือเพราะอาการไม่รุนแรงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสียชีวิตซึ่งมักจะเสียชีวิตเร็วภายใน 10 วันหลังเริ่มแสดงอาการ[32]การศึกษาในสัตว์ฟันแทะพบว่าการให้ passive immunization สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสอีโบลาได้[33] แต่การศึกษาในลิงไม่พบเช่นนั้น เนื่องจากลิงมีการติดเชื้อไวรัสอีโบลาที่ใกล้เคียงกับมนุษย์มากกว่า และไวรัสอีโบลาที่ก่อโรคในมนุษย์สามารถก่อโรคในลิงได้เช่นกันโดยมีลักษณะทางคลินิกที่เหมือนกับในมนุษย์ การศึกษาให้ passive monoclonal immunization ขนาดสูงในลิงเพื่อป้องกันการติดเชื้อไวรัสอีโบลา พบว่าไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสและไม่ลดการแบ่งตัวของเชื้อ[34] จากข้อมูลที่ขัดแย้งดังกล่าวทำให้ไม่มั่นใจว่า passive immunization จะได้ประโยชน์จริงหรือไม่ เนื่องจากไวรัสอีโบลามีความรุนแรงมาก ลิงที่ได้รับเชื้อปริมาณเล็กน้อยเพียง 1 plaque forming unit (PFU) ก็ตายได้ ดังนั้นการให้ passive immunization ต้องสามารถ neutralized เชื้อไวรัสได้ทั้งหมดจึงจะสามารถป้องกันการติดเชื้อได้[34] ดังนั้นการที่ passive immunization ใช้ไม่ได้ผลอาจอธิบายได้จากแอนติบอดีไม่สามารถยับยั้งเชื้อไวรัสอีโบลาเข้าสู่เซลล์ได้ทั้งหมด ไวรัสอีโบลาที่ไม่ถูก neutralized จะเข้าสู่เซลล์และแบ่งตัวอย่างรวดเร็วทำให้ระบบภูมิคุ้มกันตอบสนองเพื่อกำจัดเชื้อไม่ทัน

## วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออีโบลา

**ประวัติความเป็นมาของการพัฒนาวัคซีน**

การผลิตวัคซีนแบบดั้งเดิม (conventional vaccine) เช่น การนำไวรัสอีโบลามาทำให้ตายโดยวิธีต่างๆ เช่น ความร้อน ฟอร์มาลิน ฉายรังสีแกมมา พบว่าไม่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสอีโบลาได้ และการใช้วัคซีนชนิด live attenuated vaccine อาจก่อให้เกิดโรคในคนภูมิคุ้มกันต่ำได้ และมีความกังวลเรื่องเชื้อจะกลายพันธุ์ จึงทำให้ไม่มีการผลิตวัคซีนชนิดนี้ ในปัจจุบันได้มีความพยายามในการพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออีโบลา แต่ส่วนใหญ่ยังอยู่ในขั้นการศึกษาในสัตว์ทดลอง วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้ออีโบลาที่กำลังศึกษาในสัตว์ทดลองมีหลายกลุ่ม เช่น

## วัคซีนในอนาคต

**1. Conventional vaccines**

เช่น replication-deficiency Ebola virus lacking VP30 คือ การเอายีน VP30 ของไวรัสอีโบลาออกทำให้ไวรัสแบ่งตัวไม่ได้ (replication-deficient) การศึกษาในสัตว์ฟันแทะพบว่าสามารถป้องกันไวรัสอีโบลาได้ดี[35]

**2. Vector-Based vaccines**

คือการนำไวรัสพาหะ (vector) มาตัดต่อยีนให้

แบ่งตัวได้ไม่ดี (replication competent/defective) แล้วนำแอนติเจนของไวรัสอีโบลามาใส่ในไวรัสพาหะ ไวรัสพาหะที่มีการศึกษาและพบว่าสามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสอีโบลาได้ดี เช่น

**2.1 Adenovirus**

ข้อดีของการใช้ adenovirus เป็นพาหะ คือ สามารถกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้ง innate และ adaptive ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ดีและมีผลข้างเคียงต่ำ adenovirus ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ adenovirus ซีโรทัยพ์ 5 (Ad5) โดยเอา E1 ของ adenovirus ออกทำให้ Ad5 ไม่สามารถแบ่งตัวได้ (replication-defective adenovirus) นอกจากนี้ส่วน E3 และ E4 มักถูกตัดออกเพื่อให้สามารถใส่ยีนหรือแอนติเจนของไวรัสตัวอื่นได้และลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อ Ad5 ลง[36] การศึกษาในลิงโดยใช้ recombinant (r) Ad 5expressing Ebola-Zaire glycoprotein (GP) พบว่าสามารถป้องกันลิงจากการติดเชื้อไวรัส Ebola-Zaire ได้หลังจากฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเพียง 1 เข็ม[37]

เนื่องจากมีความกังวลว่าอาจมีการนำไวรัสอีโบลามาใช้เป็นอาวุธชีวภาพ ซึ่งคาดว่าเชื้อจะเข้าสู่คนทางการหายใจ มีการศึกษาพบว่าวัคซีน rAd5 expressing Ebola-Zaire, Ebola-Sudan [multivalent vaccine (EBO7)] สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสอีโบลาทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เข้าสู่ร่างกายทางการฉีดและทางระบบหายใจได้ดี[38]

อย่างไรก็ตามมีความกังวลว่า rAd5-based vaccine จะใช้ไม่ได้ผล เนื่องจากผู้ที่ได้รับวัคซีนมีแอนติบอดีต่อ Ad5 พบว่าประชากรบางกลุ่มในทวีปแอฟริกาซึ่งเป็นแหล่งระบาดของโรคมีแอนติบอดีต่อ Ad5 ถึงร้อยละ 60-85[39,40]

**2.2 Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)**

การศึกษาให้ rHPIV-3 expressing Ebola-Zaire GP + NP ทางจมูกในสัตว์ฟันแทะและลิงพบว่าสามารถป้องกัน Ebola-Zaire ได้ดีมาก[41,42]อย่างไรก็ตามมีความกังวลว่า rHPIV-3-based vaccine จะใช้ไม่ได้ผลเช่นเดียวกับ rAd5-based vaccine เนื่องจากผู้ที่ได้รับวัคซีนอาจมีแอนติบอดีต่อ HPIV-3[43]

**2.3 Vesicular stomatitis virus (VSV)**

เนื่องจากการติดเชื้อ VSV ตามธรรมชาติพบน้อย ดังนั้นการมีแอนติบอดีต่อ VSV ที่อาจรบกวนการสร้างภูมิคุ้มกันจึงน่าจะน้อยกว่า adenovirus และ Human parainfluenza virus การศึกษาในลิงพบว่า rVSV มีความปลอดภัยสูง เนื่องจาก rVSV ไม่แบ่งตัวในสัตว์ทดลองและไม่กระจายเชื้อไปยังลิงที่อยู่ใกล้ชิด[44] การศึกษาในลิงพบว่าการฉีด rVSV expressing Ebola-Zaire GP จำนวน 1 เข็ม เข้ากล้าม สามารถป้องกันการติดเชื้อ Ebola-Zaire ได้ดี[45]และวัคซีนชนิดนี้ใช้ป้องกันหลังสัมผัสโรคได้[27]

---

**3. DNA-based vaccines**

DNA-based vaccines คือ การนำยีนของไวรัสอีโบลามาใส่เข้า DNA พลาสมิด ข้อดีของ DNA วัคซีนมีหลายประการ เช่น สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีและ cytotoxic T-cells ได้ดี[46] ผลิตได้ง่าย ราคาถูก การจัดเก็บและขนส่งทำได้ง่ายโดยใช้อุณหภูมิปกติ อย่างไรก็ตาม DNA-based vaccines ยังเป็นวัคซีนที่ค่อนข้างใหม่ ผลข้างเคียงต่างๆ เช่นการเกิด autoimmune disease หรือการ integration เข้ากับ host genome ต้องอาศัยการศึกษาต่อไป การศึกษา DNA-based vaccines ป้องกันไวรัสอีโบลาในลิงได้ผลไม่ดีนัก ปัจจุบันมีการศึกษาในลิงโดยนำ DNA-based vaccines มาฉีดก่อนและกระตุ้นด้วย vector-based vaccines เช่น

**3.1 DNA prime/ rAd5 Ebola-Zaire GP**

การให้ DNA-prime หมายถึง การฉีด DNA vaccine ที่มีส่วนของ GP จาก Ebola-Zaire, Ebola-Sudan, Ebola-Côte d'Ivoire และ NP ของ Ebola-Zaire ก่อน จากนั้นอีก 3 เดือนต่อมากระตุ้นด้วย rAd5 expressing Ebola-Zaire GP การศึกษาในลิงพบว่าวัคซีน DNA prime/ rAd5 Ebola-ZaireGP สามารถป้องกันการติดเชื้อ Ebola-Zaire ได้ดี[47]

**3.2 DNA prime/rAd5 expressing Ebola-Zaire, Ebola-Sudan GP**

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าวัคซีนจะป้องกันได้เฉพาะไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ที่มีอยู่ในวัคซีนเท่านั้น ดังนั้นถ้ามีการระบาดของไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ใหม่วัคซีนที่มีอยู่จะใช้ไม่ได้ผล วัคซีนในปัจจุบันใช้ GP จากไวรัสอีโบลาสายพันธุ์ Ebola-Sudan และ Ebola-Zaire ซึ่ง GP จากทั้งสองสายพันธุ์มีสารพันธุกรรมที่ต่างจาก Ebola-Bundibugyo ที่ระบาดใน พ.ศ. 2551 ถึงร้อยละ 40[6] ได้มีการศึกษาโดยให้ DNA prime/rAd5 expressing Ebola-Zaire, Ebola-Sudan GP ในลิงพบว่าสามารถป้องกันสายพันธุ์ต่างชนิดกันได้ (cross protective heterogenus species)[48] ดังนั้นวัคซีนชนิดนี้น่าจะมีประโยชน์ถ้ามีการระบาดของสายพันธุ์ใหม่

**4. Virus-like particles (VLPs) vaccine**

คือการนำไวรัสอีโบลามาตัดยีนก่อโรคออกเหลือแต่ VP40, NP และ GP ทำให้เชื้อไม่ก่อโรคแต่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อไวรัสอีโบลาได้ดี ข้อดีของวัคซีน VLPs คือ ไม่ต้องกังวลเรื่องการมีแอนติบอดีต่อไวรัสพาหะ ไม่ต้องกังวลเรื่องการกลายพันธุ์ของไวรัสอีโบลา และการก่อโรคในคนภูมิคุ้มกันต่ำอย่างใน live attenuated vaccine

การศึกษาวัคซีน Ebola-ZaireVLPs ในลิงโดยฉีดวัคซีนเข้ากล้าม 3 เข็ม ห่างกัน 6 สัปดาห์ แล้วฉีดไวรัส Ebola-Zaire 1000 PFU เข้ากล้าม หลังจากให้วัคซีนเข็มสุดท้าย 4 สัปดาห์ พบว่าไม่มีลิงป่วยตายจาก Ebola-Zaire อย่างไรก็ตาม VLPs วัคซีน มีข้อเสียคือต้องฉีดวัคซีน 3 เข็ม ถึงจะป้องกันไวรัสอีโบลาได้ ดังนั้นในขณะที่มีการระบาดของไวรัสอีโบลาอยู่ วัคซีนนี้อาจไม่สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันได้ทัน[49]

**วิธีใช้**[50]

**1. ฉีดเข้ากล้าม**

การศึกษาในสัตว์ทดลองส่วนใหญ่เป็นการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม พบว่าการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีมากกว่าการให้ทางจมูก แต่มีข้อเสียในแง่การบริหารจัดการ และการฝึกเจ้าหน้าที่ในการฉีดยาถ้ามีการระบาดจริง

**2. การให้ทางจมูก**

สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ทั้งระบบทางเดินหายใจ และในร่างกาย ไม่ต้องใช้เข็ม และสะดวกในการใช้ มีหลายการศึกษาที่พบว่าการให้วัคซีนทางจมูกหรือปากสามารถป้องกันไวรัสอีโบลาได้

**ข้อบ่งชี้**

ควรให้วัคซีนเฉพาะผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เช่น

1. ผู้ที่อยู่ในพื้นที่มีการระบาดของไวรัสอีโบลา
2. บุคลากรทางการแพทย์และสมาชิกในครอบครัวที่ต้องดูแลผู้ป่วย
3. เจ้าหน้าที่ที่มีโอกาสสัมผัสเชื้อ เช่น เจ้าหน้าที่ที่ต้องเข้าพื้นที่เพื่อควบคุมโรค เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ
4. หน่วยงานทหาร หรือเจ้าหน้าที่ที่ต้องปฏิบัติหน้าที่ในกรณีที่สงสัยว่ามีการใช้ไวรัสอีโบลาเป็นอาวุธชีวภาพ

## เอกสารอ้างอิง

1. Center for Disease Control and Prevention [Internet]. Bioterrorism agents/diseases. [cited 2011 March 1]. Available from: http://www.bt.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp#a

2. Jahrling PB, Geisbert TW, Dalgard DW, Johnson ED, Ksiazek TG, Hall WC, et al. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. Lancet.1990; 335:502-5.

3. Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, Xu L, Zaki SR, Nichol ST, et al. Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. Science.2009; 325:204-6.

4. Sanchez A, Geisbert TW, Feldmann H.Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses. In Knipe DM, Howley PM,eds: Fields virology. Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins, 2006: 1409-48.

5. Center for Disease Control and Prevention [Internet]. Ebola hemorrhagic fever/epidemiology [cited 2011March 1]. Available from: http://www.cdc.gov/nci-dod/dvrd/spb/mnpages/dispages/ebola/ebolamap.htm

6. Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, Albarino CG, Conlan S, Reeder SA, et al. Newly discovered ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. PLoSPathog. 2008; 4:e1000212.

7. Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever.Lancet. 2011; 377:849-62.

8. Le Guenno B, Formenty P, Wyers M, Gounon P, Walker F, Boesch C. Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. Lancet.1995; 345:1271-4.

9. Khan AS, Tshioko FK, Heymann DL, Le Guenno B, Nabeth P, Kerstiens B, et al. The reemergence of Ebola hemorrhagic fever, Democratic Republic of the Congo, 1995.Commission de Luttecontre les EpidemiesaKikwit. J Infect Dis. 1999;179:S76-86.

10. Georges-Courbot MC, Lu CY, Lansoud-Soukate J, Leroy E, Baize S. Isolation and partial molecular characterisation of a strain of Ebola virus during a recent epidemic of viral haemorrhagic fever in Gabon. Lancet.1997 ;349:181.

11. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Mukunu R, Muyembe-Tamfum JJ, Bressler D, et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. Commission de Luttecontre les Epidemies a Kikwit. J Infect Dis. 1999;179:S28-35.

12. Mahanty S, Bray M. Pathogenesis of filoviralhaemorrhagic fevers. Lancet Infect Dis. 2004;4:-98.

13. Hensley LE, Young HA, Jahrling PB, Geisbert TW. Proinflammatory response during Ebola virus infection of primate models: possible involvement of the tumor necrosis factor receptor superfamily. ImmunolLett. 2002;80:169-79.

14. Bray M, Mahanty S. Ebola hemorrhagic fever and septic shock. J Infect Dis. 2003;188:1613-7.

15. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, Davis KJ, Kagan E, Hensley LE. Mechanisms underlying coagulation abnormalities in ebola hemorrhagic fever: overexpression of tissue factor in primate monocytes/macrophages is a key event. J Infect Dis. 2003;188:1618-29.

16. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, Davis KJ, Larsen T, Kagan E, et al. Pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever in primate models: evidence that hemorrhage is not a direct effect of virus-induced cytolysis of endothelial cells. Am J Pathol. 2003;163:2371-82.

17. Bray M. Pathogenesis of viral hemorrhagic fever. CurrOpinImmunol. 2005;17:399-403.

18. Basler CF, Mikulasova A, Martinez-Sobrido L, Paragas J, Muhlberger E, Bray M, et al. The Ebola virus VP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. J Virol. 2003 ;77:7945-56.

19. Reid SP, Leung LW, Hartman AL, Martinez O, Shaw ML, Carbonnelle C, et al. Ebola virus VP24 binds karyopherin alpha1 and blocks STAT1 nuclear accumulation. J Virol. 2006; 80:5156-67.

20. Bwaka MA, Bonnet MJ, Calain P, Colebunders R, De Roo A, Guimard Y, et al. Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the

Congo: clinical observations in 103 patients. J Infect Dis. 1999;179:S1-7.

21. Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD, et al. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, virus load, and nitric oxide levels. J Virol. 2004;78:10370-7.

22. Ksiazek TG, Rollin PE, Williams AJ, Bressler DS, Martin ML, Swanepoel R, et al. Clinical virology of Ebola hemorrhagic fever (EHF): virus, virus antigen, and IgG and IgM antibody findings among EHF patients in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. J Infect Dis. 1999; 179:S177-87.

23. Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A. Blood chemistry measurements and D-Dimer levels associated with fatal and nonfatal outcomes in humans infected with Sudan Ebola virus. J Infect Dis. 2007;196:S364-71.

24. Warren TK, Warfield KL, Wells J, Swenson DL, Donner KS, Van Tongeren SA, et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. Nat Med. 2010; 16:991-4.

25. Geisbert TW, Hensley LE, Jahrling PB, Larsen T, Geisbert JB, Paragas J, et al. Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. Lancet.2003;362:1953-8.

26. Hensley LE, Stevens EL, Yan SB, Geisbert JB, Macias WL, Larsen T, et al. Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola hemorrhagic fever. J Infect Dis. 2007;196 (Suppl 2):S390-9.

27. Geisbert TW, Geisbert JB, Leung A, Daddario-DiCaprio KM, Hensley LE, Grolla A, et al. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. J Virol. 2009;83:7296-304.

28. Feldmann H, Jones SM, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Stroher U, Grolla A, et al. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. PLoSPathog. 2007;3:e2.

29. Geisbert TW, Daddario-DiCaprio KM, Williams KJ, Geisbert JB, Leung A, Feldmann F, et al. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediates postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. J Virol. 2008;82:5664-8.

30. Emond RT, Evans B, Bowen ET, Lloyd G. A case of Ebola virus infection.Br Med J. 1977;2:541-4.

31. Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, Kuvula K, Bwaka A, Kipasa M, et al. Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. International Scientific and Technical Committee. J Infect Dis. 1999;179(Suppl 1): S18-23.

32. Sadek RF, Khan AS, Stevens G, Peters CJ, Ksiazek TG. Ebola hemorrhagic fever, Democratic Republic of the Congo, 1995: determinants of survival. J Infect Dis. 1999;179(Suppl 1):S24-7.

33. Parren PW, Geisbert TW, Maruyama T, Jahrling PB, Burton DR. Pre- and postexposure prophylaxis of Ebola virus infection in an animal model by passive transfer of a neutralizing human antibody. J Virol. 2002;76:6408-12.

34. Oswald WB, Geisbert TW, Davis KJ, Geisbert JB, Sullivan NJ, Jahrling PB, et al. Neutralizing antibody fails to impact the course of Ebola virus infection in monkeys. PLoSPathog. 2007;3:e9.

35. Halfmann P, Ebihara H, Marzi A, Hatta Y, Watanabe S, Suresh M, et al. Replication-deficient ebolavirus as a vaccine candidate. J Virol. 2009;83: 3810-5.

36. Hitt MM, Gauldie J. Gene vectors for cytokine expression in vivo. Curr Pharm Des. 2000; 6:613-32.

37. Sullivan NJ, Geisbert TW, Geisbert JB, Xu L, Yang ZY, Roederer M, et al. Accelerated vaccination for Ebola virus haemorrhagic fever in non-human primates. Nature.2003 ;424:681-4.

38. Pratt WD, Wang D, Nichols DK, Luo M, Woraratanadharm J, Dye JM, et al. Protection of non-human primates against two species of Ebola virus infection with a single complex adenovirus vector. Clin Vaccine Immunol. 2010;17:572-81.

39. Piedra PA, Poveda GA, Ramsey B, McCoy K, Hiatt PW. Incidence and prevalence of neutralizing antibodies to the common adenoviruses in children with cystic fibrosis: implication for gene therapy with adenovirus vectors. Pediatrics. 1998;101:1013-9.

40. Schulick AH, Vassalli G, Dunn PF, Dong G, Rade JJ, Zamarron C, et al. Established immunity precludes adenovirus-mediated gene transfer in rat carotid arteries. Potential for immunosuppression and vector engineering to overcome barriers of immunity. J Clin Invest. 1997;99:209-19.

41. Bukreyev A, Yang L, Zaki SR, Shieh WJ, Rollin PE, Murphy BR, et al. A single intranasal inoculation with a paramyxovirus-vectored vaccine protects guinea pigs against a lethal-dose Ebola virus challenge. J Virol. 2006;80:2267-79.

42. Bukreyev A, Rollin PE, Tate MK, Yang L, Zaki SR, Shieh WJ, et al. Successful topical respiratory tract immunization of primates against Ebola virus. J Virol. 2007;81:6379-88.

43. Yang L, Sanchez A, Ward JM, Murphy BR, Collins PL, Bukreyev A. A paramyxovirus-vectored intranasal vaccine against Ebola virus is immunogenic in vector-immune animals. Virology. 2008;377:255-64.

44. Geisbert TW, Bausch DG, Feldmann H, editors. Prospects for immunisation against Marburg and Ebola viruses.Rev Med Virol. 2010;20:344-57.

45. Jones SM, Feldmann H, Stroher U, Geisbert JB, Fernando L, Grolla A, et al. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. Nat Med. 2005;11:786-90.

46. Vanderzanden L, Bray M, Fuller D, Roberts T, Custer D, Spik K, et al. DNA vaccines expressing either the GP or NP genes of Ebola virus protect mice from lethal challenge. Virology.1998;246:134-44.

47. Sullivan NJ, Sanchez A, Rollin PE, Yang ZY, Nabel GJ. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates.Nature. 2000;408: 605-9.

48. Hensley LE, Mulangu S, Asiedu C, Johnson J, Honko AN, Stanley D, et al. Demonstration of cross-protective vaccine immunity against an emerging pathogenic Ebolavirus Species. PLoSPathog. 2010; 6:e1000904.

49. Warfield KL, Swenson DL, Olinger GG, Kalina WV, Aman MJ, Bavari S. Ebola virus-like particle-based vaccine protects nonhuman primates against lethal Ebola virus challenge. J Infect Dis. 2007;196(Suppl 2) :S430-7.

50. Richardson JS, Dekker JD, Croyle MA, Kobinger GP. Recent advances inEbolavirus vaccine development. Hum Vaccin. 2010;6:439-49.