

Síntomas

Los síntomas son similares a los de la viruela.



Salpullido en la piel.



Dolor de cabeza



Fiebre



Dolores musculares y
en la espalda.



Cansancio.



Se ha demostrado que los pacientes no vacunados tienen más complicaciones graves y secuelas que los pacientes vacunados.



Hinchazón de los Ganglios Linfáticos



Problemas Respiratorios

Al final de la enfermedad, se pueden presentar dificultades respiratorias que sugieren una infección secundaria de los pulmones.



Vómitos o diarrea en la segunda semana, lo que puede llevar a deshidratación severa (3).

Metodologías para el diagnóstico:

El diagnóstico por laboratorio es fundamental para la identificación y vigilancia de esta enfermedad. Sin embargo, la diferenciación clínica de la viruela símica, viruela y varicela es difícil, lo que hace necesario disponer de pruebas más precisas y rápidas. Las pruebas más comunes incluyen el aislamiento viral, la microscopía electrónica, la inmunohistoquímica y la serología. Aunque estas pruebas son útiles, presentan ciertas desventajas como el tiempo requerido para completarlas, la necesidad de experiencia para la identificación de un grupo de virus morfológicamente, indistinguible, como los *Orthopoxvirus*, la falta de especificidad en la detección de otros virus del mismo grupo y en casos de vacunación previa contra la viruela.





ITRASIG
Instituto Traslacional de
Singularidad Genómica

Una solución técnica para mitigar los problemas previamente descritos, es el uso de la técnica de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés), ya que esta cubre, en gran medida, los principales inconvenientes de las otras técnicas. Por ejemplo, el tiempo de espera para los resultados es de solo 1 a 2 horas, y la identificación específica de toda la diversidad del grupo *Orthopoxvirus* puede abarcarse mediante diseños robustos. Además, actualmente la mayoría de los laboratorios de diagnóstico clínico, en todo el mundo, cuentan con la infraestructura y el personal capacitado para enfrentar este problema de salud pública mediante el uso de herramientas moleculares como la PCR.





Fig. 3. Las sondas con MGB se unen específica y fuertemente al surco menor del ADN, formando un dúplex muy estable, lo que permite diseños cortos y específicos. Al igual que otras sondas de hidrólisis, este tipo de sondas dependen de la actividad 5' exonucleasa de la *taq* polimerasa para observar un aumento en la fluorescencia.

Durante los brotes de monkeypox que ocurrieron en Estados Unidos entre los años 2003 y 2005, se desarrollaron varios ensayos de detección utilizando la técnica de PCR. En particular, se estandarizaron pruebas, utilizando una química de detección innovadora llamada MGB probes (fig. 3).

Estas pruebas permitieron detectar preliminarmente al grupo de virus *Orthopoxvirus* eurasiáticos y, posteriormente, una detección específica del virus de la viruela símica. Ambos ensayos de detección fueron altamente precisos y sensibles en la detección de los virus de la viruela símica, y no mostraron reactividad cruzada con otras cepas de virus o bacterias. Los resultados de estas pruebas fueron comparados con la secuenciación del genoma viral y se obtuvo una concordancia del 100 % (5) (6).



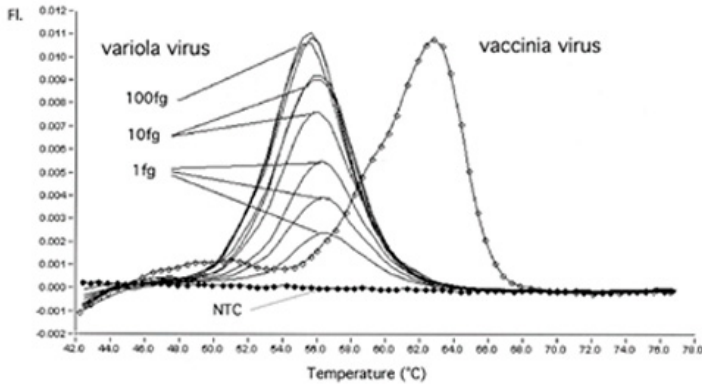


Figura 4. Curvas de disociación generadas después de la amplificación de 100, 10 y 1 fg de ADN preparado a partir de material de cultivo celular infectado con VARV. También se muestra la curva de disociación después de la amplificación de 100 fg. de VACV mostrando la diferenciación de los virus mediante sus perfiles de disociación. Fl, fluorescencia.

Con el objetivo de obtener datos epidemiológicos mediante la detección no solo del virus de la viruela símica, sino también de otros virus pertenecientes al grupo de *Orthopoxvirus*, se desarrolló un método de tamizaje que abarcara la mayor diversidad posible. Este ensayo fue capaz de amplificar con éxito 120 cepas pertenecientes a las especies más representativas como la viruela de camello, la viruela de ratón, la viruela de la vaca y la viruela de mono (7).

La diferenciación de tantas cepas se pudo realizar mediante el análisis por curvas de disociación, utilizando sondas y no agentes intercalantes, debido a que existe un mismatch en la región de la sonda que resulta en la sustitución, única, de aminoácidos. La temperatura de fusión (T_m) de la sonda, difiere significativamente, para cada subgrupo de virus (fig. 4), lo que permite el análisis diferencial entre los perfiles de disociación de cada subgrupo (7).

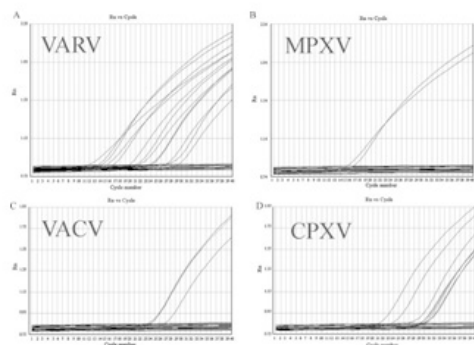


Fig.5 Las curvas de amplificación por encima de la banda horizontal corresponden a resultados positivos y reflejan el nivel de acumulación de los productos de PCR característicos de cada especie de *Orthopoxvirus* analizada (A-D), mientras que las líneas por debajo de la banda horizontal corresponden a los resultados negativos para las demás especies de *poxvirus*

Siguiendo el enfoque del ensayo anterior, en el año 2011 se desarrolló un ensayo de identificación rápida en una sola reacción de: *variola virus* (VARV), *monkeypox virus* (MPXV), *cowpox virus* (CPXV) *vaccinia virus* (VACV) utilizando la técnica de la PCR multiplex con sondas taqman (fig. 5). Los resultados de especificidad, sensibilidad analítica y reproducibilidad de este ensayo permitieron emplearlo con muestras biológicas, arrojando datos confiables en la detección de VARV y VACV en humanos, así como CPXV y MPXV en otros mamíferos (8).



ITRASIG
Instituto Translacional de
Singularidad Genómica



Byron Galindo Ornelas

Actualmente forma parte del personal científico de ITRASIG, donde lleva a cabo la vigilancia genómica de enfermedades emergentes. Además, participa activamente en el desarrollo de herramientas para la atención de enfermedades contagiosas y no contagiosas de importancia social, aportando opiniones fundamentales en la ciencia y aterrizadas dentro de las necesidades epidemiológicas del país.



ITRASIG
Instituto Traslacional de
Singularidad Genómica

Referencias:

1. Organización Mundial de la Salud. (2022, 3 de enero). Fiebre del virus del monkeypox. [Página web]. Recuperado el 15 de febrero de 2023, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/>
2. OPS/OMS. (2022). Informe de situación sobre respuesta al brote de viruela símica en varios países de la Región. Recuperado el 15 de febrero del 2023, de <https://www.paho.org/es/documentos/informe-situacion-sobre-respuesta-al-brote-viruela-simica-varios-paises-region-0>
3. Andrea M. McCollum, Inger K. Damon (2014). Human Monkeypox. *Clinical Infectious Diseases*, 58(2), 260-267. <https://doi.org/10.1093/cid/cit703>
4. Breman JG, Henderson DA. (2002). Diagnosis and management of smallpox. *N Engl J Med*, 346, 1300-8. [doi/full/10.1056/nejmra020025](https://doi.org/10.1056/nejmra020025)
5. Kulesh, D. A., Loveless, B. M., Norwood, D., Garrison, J., Whitehouse, C. A., Hartmann, C., ... & Ludwig, G. V. (2004). Monkeypox virus detection in rodents using real-time 3'-minor groove binder TaqMan® assays on the Roche LightCycler. *Laboratory Investigation*, 84(9), 1200-1208. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700143>.
6. Li Y, Olson VA, Laue T, Laker MT, Damon IK. Detection of monkeypox virus with real-time PCR assays. *J Clin Virol*. (2006) Nov;36(3):194-203. doi: 10.1016/j.jcv.2006.03.012. PMID: 16797993.
7. Olson, V. A., Laue, T., Laker, M. T., Babkin, I. V., Drosten, C., Shchelkunov, S. N., ... & Meyer, H. (2004). Real-time PCR system for detection of orthopoxviruses and simultaneous identification of smallpox virus. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(5), 1940-1946. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.1940-1946.2004>
8. Shchelkunov, S. N., Shcherbakov, D. N., Maksyutov, R. A., & GavriloVA, E. V. (2011). Species-specific identification of variola, monkeypox, cowpox, and vaccinia viruses by multiplex real-time PCR assay. *Journal of Virological Methods*, 175(2), 163-169. <https://doi.org/10.1016/j.jviomet.2011.05.002>