



Epidemiología molecular de Mpox virus en Colombia

Miguel Ángel Pinto Garzón

Asesores:

Andrés Camilo González, MSc

Marcela Parra-Muñoz, MSc

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de ciencias de la salud programa de Bacteriología

Trabajo de grado

Bogotá D.C, 2025



Epidemiología molecular de Mpox virus en Colombia

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORES _____

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de ciencias de la salud programa de Bacteriología

Trabajo de grado

2025

Tabla de contenidos

1.	Resumen.....	5
2.	Introducción	5
3.	Objetivos.....	7
3.1	Objetivo General	7
3.2	Objetivos Específicos.....	7
4.	Justificación.	8
5.	Antecedentes	9
6.	Marco teórico	11
6.1.	Generalidades de la enfermedad y epidemiología.....	11
6.1.1.	Características clínicas.	11
6.1.2	Transmisión	13
6.1.3	Reservorio.....	14
6.1.4	Epidemiología e historia de la enfermedad.	15
6.2	Características generales de Mpox virus.....	20
6.2.1	Patogénesis y proceso de replicación	21
6.2.2	Filogenia del virus.	23
7.	Metodología	25
7.1	Selección de secuencias	26
7.2	Análisis filogenético y distribución.....	27
7.3	Análisis de polimorfismos.....	27
7.4	Análisis de uso de codones.....	28
8.	Resultados	28
8.1.	Selección de secuencias.	29
8.2	Análisis filogenético y distribución.....	29
8.3	Análisis de polimorfismos.....	33
8.4	Análisis de uso de codones.....	37
9.	Discusión.....	38
10.	Conclusión.	46
11.	Referencias bibliográficas.....	47

12. Anexos	52
------------------	----

Índice de figuras

Figura 1. Modelo de transmisión de Mpox virus.	14
Figura 2. Epidemiología global de Mpox virus.....	19
Figura 3. Estructura y genoma de Mpox virus	21
Figura 4. Ciclo de vida de Mpox virus.....	23
Figura 5. Filogenia actual de Mpox virus	25
Figura 6. Diagrama de flujo diseño experimental.	26
Figura 7. Análisis filogenético de Mpox en Colombia	30
Figura 8. Distribución geográfica de sublinajes.....	32
Figura 9. Mutaciones clave de secuencias de Mpox virus en Colombia.....	34
Figura 10. Perfil general de polimorfismos.....	36
Figura 11. Distribución índice CAI.....	37
Figura 12. Distribución índice CAI por gen en el genoma de Mpox virus	38

Índice de tablas.

Tabla 1. Secuencias obtenidas de Mpox en Colombia por departamento utilizadas en el estudio.	29
Tabla 2. Proteínas afectadas por las mutaciones clave reportadas por Nextclade..	35

1. Resumen.

El Mpox virus es un virus de ADN de doble cadena perteneciente a la familia Poxviridae del género *Orthopoxvirus*. Desde mayo del 2022 los casos de esta enfermedad aumentaron de manera significativa en países no endémicos siendo confirmados en la actualidad más de 100.000 casos en todo el mundo. En Colombia, los primeros casos se registraron en junio del mismo año, y desde entonces se han reportado un total de 4.288 casos en el territorio nacional. Con el fin de identificar los sublinajes del virus en el país, se determinó a través de un enfoque bioinformático la distribución y polimorfismos clave de 154 genomas de aislamientos de pacientes almacenados en el GISAID y NCBI entre el año 2022 y 2023. Asimismo, se evaluó el índice de adaptación de codones respecto al hospedero humano con el fin de reconocer estrategias adaptativas. Dentro de los resultados se hallaron 11 sublinajes los cuales se distribuyen en 12 regiones del país de manera heterogénea, observándose con predominancia los sublinajes B.1.10, B.1.11 y B.1.16 en la mayoría de estas. Por otra parte, se hallaron polimorfismos clave que afectan genes implícitos en la modulación de la respuesta inmune del huésped y su capacidad de adaptación.

Palabras clave: Mpox, epidemiología molecular, Polimorfismos.

2. Introducción

Desde mayo del 2022 se ha evidenciado un elevado número de casos de Mpox virus en países no endémicos alrededor del mundo, siendo confirmados en la actualidad más de 100.000 casos según el CDC (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades) (1). En Colombia, los primeros casos del virus fueron confirmados el 23 de junio del 2022, y hasta la fecha se han presentado 4.288 casos en el territorio nacional. En el país se encuentra vigente la aplicación de protocolos de vigilancia de Mpox virus del Instituto nacional de salud (INS) que permite la detección de casos oportunos y seguimiento continuo de la enfermedad (2).

La viruela símica es una enfermedad zoonótica causada por el Mpox virus, el cual es un patógeno de ADN de doble cadena con envoltura (membrana lipídica) perteneciente a la familia Poxviridae del género *Orthopoxvirus*. Su presentación clínica y transmisión es muy parecida al ya conocido Variola virus; no obstante, los síntomas que causa son más leves.

Esta enfermedad es endémica en el centro y el oeste de África, donde la mayor parte de los casos se han presentado en República Democrática del Congo (RDC) y Nigeria respectivamente (1). Teniendo en cuenta esta distribución de la enfermedad el virus históricamente se ha clasificado por sus características genéticas en dos clados, el clado de África central y el clado de África occidental, este último en comparación tiene tasas de mortalidad y transmisión más bajas y la presentación clínica de la enfermedad es más leve. Sin embargo, gracias a la rápida dispersión del virus en los últimos años, ha emergido un tercer clado (IIb) que se ha aislado a partir de brotes entre 2017-2019 de la enfermedad, este clado se encuentra subdividido en 2 linajes, A.1 y A.2, y a su vez el linaje A.1 se subdivide en los linajes A1.1 y B.1 el cual fue el causante del brote epidemiológico en 2022 (3). Este tercer clado emergente tiene como característica adquirida la transmisión entre humanos (4,5). En función de la rápida transmisión del virus este evoluciona aceleradamente y se adapta de manera significativa a los humanos.

Diversos estudios filogenéticos han comparado el genoma del virus de cepas de brotes anteriores con genomas actuales, identificando mutaciones sinónimas y no sinónimas en el genoma, que probablemente se relacionan en términos de adaptabilidad y microevolución. Estas mutaciones afectan proteínas implicadas en el proceso de infección, pero también procesos de replicación y modulación de la respuesta inmune (6,7). Además, se cree que las mutaciones observadas en los aislamientos del brote reciente favorecen a proteínas implicadas principalmente en la adaptación del virus a los humanos y su velocidad de transmisión (8,9), por este motivo es importante describir características genéticas propias del virus asociadas a zonas demográficas del país, la distribución de sublinajes e historia evolutiva para entender su comportamiento desde la aparición de este en el territorio nacional y la situación epidemiológica actual en relación con variables moleculares. Debido al elevado número de casos de Mpox virus en Colombia y la poca información disponible, el objetivo del presente estudio es realizar una descripción molecular del virus en el territorio nacional, identificando mutaciones en el genoma a través de un acercamiento bioinformático con la finalidad de caracterizar variaciones de los ejemplares presentes en el país y sus asociaciones con dinámicas geográficas.

3. Objetivos.

3.1 Objetivo General

Describir la epidemiología molecular del Mpox virus en Colombia

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar distribución de sublinajes del Mpox virus en Colombia

- Identificar mutaciones de nucleótido único (SNP) en las secuencias de genoma completo del Mpox virus disponibles en Colombia
- Determinar el perfil de uso de codones del Mpox virus respecto al hospedero humano.

4. Justificación.

El agente infeccioso de la viruela símica es un virus reemergente que ha afectado gran parte de la población en los últimos años debido al brote epidemiológico en el año 2022. Esta enfermedad es muy relevante, siendo actualmente el virus de mayor importancia del género *Orthopoxvirus* y una amenaza para la seguridad global, suponiendo un reto en salud pública debido a su rápida expansión. La naturaleza del virus y su rápida adaptación a nuevos entornos hacen que sus patrones de transmisión y enfermedad sean difíciles de predecir, por este motivo, se requiere una respuesta efectiva de vigilancia frente al brote en desarrollo. En este contexto, el avance de tecnologías genómicas permite la identificación y seguimiento de la enfermedad, además de mejorar la gestión de la predicción y monitoreo. Tomar acciones basadas en una vigilancia genómica efectiva de esta enfermedad permite reducir los efectos y mantener bajo control el virus, disminuyendo su impacto en las poblaciones más vulnerables.

En Colombia, el brote epidémico del Mpox virus representa un problema de salud pública a nivel nacional. A pesar de los casos reportados en el país, todavía no se dispone de información detallada sobre las dinámicas de la enfermedad y su distribución en el territorio. Aunque la tasa de mortalidad causada por la enfermedad no es preocupante, hay una alta tasa de morbilidad que afecta a una parte significativa de la población, y en algunos casos, debido a las manifestaciones clínicas la enfermedad pueden ser un factor de discriminación social.

Por lo tanto, la investigación propuesta busca realizar una descripción general de la situación del Mpox virus en Colombia, enfocándose en variables genómicas. Esta información pretende proporcionar un panorama detallado de la situación actual del brote en el país, contribuyendo a la vigilancia y control del virus en el territorio nacional. Para ello, se utilizarán herramientas bioinformáticas que se centran en variables moleculares, permitiendo así una vigilancia genómica eficaz. De este modo, se mejorará el entendimiento general del virus y su distribución en el país, además de llevar a cabo un control geográfico de la distribución de variantes, posibilitando la toma de decisiones en salud pública para prevenir y controlar el desarrollo de la enfermedad, y proporcionar una respuesta rápida frente al brote actual y su evolución futura.

5. Antecedentes

En estudios previos, como el realizado por Xiao-Yong et al (2023) , se determinó el mecanismo evolutivo del Mpox virus evaluando selección positiva en proteínas seleccionadas y recombinación homóloga. Como resultado, se determinó que 10 genes evolucionaron bajo selección positiva, la mayoría de los cuales codifican para anquirinas, que desempeñan un papel muy importante en la adaptación del virus y en la determinación del reservorio del mismo. Además, se propone que estas anquirinas pueden ser beneficiosas en la transmisión del virus entre humanos. Sin embargo, el 94% de los genes codificantes de proteínas experimentaron selección negativa o neutral, lo que se ajusta al modelo de selección neutral. Por otro lado, se llegó a la conclusión de que el virus no utiliza la recombinación homóloga como mecanismo evolutivo (8).

El estudio realizado por Lulan et al (2022) llevó a cabo un análisis sistemático de las secuencias del virus del 2022 y las cepas aisladas del virus del 2018, lo cual incluyó anotación genómica y un

análisis de la evolución molecular de sus proteínas. En este artículo se observaron un total de 46 mutaciones en las secuencias del virus del 2022 en comparación con las del 2018, de las cuales 24 fueron mutaciones no sinónimas. Las zonas más variables del virus se relacionan principalmente con los extremos de la cadena de ADN, donde se encuentran los genes que codifican principalmente las proteínas involucradas en el proceso infeccioso del virus (10).

Además, en el estudio llevado a cabo por Priya et al. (2023), se analizaron las tasas de mutación del Mpox virus a partir de secuencias obtenidas en todo el mundo durante el brote actual. Este estudio se realizó utilizando herramientas bioinformáticas y arrojó como resultados destacables que, en comparación con los aislados de brotes anteriores, las secuencias del brote actual mostraron una alta tasa de mutaciones, siendo especialmente notorias las secuencias de países europeos y latinoamericanos (6).

Este estudio se complementa con el llevado a cabo por Nicolas et al. (2022), en el que se realiza una reconstrucción de la caracterización filogenética de las primeras secuencias del brote de Mpox en 2022. En este estudio, se realizó un análisis filogenético con 337 secuencias, junto con un análisis descriptivo de las mismas. Entre los resultados, se determinó un tercer clado que surgió a partir de secuencias aisladas desde 2017, y que actualmente se encuentra en expansión epidemiológica, con el surgimiento de nuevos linajes. Actualmente, el tercer clado del Mpox virus es el predominante en todo el mundo, mientras que los dos primeros clados tienen una mayor prevalencia en las zonas endémicas de la enfermedad. Según el estudio, en Colombia existe una alta probabilidad de que el sublinaje B.1 del tercer clado sea el predominante, aunque este resultado se basa en un número muy reducido de secuencias del virus obtenidas en el país. El estudio también pone de manifiesto signos de microevolución en el genoma del virus, lo que respalda la premisa de que el virus se adapta y muta rápidamente como consecuencia del brote actual (4).

En la investigación llevada a cabo por Haifei et al. (2023) se realizó un estudio filogenético utilizando secuencias completas del virus, con el objetivo de establecer sus dinámicas demográficas. Además, se llevó a cabo la identificación de las proteínas que evolucionaron bajo selección positiva y se observó un cambio correspondiente en los aminoácidos. Como resultado, se identificaron dos codones que evolucionaron bajo selección positiva: los residuos de aa130 en E13L, que codifica una proteína target de la rifampicina a la cual se le atribuye la resistencia del virus debido a su mutación, y el aa102 en B6R, que codifica una glicoproteína de superficie del virus que actúa como un objetivo de neutralización en el hospedero. Estos resultados sugieren que el virus está bajo un sistema de adaptación. Si bien los resultados de este análisis solamente son especulativos, podrían confirmarse en el futuro mediante otros estudios (11).

Por otra parte, en el estudio realizado por Guo. et al (2023) en el que se analizó el uso de codones entre 2 diferentes clados; clado I y clado IIb para determinar adaptación del virus del hospedero se identificó que el virus en el brote reciente presentaba índices de adaptación menores en comparación con el clado I, además de presentar mutaciones no adaptativas en varios genes, que se refleja en una menor virulencia del virus en el huésped (12) .

6. Marco teórico

6.1. Generalidades de la enfermedad y epidemiología.

6.1.1. Características clínicas.

La viruela símica es una enfermedad zoonótica causada por el Mpox virus. Este virus fue identificado y clasificado por primera vez en primates en 1958 dentro del género *Orthopoxvirus*. El primer caso en humanos fue reportado en 1970, específicamente en RDC posteriormente se

aislaron nuevos casos los cuales estaban relacionados con el contacto entre humanos y primates (13).

El curso de la enfermedad es muy similar al causado por el Variola virus, el cual también pertenece al género *Orthopoxvirus*, Sin embargo, es menos grave. Debido a que el cuadro clínico de ambas enfermedades es similar, es necesario realizar ensayos clínicos para establecer un diagnóstico diferencial (14). El periodo de incubación del virus se estima entre 5-21 días con un periodo medio de incubación reportado en varias investigaciones de 8-9 días (15,16). en la mayoría de los casos los síntomas perduran de 2-4 semanas debido a que se considera a la viruela símica una enfermedad autolimitada (17), sin embargo, en algunos pacientes la enfermedad suele progresar y causar diversas complicaciones, las cuales están asociadas principalmente a pacientes no vacunados, donde se percibe una mayor gravedad en los síntomas con sarpullido más vigoroso y pleomorfo (14,18).

La enfermedad se divide principalmente en dos fases: fase prodrómica y sarpullido. En la fase prodrómica se evidencian síntomas como cefalea, falta de energía, escalofríos, dolor de garganta y dolor muscular, no obstante, los síntomas más característicos de esta fase son la fiebre y la linfadenopatía la cual se considera un rasgo característico de Mpox virus ya que este signo no se presenta durante la infección por el Variola virus (14,19–21). La linfadenopatía es un rasgo que se presenta en el 90% de los pacientes (21,22), caracterizándose por nodos linfáticos de 1-4 cm de diámetro firmes, sensibles y ocasionalmente con dolor, así como, aumento en el tamaño de los ganglios linfáticos cervicales, submaxilares o ambos. Se hipotetiza que la linfadenopatía podría sugerir una respuesta inmune más efectiva frente al Mpox virus que al Variola virus (13). Después de la fase prodrómica inicia la fase de sarpullido. Inicialmente el sarpullido aparece en el rostro y luego se extiende por todo el cuerpo, pudiendo haber de unas pocas hasta miles de lesiones. El

sarpullido presenta una progresión por diferentes fases (macular, papular, vesicular y pustular) antes de secarse y descamarse (23). Durante el transcurso de la enfermedad se corre el riesgo de una infección bacteriana secundaria, asimismo, se pueden presentar diversas complicaciones asociadas como: dificultad respiratoria, bronconeumonía, encefalitis, infección corneal (con pérdida de visión), vómitos y diarrea con deshidratación (21,24,25). La tasa de mortalidad esta entre el 1% y 11% (26), la cual varía en función del clado al que pertenece el virus, reportándose en varios artículos una tasa significativamente menor en el clado de África occidental en comparación con el clado de África central (27).

6.1.2 Transmisión

La transmisión primaria del virus ocurre durante el contacto directo o indirecto con un animal previamente infectado, ya sea, por contacto con lesiones o fluidos resultantes de estas, por mordeduras o arañazos, o incluso por el consumo de carne. Además, se cree que el virus ingresa al organismo a través de aperturas en la piel, el tracto respiratorio y las membranas mucosas (28,29). La transmisión secundaria entre humanos también puede ocurrir mediante el contacto cercano con un individuo infectado. Por lo general, se puede producir a través de gotas respiratorias y por contacto directo. Además, el contacto con superficies contaminadas aumenta el riesgo de infección. Es importante destacar que el contacto prolongado con pacientes infectados es un factor de riesgo significativo para el personal de salud (21).

Recientemente, se ha observado un número elevado de casos relacionados a prácticas sexuales con frecuente aparición de lesiones anogenitales, lo que sugiere que el virus se inoculara durante el contacto cercano con lesiones o mucosa durante la actividad sexual, adicionalmente, en varios reportes de este tipo, hay una mayor prevalencia de casos de hombres que practican sexo con otros

hombres, sin embargo, se necesita más investigación sobre esta vía de transmisión (30,31). En Colombia, se han registrado casos concentrados en población de hombres que practican sexo con otros hombres, representando una mayor vulnerabilidad en aquellos pacientes con antecedentes de VIH e inmunosupresión, pese a que no se considera una enfermedad de transmisión sexual se ha relacionado estrechamente con esta práctica, por lo que se promueven estrategias de prevención e información dentro de la población (32).

Aunque existe poca información disponible sobre el comportamiento y la dinámica del virus en mujeres embarazadas, se ha demostrado la transmisión vertical de este (33).

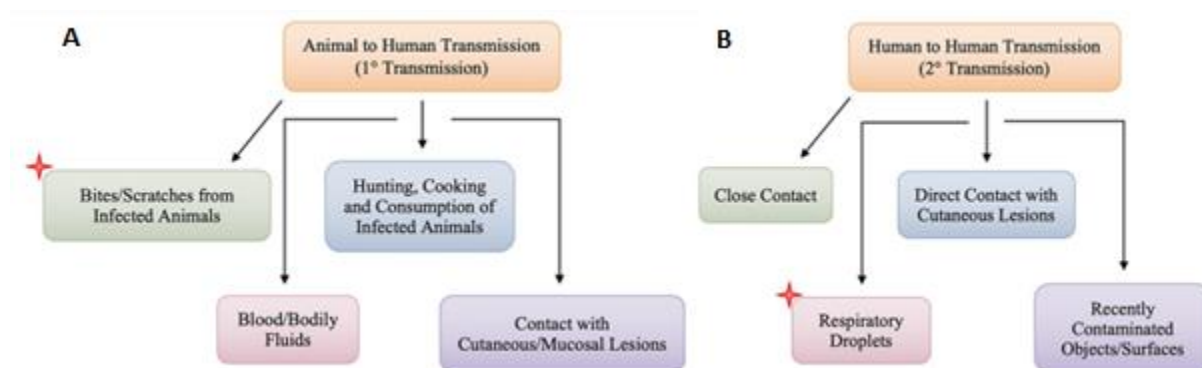


Figura 1. Modelo de transmisión de Mpox virus. (A) Modelo de transmisión primaria (transmisión desde reservorio animal hacia los humanos). (B) Modelo de transmisión secundaria de humano a humano. Tomado de Kaler, J. et al (29)

6.1.3 Reservorio

El Mpox virus es uno de los virus de la familia *Orthopoxvirus* que tiene la capacidad de infectar no solo a los seres humanos, sino también a un número significativo de animales que pueden actuar como portadores y transmitir el virus. Aunque no se ha identificado con certeza cuál es el reservorio animal, se cree que varias especies de pequeños mamíferos, como las ratas gigantes

(*Cricetomys* spp), las ardillas listadas africanas (*Funisciurus* spp), las ardillas sol (*Heliosciurus* spp) y los lirones africanos (*Graphiurus* spp), pueden transmitir el virus a los humanos en África central y occidental (34).

Diversas investigaciones han logrado detectar el virus en una amplia variedad de roedores salvajes. Además, se ha estudiado su presencia mediante análisis moleculares y la identificación de anticuerpos específicos a través de estudios de seroprevalencia. Estos estudios han revelado la presencia de anticuerpos positivos en varios géneros de roedores, siendo los géneros más comunes el *Funisciurus* y el *Heliosciurus* (35,36).

Los primates no humanos como chimpancés (*Pan troglodytes*) orangutanes (*Pongo pygmaeus*), macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) y el Mangabey gris (*Cercocebus atys*) también han demostrado ser susceptibles al virus, adicionalmente se han encontrado anticuerpos frente al patógeno en varias especies de primates no humanos pudiendo ser vulnerables y presentando signos y síntomas resultado de la infección, a comparación de los pequeños mamíferos que pueden llegar a ser asintomáticos y transportar el agente infeccioso (34).

6.1.4 Epidemiología e historia de la enfermedad.

El primer caso de viruela símica se identificó en la República Democrática del Congo (RDC) en un niño de 9 meses de edad en 1970, inicialmente se creyó que se trataba de un caso de viruela causado por el Variola virus, sin embargo, gracias a pruebas realizadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se confirmó como el primer caso de Mpox virus en humanos (37). Tras este caso, se registraron brotes esporádicos en varias regiones de África, como Gabón, Camerún, Benín, República central de África, República democrática del Congo, Sudán, Nigeria, Sierra león y Costa de Marfil, reportándose así por la OMS entre 1970 hasta 1979 un total de 54

casos (26). Posterior a la erradicación de la viruela se consideró al Mpox virus como la infección más importante causada por los *Orthopoxvirus* en humanos, por lo que a partir de 1980 se implementó un programa de vigilancia epidemiológica, mediante el cual se registraron hasta 1986 un total de 404 casos confirmados, de los cuales la mayoría se presentaron en RDC (38). Desde enero de 1996 hasta octubre de 1997 ocurrió un brote importante en RDC, en el cual se reportaron 511 casos sospechosos en 54 villas (39). El curso de la enfermedad durante el brote fue relativamente leve y la tasa de transmisión que se presentó fue más alta que las anteriormente reportadas, lo que sugería que algunos de los casos sospechosos reportados eran en realidad causados por el virus de la varicela (26).

La viruela símica había pasado desapercibida en gran parte del mundo hasta que se desató un brote epidemiológico en Estados Unidos en 2003 que se esparció rápidamente por 6 estados: Illinois, Indiana, Kansas, Missouri, Ohio, y Wisconsin. Durante este brote, se registraron un total de 47 casos confirmados que estaban relacionados con el contacto con perros de la pradera (*Cynomys spp*) infectados, los cuales habían sido transportados junto con otros pequeños mamíferos desde Ghana. Afortunadamente, no se reportaron muertes y tampoco se detectó transmisión de la enfermedad entre humanos. Posteriormente, mediante análisis genéticos, se confirmó que el clado del virus aislado en los pacientes pertenecía al clado de África occidental (21,34,40).

A partir de septiembre de 2017, en Nigeria se presentó un brote epidemiológico significativo de Mpox virus reconocido como el mayor registrado hasta esa fecha del clado de África occidental. El primer caso sospechoso fue un niño de 11 años que presentó síntomas característicos de la enfermedad, y 5 de sus hermanos con quienes compartía el hogar también desarrollaron síntomas similares. Ante esta situación, se tomaron rápidamente medidas de vigilancia y control por parte del Centro de Control de Enfermedades de Nigeria. Como resultado del brote, se identificaron 115

casos confirmados, 262 casos sospechosos y 7 muertes en 27 estados del país, de los cuales, la mayoría se presentaron en adultos con una edad entre 21-40 años. Durante el análisis se encontraron transmisiones asociadas a grupos familiares, lo que sugiere una alta probabilidad de transmisión entre humanos durante el brote. Sin embargo, en muchos de los casos, no se pudo establecer una conexión directa entre las personas infectadas, lo que indica a su vez posiblemente la existencia de múltiples medios de transmisión (41–43).

Según la información recolectada de los diferentes casos ocurridos a lo largo de la historia, se ha descrito un aumento significativo en la incidencia de la enfermedad desde 1970 hasta la actualidad, de igual forma, se registró un aumento de las zonas donde anteriormente no se había notificado el virus en países endémicos de África (44,45). En septiembre del 2018 se identificaron los primeros casos de viruela símica fuera de África. En Reino Unido se diagnosticaron 3 casos del virus, de los cuales, los 2 primeros habían viajado recientemente a Nigeria, zona en la cual estaba en curso un brote epidemiológico de la enfermedad, el tercer caso fue diagnosticado en un trabajador de la salud que había estado cuidando a los primeros dos pacientes, este hecho se asocia con una alta probabilidad de que se haya producido una transmisión entre humanos, además de que este modo de transmisión ya se había registrado anteriormente en zonas endémicas (21,46). Desde mayo del 2022 múltiples casos fueron reportados en países de Europa donde anteriormente no se había notificado la enfermedad, los casos reportados no estaban vinculados con viajes recientes a zonas endémicas (47). El 12 de mayo fueron confirmados 2 nuevos casos en Reino Unido, que no estaban relacionados entre ellos y no habían tenido viajes recientemente, una semana después, 4 casos nuevos fueron confirmados sin relación entre ellos ni con casos anteriormente confirmados. Tras el análisis genético se identificó que la cepa causante del brote era del clado de África occidental, muy parecido a las cepas aisladas del brote en Nigeria 2018-2019 (17). Posteriormente un

importante número de casos fueron reportados en varios países de Europa, lo que conllevó a la OMS a declarar en julio al Mpox virus como una emergencia de salud pública de importancia internacional (48). Hasta el año 2023 se reportaron por el CDC 87.756 casos de viruela símica y 132 muertes en 106 países donde anteriormente no se había notificado la enfermedad, siendo Estados Unidos el país con el mayor número de casos en todo el mundo con 30.611 casos y 45 muertes (49). Recientemente, en 2024 se reportaron 21.835 casos sospechosos en República democrática del Congo, de los cuales fueron confirmados 5.160. Este incremento inició con el reporte de casos nuevos asociados al contacto sexual y transmisión continuada humano a humano en la provincia de Kwango y Kivu Sur durante el año 2023, consecuentemente se registró un aumento significativo de casos en múltiples áreas geográficas del país. Este nuevo brote fue causado por una variación emergente del clado I (Clado Ib) que tiene como característica particular la transmisión entre humanos (50). Hasta la fecha se han registrado casos de este clado emergente en varios países no endémicos en las regiones de África, Europa, Asia y Norte América como se observa en la figura 2 (51).

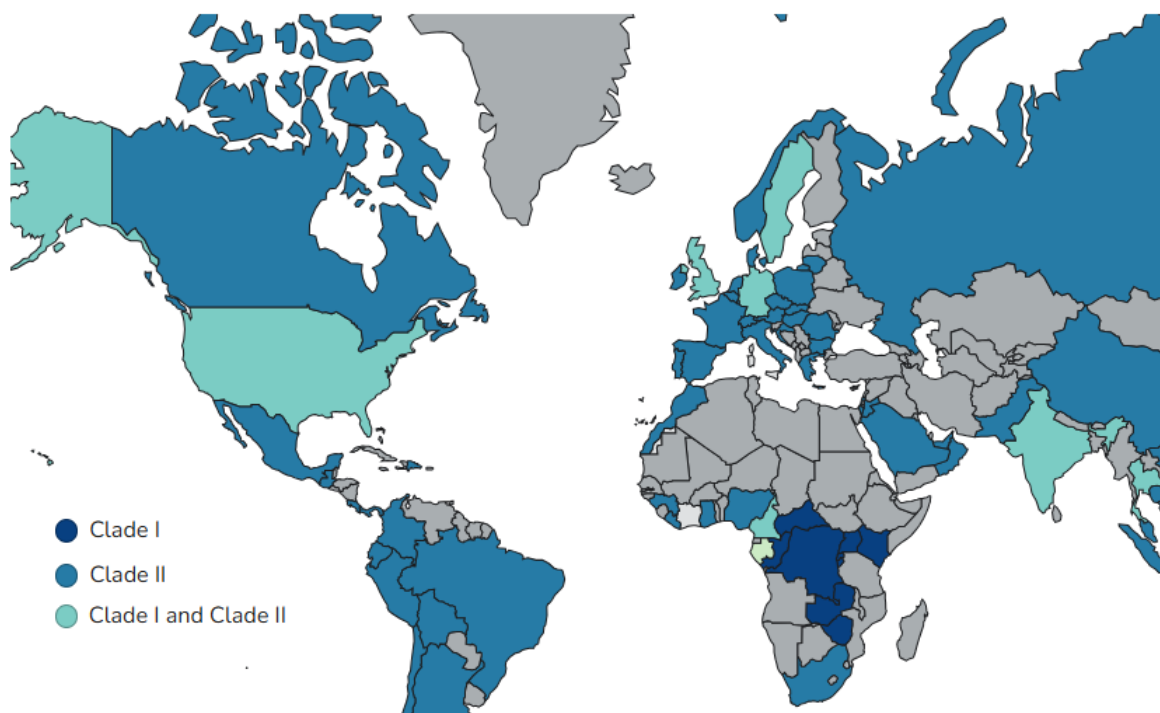


Figura 2. Epidemiología global de Mpox virus. En la figura se representa la distribución de clados alrededor del mundo, siendo el más común el clado IIb causante del brote epidemiológico del 2022, sin embargo, se evidencia la creciente relevancia del clado Ib con presencia en distintas regiones como Europa, Asia, Norte América y con mayor predominancia en el centro y oeste de África. Tomado de: CDC (51).

En Colombia, el Instituto Nacional de Salud realiza control y vigilancia de la enfermedad en el territorio nacional teniendo en cuenta además características epidemiológicas importantes. Hasta la fecha en estos informes se ha reportado un total de 4288 casos de la enfermedad de los cuales solamente uno se encuentra activo, la mayoría de casos fueron reportados en el año 2022, a partir del 2023 la frecuencia de reporte de los mismos disminuyó de manera significativa. La totalidad de los casos se atribuyen al clado IIb, sin reporte de casos del clado emergente Ib. La mayor cantidad de casos reportados en el país se encuentran distribuidos en Bogotá, Medellín y Cali, que también son las ciudades con mayor densidad poblacional, asimismo los casos se concentran en

una población masculina entre los 20 a 40 años, siendo la principal ruta de transmisión entre hombres que tienen relaciones sexuales con otros hombres (52)

6.2 Características generales de Mpox virus.

El Mpox virus es un virus envuelto de ADN de doble cadena perteneciente al género *Orthopoxvirus* de la familia Poxviridae capaz de infectar tanto a animales como a seres humanos. A pesar de la naturaleza de su genoma, la replicación ocurre en el citoplasma de la célula infectada, lo que implica que el virus contiene los genes que codifica las enzimas necesarias que llevan a cabo el proceso de replicación y transcripción del genoma viral (17). El genoma tiene un tamaño de 197 kb y codifica alrededor de 200 proteínas (53). Esta información se distribuye en una región central de aproximadamente 110 kb, que contiene genes esenciales para la transcripción, replicación, ensamblaje y liberación (54,55). Esta región tiende a ser altamente conservada en comparación con la parte variable terminal del genoma, que contiene secuencias de repeticiones invertidas en sus extremos y codifica proteínas involucradas en distintos factores de virulencia que juegan un rol muy importante en la evasión del sistema inmune del hospedero (17,56).

Los viriones tienen forma ovoide con un tamaño aproximado de 280 x 220 nm y están compuestos por cuatro estructuras esenciales: núcleo (que contiene el material genético del virus) cuerpos laterales, membrana externa y membrana lipídica. El virión maduro tiene 2 formas diferentes: Virus envuelto extracelular (VEE) y virus maduro intracelular (VMI) el cual es expulsado durante la lisis celular, la principal diferencia entre estos 2 tipos de viriones es que el VEE tiene membrana lipídica adicional, aunque ambas formas pueden llegar a ser infectantes, el VEE es mucho más eficiente durante la penetración del virus a la célula huésped (1,57,58).

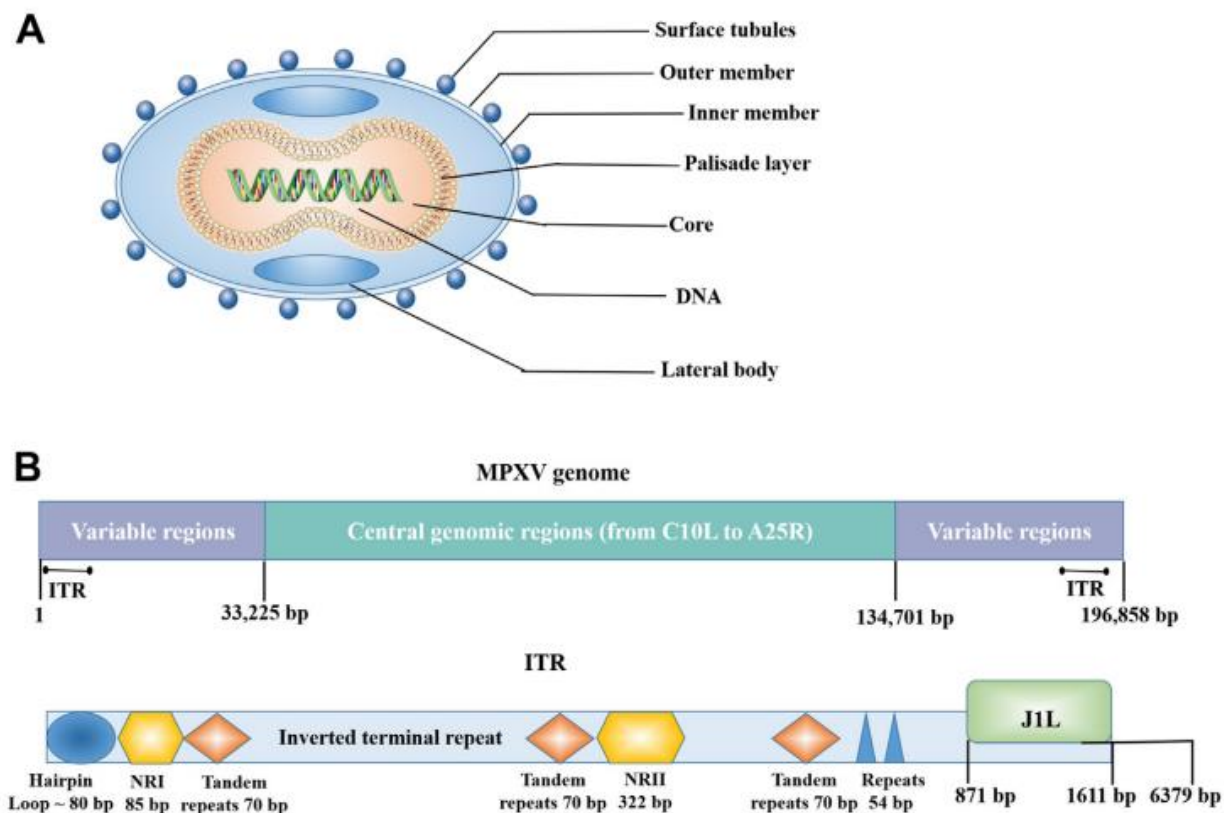


Figura 3. Estructura y genoma de Mpox virus. (A) Virión de Mpox virus con sus estructuras características. (B) Organización del genoma de Mpox virus; este se divide dentro de 3 regiones, 2 regiones variables a los extremos y una región central conservada. Tomado de: Li, H. et al (55)

6.2.1 Patogénesis y proceso de replicación

Una vez se da la transmisión este infecta inicialmente las células de la mucosa orofaríngea o respiratoria, donde sucede la replicación del virus dentro de la célula hospedera, posteriormente, los viriones migran por el sistema circulatorio hacia los nodos linfáticos e infecta la mucosa circundante, este proceso ocurre durante la fase de incubación de la enfermedad, por lo que los síntomas son inespecíficos, posteriormente durante la fase prodrómica ocurre el proceso de replicación en distintos órganos linfáticos y nodos distantes, entonces los viriones migran hacia órganos terciarios y hacia la piel, lo que consecuentemente genera la aparición de los signos y

síntomas característicos de la enfermedad (29). El proceso de infección y replicación es muy parecido al realizado por otros patógenos de la familia Poxviridae, además de que se ha identificado que el Mpox virus puede infectar a un amplio rango de células de mamíferos. El proceso de infección inicia por la unión y entrada del VEE a la célula huésped, esto ocurre a través de un complejo de 11 proteínas de unión que se encuentran en la membrana del virión y que interaccionan con glucosaminoglicanos de la célula huésped tales como los sulfatos de condroitina y heparina los cuales son abundantes (59). La entrada de los diferentes componentes a la célula huésped puede ocurrir a través de endocitosis o fusión, durante este proceso el virión pierde su membrana lipídica y todos sus componentes se depositan en el citoplasma de la célula huésped, liberándose también las enzimas que median el proceso de infección (60). Posterior a la entrada se inicia el proceso de transcripción de proteínas tempranas mediada por una ARN polimerasa dependiente de ADN seguido de la interacción de los ribosomas de la célula huésped, este proceso se repite para la producción de las proteínas intermedias y tardías. La síntesis de ADN ocurre simultáneamente en el citoplasma de la célula, donde posteriormente se transporta junto con las proteínas tardías al retículo endoplasmático de la célula huésped donde ocurre el proceso de ensamblaje (61). La mayoría de los viriones maduros se quedan dentro de la célula (VMI), mientras que unos pocos adquieren una membrana extra derivada del retículo endoplásmico o el aparato de Golgi, posteriormente estos viriones maduros realizan fusión con la membrana de la célula y salen hacia el medio extracelular (62).

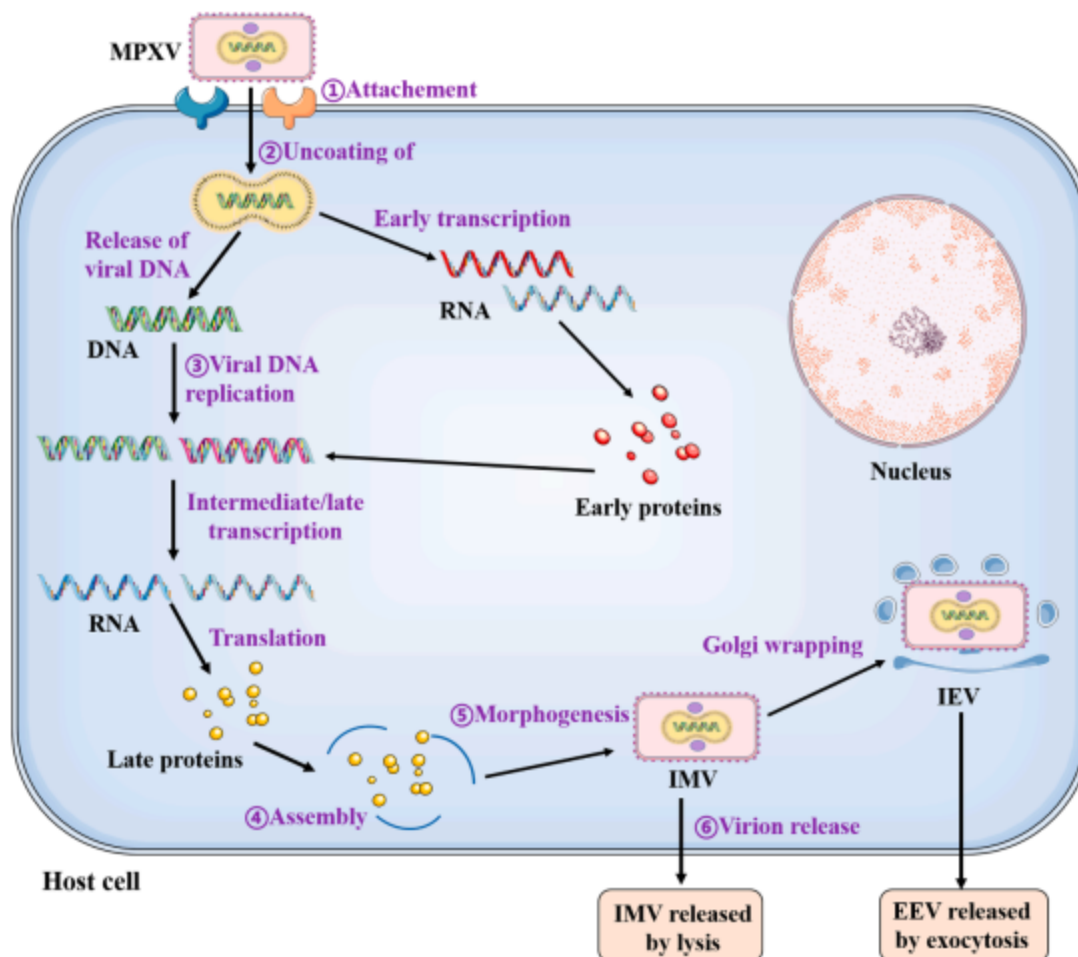


Figura 4. Ciclo de vida de Mpox virus. Tomado de: Li, H. et al (63)

6.2.2 Filogenia del virus.

El primer caso de viruela símica en humanos se reportó en 1970 en República democrática del Congo, posteriormente desde 1970 hasta 1986 se reportaron 10 casos de la enfermedad en países de África occidental y 364 casos en países de África central, el reporte de casos sugirió que la presentación de la enfermedad era menos severa en el caso de África occidental, la clasificación de los dos primeros clados asociados a la enfermedad se originaron por diferencias genéticas, clínicas y geográficas. Desde entonces se ha clasificado el virus en función de su origen

demográfico en 2 clados, el clado de África occidental y clado de África central los cuales comparten un 99% en el parentesco de su genoma, sin embargo, difieren en su presentación clínica y tasa de mortalidad.

A partir del brote del 2017 en Nigeria y las dinámicas epidemiológicas, se observó en distintos estudios filogenéticos una tasa de mutaciones en el genoma mucho más alta que las reportadas anteriormente en los virus del género *Orthopoxvirus*, adicionalmente en estos estudios se reportó una importante cantidad de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en el genoma del brote actual en comparación con virus aislados de casos anteriores. Por este motivo, a partir del análisis de secuencias del 2017 fue documentado el surgimiento de un nuevo subclado asociado al clado de África occidental anteriormente descrito (Clado IIb) que posteriormente fue el causante del brote epidemiológico en 2022. No obstante, el genoma viral aislado del brote del 2022 difiere de manera contrastada con los aislados en el 2017-2018 debido a que el virus durante estos años evolucionó de manera acelerada dando lugar a diferentes sublinajes (5). Más recientemente, dado a el brote epidemiológico en 2024 en República Democrática del Congo se describió un nuevo subclado asociado al clado I previamente descrito (Clado IIb), este nuevo subclado tiene como característica particular la transmisión continua de humano a humano por contacto sexual.

Actualmente el virus se clasifica dentro de 4 grupos como se observa en la figura 5: Clado Ia (Clado de África central), Clado Ib (Brote epidemiológico RDC 2024) Clado IIa (Clado de África occidental identificado antes del 2017) y clado IIb (Brote epidemiológico 2022), A su vez el clado IIb se divide en los sublinajes A.1 y A.2, y el sublinaje A.1 se divide también en los sublinajes A.1.1 y B.1, siendo este último el causante de la mayor cantidad de casos reportados en el brote del 2022, además, este sublinaje difiere de manera significativa con genomas aislados del 2017-

2018 lo que indica también la rápida evolución del virus, con el surgimiento constante de nuevos sublinajes (5).

El análisis de SNPs sugiere una importante dinámica de adaptación, reportándose una tasa de mutaciones no sinónimas mayor en comparación con las mutaciones sinónimas, estos cambios acelerados en el genoma viral se le atribuyen en varios estudios a el complejo de proteínas APOBEC3 el cuál actúa como un impulsor mutacional no aleatorio (7,11).

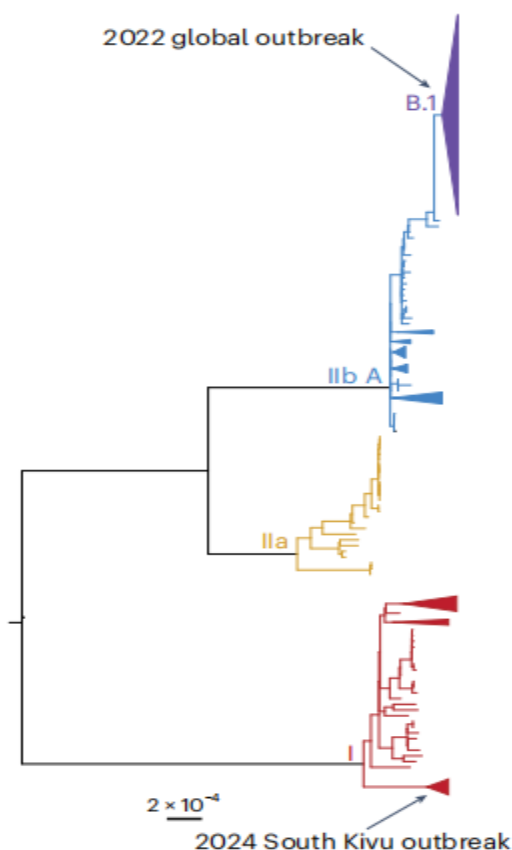


Figura 5. Filogenia actual de Mpox virus. Actualmente el Mpox se divide dentro de 4 clados: Clado Ia (Clado de África central), Clado Ib (Brote epidemiológico RDC 2024) Clado IIa (Clado de África occidental identificado antes del 2017) y clado IIb (Brote epidemiológico 2022), A su vez el clado IIb se divide en los sublinajes A.1 y A.2, y el sublinaje A.1 se divide también en los sublinajes A.1.1 y B.1, siendo este último el causante de la mayor cantidad de casos reportados en el brote del 2022. Tomado de: Otieno, J. et al (50).

7. Metodología

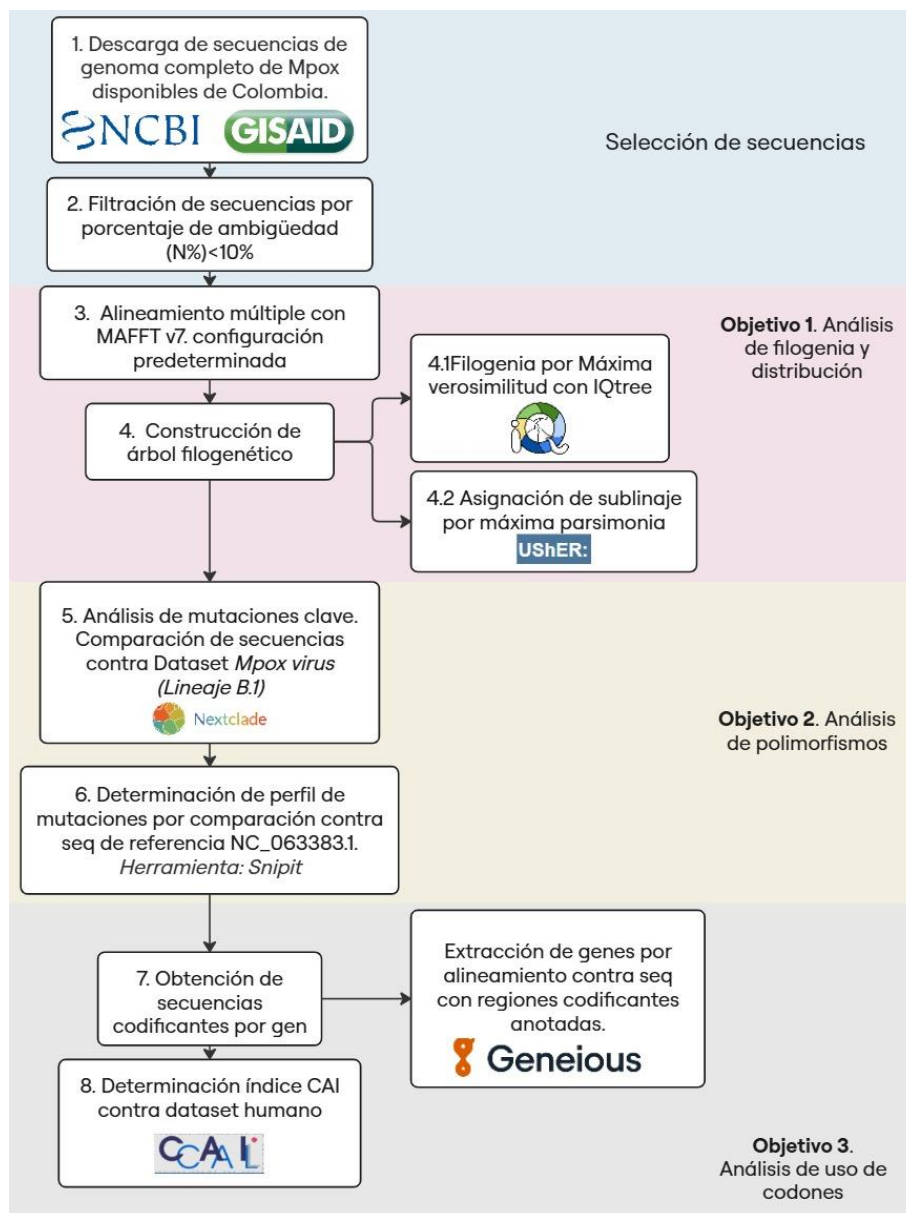


Figura 6. Diagrama de flujo metodológica. Elaboración propia

7.1 Selección de secuencias

Para llevar a cabo este estudio, se descargaron todas las secuencias de Mpxv disponibles en las bases de datos GISAID (<https://gisaid.org/>) y NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) correspondientes a Colombia entre el año 2022 y 2023. Posteriormente, estas se filtraron utilizando

como criterio de selección un porcentaje de ambigüedad inferior a 10% en cada secuencia (N%). Además de las secuencias genómicas, se recopilaron datos adicionales de relevancia para cada muestra, incluyendo su longitud, departamento y la región geográfica de procedencia.

7.2 Análisis filogenético y distribución

Las secuencias fueron alineadas utilizando el software MAFFT (Versión 7) a través de su servidor web disponible en <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>, empleando sus configuraciones predeterminadas. Además de las muestras seleccionadas, se incluyeron dos secuencias adicionales en el alineamiento; secuencia de referencia: NC_063383.1 y una secuencia outgroup: OQ401160.2 (Secuencia de genoma completo del virus del molusco contagioso). Posteriormente, el alineamiento resultante se exportó en formato FASTA. La construcción del árbol filogenético se llevó a cabo mediante algoritmo de máxima verosimilitud, utilizando IQtree ejecutado a través del software UGENE con la configuración predeterminada del software, que infiere el mejor modelo evolutivo para el caso particular. Adicionalmente, se utilizó la herramienta UShER (<https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPhyloPlace>) (64), que realiza un alineamiento a través de una metodología de máxima parsimonia ubicando las secuencias dentro de un árbol filogenético global ya existente asignando el sublinaje correspondiente a cada secuencia. El árbol resultante fue exportado y visualizado con tvBOT (<https://www.chiplot.online/tvbot.html>) (65), mientras que, la distribución de sublinajes se correlacionó en una base de datos con los departamentos descritos junto con el reporte de número de casos del INS.

7.3 Análisis de polimorfismos.

Para el análisis de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) se empleó la herramienta Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>) (66), utilizando como dataset de referencia “Mpox virus (lineage

B.1)” que tiene como secuencia de referencia MPXV-M5312_HM12_Rivers (NC_063383.1) e incluye SNPs característicos del linaje B.1. Se identificaron mutaciones no sinónimas clave conservadas en todas las secuencias asociadas a cada linaje, determinando posteriormente la proteína afectada por cada mutación. Adicionalmente, se utilizó la herramienta Snipit (<https://github.com/aineniamh/snipit>) para comparar las secuencias del estudio contra la secuencia de referencia, permitiendo así visualizar el perfil general de mutaciones presente en el conjunto de secuencias analizadas.

7.4 Análisis de uso de codones

Para el análisis del uso de codones, se emplearon las regiones codificantes de las secuencias. Se realizó un alineamiento múltiple con el dataset utilizando una secuencia de referencia fija con anotaciones genómicas localizadas que sirvieron como base para extraer un alineamiento por cada gen, este proceso fue llevado a cabo mediante el software Geneious Prime. Posteriormente, se exportaron 157 genes alineados individualmente con las 154 secuencias en formato FASTA. Para determinar el uso de codones, se calculó el índice de adaptación de codones (CAI) para cada uno de los genes, utilizando la herramienta CAIcal. Este índice se comparó con el patrón de uso de codones humano proporcionado por la misma plataforma (67).

Finalmente se realizó un análisis estadístico de los resultados obtenidos y se graficó usando Python

8. Resultados.

8.1. Selección de secuencias.

Para el presente estudio se obtuvieron 154 secuencias correspondientes a Mpox virus en Colombia entre el año 2022 y 2023, estas secuencias se corresponden con los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Bogotá, Bolívar, Tolima, Cundinamarca, Santander, Cesar, Quindío, La guajira, Meta y Sucre, como se observan en la tabla 1. Además de la filtración de secuencias, la calidad de las mismas se comprobó con la herramienta Nextclade, eliminando así secuencias que no cumplieran con los criterios establecidos del software.

Tabla 1. Secuencias obtenidas de Mpox en Colombia por departamento utilizadas en el estudio.

Departamento	# De secuencias	Porcentaje
Antioquia	102	66,2%
Valle del cauca	16	10,4%
Bogotá	10	6,5%
Bolívar	8	5,2%
Tolima	5	3,2%
Cundinamarca	4	2,6%
Santander	2	1,3%
Cesar	2	1,3%
Quindío	2	1,3%
La guajira	1	0,6%
Meta	1	0,6%
Sucre	1	0,6%
Total	154	

8.2 Análisis filogenético y distribución.

Las secuencias analizadas se agruparon dentro del linaje B.1 del clado IIb, causante del brote epidemiológico del 2022, lo que concuerda con reportes previos de las secuencias en la base de

datos y con los resultados obtenidos en Nextclade. En el análisis filogenético, las secuencias fueron clasificadas dentro de 11 sublinajes (B.1.11, B.1.10, B.1.16, B.1.12, B.1.15, B.1.2, B.1.6, B.1, B.1.8, B.1.1 y B.1.18), como se muestra en la Figura 7.

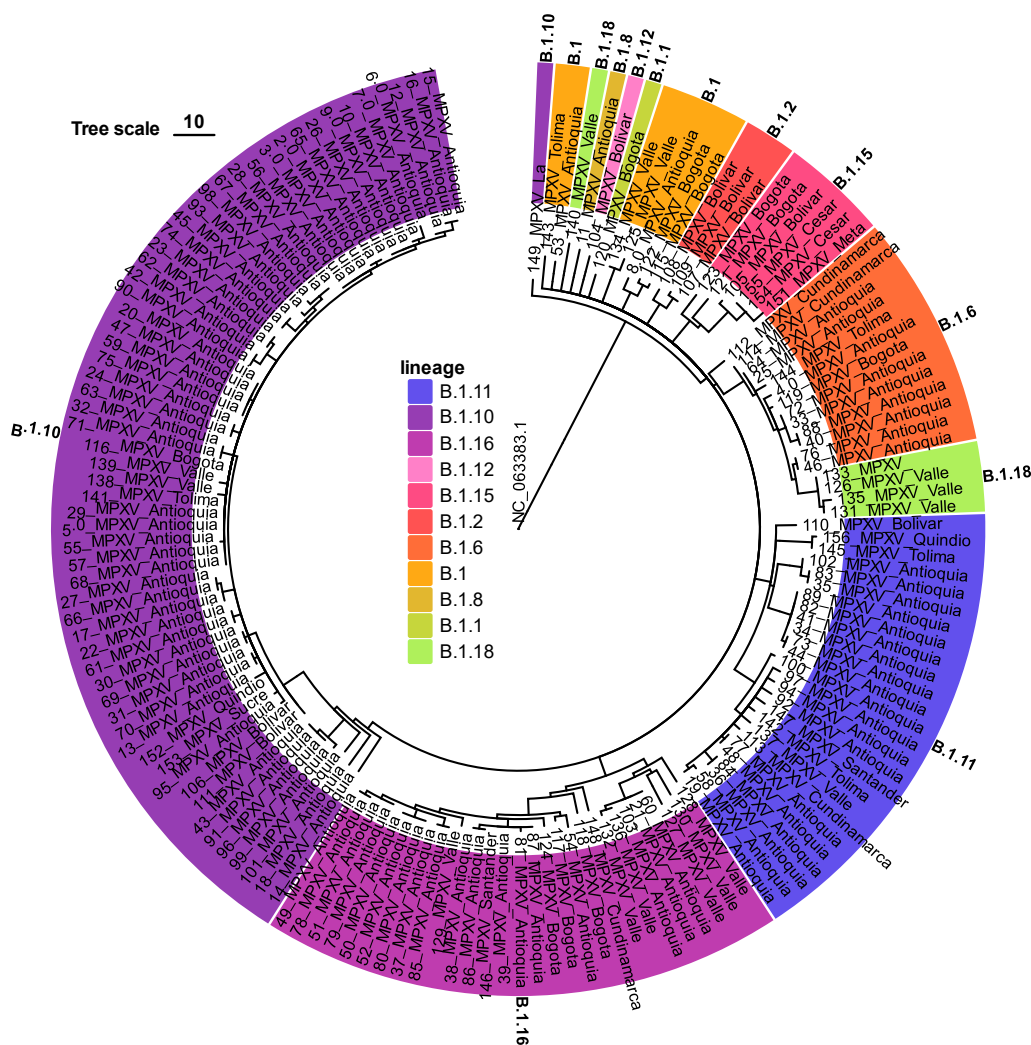


Figura 7. Análisis filogenético de Mpox en Colombia. Relación filogenética de 154 secuencias de genoma completo y su correspondencia de sublinajes estimada por UShER por máxima parsimonia en el cual se observa la distribución y presencia de 11 sublinajes en el territorio nacional. En el Análisis se resalta la predominancia del sublinaje B.1.10, B.1.16 y B.1.11. Elaboración propia.

Dentro del análisis filogenético, se identificaron dos secuencias con un comportamiento inesperado: *149_MPXV_La Guajira* y *140_MPXV_Valle*, situándose dentro del árbol filogenético en una posición no correspondiente a la asignación de sublinaje hecha por UShER, por lo que se procedió a realizar un análisis más detallado de las secuencias individuales. Al ser evaluadas en Nextclade contra la secuencia de referencia, ambas mostraron un mayor número de mutaciones en comparación con otras secuencias del mismo sublinaje. En el caso de la secuencia *149_MPXV_La Guajira*, si bien conserva las mutaciones características de su sublinaje, también presenta mutaciones sinónimas adicionales y varios sitios de segregación no observados en otras secuencias del mismo grupo. Un patrón similar se encontró en la secuencia *140_MPXV_Valle*; sin embargo, en este caso, la secuencia mostró una mayor similitud con otras secuencias de su mismo sublinaje, lo que podría indicar una divergencia reciente dentro del sublinaje.

La distribución de estos sublinajes fue heterogéneo en cada departamento, ya que se identificaron diferentes sublinajes dentro de una misma región, reflejando una importante diversidad, como se muestra en la figura 8. No obstante, en algunos departamentos con menor número de secuencias, se observó una distribución de sublinajes uniforme, como es en el caso del Cesar, Sucre, Meta y la guajira, sin embargo, esto podría estar influenciado por el bajo número de muestras obtenidas en esas zonas, adicionalmente en estos departamentos se reporta una menor cantidad de casos en comparación con el resto. Un caso particular es el departamento de Valle del Cauca, donde se identificó la presencia exclusiva del sublinaje B.1.18, lo que sugiere una posible introducción reciente o una circulación predominante de este sublinaje en la región.

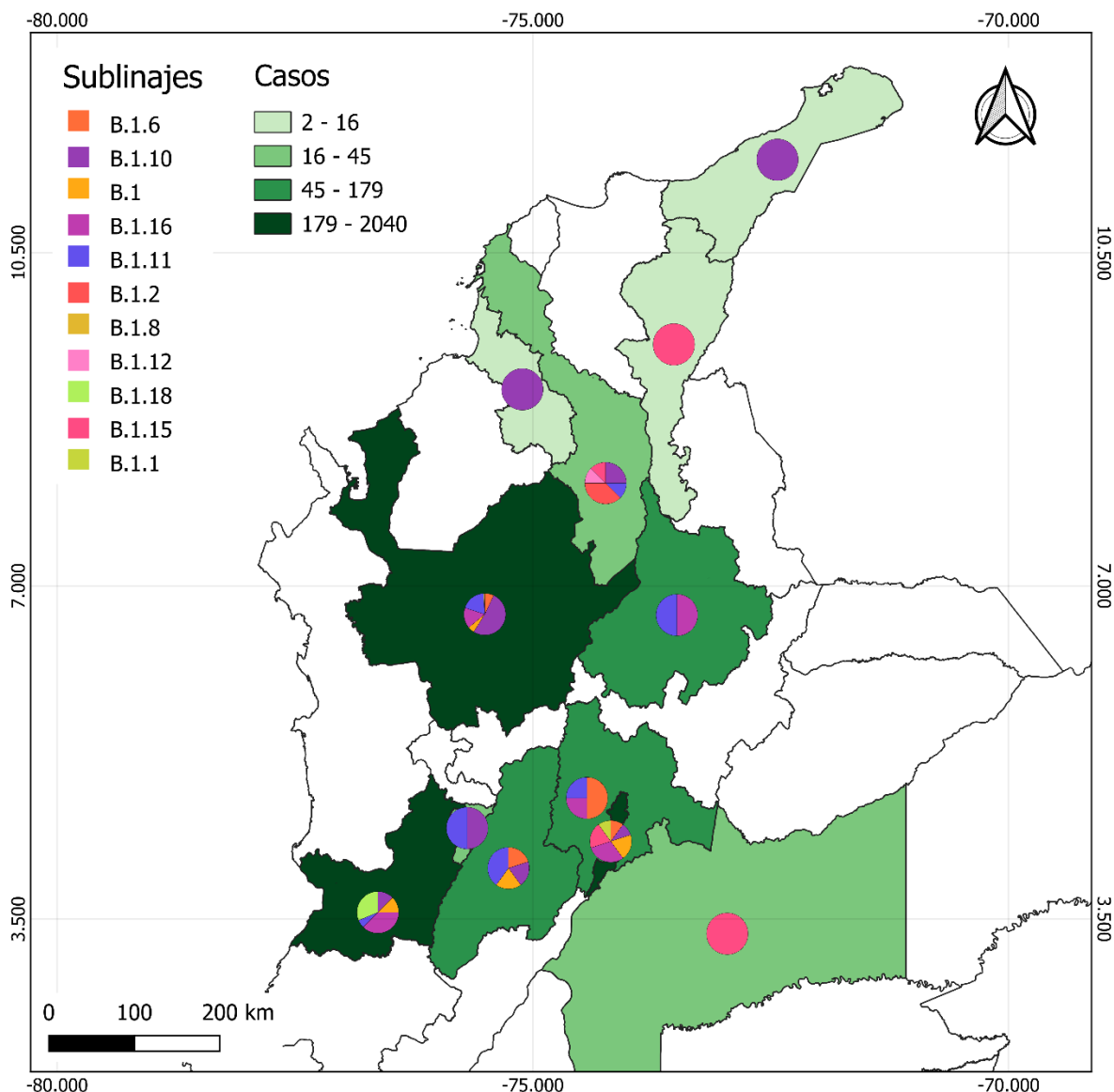


Figura 8. Distribución geográfica de sublinajes. Mapa realizado con la herramienta QGIS. Se exhibe la distribución de sublinajes de Mpox en correlación con el número de casos reportados hasta la fecha de la enfermedad por departamento, estos datos fueron adaptados de los reportes epidemiológicos del INS de la enfermedad. Elaboración propia.

Al analizar la relación entre la diversidad de sublinajes y la distribución geográfica, se observó que los departamentos con mayor cantidad de casos reportados presentaron una mayor diversidad

de sublinajes, lo cual sugiere que la variedad en una región está relacionada con el tamaño de la población misma y una dinámica de transmisión mayor.

8.3 Análisis de polimorfismos.

En el análisis realizado con Nextclade se identificaron mutaciones conservadas por cada sublinaje; gracias a estas mutaciones características las secuencias se asignan en dicho sublinaje, aunque se observó que las secuencias sinónimas son superiores a las no sinónimas dentro de todos los sublinajes, también se reportaron SNPs no sinónimos, los cuales son mutaciones claves que provocan un cambio en el aminoácido afectando así a una proteína específica del virus. Las mutaciones clave se reportaron exclusivamente en los linajes B.1.10, B.1.12, B.1.15, y B.1.2 como se observa en la figura 9, en el caso de los sublinajes restantes no se identificaron mutaciones clave en estas secuencias o directamente no se obtuvo un número significativo de muestras que permitiera identificarlas. Dentro del análisis se reportó entre 1 a 3 mutaciones clave por cada sublinaje, las cuales se encuentran distribuidas tanto en la región central del genoma como en las regiones variables de los extremos, adicionalmente, la predominancia de estas mutaciones fue G>A y C>T.

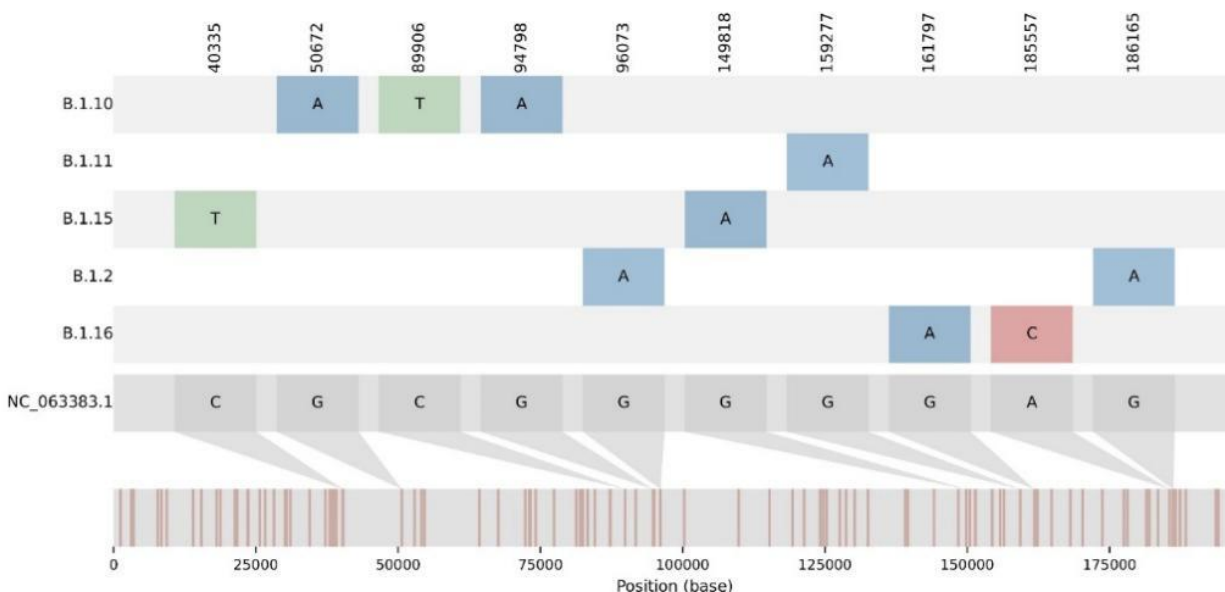


Figura 9. Mutaciones clave de secuencias de Mpox virus en Colombia. Comparación contra secuencia de referencia (NC_063383.1) donde se representan SNPs no sinónimos por cada sublinaje. Las mutaciones graficadas con la herramienta Snipit fueron concordantes con los resultados obtenidos en Nextclade. Elaboración propia

En el análisis de las mutaciones clave se observó que estas afectaban proteínas implícitas en el proceso de replicación y transcripción, modulación del hospedero y también proteínas de membrana, las cuales se cree que interactúan directamente con el sistema inmunológico del hospedero, las proteínas se resumen en la tabla 2. Las mutaciones asociadas a las proteínas implícitas en la modulación del sistema inmunológicos en el hospedero y proteínas de membrana fueron las mutaciones más predominantes en el conjunto de sublinajes, estas mutaciones se encuentran en las zonas variables del genoma, donde se ha reportado anteriormente una mayor variación en el genoma del virus. Así mismo, de los resultados obtenidos vale la pena resaltar la mutación que afecta a la proteína OPG210, ya que este polimorfismo se encontró tanto en el sublinaje B.1.16 y B.1.2.

Tabla 2. Proteínas afectadas por las mutaciones clave reportadas por Nextclade. En este análisis se observan mutaciones que afectan a proteínas involucradas en la replicación y transcripción, modulación del huésped y proteínas de membrana.

Linaje	Sustitución	Gen CDS	Gen	Clasificación funcional
B.1.10	50672G>A	OPG70	Proteína de membrana E8	Proteína de membrana
	89906C>T	OPG110	Factor de transcripción tardía VLTf-4	Replicación y transcripción
	94798G>A	OPG115	Proteína de núcleo viral D3	Desconocido
B.1.16	161797G>A	OPG188	Poxin-Schlafen	Modulación de huésped
	185557A>C	OPG210	Familia de proteínas B22R	Proteína de membrana
B.1.11	159277G>A	OPG185	Hemaglutinina	Modulación de huésped
B.1.15	40335C>T	OPG058	Proteína de membrana F14	Proteína de membrana
	149818G>A	OPG176	Proteína Bcl-2-like	Modulación de huésped
B.1.2	96073G>A	OPG117	NTPasa 1	Replicación y transcripción
	186165G>A	OPG210	Familia de proteínas B22R	Proteína de membrana

Por otra parte, en el resultado obtenido por Snipit, en el que se comparan las secuencias de estudio contra la secuencia de referencia se logró observar el panorama general de mutaciones que presentaron las secuencias. Como resultado se evidenció que las mutaciones no se hallaron en zonas específicas del genoma, distribuyéndose de manera uniforme a lo largo del genoma, esta distribución se puede observar en la figura 10. Como resultado destacable vale la pena mencionar que en su mayoría al igual que las mutaciones clave también destaca la predominancia de mutaciones G>A y C>T, siendo este un patrón de importancia característico de los polimorfismos de las secuencias.

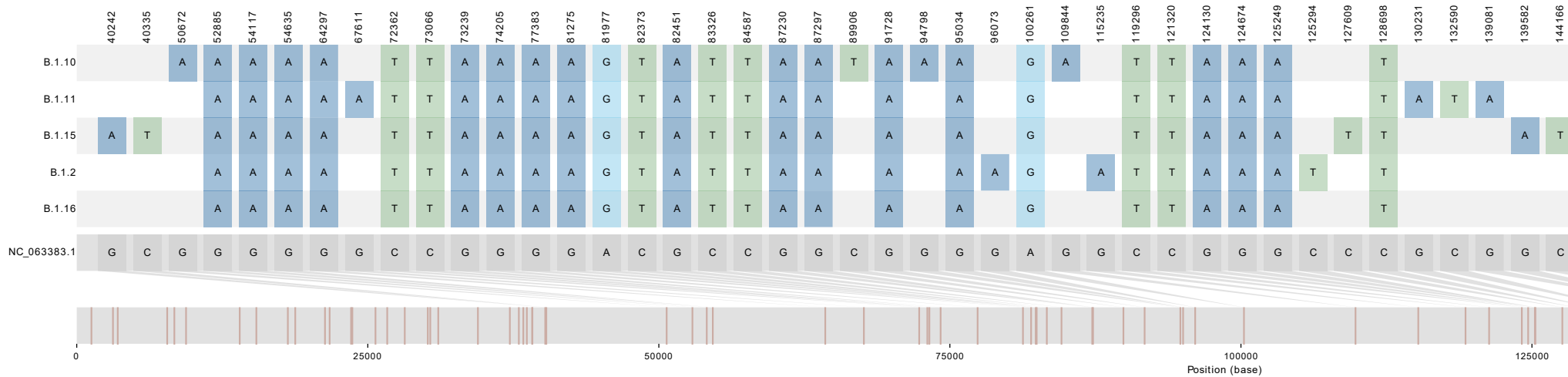


Figura 10. Perfil general de polimorfismos. Caracterización de SNPs de secuencias por sublinaje contra secuencia de referencia (NC_063383.1). En la figura se muestra la distribución de polimorfismos en el genoma desde la posición inicial hasta la posición 125000, la zona restante del genoma tiene un patrón similar. El color azul oscuro representa los cambios de sustitución G>A, mientras que el verde la sustitución C>T.

8.4 Análisis de uso de codones.

Se analizaron un total de 157 genes mediante el Índice de Adaptación de Codones (CAI). Los resultados revelaron un valor promedio de CAI de 0.7025, lo que sugiere que la mayoría de los genes presentan una adaptación moderada en el uso de codones preferidos por el huésped humano. Sin embargo, se identificaron genes con valores de CAI moderadamente más altos, indicando una mejor adaptación respecto al resto de los genes analizados. La desviación estándar de los datos fue 0.0272, reflejando así una baja dispersión en los datos, lo que confirma una homogeneidad generalizada en la preferencia de codones como se observa en la figura 11.

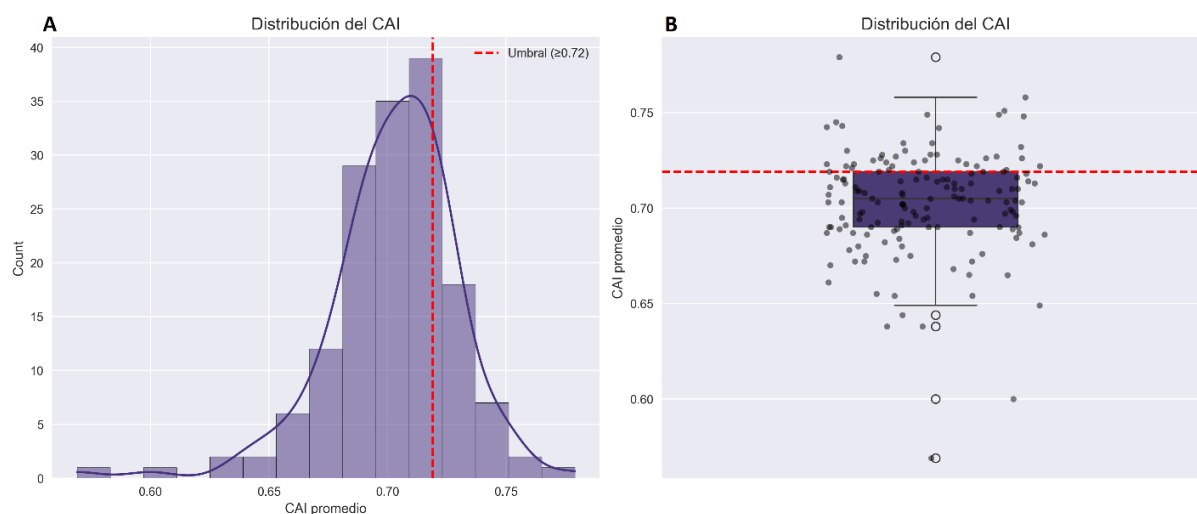


Figura 11. Distribución índice CAI. (A) Histograma de distribución media del índice CAI de 157 genes analizados, se establece el umbral de percentil igual o mayor al 75% de los genes analizados. (B) Boxplot de distribución media de los genes por el índice CAI.

La distribución del CAI mostró una asimetría negativa (como se observa en el histograma de distribución de la figura 11), evidenciando una mayor concentración de genes con valores por debajo de la media. Solo el 25% de los genes ($n=39$) superaron el umbral de $CAI \geq 0.719$ (percentil

75), y únicamente el 5% (n=8) alcanzaron valores superiores a 0.75. Entre estos últimos, destacan los genes OPG005 (CAI=0.779), OPG146 (CAI=0.758) y OPG051 (CAI=0.751), los cuales pueden considerarse como los mejor adaptados a la maquinaria traduccional humana.

Por otro lado, la Figura 12 muestra que los valores de CAI se distribuyen de manera uniforme a lo largo del genoma, sin fluctuaciones significativas en regiones específicas. Este patrón sugiere que la adaptación de codones es un fenómeno global en el genoma analizado, sin sesgos posicionales

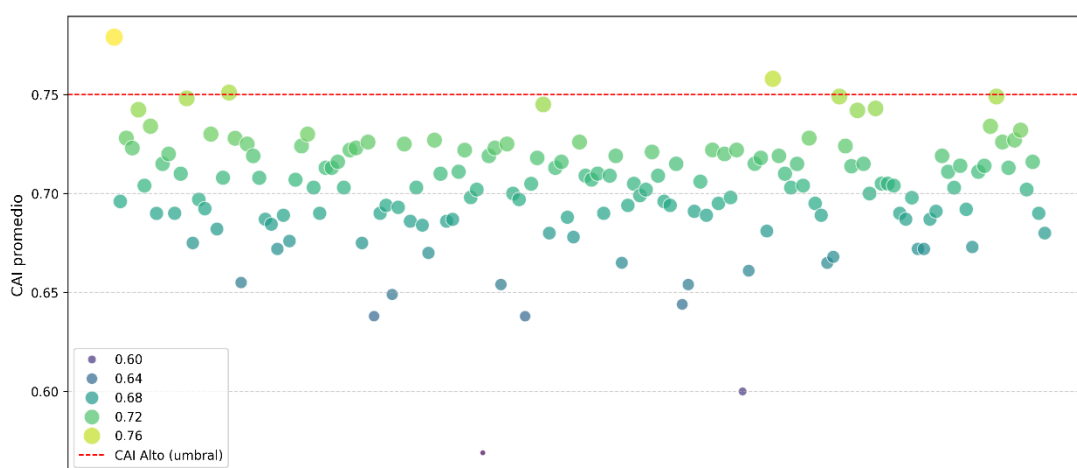


Figura 12. Distribución índice CAI por gen en el genoma de Mpox virus. Correlación el índice CAI por gen y su posición dentro del genoma del virus.

9. Discusión

En los hallazgos del presente análisis se identificó la circulación de 11 sublinajes asociados al linaje B.1, el cual fue el causante del brote epidemiológico de 2022. Esto sugiere que el virus fue introducido al país a partir del brote en circulación y que posteriormente se dispersó generando nuevos casos. Este hallazgo coincide con lo reportado por Luna, N. et al. en 2022, quienes

realizaron un análisis filogenético y de distribución del Mpox virus utilizando 337 secuencias de genoma completo. En dicho estudio se evidencia la circulación del clado IIb, linaje B.1, en diversos países de Europa, Norteamérica y Sudamérica, incluyendo su circulación en Colombia a partir de este mismo año. No obstante, el número de secuencias utilizadas del territorio nacional en ese estudio fue limitado (4).

En adición, la distribución de los 11 sublinajes hallados fue heterogénea, lo que indica que no hubo una predominancia de sublinajes asociados a una región específica, reflejándose una importante divergencia de variables genómicas en el territorio nacional. Esto concuerda con el comportamiento que ha mostrado el virus desde la aparición del linaje B.1 en el año 2022. En el estudio posterior realizado por Luna, N. et al. en el año 2023, en el que se analizaron 1900 secuencias de genoma completo, se evidenció una divergencia de sublinajes en los primeros países con reportes de casos de Mpox en 2022, como Alemania, Reino Unido, Portugal y Estados Unidos, los cuales fueron las principales zonas geográficas que originaron y posteriormente dispersaron los distintos sublinajes. Adicionalmente, en este mismo estudio se evidencia que, aunque la mayoría de los linajes presentan una amplia distribución, algunos muestran predominancia en países específicos. Por ejemplo, el linaje B.1.6 es predominante en Perú, B.1.4 en Canadá y B.1.11 es el principal en Estados Unidos (68). Este mismo patrón de predominancia de sublinajes también se observa en otros estudios, como el realizado por Patiño, L. et al. 2023, en el que se evaluaron 23 secuencias de casos aislados de Mpox virus en la ciudad de Nueva York. En dicho análisis se identificaron seis sublinajes distintos, aunque se evidenció una marcada predominancia de los sublinajes B.1.3 y B.1.8 (69). Asimismo, en el estudio filogenético realizado por Zhang, S. et al. 2024, donde se analizaron más de 5.000 secuencias de genoma completo, se observó a partir del año 2023 la predominancia del linaje C.1 en el continente asiático, especialmente en países como

Japón, Corea del Sur e Indonesia (70). Esta tendencia de predominancia también se reflejó en el presente estudio, en el que se observó que, en el caso de Colombia, los linajes B.1.10, B.1.11 y B.1.16 tuvieron una mayor predominancia representando más del 50% de las secuencias analizadas.

Por otra parte, el único sublinaje con distribución uniforme fue el B.1.18 reportado exclusivamente en Valle del Cauca, sin embargo, no es posible asegurar una relación exclusiva de la aparición del sublinaje en la región debido a la limitada cantidad de secuencias que se obtuvieron de dicho sublinaje.

En el análisis de polimorfismos se identificaron 10 mutaciones no sinónimas clave en cinco sublinajes reportados en el país. Estas mutaciones se distribuyen de manera uniforme a lo largo del genoma, tanto en la región central como en la región variable. Estos hallazgos concuerdan con reportes previos sobre el perfil de mutaciones, en los que se han identificado SNPs con un patrón de distribución similar. En el estudio realizado por Wang, L et al. 2022, en el que se analizaron 1.958 secuencias de genoma completo, se compararon los clados preexistentes con el fin de identificar los polimorfismos asociados al surgimiento del linaje B.1. En este trabajo se empleó la herramienta Nextclade para identificar las mutaciones, comparando las secuencias contra la referencia NC_063383.1, y posteriormente se anotaron en un genoma de referencia. En dicho estudio se identificaron 18 mutaciones sinónimas y 24 no sinónimas, distribuidas de manera uniforme a lo largo del genoma (10). Por otra parte, en el estudio realizado por Luna N. et al. 2023, en el que se describen mutaciones características asociadas a los sublinajes emergentes del linaje B.1, se compararon las secuencias del estudio contra una secuencia de referencia utilizando la herramienta Nextclade, con el fin de identificar las mutaciones asociadas a cada sublinaje. En este

análisis se reportaron mutaciones tanto en las regiones de los extremos del genoma como en la región central (68).

La región central del genoma es considerablemente más conservada en comparación con la región variable de los extremos, ya que estas últimas son más susceptibles a variaciones genéticas. En la región central se encuentran genes que codifican proteínas implicadas en los procesos de replicación y transcripción, mientras que en la región variable se localizan genes que codifican proteínas relacionadas con la infección y la adaptación del virus a su hospedero. Por ello, se considera que las mutaciones observadas en la región central del genoma podrían ser un reflejo de una importante presión selectiva (71).

En el análisis de mutaciones clave se hallaron alteraciones en genes que codifican proteínas implicadas en procesos de replicación, transcripción, modulación del huésped y proteínas de membrana. Estas mutaciones, que afectan este tipo de proteínas, también han sido reportadas en otros estudios, como el realizado por Yadav P. et al. 2022, en el que se identificaron mutaciones no sinónimas características de 11 cepas del virus Mpox en la India utilizando la herramienta Nextclade. Como resultado, se identificaron 17 cambios en proteínas, de las cuales cinco presentaron más de seis mutaciones. Las proteínas afectadas fueron clasificadas en tres grupos: proteínas de unión (proteínas de membrana), replicación y transcripción, y evasión de la respuesta inmune del hospedero. Las mutaciones más destacadas en este análisis fueron las encontradas en las proteínas OPG176 (proteína tipo Bcl-2), OPG210 (familia de proteínas B22R), OPG205, OPG023 (proteínas con repeticiones de anquirina) y OPG071 (polimerasa). Adicionalmente, este estudio resalta un aumento en la tasa de mutaciones a partir del año 2022 con respecto a cepas del virus de años anteriores (10).

Asimismo, en este mismo estudio se resalta la importancia de las proteínas tipo Bcl-2, en las cuales se identificaron cambios en los genes OPG176 y OPG005(gp174), Se considera que estas alteraciones están directamente relacionadas con una mejora en el *fitness* del virus y su capacidad de adaptación (10). Estas proteínas juegan un rol importante, ya que están implícitas en la regulación del sistema inmunológico, inhibiendo y generando un estado de inmunosupresión en el hospedero. Además, no solo se han identificado en el Mpox virus, sino también en diversos miembros de la familia *Poxviridae* (72).

La importancia de las proteínas asociadas a la evasión del sistema inmune también fue destacada en el estudio realizado por Yu, J. et al. 2023, donde se identificaron mutaciones no solo en los genes OPG176 y OPG005 (gp174), sino también en OPG025 y OPG036, los cuales codifican proteínas que desempeñan un papel clave en la regulación de la respuesta inmune del hospedero (73). De igual forma, en el estudio llevado a cabo por Luna, N. et al. 2023, se evidencia la aparición de mutaciones en los genes OPG176 y OPG005 (gp174) desde la emergencia del linaje B.1, las cuales se han mantenido en el surgimiento de nuevos sublinajes (68). En el caso de Colombia, la mutación en el gen OPG176 fue identificada únicamente en el linaje B.1.15. Adicionalmente, en este estudio se destaca la aparición de múltiples mutaciones asociadas al gen OPG210 en varios sublinajes relacionados con el linaje B.1. Este gen codifica una glicoproteína de membrana perteneciente al grupo B22R, la cual participa en la unión con las células del hospedero y en la modulación de la interacción con anticuerpos (68). Por lo tanto, los cambios observados en este gen en múltiples sublinajes podrían estar relacionados con una mayor capacidad de evasión del sistema inmune y con nuevas dinámicas de transmisión (10). De forma similar, se han reportado mutaciones en este gen en diversos sublinajes en otros estudios, como los realizados Wang, L. et al. 2022 y Patiño, L. et al 2023 (10,69). La recurrencia de estas mutaciones sugiere un papel

relevante de OPG210 en la evolución y adaptación del virus. En el presente estudio se identificaron mutaciones en este gen en dos linajes distintos: B.1.2 y B.1.16, siendo este último uno de los más predominantes en el país. Sin embargo, las mutaciones detectadas ocurrieron en diferentes sitios del gen, lo cual concuerda con lo reportado previamente sobre la aparición de múltiples polimorfismos asociados a esta región.

Las proteínas de membrana desempeñan un papel esencial en la patogenicidad del virus, ya que participan en procesos de entrada celular, modulación inmune y diseminación viral (63). En este contexto, se identificaron mutaciones en genes que codifican proteínas de membrana, como OPG070, OPG058 y OPG185. Este último ha sido reportado previamente en distintos sublinajes desde la aparición del linaje B.1, según el estudio de Luna N, et al. 2023, Además, se trata de un gen de relevancia funcional por estar asociado a factores de virulencia. Se ha propuesto que la mutación en este gen podría estar vinculada a la acción de las proteínas APOBEC3 (68). A nivel nacional, esta mutación se detectó exclusivamente en el linaje B.1.11, uno de los más predominantes en el territorio. Por otra parte, en el mismo estudio se destaca una mutación en el gen OPG110, el cual codifica una proteína implicada en los procesos de replicación y transcripción. A diferencia de otros genes, las mutaciones en esta región se han descrito únicamente en el linaje B.1.10, lo cual podría deberse a que los genes involucrados en funciones de replicación tienden a ser altamente conservados (68). Esta observación concuerda con los hallazgos del presente análisis, donde la mutación en OPG110 también fue exclusiva del linaje B.1.10, el más prevalente en el país. A pesar de las mutaciones identificadas en el país, muchas de ellas presentan implicaciones funcionales aún desconocidas. Por ello, es fundamental continuar investigando los efectos que estas alteraciones pueden tener sobre las proteínas virales y su funcionalidad.

En la visualización general de mutaciones se observó un patrón predominante de polimorfismos, siendo en su gran mayoría G>C y C>T, este perfil mutacional se ha descrito en múltiples análisis y se cree que es causado directamente por el grupo de enzimas (Apolipoprotein B mRNA Editing Enzyme, Catalytic Polypeptide-like 3) APOBEC3. Las enzimas APOBEC3 hacen parte del sistema inmune del huésped, generalmente inducidas ante una infección viral este grupo de enzimas introducen mutaciones en el genoma del virus, no obstante, en algunas ocasiones las mutaciones podrían no llegar a interrumpir completamente el virus, generando así nuevas variantes genómicas del mismo. Las mutaciones causadas por este grupo de proteínas se identifican gracias al patrón característico GA >AA y TC>TT, el cuál ha sido común en diferentes variables desde la aparición del virus en 2022, por lo que se asocia la rápida evolución del virus a una acción continua de este grupo de enzimas (7). En el caso de la investigación actual este patrón se observa en los resultados tanto en el panorama general de mutaciones como en la identificación de mutaciones clave.

El análisis de uso de codones reveló una distribución homogénea con baja variabilidad entre genes (desviación estándar de 0.027). La mayoría presentó valores del índice CAI entre 0.68 y 0.74, lo que sugiere una adaptación moderada sin extremos marcados. No obstante, tres genes (OPG005, OPG146 y OPG051) mostraron un índice CAI superior a 0.75. Sin embargo, estos valores podrían estar influenciados por la longitud de dichos genes, ya que en todos los casos presentan menos de 500 pares de bases. Dado que las secuencias cortas tienen mayor probabilidad de reflejar una aparente adaptación de forma aleatoria, es posible que estos valores elevados no representen necesariamente una mejor adaptación al hospedero humano.

Este patrón de distribución de valores concuerda con reportes previos, como el realizado por Guo, X. et al. 2023 En dicho estudio se llevó a cabo un análisis comparativo del uso de codones del

virus Mpox en relación con el hospedero humano, comparando específicamente los clados I y IIb del Mpox virus. Para este análisis, se extrajeron individualmente 175 genes mediante un script en Python, utilizando como referencia la secuencia NC_063383.1. Las secuencias resultantes se agruparon en los dos clados (I y IIb), incluyendo para el clado IIb cepas prevalentes desde el año 2022. Con estas secuencias se evaluaron tres índices relacionados con la adaptación del uso de codones: CAI (Índice de Adaptación de Codones), RCDI (Índice Relativo de Desoptimización de Codones) y RSCU (Uso Relativo de Codones Sinónimos). Como resultado, se obtuvo un valor promedio de CAI de 0.757 para los genes del clado IIb, un valor cercano al promedio de 0.702 reportado en la presente investigación, lo cual sugiere un nivel de adaptación comparable. Sin embargo, el estudio de Guo et al. concluye que las cepas del clado IIb muestran un patrón de adaptación de codones inferior en comparación con el clado I, reflejando un proceso evolutivo no adaptativo. Aunque el valor del índice CAI sugiere una adaptación moderada, se concluye que el virus presenta una optimización deficiente en el uso de codones respecto al hospedero humano. Esta conclusión se fundamenta en el análisis conjunto del uso de codones con los índices RCDI y RSCU: los valores elevados de RCDI indicaron una mayor divergencia entre los patrones de codones del virus y los del hospedero, mientras que el análisis del RSCU reveló que el uso de codones del Mpox era menos similar al de los genes del hospedero regulados al alza, y más similar al de los regulados a la baja tras la infección, lo que sugiere que el patrón de uso de codones del virus podría interferir negativamente con la expresión génica del hospedero. Por tanto, una limitación del presente estudio es la consideración exclusiva del índice CAI, sin integrar los análisis complementarios ofrecidos por los índices RCDI y RSCU.

Esta conclusión sobre la desoptimización en el uso de codones coincide parcialmente con la investigación realizada por Shan et al.,2024 en la cual se analizaron los patrones evolutivos del

virus. En dicho estudio, el análisis de uso de codones tuvo en cuenta el índice CAI, calculado a partir de las frecuencias de codones presentes en los transcriptomas de las secuencias del Mpox virus. Como resultado, se obtuvo un valor promedio de CAI de 0,609, significativamente menor al observado típicamente en genes humanos. En comparación con el presente estudio, los valores del índice CAI difieren, lo que podría atribuirse a las diferencias metodológicas empleadas por los autores (74).

10. Conclusión.

En el territorio nacional circula el clado IIb, linaje B.1 del Mpox virus desde su aparición en el país en 2022 hasta la fecha. Actualmente, se encuentran en circulación 11 sublinajes distintos que, aunque presentan una distribución variable, muestran una predominancia definida por los sublinajes B.1.10, B.1.11 y B.1.16. Desde su aparición, el virus se ha mantenido en constante cambio, lo cual se evidencia en el surgimiento de nuevos sublinajes y en la aparición de mutaciones asociadas a variables genómicas. Estas mutaciones, que se fijan en los distintos sublinajes del linaje B.1, incluyen también cambios en genes clave presentes en múltiples sublinajes. La mayoría de estas mutaciones afectan principalmente a proteínas implicadas en la evasión del sistema inmune y en el proceso de infección. En Colombia también se han detectado estas mutaciones en distintos sublinajes, además, en su mayoría de estas estuvo presente el patrón característico de edición de las proteínas APOBEC3. Por otra parte, es necesario seguir investigando aquellas mutaciones cuya función e impacto en las características del virus aún se desconocen. Finalmente, el análisis de uso de codones muestra un nivel de adaptación moderado, con valores de CAI relativamente homogéneos entre genes; sin embargo, la metodología empleada es limitada para confirmar un proceso de adaptación del virus hacia el hospedero.

11. Referencias bibliográficas

1. Kmiec D, Kirchhoff F. Monkeypox: A New Threat? Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022.
2. Marcela C, Lozada M, Alberto J, Reales M, Fuertes M, Jenessa Y, et al. Protocolo de Vigilancia de Viruela Símica-Monkeypox. 2022
3. 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 Aug 1;20(8).
4. 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 Med Infect Dis. 2022 Sep 1;49.
5. Desingu PA, Rubeni TP, Sundaresan NR. Evolution of monkeypox virus from 2017 to 2022: In the light of point mutations. Front Microbiol. 2022 Dec 14;13.
6. Yadav P, Devasurmutt Y, Tatu U. Phylogenomic and Structural Analysis of the Monkeypox Virus Shows Evolution towards Increased Stability. Viruses. 2023 Jan 1;15(1).
7. 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 [Internet]. 2022 Jun 24 [cited 2023 Jan 13];28(8):1569–72. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-022-01907-y>
8. Zhan XY, Zha GF, He Y. Evolutionary dissection of monkeypox virus: Positive Darwinian selection drives the adaptation of virus–host interaction proteins. Front Cell Infect Microbiol. 2023 Jan 13;12.
9. Yu X, Shi H, Cheng G. Mpox Virus: Its Molecular Evolution and Potential Impact on Viral Epidemiology. Vol. 15, Viruses. MDPI; 2023.
10. Wang L, Shang J, Weng S, Aliyari SR, Ji C, Cheng G, et al. Genomic annotation and molecular evolution of monkeypox virus outbreak in 2022. J Med Virol. 2023 Jan 1;95(1).
11. Guan H, Gul I, Xiao C, Ma S, Liang Y, Yu D, et al. Emergence, phylogeography, and adaptive evolution of mpox virus. New Microbes New Infect. 2023 Mar 1;52.
12. Guo X, Zou J, Yang K, Chang S, Zhang Y, Li Y, et al. Non-adaptive evolution in codon usage of human-origin monkeypox virus. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2023 Sep 1;100.
13. Damon IK. Status of human monkeypox: Clinical disease, epidemiology and research. Vaccine. 2011 Dec 30;29(SUPPL. 4).
14. Wilson ME, Hughes JM, McCollum AM, Damon IK. Human monkeypox. Clinical Infectious Diseases. 2014 Jan 15;58(2):260–7.

15. Guzzetta G, Mammone A, Ferraro F, Caraglia A, Rapiti A, Marziano V, et al. Early Estimates of Monkeypox Incubation Period, Generation Time, and Reproduction Number, Italy, May-June 2022. *Emerg Infect Dis.* 2022 Oct 1;28(10):2078–81.
16. McFarland SE, Marcus U, Hemmers L, Miura F, Iñigo Martínez J, Martínez FM, et al. Estimated incubation period distributions of mpox using cases from two international European festivals and outbreaks in a club in Berlin, May to June 2022. *Euro Surveill.* 2023 Jul 1;28(27).
17. Huang Y, Mu L, Wang W. Monkeypox: epidemiology, pathogenesis, treatment and prevention. Vol. 7, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2022.
18. 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. 2005.
19. Walter K, Malani PN. What Is Monkeypox? Vol. 328, *JAMA*. American Medical Association; 2022. p. 222.
20. 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. Vol. 21, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. BioMed Central Ltd; 2022.
21. Petersen E, Kantele A, Koopmans M, Asogun D, Yinka-Ogunleye A, Ihekweazu C, et al. Human Monkeypox: Epidemiologic and Clinical Characteristics, Diagnosis, and Prevention. Vol. 33, *Infectious Disease Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2019. p. 1027–43.
22. Guildo D, Eckburg P. Human monkeypox an emergin zoonosis. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:15–25.
23. Jezek Z, Szczeniowski M, Paluku KM, Mutombo M. Human Monkeypox: Clinical Features of 282 Patients [Internet]. Vol. 156, *THE JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES*. 1987. Available from: <http://jid.oxfordjournals.org/>
24. Rayati Damavandi A, Semnani F, Hassanpour K. A Review of Monkeypox Ocular Manifestations and Complications: Insights for the 2022 Outbreak. Vol. 12, *Ophthalmology and Therapy*. Adis; 2023. p. 55–69.
25. Brown K, Leggat PA. Human monkeypox: Current state of knowledge and implications for the future. Vol. 1, *Tropical Medicine and Infectious Disease*. MDPI AG; 2016.
26. Sklenovská N, Van Ranst M. Emergence of Monkeypox as the Most Important Orthopoxvirus Infection in Humans. Vol. 6, *Frontiers in Public Health*. Frontiers Media S.A.; 2018.
27. Kumar N, Acharya A, Gendelman HE, Byraredddy SN. The 2022 outbreak and the pathobiology of the monkeypox virus. Vol. 131, *Journal of Autoimmunity*. Academic Press; 2022.

28. Hutson CL, Carroll DS, Gallardo-Romero N, Weiss S, Clemmons C, Hughes CM, et al. Monkeypox disease transmission in an experimental setting: Prairie dog animal model. *PLoS One*. 2011 Dec 2;6(12).
29. Kaler J, Hussain A, Flores G, Kheiri S, Desrosiers D. Monkeypox: A Comprehensive Review of Transmission, Pathogenesis, and Manifestation. *Cureus*. 2022 Jul 3;
30. Heskin J, Belfield A, Milne C, Brown N, Walters Y, Scott C, et al. Transmission of monkeypox virus through sexual contact – A novel route of infection. Vol. 85, *Journal of Infection*. W.B. Saunders Ltd; 2022. p. 334–63.
31. León-Figueroa DA, Barboza JJ, Garcia-Vasquez EA, Bonilla-Aldana DK, Diaz-Torres M, Saldaña-Cumpa HM, et al. Epidemiological Situation of Monkeypox Transmission by Possible Sexual Contact: A Systematic Review. Vol. 7, *Tropical Medicine and Infectious Disease*. MDPI; 2022.
32. Pineda JER, Rojas SV, Ramírez JJO. Contagion of the monkeypox virus in men who have sex with men in Colombia: stigmatization. *Salud(i)Ciencia*. 2023;25(4):233–7.
33. Fahrni ML, Priyanka, Choudhary OP. Possibility of vertical transmission of the human monkeypox virus. Vol. 105, *International Journal of Surgery*. Elsevier Ltd; 2022.
34. Ullah M, Li Y, Munib K, Zhang Z. Epidemiology, host range, and associated risk factors of monkeypox: an emerging global public health threat. Vol. 14, *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2023.
35. Doty JB, Malekani JM, Kalemba LN, Stanley WT, Monroe BP, Nakazawa YU, et al. Assessing monkeypox virus prevalence in small mammals at the human–animal interface in the democratic republic of the congo. *Viruses*. 2017 Oct 1;9(10).
36. Parker S, Nuara A, Buller RML, Schultz DA. Human monkeypox: An emerging zoonotic disease. *Future Microbiol*. 2007 Feb;2(1):17–34.
37. Ladnyj D, Ziegler P, Kima3 E. A human infection caused by monkeypox virus in Basankusu Territory, Democratic Republic of the Congo *. Vol. 46, *Bull. Org. mond. Sante*. 1972.
38. Jeiek Z, Grab ' B, Szczeniowski M, Paluku KM, Mutombo2 & M. Clinico-epidemiological features of monkeypox patients with an animal or human source of infection. Vol. 66, *Bulltin of the World Health Organization*. 1988.
39. Heymann DL, Szczeniowski M, Esteves K. Re-emergence of monkeypox in Africa: a review of the past six years. *Br Med Bull*. 1998;54(3).
40. Reynolds M, Davidson W, Curns A, Conover C, Huhn G, Davis J, et al. Spectrum of infection and risk factors for Human Monkeypox, United States, 2003. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2007;13(9). Available from: www.cdc.gov/eid

41. Kabuga AI, El Zowalaty ME. A review of the monkeypox virus and a recent outbreak of skin rash disease in Nigeria. Vol. 91, *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 533–40.
42. Yinka-Ogunleye A, Aruna O, Ogoina D, Aworabhi N, Eteng W, Badaru S, et al. Reemergence of Human Monkeypox in Nigeria, 2017. *Emerg Infect Dis*. 2018;24(6).
43. Yinka-Ogunleye A, Aruna O, Dalhat M, Ogoina D, McCollum A, Disu Y, et al. Outbreak of human monkeypox in Nigeria in 2017–18: a clinical and epidemiological report. *Lancet Infect Dis*. 2019 Aug 1;19(8):872–9.
44. Hoff N, Doshi R, Colwell B, Kebela-Illunga B, Mukadi P, Mossoko M, et al. Evolution of a Disease Surveillance System: An Increase in Reporting of Human Monkeypox Disease in the Democratic Republic of the Congo, 2001-2013. *Int J Trop Dis Health*. 2017 Jan 10;25(2):1–10.
45. 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 Negl Trop Dis*. 2022 Feb 1;16(2).
46. Vaughan A, Aarons E, Astbury J, Balasegaram S, Beadsworth M, Beck C, et al. Two cases of monkeypox imported to the United Kingdom, September 2018. *Eurosurveillance*. 2018 Sep 21;23(38).
47. WHO. Multi-country monkeypox outbreak in non-endemic countries [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 25]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON385>
48. Nuzzo JB, Borio LL, Gostin LO. The WHO Declaration of Monkeypox as a Global Public Health Emergency. Vol. 328, *JAMA*. American Medical Association; 2022. p. 615–6.
49. CDC. Datos y casos del brote del 2022 [Internet]. 2023 [cited 2023 Jul 25]. Available from: <https://espanol.cdc.gov/poxvirus/mpox/response/2022/index.html>
50. Otieno JR, Ruis C, Onoja AB, Kuppalli K, Hoxha A, Nitsche A, et al. Global genomic surveillance of monkeypox virus. *Nat Med* [Internet]. 2025 Jan 23;31(1):342–50. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-024-03370-3>
51. CDC. Mpox [Internet]. 2024 [cited 2024 Nov 30]. Available from: <https://www.cdc.gov/mpox/index.html>
52. INS. Enfermedades emergentes. 2024 [cited 2024 Nov 30]. Mpox. Available from: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Enfermedades-emergentes.aspx>
53. 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 Feb;20(2):232–9.

54. Shchelkunov SN, Totmenin A V, Babkin I V, Safronov PF, Ryazankina OI, Petrov NA, et al. Human monkeypox and smallpox viruses: genomic comparison. 2001.
55. Li H, Huang QZ, Zhang H, Liu ZX, Chen XH, Ye LL, et al. The land-scape of immune response to monkeypox virus [Internet]. 2022. Available from: www.thelancet.com
56. Shchelkunov SN, Totmenin A V., Safronov PF, Mikheev M V., Gutorov V V., Ryazankina OI, et al. Analysis of the monkeypox virus genome. *Virology*. 2002;297(2):172–94.
57. Krijnse J, Kuehn A, Schleich S, Rutter G, Hohenberg H, Wepf R, et al. Entry of the Two Infectious Forms of Vaccinia Virus at the Plasma Membrane Is Signaling-Dependent for the IMV but Not the EEV. Vol. 11, *Molecular Biology of the Cell*. 2000.
58. Bayer-Garner IB. Monkeypox virus: histologic, immunohistochemical and electron-microscopic findings.
59. Moss B. Membrane fusion during poxvirus entry. 2016;
60. Hatmal MM, Al-Hatamleh MAI, Olaimat AN, Ahmad S, Hasan H, Ahmad Suhaimi NA, et al. Comprehensive literature review of monkeypox. Vol. 11, *Emerging Microbes and Infections*. Taylor and Francis Ltd.; 2022. p. 2600–31.
61. Moss B. Poxvirus DNA replication. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013 Sep;5(9).
62. Smith GL, Vanderplasschen A, Law M. Printed in Great Britain The formation and function of extracellular enveloped vaccinia virus [Internet]. Vol. 83, *Journal of General Virology*. 2002. Available from: www.sanger.ac.uk
63. Li H, Zhang H, Ding K, Wang XH, Sun GY, Liu ZX, et al. The evolving epidemiology of monkeypox virus. Vol. 68, *Cytokine and Growth Factor Reviews*. Elsevier Ltd; 2022. p. 1–12.
64. Turakhia Y, Thornlow B, Hinrichs AS, De Maio N, Gozashti L, Lanfear R, et al. Ultrafast Sample placement on Existing tRees (USHER) enables real-time phylogenetics for the SARS-CoV-2 pandemic. *Nat Genet*. 2021 Jun 1;53(6):809–16.
65. Xie J, Chen Y, Cai G, Cai R, Hu Z, Wang H. Tree Visualization by One Table (tvBOT): A web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees. *Nucleic Acids Res*. 2023 Jul 5;51(W1):W587–92.
66. Aksamentov I, Roemer C, Hodcroft E, Neher R. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *J Open Source Softw*. 2021 Nov 30;6(67):3773.
67. Puigbò P, Bravo IG, Garcia-Vallve S. CAIcal: A combined set of tools to assess codon usage adaptation. *Biol Direct*. 2008 Sep 16;3.
68. Luna N, Muñoz M, Bonilla-Aldana DK, Patiño LH, Kasminskaya Y, Paniz-Mondolfi A, et al. Monkeypox virus (MPXV) genomics: A mutational and phylogenomic analyses of B.1 lineages. *Travel Med Infect Dis*. 2023 Mar 1;52.

69. Patiño LH, Guerra S, Muñoz M, Luna N, Farrugia K, van de Guchte A, et al. Phylogenetic landscape of Monkeypox Virus (MPV) during the early outbreak in New York City, 2022. *Emerg Microbes Infect.* 2023;12(1).
70. Zhang S, Wang F, Peng Y, Gong X, Fan G, Lin Y, et al. Evolutionary trajectory and characteristics of Mpox virus in 2023 based on a large-scale genomic surveillance in Shenzhen, China. *Nature Communications* . 2024 Dec 1;15(1).
71. Yu Z, Zou X, Deng Z, Zhao M, Gu C, Fu L, et al. Genome analysis of the mpox (formerly monkeypox) virus and characterization of core/variable regions. *Genomics*. 2024 Jan 1;116(1).
72. Young B, Seifert SN, Lawson C, Koehler H. Exploring the genomic basis of Mpox virus-host transmission and pathogenesis. Imperiale MJ, editor. *mSphere* [Internet]. 2024 Dec 19;9(12). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/msphere.00576-24>
73. Yu J, Zhang X, Liu J, Xiang L, Huang S, Xie X, et al. Phylogeny and molecular evolution of the first local monkeypox virus cluster in Guangdong Province, China. *Nat Commun*. 2023 Dec 1;14(1).

12. Anexos

Readme	Se consolida Scripts utilizados para el procesamiento y análisis de datos genómicos en el estudio. *Se recomienda visualizar con editor de notas.
---------------	---

