



Bijlage 5a. Medicamenteuze behandeling van ebolavirusinfectie

Albert Vollaard(1, 2), Jaap van Dissel(1, 2)

1. RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding
2. LUMC, afdeling infectieziekten

Samenvatting

Dit overzicht geeft een overzicht van de ondersteunende therapie bij ebolavirusinfectie en van de experimentele therapeutische opties: van passieve immunisatie (Zmapp en convalescent plasma), directe virusremmers (favipiravir, brincidifovir, BCX4430), RNA-remmers (Tekmira, 100802, AVI7537), remmers van stollingscomplicaties (FX06) tot voor andere indicaties geregistreerde middelen met mogelijk werkzaamheid bij ebola (amiodaron, clomifeen, chloroquine, azitromycine). De ebola-epidemie in West-Afrika in 2014-'15 heeft de medicijnontwikkeling versneld en vele van bovenstaande middelen zijn al in *compassionate use* toegediend, ondanks dat sommige middelen farmacologische noviteiten betreffen (siRNA, antisense) en er vaak minimale data over werkzaamheid bij muizen of apen, of over veiligheid bij de mens beschikbaar was. Waar mogelijk moet een beschrijving van individuele patiënten leiden tot therapieaanbevelingen, en als de epidemie aanhoudt zal goed gedocumenteerd therapeutisch gebruik bij patiënten in West-Afrika nieuwe gegevens opleveren, als grotere patiëntengroepen met experimentele therapie bereikt kunnen worden en patiënten vergelijkend onderzoek met experimentele medicatie willen accepteren.

Ebolavirusinfectie

Ebola is een filovirusinfectie met in West-Afrika een sterfte van meer dan 50%, waar op dit moment nog geen gerichte, causale behandeling voor bestaat (1;2). Transmissie van virus c.q. besmetting van anderen vindt plaats door contact met lichaamsvloeistoffen van zieke patiënten, in wie na een incubatieperiode van 2-21 dagen een progressief ziektebeeld ontstaat met koorts, braken en diarree gevolgd door ernstige uitdroging, diffuse intravasale stolling, multiorgaanfalen, en soms bloedingen.

Meerdere medicamenteuze opties die ofwel direct op de virusreplicatie inwerken, die eigen immuniteit ondersteunen of stimuleren, of die aangrijpen op de stollingsstoornissen bij ebola zijn in de afgelopen jaren in verschillende stadia van ontwikkeling gekomen (3;4). Die ontwikkeling is een continu proces, maar wordt nu versneld in verband met de urgente behoefte aan therapeutische opties bij de ernstige ebola-epidemie in West-Afrika vanaf 2014.

Ondanks het gebrek aan bewijs voor werkzaamheid van deze middelen tegen Ebola-infectie in de mens en ondanks het ontbreken van kennis over eventuele bijwerkingen, werden enkelen middelen bij individuele patiënten nadat zij gerepatriëerd waren naar Europa en de VS bij wijze van experiment toegepast(3). Dit betreft dus *compassionate use* van medicatie: gebruik van potentieel effectieve medicatie in individuele gevallen bij een ernstige aandoening waarvoor geen alternatief beschikbaar is en waarbij de effectiviteit of veiligheid van het medicijn nog niet (voldoende) geëvalueerd is om het middel te kunnen registreren. Daarnaast zijn er initiatieven om het effect en het bijwerkingenpatroon in patiëntengroepen in West-Afrika in studieverband te onderzoeken op effectiviteit en veiligheid (5).

Ondersteunende therapie

Vocht- en electrolytensuppletie

Afgezien van niet-geregistreerde medicamenteuze opties is vooral intensieve ondersteuning van de circulatie van essentieel belang gebleken, omdat door de gastro-intestinale symptomen van ebola-infectie frequent hypovolemie optreedt. Het vochtverlies is substantieel en kan oplopen tot 8 liter per dag (6), zodat tot meer dan 10 liter vocht en tientallen millimolen kaliumchloride per dag nodig zijn. In veel gevallen zal dat alleen door intraveneuze vochttoediening mogelijk zijn, wat in isolatieziekenhuizen in West-Afrika bepaald geen sinecure is, vooral niet bij delirante patiënten en het daarmee gepaard gaande transmissierisico door bloedcontact bij uitgetrokken infuusnaalden.

Mogelijkheid tot frequente monitoring van vochthuishouding en van elektrolyten en nierfunctie is een essentieel onderdeel van bij de klinische zorg. Zo nodig kan nierfalen ten gevolge van pre-renale nierinsufficiëntie tijdelijk overbrugd worden met hemodialyse. Andere medicamenteuze interventies zijn toediening van antibraak- en anti diarreemiddelen en bij manifeste bloedingen het toedienen van transfusies van erythrocyten, trombocyten of plasmaproducten (FFP). Verlies van integriteit van de darmwand door ontsteking of hypoperfusie kan resulteren in bacteriële translocatie en gramnegatieve sepsis, zodat dan effectieve antibacteriële therapie van belang is (6).

Experimentele therapie

Passieve immunisatie: plasmatherapie

Als een van de problemen bij de opbouw van afweer bij ebola-infectie wordt een gebrekkige stimulatie van T-cellen door met ebola geïnfecteerde dendritische cellen gezien. Verder wordt door apoptose van lymfocyten de eigen humorale respons negatief beïnvloed, wat van invloed blijkt op de kans van overleven (7). Daarom is het rationeel antilichamen te suppleren (8). Deze antilichamen kunnen in de vorm van volbloed, plasma ('convalescent plasma') of serum worden toegediend. Antilichamen verkregen uit dieren ('serumtherapie') of monoklonale antilichamen uit andere bronnen worden later besproken.

Convalescent plasma-therapie is al sinds de Spaanse griep toegepast en is voor een aantal bacteriële en virale infecties standaardtherapie, zoals bij passieve immunisatie na (mogelijke) blootstelling aan rabiës of bij de behandeling van Argentijnse hemorrhagische koorts (Junin). Bij ebola-infectie is bij 8 patiënten in Kikwit, Zaïre, 4-15 dagen na het begin van symptomen een transfusie gegeven van volbloed van 5 overlevers, waarna 7 van de 8 patiënten de infectie overleefden (9). Deze vorm van passieve immunotherapie wordt ook toegepast bij individuele, gerepatrieerde patiënten in Westerse ziekenhuizen (10) vaak als onderdeel van additionele antivirale behandeling. Deze vorm van therapie wordt nu ook onderzocht in ebolabehandelcentra in West-Afrika.

Toediening en dosering

Over de dosering en frequentie van toediening en over de gewenste titers van anti-ebola-antilichamen in het bloed van donoren is nog geen consensus. Wel heeft de WHO vastgesteld dat convalescent plasma of bloed veilig verkregen kan worden van donoren minstens 28 dagen na hun ontslag, zonder dat er symptomen zijn en nadat een EBOV-RNA test negatief is gebleken in twee apart afgenomen monsters (11). Vanzelfsprekend wordt door screening op syfilis, HIV en Hepatitis B en C, de infectie van de ontvanger met deze bloed-overdraagbare pathogenen uitgesloten. In de klinische praktijk wordt de dosering van plasmaproducten meestal gebaseerd op stollingsparameters vanwege het gebruik voor correctie van de stolling. Echter, als antivirale therapie is de dosering nog niet duidelijk. De WHO suggereert toediening van 400-500 ml convalescent plasma in twee doses voor volwassenen, of circa 10 ml/kg voor kinderen, over 1-4 uur.

Verder is van belang dat er bloedgroepcompatibiliteit tussen donor en ontvanger is om hemolyse te voorkomen (12). Er zijn tot nu toe weinig bijwerkingen gerapporteerd bij patiënten die convalescent plasma kregen voor infecties met respiratoire virussen (13).

Passieve immunisatie: monoklonale antilichamen

De gunstige invloed van een humorale immunerespons – afgemeten aan de titer van anti-EBOV-Glycoproteïne IgG – op sterfte blijkt uit de overlevingscijfers na toediening van monoklonale antilichamen tegen virale oppervlakte-eiwitten aan apen, zelfs in die gevallen waarbij er al sprake was van voortgeschreden ziekte, afgemeten aan ziekteverschijnselen en viremie (8).

Deze monoklonale antilichamen tegen verschillende oppervlaktestructuren (epitopen) van het EBOV-GP zijn cocktails van muizen-antilichamen (ZMAb) (14) of chimere muis-mens monoklonale antilichamen (MB-003) (15), die geproduceerd worden in de Australische tabakspiant *Nicotiana benthamiana* (16). ZMAb is in *compassionate use* toegediend aan menselijke ebolapatiënten. Uit deze cocktails zijn de 3 meest effectief gebleken monoklonale IgG1-antilichamen geselecteerd voor verdere ontwikkeling. De combinatie ervan, ZMapp genaamd, bleek effectief zelfs 5 dagen na experimentele infectie bij 6 apen die al ziektesymptomen ontwikkeld hadden in drie doses op dag 5, 8 en 11 (17).

Bij 7 patiënten is ZMapp toegediend 6-16 dagen na begin van symptomen, waarbij 2 van de 7 kwamen te overlijden. Omdat de dosis en het aantal toedieningen niet gelijk waren in deze patiënten en omdat er daarnaast ook

convalescent plasma is gegeven bij een patiënt, is een conclusie over de werkzaamheid van Zmapp niet te trekken. Verder ontbreekt nog data over veiligheid, omdat de voorraden te klein waren om deze fase van onderzoek te starten. Naar verwachting zal in begin 2015 de productie van Zmapp zijn opgeschaald, zodat het middel beschikbaar komt voor toediening in onderzoeksverband in West-Afrika.

Toediening van monoklonale antilichamen resulteert overigens niet in onderdrukking van virusreproductie, zodat de eigen immuniteit van de gastheer nog een additionele bijdrage moet leveren.

Passieve immunisatie: hyperimmuun serum

Polyklonale antilichamen kunnen verkregen worden na infectie of vaccinatie van mens of dier. Hyperimmuun serum van mensen wordt gebruikt voor post-expositieprofylaxe van hepatitis B en rabiës. Dierlijk hyperimmuun serum wordt gebruikt bij slangenbeten. Bij ebola-infectie is anekdotisch bewijs van werkzaamheid bij apen met paardenserum (18) en apenserum (19) en is geitenserum toegepast bij 4 mensen na blootstelling in laboratoria (20).

In 2015 zal de fabrikant Fab'entech hyperimmuun paardenserum gaan produceren, maar details over werkzaamheid, veiligheid, dosis en tijdsplan van onderzoeken ontbreken. Bijwerkingen bij serumtherapie zijn overgevoelighedsreacties, anafylaxie en, bij gebruik van heteroloog serum, serumziekte.

Actieve immunisatie: vaccins

In de laatste jaren zijn meerdere vaccinkandidaten onderzocht: zowel DNA- (21), RNA-, als subunitvaccins, in meerdere virusvectoren, zowel replicerend als niet-replicerend (22; 23). Het standaardmodel daarvoor is de resusaap of cynomoglusap. Drie vaccins worden in 2014 en 2015 in fase 1-onderzoeken op veiligheid en immunogeniciteit in mensen onderzocht. Opschaling van productie tot honderdduizenden doses kan rond zomer 2015 verwacht worden, zodat fase 2-onderzoeken en wellicht gedocumenteerde toediening in een ebola-endemisch gebied – zowel bij gezondheidszorgmedewerkers als bij de bevolking – doorgang kunnen vinden.

Recombinant Vesicular Stomatitis Virus (VSV)

Het RNA-virus VSV valt in familie van rhabdoviridae (zoals rabiës) dat koeien, varkens, paarden en insecten infecteert en dat bij de mens een griepachtig beeld kan veroorzaken. rVSV-EBOV is ontwikkeld door de Public Health Agency of Canada, waarna samenwerking is gezocht met de Amerikaanse firma NewLink Genetics en Merck. In dit levend-verzwakte replicatie-competente virus is het gen voor Ebola-Glycoproteïne (EBOV-GP) geïncorporeerd (24). Door modificatie heeft het rVSV virus niet meer de neurovirulentie bij apen, en lijkt daardoor ook veilig voor de mens (25). EBOV-GP is verantwoordelijk voor binding van het ebolavirus aan monocyt en endotheelcellen en maakt daardoor entree tot de targetcellen (monocyt en dendritische cellen) mogelijk.

Na onderzoeken in muizen en cavia's bleek ook in makaken dat vaccinatie met rVSV-EBOV 4 weken vóór blootstelling aan een dodelijke dosis van ebola volledige bescherming biedt (26). Eind 2014 zijn fase 1-onderzoeken begonnen in mensen

in de VS, Duitsland, Canada, Kenia, Gabon en Zwitserland. Eén dosis zou afdoende zijn voor bescherming van mensen.

Verder is VSV-EBOV onderzocht als post-expositie-profylacticum (PEP), waarbij bij de Sudan species van Ebola 4 van 4 apen overleefden nadat zij 20-30 min na virusexpositie gevaccineerd werden (26), terwijl bij de Zaïre (Kikwit) species 4 van 8 apen overleefden (27). Dit vaccin is toegepast op een individu na een prikaccident met Zaïre-EBOV, waarbij 48 uur na het prikaccident met een naald in een lab een eenmalige vaccindosis werd gegeven (28). De ratio erachter was dat toediening van gemodificeerd VSV-Marburg GP-vaccin nog overleving sorteerde bij 2 van 6 apen zelfs 48 uur na experimentele virusinfectie (29). Voor ebola-infectie ontbreekt deze data. De patiënt ontwikkelde koorts en myalgie 12 uur na de injectie, maar is verder niet ziek geworden. EBOV-viremie is niet vastgesteld in de 3 weken na het prikaccident, maar wel werd VSV-viremie middels PCR bevestigd. Van belang is dat directe virusremmers zoals favipiravir niet gecombineerd kunnen worden met dit levend-verzwakte virus, omdat dan expressie van het EBOV-GP geremd zou kunnen worden.

VSV-EBOV-GP is in experimentele setting bij de huidige epidemie toegediend aan een aantal personen na een hoogrisicoblootstelling. Gegevens ontbreken wat de aard van blootstelling was en of de toediening effectief was.

De Nederlandse veestapel is VSV-vrij, dus mocht dit in een experimentele fase worden toegediend, is afstemming met RIVM, de veterinaire sector en ziekenhuizen nodig, omdat de patiënt waarschijnlijk langere tijd in isolatie zal moeten worden opgenomen.

Adenovirussen

Recombinant adenovirus 5 (rAd5) en ook recombinant human para-influenzavirus 3 zijn als virale vectoren gebruikt om EBOV-GP of GP in combinatie met Glyconucleoproteïne tot expressie te brengen (23). Beide vaccins zijn effectief gebleken in de pre-expositieproylaxe in apen, waarbij rAd5 ook getest is als post-expositie profylacticum in muizen. Vanwege pre-existente immuniteit bij mensen voor zowel adenovirus (bij 60-90% van de populatie) als parainfluenzavirus is het aannemelijk dat de immunogeniciteit en effectiviteit verzwakt zullen zijn als gevolg van neutraliserende antistoffen. Daarom zijn er twee initiatieven met een ander type adenovirus en wordt er een booster vaccinatie gegeven met een ander virusvector.

ChAd3-EBOV

Het recombinant chimpansee-adenovirus: ChAd3-EBOV, een verkoudheidsvirus bij apen, brengt EBOV-GP tot expressie na vaccinatie. Dit vaccin wordt ontwikkeld door GlaxoSmithKline samen met het US National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Er bestaat een bivalente variant met het Zaïre en Sudan ebolaserotype en een monovalente variant, waarin alleen het Zaïre ebolatype. In apen geeft eenmalige vaccinatie met het bivalente vaccin 100% bescherming 5 weken vóór besmetting met ebolavirus, maar omdat na 10 maanden die bescherming nog maar 50% bleek, wordt met een booster met een aangepast pokken Ankara-vaccin 8 weken na het eerste vaccin wel goede bescherming bereikt (30). De ratio achter het boosten met een andere virusvector is dat bleek dat een heterologe combinatie beter werkte dan de homologe combinatie, dat wil

zeggen een booster met hetzelfde ChAd3. In een kleine studie bij 20 gezonde vrijwilligers blijkt het bivalente ChAd3 een goede humorale en ook GP-specifieke T-celrespons te genereren (31). Het monovalente vaccin (ChAd3-EBOV) wordt in gezonde vrijwilligers onderzocht in fase 1-onderzoek via een consortium van NIAID en de Wellcome Trust. Een placebo-gecontroleerd vaccinatie-onderzoek in West-Afrika zal in 2015 worden geïnitieerd.

Ad26-ZEBOV + multivalent MVA-Ebola virus

In een samenwerkingsverband hebben Crucell (onderdeel van Johnson & Johnson) in Nederland, Bavarian Nordic in Denemarken en het Amerikaanse NIH een ander vaccinkandidaat ontwikkeld. Dit betreft een andere vector, namelijk een humaan adenovirus, Ad26, dat minder frequent circuleert dan andere adenovirussen (32) en dat ook met een multivalentpokken (vaccinia)-virus Ankara geboost wordt. De fase 1-studie in 72 gezonde vrijwilligers start in januari 2015 in Engeland in samenwerking met de universiteit van Oxford.

Antivirale medicatie

Favipiravir: oraal (Fuji/Toyama Japan), 2 maal daags gedurende 10 dagen

Deze nucleotide analoog remt viraal RNA-afhankelijk RNA-polymerase van een breed spectrum RNA-virussen, waaronder ebolavirus (met een IC50 64 μ M). Favipiravir wordt op dit moment in een fase 3-onderzoek voor de behandeling van influenza onderzocht in de VS, nadat eerder geen veiligheidsrisico werd gedetecteerd. Het is als post-expositiebehandeling voor EBOV in muizen onderzocht tot 6 dagen na expositie, maar voorkwam in een andere studie niet de dood van 5 van de 6 apen na experimentele ebola-infectie (33;34). In verband met de hogere IC50 bij ebola in vergelijking met influenza wordt een hogere dosis bij de mens voorgesteld op basis van extrapolatie van farmacokinetische data in muizen en de eerste resultaten bij apen en deze wordt nu ook aanbevolen in studies en *compassionate use*. (35). Orale toediening van 200 mg tabletten in dosis tot 6 gram per dag op dag 1 kan bij misselijke patiënten een probleem opleveren. Bij 4 patiënten is favipiravir in wisselende doses in *compassionate use* gebruikt in 2014, waarbij geen belangrijke bijwerkingen optraden, maar dit levert onvoldoende inzicht in veiligheid, vooral niet indien er pre-existente lever- of nierfunctiestoornissen zijn. Favipiravir wordt voornamelijk renaal geklaard. De eerste onderzoeksdata van favipiravir in Guinee tonen aan dat het mortaliteitsreductie geeft als de ebolaviremie niet zeer hoog is, dat wil zeggen een CT-waarde minder dan 20 bij PCR-bepaling.

Brincidofovir: oraal (Chimerix), 5 doses over 14 dagen

Brincidofovir is een lipide conjugaat van cidofovir, wat een nucleotide-analoog is. Het is echter geen prodrug van cidofovir en heeft ook niet de met cidofovir geassocieerde nefrotoxiciteit. Het is beschikbaar als tablet en suspensie die bij voorkeur met voedsel worden toegediend gedurende 2 weken met een eenmalig oplaaddosis van 200 mg gevolgd door 4 doses van 100 mg à 3-4 dagen. Het is actief tegen DNA-virussen en heeft effectiviteit bij CMV-infecties (36) en adenovirus. In vitro is het effectief tegen ebola (RNA-virus), met een IC50 van 120 nM-1.3 μ M, maar de werkingswijze is onbekend. In muizen bleek het niet effectief bij ebola-infectie. Helaas is door het specifieke farmacokinetische profiel van apen brincidofovir niet te onderzoeken in apen met ebola-infectie. Onderzoeken richten zich op cavia's om na te gaan of de in vitro data ook in vivo

te repliceren zijn. Het bijwerking profiel is redelijk onderzocht bij andere infecties en lijkt acceptabel (leverenzymstijgingen, darmklachten). Het is in *compassionate use* aan 4 patiënten toegediend o.a. in combinatie met convalescent plasma, waarbij 3 patiënten de infectie overleefden.

TKM- 100802: intraveneus (Tekmira), dagelijks gedurende 7 dagen

Small interference RNA-therapie is effectief gebleken als post-expositieprofylaxe in apen; siRNA gericht tegen het L-polymerase en twee sequenties voor de virale eiwitten VP24 en VP35 van EBOV werd in een dosis van 2 mg/kg i.v. in lipide partikels toegediend 30-60 minuten na blootstelling aan ebola gevolgd door dagelijkse toediening van deze dosis gedurende 7 dagen. Klinische symptomen in 4 apen waren minder ernstig en alle apen overleefden de blootstelling (37). Minder frequente toediening resulteert echter in hogere sterfte en toediening na 72 uur na experimentele ebola-infectie was niet meer effectief. Een nieuwe versie van Tekmira bevat 2 siRNA (L-polymerase en VP35) en is specifiek gericht op de ebolaspecies die circuleert in West Afrika (Ebola Guinea) met een doseringsadvies van 0.3-0.5 mg/kg per dag. Ondanks dat slechts weinig data over veiligheid van dit middel was verkregen in een onderbroken fase 1-onderzoek in 2014, is ook dit middel in *compassionate use* gebruikt bij 6 patiënten. In 2015 begint een klinisch onderzoek bij ebola-infectie bij mensen.

AVI-7537: intraveneus (Sarepta Therapeutics), dagelijks gedurende 14 dagen

Gemodificeerde phosphorodiamidate morpholino oligomeren (PMOplus) zijn moleculen die de translatie van viraal mRNA remmen. Deze synthetische antisense oligomeren zijn complementair aan het VP24-gen van het ebolavirus. Het VP24-eiwit is een remmer van de type I-interferonrespons, zodat het uitschakelen ervan door antisensetherapie een verbeterde gastheerrespons moet opleveren. Bij apen is intraveneuze toediening effectief gebleken, 30-60 minuten na blootstelling aan ebolavirus(38). Weinig is bekend over toxiciteit van deze oligomeren, want eenmalige toediening van een mix van twee antisense moleculen tegen VP24 en VP35 van het ebolavirus (AVI-6002) is wel in een fase 1-studie geëvalueerd, maar de voorgestelde dosering is dagelijkse toediening van 16 mg/kg gedurende 14 dagen. Bij marburg is de ontwikkeling verder en werden ook multipale doses getolereerd bij enkele menselijke vrijwilligers. Verdere ontwikkeling van AVI-7537 staat nu stil. Antisensetherapie is een recente farmacologische ontwikkeling die tot nu toe nog maar 2 keer heeft geleid tot registratie in de VS: mipomersen (remming van apolipoproteïne-B100 in homozygote familiale hypercholesterolemie) en intraoculair fomivirsen (remming van CMV bij CMV-retinitis).

BCX4430: intramusculair of intraveneus (Biocryst), twee maal daags gedurende 14 dagen

De RNA-polymerase remmer BCX4430, een synthetische adenosine analoog van de firma BioCryst is werkzaam tegen een breed spectrum van RNA-virussen inclusief filovirussen (Ebola Kikwit species: EC50 12 μ M). Het is onderzocht in apen na expositie aan Marburg virus (vergelijkbare EC50 van 5 μ M): 15 mg/kg BCX4430 twee keer per dag i.m. geïnjecteerd 1-48 uur na expositie en gecontinueerd gedurende 14 dagen. Ziekteverschijnselen waren milder in de behandelde apen dan die in controles en 17 van 18 apen overleefden (39). Data

voor ebola-infectie bij dieren is echter beperkt: bij muizen zou het effectief zijn en bij apen is het alleen in de eerste 2 uur na infectie onderzocht. Bijwerkingen zijn onbekend bij de mens en een fase 1 onderzoek wordt gestart in 2015.

Ribavirine

In tegenstelling tot het therapeutisch effect van ribavirine bij behandeling van andere virale hemorrhagische koortsen (Lassa en Crimean Congo), is ribavirine niet werkzaam bij filovirusinfecties (ebola en marburg).

Amiodaron, dronedaron, verapamil: oraal en intraveneus

Het antiaritmicum amiodaron en het verwante molecuul dronedaron blijken in vitro werkzaam tegen ebolavirus (IC₅₀ 0.25 µg/ml) in concentraties die onder de benodigde concentraties voor hun antiaritmische effect in de mens liggen (1.5–2.5 µ/ml)(40). Het waarschijnlijke werkingsmechanisme betreft de blokkering van entree van filovirussen, meest waarschijnlijk via de intracellulaire endosomale cholesterol transporter Niemann–Pick C1 (NPC1), zodat fusie tussen een viruspartikel en het membraan van het late endosoom niet kan optreden (41). Dat zou ook de effectiviteit van clomifeen kunnen verklaren (zie beneden). Ook is gepostuleerd dat het effect bereikt wordt via blokkade van calciumkanalen, omdat ook de calciumantagonist verapamil enige antivirale activiteit blijkt te bezitten (40). Op basis van deze in vitro-gegevens en onderzoek in muizen is amiodaron tot 20mg/kg/dag bij 65 patiënten in Sierra Leone gebruikt, waarbij 50% van de aldus behandelde patiënten overleed, terwijl van de totale patiëntenpopulatie 57.4% overleed. Of deze dosis te laag is, is onduidelijk. Wel is het risico op amiodaron-geïnduceerde ritmestoornissen vergroot in aanwezigheid van hypokaliëmie, die bij de profuse diarree bij ebolainfectie een frequent fenomeen is. Ook de casusbeschrijving waarbij FX06 werd toegediend (zie beneden) meldt dat de patiënt 1200 mg amiodaron per 24 uur innam als initiële behandeling (42).

Oestrogeen receptor modulatoren: oraal

Zowel clomifeen, dat is geregistreerd in Nederland als ovulatie-inductiemiddel en het niet-geregistreerde toremifene tonen antiviraal effect waarschijnlijk via blokkade van NPC1 en dus niet via de oestrogeenreceptor: de in vitro IC₅₀ is 2.2 µM. Werkzaamheid is bevestigd een onderzoek bij 10 muizen, maar nog niet in apen of mensen (43). Het veiligheidsprofiel is goed bekend, ook bij mannen, en weinig ernstige bijwerkingen zijn vastgesteld in een dosering van 25-50 mg per dag (44). Of de dosering voor ovulatie-inductie (50-100 mg per dag) voldoende is als potentiële ebolabehandeling is onbekend. Ook dit middel is bij tientallen patiënten in West-Afrika toegediend, zonder dat effect of bijwerkingen zijn gerapporteerd.

Stollingsremmers

Recombinant geactiveerd proteïne C, RNAPc2 en FX06

Stollingsstoornissen zijn prominent aanwezig tijdens de late fase van ebola-infectie met overexpressie van tissuefactor en afname van circulerend proteïne C, waardoor de fibrinolyse gestoord is.

Op twee manieren is getracht de effectiviteit van het tegengaan van door EBOV veroorzaakte stollingsstoornissen op het beloop van ziekte aan te tonen. Recombinant nematode anti-coagulant protein c2 (rNAPc2) en recombinant

humaan geactiveerd proteïne C (Xigris) toonden afname van pro-inflammatoire respons (45;46). Overigens, Xigris is niet meer verkrijgbaar sinds de firma het van de markt heeft gehaald toen bleek dat mortaliteit bij septische shock in de patiënten met Xigris niet significant minder was die in de placebo-arm (Prowess-Shock study)(47). rNAPc2 is evenmin verkrijgbaar.

Een recente ontwikkeling is FX06, een synthetisch fibrine-derivaat dat binding aangaat met VE-cadherin op het endotheel, waardoor er een anti-inflammatoir effect optreedt en ook vocht lekkage door endotheel vermindert. Onderzoek is gaande om vasculaire lekkage te stoppen, bijvoorbeeld in sepsis, bij dengue hemorrhagische shock en ter preventie van reperfusie schade bij dotterbehandeling of myocardinfarct, hierbij werden geen ernstige bijwerkingen bemerkt(48;49). Dit middel is gebruikt in *compassionate use* gedurende 3 dagen, bij twee Duitse patiënten met ernstige complicaties van Ebola infectie, waarbij 1 patiënt desondanks overleed (42).

Immuun modulators

Interferon-alfa

Virale infecties onderdrukken de lichaamseigen interferon - reactie bestaand uit interferon-alfa en beta, hoewel ebola-infectie de interferon-alfarespons juist lijkt te verhogen.

Toch lijkt bij experimenten in muizen en cavia's het stimuleren van de antivirale respons met interferon-alfa te leiden tot een verbetering van de endogene humorale respons en de reactie op passieve immunisatie met ZMAb (50;51). Ook bij apen is het als additionele behandeling bij ZMAb onderzocht waarbij het in de initiële fase van infectie het falende 'innate immune system' ondersteunt(51), iets dat ook bij acute SARS-infectie lijkt te gebeuren (52). Alhoewel interferon-alfa veel gebruikt is in acute en chronische hepatitis C-infecties, waren dat bijna altijd asymptomatische infecties. Of gebruik hiervan bij ernstig zieke patiënten nog veilig is en wel getolereerd wordt, is onbekend.

Interferon-beta

Interferon-alfa en interferon-beta stimuleren beide de interferon alfa/beta receptor (IFNAR), maar mogelijk doet interferon-beta dat effectiever. Er blijkt een deficiëntie in interferon-beta te bestaan bij ebola-infectie, zodat onderzocht is of suppletie overleving beïnvloedt. Toediening van interferon-beta (Rebif®) lijkt slechts de tijd tot overlijden in makaken te verlengen in een dosis van 10.5 µg/kg op 18 uur, dag 3, 5, 7 en 9 na blootstelling aan ebolavirus echter zonder afname van sterfte (53). Toename van dosis of frequentere toediening leverde geen winst op. Deze dosis van Rebif® is veel hoger dan die waarvoor het geregistreerd is bij Multipelle Sclerose (maximum van 22 µg drie keer per week).

Overige middelen

Statines en angiotensine-2 antagonisten

Vanwege de veronderstelde anti-inflammatoire eigenschappen van statines worden deze ook gezien als een van de mogelijke ondersteunende therapeutische opties. Statines remmen HMG-CoA-reductase, het enzym wat een rol speelt bij de cholesterolsynthese, maar beschikken ook over stollingremmende eigenschappen.

Ondanks deze potentiële voordelen bij sepsis en diffuus intravasale stolling, is dit onvoldoende onderbouwd en de sterfte bleek niet verminderd in gerandomiseerde onderzoeken bij sepsis (54;55). Desondanks wordt atorvastatine gebruikt bij tientallen ebolapatiënten in combinatie met o.a. irbesartan, een AT2-blokker, dat de 'endotheliale integriteit' zou moeten ondersteunen. Data die deze aanname ondersteunen ontbreken. Het de vraag of bij ebolapatiënten met hypovolemische shock bij ondervulling en dus nierinsufficiëntie het wel veilig is bloeddrukverlagende therapie toe te dienen.

Chloroquine

Bij screening op antivirale activiteit bleek het antimalariamiddel chloroquine activiteit te bezitten tegen ebolavirus: EC50 16µM (56). Bij muizen bleek tweemaal daags 90 mg/kg zelfs bescherming te bieden. Er is aannemelijk gemaakt dat ebolavirus na endocytose in de cel door chloroquine geremd wordt in het transport van vroeg naar laat endosoom. Maar of deze in vitro- en muizendata ook resulteert in een therapeutisch voordeel bij de mens, is nog onbekend. Data in apen ontbreekt nog. Ook in andere virusinfecties, dengue en chikungunya is chloroquine bij mensen onderzocht in de standaarddosering geïndiceerd voor *Malaria vivax*-infectie, maar hier werd geen effect waargenomen. Wel nam het braken toe – ruim 10% bij deze dosis -, wat bij ebola-infectie al een kenmerkend symptoom is en gemeld wordt bij 34-57% van patiënten (57;58), waardoor inname van vocht en andere orale medicatie nog meer zou verminderen.

Azitromycine

Vanwege immunomodulerende activiteit van het antibioticum azitromycine is dit middel ook onderzocht en leek in knaagdieren de tijd tot het ontstaan van symptomen en overlijden te verlengen. Bij apen is het niet onderzocht. Het werkingsmechanisme zou mogelijk een blokkering van virusentree zijn (42), met EC50 2.79 µM. Als de standaarddosering verhoogd zou moeten worden, zouden gastro-intestinale bijwerkingen en QT-tijdverlenging prominenter kunnen optreden.

Overig

Via eenzelfde in vitro-screeningmethode als voor azitromycine is voor de tyrosinekinaseremmer Sunitinib - gebruikt voor behandeling van niercelcarcinoom en neuro-endocrine tumoren - antivirale activiteit aangetoond (EC50 1.91 µM) (42). Sertraline, een SSRI, blijkt ook antivirale activiteit te bezitten (EC50 1.15µM) en wordt over het algemeen goed verdragen (59). Beide middelen worden onderzocht bij muizen, maar bewijs voor effectiviteit bij mensen ontbreekt. Verder wordt er melding gemaakt van een 'effectieve' behandeling van ebolapatiënten met het antivirale middel lamivudine, dat voor hepatitis B (DNA virus) en HIV (retrovirus) geregistreerd is. Bevestiging hiervan moet nog komen.

Conclusie

De epidemie van ebolavirusziekte in West-Afrika in 2014 heeft een versnelling in medicijnontwikkeling veroorzaakt. Bijzonder is dat naast bekende farmacologische concepten, zoals passieve immunisatie en toepassing van virale polymeraseremmers, ook nieuwe principes – antisensetherapie, siRNA, virale

vaccinplatforms - worden onderzocht en zelfs al worden toegepast bij de patiënten. Vanwege de initiële hoge mortaliteit van ebolapatiënten in West-Afrika werd bij gerepatrieerde patiënten en ook in West-Afrika al snel gebruik gemaakt van opties waarvoor het bewijs van werkzaamheid mager was, en bleek uit onderzoek in slechts enkele muizen of apen. Daarmee was niet alleen de werkzaamheid bij de mens onbewezen, maar ook de eventueel benodigde dosering, en dientengevolge was de veiligheid van toepassing bij ernstig zieke patiënten met lever- en nierfunctiestoornissen vaak volledig onduidelijk.

Er lijkt een tweedeling te bestaan van middelen die al wel effectiviteit in apen hebben laten zien, maar waarbij geen of slechts minimale veiligheidsdata bij mensen was verkregen (Tekmira, Sarepta, Zmapp) en nieuwe antivirale middelen die wel bij grotere patiëntengroepen veilig waren gebleken bij behandeling van andere virusinfecties, maar waarbij de effectiviteit tegen ebola nog onduidelijk was (favipiravir, brincidovir).

Zmapp en favipiravir lijken op dit moment de meest aannemelijke kandidaten voor experimentele therapie, vanwege een aannemelijk achterliggend werkingsmechanisme, en bij voorkeur in combinatie met convalescent plasma. Echter, deze aannames moeten nog bevestigd worden in grotere patiëntengroepen, waarbij zowel werkzaamheid als veiligheid zal moeten blijken. Andere middelen, inclusief al geregistreerde medicijnen die ook antivirale activiteit blijken te bezitten, zoals amiodaron, clomifeen en chloroquine, zullen in studies in West-Afrika of door systematische beschrijving van gebruik in patiënten aan bewijskracht kunnen winnen. Dat laatste lijkt helaas niet gebeurd te zijn in de vaak minimale omstandigheden waarin de ebolapatiënten zijn verpleegd en behandeld in West-Afrika. Hierbij is veel informatie verloren gegaan, maar heeft het individuele patiëntenbelang gedomineerd. Verder, nu het aantal patiënten met een ebola-infectie afneemt, zal het steeds moeilijker worden deze middelen, eventueel in combinatie en zeker in gerandomiseerde studies, nog te bestuderen. Dit jaar zal uitwijzen of de versnelling van medicijnontwikkeling gestart in 2014 ook daadwerkelijk zal leiden tot vergroot inzicht in werkzaamheid van de nog experimentele therapie bij ebola-infectie in de mens en of er consensus ontstaat over medicamenteuze behandeling van patiënten in komende, nieuwe uitbraken. Ethische dilemma's zullen opspelen omdat bij aanwijzingen voor mogelijke activiteit van middelen een placebo-gecontroleerd onderzoek of gebruik van andere middelen niet meer verdedigbaar zou kunnen zijn.

Referenties

(1) Goeijenbier M, van Kampen JJ, Reusken CB, Koopmans MP, van Gorp EC. Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis. *Neth J Med* 2014 November; 72(9): 442-8.

(2) Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet* 2011 March 5; 377(9768): 849-62.

- (3) WHO. Categorization and prioritization of drugs for consideration for testing or use in patients infected with Ebola, updated 15 January 2015 . 2015 Jan 15.
- (4) Bishop BM. Potential and emerging treatment options for Ebola virus disease. *Ann Pharmacother* 2015 February;49(2):196-206.
- (5) Mohammadi D. First trials for Ebola treatments announced. *Lancet* 2014 November 22;384(9957):1833.
- (6) Kreuels B, Wichmann D, Emmerich P, Schmidt-Chanasit J, de HG, Kluge S et al. A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 2014 December 18;371(25):2394-401.
- (7) Wong G, Kobinger GP, Qiu X. Characterization of host immune responses in Ebola virus infections. *Expert Rev Clin Immunol* 2014 June;10(6):781-90.
- (8) Wong G, Richardson JS, Pillet S, Patel A, Qiu X, Alimonti J et al. Immune parameters correlate with protection against ebola virus infection in rodents and nonhuman primates. *Sci Transl Med* 2012 October 31;4(158):158ra146.
- (9) 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 February;179 Suppl 1:S18-S23.
- (10) Lyon GM, Mehta AK, Varkey JB, Brantly K, Plyler L, McElroy AK et al. Clinical care of two patients with Ebola virus disease in the United States. *N Engl J Med* 2014 December 18;371(25):2402-9.
- (11) WHO. Use of Convalescent Whole Blood or Plasma Collected from Patients Recovered from Ebola Virus Disease for Transfusion, as an Empirical Treatment during Outbreaks, version 1.0. 2014.
- (12) O'Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton MP, Murphy M, Thomas D, Yates S et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol* 2004 July;126(1):11-28.
- (13) Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw FM, Lim WS et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. *J Infect Dis* 2015 January 1;211(1):80-90.
- (14) Qiu X, Audet J, Wong G, Pillet S, Bello A, Cabral T et al. Successful treatment of ebola virus-infected cynomolgus macaques with monoclonal antibodies. *Sci Transl Med* 2012 June 13;4(138):138ra81.
- (15) Pettitt J, Zeitlin L, Kim dH, Working C, Johnson JC, Bohorov O et al. Therapeutic intervention of Ebola virus infection in rhesus macaques with the

MB-003 monoclonal antibody cocktail. *Sci Transl Med* 2013 August 21;5(199):199ra113.

(16) Olinger GG, Jr., Pettitt J, Kim D, Working C, Bohorov O, Bratcher B et al. Delayed treatment of Ebola virus infection with plant-derived monoclonal antibodies provides protection in rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 October 30;109(44):18030-5.

(17) Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 2014 October 2;514(7520):47-53.

(18) Jahrling PB, Geisbert J, Swearingen JR, Jaax GP, Lewis T, Huggins JW et al. Passive immunization of Ebola virus-infected cynomolgus monkeys with immunoglobulin from hyperimmune horses. *Arch Virol Suppl* 1996;11:135-40.

(19) Dye JM, Herbert AS, Kuehne AI, Barth JF, Muhammad MA, Zak SE et al. Postexposure antibody prophylaxis protects nonhuman primates from filovirus disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 March 27;109(13):5034-9.

(20) Kudoyarova-Zubavichene NM, Sergeyev NN, Chepurnov AA, Netesov SV. Preparation and use of hyperimmune serum for prophylaxis and therapy of Ebola virus infections. *J Infect Dis* 1999 February;179 Suppl 1:S218-S223.

(21) Kibuuka H, Berkowitz NM, Millard M, Enama ME, Tindikahwa A, Sekiziyivu AB et al. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: a phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet* 2014 December 22.

(22) Choi JH, Croyle MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs* 2013 December;27(6):565-83.

(23) Marzi A, Feldmann H. Ebola virus vaccines: an overview of current approaches. *Expert Rev Vaccines* 2014 April;13(4):521-31.

(24) Geisbert TW, Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J Infect Dis* 2011 November;204 Suppl 3:S1075-S1081.

(25) Mire CE, Miller AD, Carville A, Westmoreland SV, Geisbert JB, Mansfield KG et al. Recombinant vesicular stomatitis virus vaccine vectors expressing filovirus glycoproteins lack neurovirulence in nonhuman primates. *PLoS Negl Trop Dis* 2012;6(3):e1567.

(26) Geisbert TW, Daddario-DiCaprio KM, Lewis MG, Geisbert JB, Grolla A, Leung A et al. Vesicular stomatitis virus-based ebola vaccine is well-tolerated and protects immunocompromised nonhuman primates. *PLoS Pathog* 2008 November;4(11):e1000225.

- (27) Feldmann H, Jones SM, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Stroher U, Grolla A et al. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog* 2007 January; 3(1):e2.
- (28) Gunther S, Feldmann H, Geisbert TW, Hensley LE, Rollin PE, Nichol ST et al. Management of accidental exposure to Ebola virus in the biosafety level 4 laboratory, Hamburg, Germany. *J Infect Dis* 2011 November; 204 Suppl 3: S785-S790.
- (29) Geisbert TW, Hensley LE, Geisbert JB, Leung A, Johnson JC, Grolla A et al. Postexposure treatment of Marburg virus infection. *Emerg Infect Dis* 2010 July; 16(7): 1119-22.
- (30) Stanley DA, Honko AN, Asiedu C, Trefry JC, Lau-Kilby AW, Johnson JC et al. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge. *Nat Med* 2014 October; 20(10): 1126-9.
- (31) Rampling T, Ewer K, Bowyer G, Wright D, Imoukhuede EB, Payne R et al. A Monovalent Chimpanzee Adenovirus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2015 January 28.
- (32) Geisbert TW, Bailey M, Hensley L, Asiedu C, Geisbert J, Stanley D et al. Recombinant adenovirus serotype 26 (Ad26) and Ad35 vaccine vectors bypass immunity to Ad5 and protect nonhuman primates against ebolavirus challenge. *J Virol* 2011 May; 85(9): 4222-33.
- (33) Oestereich L, Ludtke A, Wurr S, Rieger T, Munoz-Fontela C, Gunther S. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res* 2014 May; 105: 17-21.
- (34) Smither SJ, Eastaugh LS, Steward JA, Nelson M, Lenk RP, Lever MS. Post-exposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Res* 2014 April; 104: 153-5.
- (35) Mentre F, Taburet AM, Guedj J, Anglaret X, Keita S, de L, X et al. Dose regimen of favipiravir for Ebola virus disease. *Lancet Infect Dis* 2014 November 27.
- (36) Marty FM, Winston DJ, Rowley SD, Vance E, Papanicolaou GA, Mullane KM et al. CMX001 to prevent cytomegalovirus disease in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2013 September 26; 369(13): 1227-36.
- (37) Geisbert TW, Lee AC, Robbins M, Geisbert JB, Honko AN, Sood V et al. Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet* 2010 May 29; 375(9729): 1896-905.
- (38) 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 September; 16(9): 991-4.

(39) Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* 2014 April 17;508(7496):402-5.

(40) Gehring G, Rohrmann K, Atenchong N, Mittler E, Becker S, Dahlmann F et al. The clinically approved drugs amiodarone, dronedarone and verapamil inhibit filovirus cell entry. *J Antimicrob Chemother* 2014 August;69(8):2123-31.

(41) Shoemaker CJ, Schornberg KL, Delos SE, Scully C, Pajouhesh H, Olinger GG et al. Multiple cationic amphiphiles induce a Niemann-Pick C phenotype and inhibit Ebola virus entry and infection. *PLoS One* 2013;8(2):e56265.

(42) Wolf T, Kann G, Becker S, Stephan C, Brodt HR, de LP et al. Severe Ebola virus disease with vascular leakage and multiorgan failure: treatment of a patient in intensive care. *Lancet* 2014 December 19.

(43) Johansen LM, Brannan JM, Delos SE, Shoemaker CJ, Stossel A, Lear C et al. FDA-approved selective estrogen receptor modulators inhibit Ebola virus infection. *Sci Transl Med* 2013 June 19;5(190):190ra79.

(44) Willets AE, Corbo JM, Brown JN. Clomiphene for the treatment of male infertility. *Reprod Sci* 2013 July;20(7):739-44.

(45) 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 November 15;196 Suppl 2:S390-S399.

(46) 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 December 13;362(9400):1953-8.

(47) Marti-Carvajal AJ, Sola I, Lathyris D, Cardona AF. Human recombinant activated protein C for severe sepsis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;3:CD004388.

(48) Hallen J, Petzelbauer P, Schwitter J, Geudelin B, Buser P, Atar D. Impact of time to therapy and presence of collaterals on the efficacy of FX06 in acute ST elevation myocardial infarction: a substudy of the F.I.R.E., the Efficacy of FX06 in the prevention of myocardial reperfusion injury trial. *EuroIntervention* 2010 April;5(8):946-52.

(49) Atar D, Petzelbauer P, Schwitter J, Huber K, Rensing B, Kasprzak JD et al. Effect of intravenous FX06 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction results of the F.I.R.E. (Efficacy of FX06 in the Prevention of Myocardial Reperfusion Injury) trial. *J Am Coll Cardiol* 2009 February 24;53(8):720-9.

- (50) Richardson JS, Wong G, Pillet S, Schindle S, Ennis J, Turner J et al. Evaluation of Different Strategies for Post-Exposure Treatment of Ebola Virus Infection in Rodents. *J Bioterror Biodef* 2011 October 20; (S1).
- (51) Qiu X, Wong G, Fernando L, Audet J, Bello A, Strong J et al. mAbs and Ad-vectored IFN-alpha therapy rescue Ebola-infected nonhuman primates when administered after the detection of viremia and symptoms. *Sci Transl Med* 2013 October 16; 5(207):207ra143.
- (52) Haagmans BL, Kuiken T, Martina BE, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF, van AG et al. Pegylated interferon-alpha protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nat Med* 2004 March; 10(3):290-3.
- (53) Smith LM, Hensley LE, Geisbert TW, Johnson J, Stossel A, Honko A et al. Interferon-beta therapy prolongs survival in rhesus macaque models of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2013 July 15; 208(2):310-8.
- (54) Tleyjeh IM, Kashour T, Hakim FA, Zimmerman VA, Erwin PJ, Sutton AJ et al. Statins for the prevention and treatment of infections: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2009 October 12; 169(18):1658-67.
- (55) Deshpande A, Pasupuleti V, Rothberg MB. Statin Therapy and Mortality from Sepsis A Meta-Analysis of Randomized Trials. *Am J Med* 2014 December 16.
- (56) Madrid PB, Chopra S, Manger ID, Gilfillan L, Keepers TR, Shurtleff AC et al. A systematic screen of FDA-approved drugs for inhibitors of biological threat agents. *PLoS One* 2013; 8(4):e60579.
- (57) Bah EI, Lamah MC, Fletcher T, Jacob ST, Brett-Major DM, Sall AA et al. Clinical presentation of patients with Ebola virus disease in Conakry, Guinea. *N Engl J Med* 2015 January 1; 372(1):40-7.
- (58) Schieffelin JS, Shaffer JG, Goba A, Gbakie M, Gire SK, Colubri A et al. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N Engl J Med* 2014 November 27; 371(22):2092-100.
- (59) Kouznetsova J, Sun W, Martinez-Romero C, Tawa G, Shinn P, Chen CZ et al. Identification of 53 compounds that block Ebola virus-like particle entry via a repurposing screen of approved drugs. *Emerging Microbes Infections* 2014.