

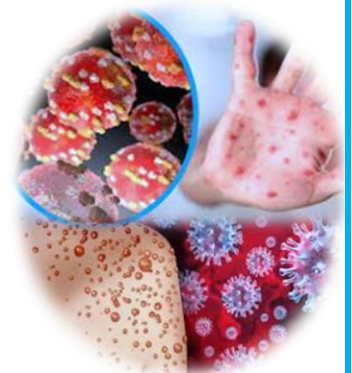
**Ministerio de Salud Pública**  
**Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”**  
**Centro de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia**  
**Departamento de Virología**

Tesis para optar por el Título de Máster en Virología

**Implementación del diagnóstico clínico,  
epidemiológico y virológico de Mpox en  
Cuba, 2022**

**Autora:** Dra. Lirialys Nuñez Quirós

La Habana, 2024



**Ministerio de Salud Pública**

**Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”**

**Centro de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia**

**Departamento de Virología**

Tesis para optar por el Título de Máster en Virología

**Implementación del diagnóstico clínico,  
epidemiológico y virológico de Mpox en  
Cuba, 2022**

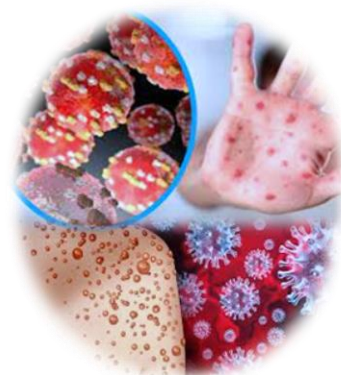
**Autora:** Dra. Lirialys Nuñez Quirós

**Tutores:** Prof. Vivían Kourí Cardellá, Dr.Cs.

Prof. Lic. Yudira Soto Brito, DrC.

**Asesor:** Sonia Resik, Dr.Cs.

La Habana, 2024



## *Agradecimientos:*

*A mi madre, Odalys Quirós Rodríguez por todo el esfuerzo y sacrificio a lo largo de los años.*

*A mi esposo Ricardo Abel, por su paciencia durante todo el proceso*

*A mi familia, por su apoyo y motivación a la hora de seguir adelante.*

*A mis tutoras, por su dedicación, paciencia y sabiduría que han sido fundamentales en el desarrollo de esta investigación.*

*A Maria Caridad Montalvo Villalba, por sus enseñanzas y guía, aun en la distancia.*

*A mis compañeros de curso, especialmente a Celine Naranjo y Darien Fonseca por estar siempre presentes con su empuje diario.*

*A mis amigos Camila Hernández y Hector Granela que han tenido que lidiar con mis momentos de desesperación y ansiedad de una manera impresionante.*

*A mis profesores que han sido fuente de inspiración en mi camino hacia la culminación de esta maestría.*

*Al Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", por la oportunidad inigualable de aprendizaje tanto en la ciencia como de la vida*

*A todas las personas involucradas en esta investigación, a todas, mi eterna gratitud.*

## SÍNTESIS

**Introducción:** Ante la nueva emergencia de Mpox en el mundo fue necesario establecer un sistema de vigilancia clínico-epidemiológica y virológica para la detección temprana de casos sospechosos de Mpox en Cuba. **Objetivo:** Implementar el diagnóstico clínico-epidemiológico y virológico de Mpox en Cuba. **Métodos:** Estudio descriptivo de corte transversal en el periodo agosto-octubre de 2022. Se incluyeron todos los individuos que cumplieron con el criterio de caso sospechoso de Mpox en Cuba. Se realizó el diagnóstico virológico diferencial de los casos sospechosos, y confirmatorio para los casos probables, mediante PCR en tiempo real, así como la identificación de clado para los positivos a Mpox. Los positivos se caracterizaron desde el punto de vista virológico, clínico y epidemiológico. **Resultados:** Se implementó un algoritmo y se identificaron 64 casos sospechosos. El diagnóstico diferencial permitió identificar varios agentes infecciosos: virus de la varicela (9/64; 14%), herpes simple (5/64; 7,8%) y enterovirus (2/64; 3,1%). Solo ocho casos (12,5%) se confirmaron como Mpox (100% clado II). La mayoría de los casos sospechosos (43/64) y confirmados (5/8) eran de La Habana. En las muestras de lesiones en piel se comprobó mayor excreción viral, seguida de las muestras de lesiones anogenitales y por último los exudados nasofaríngeos. La mayor proporción de casos positivos fueron hombres heterosexuales (6/8). En la mayoría de los pacientes no se pudo identificar la ruta de transmisión ni la fuente de infección. Los síntomas clínicos predominantes fueron la fiebre, el rash vesiculopustular y la cefalea. No se encontró otra ITS asociada en los casos confirmados (7/8). **Conclusión:** El brote de Mpox en Cuba tuvo un curso clínico típico de la enfermedad en el contexto de la emergencia sanitaria con una evolución favorable en la mayoría de los pacientes.

**Palabras clave:** Mpox, epidemiología, diagnóstico diferencial, PCR en tiempo real, Cuba.

## LISTADO DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**APOBEC3:** apolipoproteína B

**ARN:** ácido ribonucleico

**ARN:** ácido ribonucleico mensajero

**CB:** cuenca del Congo (CB, del inglés: *Congo Basin*)

**CDC:** Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

**CID:** coagulación Intravascular Diseminada

**COG:** oligómero Conservado del Golgi (COG, del inglés *conserved oligomeric Golgi*)

**CTL:** linfocitos T citotóxicos (CTL, del inglés *cytotoxic T cells*)

**EE.UU:** Estados Unidos.

**ELISA:** Análisis de Inmunoabsorción Ligado a Enzima, (ELISA del inglés *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*)

**ENV:** Enterovirus

**FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*)

**FITC:** cebador Inverso marcado con Fluoresceína (FITC, del inglés *fluorescein-labeled reverse primer*)

**GARP:** proteína retrógrada asociada al Golgi (GARP, del inglés *Golgi associated retrograde protein*)

**HSH:** hombres que practican sexo con hombres

**IFN:** Interferón

**IPK:** Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

**Kb:** kilo base

**MAL:** marco abierto de lectura

**MHC:** complejo mayor de histocompatibilidad (MHC del inglés, *Major Histocompatibility Complex*)

**MINSAP:** Ministerio de Salud Pública

**Mpox:** enfermedad de la viruela símica (Mpox, del inglés: *monkeypox*)

**MPXV:** virus de la viruela del mono (MPXV, del inglés: *monkeypox virus*)

**NK:** células asesinas naturales (del inglés: *natural killer*)

**Nm:** nanómetro

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**OMS-CIOMS:** Normas del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas

**Pb:** pares de base

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, del inglés: *Polymerase Chain Reaction*)

**PCR-TR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT-PCR, del inglés: *Real Time Polymerase Chain Reaction*)

**PMP:** patrones moleculares asociados a patógenos (PMP, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*)

**PRR:** receptores de reconocimiento de patrones (PRR, del inglés *pattern recognition receptors*)

**RCC:** región central codificante

**RDC:** República Democrática del Congo

**RPA:** amplificación por recombinasa polimerasa (RPA, del inglés *amplification by recombinase polymerase*)

**RRA:** amplificación asistida por recombinasa (RRA, del inglés *recombinase assisted amplification*)

**RTI:** repeticiones terminales invertidas

**TNF:** factor de necrosis tumoral (TNF, del inglés *tumor necrosis factor*)

**VE:** viriones envueltos

**VEE:** viriones envueltos extracelulares

**VEI:** viriones envueltos intracelulares

**VHS:** virus herpes simple

**VM:** viriones maduros

**VMI:** viriones maduros intracelulares

**VVZ:** virus varicela zoster

**WA:** África occidental (WA, del inglés: *Western Africa*)

## TABLA DE CONTENIDOS

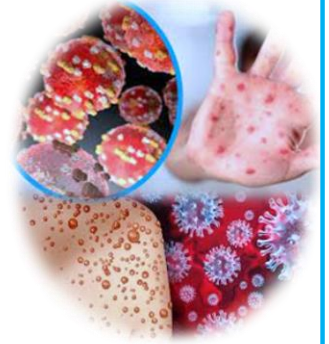
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
I.1. OBJETIVOS.....	5
<i>I.1.1. General.....</i>	<i>5</i>
<i>I.1.2. Específicos.....</i>	<i>5</i>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
II.1. ANTECEDENTES .....	6
II.2. HISTORIA DEL VIRUS.....	7
II.3. AGENTE INFECCIOSO DE MPOX.....	8
II.4. REPLICACIÓN DE LOS POXVIRUS.....	9
II.5. FISIOPATOLOGÍA.....	10
II.6. GENOMA .....	12
<i>II.6.1. Organización del genoma y mecanismo de entrada viral del MPXV.....</i>	<i>12</i>
<i>II.6.2. Evolución del genoma.....</i>	<i>14</i>
II.7. HOSPEDADORES ANIMALES EN LA INFECCIÓN NATURAL .....	14
II.8. INFECCIÓN Y VÍAS DE TRANSMISIÓN.....	15
II.9. PATOGÉNESIS VIRAL.....	15
II.10. RESPUESTA INMUNE.....	16
II.11. EPIDEMIOLOGÍA DE MPXV .....	18
<i>II.11.1. Vigilancia genómica .....</i>	<i>20</i>
II.12. RECONOCIMIENTO CLÍNICO.....	21
II.13. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.....	23
II.14. TRATAMIENTO .....	27
II.15. DIFERENTES TIPOS DE VACUNAS PARA LA INFECCIÓN POR MPOX .....	28
II.16. PREVENCIÓN.....	29
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN, DISEÑO DE ESTUDIO Y CONTEXTO .....	31
III.2. DEFINICIÓN DE UNIVERSO Y MUESTRA.....	31
III.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN PARA EL GRUPO DE CASOS.....	31
III.4. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES .....	32
III.4. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	33
<i>II.4.2. Procesamiento de las muestras .....</i>	<i>34</i>

III.4.3. Extracción del ADN .....	35
III.4.4. Detección de virus del herpes simple y virus de la varicela mediante PCR-TR .....	35
III.4.5. Detección de enterovirus mediante PCR-a punto final .....	36
III.4.6. Detección de Mpox mediante PCR-TR.....	37
III.4.7. RT-PCR para la diferenciación de los clados I y II de Mpox .....	38
III.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	39
III.6. RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN .....	40
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
IV.1. ALGORITMO PARA EL DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO DIFERENCIAL DE MPOX.....	41
IV.2. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS INDIVIDUOS SOSPECHOSOS.....	44
IV.3. FRECUENCIA DEL VIRUS MPXV, VARIANTES GENÉTICAS Y CINÉTICA DE EXCRECIÓN VIRAL EN PACIENTES CON SOSPECHA CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA DE MPOX, EN EL PERIODO AGOSTO-OCTUBRE DE 2022 .....	46
IV.3.1. Distribución del total de muestras recibidas, muestras positivas por provincias y variantes genética identificadas en el periodo de estudio.....	46
IV.3.2. Comportamiento de la positividad en el tiempo, de acuerdo a la localización anatómica de las muestras .....	50
IV.3.3. Cinética de la excreción viral de MPXV en los casos positivos de acuerdo a la localización anatómica de las muestras. Se compararon los promedios de los valores de Ct para los pacientes infectados.....	51
IV.4. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LOS CASOS POSITIVOS A MPOX EN CUBA DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO.....	54
IV.5. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS CASOS POSITIVOS A MPOX EN CUBA DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO .....	57
IV.6. CONSIDERACIONES GENERALES .....	60
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>63</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>64</b>
<b>VIII. ANEXOS .....</b>	<b>79</b>



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN



### I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad viruela símica (Mpox), debe su nombre a que se identificó por primera vez en primates experimentales [monos *cynomolgus* (*Macaca fascicularis*)] en un laboratorio de Copenhague, Dinamarca, en 1958, mientras se trabajaba en la investigación y desarrollo de una vacuna contra los Poliovirus. Durante el período investigativo ocurrieron dos brotes y se reconoció en un pequeño porcentaje de los animales una erupción cutánea parecida a la viruela (1). Sin embargo, no fue hasta 12 años más tarde (1970), que se detectó el primer caso humano en un paciente pediátrico de nueve meses de edad de la República Democrática del Congo (RDC), que presentó fiebre y una erupción similar a la viruela, que duró unas dos semanas. Al examen físico, las lesiones eran vesiculares y mostraban una distribución centrífuga típica de la viruela. Se tomaron muestras y se enviaron al Centro de Referencia para la Viruela de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en Moscú, y se encontró un virus idéntico al virus de la viruela símica, (MPXV, del inglés *monkeypox virus*) (2). De esta forma la enfermedad Mpox queda registrada como una entidad zoonótica (3). Dado que éste fue el primer caso reconocido de Mpox en humanos, se decidió emprender investigaciones epidemiológicas en la RDC (2). Entre 1970 y 1986, se notificaron 10 casos de Mpox en humanos en países de África Occidental (Sierra Leona, Nigeria, Liberia y Costa de Marfil) y 394 casos en los países de la Cuenca del Congo: Camerún, República Centroafricana y Zaire (actualmente RDC) (4). La enfermedad notificada en África Occidental fue menos grave y demostró menos transmisión de persona a persona que la de la RDC, donde los informes iniciales sugerían una transmisión predominante de persona a persona y cadenas de transmisión prolongadas, por lo que la OMS centró sus esfuerzos de vigilancia a partir de 1981 hasta 1986 (2, 5). Sin embargo, a partir de 1990 la vigilancia de Mpox en África disminuyó ya que el número de casos fue significativamente inferior en los años siguientes (6). Estos estudios abordaron las propiedades clínicas, epidemiológicas, ecológicas y biológicas del MPXV, de esta manera se definieron parámetros como morbilidad y letalidad de la enfermedad en humanos, evidenciando que la letalidad fue superior en aquellos pacientes no vacunados contra la viruela (4, 6).

Basándose en análisis filogenéticos de aislados del MPXV, se reconocen dos clados distintos: clado de África Occidental (WA, del inglés *Western Africa*) y de la Cuenca del Congo (CB, del inglés *Congo Basin*). Estos dos clados son geográficamente distintos y presentan diferencias epidemiológicas y clínicas definidas que se pudieron precisar a través de la técnica de secuenciación nucleotídica (7, 8). Se realizó un análisis comparativo que incluyó la secuencia de un aislado conocido de África Occidental y otras dos secuencias que probablemente tenían el mismo origen geográfico, con respecto a genomas de la Cuenca del Congo. El análisis identificó posibles genes de virulencia presentes en las secuencias de la Cuenca del Congo, que no existían en las secuencias de África Occidental (9). Estos elementos constituyen los primeros reconocimientos de las variantes genéticas del virus.

En la década siguiente, se notificaron varios brotes similares, donde se identificaron los mismos clados, pero en lugar de producirse en humanos, se detectaron en colonias de primates de Europa y Estados Unidos (10). En 2003, se notifica el primer brote de Mpox en humanos en Estados Unidos, cuya fuente de contagio eran los perros de las praderas (*Cynomys* sp.) que se encontraban en cautiverio y que pudieron infectarse con MPXV después de haber sido alojados con varios roedores importados desde Ghana. Se confirmó un total de 37 casos en humanos a través de microscopía electrónica, cultivo virológico, PCR para *Orthopoxvirus* y PCR para diferenciación de clados de Mpox, y todos tuvieron una evolución favorable. Este hallazgo pudiera estar relacionado con la procedencia geográfica de los roedores (11), lo que demuestra la baja virulencia del clado WA (9).

Entre los años 2001 y 2016 ocurrieron brotes esporádicos en regiones específicas de la RDC y África Occidental. Un informe de trabajadores de la salud de la RDC indicó que los casos de Mpox se producían con más frecuencia de lo que publicaban los artículos científicos (12), lo que sugiere un aumento en la incidencia de Mpox y una distribución geográfica más amplia. Sin embargo, los datos recopilados son incompletos, lo que dificulta estimaciones realistas de la prevalencia e incidencia de Mpox a lo largo del tiempo. En septiembre de 2017 se reporta el mayor brote de Mpox en Nigeria, pues se confirmaron 101 casos que estaban distribuidos geográficamente por 26 estados, incluida la capital del país (13). Durante los

primeros 11 meses del brote no se notificaron casos fuera de las fronteras del país. Sin embargo, en septiembre de 2018, tres viajeros sin relación epidemiológica, infectados con MPXV salieron de Nigeria y llegaron a Israel y Reino Unido (14, 15). Siete meses más tarde, se reporta un caso de Mpox procedente de Nigeria en Singapur (16). Estas evidencias de la infección viral representan la primera vez que se documenta la transmisión de persona a persona del MPXV fuera del continente africano (17).

MPXV pertenece a la familia *Poxviridae*, género *Orthopoxvirus* cuyos viriones son partículas ovoides cubiertas por una membrana externa lipoprotéica, que le confiere protección. El núcleo contiene un genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) lineal de doble cadena con una longitud de 197 kilo base (kb) (18, 19). En la microscopía electrónica, el núcleo se describe como bicóncavo y tiene un cuerpo lateral a cada lado (20, 21). Aunque el MPXV es un virus ADN, todo su ciclo vital se desarrolla en el citoplasma de las células infectadas y las proteínas necesarias para la replicación viral del ADN, la transcripción, el ensamblaje del virión y la salida, están mediadas por proteínas codificadas por el genoma del MPXV (22, 23).

El término "viruela del mono" fue cambiado a "Mpox" en noviembre de 2022 por la OMS (24). Se cambia el nombre original para evitar estigmas y para ajustarse a las buenas prácticas modernas que prohíben los nombres de enfermedades basados en seres vivos o regiones geográficas y países; debido a lo cual el clado CB y el clado de WA pasan a nombrarse clado uno (I) y clado dos (II), respectivamente. La OMS en 2022 sostiene que el clado de la cuenca del Congo (I) es más letal que el de África Occidental (II). Este último se dividió en dos sub-clados IIa y IIb, por lo que el MPXV quedó dividido en tres clados distintos para representar el descubrimiento histórico del virus (25). Estos tres clados representan una profunda diversidad del MPXV, acumulada durante muchos años de evolución en el reservorio animal y una secuenciación adicional de MPXV desde el reservorio animal podría potencialmente descubrir más clados. El sub-clado IIb, se caracterizó a partir genomas secuenciados entre 2017 y 2019 en el Reino Unido, Israel, Nigeria, EE.UU. y Singapur, y de genomas de los brotes globales de 2022. Dado que los virus de este sub-clado se han transmitido de persona a persona en docenas de países y potencialmente

durante varios años, esto representa una ruta de transmisión distinta de la de casos anteriores de MPXV en humanos (26).

La expansión de la enfermedad se incrementó fuera de África en varios continentes y múltiples naciones en el 2022; principalmente se identificó en la comunidad de hombres que tienen sexo con hombres (HSH), donde la presentación clínica incluyó principalmente lesiones genitales (25, 27). Peculiarmente, algunos casos no tenían antecedentes de haber visitado regiones endémicas o de haber tenido contacto con individuos de esas regiones. Este aspecto sugiere una posible cadena de transmisión no identificada, que podría contribuir a la rápida propagación del MPXV, por lo que fue necesario iniciar acciones de salud para contener la expansión de la enfermedad (28, 29).

El 6 de mayo de 2022 se confirmó el caso índice del brote de Mpox en un residente del Reino Unido y se asoció con un viaje a Nigeria. La secuenciación del primer aislado del 4 de mayo de 2022, proveniente de un paciente en Portugal (30), sugiere que los aislados de MPXV son homólogos a los importados hacia el Reino Unido entre 2018 y 2019, y están genéticamente relacionados con el genoma MPXV nigeriano (31), perteneciente al clado II. Para el 8 de junio de 2022 se habían detectado 1 285 casos en 28 países diferentes, según informó la OMS (32, 33). En América Latina, el primer caso de Mpox se confirmó el 13 de mayo de 2022 en México (34). El 23 de julio del mismo año, el director general de la OMS declaró que el brote de Mpox en varios países constituía una emergencia de salud pública de importancia internacional.

Ante la evidencia de una nueva emergencia de Mpox en el mundo se hace necesaria la implementación de un sistema de vigilancia clínico-epidemiológica y virológica para la detección temprana de casos sospechosos de Mpox en Cuba. Las autoridades de salud del Ministerio de Salud Pública (MINSAP), junto a un grupo de expertos, preparan un plan nacional para el enfrentamiento a esta emergencia, el cual incluye un algoritmo para realizar el diagnóstico diferencial y específico de Mpox en casos sospechosos. Después de implementada la vigilancia se realizó el diagnóstico molecular del primer caso el 20 de agosto de 2022 y a partir de entonces

se comenzó a fortalecer dicha vigilancia en todas las provincias del país. La presente investigación se enmarca en la vigilancia clínica, epidemiológica y de laboratorio para la detección de Mpox y la descripción de los casos diagnosticados en Cuba. El Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” como Centro de Investigaciones, Diagnóstico y Referencia, ante la situación epidemiológica emergente se centró en la implementación de un algoritmo para el diagnóstico clínico-epidemiológico y virológico de Mpox en Cuba. Para ello se tuvieron en cuenta las características clínicas y epidemiológicas de los casos sospechosos, incluyendo el diagnóstico diferencial y la identificación de las variantes genéticas del virus que circularon en el periodo de estudio.

### **I.1. OBJETIVOS**

#### **I.1.1. General**

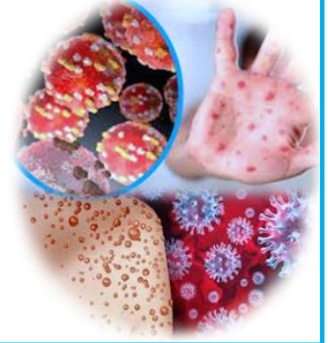
Implementar el diagnóstico clínico-epidemiológico y virológico de Mpox en Cuba.

#### **I.1.2. Específicos**

1. Implementar un algoritmo para el diagnóstico virológico de Mpox.
2. Describir las características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los individuos sospechosos, en el periodo de agosto a octubre de 2022.
3. Identificar el virus Mpox, las variantes genéticas y la cinética de excreción viral en pacientes con sospecha clínica y epidemiológica en el periodo de estudio.
4. Describir las características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los casos confirmados para virus Mpox.

# CAPÍTULO II

## MARCO TEÓRICO



## **II. MARCO TEÓRICO**

### **II.1. Antecedentes**

MPXV causante de la enfermedad Mpox recibe su nombre con base en el animal en el que fue aislado por primera vez, sin embargo, el reservorio principal de las partículas son los roedores. Al inicio de su descubrimiento las infecciones en humanos se limitaban al continente africano y rara vez existía contagio entre personas. La enfermedad en seres humanos se caracteriza por un cuadro sistémico con presencia de lesiones en piel y mucosas, similares a las de la varicela. El cuadro inicial de Mpox se puede confundir con el de la infección por el virus de la varicela-zoster que es más común, sin embargo, las lesiones de Mpox, tienden a ser más uniformes, difusas y de distribución periférica (35).

La similitud en la forma de presentación clínica de las enfermedades causadas por el virus de la viruela y MPXV, al principio de su descubrimiento, condujo a la hipótesis de que MPXV es el ancestro evolutivo del virus de la viruela (3, 36). Las comparaciones entre mapas genómicos o secuencias de genes virales individuales del virus de la viruela y MPXV, según algunos investigadores, demuestran que ambos agentes evolucionaron de forma independiente, sin embargo otros autores difieren con respecto a esta hipótesis pues plantean que el virus de la viruela es el ancestro más reciente de MPXV (8, 37-40). Teniendo en cuenta que para poder ofrecer una respuesta certera es necesario comparar las secuencias completas de ambos genomas, un equipo de investigadores analizó las secuencias de ADN del genoma completo de un aislado humano de Mpox (AF380138) y de la cepa del virus de la viruela (ZAI-96-I-16/MPV-ZAI). Los autores de dicho estudio concluyeron que no existe relación de ancestralidad entre ambos agentes (19).

La enfermedad humana causada por Poxvirus se caracteriza por manifestaciones cutáneas y puede ser localizada o sistémica, dependiendo del tipo de Poxvirus y de la vía de infección. En el caso de MPXV, la infección en su fase aguda se caracteriza por manifestaciones cutáneas similares a las causadas por otros miembros de este género. Los datos históricos indican que la vacunación contra la viruela con el virus vaccinia protegía aproximadamente en un 85% contra MPXV (41). Sin embargo, tras



la erradicación de la viruela en 1980, la vacunación sistemática contra la viruela dejó de estar indicada, y hace ya cuatro décadas que no se aplica ningún programa de vacunación contra *Orthopoxvirus* (42).

## II.2. Historia del virus

El primer reporte que se tiene de una enfermedad similar a la viruela data de un instituto danés, donde existía un suministro continuo de monos macacos *Rhesus* y macacos *Cynomolgus* que se utilizaban para la producción e investigación de vacunas contra los Poliovirus, en ese entonces se reportan dos brotes.

**Foco nº 1:** El primer brote de la enfermedad se inició el 30 de junio de 1958 en monos *Cynomolgus* que habían llegado en avión desde Singapur el 29 de abril de 1958. A partir del 15 de mayo, se produjo un aumento de la mortalidad de estos animales de experimentación debido a neumococos (tipos 19 y 1). Sin embargo, el 30 de junio, se observó una erupción cutánea parecida a la viruela en uno de los monos, dos casos similares se produjeron el 4 y 7 de julio respectivamente. Un sexto y último caso, el 14 de julio. El brote duró dos semanas, afectando a un total de seis animales. Ninguno de los animales restantes mostró signos de la enfermedad.

**Foco nº 2:** El segundo brote se produjo casi cuatro meses después en otro cargamento de monos *Cynomolgus* que había llegado por avión desde Singapur el 18 de septiembre. El 7 de noviembre, tres monos presentaron lesiones cutáneas muy similares a las observadas durante el foco nº 1. Durante los tres días siguientes se observaron otros ocho casos con lesiones cutáneas. Así pues, se observó enfermedad clínica en un total de 11 animales. Un mes más tarde, se observaron lesiones cicatrizadas dispersas en otros 12 animales indicando que habían padecido la enfermedad (1). De esta manera queda descrita la primera aparición de una enfermedad cutánea parecida a la viruela que se reconoce con el nombre de viruela del mono por ser identificada por primera vez en estos animales.

En 1970, 12 años después se detecta el primer caso Mpox en humanos, en un paciente pediátrico de nueve meses de edad, de la RDC (2). Desde la aparición del primer caso y hasta el 2013 ocurrió un incremento significativo de los casos de Mpox humana y la mayoría se notificaron en los países de la cuenca del Congo: Camerún,

República Centroafricana y Zaire (actualmente RDC) y en menor medida en países de África Occidental (Sierra Leona, Nigeria, Liberia y Costa de Marfil); con un incremento de los reportes con el paso de los años. En 2017 y 2018 se registraron brotes significativos en Nigeria y Camerún respectivamente, en lugares donde no se había notificado Mpox humana en más de 20 años. A partir del brote que ocurrió en Nigeria se reconocen los primeros casos de Mpox fuera de África (4, 43, 44) y con estos eventos se anuncia la posible expansión de la enfermedad tanto en África como en el resto del mundo.

### II.3. Agente infeccioso de Mpox

La familia *Poxviridae* es una familia de virus ADN cuyos miembros tienen un genoma lineal de 130-300 kb y se replican en el citoplasma de células. Está compuesta por dos subfamilias: la *Entomopoxvirinae*, que infectan a los insectos, y la *Chordopoxvirinae*, que infectan a los vertebrados. Ambas subfamilias se dividen a su vez en géneros, con similitud genética y antigénica entre sí. Los *Chordopoxvirus* se clasifican en nueve géneros: *Avipoxvirus*, *Capripoxvirus*, *Cervidpoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Molluscipoxvirus*, *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus*, *Suipoxvirus* y *Yatapoxvirus*. Los *Entomopoxvirus* se clasifican en los géneros *Alphaentomopoxvirus*, *Betaentomopoxvirus* y *Gammaentomopoxvirus* (20).

Se reconoce que la familia de los *Poxvirus* tiene un origen evolutivo común con otras cuatro familias de virus ADN, denominados colectivamente virus ADN nucleocitoplasmáticos (45). Estas familias incluyen *Asfarviridae*, que infectan tanto a cerdos como a artrópodos parásitos, *Iridoviridae*, cuyos miembros infectan a invertebrados, peces o anfibios; *Phycodnaviridae*, que contiene virus que infectan algas eucariotas y *Mimiviridae* que sólo infectan amebas (20).

El género *Orthopoxvirus* es el mejor caracterizado, a menudo se describen con forma de ladrillo cuando se observan mediante microscopía electrónica (46). Hasta la fecha, se han descrito cinco *Orthopoxvirus* humanos: MPXV, virus *Akhmeta*, virus *Cowpox*, *Vaccinia* y el virus *Variola* (viruela) (47). Los aspectos zoonóticos y epidemiológicos de MPXV antes de 2003 no estaban bien caracterizados, en parte debido a la falta de investigaciones (48). Sin embargo, en los últimos tiempos debido

a la expansión de MPXV fuera de África las investigaciones han contribuido a ampliar estos aspectos.

#### **II.4. Replicación de los Poxvirus**

Los viriones de los Poxvirus tienen forma ovoide o de ladrillo y constan de una envoltura que rodea una membrana externa, que a su vez rodea el núcleo de ADN de doble cadena, enzimas y factores de transcripción. A diferencia de la mayoría de los virus, los Poxvirus no dependen de receptores de superficie celular, sino que son capaces de unirse y penetrar en la membrana externa de casi cualquier tipo de célula. Los núcleos se liberan en el citoplasma, donde sintetizan inmediatamente ARNm que se traduce en factores de crecimiento, moléculas de señalización celular y de defensa inmunitaria, enzimas y otros factores necesarios para la replicación del ADN y la transcripción intermedia. El desacoplamiento del núcleo permite que el genoma de ADN se replique para formar moléculas concatenadas junto con la transcripción de genes intermedios que, cuando se traducen, proporcionan los ARN tardíos, factores de transcripción.

La transcripción y traducción subsiguientes de los genes tardíos producen proteínas estructurales del virión, enzimas y factores de transcripción tempranos (49). Durante la formación del virión, los genomas de ADN concatenados se dividen en genomas individuales, se empaquetan en las membranas del núcleo y maduran en el citoplasma de la célula para formar viriones maduros infecciosos (VM). Posteriormente, se envuelven en el complejo de Golgi modificadas y se transportan a la periferia de la célula a través de filamentos de actina adheridos. La fusión de los viriones envueltos con la membrana plasmática da lugar a la liberación del virus envuelto (VE) (50).

Los virus ADN tienen tasas de mutación y variabilidad genética mucho más bajas que los virus de ARN con tasas de sustitución de nucleótidos más cercanas a las de sus huéspedes, del orden de  $10^7$  a  $10^9$  mutaciones por sitio en cada ronda de replicación (51). Su estabilidad genética resultante, junto con sus elevados niveles de especificidad de hospedador han conducido a la hipótesis de que muchos virus de ADN coexistan con sus huéspedes (52). Las estrechas relaciones con sus

hospedadores se evidencian por los numerosos factores inmunológicos y celulares que estos virus han obtenido de genes del hospedador por recombinación entre el ADN viral y el del huésped. Esta adquisición de nueva información por parte de los *Poxvirus* puede contribuir a su capacidad para evadir la respuesta inmune del hospedero.

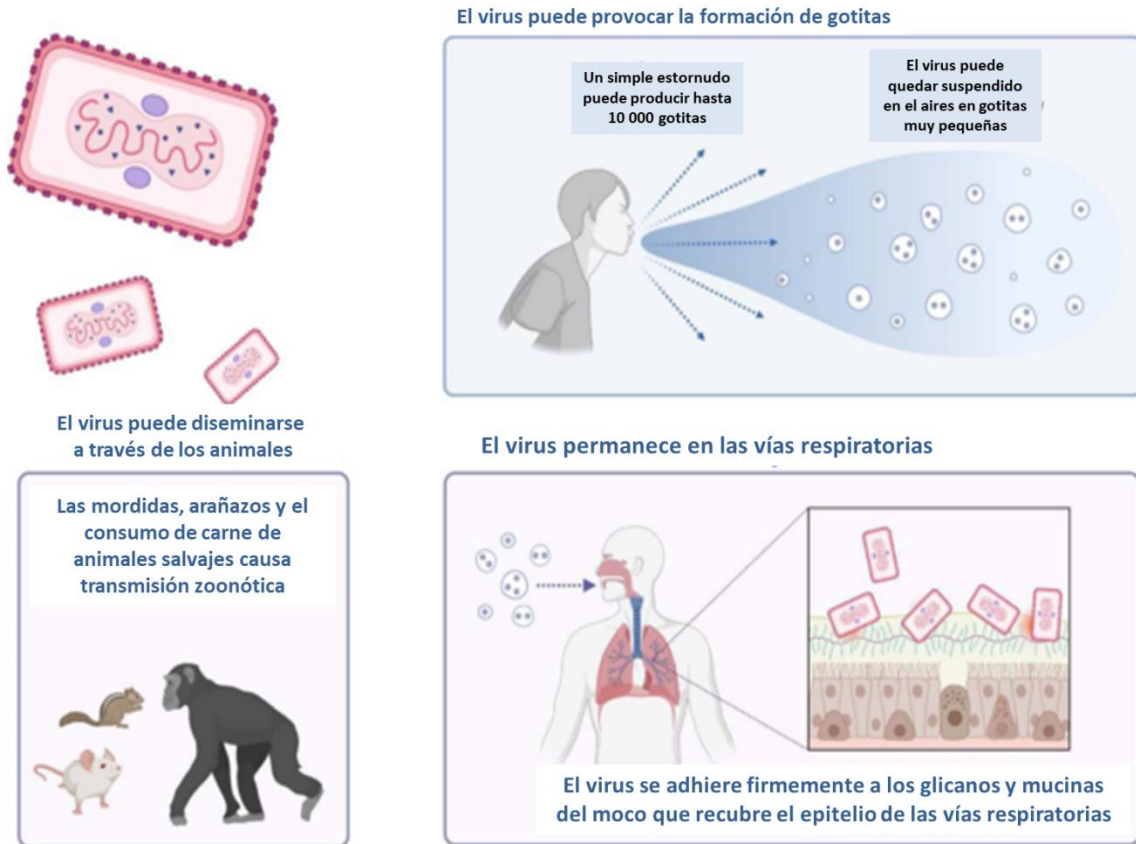
Las investigaciones sugieren que muchos *Orthopoxvirus* cruzan ocasionalmente a otros mamíferos desde poblaciones de roedores, como enfermedades zoonóticas afectando humanos o a través de mutaciones que permiten la colonización de nuevas especies hospedadoras (6, 36, 37, 53). La comprensión de los eventos de cruce de especies permite entender las amenazas que los microorganismos patógenos suponen en la actualidad. Estudios acerca de la evolución de MPXV a través de la secuenciación del genoma, así como la interacción de sus genes con el hospedador, han aportado una mejor comprensión de los mecanismos de infección zoonótica, tropismo viral, adaptación evolutiva y patogénesis del virus (20).

## II.5. Fisiopatología

El ciclo de transmisión de MPXV comienza con la colonización del epitelio respiratorio, tras lo cual se propaga por vía linfática para infectar los principales órganos sistémicos y replicarse en ellos, lo que da lugar a una viremia primaria (Figura. 1) (10).

Durante esta etapa, es prácticamente indetectable en la sangre, pues en condiciones normales será eliminado de manera eficaz por el sistema retículo endotelial. A la viremia primaria le sigue la viremia secundaria, que se produce cuando el virus se libera de los órganos infectados y los tejidos linfoides en la sangre y alcanza el epitelio estratificado de piel y mucosas para dar lugar a erupciones cutáneas y lesiones de las mucosas, respectivamente. Cabe señalar que la gravedad del exantema depende en gran medida de la carga de viriones en el torrente sanguíneo (54). Durante la transición de estas fases y en dependencia de la gravedad, puede producirse un shock debido a la disminución del volumen intravascular masivo; un estudio fisiopatológico de Mpox, reveló que las personas que padecen la forma

hemorrágica de la enfermedad son propensas a la coagulación intravascular diseminada (CID).



**Figura 1.** Muestra el ciclo de transmisión de MPXV, primero entre los animales que constituyen su reservorio y desde su entrada y colonización del epitelio respiratorio hasta llegar a los pulmones, para de ahí por vía linfática llegar a toda la circulación.

**Fuente:** Adaptado de Adnan y cols., 2022 (10).

Pudiera decirse que con el paso del tiempo y la disminución de la inmunidad contra la viruela en la población y con una marcada presencia del clado I en el continente africano, existía un aumento de las complicaciones de la enfermedad, donde la CID era frecuente. Hasta antes del brote del 2022, los pacientes con Mpox presentaban lesiones confluentes y numerosas, con abundante cantidad de líquido en las fases de vesículas y pústulas, que se acumulaba en la región hipodérmica de la piel para reabsorberse en la fase de costras, sin embargo, este panorama cambia durante el brote del 2022, donde la mayoría de los pacientes presentaron lesiones aisladas que

iniciaban en las regiones de los genitales, no confluentes y tuvieron una evolución favorable (10, 55).

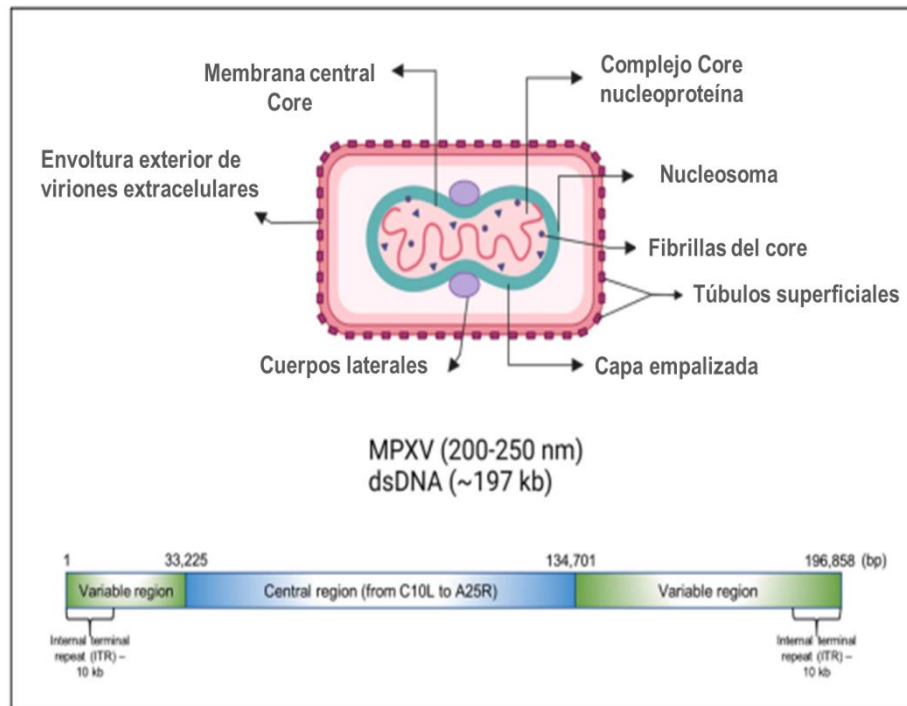
## **II.6. Genoma**

El genoma de MPXV consiste en un ADN lineal de doble cadena, unido de forma covalente en sus extremos por horquillas palindrómicas. Las repeticiones terminales invertidas (RTI) están formadas por horquillas repetidas junto a los marcos abiertos de lectura (MAL). Aunque el MPXV es ADN, todo su ciclo replicativo ocurre en el citoplasma de las células infectadas; todas las proteínas necesarias para la replicación viral del ADN, la transcripción, el ensamblaje del virión y la salida están codificadas por el genoma del MPXV. Los genes que codifican funciones de mantenimiento están muy conservados y se encuentran en la región central del genoma, mientras que los que codifican las interacciones entre el virus y el huésped son menos y se encuentran en la región terminal (18, 21, 37, 56).

### **II.6.1. Organización del genoma y mecanismo de entrada viral del MPXV**

El genoma de ADN de doble cadena de MPXV tiene un tamaño aproximado de 197,2 kb, sin extremos 3' o 5' libres y codifica 181 proteínas. Las repeticiones terminales invertidas (RTI) se sitúan en ambos extremos del genoma (Figura. 2) (10).

Todos los genes están unidos estrechamente y las áreas intergénicas de más de 100 pb no son frecuentes; a diferencia de los genes "de mantenimiento" necesarios para la transcripción, la replicación y la virulencia que son los más comunes. La transcripción, la replicación y el ensamblaje del virión se codifican en la zona central que es la más conservada del genoma. Los genes codificados en los dominios terminales varían entre los distintos Poxvirus y producen proteínas implicadas en la enfermedad y el rango de hospedadores (57, 58).



**Figura. 2.** Muestra la estructura y organización del genoma de MPXV: tamaño medio entre 200 y 250 nm, núcleo con cuerpos laterales, ADN y una envoltura lipoprotéica.  
**Fuente:** Adaptado de Adnan y cols., 2022 (10).

En MPXV, el proceso de endocitosis y la fusión de la membrana celular facilitan su entrada por vía nasofaríngea, orofaríngea, subcutánea, intradérmica e intramuscular. La fagocitosis inflamatoria mediada por el sistema inmunitario se desencadena por la replicación viral en la inoculación, lo que le permite llegar a la sangre, los ganglios linfáticos, amígdalas, médula ósea, bazo y otros órganos. Tras la transcripción y traducción del ARNm de MPXV los viriones maduros intracelulares (VMI) envueltos en membranas derivadas del complejo de Golgi crean viriones envueltos intracelulares (VEI), que se fusionan con la membrana interna de la célula huésped para formar viriones, que después llegarán a las zonas extracelulares para formar viriones envueltos extracelulares (VEE) capaces de iniciar nuevamente el proceso de replicación viral (59).



## II.6.2. Evolución del genoma

La tasa de mutación de los Poxvirus es relativamente baja en comparación con otros virus, aproximadamente de  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  mutaciones por nucleótido por generación, lo que le confiere una mayor estabilidad genómica, sin embargo, los análisis de secuencias del brote de MPXV del 2022 en EE.UU, se compararon con secuencias anteriores y se encontraron mutaciones que si bien no son significativas, anuncian que estos cambios acumulativos podrían traer consecuencias en el curso tal y como se conoce de la enfermedad. Esas mutaciones aparecen principalmente como 5' GA-a-AA dentro del polipéptido de edición catalítica del ARNm de la apolipoproteína B Polypeptide-like3 (APOBEC3), que indica la actividad citosina desaminasa (57, 60). Está reconocido el papel de las proteínas APOBEC3 en los virus ARN, incluido el VIH, sin embargo, se ha demostrado su papel en los virus de ADN, especialmente en los Poxvirus (61). A través de la actividad citosina-a-uracilo desaminasa, las proteínas APOBEC3 son una parte crucial del sistema inmune innato de los vertebrados que bloquea la replicación de virus extraños (57, 62). Se sabe que estos reordenamientos del genoma en los *Orthopoxvirus* pueden facilitar la adaptación del virus en la transmisión, la plasticidad del genoma de los *Orthopoxvirus* es más visible en dos regiones de repeticiones terminales invertidas (RTI) que en los extremos del genoma, donde se encuentran principalmente los factores inmunomoduladores que también afectan a la virulencia del virus (63, 64). La tasa de mutación, adaptabilidad y la evolución genética de MPXV son algunos de los factores que aumentan la transmisibilidad, la virulencia y la evasión de la respuesta inmune. Lo que podría conducir a un aumento de los casos de Mpox en todo el mundo a corto o largo plazo (58).

## II.7. Hospedadores animales en la infección natural

El MPXV es infeccioso en una amplia gama de animales de laboratorio, y se han utilizado varias especies y modalidades para crear varios modelos de animales. Es uno de los Poxvirus más utilizados para generar pequeños modelos animales a través de varias vías de exposición. Las diferentes vías de exposición hacen que los ratones silvestres consanguíneos, los ratones STAT1 y los ratones de raza salvaje



“perros de presa”, lirones africanos y ardillas de tierra se conviertan en modelos animales vulnerables al MXPV (65).

## II.8. Infección y vías de transmisión

La piel se considera la principal fuente de infección del virus (66). Aunque se cree que las gotitas respiratorias pueden transmitir la enfermedad, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE.UU afirman que esta vía necesita contacto cara a cara prolongado debido a la incapacidad de las gotas para desplazarse a gran distancia. La enfermedad se propaga a través de las mordeduras de roedores a humanos y el contacto íntimo con animales vivos o muertos infectados, o fluidos corporales; la transmisión entre humanos se produce por contacto íntimo con lesiones infectadas, gotitas respiratorias o fluidos corporales; patrón que estuvo presente en el brote del 2022. Aunque MPXV no se transmite sexualmente a través del espermatozoides o las secreciones vaginales, durante el 2022, MPXV se detectó en líquido seminal, lesiones genitales y rectales, así como en heces y saliva de casos confirmados en el continente europeo y americano lo que confirma que este brote estuvo directamente relacionado con este tipo de contagio (67, 68). En cuanto a una posible infección congénita, pudiera darse en África, donde la enfermedad es endémica con una evolución temporal reconocida, sin embargo no se cuenta con investigaciones que confirmen esta hipótesis (69, 70).

## II.9. Patogénesis viral

La patogénesis de MPXV implica la entrada, fusión, replicación y liberación del virus, durante las cuales se producen dos formas infecciosas: viriones con envoltura extracelular (VE) y viriones maduros (VM), los que están unidos a una sola membrana y se liberan únicamente durante la lisis de la célula del hospedero, además están los VM especializados que están unidos por una triple membrana antigénicamente distinta que le confiere la propiedad de evadir el sistema inmune (71-74).

En el contexto de los *Orthopoxvirus*, dos complejos de multisubunidades son decisivas para completar el ciclo infeccioso viral: Proteína retrógrada asociada al Golgi (GARP del inglés, *Golgi associated retrograde protein*) y (COG) (COG del

inglés, *Conserved oligomeric Golgi*) (75). El complejo GARP por su parte, es responsable del transporte endosomal retrógrado, para esta función cuenta con cuatro genes de vacuola (VPS)- VPS51, VPS52, VPS53 y VPS54, los cuales fueron encontrados en ambos clados, sin embargo VPS53 está específicamente enriquecido en el clado I, lo que determina posiblemente su virulencia y letalidad (71). Asimismo, el complejo COG, necesario para mantener la estructura del Golgi consta de dos lóbulos, cada uno con cuatro subunidades asociadas (Lóbulo A - COG1, COG2, COG3, COG4, y Lóbulo B -COG5, COG6, COG7, COG8) COG7 y COG8 que están presentes en ambos clados. Se cree que COG4 y COG7 son las subunidades más importantes para la fusión viral (71, 75).

En el 2015, un análisis bioinformático de genomas de MPXV de distintos brotes, que se correspondían con el clado I, reveló dos regiones distintas (R1 – MAL 17 a 32 y R2 - MAL 179 a 193), con la presencia de una delección que podría atenuar la virulencia del virus en humanos, en tal sentido se puede creer que con el tiempo la letalidad histórica del clado I pudiera verse afectada (76). La delección de una o ambas regiones puede reducir la mortalidad y morbilidad a la vez que atenúa la replicación viral. Además, los autores pudieron atribuir a los genes de la región R1 la responsabilidad de la replicación viral, mientras que los de la región R2 son responsables de la patogenicidad viral, por lo que una delección dual de R1 y R2 es la más eficaz para la supresión de la virulencia viral (77). Por lo que MPXV, a pesar de no tener tasas de mutaciones significativas, desde su descubrimiento y hasta la fecha ha presentado cambios en su genoma que, si bien en su momento fueron mínimos, hoy y en el futuro pueden incidir en la forma de presentación y evolución de Mpox en humanos.

## **II.10. Respuesta Inmune**

La respuesta inmune innata constituye la primera línea de defensa del huésped y proporciona una respuesta inespecífica que incluye proteínas antivirales, como los interferones (IFN), citoquinas proinflamatorias, quimiocinas y otras proteínas, todas las cuales están presentes frente a la infección por MPXV y en condiciones normales de inmunidad son capaces por sí solas de detener el avance del virus en el

organismo (78-80). Por otro lado, los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) en esta infección se encargan de reconocer el ADN, el ARN, la envoltura o las proteínas del núcleo a través de un sistema de reconocimiento denominado receptores de reconocimiento de patrones (PRR), el mecanismo sensor activador del huésped basado en estos PRR incluyen sensores activados por ARN de doble cadena, sensores duales ARN/ARN, sensores activados por ADN y receptores *Toll-like*. Todas estas moléculas efectoras son las encargadas de mediar la respuesta inmune adaptativa para contener la infección (81, 82).

La activación de genes proinflamatorios tiene un papel fundamental en el desarrollo de la respuesta inmune del huésped y depende de la activación de los factores de transcripción, incluyendo el factor nuclear *kappa-light-chainenhancer* de células B activadas (NF- $\kappa$ B) y el activador 1 (AP1) (83). Además, el gen 88 de respuesta primaria a la diferenciación mieloide (MyD88) y el adaptador inductor de IFN- $\beta$  que contiene el dominio del receptor Toll/interleucina-1 (TRIF) son las vías que comparten moléculas descendentes comunes y permiten la activación de estos genes que son capaces de desencadenar un proceso inflamatorio localizado. Los *Poxvirus* codifican diversas clases de proteínas inmunomoduladoras para inhibir la apoptosis, la actividad de los linfocitos T citotóxicos (CTL) y de las células *natural killer* (NK). Estas proteínas, además, pueden inhibir la producción de IFN, quimiocinas, citocinas inflamatorias, así como la activación del complemento, y la producción de anticuerpos. (84, 85).

La respuesta inmune adaptativa en la infección por *Poxvirus* está regulada por la expresión del Complejo de Histocompatibilidad (MHC) de clase I y la inmunidad celular incluye células inmunitarias citolíticas, especialmente células NK y CTL, que son necesarias para la rápida identificación y eliminación de las células infectadas por el virus (86). La capacidad de MPXV de desencadenar un estado de inactividad del (MHC) representa un mecanismo único para bloquear la activación de células T antivirales y la producción de citoquinas inflamatorias y es probablemente un atributo importante relacionado con la diseminación viral en el huésped infectado. Se ha observado que la infección por este virus induce una expansión masiva de las células NK que posteriormente tendrán una disminución en su capacidad de migración a los

tejidos en fases tempranas de la infección lo que reduce la función citotóxica y la secreción de citoquinas (87-89).

### **II.11. Epidemiología de MPXV**

MPXV es un patógeno tropical, zoonótico y desatendido que se encuentra en varias regiones del continente africano siendo endémico de RDC y con antecedentes bien documentados de infección humana. Entre 1970 y 1979, los casos notificados de Mpox en África Occidental y Central se concentraron en zonas remotas y rurales de RDC. Mientras que entre 1970 y 1971, Sierra Leona, Liberia y Nigeria, que anteriormente no habían registrado casos de Mpox, experimentaron un repentino aumento de la incidencia de la enfermedad en población previamente vacunada contra la viruela. La aparición de MPXV fuera de sus regiones endémicas no es un acontecimiento raro, se han notificado varios brotes en zonas no endémicas, incluidos los EE.UU en 2003 y el Reino Unido, Israel y Singapur en 2017; relacionados principalmente a viajeros que regresan de regiones endémicas o a la exposición con roedores infectados. No obstante, estudios epidemiológicos del brote de Mpox del 2017 en Nigeria ya alertaban de los cambios acumulativos que había presentado MPXV y su posibilidad de repetir, esta vez a una escala mayor y en regiones donde antes no se había identificado la enfermedad. Hasta el 2021, la enfermedad tenía características bien definidas que no guardan relación con lo que sucedió en el 2022, donde todo el panorama de la enfermedad cambió en cuanto a su forma de presentación, su alcance y rápida propagación; siendo la primera vez en la historia del virus y la enfermedad que ocurría un evento de esta magnitud (2, 90-95). Para el 5 de agosto de 2022, un mínimo de 88 países habían notificado la transmisión del virus de persona a persona y este número aumentó exponencialmente en pocos días (96). El aumento súbito de casos de Mpox en países en los que nunca antes se había detectado provocó temores de una posible pandemia. Diagnosticar y tratar MPXV se volvió un reto, así como identificar las rutas de transmisión, que durante este brote estuvo marcada por el contacto estrecho con una persona infectada. Esto llevó a que la OMS declarara el brote como emergencia de salud pública de importancia internacional (97). El patrón de transmisión de este último brote indica que a diferencia de los anteriores, la mayoría de los casos de

Mpox se dan en Europa y América. El primer caso de este brote fuera de África se notificó en Europa en mayo de 2022, y se extendió rápidamente a otros países. Desde el 5 de agosto de 2022, se notificó como brote mundial de Mpox con un total de 28.220 casos confirmados en 88 países y 1.685 casos sospechosos. El primer caso en EE.UU se registró el 18 de mayo, y poco después, hubo nuevos pacientes infectados en Australia, Israel y Brasil. Durante los meses de mayo y junio de 2022, se notificó un número significativo de casos confirmados de Mpox, con una tendencia al incremento, en agosto de 2022 se disparan los casos confirmados, con más de 5000 casos notificados en los primeros cinco días del mes. Lamentablemente en este período, se registraron muertes por Mpox en países no endémicos, lo que fue aún más alarmante (98). Se notificaron casos de infecciones espontáneas por MPXV en Europa y los EE.UU, principalmente en hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), sin establecer ninguna conexión epidemiológica con las regiones de África Central y Occidental, poniendo en evidencia una nueva forma de transmisión que antes no se había identificado. Desde el 21 de septiembre de 2022, la mayoría de los casos de Mpox se empezaron a notificar en EE.UU y fueron disminuyendo paulatinamente en Europa (99). Análisis de las personas afectadas por el brote reveló que la mayoría de casos (97,4%) eran hombres, con una edad media de 35 años. La orientación sexual de la mayoría de los pacientes (97,5%) era como HSH y sólo el 1% se identificó como bisexual. Un estudio francés confirmó la presencia de MPXV en muestras anorrectales de HSH que no presentaban ningún síntoma (100). La mayoría de los casos confirmados de Mpox se notificaron en Europa y las Américas, con 14 países (incluidos Reino Unido, España, Alemania, Francia, Portugal, Italia, Suiza, Bélgica, EE.UU., México, Canadá, Países Bajos, Brasil y Perú) lo que representa más del 90% de todos los casos notificados. Mientras tanto sólo se notificaron 345 casos en siete países africanos donde el MPXV ha sido endémico en el pasado. Por otra parte, los países asiáticos reportaron menos casos; Israel notificó 160 casos, mientras que los países del Sudeste Asiático y Oriente Medio, como Emiratos Árabes Unidos, Singapur, India, Arabia Saudí, Tailandia, Qatar, Taiwán, Japón, Corea del Sur y Filipinas notificaron un número reducido de casos. Sólo Australia registró 58 casos de Mpox y unos pocos países de Oceanía notificaron un

número limitado de casos. La mayoría de los casos de Mpox notificados en Europa y América se detectaron a través de clínicas locales de salud sexual, sin conexión alguna con las regiones endémicas de África (101, 102).

### II.11.1. Vigilancia genómica

Tradicionalmente, los estudios de epidemiología molecular de MPXV han descrito dos clados conocidos como "África Occidental" y "África Central o cuenca del Congo". Sin embargo, con el fin de aplicar un enfoque no discriminatorio con la nomenclatura se sugiere el uso de clados alfanuméricos. Con las primeras secuencias genómicas obtenidas del brote de 2022 de diferentes países, como Portugal, España, Francia, Suiza, Italia, Eslovenia, Países Bajos, Alemania, Reino Unido, Israel, EE.UU y Brasil, se describe la epidemiología molecular que sugiere la presencia de un doble origen ya que la mayoría de las secuencias se agrupan en los clados B.1 y A.2, que derivan del clado II, el clado B.1 parece ser un clado emergente que divergió del A.1. (brote de 2018-2019) (103-105).

### Clados MPXV: similitudes y diferencias

Los *Orthopoxvirus* son antigénica y genéticamente similares, con MAL que tienen >90% de identidad de secuencia entre sus miembros (19). Estos virus están sometidos a cambios evolutivos impulsados por la pérdida progresiva de genes, principalmente en los extremos terminales del genoma y que podrían acelerarse por la presión selectiva de una determinada especie hospedadora. (63, 106). Otra teoría que explica el aumento de la habilidad viral para la infección y la transmisión en humanos son las variaciones en el número de copias de los genes que determinan funciones esenciales (107). El genoma de MPXV humano (MPXVh) contiene cerca de 190 MAL no solapados, cada uno de ellos de más de 60 residuos aminoacídicos, que se relacionan con la pérdida de genes (63). La secuencia altamente conservada de la región central codificante (RCC) se localiza en las posiciones nucleotídicas 56.000-120.000 y está envuelta por extremos variables que contienen las RTI (49, 106, 108).

El clado I tiene una mortalidad de casos estimada del 10% en individuos no vacunados con transmisión humana-humana conocida, mientras que el clado II se ha

asociado a una forma más leve de la enfermedad con una mortalidad y una transmisión humano-humana menos evidente (42). Los estudios genómicos comparativos han revelado una diferencia de nucleótidos de 0,55-0,56% entre ambos clados (109). El clado I posee 173 genes funcionales únicos y el clado II cuenta con 171, ambos se reconocen como idénticos en un 99,4%, compartiendo 170 genes ortólogos a nivel proteínico sin diferencias significativas en las secuencias transcripcionales reguladoras (66, 109). Entre los genes de virulencia, 53 de 56 se encontraron en ambos clados, por lo que la virulencia evidente del clado I está determinada por los genes de virulencia ausentes en el clado II, junto a la presencia de 61 cambios de aminoácidos conservados, 121 cambios aminoacídicos silenciosos y factor antiinflamatorio (6, 76, 77, 109). Sin embargo, estos genes no son los únicos factores responsables de la virulencia, aún quedan muchos elementos por dilucidar, que probablemente tengan un papel crucial en la virulencia de ambos clados.

## **II.12. Reconocimiento clínico**

El período de incubación de Mpox se ha estimado entre 5 y 21 días, y la duración de los síntomas y signos entre dos y cinco semanas. La enfermedad comienza con síntomas y signos inespecíficos que incluyen fiebre, escalofríos, cefalea, letargo, astenia, inflamación de los ganglios linfáticos, dolor de espalda y mialgia (dolor muscular). Debe señalarse que la fiebre siempre antecede a las erupciones; aproximadamente entre uno y cinco días después de la aparición de la fiebre aparecen erupciones de diversos tamaños, primero en la cara y luego en todo el cuerpo. La erupción pasa por varias etapas de evolución, desde máculas, pápulas, vesículas (ampollas llenas de líquido) y pústulas seguidas de costras, que desaparecen con la recuperación. En la forma clásica de la enfermedad pueden parecer al mismo tiempo diferentes estadios clínicos de la erupción y se acompaña de inflamación de la mucosa faríngea, conjuntival y genital. Por tal motivo la presentación clínica de Mpox es difícil de distinguir de la viruela (38, 54, 110). Aunque las manifestaciones clínicas de Mpox son más leves que las de la viruela, la enfermedad puede ser mortal, con tasas de mortalidad que oscilan entre el 1% y 10%. La mortalidad es mayor en niños y adultos jóvenes y el curso es más grave en inmunodeprimidos (111). Se han descrito una serie de complicaciones: infecciones



bacterianas secundarias, dificultad respiratoria, bronconeumonía, encefalitis, infección corneal con la consiguiente pérdida de visión, afectación gastrointestinal, vómitos y diarrea con deshidratación. Las linfadenopatías se observan hasta en el 90% de los pacientes y parecen ser una característica clínica patognomónica de Mpox respecto a la viruela (112).

En cuanto a la vacunación previa contra la viruela, se sabe que le confiere cierta protección cruzada contra Mpox, lo que puede modificar el cuadro clínico hacia una enfermedad más leve. Entre 1980 y 1990, la presentación clínica de Mpox empezó a cambiar, observándose con más frecuencia casos primarios entre personas no vacunadas contra la viruela, en comparación con los vacunados. El cuadro clínico descrito para los no vacunados era más grave, con erupciones más abundantes y polimórficas, así como con una tasa de mortalidad mayor (11, 113, 114).

El diagnóstico diferencial primario es la varicela grave con lesiones en palmas y plantas. Las lesiones de la varicela son más superficiales y se producen en racimos del mismo estadio, con manifestaciones más densas en el tronco que en la cara y las extremidades. Debido a la naturaleza inespecífica de los síntomas y signos de Mpox, debe realizarse una amplia variedad de diagnósticos diferenciales, que van desde la varicela, el *molluscum contagiosum*, sarampión, infecciones por *Rickettsias spp.*, infecciones cutáneas bacterianas (como las causadas por *Staphylococcus spp.*) ántrax, sarna, sífilis y reacciones a fármacos, así como otras causas no infecciosas de erupción cutánea. Un signo clínico que diferencia Mpox de la varicela es la presencia de ganglios linfáticos agrandados, en particular submaxilares, cervicales e inguinales (112, 115).

El brote de 2022, tiene características únicas que divergen de los conocimientos previos de la enfermedad clínica. Los datos notificados de más de 500 casos internacionales de MPXV indican que el 95% de los pacientes presentaban una enfermedad eruptiva de nueva aparición, y el 64% de ellos tenían menos de 10 lesiones. Lo más común fueron las lesiones primarias genitales, anales y de la mucosa oral, y se pensó que estas lesiones representaban una infección en el lugar de inoculación. Los síntomas prodrómicos muchas veces estuvieron ausentes y se



encontraron lesiones en diferentes estadios de progresión. Las presentaciones graves incluyeron proctitis, uretritis, faringitis, miocarditis, linfadenopatías y sobreinfección bacteriana. Históricamente, las infecciones graves han estado relacionadas con el clado I, con cuadros de encefalitis, septicemia, bronconeumonía, queratitis, vómitos/diarrea/deshidratación y muerte. Quedó registrado que el clado II b fue el protagonista de este brote, donde a pesar de reportarse muertes en regiones geográficas donde nunca antes habían identificado la enfermedad, la mayoría de los pacientes presentó una evolución favorable (11, 27).

### **Población susceptible**

Históricamente la población susceptible a esta enfermedad quedaba circunscrita al continente africano y en general todas aquellas personas, independientemente de la edad, que vivían en las zonas endémicas y rurales eran más propensas a enfermar. Sin embargo, después de 2022 la población susceptible contemporánea consiste principalmente en adultos que trabajan, que suelen tener redes sociales, contactos más amplios y son más proclives a participar en actividades que implican el riesgo de exposición a personas enfermas o animales enfermos. Además, los ancianos, los individuos inmunodeprimidos, los niños y las personas con enfermedades crónicas subyacentes, corren un mayor riesgo de enfermedad grave, así como las mujeres embarazadas infectadas por MPXV presentan un alto riesgo de mortalidad materna y pérdida del embarazo (17, 116-122).

### **II.13. Pruebas diagnósticas**

Dado que el cuadro clínico de Mpox es muy similar al de la varicela y al de la viruela, el diagnóstico diferencial es clave. Aunque las características clínicas resultan útiles para distinguir las infecciones por Mpox de otras infecciones que causan erupciones vesículo-pustulosas, se requiere la confirmación de laboratorio para un diagnóstico definitivo. Los diversos ensayos diagnósticos para Mpox incluyen aislamiento viral y microscopía electrónica, métodos esenciales para el diagnóstico de laboratorio de las infecciones por Poxvirus. Se cuenta además con el PCR, determinación de IgM e IgG mediante ELISA, ensayos de anticuerpos inmunofluorescentes y análisis histopatológico. Desafortunadamente, algunos de estos métodos son relativamente

inespecíficos e incapaces a la hora de diferenciar la infección por MPXV de la infección por otros Poxvirus. El aislamiento viral (que puede lograrse mediante células de mamífero) y la caracterización mediante diversas técnicas de PCR, seguidas de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción o secuenciación nucleotídica suelen considerarse pruebas definitivas para la identificación de MPXV (123).

Además, la disponibilidad de varios métodos en los últimos años, ha aumentado el número de ensayos de PCR en tiempo real que utilizan dianas panortopoxvíricas o específicas de MPXV (124, 125). Durante la enfermedad activa, la confirmación de laboratorio puede realizarse mediante el análisis por PCR a partir de la lesión en cualquier estado en que se encuentre. Así mismo, el hallazgo de anticuerpos anti-Poxvirus en un individuo con antecedentes de enfermedad grave y erupción cutánea sugiere un diagnóstico de Mpox (126).

El principal método de laboratorio utilizado actualmente para detectar el MPXV es el PCR-TR es un ensayo de alta especificidad y sensibilidad, para estos ensayos, la muestra clínica más adecuada es un hisopo de lesión que pueden estar secos o almacenados en un medio de transporte viral. Para aumentar la sensibilidad diagnóstica, deben recogerse frotis de cada tipo de lesión, las lesiones deben limpiarse enérgicamente, si es posible, para garantizar una transferencia adecuada del material que contiene ADN y en cada corrida se debe incluir un control interno endógeno como el ADN RNAsa P (53). El segundo ensayo se realiza posteriormente para diferenciar los clados de MPXV, teniendo en cuenta que ambos comparten una identidad de secuencia del 99% para esta identificación la diana más efectiva es el factor de necrosis tumoral (TNF) situado en la región de RTI, que contiene muchos polimorfismos de nucleótidos e inserciones/deleciones entre los dos clados. Para el diagnóstico diferencial de MPXV se deben incluir pruebas concomitantes para virus de la varicela-zoster (VVZ), virus del herpes simple (VHS) y enterovirus (ENV). Si no se dispone de ensayos de amplificación de ácidos nucleicos, como el PCR-TR, pueden considerarse otras en función de la indicación clínica y de la disponibilidad de recursos de laboratorio. (53, 127, 128).

Se sabe que este tipo de diagnóstico molecular, depende de sofisticados equipos de control de temperatura o de captura de señales de fluorescencia, que sólo eran disponibles en los países desarrollados, quedando fuera de esta tecnología gran parte de las regiones donde existe una elevada incidencia y prevalencia de la enfermedad (129, 130). La pandemia de (COVID-19) permitió una mejora de la capacidad de muchos países de bajos y medianos ingresos en la ampliación de las pruebas moleculares diagnósticas, a día de hoy casi la totalidad de los laboratorios dispone de al menos un equipo para realizar estas técnicas. Así mismo con la emergencia sanitaria del 2022 y la posibilidad real de que ocurra otra vez, se han realizado más esfuerzos para mejorar la detección de MPXV en todo el mundo, actualmente se exploran métodos de amplificación isotérmica como alternativa al PCR-TR y amplificación por recombinasa polimerasa (RPA, del inglés *amplification by recombinase polymerase*) sensible a Mpox en 20 min, métodos de utilidad sobre todo en el enfrentamiento a brotes (131-134). No obstante, la necesidad de un laboratorio bien estructurado y la complejidad de la extracción y manipulación de las muestras siguen siendo un gran reto para su uso sobre el terreno. La amplificación asistida por recombinasa (RAA del inglés *recombinase assisted amplification*) es una alternativa prometedora debido a su sencillez, alta sensibilidad, amplificación rápida y funcionamiento a temperatura ambiente (135). El proceso RAA consiste en un cebador inverso marcado con biotina y un cebador inverso marcado con fluoresceína (FITC del inglés *fluorescein-labeled reverse primer*) que determinan conjuntamente la sensibilidad y la especificidad, utilizando la enzima recombinasa para insertar los cebadores y las sondas en la plantilla de doble cadena a una sola temperatura, lo que permite la captura de amplicones con pocos recursos mediante flujo lateral simple (136). Las tiras de flujo lateral acopladas a RAA permiten el procedimiento de detección más sencillo con la misma sensibilidad. Además, el mayor impedimento para la adaptación sobre el terreno es la preparación de la muestra, que suele ser de varios pasos que requiere columnas o perlas magnéticas y depende del laboratorio (137, 138). Se cree que la preparación de la muestra en un solo paso y la tecnología de detección rápida permite un mejor diagnóstico de Mpox por este método con una sensibilidad de detección de ADN viral inferior a 10 copias. El ensayo puede

realizarse sin necesidad de pipetas o instrumentos de laboratorio, y los resultados se presentan en forma de lectura visual. Es un sistema de diagnóstico rápido para la detección precisa y en el punto de atención del MPXV, especialmente útil en las áreas endémicas o en regiones que tengan brotes frecuentes (139).

### **Análisis de anticuerpos específicos de los *Orthopoxvirus***

Las pruebas actuales utilizadas para diagnosticar y confirmar la infección por Mpox se basan únicamente en la identificación del virus lo que resulta un método limitado una vez que la infección aguda ha desaparecido. En este sentido la detección de anticuerpos mediante ELISA es una opción fundamental para la confirmación de los casos sospechosos. Las pruebas mediante el ELISA de vaccinia tienen una sensibilidad del 98% y una especificidad del 100% para detectar la inmunidad antiviral, con títulos de anticuerpos en individuos no vacunados por debajo de 100 unidades ELISA (UE) (140), útil para el diagnóstico en personas menores de 35 años (es decir, nacidos después de suspendida la vacunación sistemática contra la viruela). Este ELISA es capaz de detectar la relación de anticuerpos Mpox/vaccinia y aunque existe una importante reactividad cruzada entre *Orthopoxvirus*, se reconocen epítomos de anticuerpos adicionales en Mpox, que al ser específicos permite una mejor identificación en este tipo de ensayo (141).

### **Cuantificación de células T específicas de *Orthopoxvirus***

Este estudio se realiza a partir del análisis de tinción de citocinas intracelulares para diagnosticar Mpox mediante la cuantificación de la respuesta de células T específicas de *Orthopoxvirus* y se basa en la producción de interferón (IFN)- $\gamma$  y factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . La técnica utiliza un punto de corte diagnóstico de 200 células T IFN $\gamma$ +TNF- $\alpha$ +CD8+ por  $10^6$  células T CD8+, con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100%. Esta es la primera demostración de un método de diagnóstico basado en células T capaz de distinguir clínicamente individuos infectados por Mpox de los contactos no expuestos, lo que proporciona una confirmación independiente del resto de los estudios serológicos (142).

### Identificación de epítomos de anticuerpos

La existencia de nuevos epítomos potenciales de Mpox se reconoce a partir de que muchos pacientes con la enfermedad muestran una mayor respuesta de anticuerpos contra Mpox que contra la vaccinia, debido a que no están presentes en el genoma de vaccinia, se incluyen D2L, B18R, N2R, N3R y B21R, que son péptidos superpuestos para el cribado de epítomos de anticuerpos lineales. A partir de estos productos genéticos (D2L, B18R, N2R y N3R), el extremo carboxilo del gen N3R presenta una sensibilidad de 67% para identificar casos de Mpox en pacientes no vacunados, una sensibilidad de 38% para los casos de Mpox en pacientes vacunados y un 88% de especificidad entre los contactos no infectados. En conjunto, este resultado indica que los péptidos lineales constituyen un método eficaz y sensible para el diagnóstico de Mpox (47, 143).

### II.14. Tratamiento

La atención clínica de Mpox se centra en el alivio los síntomas, tratar las complicaciones y prevenir las secuelas a largo plazo. Lo primero es tomar las medidas generales, mantener al paciente hidratado y con un estado nutricional adecuado; tratar cualquier infección bacteriana secundaria, (144, 145). En el enfrentamiento de los distintos brotes de la enfermedad se han empleado indistintamente medicamentos antivirales, algunos más recomendados que otros. El Tecovirimat es uno de los antivirales más empleado, aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA del inglés, *Food and Drug Administration*) desde hace más de dos décadas para tratar la enfermedad tanto en adultos como niños (146, 147). Por su parte el brincidofovir es una formulación reciente que se administra por vía oral sobre todo en regiones donde la enfermedad es endémica, con un perfil de seguridad elevado y con la posibilidad de alcanzar en el futuro cercano una cobertura mayor (148). Así mismo se investigan nuevas dianas terapéuticas como la timidilato quinasa, necesaria para la replicación y reparación del ADN y la proteína de la cápside (D13L) que es importante en la morfogénesis de la partícula viral. Ambas de interés notable, pues formulaciones que inhiban la acción de estas proteínas detendrían la evolución de la enfermedad.(149).

La inmunoglobulina Vaccinia (VIG) contra MPXV es una alternativa a los fármacos antivirales y se autorizó en 2018. Los anticuerpos se obtienen del plasma de individuos inmunes a la viruela para crear inmunidad pasiva, sin embargo su aplicación en individuos inmunodeficientes es cuestionada, ya que contiene cantidades de maltosa que pueden los niveles de insulina, puede interferir con las pruebas serológicas y requiere precaución para los perfiles renales (150-154).

### **II.15. Diferentes tipos de vacunas para la infección por Mpox**

Se ha demostrado que la vacunación contra la viruela proporciona un 85% de inmunización contra la infección por Mpox. Aproximadamente 50 años después del cese de la inmunización, con el aumento del número de individuos infectados con Mpox, se detectó la reemergencia de esta enfermedad. Por lo tanto, Mpox fue categorizada como una enfermedad emergente por la OMS en 2018 (155). Desde la década de 1960 hay evidencias de que las respuestas inmunológicas exclusivas de la vacuna contra la viruela pueden proteger contra Mpox. Existen dos vacunas de primera generación accesibles para prevenir la viruela en Estados Unidos, la ACAM2000 y la JYNNEOS. Dichas vacunas muestran eficacia para reducir la prevalencia de Mpox, sin embargo, las vacunas de segunda generación no están permitidas, debido a sus efectos secundarios (156, 157). Aunque las vacunas actuales ofrecen protección cruzada contra Mpox, no son específicas para el virus. Su eficacia a la luz de la reciente epidemia en varios países aún está por determinar. Además, debido a la eliminación y a la interrupción de las inmunizaciones contra la viruela durante cuatro décadas, MPXV encontró la forma de resurgir, con nuevas características.

### **Métodos tradicionales de vacunación contra Mpox**

Las vacunas convencionales contienen cepas vivas de vaccinia, cepas vivas atenuadas defectuosas en uno o más genes virales y vacunas inactivadas. Las vacunas de virus vivos atenuados utilizadas se encuentran entre las más reactogénicas de todas las vacunas aceptadas por la FDA. Desde el punto de vista de la biodefensa, estas preocupaciones sobre la inocuidad de las vacunas serían de importancia secundaria frente a la necesidad de romper rápida y eficazmente la

cadena de transmisión y disminuir la prevalencia (158, 159). Actualmente hay tres vacunas contra la viruela disponibles en la Reserva Farmacéutica Nacional (NPS del inglés, *National Pharmaceutical Stockpile*) de Estados Unidos: JYNNEOSTM (también conocida como IMVANEX, IMVAMUNE, y MVA-BN), ACAM2000®, y la Vacuna contra la Viruela de Aventis Pasteur (APSV del inglés, *Aventis Pasteur Smallpox Vaccine*), que podrían ser utilizadas contra la viruela bajo un protocolo de uso en emergencia (160).

Los nuevos métodos de vacunación contra la Mpox incluyen partículas similares a virus, proteínas recombinantes, ácidos nucleicos y vacunas basadas en nanopartículas (161, 162).

## II.16. Prevención

Para prevenir Mpox, la principal estrategia consiste en concientizar sobre los factores de riesgo y educar a las personas sobre las medidas que se deben tomar para reducir la exposición al virus (163). Lo principal es minimizar el riesgo de que la enfermedad se propague de persona a persona. Para contener un brote es fundamental llevar a cabo la vigilancia e identificar los nuevos casos lo antes posible. Se sabe que el contacto estrecho con una persona infectada con MPXV es el factor de riesgo más importante para contraer la enfermedad, por ello las parejas sexuales y los convivientes del hogar son los más propensos a contagiarse. Además, los trabajadores sanitarios que atiendan a pacientes o manipulen muestras de Mpox, a los que se les recomienda seguir las medidas establecidas para el control de infecciones (112). Por otro lado, la manipulación de animales infectados por MPXV debe ser llevada a cabo por personal entrenado y con todos los medios necesarios. Para ello, debe evitarse tocar sin protección a animales salvajes, especialmente cuando están enfermos o muertos, así como manipular o consumir su carne o su sangre (164).

Asimismo, Mpox puede reducirse limitando el comercio de animales, lo cual se ha logrado en algunos países del mundo donde se han promulgado leyes que imponen restricciones a las importaciones de roedores y de primates no humanos. Si se sospecha que los animales cautivos están infectados con Mpox, deben ser puestos



en cuarentena inmediatamente, llevar a cabo una manipulación y vigilancia estrecha de acuerdo con las precauciones estándares (165).

### **Profilaxis previa a la exposición**

Además de los aspectos anteriores, las autoridades sanitarias, incluido el Comité Asesor y de Prácticas de Inmunización (ACIP), han recomendado la vacunación pre y post-profilaxis para un grupo específico de personas (166). Para la profilaxis pre-exposición se recomienda la vacunación con las vacunas aprobadas por la FDA (ACAM2000® y JYNNEOSTM) para los trabajadores sanitarios con mayor riesgo de exposición directa a *Orthopoxvirus*. Entre ellos se pueden incluir técnicos y trabajadores de laboratorio, personal clínico implicado en la gestión de enfermedades virales, equipos de respuesta frente a brotes y equipos de vacunación y diagnóstico, así como científicos que trabajen con muestras clínicas de Mpox. Por lo tanto, se deben proponer protocolos de vacunación adecuados para garantizar la seguridad de este personal (167-170).

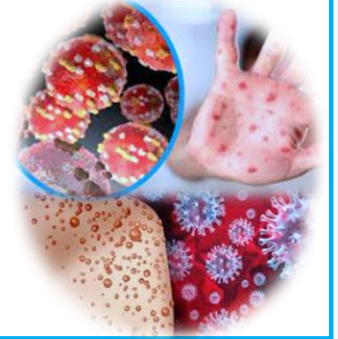
### **Profilaxis post-exposición (PPE)**

Se recomienda la PPE tras el contacto sin protección con la mucosa cutánea de una persona infectada o con sus fluidos corporales, saliva, lesiones, cavidad oral, ropa, ropa de cama, entre otros (167). También puede ser necesaria para las personas que compartan espacios cerrados durante largos periodos (alrededor de 3 h o más) con la persona infectada, lo que puede exponerlas a los viriones a través de las secreciones en aerosol. Además, la vacunación post-exposición sólo está recomendada por la FDA y los CDC para exposiciones de alto grado en las que existe un posible riesgo de contraer el virus, pero no una confirmación predictiva, como en el caso de las personas expuestas directamente (171, 172). Por lo tanto, con la orientación informada por los CDC, la vacunación post-exposición debe realizarse después de aproximadamente cuatro días y en un periodo de 4-14 días para evitar el desarrollo de la enfermedad (153). Si se realiza después del periodo de dos semanas, no se puede prevenir la aparición de la enfermedad; sólo se reduce (173).



# **CAPÍTULO III**

## **MATERIALES Y MÉTODOS**



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **III.1. Tipo de investigación, diseño de estudio y contexto**

Se realizó un estudio de corte transversal con componente analítico para implementar un algoritmo que permitió el diagnóstico temprano de Mpox en los pacientes sospechosos que se identificaron en Cuba, así como el diagnóstico diferencial con el virus de la varicela, virus del herpes simple y enterovirus. De esta manera se identificó la presencia del virus en los pacientes sospechosos, y en las muestras que resultaron positivas se determinó la variante genética del virus presente. Al mismo tiempo se describieron las características sociodemográficas y clínicoepidemiológicas de los individuos sospechosos y confirmados.

#### **III.2. Definición de universo y muestra**

El universo de estudio estuvo constituido por todos los individuos que cumplían con el criterio de caso sospechoso y que estuvieron de acuerdo con participar en la investigación. Todos los casos sospechosos se incorporaron a la investigación durante el período comprendido entre agosto de 2022 y octubre de 2022. Se consideraron dentro del universo a todas las personas que arribaron al país por cualquier frontera marítima o terrestre, así como los individuos de todas las provincias dentro del territorio nacional que cumplieron con el mismo criterio durante el período de estudio.

#### **III.3. Criterios de inclusión para el grupo de casos**

##### **Definición de caso sospechoso**

Persona de cualquier edad procedente de áreas no endémicas, que tuviera un nexo epidemiológico con un caso confirmado, o historia de viaje al exterior en los 21 días previos a la aparición de alguno de los siguientes signos o síntomas: rash inexplicado, dolor de cabeza, fiebre de 38,5 °C o más, linfadenopatías, mialgia y astenia. Se incluyeron todos los individuos que cumplían con el criterio de caso sospechoso previamente definido, después del 15 de marzo de 2022, momento en que se da la alerta epidemiológica (174).

**Definición de caso probable**

Persona que cumpla con los criterios de caso sospechoso y que tenga un resultado negativo para el diagnóstico diferencial (virus de la varicela zóster, herpesvirus y enterovirus).

**Definición de caso confirmado**

Caso probable, que se confirma mediante la detección del ADN de MPXV por PCR en tiempo real (29, 53), mentalmente competente, y que acepten voluntariamente incorporarse a la investigación.

**III.4. Operacionalización de las variables**

**Tabla 1.** Operacionalización de las variables para la detección de Mpox en Cuba.

<b>Variables</b>	<b>Tipo</b>	<b>Escala</b>	<b>Descripción</b>
<b>Edad en años Mediana</b>	Cuantitativa discreta por intervalos	<18 18-30 >30	Años cumplidos al momento de la entrevista
<b>Sexo biológico</b>	Cualitativa nominal dicotómica	Femenino Masculino	Según sexo biológico.
<b>Color de la piel</b>	Cualitativa nominal politómica	Blanca Mestiza Negra	Según color de la piel.
<b>Orientación, preferencia o tipo de práctica sexual</b>	Cualitativa nominal politómica	Heterosexual HSH MSM Asexual Bisexual	Tipo de preferencia y práctica habitual de sexo con parejas sexuales de diferente sexo, del mismo sexo o de ambos sexos, respectivamente.
<b>Identidad de género</b>	Cualitativa nominal politómica	Transexual Transgénero No binario	Según la autodefinición de género.
<b>Lugar de Procedencia</b>	Cualitativa nominal dicotómica	Cuba Exterior	Lugar de donde procede el individuo en el momento que acude a los servicios de salud.
<b>Provincia de residencia</b>	Cualitativa nominal politómica	La Habana Matanzas Villa Clara Artemisa Isla de la Juventud Cienfuegos	Provincia donde residen los pacientes de acuerdo a su documento de identidad. Según información del modelo de envío de muestras.
<b>Escolaridad</b>	Cualitativa nominal politómica ordinal	Sexto Noveno Pre-Univ. /Téc. Medio	Último grado de escolaridad alcanzado.

<b>Estado civil</b>	Cualitativa nominal politómica	Soltero Casado Unión consensual Divorciado Viudo	Situación legal o no legal que conlleve a la convivencia y práctica o no de relaciones sexuales con una pareja de otro sexo. Dato tomado de la encuesta y de la historia clínica.
<b>Seropositivo al VIH</b>	Cualitativa nominal dicotómica	SI NO	Según información aportada por el participante y recogida en la encuesta
<b>Antecedentes de Infecciones de transmisión sexual (ITS)</b>	Cualitativa nominal dicotómica	SI No	Antecedentes de infección por Virus de Papiloma Humano, Gonorrea, Chlamydias, Sífilis, Trichomonas, VIH, Herpes Genital, Micoplasmas /Ureaplasmas.
<b>Presenta lesiones visibles</b>	Cualitativa nominal dicotómica	SI NO	Examen clínico realizado por el facultativo dentro de los que se describe al menos uno de los siguientes: Úlcera genital, lesión ulcerada en ano, lesión ulcerada en la boca, lesiones en piel.
<b>Hallazgos al examen físico</b>	Cualitativa nominal dicotómica	SI NO	Síntomas y signos referidos por el participante y al examen físico dentro de los que se describe al menos uno de los siguientes: lesiones en piel y mucosas en cualquier estadio, fiebre, adenopatías, malestar general, faringitis.
<b>Diagnóstico clínico presuntivo</b>	Cualitativa nominal dicotómica	SI NO	Según diagnóstico clínico realizado por el facultativo dentro de los que se describen al menos uno de los siguientes: Mpox, Herpes virus, Enterovirus, Varicela, Proctitis.

**Fuente:** Modelo de recogida de datos

### III.4. Técnicas y procedimientos

A todos los participantes se les colectó muestras de exudado de lesiones en piel y mucosas, independientemente de la localización, y exudado nasofaríngeo, según fuera el caso. Se utilizaron hisopos de dacrón para lograr la descamación de las células epiteliales y se colectaron las muestras en dos tubos, uno con medio de transporte virológico y otro tubo seco estéril.

Los especímenes fueron colectados por profesionales entrenados pertenecientes a las instituciones implicadas en el estudio, donde se priorizó en todo momento la privacidad y seguridad de los participantes involucrados (175, 176). Teniendo siempre en cuenta, que esta enfermedad es altamente contagiosa por lo que se emplearon los equipos de protección personal necesarios, que se cambiaron entre cada paciente.

Una vez colectadas las muestras, se conservaron a 4°C y se enviaron de inmediato al laboratorio de Biología Molecular del departamento de Virología del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), manteniendo la cadena de frío (177).

El personal calificado le explicó a cada participante cómo se realizaría el estudio, empleando un lenguaje claro y sencillo para facilitar su comprensión. Los individuos, después de recibir toda la información necesaria, decidieron su participación o no en el estudio. Tras conocer su aprobación en participar, se solicitó el consentimiento firmado (Anexo 1), para constancia dentro de la documentación que avaló la investigación. Se explicó la necesidad y el beneficio de conocer la presencia o no de la infección, haciendo hincapié en la voluntariedad. Se les explicó las ventajas de participar en la investigación, así como su derecho de retirarse de la misma en el momento que lo creyeran oportuno sin consecuencias negativas para su tratamiento y atención médica.

Cada participante recibió un código único que identificó tanto las muestras clínicas, así como a los documentos acompañantes. La identidad y/o correspondencia entre el código de identificación único, tanto para las muestras clínicas como los documentos acompañantes del paciente, solo fue de conocimiento por el médico asistente. La información se brindó verbalmente a los individuos por un profesional calificado, con un lenguaje claro y sencillo para facilitar su comprensión.

### **II.4.2. Procesamiento de las muestras**

Las muestras se recibieron de dos formas: una muestra en tubos con medio de transporte virológico y otra muestra en tubos secos (donde la muestra se sometió a hidratación con 1ml de agua libre de nucleasas). Previo a la extracción todos los especímenes fueron homogenizados mediante agitación vigorosa con vórtex

(VortexMixer VM-10, DAIHAN Scientific Co., Ltd., Corea). Seguidamente, las muestras se dividieron en alícuotas de 0,5 mL; una alícuota se destinó a la extracción del ADN y el resto se conservó a -80 °C para estudios posteriores, o para repetir el proceder, en los casos que fuera necesario.

### **III.4.3. Extracción del ADN**

Para la extracción del ADN se emplearon 200 µL de cada muestra. Este procedimiento se realizó empleando el estuche comercial QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania), siguiendo las indicaciones descritas por el fabricante. Finalmente se obtuvo ADN purificado diluido en 50 µL de tampón de elusión, el cual se almacenó a -20 °C hasta la detección de los agentes infecciosos mediante técnicas moleculares.

### **III.4.4. Detección de virus del herpes simple y virus de la varicela mediante PCR-TR**

Para la detección de los casos positivos a VHS se utilizó el estuche comercial Sacace™ HSV I/II Real-TM (Sacace Biotechnologies, Italia), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este estuche permite la detección simultánea de VHS, serotipos 1 y 2. El sistema de PCR-TR cualitativo contiene una mezcla de cebadores y sondas para detectar VHS tipos 1 y 2 de forma simultánea y un control interno (suministrado por el fabricante) que se incluyó desde el proceso de extracción del ADN. La amplificación del control interno se visualizó en el canal de fluorescencia JOE, HEX, VIC o Cy3 (*Yellow*, Amarillo), mientras que las muestra clínicas positivas a VHS 1 y 2 se detectaron indistintamente en el canal de fluorescencia FAM (*Green*, Verde). Los ciclos de amplificación y todo el procedimiento técnico se describen en el inserto del estuche disponible en el sitio ([www.sacace.com/manuals.htm](http://www.sacace.com/manuals.htm)).

Para la detección del VVZ se realizó una PCR-TR casera en termociclador programable LightCycler 96 (Roche Diagnostics, EE.UU) con el estuche comercial Quantinova (Qiagen, Alemania), según las indicaciones del fabricante. Se utilizó un juego de cebadores y una sonda específica para la región de la ADN polimerasa viral a una concentración entre 1-5 pmoles de oligonucleótidos y sonda. Lo que resultó en una mezcla constituida por 9 µL de agua, 5 µL de mezcla universal de PCR

Quantinova (Qiagen, Alemania) y 1 µL de la mezcla de oligonucleótidos y sonda (entre 1-5 pmoles de cada uno por reacción). Los productos amplificados positivos para el VVZ se detectaron en el canal de fluorescencia Rox (*Orange*, Naranja). Las secuencias de los cebadores y sonda diseñados a partir de una región del gen que codifica para la ADN polimerasa viral aparecen fueron descritos previamente por Benjamin y cols., en 2013 (178).

El análisis de los resultados se realizó de forma similar al descrito en el acápite III.4.6.

#### **III.4.5. Detección de enterovirus mediante PCR-a punto final**

Para la detección de los casos positivos a enterovirus, se empleó una PCR casera a punto final, y posteriormente una PCR anidada donde se identificaron cuatro enterovirus (PAN ENTERO): CA24v, CA6, CA16, EV71. La detección del producto amplificado se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, para lo cual se mezclaron 7 µL del producto de la reacción de PCR con 3 µL del tampón de corrida. Se aplicaron 5 µL de un patrón de peso molecular y de los controles positivos. La electroforesis se realizó aplicando un voltaje de 120 V durante 30 min. El ensayo se calificó exitoso cuando se visualizaron los productos de amplificación correspondientes con la talla esperada en los controles positivos empleados en la prueba. En las muestras positivas se visualizó la amplificación correspondiente al tamaño del producto de amplificación con la talla de 114 pb. En la tabla 2 se muestran las secuencias de los cebadores utilizados tanto para la primera PCR como para la reacción anidada, que fueron descritos por Yang y cols., en el 2003 (179).

**Tabla 2.** Cebadores para la amplificación de enterovirus mediante PCR a punto final.

<b>Cebador</b>	<b>Secuencia</b>	<b>Talla del producto amplificado (pares de bases)</b>
<b>EV-PCR2 (s)</b>	5'-TCCGGCCCCCTGAATGCGGCTAATCC-3'	114
<b>EV-PCR1 (a)</b>	5'-ACACGGACACCCAAAGTAGTCGGTTCC-3'	

**Leyenda:** **s:** sentido positivo, **a:** antisentido o sentido negativo. **Fuente:** (179).

#### **III.4.6. Detección de Mpox mediante PCR-TR**

Para la detección de los casos positivos a Mpox se empleó el estuche comercial Genes2life PoxVir detect kit para la detección de MPXV mediante PCR en tiempo real (Real-TM). Para cada reacción de amplificación se utilizaron 5µl del ADN purificado de cada muestra clínica y el sistema de detección *PoxVir detect Primer Mix y RNAsaP Primer Mix (Genes2life Efficiency by design, México)*, siguiendo las instrucciones del fabricante. El sistema de PCR-TR cualitativo empleado contiene una mezcla de cebadores y sondas, específicos para identificar la presencia del agente viral (Tabla 3) y un control interno. Esto último permitió controlar el proceso para cada muestra clínica, e identificar posibles inhibiciones de la reacción de amplificación. Ambas amplificaciones se visualizaron en el canal de fluorescencia FAM (*Green, Verde*); por lo que las preparaciones de las mezclas se realizaron en tubos separados.

Se emplearon controles positivos y negativos para la validez del ensayo con el fin de comprobar la ausencia de señal en el control negativo y la correcta amplificación en el control positivo. De igual manera se verificó la amplificación correcta del control interno en cada muestra con un Ct  $\leq 37$ , lo que validó la calidad de las muestras. Se consideraron positivas las muestras con una curva de amplificación sigmoideal que se elevara antes del ciclo 39, en el canal de fluorescencia específico para la amplificación de Mpox. La muestra se consideró negativa ante la presencia de una curva de amplificación en el canal de lectura para el control interno, pero no así en el canal de Mpox. La muestra se consideró inhibida, en los casos que no se detectó el control interno, de manera que se repitió el procedimiento desde el inicio de la extracción del ADN. Los controles positivos y negativos que se incluyeron en cada ensayo fueron suministrados por el fabricante del estuche comercial. Los ciclos de amplificación y todo el procedimiento técnico se describen en el inserto del estuche disponible en el sitio *genes2life poxVir detect monkeypox kit comercial* - Búsqueda (bing.com) Catálogo G2LPVSP-01.



**Tabla 3.** Cebadores y sonda para la detección de MPXV mediante PCR-TR en muestras clínicas.

<b>Cebador</b>	<b>Secuencia</b>
<b>G2R_G forward</b>	5'-GGAAAATGTAAAGACAACGAATACAG-3'
<b>G2R_G reverse</b>	5'-GCTATCACATAATCTGGAAGCGTA-3'
<b>sonda G2R_G</b>	5'FAM-AAGCCGTAATCTATGTTGTCTATCGTGTCC-3'

**Fuente:** <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/monkeypox>

### III.4.7. RT-PCR para la diferenciación de los clados I y II de Mpox

Para la identificación de los clados de Mpox se empleó un estuche comercial *TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix (2X)*, *No AmpErase® UNG* marca *Applied Biosystems* (EE.UU), siguiendo las instrucciones del fabricante. Este ensayo permitió la detección de cuatro marcadores genéticos: Mpox, Clado I, Clado II y RNAsaP. Todas las secuencias unidas al fluoróforo FAM (*Green*, Verde) por lo que las preparaciones de las mezclas se realizaron en tubos de forma independiente. El análisis de los resultados se llevó a cabo de forma similar al descrito en el acápite III.4.6. En la tabla 4 se muestran las secuencias de los cebadores y sondas para la identificación de los clados I y II de MPXV.

**Tabla 4.** Cebadores y sondas para la identificación de los clados genéticos de MPXV mediante PCR-TR en muestras clínicas.

<b>Clado I</b>	
<b>Cebador G2R FW</b>	5'-CACACCGTCTCTTCCACAGA - 3'
<b>Reverse</b>	5'-GATACAGGTTAATTTCCACATCG - 3'
<b>Sonda</b>	5'-FAM-AACCCGTCGTAACCAGCAATACATTT - 3' <b>BHQ1</b>
<b>Clado II</b>	
<b>Cebador C3L FW</b>	5'-TGTCTACCTGGATACAGAAAGCAA - 3'
<b>Reverse</b>	5'-GGCATCTCCGTTTAATACATTGAT - 3'
<b>Sonda: CL3</b>	5'-FAM - CCCATATATGCTAAATGTACCGGTACCGGA - 3' <b>BHQ1</b>

**Fuente:** <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/monkeypox>

Para identificar la cinética de excreción viral en los pacientes confirmados con Mpox, se tuvo en cuenta la realización de un PCR-TR para MPXV a partir de muestras seriadas de las lesiones y de exudados nasofaríngeos (Acápite III.4.6). Se tuvieron en cuenta las localizaciones de las lesiones, así como el tiempo de evolución de la enfermedad. Considerando que a menor Ct mayor excreción viral, se promediaron todos los valores de Ct de cada paciente, según la localización de cada muestra.

### **III.5. Consideraciones Éticas**

El presente estudio se realizó de acuerdo con la última revisión de la Declaración de Helsinki y de las Normas del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (OMS-CIOMS) (180, 181). Los individuos, después de recibir toda la información necesaria, decidieron de manera libre y espontánea su participación en la investigación. El personal calificado le explicó a cada uno cómo se realizaría el estudio, con un lenguaje claro y sencillo para facilitar su comprensión, así como la necesidad y el beneficio de conocer si tenían o no la infección por MPXV.

En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado firmado por cada participante al momento del estudio. El contenido del consentimiento hizo hincapié en la voluntariedad, se les explicó las ventajas de participar en la investigación y su derecho de retirarse en el momento que lo consideren oportuno sin consecuencias negativas para su tratamiento y seguimiento. Tras conocer su aprobación en participar, se solicitó el consentimiento firmado para que conste dentro de la documentación que avaló la investigación (Anexo 1). Se entregó una copia del consentimiento informado a cada participante para futuras referencias. En caso de menores de edad, el consentimiento fue igualmente explicado a los padres o tutores quienes conjuntamente con el menor fueron responsables de dar su aprobación al estudio. Dada la situación de emergencia en la que se desarrolló esta investigación, el resto de los casos sospechosos que se presentaron formaron parte de la vigilancia epidemiológica establecida por el país. Los resultados del diagnóstico sirvieron de retroalimentación al médico de asistencia y se informaron a las autoridades del MINSAP, por la connotación de la enfermedad a nivel nacional e internacional. Las muestras se trasladaron en sistema de triple empaque cumpliendo las normas de

calidad y de bioseguridad y las metodologías establecidas en el PNO del laboratorio, para el manejo de las muestras, así como para realizar la disposición final de los desechos.

**Relación riesgos/beneficios para los participantes en la investigación y para la comunidad involucrada**

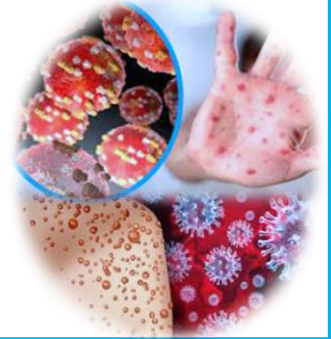
La investigación no entrañó ningún tipo de riesgo para los participantes, sino que los benefició con un diagnóstico certero que resultó en un tratamiento adecuado, lo que además contribuyó indirectamente a la comunidad al ser esta una enfermedad decretada como una emergencia de salud pública de importancia internacional.

**III.6. Recolección, procesamiento y análisis de la información**

Los datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes estudiados se recogieron en una base de datos en Microsoft Excel versión 15.0, bajo un número único y un código solo conocido por el médico de asistencia y el investigador responsable. Se describieron las características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los individuos estudiados, para lo cual se realizaron tablas de frecuencias absolutas y relativas.

# **CAPÍTULO IV**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IV.1. Algoritmo para el diagnóstico virológico diferencial de Mpox

El MINSAP y un comité de expertos, propuso la elaboración de un algoritmo para el diagnóstico virológico diferencial y su aplicación al momento de identificarse casos sospechosos o probables de Mpox, pues no existían registros previos de la enfermedad en el país. El IPK se destinó como unidad ejecutora principal de esta actividad y poco tiempo después de la alerta epidemiológica se establecieron las pautas para enfrentar la emergencia en el país. En la Figura 3 se muestra el flujograma establecido para el diagnóstico virológico diferencial de Mpox en Cuba.

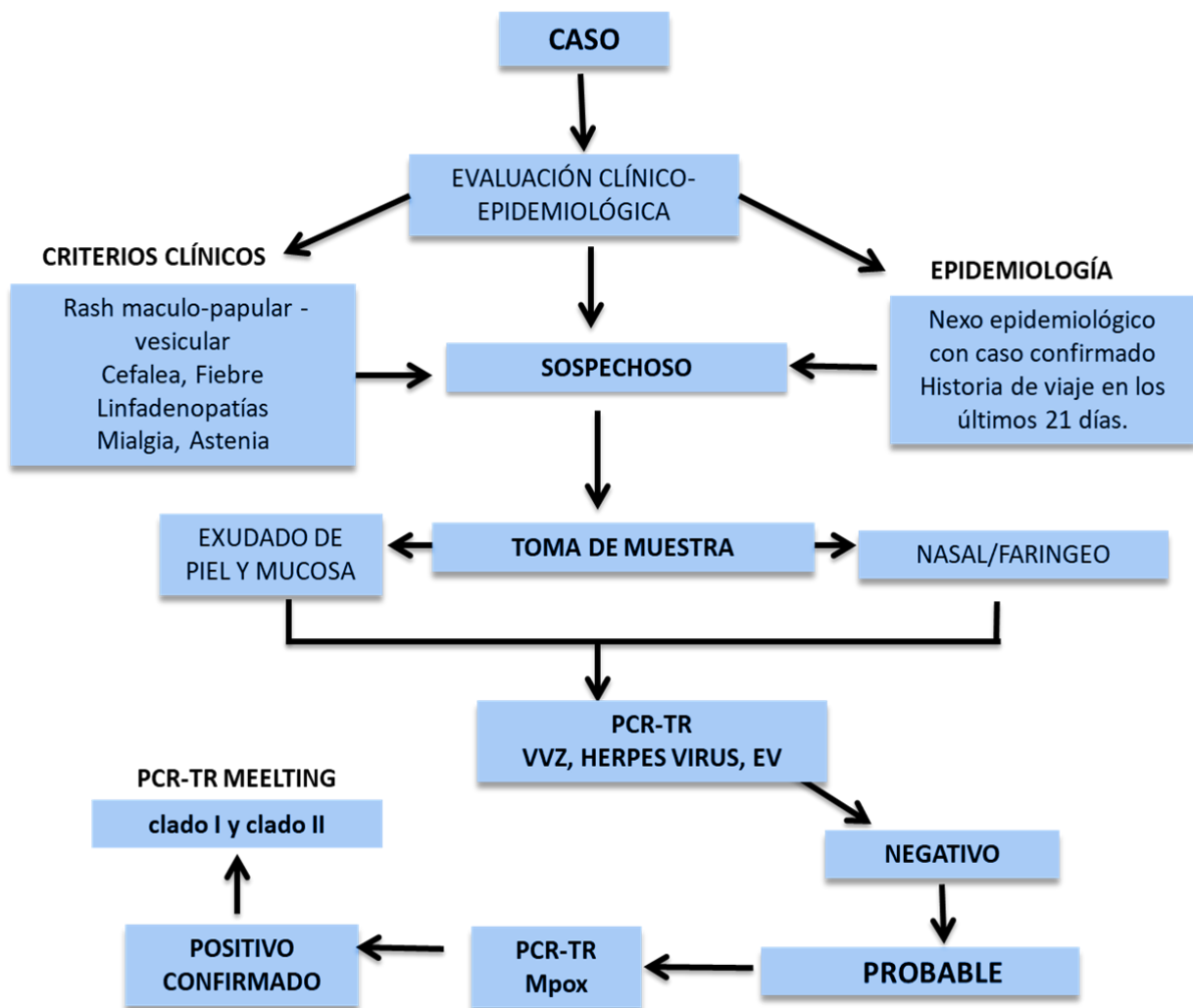


Figura 3. Flujograma de trabajo para el diagnóstico diferencial y confirmado de Mpox

Desde el inicio de la alerta epidemiológica se puso en marcha un protocolo que tenía como premisa tomar muestra a todo paciente sospechoso de la enfermedad y su correspondiente aislamiento hasta tener el resultado del estudio. El MINSAP estuvo al frente, manteniendo activa la vigilancia en todo el país, y el IPK asumió tanto el diagnóstico molecular del agente viral como la hospitalización y tratamiento de todos los casos positivos. Una vez identificado un caso sospechoso, el paciente fue aislado en la institución de salud más cercana a su localidad, para la realización de la primera encuesta epidemiológica. Al mismo tiempo se dio parte al MINSAP y se procedió a tomar las muestras por el personal capacitado. Las muestras se trasladaron al IPK en triple empaque, siguiendo las recomendaciones de bioseguridad y calidad para muestras clínicas de alta contagiosidad. Cada paciente sospechoso se mantuvo aislado hasta conocer los resultados del diagnóstico diferencial o confirmado para Mpox. A partir de un caso, se realizó en primer lugar una evaluación clínicoepidemiológica; teniendo en cuenta que el paciente debía presentar rash macular, papular o vesicular, acompañado siempre de uno o más de los siguientes signos o síntomas: cefalea, fiebre, linfadenopatías, mialgia y astenia. En cuanto a la epidemiología, debía tener un nexo epidemiológico con un caso previamente confirmado con la enfermedad, o historia de viaje en los últimos 21 días, antes del inicio de los síntomas. En ese momento el paciente sería evaluado como sospechoso y se procedió al diagnóstico diferencial de VVZ, VHS y ENV, que causan cuadros clínicos similares. Para ello se realizó la toma de muestras de lesiones en piel, mucosas y exudados nasofaríngeos. Posteriormente se les realizó una PCR-TR para la identificación de los agentes en todos los tipos de muestras. Aquellos pacientes en los que no se logró identificar ninguno de estos virus se clasificaron como casos probables de Mpox. En dichos casos se realizó una PCR-TR para la confirmación de la infección por MPXV y a todos los casos positivos se les realizó una segunda PCR-TR que permitió la identificación de los clados. Para la realización de este algoritmo se revisaron guías de manejo de casos sospechosos y confirmados que se confeccionaron en el contexto del brote del 2022. En primer lugar, se siguieron las pautas de la OPS/OMS para la detección y el diagnóstico de la infección por MPXV, para los países en los que nunca antes habían tenido la

presencia del virus. Estas pautas estuvieron basadas en reconocer la sola presencia del género *Orthopoxvirus* para la confirmación de los casos (182). Arranz y cols., plantean una conducción de los casos desde la atención primaria, con evaluación clínica, epidemiológica y realización de pruebas diagnósticas al momento de la sospecha (183). Dichos autores, ante cada caso confirmado evaluaron la necesidad de ingreso hospitalario o no, con seguimiento clínico buscando la aparición de complicaciones o enfermedad grave. La presente investigación utilizó un algoritmo que no coincide con el protocolo utilizado por los autores españoles, ya en el caso de Cuba todos los casos sospechosos se hospitalizaron y contaron con seguimiento y atención especializada.

En Nigeria en el 2019, una actualización en el manejo de los brotes plantea la necesidad de identificar los casos sospechosos activos y retrospectivos, con el objetivo de tener una mejor vigilancia. Conociendo que ese es un país con un comportamiento endémico de la enfermedad, las directrices estuvieron encaminadas al ingreso en los centros sanitarios de todos los casos sospechosos, confirmación de diagnóstico, pesquisa activa de contactos y alta del centro una vez que las lesiones hubieran remitido (184). A pesar de que este no es el comportamiento en nuestro país, el manejo coincide con el algoritmo que se tuvo en cuenta en la presente investigación.

Se recibió el 100% de las muestras de los pacientes con una sospecha clínica y epidemiológica para su confirmación; al tratarse de una entidad clínica que nunca antes había sido registrada en el territorio. Para la realización del diagnóstico de MPXV, se incluyeron a todos los pacientes procedentes de un área donde ya se había reportado algún caso confirmado y que tuviera síntomas y signos compatibles con la enfermedad. Se realizó la PCR-TR a partir de cualquier muestra clínica que el médico de asistencia consideró necesaria, sin embargo, las muestras ideales fueron exudados de lesiones en piel y mucosas, raspados, costras a partir de la dermis y exudado nasofaríngeo. Los casos positivos se trasladaron de manera rápida y tomando todas las medidas de bioseguridad al centro hospitalario del IPK donde recibieron la atención requerida y se mantuvieron aislados hasta la resolución de la enfermedad y tener una PCR negativa a MPXV. Los casos probables que resultaron

negativos a la PCR de MPXV, se regresaron a su área de salud para seguimiento médico.

#### IV.2. Características sociodemográficas y clínico-epidemiológicas de los individuos sospechosos

Desde el establecimiento de la vigilancia de Mpox se recibieron un total de 64 casos sospechosos procedentes de distintas provincias del país y del extranjero. Las características sociodemográficas y clínicoepidemiológicas de los individuos sospechosos se describen en la tabla 5.

**Tabla 5.** Características sociodemográficas de los casos sospechosos de Mpox en Cuba en el periodo de estudio.

<b>Variab</b> les	<b>Rangos</b>	<b>N=64 n</b>	<b>%</b>
<b>Edad en años</b> <i>Mediana=29</i>	9-18	14	22
	19-28	17	26
	29-38	12	19
	>39	21	33
<b>Sexo</b>	Femenino	35	55
	Masculino	29	45
<b>Color de la piel</b>	Blanca	35	55
	Mestiza	13	20
	Negra	16	25
<b>Lugar de procedencia</b>	Cuba	62	96,8
	Exterior	2	3,2
<b>Zona de residencia</b>	Rural	29	45,3
	Urbana	35	54,7
<b>Escolaridad</b>	Primario	11	17,2
	Secundaria	5	7,5
	Pre/ tecnológico	26	41
	Universitario	22	34,3
<b>Estado civil</b>	Soltero	26	40,7
	Consenso	22	34,3
	Casado	16	25

**Fuente:** Modelo de recogida de información y las historias clínicas.

Se evidenció que la mayoría de los casos sospechosos eran jóvenes, con una mediana para la edad de 29 años, del sexo femenino, con color de piel blanca, provenían de zonas urbanas, tenían un nivel de escolaridad medio-superior y eran



solteros. Con respecto al lugar de procedencia en el momento que aparecen los síntomas, el 96,8% (62/64) se encontraban en el territorio nacional, solo dos casos (3,2%) provenían del exterior (uno era un ciudadano italiano y el otro un ciudadano cubano con residencia en EE.UU).

Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas en la misma etapa de emergencia epidemiológica en otras regiones geográficas. En China en poblaciones similares los investigadores Yon y cols., en 2023 y Cho y cols., en 2024 encontraron una mediana para la edad de 30 años (185, 186), lo que evidencia que los individuos infectados eran jóvenes, aspecto que también se encontró en la presente investigación.

Por su parte Suvvari y cols., en 2023, en la India, identificaron una mayor cantidad de casos sospechosos que declaraban ser solteros y que pertenecían al género masculino (187). Según un metanálisis, el sexo masculino predominó tanto en los brotes anteriores como en el del 2022, y la edad mediana de los casos confirmados fue de 29,92 años (5,77-41; DE: 9,38) (12). Sin embargo, en el presente estudio la mayoría de los sospechosos pertenecía al sexo femenino.

En España, en igual periodo de tiempo, Veintimilla cols., realizaron una investigación en HSH y encontraron una mediana para la edad de 31 años, de manera que los resultados de la presente investigación coinciden con lo encontrado por dichos autores y reafirma que en estas edades aumenta la posibilidad de ponerse en contacto con el MPXV (188).

En otro estudio realizado en España, de 181 pacientes que tenían un diagnóstico confirmado de Mpox y fueron incluidos en el estudio, 166 (92%) se identificaron como hombres homosexuales, bisexuales u hombres que practican sexo con hombres (HSH). Solo 15 sujetos (8%) se identificaron como hombres heterosexuales o mujeres heterosexuales. La mediana de edad fue de 37,0 años (RIQ=31,0-42,0) (189). También en España, en la ciudad de Oviedo, se analizaron 50 pacientes con sospecha de Mpox. Todos los pacientes eran varones, y la mediana de edad era de 33,5 años (RIQ=28,0-45,5 años). A todos los pacientes se les confirmó la infección

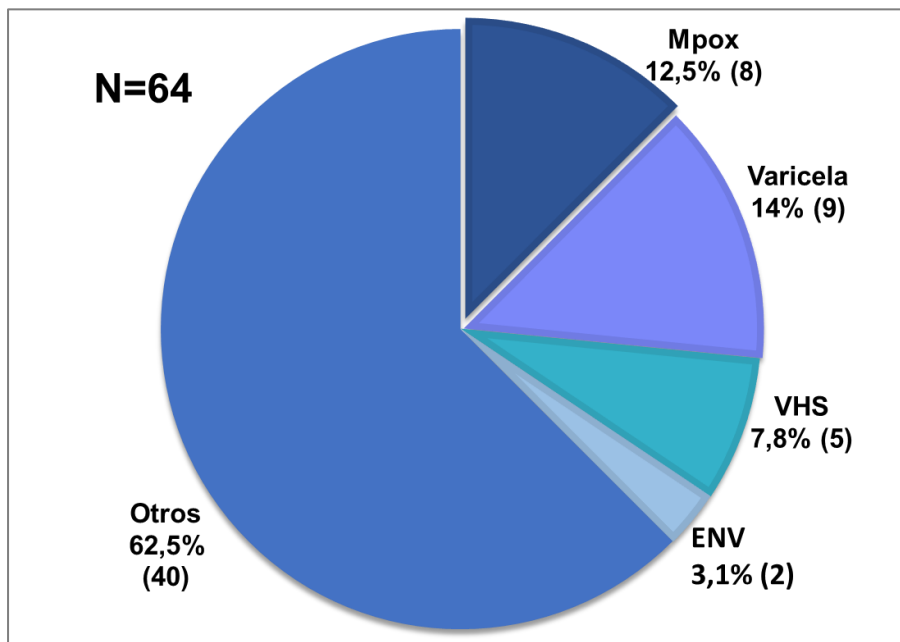
por MPXV mediante PCR en al menos una de las muestras de diagnóstico recogidas. (190).

Los datos de individuos sospechosos y confirmados evidencian que el brote de Mpox del 2022 estuvo caracterizado por afectar fundamentalmente a individuos jóvenes, del sexo masculino y con comportamientos y prácticas sexuales de riesgo, como es el caso de los HSH y bisexuales.

### **IV.3. Frecuencia del virus MPXV, variantes genéticas y cinética de excreción viral en pacientes con sospecha clínica y epidemiológica de Mpox, en el periodo agosto-octubre de 2022**

#### **IV.3.1. Distribución del total de muestras recibidas, muestras positivas por provincias y variantes genética identificadas en el periodo de estudio**

Al tratarse de una nueva entidad se recibieron muestras de todos los pacientes clínicamente sospechosos de Mpox, para un total de 64 casos con varias muestras. La mayoría de los sospechosos quedó descartada a través del diagnóstico diferencial (Gráfico 1).



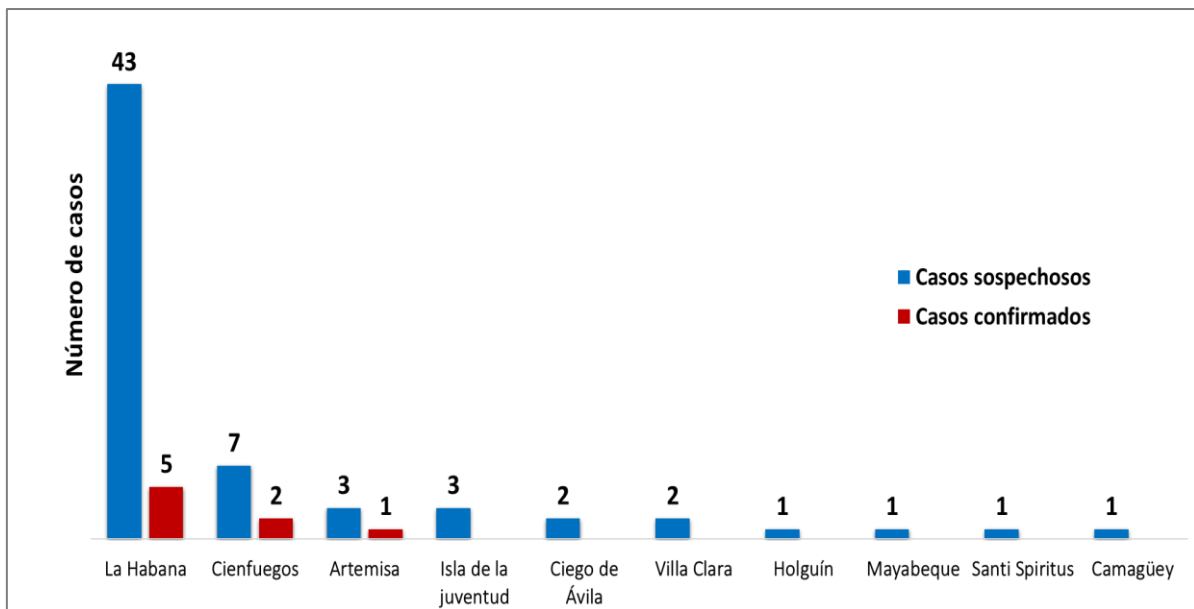
**Gráfico 1.** Distribución de la positividad de los casos estudiados en Cuba entre agosto y octubre de 2022.

El 62,5% (40/64) de los casos se correspondió con un diagnóstico positivo para otras causas, aunque 31 casos quedaron sin identificar, siete fueron diagnosticados como piodermitis, sin embargo, cabe resaltar que muchos casos se diagnosticaron clínicamente y dos casos tenían picaduras de insectos. El diagnóstico diferencial que con mayor frecuencia se identificó fue VVZ para un 14% (9/64), seguido de cinco fueron positivos a VHS (7,8%) y dos casos positivos a ENV (3,1%) (Gráfico 1).

Estos datos coinciden con estudios realizados en Cuba que demuestran una mayor circulación del virus de la varicela en la misma época del año, según se recoge en los datos del anuario estadístico de salud del MINSAP (191). El diagnóstico diferencial de otros agentes causantes de manifestaciones cutáneas similares está indicado en “Orientaciones sobre la sospecha clínica y el diagnóstico diferencial de la viruela símica” disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-mpX-clinical-and-ipc-2022.1>. Estas orientaciones especifican claramente que la enfermedad suele presentarse con fiebre, una erupción característica extensa y adenopatías, que pueden aparecer durante otros procesos infecciosos, por lo que es importante diferenciar Mpox de enfermedades como la varicela, herpesvirus, enterovirus, el sarampión, las infecciones cutáneas bacterianas, la sífilis, las alergias a medicamentos y otros eventos que causen manifestaciones clínicas similares (192). Los hallazgos obtenidos demuestran cuan relevante es el diagnóstico diferencial, ya que, de los casos sospechosos, solo un 12,5% (8/64) resultaron positivos a Mpox.

Los casos sospechosos recibidos de todo el país (N=64), presentaron una distribución desigual por provincias. Las únicas provincias de las cuales se recibieron muestras sospechosas fueron La Habana, Holguín, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spiritus, Camagüey, Mayabeque, Artemisa e Isla de la Juventud. Dos casos provenientes del exterior (un italiano y un cubano-americano) se incluyeron en la provincia de La Habana por ser el lugar donde se encontraban al momento de acudir a los servicios de salud. La distribución de casos sospechosos y positivos a Mpox por provincias se muestra en el gráfico 2.

El gráfico muestra la distribución del número de casos sospechosos y confirmados en el periodo de estudio. En orden de frecuencia la mayor cantidad de casos sospechosos y confirmados se corresponden con La Habana (43/64), que además tuvo el mayor porcentaje de casos positivos (5/8), en los que además se encontraban los dos casos provenientes del exterior. Esto pudiera deberse a que es la capital del país, con una actividad social elevada respecto al resto de las provincias, tanto para el turismo como para los residentes. La provincia de Cienfuegos con un menor número de casos (7/64)/(2/8) y Artemisa con (3/64)/(1/8), fueron las que aportaron el resto de los casos positivos durante el periodo de estudio, para un total de ocho casos.



**Gráfico 2.** Distribución de los casos sospechosos y confirmados de Mpox por provincias en Cuba en el período de agosto a octubre de 2022.

Siguiendo las directrices de OPS/OMS en el contexto de la situación de emergencia (25) se realizó la identificación de clados a todas las muestras positivas y se obtuvo como resultado que el 100% de las muestras se correspondió con el clado II. Es decir, se identificó el clado II en los ocho casos positivos a Mpox, este clado fue el que se registró con mayor frecuencia en el resto de los países. Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas por Cho y cols., en el mismo periodo, donde se analizaron los datos de países de cinco continentes mediante un metanálisis que

identificó la misma variante genética (clado II), en todas las regiones geográficas (186).

El predominio absoluto del clado II encontrado en el presente estudio coincide con una investigación realizada en China, en el marco del brote del 2022. Dicho trabajo reunió secuencias de Mpox correspondientes a Europa, África, Asia, América de Norte y del Sur y Oceanía, donde sobresalió la presencia del clado IIb, lo que reafirma el protagonismo de esta variante genética en el periodo de estudio (193).

El virus Mpox tiene poco más de cinco décadas desde su descubrimiento, y desde ese momento se reconocieron sus variables genéticas, basándose en análisis filogenéticos de aislados del virus que apoyaron el reconocimiento de dos clados distintos, actualmente clado I y clado II. Estos clados son geográficamente distintos y presentan diferencias epidemiológicas y clínicas definidas. A lo largo de estos años queda claro que el clado I, antes llamado Cuenca del Congo, es el más letal con una mortalidad que asciende al 10% (7, 8). En las regiones donde este virus circula de manera habitual se hace necesario determinar el clado al que pertenece cada paciente positivo, pues teniendo en cuenta esto, se puede predecir en primer lugar la evolución clínica del paciente, determinar la relación de distintos casos positivos que pudieran estar o no relacionados, y realizar análisis que identifiquen el comportamiento de la circulación del virus en áreas determinadas. Si bien sabemos que en nuestro país nunca antes se habían tenido reportes de la enfermedad, en el contexto del brote del 2022 se hacía necesario conocer a que clado pertenecían los aislados positivos, sobre todo para comprobar la igualdad o diferencia con el resto de los aislados positivos que se encontraron en la región de las Américas y también en el resto de los países donde se identificó. Siguiendo las directrices de OPS/OMS en el contexto de la situación de emergencia (25) se realizó la identificación de clados a todas las muestras positivas y se obtuvo como resultado que el 100% de las muestras se correspondió con el clado II.

#### **IV.3.2. Comportamiento de la positividad en el tiempo, de acuerdo a la localización anatómica de las muestras**

Se conoce que a partir de la aparición de la primera lesión causada por MPXV aumenta la posibilidad de un resultado positivo. La mayoría de los pacientes no sospechan que tengan la enfermedad hasta que aparecen las lesiones, e incluso días después de tenerlas es que acuden a los servicios médicos. Por lo que el diagnóstico en función del tiempo de la evolución clínica puede cambiar. En la tabla 6 se evidencia este comportamiento de acuerdo a la localización anatómica de las muestras.

**Tabla 6.** Comportamiento de la positividad a MPXV en el tiempo, de acuerdo a la localización anatómica de las muestras.

<b>Muestras clínicas positivas N=8</b>	<b>Lesiones en piel n=8</b>	<b>Lesiones anogenitales n=5</b>	<b>Exudado nasal/faríngeo n=7</b>
<b>7 días o menos</b>	4	2	2
<b>8-14 días</b>	8	4	6
<b>15-21 días</b>	6	4	5
<b>22 días o más</b>	3	1	1

**Fuente:** Resultados de la investigación.

En los primeros siete días después del inicio de los síntomas, de los ocho casos diagnosticados, solo tres fueron positivos en muestras de piel. De los cinco casos que presentaron lesiones anogenitales hubo dos positivos, y de un total de siete pacientes a los que se les tomó exudados nasofaríngeos, solo dos fueron positivos. La mayoría de los casos buscaron atención médica después de la primera semana del inicio de los síntomas, por lo que en el periodo de ocho a 14 días se obtuvo mayor positividad. Todos los casos fueron positivos en las lesiones de piel, cuatro en las lesiones anogenitales y seis en el exudado nasofaríngeo. Se observa que en el periodo de 15 a 21 días, las lesiones en piel continuaron positivas en seis de los ocho casos, cuatro en las lesiones anogenitales y cinco en los exudados nasofaríngeos. Por último, a partir de 22 días o más de evolución clínica, solo tres

casos fueron positivos en lesiones en piel y uno para las lesiones anogenitales y exudados nasofaríngeos, respectivamente.

Estos resultados coinciden, con la investigación realizada en el 2023 por Kim y cols., en Corea del Sur, donde encontraron en un número importante de casos una positividad mayor en los primeros días de la enfermedad, tanto en las lesiones de piel como en las lesiones anogenitales (194). Un estudio reciente de Kani y cols., demostró positividad elevada en muestras de lesiones en piel, sobre todo en los primeros días de inicio de los síntomas, estas lesiones actúan como un reservorio viral y son de alta contagiosidad (195).

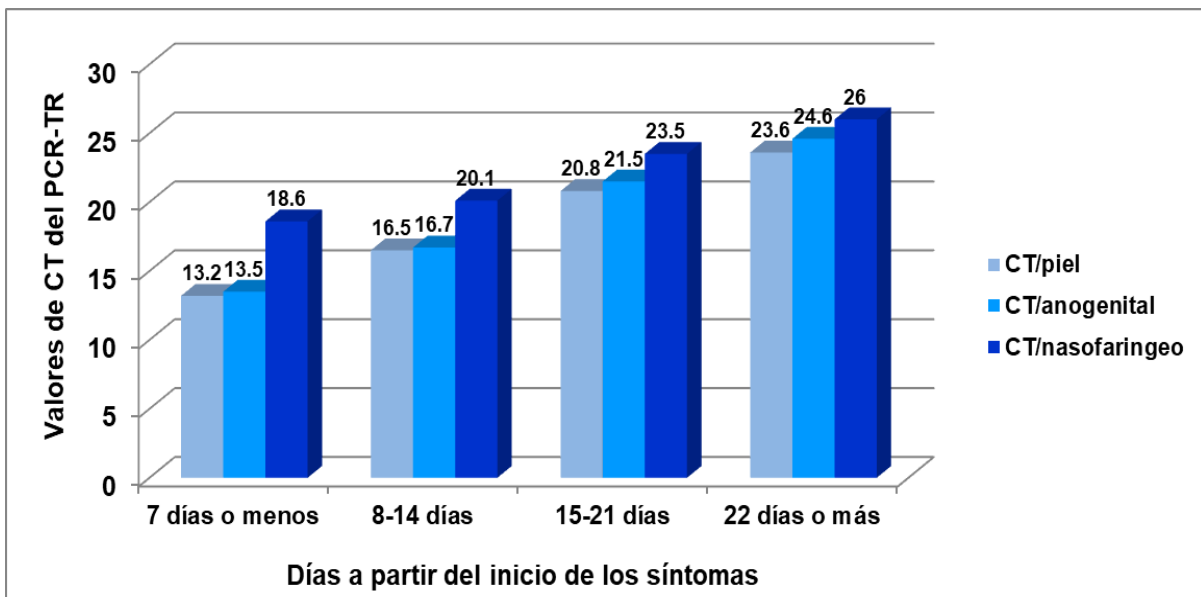
En el contexto del brote de 2022, en Canadá se realiza un estudio similar, donde aproximadamente la mitad de los casos confirmados son a partir de muestras de lesiones en piel, con una positividad elevada sobre todo en los primeros 15 días. En el diagnóstico diferencial encontraron casos de Enterovirus con una frecuencia relativamente alta (196). En Francia, en igual periodo de estudio, un equipo de investigadores liderado por Palich, se enfocó en la población masculina, HSH o no, y tuvieron en cuenta otros tipos de muestra entre las que destacan la sangre total, la orina y el semen. Si bien en la presente investigación se tuvo en cuenta la población general, y no todos los tipos de muestras, cabe resaltar que las mayores frecuencias de resultados positivos se identificaron en las muestras de lesiones de piel y lesiones anogenitales, y en un tercer lugar las muestras de exudados nasofaríngeos. Estos resultados coinciden con los hallazgos de Palich y cols., (197). En el 2022, en España un estudio en población abierta reveló la significativa positividad en las muestras de lesiones en piel, independientemente de la localización, respecto a los exudados nasofaríngeos, lo que confirma la mayor excreción viral en este tipo de muestras (189).

### **IV.3.3. Cinética de la excreción viral de MPXV en los casos positivos de acuerdo a la localización anatómica de las muestras. Se compararon los promedios de los valores de Ct para los pacientes infectados**

Según los datos obtenidos de acuerdo a la positividad por lesiones, en el periodo de ocho a 14 días se obtuvo el mayor número de muestras positivas. Sin embargo, al

analizar la cinética de excreción de MPXV, según la localización anatómica de las muestras los resultados obtenidos por PCR fueron diferentes, lo que se evidenció en los valores de Ct. El gráfico 3 muestra la cinética de excreción viral en diferentes momentos posterior al inicio de los síntomas. Para obtener estos resultados se compararon los promedios de los valores de Ct para cada tipo de muestra y en diferentes momentos después del inicio de los síntomas. En la primera de etapa siete días o menos, de ocho a 14 días, entre 15 y 21 días y 22 días o más (Gráfico 3).

El gráfico evidencia que los valores de Ct fueron incrementándose paulatinamente, lo que refleja la disminución de la excreción viral con el paso de los días. Para siete días o menos se observaron los menores valores de Ct, lo que se corresponde con una mayor excreción viral, específicamente las muestras de lesiones de piel fueron las de mayor excreción viral, seguido de las lesiones anogenitales y por último los Ct más altos se correspondieron con los exudados nasofaríngeos.



**Gráfico 3.** Cinética de la excreción viral del virus Mpox en los casos positivos de acuerdo a la localización anatómica de las muestras. Se compararon los promedios de los valores de Ct para los pacientes infectados.

En el presente estudio, la muestra con mayor Ct promedio con el paso del tiempo es el exudado nasofaríngeo, lo que coincide con los resultados obtenidos por Paran y



cols., en Israel, quienes realizaron una comparación entre los valores de Ct de las muestras de lesiones de piel y las muestras de exudado nasofaríngeo. Estos investigadores buscaban establecer cuál era la muestra más infectiva en la transmisión y obtuvieron valores de Ct relativamente más altos para las muestras de exudados nasofaríngeos. Por el contrario, las muestras de lesiones en piel mostraron los menores valores de Ct y la mayor capacidad infectiva cuando se inocularon líneas celulares susceptibles con fluidos de pacientes provenientes de ambas localizaciones anatómicas. Los autores concluyeron que la transmisión oral era muy baja o casi nula respecto a la transmisión por contacto estrecho con piel y mucosas (198).

Así mismo, un estudio retrospectivo realizado en el norte de Francia, analizó diversas muestras de pacientes que se sometieron a una PCR MPXV en el Laboratorio de Virología del Hospital Universitario de Lille, entre el 23 de mayo y el 18 de agosto de 2022. En total, se incluyeron 228 pacientes (376 muestras). Se encontró un resultado positivo en al menos una muestra en 138 pacientes (60,5%). Se compararon los resultados de la PCR entre muestras orofaríngeas y muestras de lesiones cutáneas o anales/rectales, en pacientes con ambas muestras. Se observó un resultado positivo en muestras orofaríngeas en 54 de 60 pacientes (90%). La carga viral en la muestra orofaríngea tuvo un valor de Ct promedio de 29,5 y fue significativamente inferior a la de las muestras de lesiones cutáneas y mucosas (valor Ct promedio de 17,8) ( $p < 0,0001$ ). Dicha investigación demuestra que la toma de muestras faríngeas no aporta información adicional para el diagnóstico inicial en pacientes que presentan lesiones típicas de Mpox (199).

Por otra parte, Suñer y cols., realizaron un estudio observacional, prospectivo y multicéntrico de pacientes ambulatorios diagnosticados con Mpox en dos hospitales y dos clínicas de salud sexual de España entre el 28 de junio y el 22 de septiembre de 2022. Fueron elegibles individuos de ambos sexos, mayores de 18 años, y que informaron la aparición de los síntomas en los 10 días previos, sin signos de gravedad. Se recogieron muestras de cinco localizaciones corporales (lesiones cutáneas, orofaringe, recto, semen o vagina, y una mancha de sangre seca) en seis puntos temporales hasta 57 días después. Las muestras se analizaron mediante

PCR cuantitativa y un subconjunto mediante cultivo celular. El criterio de valoración primario fue el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas hasta la eliminación del ADN viral. En total, se recogieron 1 663 muestras de 77 participantes en el estudio. Del total de individuos, 75 (97%) participantes eran hombres, la mediana de edad era de 35,0 años (RIQ= 29,0-46,0), y 39 (51%) participantes vivían con el VIH. La mediana del tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la desaparición del virus fue de 25 días (IC 95%: 23-28) en las lesiones cutáneas, 16 días (IC 95%: 13-19) en la orofaringe, 16 días (IC 95%: 13-23) en el recto, 13 días en el semen (IC 95%: 9-18) y 1 día en la sangre (IC 95%: 0-5). El tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la desaparición del virus en el 90% de los casos fue de 41 días (IC 95%: 34-47) en las lesiones cutáneas y de 39 días (IC 95%: 27-56) en el semen. La mediana de la carga viral en las lesiones cutáneas fue de 7,3 log<sub>10</sub> copias por mL al inicio del estudio, en comparación con 4,6 log<sub>10</sub> copias por mL en muestras orofaríngeas, 5,0 log<sub>10</sub> copias por mL en muestras rectales, 3,5 log<sub>10</sub> copias por mL en muestras de semen y 4,0 log<sub>10</sub> copias por mL en muestras de sangre. Se aislaron virus competentes para la replicación en muestras con niveles elevados de ADN (>6,5 log<sub>10</sub> copias por mL). Los autores concluyeron que en pacientes inmunocompetentes con Mpox leve, los datos de la PCR por sí solos sugerirían un periodo de aislamiento de contacto de tres a seis semanas, pero, basándose en la detección de virus con capacidad para la replicación, este tiempo podría reducirse. En base a los resultados de esta cohorte de pacientes, podría no ser necesario realizar pruebas de semen y el uso prolongado de preservativos tras la recuperación de la enfermedad (200).

#### **IV.4. Características epidemiológicas de los casos positivos a Mpox en Cuba durante el periodo de estudio**

Los estudios realizados indican que se deben tener en cuenta las variables clínicas, virológicas y epidemiológicas. En la tabla 7 se muestran las características epidemiológicas de los ocho casos positivos a Mpox en el periodo de estudio.

**Tabla 7.** Características epidemiológicas de los casos positivos a Mpox en Cuba durante el periodo de estudio.

ID	Viajero o residente en el exterior	Edad	Género	Orientación sexual	Ruta de transmisión sospechada	Inicio de los síntomas después del contacto	ITS asociada	Fuente de infección
1	Si	50	M	HT	DES	DES	No	DES
2	Si	60	M	HSH	DES	1-3 días	No	Si
3	No	27	F	HT	CSE	4-7 días	No	Si
4	No	26	M	HT	CNS	1-3 días	No	No
5	No	32	F	HT	CSE	1-3 días	Si	DES
6	No	28	M	HT	CSE	DES	No	DES
7	No	43	M	HSH	DES	+7 días	No	DES
8	No	49	M	HT	DES	4-7 días	No	DES

**Leyenda:** **M:** masculino, **F:** femenino, **HT:** heterosexual, **HSH:** hombres que tienen sexo con otros hombres, **CSE:** contacto sexual estrecho, **DES:** desconocido, **CNS:** contacto no sexual

Según el país de procedencia siete eran cubanos y uno de ellos era un cubano con residencia en EE.UU, además un extranjero de nacionalidad italiana. La mediana de la edad para los casos positivos fue de 40 años. La mayoría de los casos fueron hombres heterosexuales (6/8). La principal ruta de transmisión sospechada, así como la fuente de infección fue desconocida. En la mayoría de los casos no se encontró ITS asociada (7/8).

Es importante resaltar que el tercer caso confirmado se enfermó a partir del contacto sexual con su pareja que residía fuera de Cuba, y al arribar al país ya tenía síntomas de la enfermedad. El cuarto caso confirmado se enfermó a partir de una inoculación accidental con el tercer caso, y exactamente cinco días después apareció una lesión en el sitio de la inoculación, solo apareció una lesión más aparte de esa, en la boca, específicamente en el labio inferior.

Los casos cinco y seis, eran pareja y se conoce que la forma de contacto fue la vía sexual, ya que el primero en mostrar síntomas fue el hombre que tenía lesiones en la región genital, y las primeras lesiones que tuvo la pareja (mujer) siete días después, fueron también en la región genital.

Entre el 14 y el 25 de mayo de 2022, se confirmó la infección por Mpox en 54 individuos provenientes de cuatro centros de salud sexual en el Reino Unido y en todo el mundo, lo que representa el 60% y el 21% de los casos notificados del brote, hasta el 26 de mayo de 2022, respectivamente. Todos los pacientes se identificaron como HSH, y dos (4%) de los 54 individuos eran bisexuales. La mediana de edad fue de 41 años (RIQ= 34-45) y 26 (48%) de los 54 individuos habían nacido en el Reino Unido. De los 54 individuos, 38 (70%) eran blancos, ocho (15%) eran negros o mestizos, cuatro (7%) eran asiáticos y cuatro (7%) pertenecían a otras etnias. Durante el mismo periodo, 4 500 personas acudieron a los servicios de salud sexual del Reino Unido, de las cuales 3 080 (68%) se identificaron como HSH. De las 54 personas, 52 (96%) fueron evaluadas en un centro de salud sexual en el momento de la prueba y los dos restantes acudieron al servicio de urgencias local, donde se realizaron las pruebas moleculares para la identificación del virus. Dos personas acudieron al servicio de salud sexual tras haber sido informados de que eran contactos de un caso confirmado de Mpox y presentaban síntomas asociados. Se observó una alta tasa de otras ITS concurrentes, ya que 13 (25%) de 51 fueron positivas para gonococos o clamidias, seis fueron positivas para gonorrea faríngea, dos para gonorrea uretral, uno para gonorrea rectal, cuatro para clamidia rectal y dos para clamidia uretral. De estos 13 individuos, dos tenían coinfección por gonorrea y clamidia. Las ITS se detectaron con mayor prevalencia en individuos con VIH (7/13; 54%) que en los individuos seronegativos (6/41; 15%) (201).

Entre Julio y septiembre de 2022, en Perú se estudió la emergencia sanitaria por el brote de Mpox ocurrido en ese país y de los 205 casos confirmados, el 99% (202/205) eran hombres, el 94% (192/205) eran hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH) o bisexuales, y el 66% (136/205) vivían con el VIH. En cuanto al comportamiento sexual, el 87% (179/205) había tenido una relación sexual 21 días antes de la consulta, aunque sólo el 8% (17/205) identificó contacto sexual con un caso confirmado de Mpox; el 65% (133/205) tuvo relaciones sexuales con parejas ocasionales, el 55% (112/205) informaron de una última pareja sexual desconocida, y el 21,5% (44/205) continuaron teniendo relaciones sexuales con síntomas (202).

El estudio realizado a inicios de la emergencia sanitaria en el Reino Unido, en Perú y en otras regiones del mundo, los casos positivos a Mpox fueron del sexo masculino, específicamente en su mayoría HSH, y tenían otras ITS asociadas como el VIH, aspecto que no se observó en la presente investigación.

### **IV.5. Características clínicas de los casos positivos a Mpox en Cuba durante el periodo de estudio**

En la tabla 8 se muestran las características clínicas de los pacientes confirmados como positivos a Mpox en Cuba durante el periodo de agosto a octubre de 2022. En los casos positivos a Mpox confirmados en Cuba, los síntomas clínicos más frecuentes fueron, rash o lesiones en piel, fiebre y cefalea. Las lesiones en piel fueron las que arrojaron la mayoría de los resultados positivos para PCR de Mpox, específicamente en localizaciones como la cara, el tronco y las extremidades. Se presentaron fundamentalmente lesiones cutáneas de tipo vesiculopustular en número entre seis y 10, aunque también aparecieron en menor proporción lesiones en mucosa oral y anogenital. La sobreinfección bacteriana se presentó en la mitad de los casos y la resolución de la mayor parte de las lesiones demoró hasta 30 días. Es importante señalar que el primer caso confirmado y fallecido se trató de un paciente de nacionalidad italiana que no se pudo interrogar pues llegó al sistema de salud cubano en estado crítico, con presencia de lesiones en piel. Mediante los hallazgos radiológicos del tórax y a través de la necropsia se pudo diagnosticar una neumonía y además infección del sistema nervioso central.

En el estudio realizado en Perú en 205 casos con Mpox, los síntomas sistémicos fueron fiebre (162/205, 79%), malestar general (123/205, 60%), cefalea (119/205, 58%), fatiga (105/205, 52%) y linfadenopatías (111/205, 54%). La distribución de las lesiones cutáneas era generalizada (166/205, 81%), localizada en la zona anogenital (160/205, 78%), polimorfa (174/205, 85%), y fue el primer síntoma identificado en el 46% (94/205) de los casos. En general, el 10% (21/205) requirieron hospitalización, de los cuales el 85,7% (18/205) tenían infección por VIH. Las complicaciones incluyeron sobreinfección bacteriana (n= 8), proctitis (n=6), balanitis (n=4) y necrosis de las lesiones cutáneas (n=3) (202). Los resultados del presente estudio muestran

algunas similitudes con dicha investigación con respecto a algunos síntomas clínicos, aunque en los pacientes peruanos se evidencia una elevada frecuencia de coinfecciones y complicaciones relacionadas con otras ITS.

**Tabla 8.** Características clínicas de los casos positivos a Mpox en Cuba, durante el periodo de estudio.

<b>Variables</b>	
<b>Síntomas y signos N=8</b>	
Rash o lesiones en piel	8
Fiebre	6
Linfadenopatías	3
Faringitis	2
Cefalea	5
Decaimiento/ letargo	2
Mialgia	1
Neumonía	1
Meningoencefalitis	1
<b>Sitios positivos a PCR de Mpox N=8</b>	
Lesiones en piel o anogenitales	8
Exudado nasofaríngeo	2
<b>Sitios de las lesiones en piel N=8</b>	
Área anogenital	3
Facie	5
Tronco o extremidades	6
<b>Descripción del rash N=8</b>	
Vesiculopustular	5
Macular	4
Úlcera	3
<b>Número de Lesiones N=8</b>	
1 a 5	2
6 a 10	5
<b>Lesiones en la mucosa oral N=8</b>	
sí	4
no	3
<b>Sitios de las lesiones en mucosa N=8</b>	
Anogenital	1
Solo orofaríngeo	1
Oral y anogenital	2
<b>Complicaciones N=8</b>	
Sobreinfección bacteriana	4
<b>Días hasta la resolución N=8</b>	
15-21 días	2
22-30 días	2
> 30 días	3

**Fuente:** Resultados de la investigación.

Una revisión sistemática con metanálisis, utilizando cinco bases de datos se realizó para evaluar las características clínicas, hospitalizaciones, complicaciones y muertes de casos confirmados o probables de Mpox. Se incluyeron 19 estudios observacionales, informes de casos y series de casos publicados en casi todo el mundo. Se realizó un metanálisis con modelo de efectos aleatorios para calcular la prevalencia agrupada y el intervalo de confianza del 95%. Además, se realizó un análisis de subgrupos según los continentes y un análisis de sensibilidad excluyendo los estudios clasificados como de alto riesgo de sesgo. Los resultados para 1958 pacientes indican que las manifestaciones más prevalentes fueron erupción cutánea (93%, IC 95%: 80-100%), fiebre (72%, IC 95%: 30-99%), prurito (65%, IC 95%: 47-81%) y linfadenopatías (62%, 47-76%). Un 4% (IC 95%: 1-9%) de los pacientes hospitalizados tuvieron desenlaces mortales (tasa de letalidad, TF) (203).

En otro metanálisis realizado para caracterizar la emergencia sanitaria del 2022 se incluyeron 31 estudios transversales. La transmisión de animal a humano fue dominante en los casos anteriores a 2022 (61,64%), pero casi todos los casos notificados después de 2022 tenían antecedentes de contacto humano, especialmente sexual. La frecuencia conjunta de HSH fue del 93,5% (IC del 95%:91,0-95,4) y sólo se notificó en los estudios incluidos después de 2022. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron erupción cutánea, fiebre, linfadenopatías y malestar general/fatiga. Proctalgia/proctitis (16,6%, IC 95%:10,3-25,6) y lesiones anales/perianales (39,8%, IC 95%:30,4-49,9) fueron las manifestaciones clínicas sin precedentes durante el brote de 2022, que no se habían descrito antes. La afectación de los genitales fue más frecuente en los pacientes con Mpox después de 2022 (55,6%, IC 95%:51,7-59,4). Se especula la posibilidad de que hayan ocurrido cambios en las propiedades patogénicas del virus que hayan modificado la clínica de la enfermedad en el brote del periodo junio-septiembre de 2022. Parece que los casos de Mpox posteriores a 2022 experimentan una enfermedad más leve con menos erupciones y tasas de mortalidad más bajas. Además, la gran mayoría de los casos posteriores a 2022 se tratan de forma ambulatoria (12).

El análisis realizado en la presente investigación arroja resultados que coinciden con estudios clínicos y epidemiológicos donde se evidencia que en los casos confirmados de Mpox se observó el predominio de síntomas como fiebre, rash vesiculopustular y cefalea, además de complicaciones como la sobreinfección bacteriana. Se evidenció una baja tasa de letalidad y otras complicaciones graves.

### **IV.6. Consideraciones generales**

Durante la emergencia sanitaria producto de un brote de Mpox en varias regiones del mundo, Cuba se vio afectada por la aparición de varios casos sospechosos. Ante esta situación epidemiológica El MINSAP y un comité de expertos, propuso la elaboración de un algoritmo para el diagnóstico virológico diferencial y su aplicación al momento de identificarse casos sospechosos o probables de Mpox, pues no existían registros previos de la enfermedad en el país. El IPK se destinó como unidad ejecutora principal de esta actividad y poco tiempo después de la alerta epidemiológica se establecieron las pautas para enfrentar la emergencia en el país.

Dada esta orientación, se logró implementar un algoritmo para el diagnóstico virológico de Mpox en Cuba, lo que permitió el establecimiento de una vigilancia activa y control de la enfermedad en todas las provincias del país. El diagnóstico diferencial establecido como parte del algoritmo implementado, permitió descartar los casos negativos a Mpox y a la vez identificar otros agentes virales y bacterianos asociados a cuadros clínicos similares a Mpox en pacientes cubanos. Los principales agentes identificados fueron el VVZ, el VHS y ENV.

La realización del diagnóstico clínico, epidemiológico y virológico de todos los casos sospechosos identificados en el periodo de estudio evidenció la circulación del virus de Mpox, específicamente del clado II, lo que coincidió con la epidemiología de la enfermedad a escala global. Esta variante genética causa cuadros menos grave y su letalidad es muy baja.

En la presente investigación se realizó un estudio de la cinética de la excreción viral en el tiempo y en diferentes tipos de muestras, evidenciando la mayor virulencia de las lesiones cutáneas y la baja infectividad de las muestras orofaríngeas, aspecto



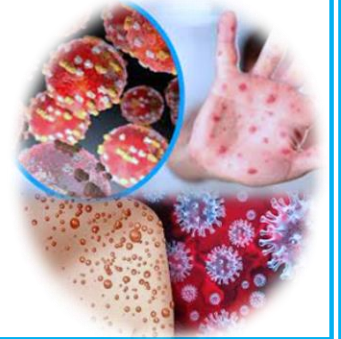
que contribuye a esclarecer el conocimiento sobre la patogenia y transmisión de Mpox.

Los resultados muestran que los hombres heterosexuales, con fuente de infección desconocida, tuvieron una mayor probabilidad de infectarse con Mpox, en el contexto del estudio de la emergencia sanitaria cubana, aspecto que no coincide con los hallazgos de la mayoría de los estudios a escala global donde los HSH con otras ITS fueron los más afectados.

Los casos positivos a Mpox, mostraron un curso clínico típico de la enfermedad en el contexto de la emergencia sanitaria cubana, predominando síntomas leves o moderados y con una evolución favorable en la mayoría de los pacientes, aspecto que se evidencio en el resto del mundo.

# CAPÍTULO V

## CONCLUSIONES

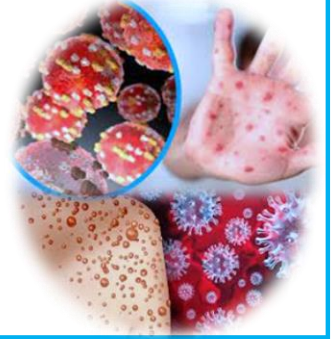


## **V. CONCLUSIONES**

- ✓ Se logró implementar un algoritmo para el diagnóstico virológico de Mpox en Cuba, lo que permitió el establecimiento de una vigilancia activa y control de la enfermedad en todas las provincias del país.
- ✓ El diagnóstico diferencial establecido como parte del algoritmo implementado, permitió descartar los casos negativos a Mpox y a la vez identificar otros agentes virales y bacterianos asociados a cuadros clínicos similares a Mpox en pacientes cubanos.
- ✓ La realización del diagnóstico clínico, epidemiológico y virológico de todos los casos sospechosos identificados en el periodo de estudio evidenció la circulación del virus de Mpox, específicamente del clado II, lo que coincidió con la epidemiología de la enfermedad a escala global.
- ✓ El estudio de la cinética de la excreción viral en el tiempo y en diferentes tipos de muestras, contribuye a esclarecer el conocimiento sobre la patogenia y transmisión de Mpox.
- ✓ Los resultados muestran que los hombres heterosexuales, con fuente de infección desconocida, tuvieron una mayor probabilidad de infectarse con Mpox, en el contexto del estudio de la emergencia sanitaria cubana.
- ✓ Los casos positivos a Mpox mostraron un curso clínico típico de la enfermedad en el contexto de la emergencia sanitaria, predominando síntomas leves o moderados y con una evolución favorable en la mayoría de los pacientes.

# **CAPÍTULO VI**

## **RECOMENDACIONES**

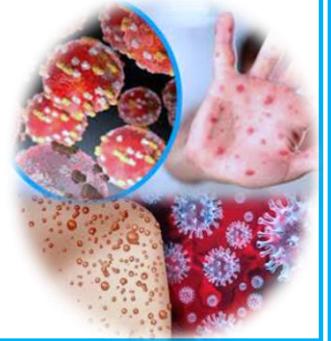


## **VI. RECOMENDACIONES**

- ✓ Caracterizar genéticamente, mediante secuenciación del genoma completo, todas las muestras de los casos positivos identificados para profundizar en los posibles orígenes de los virus que circularon, así como establecer relación con la sintomatología observada.

# CAPÍTULO VII

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magnus Pv, Andersen EK, Petersen KB, Birch-Andersen A. A pox-like disease in cynomolgus monkeys. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*. 1959;46(2):156-76.
2. Ladnyj I, Ziegler P, Kima E. A human infection caused by monkeypox virus in Basankusu Territory, Democratic Republic of the Congo. *Bull Wld Hith Org*. 1972;46(5):593-97.
3. Marennikova S, Šeluhina EM, Mal'Ceva N, Čimiškjan K, Macevič G. Isolation and properties of the causal agent of a new variola-like disease (monkeypox) in man. *Bull Wld Hith Org*. 1972;46(5):599-611.
4. Ježek Z, Fenner F. Human monkeypox: S. Karger Ag; 1988.
5. Foster SO, Brink EW, Hutchins DL, Pifer JM, Lourie B, Moser CR, et al. Human monkeypox. *Bull World Health Organ*. 1972;46(5):569-76.
6. Likos AM, Sammons SA, Olson VA, Frace AM, Li Y, Olsen-Rasmussen M, et al. A tale of two clades: monkeypox viruses. *Journal of General Virology*. 2005;86(10):2661-72.
7. Reed KD, Melski JW, Graham MB, Regnery RL, Sotir MJ, Wegner MV, et al. The detection of monkeypox in humans in the Western Hemisphere. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(4):342-50.
8. Mackett M, Archard L. Conservation and variation in Orthopoxvirus genome structure. *Journal of General Virology*. 1979;45(3):683-701.
9. Chen N, Li G, Liszewski MK, Atkinson JP, Jahrling PB, Feng Z, et al. Virulence differences between monkeypox virus isolates from West Africa and the Congo basin. *Virology*. 2005;340(1):46-63.
10. Adnan N, Haq ZU, Malik A, Mehmood A, Ishaq U, Faraz M, et al. Human monkeypox virus: An updated review. *Medicine*. 2022;101(35):1-7.
11. Huhn GD, Bauer AM, Yorita K, Graham MB, Sejvar J, Likos A, et al. Clinical characteristics of human monkeypox, and risk factors for severe disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;41(12):1742-51.
12. Hatami H, Jamshidi P, Arbabi M, Safavi-Naini SAA, Farokh P, Izadi-Jorshari G, et al. Demographic, Epidemiologic, and Clinical Characteristics of Human Monkeypox Disease Pre- and Post-2022 Outbreaks: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomedicines*. 2023;11:1-71.
13. Sklenovská N, Van Ranst M. Emergence of monkeypox as the most important orthopoxvirus infection in humans. *Frontiers in public health*. 2018;6:1-12.
14. Erez N, Achdout H, Milrot E, Schwartz Y, Wiener-Well Y, Paran N, et al. Diagnosis of imported monkeypox, Israel, 2018. *Emerging infectious diseases*. 2019;25(5):980.

15. Vaughan A, Aarons E, Astbury J, Balasegaram S, Beadsworth M, Beck CR, et al. Two cases of monkeypox imported to the United Kingdom, September 2018. *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2018;23(38).
16. Ng OonTek NO, Lee V, Kalisvar Marimuthu KM, Vasoo S, Chan GuanHao CG, TzerPin L, et al. A case of imported monkeypox in Singapore. 2019.
17. Mauldin MR, McCollum AM, Nakazawa YJ, Mandra A, Whitehouse ER, Davidson W, et al. Exportation of monkeypox virus from the African continent. *The Journal of infectious diseases*. 2022;225(8):1-30.
18. Alakunle E, Moens U, Nchinda G, Okeke MI. Monkeypox virus in Nigeria: infection biology, epidemiology, and evolution. *Viruses*. 2020;12(11):1-29.
19. Shchelkunov SN, Totmenin AV, Safronov PF, Mikheev MV, Gutorov VV, Ryazankina OI, et al. Analysis of the monkeypox virus genome. *Virology*. 2002;297(2):172-94.
20. Odom MR, Hendrickson RC, Lefkowitz EJ. Poxvirus protein evolution: family wide assessment of possible horizontal gene transfer events. *Virus research*. 2009;144(1-2):233-49.
21. Cho CT, Wenner HA. Monkeypox virus. *Bacteriological reviews*. 1973;37(1):1-18.
22. Luna N, Ramírez AL, Muñoz M, Ballesteros N, Patiño LH, Castañeda SA, et al. Phylogenomic analysis of the monkeypox virus (MPXV) 2022 outbreak: Emergence of a novel viral lineage? *Travel medicine and infectious disease*. 2022;49:1-7.
23. Nakazawa Y, Mauldin MR, Emerson GL, Reynolds MG, Lash RR, Gao J, et al. A phylogeographic investigation of African monkeypox. *Viruses*. 2015;7(4):2168-84.
24. WHO recommends new name for monkeypox disease. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*. 2023;28(1):74-5.
25. Velavan TP, Meyer CG. Monkeypox 2022 outbreak: An update. *Trop Med Int Health*. 2022;27(7):604-5.
26. Happi C, Adetifa I, Mbala P, Njouom R, Nakoune E, Happi A, et al. Urgent need for a non-discriminatory and non-stigmatizing nomenclature for monkeypox virus. *PLoS Biol*. 2022;20(8):e3001769.
27. Thornhill JP, Barkati S, Walmsley S, Rockstroh J, Antinori A, Harrison LB, et al. Monkeypox virus infection in humans across 16 countries—April–June 2022. *New England Journal of Medicine*. 2022;387(8):679-91.
28. Alavi-Moghaddam M. Monkeypox outbreak in non-endemic areas: will it cause a new pandemic? A letter to editor. *Archives of Academic Emergency Medicine*. 2022;10(1).
29. Qiu Z-Y, Tao Y-H, Zheng S-L, Sun X-D, Chi Y-H, Sun X, et al. How to recognize and respond to monkeypox 2022 outbreak in non-endemic countries: a narrative review. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 2022;26(22):8620-30.



30. Isidro J, Borges V, Pinto M, Sobral D, Santos JD, Nunes A, et al. Phylogenomic characterization and signs of microevolution in the 2022 multi-country outbreak of monkeypox virus. *Nature medicine*. 2022;28(8):1569-72.
31. Mauldin MR, McCollum AM, Nakazawa YJ, Mandra A, Whitehouse ER, Davidson W, et al. Exportation of Monkeypox Virus From the African Continent. *J Infect Dis*. 2022;225(8):1367-76.
32. Ilic I, Zivanovic Macuzic I, Ilic M. Global Outbreak of Human Monkeypox in 2022: Update of Epidemiology. *Tropical medicine and infectious disease*. 2022;7(10).
33. Hraib M, Jouni S, Albitar MM, Alaidi S, Alshehabi Z. The outbreak of monkeypox 2022: An overview. *Ann Med Surg (Lond)*. 2022;79:104069.
34. Pérez-Barragán E, Pérez-Cavazos S. First case report of human monkeypox in Latin America: The beginning of a new outbreak. *Journal of Infection and Public Health*. 2022;15(11):1287-89.
35. 21° H. <Harrison.Principios.de.Medicina.Interna.18a.Edicion .Volumen.2.pdf>. 2023.
36. Fenner F. *The orthopoxviruses*: Elsevier.; 2012.
37. Esposito JJ, Knight JC. Orthopoxvirus DNA: a comparison of restriction profiles and maps. *Virology*. 1985;143(1):230-51.
38. Hutin Y, Williams RJ, Malfait P, Pebody R, Loparev VN, Ropp SL, et al. Outbreak of human monkeypox, Democratic Republic of Congo, 1996 to 1997. *Emerging infectious diseases*. 2001;7(3):434.
39. Mukinda V, Mwema G, Kilundu M, Heymann D, Khan A, Esposito J. Re-emergence of human monkeypox in Zaire in 1996. *The Lancet*. 1997;349(9063):1449-50.
40. Bugert JJ, Darai G. Poxvirus homologues of cellular genes. *Molecular Evolution of Viruses*. 2000:111-33.
41. Fine P, Jezek Z, Grab B, Dixon H. The transmission potential of monkeypox virus in human populations. *International journal of epidemiology*. 1988;17(3):643-50.
42. Bunge EM, Hoet B, Chen L, Lienert F, Weidenthaler H, Baer LR, et al. The changing epidemiology of human monkeypox—A potential threat? A systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*. 2022;16(2):1-20.
43. Beer EM, Rao VB. A systematic review of the epidemiology of human monkeypox outbreaks and implications for outbreak strategy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(10):e0007791.
44. Durski KN. Emergence of monkeypox—west and central Africa, 1970–2017. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2018;67.
45. Iyer VR, Horak CE, Scafe CS, Botstein D, Snyder M, Brown PO. Genomic binding sites of the yeast cell-cycle transcription factors SBF and MBF. *Nature*. 2001;409(6819):533-38.

46. Moltrasio C, Boggio FL, Romagnuolo M, Cagliani R, Sironi M, Di Benedetto A, et al. Monkeypox: A Histopathological and Transmission Electron Microscopy Study. *Microorganisms*. 2023;11(7).
47. Osborn LJ, Villarreal D, Wald-Dickler N, Bard JD. Monkeypox: Clinical Considerations, Epidemiology, and Laboratory Diagnostics: *Clin Microbiol Newsl*. 2022 Nov 15;44(22):199-208. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2022.11.003. Epub 2022 Nov 18.; 2022. 199-208 p.
48. Petersen E, Abubakar I, Ihekweazu C, Heymann D, Ntoumi F, Blumberg L, et al. Monkeypox—Enhancing public health preparedness for an emerging lethal human zoonotic epidemic threat in the wake of the smallpox post-eradication era. *International journal of infectious diseases*.. 2019;78:1-21.
49. Moss B. Poxviridae: the viruses and their replication. (No Title). 2007:2905.
50. Huang X, Solasi R, Zou Y, Feshler M, Reifsnider K, Condit D, et al. Mechanical endurance of polymer electrolyte membrane and PEM fuel cell durability. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. 2006;44(16):2346-57.
51. Drake JW, Hwang CB. On the mutation rate of herpes simplex virus type 1. *Genetics*. 2005;170(2):969-70.
52. DeFilippis V, Villarreal L. Virus evolution. *Fields virology*. 2001;4.
53. Li Y, Zhao H, Wilkins K, Hughes C, Damon IK. Real-time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus West African and Congo Basin strain DNA. *Journal of virological methods*. 2010;169(1):223-7.
54. Di Giulio DB, Eckburg PB. Human monkeypox: an emerging zoonosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2004;4(1):15-25.
55. Vaughan A, Aarons E, Astbury J, Brooks T, Chand M, Flegg P, et al. Human-to-human transmission of monkeypox virus, United Kingdom, October 2018. *Emerging infectious diseases*. 2020;26(4):782.
56. Shchelkunova GA, Shchelkunov SN. Smallpox, monkeypox and other human orthopoxvirus infections. *Viruses*. 2022;15(1):1-15.
57. Gigante CM, Korber B, Seabolt MH, Wilkins K, Davidson W, Rao AK, et al. Multiple lineages of monkeypox virus detected in the United States, 2021–2022. *Science*. 2022;378(6619):560-65.
58. Karagoz A, Tombuloglu H, Alsaeed M, Tombuloglu G, AlRubaish AA, Mahmoud A, et al. Monkeypox (mpox) virus: Classification, origin, transmission, genome organization, antiviral drugs, and molecular diagnosis. *J Infect Public Health*. 2023;16(4):531-41.
59. Niu L, Liang D, Ling Q, Zhang J, Li Z, Zhang D, et al. Insights into monkeypox pathophysiology, global prevalence, clinical manifestation and treatments. *Frontiers in immunology*. 2023;14.
60. O'Toole Á, Neher RA, Ndodo N, Borges V, Gannon B, Gomes JP, et al. APOBEC3 deaminase editing in mpox virus as evidence for sustained human transmission since at least 2016. *Science*. 2023;382(6670):595-600.

61. Vartanian J-P, Guétard D, Henry M, Wain-Hobson S. Evidence for editing of human papillomavirus DNA by APOBEC3 in benign and precancerous lesions. *Science*. 2008;320(5873):230-33.
62. Jones TC, Schneider J, Mühlemann B, Veith T, Beheim-Schwarzbach J, Tesch J, et al. Genetic variability, including gene duplication and deletion, in early sequences from the 2022 European monkeypox outbreak. *Biorxiv*. 2022:1-28.
63. Hendrickson RC, Wang C, Hatcher EL, Lefkowitz EJ. Orthopoxvirus genome evolution: the role of gene loss. *Viruses*. 2010;2(9):1933-67.
64. Haller SL, Peng C, McFadden G, Rothenburg S. Poxviruses and the evolution of host range and virulence. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014;21:15-40.
65. Ruiz SI, Zumbrun EE, Nalca A. Animal models of human viral diseases. *Animal models for the study of human disease: Elsevier.*; 2017. p. 853-901.
66. Weaver JR, Isaacs SN. Monkeypox virus and insights into its immunomodulatory proteins. *Immunological reviews*. 2008;225(1):96-113.
67. Kopecki D. Monkeypox outbreak is primarily spreading through sex, WHO officials say 2022. 2022.
68. Antinori A, Mazzotta V, Vita S, Carletti F, Tacconi D, Lapini LE, et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of four cases of monkeypox support transmission through sexual contact, Italy, May 2022. *Eurosurveillance*. 2022;27(22):1-6.
69. Rodríguez-Morales AJ, Ortiz-Martínez Y, Bonilla-Aldana DK. What has been researched about monkeypox? a bibliometric analysis of an old zoonotic virus causing global concern. *New Microbes New Infect*. 2022;47:1-2.
70. Farahat RA, Sah R, El-Sakka AA, Benmelouka AY, Kundu M, Labieb F, et al. Human monkeypox disease (MPX). *Le infezioni in medicina*. 2022;30(3):372-91.
71. Realegeno S, Puschnik AS, Kumar A, Goldsmith C, Burgado J, Sambhara S, et al. Monkeypox virus host factor screen using haploid cells identifies essential role of GARP complex in extracellular virus formation. *Journal of virology*. 2017;91(11):1-16.
72. Mucker EM, Thiele-Suess C, Baumhof P, Hooper JW. Lipid nanoparticle delivery of unmodified mRNAs encoding multiple monoclonal antibodies targeting poxviruses in rabbits. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2022;28:847-58.
73. Golden JW, Zaitseva M, Kapnick S, Fisher RW, Mikolajczyk MG, Ballantyne J, et al. Polyclonal antibody cocktails generated using DNA vaccine technology protect in murine models of orthopoxvirus disease. *Virology Journal*. 2011;8(1):1-19.
74. Lustig S, Fogg C, Whitbeck JC, Eisenberg RJ, Cohen GH, Moss B. Combinations of polyclonal or monoclonal antibodies to proteins of the outer membranes of the two infectious forms of vaccinia virus protect mice against a lethal respiratory challenge. *Journal of virology*. 2005;79(21):13454-62.

75. Realegeno S, Priyamvada L, Kumar A, Blackburn JB, Hartloge C, Puschnik AS, et al. Conserved Oligomeric Golgi (COG) complex proteins facilitate orthopoxvirus entry, fusion and spread. *Viruses*. 2020;12(7):1-14.
76. Lopera JG, Falendysz EA, Rocke TE, Osorio JE. Attenuation of monkeypox virus by deletion of genomic regions. *Virology*. 2015;475:129-38.
77. Lansiaux E, Jain N, Laivacuma S, Reinis A. The virology of human monkeypox virus (hMPXV): A brief overview. *Virus Res*. 2022;322:1-8.
78. Bartlett NW, Dumoutier L, Renauld J-C, Kotenko SV, McVey CE, Lee H-J, et al. A new member of the interleukin 10-related cytokine family encoded by a poxvirus. *Journal of General Virology*. 2004;85(6):1401-12.
79. Wong P-S, Sutejo R, Chen H, Ng S-H, Sugrue RJ, Tan B-H. A system based-approach to examine cytokine response in poxvirus-infected macrophages. *Viruses*. 2018;10(12):692.
80. Lalani AS, McFadden G. Secreted poxvirus chemokine binding proteins. *Journal of leukocyte biology*. 1997;62(5):570-6.
81. Johnston J, McFadden G. Poxvirus immunomodulatory strategies: current perspectives. *Journal of virology*. 2003;77(11):6093-100.
82. Yu H, Bruneau RC, Brennan G, Rothenburg S. Battle royale: innate recognition of poxviruses and viral immune evasion. *Biomedicines*. 2021;9(7):1-30.
83. Maluquer de Motes C, Cooray S, Ren H, Almeida GM, McGourty K, Bahar MW, et al. Inhibition of apoptosis and NF- $\kappa$ B activation by vaccinia protein N1 occur via distinct binding surfaces and make different contributions to virulence. *PLoS pathogens*. 2011;7(12).
84. Zhao Y, De Trez C, Flynn R, Ware CF, Croft M, Salek-Ardakani S. The adaptor molecule MyD88 directly promotes CD8 T cell responses to vaccinia virus. *The Journal of Immunology*. 2009;182(10):6278-86.
85. Oda S-i, Franklin E, Khan AR. Poxvirus A46 protein binds to TIR domain-containing Mal/TIRAP via an  $\alpha$ -helical sub-domain. *Molecular Immunology*. 2011;48(15-16):2144-50.
86. Barteel E, Mansouri M, Hovey Nerenberg BT, Gouveia K, Früh K. Downregulation of major histocompatibility complex class I by human ubiquitin ligases related to viral immune evasion proteins. *Journal of virology*. 2004;78(3):1109-20.
87. Hammarlund E, Dasgupta A, Pinilla C, Norori P, Früh K, Slifka MK. Monkeypox virus evades antiviral CD4+ and CD8+ T cell responses by suppressing cognate T cell activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(38):14567-72.
88. Song H, Josleyn N, Janosko K, Skinner J, Reeves RK, Cohen M, et al. Monkeypox virus infection of rhesus macaques induces massive expansion of natural killer cells but suppresses natural killer cell functions. *PloS one*. 2013;8(10):1-15.
89. Soheili M, Nasser S, Afraie M, Khateri S, Moradi Y, Mahdavi Mortazavi SM, et al. Monkeypox: Virology, Pathophysiology, Clinical Characteristics, Epidemiology,

Vaccines, Diagnosis, and Treatments. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques.* 2022;25:297-322.

90. Silenou BC, Tom-Aba D, Adeoye O, Arinze CC, Oyiri F, Suleman AK, et al. Use of surveillance outbreak response management and analysis system for human monkeypox outbreak, Nigeria, 2017–2019. *Emerging infectious diseases.* 2020;26(2):345-9.

91. Ogoina D, Izibewule JH, Ogunleye A, Ederiane E, Anebonam U, Neni A, et al. The 2017 human monkeypox outbreak in Nigeria—report of outbreak experience and response in the Niger Delta University Teaching Hospital, Bayelsa State, Nigeria. *PloS one.* 2019;14(4):1-12.

92. Sabeena S. The changing epidemiology of monkeypox and preventive measures: an update. *Archives of Virology.* 2023;168(1).

93. Mahase E. Monkeypox: What do we know about the outbreaks in Europe and North America? : *British Medical Journal Publishing Group.*; 2022. p. 1-2.

94. Ligon BL, editor *Monkeypox: a review of the history and emergence in the Western hemisphere. Seminars in pediatric infectious diseases;* 2004: Elsevier.

95. Shah HH, Molani MK, Shabbir N. Human monkeypox—After 40 years, an unintended consequence of smallpox eradication. *Frontiers in public health.* 2023;10:1-3.

96. Velavan TP, Meyer CG. Monkeypox 2022 outbreak: An update. *Tropical medicine & international health : TM & IH.* 2022;27(7):604-5.

97. Rahimi F, Darvishi M, Abadi ATB. WHO declared monkeypox a public-health emergency of international concern: A case for prevention rationale. *International Journal of Surgery.* 2022;105:1-3.

98. Karbalaei M, Keikha M. Overlapping outbreak of COVID-19 and monkeypox in 2022: Warning for immediate preparedness in Iran. *International journal of surgery (London, England).* 2022;105:1-3.

99. Organization WH. Multi-country outbreak of monkeypox. *World Health Organization.* 2022.

100. Ferré VM, Bachelard A, Zaidi M, Armand-Lefevre L, Descamps D, Charpentier C, et al. Detection of monkeypox virus in anorectal swabs from asymptomatic men who have sex with men in a sexually transmitted infection screening program in Paris, France. *Annals of Internal Medicine.* 2022;175(10):1491-2.

101. Lapa D, Carletti F, Mazzotta V, Matusali G, Pinnetti C, Meschi S, et al. Monkeypox virus isolation from a semen sample collected in the early phase of infection in a patient with prolonged seminal viral shedding. *The Lancet Infectious Diseases.* 2022;22(9):1267-9.

102. Letafati A, Sakhavarz T. Monkeypox virus: A review. *Microb Pathog.* 2023;176:1-7.



103. Vanhamel J, Laisnez V, Liesenborghs L, Brosius I, Berens-Riha N, Vanbaelen T, et al. Understanding sexual transmission dynamics and transmission contexts of monkeypox virus: a mixed-methods study of the early outbreak in Belgium (May–June 2022). *Sexually Transmitted Infections*. 2023;99(5):330-36.
104. Brites C, Deminco F, Sá MS, Brito JT, Luz E, Stocker A. The first two cases of monkeypox infection in MSM in Bahia, Brazil, and viral sequencing. *Viruses*. 2022;14(9):1-6.
105. Sousa SAC. Teste para embargo. *PLoS biology*. 2022:1-6.
106. Kugelman JR, Johnston SC, Mulembakani PM, Kisalu N, Lee MS, Koroleva G, et al. Genomic variability of monkeypox virus among humans, Democratic Republic of the Congo. *Emerg Infect Dis*. 2014;20(2):232-9.
107. Elde NC, Child SJ, Eickbush MT, Kitzman JO, Rogers KS, Shendure J, et al. Poxviruses deploy genomic accordions to adapt rapidly against host antiviral defenses. *Cell*. 2012;150(4):831-41.
108. Happi C, Adetifa I, Mbala P, Njouom R, Nakoune E, Happi A, et al. Urgent need for a non-discriminatory and non-stigmatizing nomenclature for monkeypox virus. *PLoS biology*. 2022;20(8).
109. Chen N, Li G, Liszewski MK, Atkinson JP, Jahrling PB, Feng Z, et al. Virulence differences between monkeypox virus isolates from West Africa and the Congo basin. *Virology*. 2005;340(1):46-63.
110. Faye O, Pratt CB, Faye M, Fall G, Chitty JA, Diagne MM, et al. Genomic characterisation of human monkeypox virus in Nigeria. *The Lancet Infectious diseases*. 2018;18(3):246.
111. Gordon SN, Cecchinato V, Andresen V, Heraud JM, Hryniewicz A, Parks RW, et al. Smallpox vaccine safety is dependent on T cells and not B cells. *J Infect Dis*. 2011;203(8):1043-53.
112. Petersen E, Kantele A, Koopmans M, Asogun D, Yinka-Ogunleye A, Ihekweazu C, et al. Human monkeypox: epidemiologic and clinical characteristics, diagnosis, and prevention. *Infectious Disease Clinics*. 2019;33(4):1027-43.
113. McCollum AM, Damon IK. Human monkeypox. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2014;58(2):260-7.
114. Damon IK. Status of human monkeypox: clinical disease, epidemiology and research. *Vaccine*. 2011;29 Suppl 4:D54-9.
115. Osadebe L, Hughes CM, Shongo Lushima R, Kabamba J, Nguete B, Malekani J, et al. Enhancing case definitions for surveillance of human monkeypox in the Democratic Republic of Congo. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(9):e0005857.
116. Nguyen P-Y, Ajisegiri WS, Costantino V, Chughtai AA, MacIntyre CR. Reemergence of human monkeypox and declining population immunity in the context of urbanization, Nigeria, 2017–2020. *Emerging infectious diseases*. 2021;27(4):1007-14.

117. Adalja A, Inglesby T. A novel international monkeypox outbreak. American College of Physicians.; 2022. p. 1175-6.
118. Kalthan E, Tenguere J, Ndjapou S, Koyazengbe T, Mbomba J, Marada R, et al. Investigation of an outbreak of monkeypox in an area occupied by armed groups, Central African Republic. *Medecine et maladies infectieuses*. 2018;48(4):263-8.
119. Mbala PK, Huggins JW, Riu-Rovira T, Ahuka SM, Mulembakani P, Rimoin AW, et al. Maternal and fetal outcomes among pregnant women with human monkeypox infection in the Democratic Republic of Congo. *The Journal of infectious diseases*. 2017;216(7):824-8.
120. Dashraath P, Nielsen-Saines K, Mattar C, Musso D, Tambyah P, Baud D. Guidelines for pregnant individuals with monkeypox virus exposure. *The Lancet*. 2022;400(10345):21-2.
121. Rao AK, Schulte J, Chen T-H, Hughes CM, Davidson W, Neff JM, et al. Monkeypox in a traveler returning from Nigeria—Dallas, Texas, July 2021. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2022;71(14):509-16.
122. Du M, Yan W, Jing W, Qin C, Liu Q, Liu M, et al. Increasing incidence rates of sexually transmitted infections from 2010 to 2019: an analysis of temporal trends by geographical regions and age groups from the 2019 Global Burden of Disease Study. *BMC infectious diseases*. 2022;22(1):574.
123. Bayer-Garner IB. Monkeypox virus: histologic, immunohistochemical and electron-microscopic findings. *Journal of cutaneous pathology*. 2005;32(1):28-34.
124. Li Y, Olson VA, Laue T, Laker MT, Damon IK. Detection of monkeypox virus with real-time PCR assays. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2006;36(3):194-203.
125. Kulesh DA, Loveless BM, Norwood D, Garrison J, Whitehouse CA, Hartmann C, et al. Monkeypox virus detection in rodents using real-time 3'-minor groove binder TaqMan assays on the Roche LightCycler. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2004;84(9):1200-8.
126. Nalca A, Rimoin AW, Bavari S, Whitehouse CA. Reemergence of monkeypox: prevalence, diagnostics, and countermeasures. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;41(12):1765-71.
127. Li D, Wilkins K, McCollum AM, Osadebe L, Kabamba J, Nguete B, et al. Evaluation of the GeneXpert for human monkeypox diagnosis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2017;96(2):405-10.
128. Control CfD, Prevention. Lab alert: MPXV TNF receptor gene deletion may lead to false negative results with some MPXV specific LDTs. 2023.
129. Altindis M, Puca E, Shapo L. Diagnosis of monkeypox virus - An overview. *Travel medicine and infectious disease*. 2022;50:102459.
130. Mills MG, Juergens KB, Gov JP, McCormick CJ, Sampoleo R, Kachikis A, et al. Evaluation and clinical validation of monkeypox (mpox) virus real-time PCR

assays. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2023;159:105373.

131. Chen Q, Gul I, Liu C, Lei Z, Li X, Raheem MA, et al. CRISPR-Cas12-based field-deployable system for rapid detection of synthetic DNA sequence of the monkeypox virus genome. *Journal of medical virology*. 2023;95(1):e28385.

132. Chen Y, Chen Z, Li T, Qiu M, Zhang J, Wang Y, et al. Ultrasensitive and Specific Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats Empowered a Plasmonic Fiber Tip System for Amplification-Free Monkeypox Virus Detection and Genotyping. *ACS nano*. 2023;17(13):12903-14.

133. Zhao F, Hu Y, Fan Z, Huang B, Wei L, Xie Y, et al. Rapid and sensitive one-tube detection of mpox virus using RPA-coupled CRISPR-Cas12 assay. *Cell reports methods*. 2023;3(10):100620.

134. Low SJ, O'Neill MT, Kerry WJ, Krysiak M, Papadakis G, Whitehead LW, et al. Rapid detection of monkeypox virus using a CRISPR-Cas12a mediated assay: a laboratory validation and evaluation study. *The Lancet Microbe*. 2023;4(10):e800-e10.

135. Piepenburg O, Williams CH, Stemple DL, Armes NA. DNA detection using recombination proteins. *PLoS biology*. 2006;4(7):e204.

136. James A, Macdonald J. Recombinase polymerase amplification: Emergence as a critical molecular technology for rapid, low-resource diagnostics. *Expert review of molecular diagnostics*. 2015;15(11):1475-89.

137. Zhou Y, Chen Z. Mpox: a review of laboratory detection techniques. *Arch Virol*. 2023;168(8):221.

138. Ye X, Lei B. The current status and trends of DNA extraction. *Bioessays*. 2023;45(8):2200242.

139. Zhao F, Xu F, Wang X, Song R, Hu Y, Wei L, et al. A field diagnostic method for rapid and sensitive detection of mpox virus. *Journal of medical virology*. 2024;96(2):e29469.

140. Hammarlund E, Lewis MW, Hansen SG, Strelow LI, Nelson JA, Sexton GJ, et al. Duration of antiviral immunity after smallpox vaccination. *Nature medicine*. 2003;9(9):1131-7.

141. Jezek Z, Nakano J, Arita I, Mutombo M, Szczeniowski M, Dunn C. Serological survey for human monkeypox infections in a selected population in Zaire. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1987;90(1):31-8.

142. Amara RR, Nigam P, Sharma S, Liu J, Bostik V. Long-lived poxvirus immunity, robust CD4 help, and better persistence of CD4 than CD8 T cells. *Journal of virology*. 2004;78(8):3811-6.

143. Hammarlund E, Lewis MW, Carter SV, Amanna I, Hansen SG, Strelow LI, et al. Multiple diagnostic techniques identify previously vaccinated individuals with protective immunity against monkeypox. *Nature medicine*. 2005;11(9):1005-11.

144. Bazaid A. Bacterial coinfection and antibiotic resistance profiles among hospitalised COVID-19 patients. *Microorganisms*. 10, 495. 2022.



145. Ben Hadda T, Berredjem M, Almalki FA, Rastija V, Jamalis J, Emran TB, et al. How to face COVID-19: proposed treatments based on remdesivir and hydroxychloroquine in the presence of zinc sulfate. Docking/DFT/POM structural analysis. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022;40(19):9429-42.
146. Hoy SM. Tecovirimat: first global approval. *Drugs*. 2018;78(13):1377-82.
147. Parker S, Handley L, Buller RM. Therapeutic and prophylactic drugs to treat orthopoxvirus infections. 2008.
148. Delaune D, Iseni F. Drug development against smallpox: present and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2020;64(4):10.1128/aac.01683-19.
149. Caillat C, Topalis D, Agrofoglio LA, Pochet S, Balzarini J, Deville-Bonne D, et al. Crystal structure of poxvirus thymidylate kinase: an unexpected dimerization has implications for antiviral therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(44):16900-5.
150. Kumar N, Acharya A, Gendelman HE, Byrareddy SN. The 2022 outbreak and the pathobiology of the monkeypox virus. *Journal of autoimmunity*. 2022;131:102855.
151. Kozlov M. Can a Smallpox Drug Treat Monkeypox? What Scientists Know. NATURE PORTFOLIO HEIDELBERGER PLATZ 3, BERLIN, 14197, GERMANY; 2022.
152. Altindis M, Puca E, Shapo L. Diagnosis of monkeypox virus—An overview. *Travel medicine and infectious disease*. 2022;50:102459.
153. See KC. Vaccination for monkeypox virus infection in humans: a review of key considerations. *Vaccines*. 2022;10(8):1342.
154. Ramalingam K, Amaechi BT. Phytochemicals: Their therapeutic potential against dental caries. *Computational techniques for dental image analysis: IGI Global*; 2019. p. 238-75.
155. Hemati S, Farhadkhani M, Sanami S, Mohammadi-Moghadam F. A review on insights and lessons from COVID-19 to the prevent of monkeypox pandemic. *Travel medicine and infectious disease*. 2022;50:102441.
156. Poland GA, Kennedy RB, Tosh PK. Prevention of monkeypox with vaccines: a rapid review. *The Lancet Infectious diseases*. 2022;22(12):e349-e58.
157. Li H, Huang Q-Z, Zhang H, Liu Z-X, Chen X-H, Ye L-L, et al. The land-scape of immune response to monkeypox virus. *EBioMedicine*. 2023;87.
158. Lozano JM, Muller S. Monkeypox: potential vaccine development strategies. *Trends in pharmacological sciences*. 2023;44(1):15-9.
159. Rimoin AW, Mulembakani PM, Johnston SC, Lloyd Smith JO, Kisalu NK, Kinkela TL, et al. Major increase in human monkeypox incidence 30 years after smallpox vaccination campaigns cease in the Democratic Republic of Congo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(37):16262-7.

160. Ullah A, Shahid FA, Haq MU, Tahir ul Qamar M, Irfan M, Shaker B, et al. An integrative reverse vaccinology, immunoinformatic, docking and simulation approaches towards designing of multi-epitopes based vaccine against monkeypox virus. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2023;41(16):7821-34.
161. Jiang F, Liu Y, Xue Y, Cheng P, Wang J, Lian J, et al. Developing a multiepitope vaccine for the prevention of SARS-CoV-2 and monkeypox virus co-infection: A reverse vaccinology analysis. *International Immunopharmacology*. 2023;115:109728.
162. Zaib S, Rana N, Hussain N, Alrbyawi H, Dera AA, Khan I, et al. Designing multi-epitope monkeypox virus-specific vaccine using immunoinformatics approach. *Journal of Infection and Public Health*. 2023;16(1):107-16.
163. Tufail A, Pullan S, Amini A, Komath D. Deep masseteric layer. *British dental journal*. 2022;232(11):760-.
164. Roess AA, Monroe BP, Kinzoni EA, Gallagher S, Iбата SR, Badinga N, et al. Assessing the effectiveness of a community intervention for monkeypox prevention in the Congo basin. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(10):e1356.
165. Patel M, Adnan M, Aldarhami A, Bazaid AS, Saeedi NH, Alkayyal AA, et al. Current Insights into Diagnosis, Prevention Strategies, Treatment, Therapeutic Targets, and Challenges of Monkeypox (Mpx) Infections in Human Populations. *Life (Basel)*. 2023;13(1).
166. Meo SA, Al-Masri AA, Klonoff DC, Alshahrani AN, Al-Khlaiwi T. Comparison of biological, pharmacological characteristics, indications, contraindications and adverse effects of JYNNEOS and ACAM2000 monkeypox vaccines. *Vaccines*. 2022;10(11):1-8.
167. Mahase E. Monkeypox: Fractional vaccine doses will be piloted as new treatment trial launches. *British Medical Journal*.; 2022.
168. Sah R, Humayun M, Baig E, Farooq M, Hussain HG, Shahid MU, et al. FDA's authorized "JYNNEOS" vaccine for counteracting monkeypox global public health emergency; an update—Correspondence. *International Journal of Surgery*. 2022;107:1-5.
169. Ansari Z, Ramzan H, Shakeel R. Is there a need of monkeypox vaccine amidst the hesitancy of COVID-19 immunization in Pakistan? *Annals of Medicine and Surgery*. 2022;81:1-2.
170. Aljamaan F, Alenezi S, Alhasan K, Saddik B, Alhaboob A, Altawil ES, et al. Healthcare workers' worries and Monkeypox vaccine advocacy during the first month of the WHO Monkeypox alert: Cross-sectional survey in Saudi Arabia. *Vaccines*. 2022;10(9):1-15.
171. Islam MR, Hossain MJ, Roy A, Hasan AN, Rahman MA, Shahriar M, et al. Repositioning potentials of smallpox vaccines and antiviral agents in monkeypox outbreak: A rapid review on comparative benefits and risks. *Health science reports*. 2022;5(5):e798.

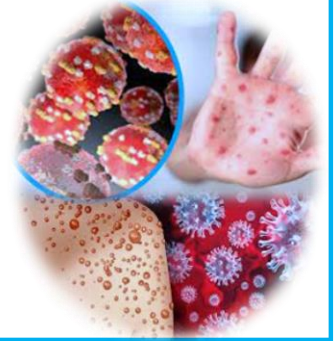
172. Payne AB, Ray LC, Kugeler KJ, Fothergill A, White EB, Canning M, et al. Incidence of Monkeypox Among Unvaccinated Persons Compared with Persons Receiving  $\geq 1$  JYNNEOS Vaccine Dose - 32 U.S. Jurisdictions, July 31-September 3, 2022. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 2022;71(40):1278-82.
173. Malik S, Ahmad T, Ahsan O, Muhammad K, Waheed Y. Recent Developments in Mpox Prevention and Treatment Options. *Vaccines*. 2023;11(3).
174. Zvereva NV, Goryunov AV, Zvereva MV. [Clinical and psychological assessment of the variability of schizotypal personality disorder in children and adolescents]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova*. 2022;122(7):88-93.
175. Sánchez JEG, Centelles MLG-L, López FCR, Gil AT. Recogida, transporte y conservación de las muestras. *Procedimientos en Microbiología Clínica Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 1993.
176. Martín JA, Galán MAB, Jiménez JAL, Guerra LO, Valdés FV. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. *Procedimientos en Microbiología Clínica: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 2007.
177. Toraño Peraza GT IZM, Hernández Álvarez HM, Ribas Antúnez MA. Obtención, transporte y conservación de muestras clínicas: *Editorial Ciencias Medicas*; 2020.
178. Benjamin L, Kelly M, Cohen D, Neuhann F, Galbraith S, Mallewa M, et al. Detection of herpes viruses in the cerebrospinal fluid of adults with suspected viral meningitis in Malawi. *Infection*. 2013;41:27-31.
179. Yang C-F, Naguib T, Yang S-J, Nasr E, Jorba J, Ahmed N, et al. Circulation of endemic type 2 vaccine-derived poliovirus in Egypt from 1983 to 1993. *Journal of virology*. 2003;77(15):8366-77.
180. World-Medical-Association. Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2008.
181. van Delden JJ, van der Graaf R. Revised CIOMS International Ethical Guidelines for Health-Related Research Involving Humans. *Jama*. 2017;317(2):135-6.
182. Seneadza NAH, Kwara A, Lauzardo M, Prins C, Zhou Z, Séraphin MN, et al. Assessing risk factors for latent and active tuberculosis among persons living with HIV in Florida: A comparison of self-reports and medical records. *PLoS one*. 2022;17(8):e0271917.
183. Arranz Izquierdo J, Molero García JM, Gutiérrez Pérez MI. Manejo desde atención primaria de la infección por la viruela del mono (MPOX) en humanos. *Atencion primaria*. 2023;55(10).
184. National Monkeypox Public Health Response Guidelines. 2019.
185. Yon H, Shin H, Shin JI, Shin JU, Shin YH, Lee J, et al. Clinical manifestations of human Mpox infection: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in medical virology*. 2023;33(4):e2446.

186. Cho W, Park S, Kim HJ, Lee M, Choi YS, Yeo SG, et al. Clinical characteristics and outcomes of patients with mpox during the 2022 mpox outbreak compared with those before the outbreak: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in medical virology*. 2024;34(1):e2508.
187. Suvvari TK, Sandeep M, Kumar J, Satapathy P, Chenchula S, Gandhi AP, et al. A meta-analysis and mapping of global mpox infection among children and adolescents. *Reviews in medical virology*. 2023;33(5):e2472.
188. Veintimilla C, Catalán P, Alonso R, García de Viedma D, Pérez-Lago L, Palomo M, et al. The relevance of multiple clinical specimens in the diagnosis of monkeypox virus, Spain, June 2022. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2022;27(33).
189. Tarín-Vicente EJ, Alemany A, Agud-Dios M, Ubals M, Suñer C, Antón A, et al. Clinical presentation and virological assessment of confirmed human monkeypox virus cases in Spain: a prospective observational cohort study. *Lancet (London, England)*. 2022;400(10353):661-9.
190. Ubals M, Tarín-Vicente EJ, Oller X, Mendoza A, Alemany A, Hernández-Rodríguez Á, et al. Evaluating the Accuracy of Self-Collected Swabs for the Diagnosis of Mpox. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2023;76(7):1311-4.
191. 2023 AEdS. Anuario Estadístico de Salud 2023. Especial ed. La Habana: Oficina Nacional de Estadísticas e Información de la Dirección Nacional de Registros Médicos del Ministerio de Salud Pública de Cuba; 2023. p. 1-210.
192. Harris E. What to Know About Monkeypox. *Jama*. 2022;327(23):2278-9.
193. Gao L, Shi Q, Dong X, Wang M, Liu Z, Li Z. Mpox, Caused by the MPXV of the Clade IIb Lineage, Goes Global. *Tropical medicine and infectious disease*. 2023;8(2).
194. Kim H, Kwon R, Lee H, Lee SW, Rahmati M, Koyanagi A, et al. Viral load dynamics and shedding kinetics of mpox infection: a systematic review and meta-analysis. *Journal of travel medicine*. 2023;30(5).
195. Rani I, Goyal A, Shamim MA, Satapathy P, Pal A, Squitti R, et al. Prevalence of mpox viral DNA in cutaneous specimens of monkeypox-infected patients: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1179885.
196. Hasso M, Perusini S, Eshaghi A, Tang E, Olsha R, Zhang H, et al. Monkeypox Virus Detection in Different Clinical Specimen Types. *Emerg Infect Dis*. 2022;28(12):2513-5.
197. Palich R, Burrell S, Monsel G, Nouchi A, Bleibtreu A, Seang S, et al. Viral loads in clinical samples of men with monkeypox virus infection: a French case series. *The Lancet Infectious diseases*. 2023;23(1):74-80.
198. Paran N, Yahalom-Ronen Y, Shifman O, Lazar S, Ben-Ami R, Yakubovsky M, et al. Monkeypox DNA levels correlate with virus infectivity in clinical samples, Israel, 2022. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2022;27(35).

199. Ouafi M, Regueme A, Alcaraz I, Riviere P, Bazus H, Salmon-Rousseau A, et al. Oropharyngeal samples versus lesion specimens at diagnosis in patients infected with monkeypox virus in Northern France. *Journal of medical virology*. 2023;95(1):e28276.
200. Suñer C, Ubals M, Tarín-Vicente EJ, Mendoza A, Alemany A, Hernández-Rodríguez Á, et al. Viral dynamics in patients with monkeypox infection: a prospective cohort study in Spain. *The Lancet Infectious diseases*. 2023;23(4):445-53.
201. Girometti N, Byrne R, Bracchi M, Heskin J, McOwan A, Tittle V, et al. Demographic and clinical characteristics of confirmed human monkeypox virus cases in individuals attending a sexual health centre in London, UK: an observational analysis. *The Lancet Infectious diseases*. 2022;22(9):1321-8.
202. Maldonado MS, Lucchetti AJ, Pacheco RAP, Cevallos LCM, Saavedra EUZ, Zapata LRP, et al. Epidemiologic characteristics and clinical features of patients with monkeypox virus infection from a hospital in Peru between July and September 2022. *International Journal of Infectious Diseases*. 2023;129:175-80.
203. Benites-Zapata VA, Ulloque-Badaracco JR, Alarcon-Braga EA, Hernandez-Bustamante EA, Mosquera-Rojas MD, Bonilla-Aldana DK, et al. Clinical features, hospitalisation and deaths associated with monkeypox: a systematic review and meta-analysis. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2022;21(1):36.

# CAPÍTULO VIII

## ANEXOS



**VIII. ANEXOS**

**Anexo 1**

**Consentimiento Informado**

Se me ha explicado que la viruela símica (Mpox) es infección de origen viral, zoonótica que afecta al hombre y que su contagio puede ser por visitar áreas endémicas del virus y allí tener contacto cercano con personas enfermas ya que en nuestro país no se reconoce hasta el momento y por contacto directo con personas enfermas. Esta infección puede cursar con: dolor de cabeza, fiebre, ganglios inflamados, decaimiento, malestar general y lesiones en la piel, que puede tomar las mucosas, y los genitales. También puede conducir a complicaciones bacterianas. Desde el punto de vista clínico es importante realizar el diagnóstico diferencial con: varicela, enterovirus y otros herpes virus. Se requiere hospitalización y aislamiento, el tratamiento es sintomático, no existe un tratamiento específico. Se me ha informado que seré incluido(a) en un estudio, me someteré a una toma de muestras clínicas y pruebas de detección de este agente infeccioso por parte de personal calificado y entrenado. Igualmente se me ha informado que puedo aceptar o no, incluso retirarme del estudio en el momento que lo desee, sin perjuicio alguno. La información obtenida será del conocimiento de los médicos e investigadores participantes en el ensayo y los datos personales, resultados de laboratorio y la identidad de los pacientes no serán divulgados.

De acuerdo a las informaciones recibidas, se me ha solicitado el consentimiento de participación y se han respondido mis preguntas y aclarado mis dudas, por tanto he aceptado mi inclusión y para que así conste firmo conjuntamente con los investigadores principales en el estudio.

**Fecha:**...../...../.....

**Nombre y Firma del paciente:**

.....

**Nombre y Firma del tutor (En caso de menores de edad):**

.....

**Nombre y Firma del Investigador:**

.....



## Anexo 2

**Modelo de recogida de datos*****I-Consentimiento informado (explicación oral)***

¿Ud. está de acuerdo en participar en el estudio de detección de Mpox?: No \_\_\_ Sí \_\_\_

Si responde Sí: (asignar código) **Código:** \_\_\_\_\_ **Firma (del voluntario):** \_\_\_\_\_

**II-Datos Generales** Fecha: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

Sexo biológico: \_\_\_\_\_ Identidad de género: Transexual: \_\_\_\_\_ ; Transgénero: \_\_\_\_\_; No binario: \_\_\_\_\_;

Preferencia sexual: Bisexual: \_\_\_\_\_; Homosexual: \_\_\_\_\_(HSH\_\_MSM\_\_); Heterosexual: \_\_\_\_\_; Asexual: \_\_\_\_\_

Municipio donde vive: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_

Color de la piel: Blanca \_\_\_\_\_ Negra \_\_\_\_\_ Mestiza \_\_\_\_\_

Escolaridad: Sexto \_\_\_\_\_ Noveno \_\_\_\_\_ Pre-Univ. o Téc. Med \_\_\_\_\_ Univ. \_\_\_\_\_  
Ocupación: \_\_\_\_\_

Estado civil: Soltero \_\_\_\_\_ Casado \_\_\_\_\_ Unión consensual \_\_\_\_\_ Divorciado \_\_\_\_\_  
Viudo \_\_\_\_\_

***III. Información clínica y epidemiológica***

Tiene hábito de fumar: No \_\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_\_

Seropositivo al VIH: No \_\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_\_ Desde cuándo \_\_\_\_\_ Carga viral: \_\_\_\_\_  
CD4: \_\_\_\_\_

Si es VIH (+), tiene indicada TARGA: No \_\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_\_ ¿Con qué frecuencia la toma?: \_\_\_\_\_

Edad de comienzo de las relaciones sexuales: \_\_\_\_\_

Relaciones sexuales con: Hombres \_\_\_\_\_ Mujeres \_\_\_\_\_ Hombres y mujeres \_\_\_\_\_

Si es hombre y tiene sexo con otros hombres, frecuenta sitios de encuentro ("potajeras"): No \_\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_\_



Ha tenido relación sexual con extranjero(a)s durante el mes: No\_\_\_\_ Sí\_\_\_\_  
País\_\_\_\_\_

Tiene actualmente una pareja estable: Sí\_\_\_\_ No: \_\_\_\_ Tiempo: \_\_\_\_\_

Usa siempre condón en: Si: \_\_\_\_ No: \_\_\_\_ Si su respuesta es **SI** seleccione cual:

Sexo vaginal: \_\_\_\_

Sexo anal: \_\_\_\_ Sexo oral: \_\_\_\_ Juegos sexuales: \_\_\_\_

### **III.1 Historia de enfermedad de transmisión sexual anterior**

Ha tenido ITS anterior? No\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_ ¿Cuál y cuándo?  
\_\_\_\_\_

Presenta lesiones en piel: No\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_ Lesiones en piel \_\_\_\_ en (sitio anatómico): \_\_\_\_\_ Qué tiempo lleva con ella(s): \_\_\_\_\_

Lesiones genitales \_\_\_\_ (única\_\_\_\_ múltiple\_\_\_\_) Lesión en ano \_\_\_\_

Lesión en la boca \_\_\_\_ \_\_\_\_

Padece de alguna enfermedad crónica: No\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_, ¿cuál? \_\_\_\_\_

Actualmente tiene otra enfermedad aguda: No\_\_\_\_ Sí \_\_\_\_, ¿cuál? \_\_\_\_\_

Otros signos o síntomas clínicos que presente: Adenopatías inguinales\_\_\_\_  
Fiebre\_\_\_\_ Prurito genital/anal\_\_\_\_ Linfadenopatías generalizadas\_\_\_\_ Mialgia\_\_\_\_  
Diarrea\_\_\_\_ Artralgia\_\_\_\_ Cefalea\_\_\_\_ Rash cutáneo\_\_\_\_  
Otros: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### **IV. Muestras clínicas tomadas**

\_\_\_\_ exudado de lesión

\_\_\_\_ exudado nasofaríngeo

\_\_\_\_ exudado vaginal

\_\_\_\_ exudado anal

### **V. Diagnóstico clínico presuntivo**

**VI. Investigadores**

Investigador del Proyecto

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Medico de asistencia

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_