

Caracterización molecular y filogenética del brote de viruela del mono en Andalucía

Carlos S. Casimiro-Soriguer (1,2) , Javier Perez-Florido (1,2) , Maria Lara (1) , Pedro Camacho-Martinez (3), Laura Merino-Diaz (3), Inmaculada Pupo-Ledo (3), Adolfo de Salazar (4,5,6), Ana Fuentes (4,6), Laura Viñuela (4,5), Natalia Chueca (4,6), Luis Martinez-Martinez (4,7), Nicola Lorusso (8), The Andalusian genomic surveillance network, Jose A Lepe (2,3,4), Joaquín Dopazo (1,2,9), Federico Garcia (4,5,6)

(1) Plataforma de Medicina Computacional, Fundación Progreso y Salud. (2) Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS). (3) Servicio de Microbiología. Unidad Clínica Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva. HUVR. (4) Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), ISCIII. (5) Servicio de Microbiología, HUSC. (6) Instituto de Investigación Biosanitaria, ibs.GRANADA. (7) Unidad de Microbiología Hospital Reina Sofía. (8) Dirección General de Salud Pública. Consejería de Salud y Familias. Junta de Andalucía. (9) FPS/ELIXIR-ES, Andalusian Public Foundation Progress and Health-FPS.

Introducción

La viruela del mono (MPXV) es una zoonosis viral endémica en algunos países de África occidental y central, con pocos casos fuera de África. En mayo de 2022, se informó de manera inesperada un brote considerablemente grande de MPXV clado B.1 que afectó a varios países no endémicos. Después de que se reportaran los primeros casos autóctonos en el Reino Unido el 13 de mayo y en España el 17 de mayo, se ha observado una rápida propagación con más de 14.000 casos reportados en más de 60 países a finales de julio. En este contexto, el monitoreo genómico del clado circulante es importante desde el punto de vista epidemiológico. Además de su relevancia epidemiológica, que claramente asigna las secuencias andaluzas al clado circulante, el secuenciado completo del genoma viral desempeña un papel crucial en la vigilancia de polimorfismos, así como en la detección de pérdidas génicas basadas en posibles cambios de fase intragénicos o codones de parada prematuros que podrían aparecer localmente y ser relevantes como determinantes de virulencia o transmisibilidad mejorada.

Materiales y Métodos

Muestras

Desde mayo hasta diciembre: **160 genomas completos** de MPXV en el Circuito de Vigilancia Genómica de Andalucía. Los aislados se muestrearon de manera uniforme en toda Andalucía.

Método de secuenciación

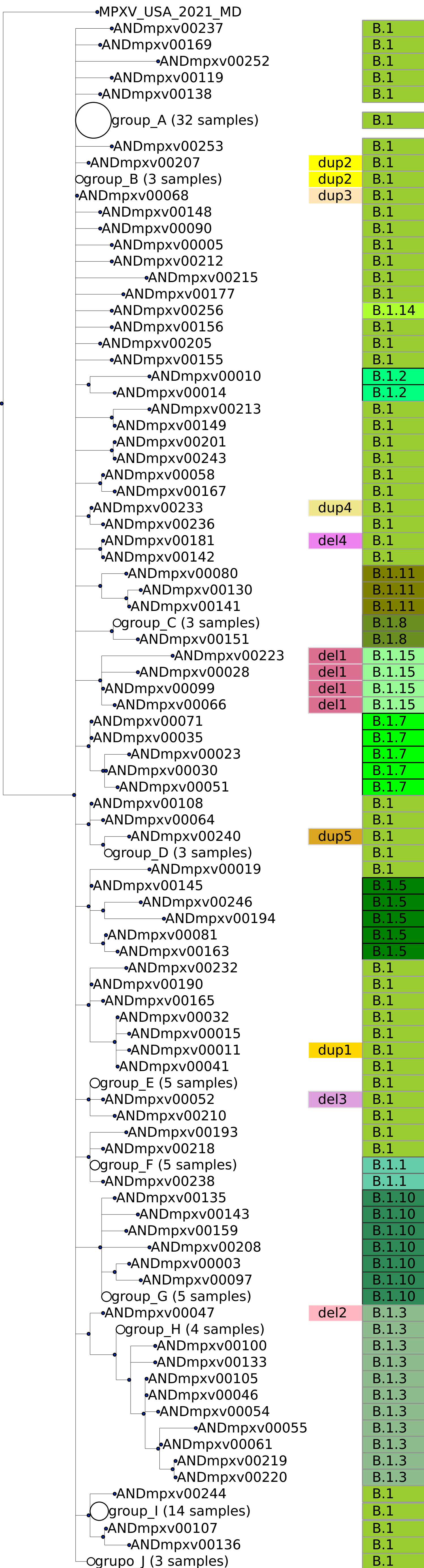
Se extrajo el ADN de las muestras de lesiones ulcerativas mediante el kit QIAamp DNA. Las librerías de ADN fueron preparadas utilizando el kit Illumina DNA Prep y los índices IDT para Illumina DNA/RNA UD Indexes. La secuenciación se llevó a cabo en el secuenciador Nextseq 550/1000 de Illumina.

Procesamiento de datos

Se utilizó el software de pipeline nf-core/viralrecon, versión 2.4.1. utilizando como referencia el aislado de alta calidad OX044336.2 para construir una secuencia consenso. Estas consenso junto a un conjunto representativo a nivel mundial se utilizó para realizar un análisis filogenético mediante la aplicación Augur. Las sustituciones de aminoácidos para los 160 consenso se obtuvieron mediante Nextclade utilizando como referencia ON563414 perteneciente al clado B.1 de la viruela del mono humana.

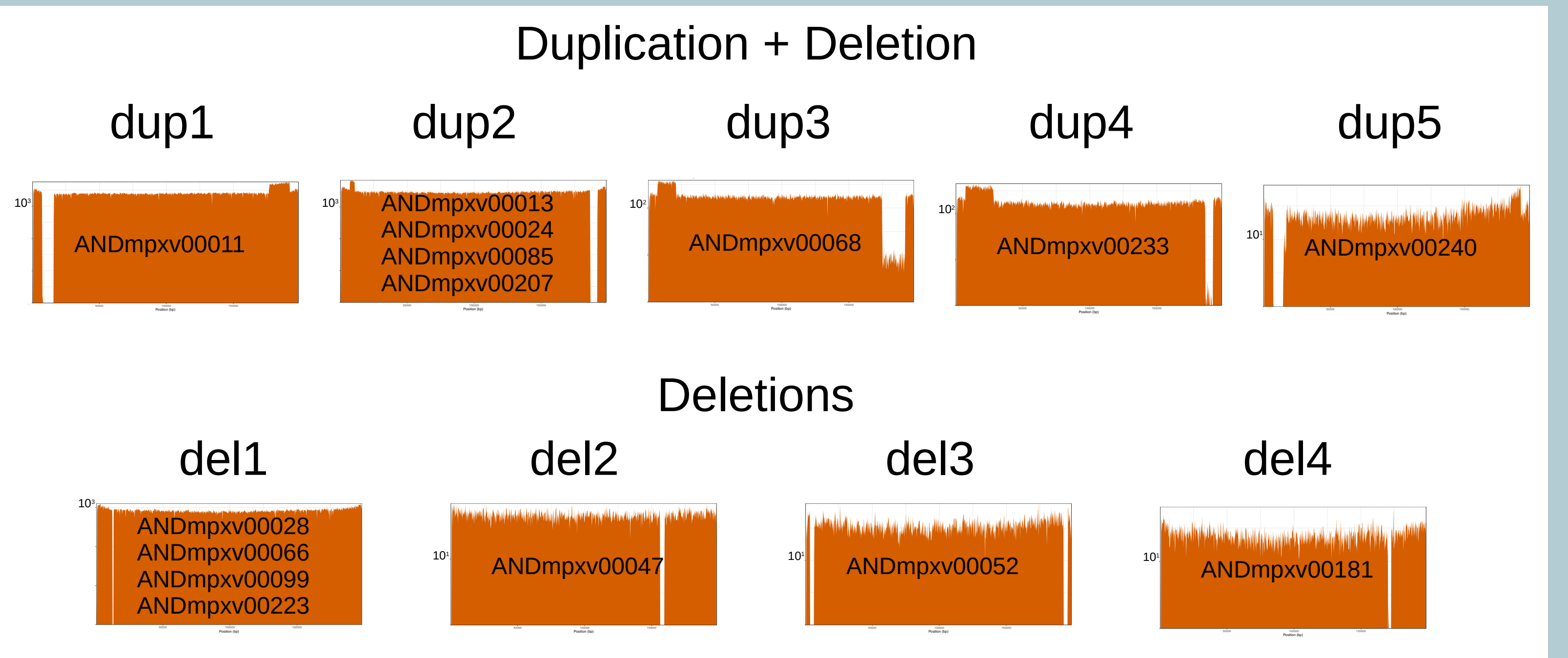
Variaciones estructurales

Para localizar posibles variantes estructurales se seleccionaron muestras que presentaban regiones anómalas en las graficas de cobertura. La confirmación de las variantes estructurales se realizó filtrando las reads con alineamientos sin tamaño de inserción adecuado, alineamientos secundarios y alineamientos quiméricos. Este tipo de reads coincidían con las regiones de cobertura anómala.



Filogenia de las 160 muestras andaluzas junto a las variantes estructurales descritas, el clado y los pacientes fallecidos

Gráficos de cobertura del genoma de referencia que muestran anomalías en las 15 muestras con variantes estructurales. 8 de los aislados presentan reordenación genómica en la cual se eliminó un extremo del genoma y se reemplazó por una duplicación invertida del extremo opuesto. El tamaño de las deleciones varía entre 912-6472 pb



Resultados

Las secuencias del brote en Andalucía presentan pocas mutaciones en relación con otras secuencias del brote. Los aislados andaluces están dispersos en la filogenia y están relacionados con secuencias de otros países, lo que sugiere múltiples introducciones del virus en Andalucía. Tras un análisis detallado destaca la presencia de mutaciones en los genes A0A7H0DNG4 y A0A7H0DNG6, previamente identificados como genes de virulencia en brotes en Nigeria con diferentes tasas de mortalidad.

Pacientes fallecidos

En este brote fallecieron dos pacientes el primero se secuenció en la muestra ANDmpxv00145 y el segundo se secuenció dos veces (ANDmpxv00218 y ANDmpxv00238). El primer paciente (sin comorbilidades) no presenta ninguna mutación significativa el segundo paciente (inmunodeprimido) fue secuenciado antes y después del tratamiento antiviral con tecovirimat el genoma consenso tras el tratamiento presentaba la mutación **OPG057:A290V** en una región del gen previamente descrita para vaccinia virus que puede provocar la resistencia a dicho medicamento.

Conclusiones

1. Los cambios genómicos identificados son relevantes para comprender la microevolución del virus en circulación.
2. La plataforma de vigilancia genómica implementada en Andalucía ha permitido una respuesta rápida para monitorear la propagación y evolución de MPXV en la región.
3. Es probable la introducción múltiple de virus en la región de Andalucía debido a la dispersión de los genomas consenso a los largo del árbol global.
4. Las mutaciones detectadas en los pacientes fallecidos no parecen estar relacionadas con un aumento de la virulencia o transmisión, excepto OPG057:A290V la cual puede estar relacionada con la resistencia al antiviral.