

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
LICENCIATURA EN LABORATORIO CLINICO



**“APORTE DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE
MONKEYPOXVIRUS, EN EL MES DE JULIO DE 2023”**

PRESENTADO POR:

Yancy Abigail Vargas Portillo

PARA OPTAR AL GRADO DE:

Licenciada en Laboratorio Clínico.

ASESOR:

Licenciada Yeni Elizabeth Paz Romero

Ciudad universitaria “Dr. Fabio Castillo Figueroa”, El Salvador, agosto, 2023

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

Msc. Roger Armando Arias

VICERECTOR ACADÉMICO

PhD. Raúl Ernesto Azcúnaga López

VICERECTOR ADMINISTRATIVO

Ing. Juan Rosa Quintanilla

SECRETARIO/A GENERAL

Ing. Francisco Antonio Alarcón

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA

DECANA

MsC. Josefina Sibrian de Rodriguez

VICEDECANO

Dr. Saúl Díaz Peña

SECRETARIA

MsC. Aura Marina Miranda de Arce

DIRECTOR DE ESCUELA

MsC. José Eduardo Zepeda Avelino

DIRECTORA DE CARRERA

MsC. Miriam Cecilia Recinos de Barrera

CONTENIDO

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR.....	ii
AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE MEDICINA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	viii
II. DESARROLLO.....	1
III. CONCLUSIONES.....	12
IV. FUENTES DE INFORMACIÓN	13

AGRADECIMIENTOS

A Dios,

Por brindarme capacidad, perseverancia y responsabilidad para lograr uno de los sueños más grandes de mi vida.

A mí padre,

Por ser el pilar fundamental de mi vida, mi soporte y mi inspiración, este logro no hubiera sido posible sin él.

A mis docentes,

Por ayudarme a subir un escalón a la vez en este largo proceso, por hacerle honor a la vocación de enseñar inspirándonos a siempre ser más de lo que imaginamos.

Yancy Abigail Vargas Portillo

RESUMEN

Monkeypox, anteriormente conocida como viruela del simio, es un virus patógeno zoonótico reemergente que pertenece al género ortopoxvirus más grande (OPXV) en la familia Poxviridae. Desde la detección del primer caso humano en la República Democrática del Congo en 1970, la enfermedad ha causado infecciones y brotes esporádicos, principalmente restringidos a algunos países de África occidental y central, con un gran número de casos humanos notificados durante los brotes en varios países en 2022. La viruela del mono tiene un periodo de incubación de una a dos semanas, aunque en pocos casos los síntomas pueden aparecer a las tres semanas. Las lesiones aparecen en la mucosa de la orofaringe seguidas por su aparición en la piel, incluyendo las palmas de las manos y las plantas de los pies. Las lesiones son sincrónicas, es decir todas las lesiones del exantema se encuentran en el mismo estadio de mácula, pápula, vesícula, pústula o costra. La persona es infectiva durante todo este proceso. Las lesiones se resuelven en unas tres o cuatro semanas después de lo cual la persona deja de ser infectiva, por esto las estrechas similitudes en los síntomas clínicos que comparte Mpox con muchas enfermedades por ortopoxvirus (OPXV) hacen que su diagnóstico sea desafiante, siendo así que requiere de pruebas de laboratorio para su confirmación, por lo que la confirmación de este virus requiere la detección de ADN en muestras clínicas mediante PCR en tiempo real o PCR convencional.

PALABRAS CLAVES

PCR en tiempo real, monkeypoxvirus

ABSTRACT

Monkeypox, formerly known as monkeypox, is a reemerging zoonotic pathogenic virus belonging to the larger orthopoxvirus (OPXV) genus in the family Poxviridae. Since the detection of the first human case in the Democratic Republic of Congo in 1970, the disease has caused sporadic infections and outbreaks, mainly restricted to some countries in West and Central Africa, with a large number of human cases reported during outbreaks in several countries in 2022. Monkeypox has an incubation period of one to two weeks, although in rare cases symptoms may appear at three weeks. Lesions appear on the mucosa of the oropharynx followed by appearance on the skin, including the palms of the hands and soles of the feet. The lesions are synchronous, i.e. all lesions of the rash are at the same stage of macule, papule, vesicle, pustule or crust. The person is infective throughout this process. The lesions resolve in about three to four weeks after which the person is no longer infective, so the close similarities in clinical symptoms that Mpox shares with many orthopoxvirus (OPXV) diseases make diagnosis challenging, requiring laboratory testing for confirmation, so confirmation of this virus requires detection of DNA in clinical samples by real-time PCR or conventional PCR.

KEYWORDS

Real-time PCR, monkeypoxvirus

I. INTRODUCCIÓN

Los virus son partículas muy pequeñas que poseen información genética, ya que están formados por una molécula de ácido nucleico, que puede ser ADN o ARN, donde se almacena la información responsable de la transmisión hereditaria conocido como genoma vírico, esto les permite controlar su replicación y transferencia. Son parásitos intracelulares estrictos u obligados porque necesitan la maquinaria metabólica de una célula huésped. Pueden infectar las plantas y los animales, incluido el hombre, y también bacterias, hongos y parásitos. La estructura de los virus es muy diversa y varía en tamaño, forma y composición química, la parte central del virus es el genoma o nucleoide, que se encuentra rodeado por una cubierta proteica denominada cápside. En el genoma viral se encuentra toda la información genética y es responsable de la capacidad infecciosa del virus. Existen diferentes géneros y familias en las que se clasifican los diferentes virus existentes, entre estos tenemos Orthopoxvirus genero al cual pertenece la especie Monkeypox virus.

Monkeypox virus (MPXV) es un virus ADN de doble cadena, miembro del género Orthopoxvirus dentro de la familia Poxviridae. Los poxvirus son causantes de enfermedades en humanos y en muchos animales; la infección generalmente resulta en la formación de lesiones, nódulos de la piel o erupción diseminada. Otras especies patógenas para los humanos incluyen el virus de la viruela bovina y el virus de la variola (que causa la viruela, que ha sido erradicada).

La viruela del mono es una enfermedad zoonótica poco frecuente siendo así que, hasta el año 2022 era endémica en algunos países de África occidental y central. El principal mecanismo de transmisión descrito del virus causante (MPXV) en humanos ocurría a través de contacto directo o indirecto con mamíferos vivos o muertos, principalmente roedores o primates de zonas endémicas.

La biología molecular desempeña un papel esencial en el diagnóstico de la viruela del mono. Las técnicas de PCR, secuenciación del ADN viral y ensayos serológicos permiten la detección y caracterización precisa de MPXV, lo que facilita la identificación temprana de la infección, el monitoreo de la carga viral y el desarrollo de estrategias de control y prevención adecuadas. En cuanto a la confirmación de la infección por MPXV esta se basa en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), utilizando la reacción en cadena de la polimerasa convencional o en tiempo real.

II. DESARROLLO

Los virus son partículas infecciosas muy pequeñas (de entre 20 y 300 nm), que están constituidas por un solo ácido nucleico, DNA o RNA, poseen una organización estructural simple y se replican por un mecanismo particular dentro de una célula viva. La parte central del virus es el genoma o nucleoide, que se encuentra rodeado por una cubierta proteica denominada cápside. En algunos virus se agrega otra estructura más externa llamada envoltura, y los virus que la poseen se clasifican como virus envueltos. Cuando no existe una envoltura, se dice que se trata de un virus desnudo. El genoma viral contiene el ácido nucleico, sea este DNA o RNA por lo que en este se encuentra toda la información genética y es responsable de la capacidad infecciosa del virus. Etimológicamente virus significa *veneno* en latín. Son parásitos intracelulares estrictos u obligados porque necesitan la maquinaria metabólica de una célula huésped. Pueden infectar las plantas y los animales, incluido el hombre, y también bacterias, hongos y parásitos.

Las enfermedades que los virus originan en el hombre se conocen desde hace muchos años, sin embargo, la demostración de los virus por medio del microscopio electrónico, de la técnica conocida como cristalografía de rayos X y las técnicas para cultivarlos en medios celulares en el laboratorio se han producido en el siglo XX.

La replicación de los virus es un proceso muy particular por el cual un virus penetra en una célula que, a partir de ese momento, pone todos sus mecanismos a disposición de ese virus, del cual se producen muchas copias en su interior. En este aspecto los virus se diferencian notoriamente de las bacterias dado que una bacteria solo origina dos copias y de un solo virus puede haber hasta 100 000 copias, aunque solo del 1 al 10% de ellas llegará a ser infecciosa. En realidad, el mecanismo íntimo de este proceso está determinado por el tipo de ácido nucleico que tiene el virus.

En general, los virus con genoma DNA replican en el núcleo de la célula y los que tienen genoma RNA lo hacen en el citoplasma de la célula. En ambos casos hay excepciones, por ejemplo, los poxvirus (DNA) multiplican en el citoplasma y los orthomyxovirus (RNA) como el virus de la gripe, en el núcleo.

POXVIRUS

Los poxvirus pertenecen a la familia Poxviridae, que son los virus más grandes y complejos que infectan a humanos, otros mamíferos, aves e incluso insectos. Los poxvirus que infectan a los vertebrados se clasifican en ocho géneros, y cuatro de estos géneros (*Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus*, *Yantapoxvirus* y *Molluscipoxvirus*) causan enfermedades en seres humanos.

Los miembros del género *Orthopoxvirus* que causan enfermedad en humanos son:

- virus variola (viruela),
- virus de la viruela bovina,
- vaccinia (cepa usada para la vacunación contra la viruela)
- virus de la viruela de los monos.

Los virus más importantes en las enfermedades de humanos son variola (viruela), vaccinia, virus de la viruela del mono, molusco contagioso, ectima contagiosa, virus de la viruela bovina y virus de la pseudoviruela bovina. Si bien la viruela se ha eliminado, tiene el potencial de ser utilizada en una guerra de gérmenes o en bioterrorismo. Además, el virus de la viruela de los monos causa en seres humanos enfermedad similar a la viruela, pero por lo general más leve.

VIRUELA DEL MONO (MONKEYPOX VIRUS)

De acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía Viral el virus pertenece a la familia Poxviridae, subfamilia Chordopoxvirinae, género Orthopoxvirus, y especie Monkeypox virus. Estos virus son relativamente grandes ya que pueden medir hasta cerca de 200 nm de ancho por 250 nm de largo, por lo que es de dos y media veces más grande que el coronavirus SARS-CoV-2. Al igual que todos los poxvirus, el virus del simio tiene forma de ladrillo con una estructura compleja. Son virus cuyo genoma es DNA lineal de doble cadena con la información necesaria para codificar las proteínas que requiere para su replicación. A diferencia de la mayoría de los virus de DNA que se replican en el núcleo de la célula, estos virus llevan todo el proceso de replicación en el citoplasma. El virus se puede liberar de la célula infectada a través de lisis celular o a través de un proceso de exocitosis.

Genéticamente, se han identificado dos cladas del virus del mono; la denominada clada de África Occidental y la clada de la cuenca del Congo o África Central. De las dos cladas, esta última ha mostrado mayor letalidad.

La aparición de dos brotes epidémicos consecutivos de una enfermedad eruptiva parecida a una viruela leve en estos monos que habían sido importados de Singapur dio indicios de un síndrome nuevo. Aunque en esa ocasión no hubo mortalidad entre los monos infectados, en 1959 en una colonia de una población cautiva de 2,000 monos de diferentes especies llevadas a Filadelfia en los Estados Unidos, cerca del 10% adquirieron la infección y de ellos cerca del 0.5 % murieron lo que constataba el riesgo de muerte en los monos por este virus.

Posteriores brotes en monos cautivos en diferentes instituciones mostraron que diferentes especies de monos son altamente susceptibles a la infección. Dos aspectos de estos estudios fueron de

interés, por un lado, se mostró evidencia serológica sin sintomatología en monos cautivos, además, se constató que en monos enfermos la letalidad podía ser más alta que el 0.5% previamente reportado. El primer caso humano se registró en un niño de nueve meses de edad en la República Democrática del Congo en 1970 y posteriormente fue detectado en otros 10 países principalmente de la región de África Central y el occidente de África. Los países endémicos a la infección eran Benin, Camerún, República Centroafricana, la República Democrática del Congo, Gabón, Ghana, Costa de Marfil, Liberia, entre otros.

Pronto, el virus fue considerado endémico en esas regiones de África y fuera de este territorio, el primer caso reportado fue en el 2003 en el estado de Wisconsin, USA donde una niña de tres años fue infectada a través de su mascota, un perrito de la pradera el cual fue comprado en un sitio de venta de animales exóticos donde este animal compartió espacio con roedores importados de Ghana. Dos semanas después, la madre de la niña desarrolló una enfermedad eruptiva similar confirmándose la infección con el virus de la viruela del mono. En total, 47 casos fueron confirmados en este brote epidémico principalmente entre personas que tuvieron contacto con mascotas infectadas incluyendo niños, vendedores de mascotas exóticas, cuidadores etc. En este brote, no se reportaron decesos. Posteriormente, en un proceso lento, que incluyó los primeros casos detectados en el 2003, el virus se expandió a diferentes países.

Para el 2021, además de los Estados Unidos, el virus se diseminó al Reino Unido, Israel y Singapur. Para este año se contabilizaron dos casos adicionales a los reportados en el 2003 en los Estados Unidos de América, cinco casos en el Reino Unido y un caso en Israel y Singapur para un total de 58 casos desde el 2003 hasta el 2021. Para el 9 de junio de 2022 se registraron 1356 casos con presencia en 31 países y para el 28 de junio del 2022 la cifra de casos confirmados subió a 4,378

en 49 países lo que equivale a un aumento de 3 veces más en 19 días. Lo que implica una infección progresiva entre la población humana.

Los poxvirus son causantes de enfermedades en humanos y en muchos otros animales; la infección generalmente resulta en la formación de lesiones, nódulos de la piel o erupción diseminada. En la población humana un nuevo individuo se puede infectar con monkeypox al momento que el virus entra por la orofaringe, nasofaringe, o por contacto directo. El virus establece un foco de infección primaria en las células epiteliales en el sitio de entrada. Posteriormente se disemina a los ganglios linfáticos para después establecer una viremia que conlleva a la infección de diferentes órganos del individuo. El periodo de incubación dura de una a dos semanas, aunque en pocos casos los síntomas pueden aparecer a las tres semanas. Después de un periodo prodrómico de uno a dos días con fiebre e inflamación de ganglios linfáticos, aparece el exantema característico de esta enfermedad. Las lesiones aparecen en primera instancia en la mucosa de la orofaringe seguidas por su aparición en la piel y las extremidades incluyendo las palmas de las manos y las plantas de los pies. Las lesiones son sincrónicas, es decir todas las lesiones del exantema se encuentran en el mismo estadio de mácula, pápula, vesícula, pústula o costra. La persona es infectiva durante todo este proceso. Las lesiones se resuelven en unas tres o cuatro semanas después de lo cual la persona deja de ser infectiva.

Un aspecto interesante para evitar la propagación del virus es conocer los sitios por los cuales se excreta la partícula viral. En este sentido, el hecho de que el virus se multiplica en la orofaringe implica que este virus se puede transmitir por gotitas con virus que se expelen al toser o hablar. Por otro lado, la viremia que establece el virus implica que puede alcanzar diferentes órganos donde se establece un nuevo foco de infección. Lo anterior implica que el virus puede establecer una viremia secundaria y presentarse en diferentes fluidos del cuerpo por lo que el contacto de una piel

escoriada con estos fluidos sería un factor en su diseminación por esta ruta. Una ruta adicional, es la exposición a las vesículas y pústulas de los enfermos, que son altamente ricas en partículas virales. El contacto directo con las lesiones en la piel puede conducir a la infección de un nuevo individuo, ya que el virus puede ser excretado por diferentes rutas durante el proceso prodrómico o exantemático.

DIAGNÓSTICO

Debido a la variedad de afecciones que causan erupciones cutáneas y a que la presentación clínica puede ser más atípica en este brote, puede ser difícil diferenciar la viruela del mono únicamente en función de la presentación clínica. Por lo tanto, la decisión de realizar una prueba de laboratorio debe basarse en factores clínicos y epidemiológicos, vinculados a una evaluación de la probabilidad de infección.

La muestra de elección es la muestra de lesión cutánea: líquido vesicular, frotis de lesiones vesiculares, exudados o costras, enviadas en medio de transporte de virus y conservadas en frío. Si esta muestra no estuviera disponible o se requiriesen otros estudios adicionales se podrían utilizar otras muestras como frotis de la mucosa bucal o faríngea o frotis anal.

Se han desarrollado varios métodos de prueba de ácido nucleico para la detección y caracterización del virus de la viruela símica (MPXV). Comparado con otros métodos de diagnóstico, como métodos serológicos para identificar Mpox, estos tipos de métodos monitorean en gran medida la prevalencia del virus en pacientes a través de la producción de anticuerpos específicos del virus durante y después de la infección, utilizando sistemas secundarios basados en anticuerpos para detectar anticuerpos específicos del virus, utilizando uno o una combinación de monitoreo basado en ELISA de la producción de anticuerpos IgG específicos de Mpox o anticuerpos IgM.

PCR en tiempo real (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

En todos los organismos vivos las células regulan sus actividades mediante la activación o desactivación de la expresión de sus genes. La expresión genética es generalmente proporcional al número de copias de ARN mensajero (ARNm) de un gen determinado. Este es un hecho crucial cuando se trata de identificar la presencia de productos celulares específicos ya que el ARNm es traducido en los ribosomas para formar proteínas.

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanca es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células.

La PCR en tiempo real es una modalidad de PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectada a medida que la reacción avanza, es decir: “En tiempo real” esto se logra incorporando una molécula fluorescente que se asocia al ADN amplificado, donde el incremento de esta fluorescencia es proporcional al incremento de la cantidad de moléculas de ADN amplificadas en la reacción. La PCR puede proporcionar un método simple y elegante para determinar la cantidad de una secuencia objetivo o gen que está presente en una muestra. Actualmente, la PCR en tiempo real es el método más sensible para detectar los ácidos nucleicos. Aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia.

Esta técnica se realiza en un equipo Termociclador y consta, generalmente, de tres etapas:

1. Desnaturalización: En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos produciéndose la ruptura de los puentes de hidrógeno y la separación de la doble hebra de ADN en simple hebra, quedando expuestas las bases nitrogenadas del templado.

2. Amplificación: En esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria, sin embargo, para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación o temperatura melting sea la óptima; ésta generalmente oscila entre 50-60 °C.

3. Elongación: En esta etapa actúa la polimerasa, tomando el ADN molde para sintetizar la cadena complementaria y partiendo del cebador como soporte inicial necesario para la síntesis de nuevo ADN y de esta forma se genera la cadena complementaria.

Una vez finalizada la reacción en el termociclador, se obtienen millones de copias de amplicones. Si ha ocurrido contaminación durante la preparación de la PCR, podrían obtenerse amplicones inespecíficos, es decir, que no correspondan al ADN diana requerido, o bien falsos positivos por contaminación con templado o amplicones, alterándose la confiabilidad de los resultados. Los termocicladores están proveídos de una PC con un software que generalmente son fáciles de usar. Este software genera una serie de gráficas en donde se muestran todos los datos necesarios para conocer si la reacción fue exitosa, de este modo tenemos una gráfica de amplificación que muestra el curso y el progreso de la reacción, otra gráfica es la curva de disociación o curva melting que muestra información sobre la especificidad de la reacción.

Rango reportable del ensayo

Los valores de amplificación se expresan en valores de Ct (del inglés Cycle Threshold), donde un Ct es el ciclo a partir del cual los valores de fluorescencia relativa (UFR) rebasan el punto de corte o umbral y es inversamente proporcional a la cantidad de ARN o ADN.

La amplificación se observa como una curva sigmoide y los posibles resultados obtenidos son:

- **Positivo:** significa que existe material genético del virus (se observa una curva sigmoide).
- **Negativo:** quiere decir que no existe material genético del virus, por lo tanto, no se observa curva o se observa una curva sigmoide de amplificación tardía con valor de $Ct \geq 38$.
- **Muestra inadecuada:** puede ser porque no hubo amplificación del control positivo, se observó curva en el control negativo, se observó amplificación en el control negativo de extracción, o no hubo amplificación del control de muestra humana.

En general, los métodos de detección molecular tienen varias ventajas sobre los métodos serológicos, principalmente, la rapidez, el rendimiento de alta calidad y una mayor sensibilidad. Las detecciones moleculares son capaces de diferenciar rutinariamente entre Mpox y otras especies de OPXV en un ensayo multiplex, a diferencia de la mayoría de los ensayos serológicos utilizados, que debido a la reactividad inmunológica cruzada entre OPXV humano, ofrecen un valor diagnóstico limitado. Además, la mayoría de los ensayos serológicos tienden a ofrecer solo un uso limitado para la detección de infecciones agudas debido a la persistencia de anticuerpos circulantes después de la infección, lo que puede generar resultados de diagnóstico engañosos.

De hecho, el diagnóstico confirmatorio de Mpox requiere la detección de ADN de Mpox en muestras clínicas mediante PCR en tiempo real o PCR convencional en combinación con la secuenciación parcial del genoma para la determinación de clados y el análisis epidemiológico, también, están diseñados para generar amplicones mucho más cortos que la PCR convencional, minimizando así la probabilidad de formar estructuras secundarias durante la amplificación y extensión. Otra gran ventaja que ofrece la detección de Mpox por PCR en tiempo real sobre la PCR convencional es su mayor especificidad y sensibilidad debido al uso de sondas marcadas con fluorescencia.

También existe un estudio que utilizó un nuevo ensayo de PCR multiplex en tiempo real, que incluía la firma específica de Mpox codificada en el gen envolvente de Mpox (B6R) y la firma específica de OPXV codificada en el gen de la ADN polimerasa (E9L, sin variola). Curiosamente, hay un estudio en ascenso que consiste en un sistema de prueba de Mpox automatizado denominado plataforma GeneXpert MPX/OPX, aunque se encuentra en su fase inicial de desarrollo, puede detectar el ADN de Mpox usando multiplexación genérica de OPXV.

En el escenario actual, la detección de Mpox basada en PCR en tiempo real parece rentable y accesible para las pruebas de diagnóstico de rutina. La PCR en tiempo real es el método más común utilizado para la detección de Mpox y también se considera un estándar de oro en los laboratorios de diagnóstico. Si bien varios ensayos de PCR en tiempo real pueden variar en los objetivos genéticos, la especificidad y la sensibilidad, aun así, identificaron una cantidad mucho mayor de casos humanos positivos para Mpox que cualquier otro método utilizado. La ventaja de las pruebas moleculares de Mpox sobre las pruebas serológicas es que se pueden usar varios tipos de muestras para la detección de Mpox basada en PCR. Por ejemplo, una gran cantidad de estudios detectaron

con éxito Mpox en hisopos de lesiones cutáneas, costras y sangre, sin embargo, por otro lado, las investigaciones serológicas solo pudieron usar sangre para la detección de anticuerpos OPXV.

Sin embargo, uno de los mayores desafíos para detectar Mpox en casos humanos sospechosos fue la falta de kits de detección de Mpox aprobados o recomendados por autoridades como la OMS o los CDC. La escala y la magnitud de los brotes de Mpox de 2022 requerían la disponibilidad de un sistema de prueba de Mpox automatizado, como la plataforma GeneXpert MPX/OPX, que se informa que está en desarrollo. Este sistema puede detectar Mpox utilizando un enfoque de detección múltiple genérico de OPXV y específico de Mpox con alta sensibilidad y 100 % de especificidad y ha sido probado en condiciones de laboratorio y de campo en la fase inicial. La disponibilidad de un sistema automatizado escalable y de alto rendimiento para la detección de Mpox en un entorno epidémico reduciría en gran medida el tiempo de respuesta de las pruebas con la ventaja adicional de una manipulación manual mínima de las muestras para reducir el riesgo de exposición del personal de laboratorio.

III. CONCLUSIONES

En la actualidad, la investigación basada en biología molecular está abriendo un inmenso espectro de posibilidades para un mejor entendimiento de los fenómenos biológicos que nos rodean. Los retos que se presentan día a día en la investigación biomédica nos abren la posibilidad de conocer nuevas herramientas tecnológicas para afrontarlos experimentalmente, es por eso que la PCR es una de las herramientas que se ha desarrollado para ofrecer una alternativa para el estudio de los ácidos nucleicos, tal fue su impacto en la comunidad científica que hoy en día es una técnica que se usa a diario en muchos laboratorios y que se incrementó cuando apareció la modalidad de PCR en tiempo real, permitiendo el establecimiento y la aplicación de nuevos protocolos experimentales más precisos que generan resultados confiables y reproducibles, por este modo las pruebas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa, son altamente específicas y sensibles en la detección del material genético del virus. Esto permite una identificación temprana y precisa de la presencia del virus en muestras clínicas.

Por otro lado el diagnóstico molecular permite diferenciar monkeypox de otras enfermedades con síntomas similares. Esto es crucial para proporcionar un tratamiento adecuado y evitar la propagación de la enfermedad.

La capacidad de detectar y caracterizar genéticamente el virus mediante técnicas moleculares facilita la vigilancia epidemiológica. Esto permite rastrear la propagación del virus, identificar posibles brotes y comprender la diversidad genética del virus circulante en diferentes regiones.

IV. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Osasun saila, monkeypox adaptación de los protocolos de la red nacional de vigilancia epidemiológica (renave), vasco, España, 3 de noviembre 2022, pag 2. Disponible en: [ProtocoloMPX_Euskadi_es.pdf](#)
2. Petersen E, Kantele A, Koopmans M, Asogun D, Yinka-Ogunleye A, Ihekweazu C, et al. Human Monkeypox. Infectious Disease Clinics of North America. 2019 Dec;33(4):1027–43. <https://www.binasss.sa.cr/mono/8.pdf>
3. OPS, Directrices de laboratorio para la detección y el diagnóstico de la infección por el virus de la viruela del mono, 23 de mayo 2022, Disponible en: [SPA PAHO MPX laboratory guidelines May2022.pdf](#)
4. Marta Negroni, Maria Inez Gonzalez, Virus: generalidades, Microbiología estomatología, 2da edición, editorial medica panamericana2017, pag 69 -80. Disponible en: [b448-08.indd \(berri.es\)](#)
5. Gloria Sanclemente, Luis Alfonso Correa, Rev Asoc Colomb Dermatol. 2010; pág 67-77. Disponible en: [poxvirus que causan enfermedad en los seres humanos.pdf \(revistasocolderma.org\)](#)
6. Juan Francisco Contreras Cordero y Claudia Bernardette Plata Hipólito, Monkey pox viruela del simio, vol. 5 No. 10, 2022, Pág: 5- 8 Disponible en: [mokeypox 10-1.pdf](#)
7. Ma. de los Ángeles Sánchez Contreras, Tania González Flores, Teresa del Rosario Ayora Talavera, Zahaed Evangelista Martínez y Neith Aracely Pacheco López, Que son los microbios , Vol 68 numero 2, 2017, Pág: 10 – 17 Diponible en: [QueSonMicrobios.pdf \(amc.edu.mx\)](#)

8. Fundacion io [Internet], enfermedades Monkey pox, Disponible en: [Mpox \(Monkeypox\) - Fundación iO \(fundacionio.com\)](#)
9. Instituto de salud Carlos III, protocolo para la detección precoz y manejo de casos ante la alerta de viruela de los monos (monkeypox) en España,2022 Pág 2-13 Disponible en: [ProtocoloMPX_20220805.pdf \(sanidad.gob.es\)](#)
10. An. Fac. med. Características de los primeros casos reportados como sospechosos de Monkeypox en el Perú, vol.83 no.3 Lima jul./set. 2022, Disponible en: [Características de los primeros casos reportados como sospechosos de Monkeypox en el Perú \(scielo.org.pe\)](#)
11. Yu Li, Hui Zhao, Kimberly Wilkins, Christine Hughes, Inger K. Damon, Ensayos de PCR en tiempo real para la detección específica del virus de la viruela símica ADN de la cepa de África occidental y la cuenca del Congo, revista de métodos virológicos, Elsevier BV, 2010 Pág 223-227 Disponible en: [pcrparamonkey \(1\).pdf](#)
12. yu li, hui zhao, kimberly wilkins, christine hughes, inger k. damon, revista de virología clínica detection of monkeypox virus with real-time pcr assays, elsevier bv, 2006 disponible en: [1-s2.0-s1386653206001223-main.pdf](#)
13. Ravendra P. Chauhan , Ronen Fogel and Janice Limson, Overview of Diagnostic Methods, Disease Prevalence and Transmission of Mpox (Formerly Monkeypox) in Humans and Animal Reservoirs, MDPI, 2023 Disponible en: [microorganisms-11-01186-v3.pdf](#)
14. Bioted, introducción a la PCR en tiempo real, [INTRODUCCION-PCR-TIEMPO-REAL.pdf \(bioted.es\)](#)
15. Vinuesa-Burgos, Christian PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular REDVET, vol. 10, núm. 2, febrero, 2009, Málaga, España Disponible en: [Redalyc.PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular](#)

16. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C, Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real, Vol. 2, Núm. 2 Mayo-Agosto 2013, pag 70-78. Disponible en: [Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa \(PCR\) y de la PCR en tiempo real \(medigraphic.com\)](#)
17. Jorge Fernández Ordenes, Soledad Ulloa Urrutia. recomendaciones para laboratorios que realizan la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (pcr): áreas y flujos de trabajo. Chile: Enero, 2017, Versión 1. Disponibe en: [Recomendaciones para lab. que realizan la técnica de PCR áreas y flujos v1.pdf \(ispch.cl\)](#)
18. UNAM [Internet]. México 2023 PCR en tiempo real [citado 25 de Julio de 2023]. Disponible en: [PCR en tiempo real - Facultad de Química \(unam.mx\)](#)
19. Vigilancia epidemiológica del sarampión: RT-PCR en tiempo real, 1 abril, 2020. Disponible en: [Vigilancia epidemiológica del sarampión - Todo Diagnóstico \(tododiagnostico.com\)](#)