



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

**Genómica comparativa de secuencias de genoma completo del virus de la rabia y
cepas vacunales en México**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable

P R E S E N T A

MVZ. Jacqueline García Cano

Dirigido por:

Dra. Isabel Bárcenas Reyes

Querétaro, Qro. A 02 de Octubre de 2026

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

Genómica comparativa de secuencias de genoma completo del virus de la rabia y cepas vacunales en México

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

P R E S E N T A

MVZ. Jacqueline García Cano

Dirigido por:

Dra. Isabel Bárcenas Reyes

SINODALES

Dra. Isabel Bárcenas Reyes
Presidenta

Dr. Feliciano Milián Suazo
Secretario

Dr. Isaí Betancourt Resendes
Vocal

Dr. Carlos Adolfo Palacios
Suplente

Dr. Félix Leao Rodríguez Fierros
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario (Agosto, 2026)
México

RESUMEN

La rabia es una enfermedad zoonótica y letal cuyo agente etiológico es el virus de la rabia (VRAB), afecta a animales de sangre caliente y humanos. Causa alrededor de 60,000 muertes humanas anuales en el mundo. En México, la principal estrategia para la prevención y el control del VRAB es la vacunación en especies ganaderas y especies domésticas como el perro y el gato, normalmente con las cepas vacunales ERA y SAD que provienen de aislamientos virales obtenidos entre 50 y 100 años atrás. El monitoreo molecular del VRAB, se ha basado en el uso de secuencias parciales del genoma (SPG), lo que limita la detección de variantes nucleotídicas dentro de las poblaciones virales, ya que, el poder discriminatorio para la detección de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) es menor que cuando se usa la secuencia del genoma completo (SGC) del VRAB y puede revelar potenciales marcadores moleculares determinantes de la antigenicidad entre las cepas vacunales del VRAB y las cepas de campo que respalden el monitoreo de las vacunas antirrábicas y la diversidad genética del VRAB frente a los nuevos brotes de la enfermedad. Se analizaron veintidós SGC-VRAB obtenidas de bases de datos públicas. La identificación de variantes se realizó con *Samtools* utilizando dos cepas vacunales (ERA y SAD) y una cepa de campo (3634DR) como referencias. La clasificación de los SNP se realizó en *RStudio*, la predicción de la estructura terciaria de la glicoproteína del VRAB se realizó en *AlphaFold2* y el análisis estructural en *ChimeraX*. Como resultados, se identificó un mayor número de SNPs en los ensamblajes obtenidos con las cepas vacunales. Se caracterizaron los SNPs en SNPs-codificantes, SNPs-No/codificantes, SNPs-sinónimos y SNPs-No/sinónimos (SNP-NOSIN) y también se identificaron SNP-NOSIN en el sitio antigénico IV entre las glicoproteínas vacunales y las glicoproteínas de campo del VRAB, las cuales no presentaron alteraciones estructurales globales entre sí.

Palabras clave: *Lyssavirus*, mutaciones, genomas, epidemiología molecular.

SUMMARY

Rabies is a zoonotic and fatal disease caused by the rabies virus (RABV), which affects warm-blooded animals and humans. It causes around 60,000 human deaths worldwide each year. In Mexico, the main strategy for the prevention and control of RABV is vaccination of livestock and domestic animals such as dogs and cats, typically using the ERA and SAD vaccine strains derived from viral isolates obtained between 50 and 100 years ago. Molecular monitoring of RABV has been based on the use of partial genome sequences (PGS), which limits the detection of nucleotide variants within viral populations, as the discriminatory power for detecting single-nucleotide polymorphisms (SNPs) is lower than when using the whole genome sequence (WGS) of RABV; it can reveal potential molecular markers determining antigenicity between RABV vaccine strains and field strains, thereby supporting the monitoring of rabies vaccines and the genetic diversity of RABV in the face of new outbreaks of the disease. Twenty-two RABV-WGS sequences obtained from public databases were analyzed. Variants were identified using *Samtools*, with two vaccine strains (ERA and SAD) and one field strain (3634DR) serving as references. SNPs were classified in *RStudio*, the tertiary structure of the RABV glycoprotein was predicted using *AlphaFold2*, and structural analysis was carried out in *ChimeraX*. The results showed that a greater number of SNPs were identified in the assemblies obtained from the vaccine strains. The SNPs were categorized as coding SNPs, non-coding SNPs, synonymous SNPs and non-synonymous SNPs (NOSYN-SNP); NOSYN-SNP were also identified at antigenic site IV between the vaccine glycoproteins and the field glycoproteins of RABV, which showed no overall structural alterations between them.

Keywords: *Lyssavirus*, mutations, genomes, molecular epidemiology.

DEDICATORIAS

A mi compañero de aventuras y mejor amigo, Hugo: Por estar en lo bueno, en lo malo de lo bueno y lo largo de lo malo a mi lado. Por creer en mí incluso cuando yo no lo hacía, por las risas y las amorosas distracciones en los días llenos de estrés, desafíos e incertidumbre, por desenredar mis pensamientos y desmenuzar mis ideas siempre con tanta paciencia. Por apoyarme en mis locuras y hacerlas tuyas para poder vivirlas juntos, por poner todo de ti para poder alcanzar mis sueños. Por ser mi hogar.

A mi mamá, Norma: Por ser la primera persona en ponerme unas alas para volar muy alto y muy lejos, aunque estuvieras asustada. Por enseñarme que el amor verdadero te quiere libre, aunque sea a kilómetros de distancia y por tener siempre una sonrisa, un abrazo y un beso listo para mí cada que tenía miedo. Eres la mujer más admirable que conozco y a quien aspiro parecerme (aunque sea un poquito) algún día de mi vida.

A mi papá, Paco: Por nunca permitirme quedarme quieta, por ser mi principal voz en la transformación y recordarme que el mayor acto de resistencia es el conocimiento. Por enseñarme a abrazar la autenticidad y la rebeldía que vive en mí y con ellas cuidar con cuerpo, mente y espíritu nuestras raíces. Eres el hombre que todas y todos deberían conocer algún día para reconocer que estar con vida es sinónimo de disfrutar.

A mi hermanita, Dany: Por ser mi ejemplo de pasión, resiliencia y compromiso, toda la vida estaré agradecida de tu complicidad y cariño desde el día que llegué a nuestra familia. Gracias por ponerme los pies sobre la tierra cuando me estaba alejando, pero, sobre todo, gracias por darle vida a la felicidad y brillo actual de nuestra familia: Iker.

A mi mejor amiga, Aranza: Por estar en cada etapa de mi vida sin tener que pedírtelo, por motivar mis ideas y alimentar mis metas; por recordarme de dónde vengo, en dónde he estado y a dónde voy. Gracias por cuidar mis sueños como si fueran tuyos y velar por nuestra amistad como nunca nadie lo hará. Somos tú y yo, siempre, contra todo.

A la mejor compañera de maestría, Pau: Por ser tú y tu amistad, la sorpresa más bonita que la maestría me puso en el camino. No puedo imaginar esta etapa de mi vida sin ti, gracias por tus apapachos, por las risas, por tu empatía, por las experiencias vividas y por entenderme y ponerle palabras a lo que a veces yo no podía. Atesoro nuestra amistad para siempre y deseo que la vida nos junte una y otra y otra vez.

A todas las mujeres y niñas del mundo:

Que escriban, que ocupen espacios, que lean lo que quieran,

Que aprendan, que griten, que rían, que lloren, que sueñen,

Y que nadie les diga cuando parar.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación: Por el apoyo otorgado a través de la beca, el cual hizo posible mi formación de maestría. Gracias por contribuir a la generación del conocimiento científico en el país, mediante la formación académica de miles de mexicanos y mexicanas.

A la Universidad Autónoma de Querétaro: Por brindarme desde hace varios años, los espacios, las experiencias y los momentos precisos para conocer personas y situaciones que me han motivado a seguir evolucionando como profesionista y persona, siempre educando en la verdad y en el honor.

A la Facultad de Ciencias Naturales: Por ser mi lugar seguro y donde más he aprendido a admirar la naturaleza, los seres con quien compartimos este planeta y la vida. Por darme espacios y herramientas para nunca dejar de aprender y compartir ese aprendizaje.

A la Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable: Por permitirme ampliar mi visión y conocimiento como MVZ, por brindarme las herramientas para adquirir nuevas perspectivas para la resolución de problemáticas relacionadas con la salud animal y la salud pública.

A la Dra. Isabel Bárcenas Reyes: Por ser uno de los pilares más fuertes en mi desarrollo académico, profesional y personal. Su bondad, serenidad, acompañamiento, consejos y ejemplo han sido y serán una bendición en mi vida. Gracias por nunca dejarme caer, por permitirme equivocarme y con ello enseñarme a perseverar, a luchar por mis sueños y anhelos y mantenerme firme en mis ideas. Gracias por escucharme y brindarme su sincera amistad.

Al Dr. Feliciano Milián Suazo: Por recordarme cada día que el conocimiento no sirve de nada si no se pone al servicio de la sociedad. Gracias por darme la confianza antes, durante y después de este proyecto, su sabiduría y acompañamiento han sido fundamentales para ser mejor a diario en este camino.

Al Dr. Isaí Betancourt Resendes: Por aceptarme como su estudiante, regalarme incondicionalmente su tiempo y conocimiento en un terreno del saber ajeno para mí. Por impulsar mi desarrollo en nuevas áreas, confiar y darme luz cuando todo en mi mente estaba nublado. El desarrollo de este trabajo hubiera sido imposible sin su acompañamiento.

Al Dr. Carlos Adolfo Palacios: Por la confianza depositada desde el día uno del inicio de este proyecto, sus ideas, cuestionamientos y consejos para el desarrollo de esta investigación fueron clave para no perderme en el camino. Gracias porque ni siquiera la distancia en horas y kilómetros me hicieron sentir que estaba lejos.

Al Dr. Félix Leao Rodríguez Fierros: Por seguir siendo un guía con el paso de los años, gracias por recordarme lo valiosa e importante que es hacer escuchar mi voz y mis ideas, por sus valiosos y memorables consejos para dejar huella como académica, pero, sobre todo, como ser humano en este país.

A la Dra. Sara González Ruiz: Por los consejos, las risas, la confidencialidad y el apoyo a mi desarrollo académico dentro de la Universidad. Admiro su honestidad y resiliencia ante las adversidades, agradezco que podamos seguir compartiendo tiempo, conocimiento y espacios seguros para ser nosotras mismas mientras pasan las horas de trabajo y de vida.

A mis compañeras y compañero de la maestría: Gracias por hacer la estresante vida académica más ligera, divertida y llena de sorpresas. Recuerdo y guardo en mi corazón con mucho cariño cada uno de los momentos que compartimos dentro y fuera del aula, no dudo que las puertas están abiertas desde ya, para alcanzar todos y cada uno de sus añorados sueños. Les quiero.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
SUMMARY	ii
DEDICATORIAS.....	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. La rabia.	3
2.2. Historia de la rabia.....	7
2.3. Virus de la rabia.	8
2.3.1. Gen de la nucleoproteína.	11
2.3.2. Gen de la fosfoproteína.....	12
2.3.3. Gen de la proteína matriz.....	13
2.3.4. Gen de la glicoproteína.....	13
2.3.5. Pseudogen ψ	15
2.3.6. Gen de la ARN polimerasa.	16
2.4. Variabilidad molecular del virus de la rabia.	17
2.5. Reservorios del virus de la rabia.....	19
2.6. Ciclo de replicación del virus de la rabia.	22
2.7. Patogenia.	24

6.3. Predicción estructural de la glicoproteína del VRAB.	57
6.4. Comparación estructural entre las glicoproteínas y sitio antigénico IV con presencia de SNP-NOSIN.	59
6.4.1. Análisis de superposición estructural.	59
6.4.2. Análisis de exposición superficial.	60
6.4.3. Análisis de hidrofobicidad.	61
6.4.4. Análisis de modificaciones químicas (puentes de hidrógeno).	63
VII. DISCUSIÓN	65
VIII. CONCLUSIÓN	69
IX. BIBLIOGRAFÍA	70
X. ANEXOS	89

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Casos de rabia en herbívoros domésticos presentados en América de 2017-2022.	5
2	Clasificación por filogrupa de los <i>Lyssavirus</i> , hospederos asociados y distribución geográfica.	9
3	Función de las proteínas estructurales asociadas a la regulación de la replicación y transcripción de los <i>Lyssavirus</i>	11
4	Vacunas antirrábicas autorizadas para uso en ganado en México.	31
5	Clasificación de SNPs.	34
6	Mutaciones específicas de clado del VRAB reportadas en Kumar <i>et al.</i> , 2024.	35
7	Datos de las SGC del VRAB mexicanas con %Identidad >95 y valor de E=0.0 con cuatro SGC obtenidas de ganado en Querétaro.	39
8	SNPs identificados en SGC-VRAB de campo por genoma de referencia.	50
9	SNPs identificados, filtrados y clasificados por región genómica.	51
10	SNPs identificados y clasificados por su efecto funcional a nivel de aminoácidos por ensamble por gen.	53
11	Número total de SNP-SIN y SNP-NOSIN identificados en sitios antigénicos del VRAB.	55
12	Puntajes de parámetros del análisis de calidad estructural en SAVE.6.	57
13	Valores de SASA y RSA para residuos del sitio antigénico IV en las G-VRAB.	61
14	Enlaces de hidrógeno identificados en los residuos del sitio antigénico IV de las G-VRAB.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura del genoma del virus de la rabia.	10
2	Diferencia conformacional en la estructura de la glicoproteína a pH básico y a pH ácido.	15
3	Tasas de mutación virales.	17
4	Ciclo viral de los <i>Lyssavirus</i> .	23
5	Sinología manifestada en las formas de presentación de la rabia.	25
6	Diagrama de flujo para llamar a las variantes (SNPs).	40
7	Diagrama de flujo para la anotación de SNPs sinónimos y no sinónimos.	42
8	Distribución de SNPs por región genómica.	52
9	Distribución porcentual de SNP-SIN y SNP-NOSIN por gen por ensamble.	53
10	Densidad de SNPs no sinónimos entre genes por ensamble.	54
11	Distribución de mutaciones no sinónimas identificadas en sitios antigénicos del virus de la rabia por ensamble.	56
12	Mapas de Ramachandran obtenidos del parámetro <i>PROCHECK</i> en el análisis de <i>SAVE.6</i> .	57
13	Alineamiento global entre estructura secundaria del ectodominio de la G-VRAB determinada experimentalmente (81AE) y modelos estructurales del ectodominio de G-VRAB derivado de <i>Alphafold2</i> .	58
14	Superposición de estructuras de G-VRAB y sitios con SNP-NOSIN.	60
15	Análisis de hidrofobicidad de los modelos de G-VRAB.	62

16	Estructuras de G-VRAB con puentes de hidrógeno identificados en residuos con SNP-NOSIN en el sitio antigénico IV.	64
----	---	----

I. INTRODUCCIÓN

La rabia es una enfermedad zoonótica, aguda y mortal causada por el virus de la rabia (VRAB), que afecta a animales y humanos, con distribución mundial donde causa entre 60,000 y 75,000 muertes humanas anuales (Zandi *et al.*, 2021), de los cuales el 70% son niños menores de 15 años. Se considera que esta cifra es subestimada ya que la mayoría de los casos presentados en zonas de difícil acceso no son reportados (OMS, 2019, Fooks *et al.*, 2014). La mayoría de los casos se debe a infección por el virus de la rabia clásica del genotipo uno, que de acuerdo con el tipo de reservorio y procedencia geográfica ha mostrado tener variación genética dentro de los órdenes *Carnivora* y *Chiroptera* (Streicker y Biek, 2020).

Aunque se han identificado dos ciclos epidemiológicos, el urbano en el que el principal reservorio y transmisor es el perro, incidentalmente el gato; y el silvestre, que incluye a la fauna silvestre terrestre como los zorros, coyotes, zorrillos, mapaches, cuatíes, entre otros y a los murciélagos como fauna silvestre aérea (Gilbert, 2018).

Asia y África reportan el 95% de los casos de rabia transmitida por perros a humanos, muy probablemente debido al acceso muy limitado a la profilaxis post-exposición (He y Tan, 2025). En Europa, el riesgo de presentar casos de rabia es por fauna silvestre terrestre como los zorros, en América Latina el responsable de transmitir la rabia a humanos y otras especies animales de sangre caliente es el murciélago hematófago o vampiro *Desmodus rotundus* (*D. rotundus*), seguido de zorrillos, mapaches y coyotes (Oliveira *et al.*, 2010; Troupin *et al.*, 2016; Hikufe *et al.*, 2019). En esta región, tanto los casos de rabia humana como los informes de perro con rabia han disminuido en las últimas décadas (OPS, 2004). En la actualidad, la rabia canina solo permanece endémica en Bolivia, Guatemala, Haití y República Dominicana, por su parte, Argentina, Brasil, Cuba, Perú y Venezuela presentaron casos localizados representando el 10% del total (OPS, 2023). A pesar de la disminución de casos en perros en la región de las Américas, el número de casos de rabia en murciélagos se mantiene estable (Escobar *et al.*, 2015).

En 2019, México fue declarado libre de rabia humana transmitida por perros por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019). No obstante, la rabia transmitida por murciélagos continúa representando un problema para el sector pecuario y la salud pública del país, ya que, la transmisión de la enfermedad, principalmente en bovinos, ha aumentado en los últimos años (SENASICA, 2025). La principal estrategia para la prevención y el control del VRAB a lo largo del territorio mexicano es la vacunación del ganado, principalmente el bovino, así como, a especies domésticas como el perro y el gato con las cepas vacunales ERA y SAD. A partir del 2011, se ha observado un incremento en el número de casos de rabia en el ganado y otras especies ganaderas, al igual que en su distribución geográfica, con presencia de diferentes variantes antigénicas asociadas a sus reservorios naturales (Bárcenas-Reyes *et al.*, 2015).

La genotipificación del VRAB tradicionalmente se ha basado en el uso de secuencias parciales del genoma, este método presenta limitaciones por detectar un rango menor (0–3 SNP) de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) a diferencia de cuando se usa la secuenciación del genoma completo (SGC) (rango de 0-34 SNP) (Nadin-Davis *et al.*, 2017). La SGC incrementa el poder de discriminación, la caracterización y mapeo de las mutaciones que ocurre en regiones del genoma como potenciales marcadores moleculares determinantes de antigenicidad entre las cepas, vacunales y de campo (Geue *et al.*, 2008; Bárcenas-Reyes *et al.*, 2017). El objetivo de este estudio fue caracterizar la variabilidad genética de aislamientos mexicanos del VRAB con base en la identificación de SNPs y modelado estructural de la glicoproteína de cepas vacunales y de campo utilizando secuenciación de genoma completo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. La rabia.

La rabia es una enfermedad zoonótica, infecto-transmisble, aguda y mortal, que causa una encefalomiелitis fatal causada por un virus neurotrópico del género *Lyssavirus* de la familia *Rhabdoviridae* que afecta a animales de sangre caliente, domésticos o silvestres, y al humano. La enfermedad tiene una distribución mundial, así como, un alto rango de hospederos, se estiman muertes de entre 60,000 a 75,000 en humanos, además de un número incontable de animales domésticos y silvestres anualmente (Zandi *et al.*, 2021). Asia y África reportan el 95% de los casos, los cuales se deben a la transmisión del VRAB por perros, debido a que en esas regiones se tiene un acceso muy limitado a la profilaxis post-exposición (He y Tan, 2025). El país más afectado es India, con un reporte de casi un tercio de la mortalidad mundial por rabia. La mayoría de los casos se debe a la infección por el virus de la rabia clásica (VRAB) que pertenece al genotipo 1 del género *Lyssavirus* de la familia *Rhabdoviridae*, pero actualmente hay 18 virus reconocidos correspondientes al género *Lyssavirus* (ICTV, 2026).

El mecanismo de transmisión más frecuente y común del VRAB es a través de la saliva por mordedura de un animal infectado (Jackson, 2010; Fooks *et al.*, 2014). Aunque, también han sido descritos otras vías de transmisión, como la inhalación de partículas del VRAB, trasplantes órganos y córneas contaminados con el virus (Takayama, 2006). El periodo de incubación de la enfermedad en perros y gatos es de 10 días a 6 meses, en humanos es muy variable, puede oscilar entre 2 semanas y 6 años post-infección, con un promedio de 2 a 3 meses, en especies ganaderas puede ir de 10 a 90 días y la muerte suele presentarse entre los 2 y 12 días posteriores a la aparición de signos clínicos (Shankar *et al.*, 2012; OMS, 2023).

En la mayoría de los casos, el periodo de incubación dependerá de la ubicación, la extensión y la profundidad de la herida (Shankar *et al.*, 2012). Los síntomas y signos clínicos de la rabia, pueden ser similares entre humanos y animales (CFSPH, 2009). En esta enfermedad se pueden reconocer cinco etapas:

1) Periodo de incubación.

2) Fase prodrómica (cefalea, fiebre, decaimiento e insomnio).

3) Fase neurológica aguda clásica que a su vez presenta dos formas, la primera conocida como encefálica o furiosa y se caracteriza por los signos de ansiedad, dificultad para la deglución de sólidos y líquidos, espasmos frecuentes en faringe y laringe, sensación de terror, intolerancia al ruido, luz y corrientes de aire, la segunda conocida como paralítica o muda, es muy frecuente en ataques de murciélagos y se acompaña de signos como trastornos sensoriales, con parálisis en músculos respiratorios y músculos esqueléticos.

4) Coma.

5) Muerte.

La rabia tiene dos ciclos: el urbano y el silvestre. En el ciclo urbano, el perro, es el reservorio natural de la enfermedad e incidentalmente el gato, mientras que en el ciclo silvestre los reservorios son fauna de vida silvestre terrestre como los zorros, zorrillos, coyotes, mapaches, lobos, entre otros y la aérea como los murciélagos. Este último ciclo ha tomado mayor importancia en zonas donde la rabia urbana se encuentra bajo control (Sánchez *et al.*, 2019).

En América Latina, el murciélago hematófago *Desmodus rotundus* (*D. rotundus*), es el principal reservorio y transmisor del VRAB al ganado, perros, gatos y seres humanos, que, debido a su hábito alimenticio, favorece la infección a especies susceptibles, principalmente a las especies ganaderas. Este murciélago tiene una distribución geográfica que va desde México hasta el norte de Argentina y Chile (CFSPH, 2009; Côrrea *et al.*, 2014; Ortega-Sánchez *et al.*, 2022).

De 2017 a 2022 en América Latina, únicamente cinco países (Bolivia, Cuba, Guatemala, Haití y República Dominicana), presentaron casos de rabia en humanos transmitida por perros. Mientras que, los casos de rabia humana causada por otros animales están diseminados del norte al sur del continente, en 11 países. En ese mismo periodo de

tiempo, se reportaron 2,143 casos de rabia en perros y 9,829 casos en murciélagos (OPS, 2023). En el Cuadro 1. se muestra la cantidad y proporción por especie de casos de rabia en herbívoros.

Cuadro 1. Casos de rabia en herbívoros domésticos presentados en América de 2017-2022.

Especie animal	No. de Casos	Proporción
Bovinos	10,934	89.85%
Equinos	920	7.56%
Otros*	315	2.59%
Total	12,169	100%
*Búfalos, caprinos, ovinos, llamas, porcinos.		

Fuente: OPS, 2023.

En relación con la rabia en murciélagos en el continente americano, en 2022 la OPS reportó 2, 255 muestras de murciélago procesadas de las cuales 357 resultaron positivas. En fauna silvestre, reportó 875 muestras, 97 fueron positivas a rabia (OPS, 2023).

En México, los casos en humanos son por fauna silvestre, de 2025 a febrero de 2026 se reportaron cuatro decesos humanos por rabia asociados a gato silvestre, murciélago hematófago, bovino y otra especie silvestre (OPS, 2026). Los casos en ganado se asocian principalmente a murciélago hematófago *D. rotundus*. En 2025 se reportaron 364 casos positivos en animales domésticos de los cuales 311 correspondieron a bovinos, 24 a equinos, 20 a murciélagos hematófagos, 4 a ovinos, 3 a murciélago insectívoro, 1 a búfalo y 1 a caprino (SENASICA, 2025).

Como se mencionó previamente, la rabia transmitida por murciélagos afecta principalmente al ganado causándoles la rabia paralítica bovina (RPB), enfermedad endémica en zonas con alta densidad de ganado, como es la región de las huastecas en el centro-norte de México y en las costas, la costa del Pacífico y la del Golfo (SENASICA, 2025), donde causa pérdidas económicas por alrededor de 480 millones de dólares anuales por la exportación de ganado en pie. Sin embargo, la principal preocupación recae en el riesgo que esta enfermedad representa para la salud pública (Torres-Castro *et al.*, 2023).

En la última década, la RPB ha sido reportada en zonas geográficas previamente libres, aun en algunas que no tienen las condiciones ambientales para la presencia del vector (Bárcenas-Reyes *et al.*, 2019). Actualmente la RPB se encuentra presente en 26 de los 32 estados (SENASICA, 2024). De 2010-2019 se registraron 3, 469 casos de rabia en animales, de los cuales 89.1% ocurrieron en bovinos, 4.3% en équidos, 1.5% en ovinos, 0.6% en caprinos, 0.01% en cerdos, 3.1% en murciélagos hematófagos, 0.3% en cérvidos, 0.2% en zorrillos, 0.1% en zorros, 0.1% en búfalos, 0.01% en murciélagos insectívoros y el 0.5% no se identificó (Ortega-Sánchez *et al.*, 2022). Sin embargo, en México, como en otros países, se ha estimado que por cada caso reportado de RPB, hay diez que no lo son (Escobar, 2004)

2.2. Historia de la rabia.

La rabia es una de las enfermedades más antiguas de la humanidad, se ha descrito desde hace 4,000 años a.C. Antiguas civilizaciones del Medio Oriente tales como la que se instauraron en Mesopotamia y Egipto, ya describen la presencia de la rabia en escritos como el Código de Eshunna, perteneciente a la civilización mesopotámica, que data del 2,300 a.C. (SSA, 2018).

En lo que refiere a la presencia de la enfermedad en las Américas, no existen reportes históricos en la época precolonial (Vilchis, 1974); la descripción de los primeros casos reportados en la literatura se encuentra asociada a la llegada de los europeos al continente y se reporta que la rabia fue probablemente introducida por los perros que acompañaban a los conquistadores (Yaguana y López, 2017). En México, se describe la propagación de la rabia a lo largo de todo el país en 1709 debido a la distribución de los conquistadores provenientes de España, de esa misma procedencia se identifica la presencia en las Antillas Mayores en 1719, Perú en 1803, Venezuela en 1804 y Argentina en 1806 (Cocozza y Roman, 1960; Vilchis, 1974).

Las primeras investigaciones científicas de esta enfermedad en el Nuevo Mundo datan de 1906 y 1908, relacionadas con los brotes presentados en Brasil en equinos y bovinos (Baer, 1991). Sin embargo, fue hasta 1911 que Carini, del Instituto Pasteur de Sao Paulo, identificó la presencia de corpúsculos de Negri (CN) en la muestra encefálica de un bovino, posteriormente, con ese material reprodujo exitosamente la enfermedad en conejos, llegando a la conclusión que algún animal silvestre podría ser el responsable de la transmisión y que se trataba de rabia paralítica.

Los primeros casos en humanos fueron registrados en 1929, en donde Pawan (1936) observó CN en muestras de ganado, así como, de seres humanos y en 1931 aisló e infectó a murciélagos hematófagos con el VRAB proveniente de *D. rotundus*, con este experimento determinó las formas clínicas de la enfermedad en murciélagos y comprobó que un vampiro puede infectar a otros huéspedes cinco meses y medio post infección sin presentar sinología alguna. En México, se informa por primera vez en 1910 sobre la rabia en el ganado bovino

(Hernández, 2014) y en 1938, Téllez Girón reprodujo de manera experimental la rabia bovina.

2.3. Virus de la rabia.

El virus de la rabia pertenece al filogrupo I de los *Lyssavirus* (Cuadro 2), es mononegaviral, de familia *Rhabdoviridae* y subfamilia *Alpharhabdovirinae*. Los viriones se caracterizan por tener forma de bala y un tamaño de 60-110 nm de largo x 130-250 nm de diámetro, estructuralmente, se componen de una nucleocápside helicoidal interna y una envoltura lipídica (ICTV, 2026). El VRAB tiene un genoma de ácido ribonucleico de sentido negativo (ARNss-), mide alrededor de 12 kb y consta de cinco genes que codifican a cinco proteínas estructurales que conforman el virus: la nucleoproteína (N), la fosfoproteína (P), la proteína de matriz (M), la glicoproteína de superficie (G) y la ARN polimerasa viral (L). Cada gen está compuesto de una región codificante interna, flanqueada por dos regiones no codificantes (RNC), las RNC se encuentran delimitadas en su extremo 3' por una señal de iniciación de la transcripción (SIT) la cual es altamente conservada en los genomas de los *Lyssavirus* (3'-U-U-G-U-R-R-n-GA-5'), mientras que, en el extremo 5' presenta una señal de terminación de la transcripción poliadenilada (STTP), también altamente conservada (Figura 1), que contiene siete residuos de uridina los cuales darán paso a la cola de poliA en el ARNm (3'-A/U-C-U-U-U-U-U-U-U-G-5') (Tordo *et al.*, 1988).

Cuadro 2. Clasificación por filogrupos de los *Lyssavirus*, hospederos asociados y distribución geográfica.

Filogrupo	Especie	Hospederos asociados	Distribución geográfica
I	Aravan	Quiróptero (insectívoro)	Kirguistán
	<i>Lyssavirus</i> de murciélago australiano	Quiróptero (frugívoro e insectívoro)	Australia
	<i>Lyssavirus</i> de murciélago de Bokelo	Quiróptero (insectívoro)	Alemania
	<i>Lyssavirus</i> Duvenhage	Quiróptero (insectívoro)	Sudáfrica
	<i>Lyssavirus</i> de murciélago europeo tipo 1	Quiróptero (insectívoro)	Europa Occidental y Oriental, Rusia
	<i>Lyssavirus</i> de murciélago europeo tipo 2	Quiróptero (insectívoro)	Europa Occidental
	Irkut	Quiróptero (insectívoro)	Siberia
	Khujand	Quiróptero (insectívoro)	Tayikistán
	Rabia	Carnívoros y quirópteros (insectívoros y hematófagos)	Mundial, con excepción de algunos países
	Gannoruwa	Quirópteros (fructívoros)	Sri Lanka
II	Lagos	Quirópteros (fructívoros)	África
	Mokola	Musaraña	África
	Shimoni	Quiróptero (insectívoro)	Kenia
III	Ikoma	Civeta africana	Tanzania
	<i>Lyssavirus</i> de murciélago del Oeste del Cáucaso	Quiróptero (insectívoro)	Montañas Caucasus
	Lleida	Quiróptero (insectívoro)	España y Francia

Fuente: Banyard y Tordo, 2018; Loza, 2022.

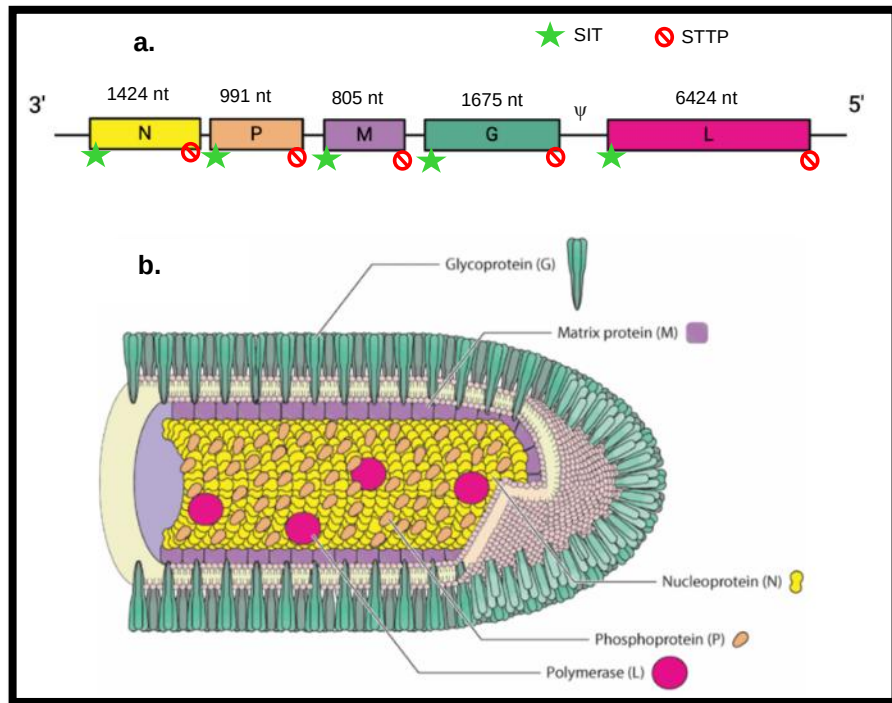


Figura 1. Estructura del genoma del virus de la rabia. **a.** Orden y longitud en nucleótidos (nt) de los genes del virus de la rabia de 3'-5. **b.** Proteínas estructurales que componen la partícula del VRAB. Adaptada de Davis y Schnell (2015).

Las cinco proteínas trabajan en conjunto para llevar a cabo los mecanismos de regulación, replicación, transcripción, traducción viral y evasión al sistema inmunitario del huésped (Yin *et al.*, 2021; Zandi *et al.*, 2021). (Cuadro 3).

Cuadro 3. Función de las proteínas estructurales asociadas a la regulación de la replicación y transcripción de los *Lyssavirus*.

Proteína	Longitud (aa)	Función
N	450	Encapsida el genoma de ARN y forma el complejo de ribonucleoproteína (RNP), que proporciona el molde para la transcripción y replicación del ARN. Se condensa junto con la proteína P y L en la nucleocápside helicoidal.
P	297	Funciona como cofactor no catalítico para la proteína L. Regula la replicación y el empaquetamiento del ARN viral.
M	202	Rodea la nucleocápside y se mantiene en íntimo contacto con el complejo RNP. Ayuda a la proteína G a completar la gemación.
G	524	Constituye una cubierta de lípidos y lipoproteínas. Funciona como proteína de adhesión a receptores específicos de las células huésped, induce anticuerpos neutralizantes y media la endocitosis del virus en la célula.
L	2142-2197	Representa el 54% del genoma. Es responsable, junto con la proteína P, de la replicación del genoma viral, la transcripción y el procesamiento post traduccional.

Fuente: Morales-Martínez *et al.*, 2006; Davis y Schnell, 2015; Yin *et al.*, 2021.

2.3.1. Gen de la nucleoproteína.

El gen N codifica para la nucleoproteína, la cual es la proteína que se presenta más conservada entre las variantes y en mayor abundancia en el genoma del VRAB, debido a ello, ha sido ampliamente utilizada como antígeno para diagnóstico e inducción de la inmunogenicidad (Morales-Martínez *et al.*, 2006).

La proteína N está íntimamente relacionada con la proteína P, L y el ARN viral, la interacción específica entre la nucleoproteína y la fosfoproteína permiten la formación del complejo ARN-N y Tordo y Kouknetzoff (1993) sugieren, que, el sitio de unión al ARN viral se localiza entre los residuos 298 y 352. Esta proteína no está glicosilada y se encuentra fosforilada en el residuo serina en la posición 377 (Montano y Mata, 1996).

Se ha observado que además de las funciones asociadas a la protección del ARN genómico, así como, la regulación de replicación y transcripción, desempeña un papel importante en la modulación de la patogenicidad en el hospedero (He *et al.*, 2017), además participa en mecanismos asociados con la evasión de la respuesta inmunitaria innata, evitando la producción de IFN e inhibiendo la apoptosis de células infectadas (Masatani *et al.*, 2010).

2.3.2. Gen de la fosfoproteína.

El gen P codifica para la fosfoproteína, esta, es una proteína multifuncional formada por un dominio N-terminal intrínsecamente desordenado (aminoácido 1-90) el cual se une a N (aminoácido 1-40) y a L (aminoácido 40-88) (Castel *et al.*, 2009), también consta de un dominio de dimerización central (aminoácido 91-133) (Mavrakakis *et al.*, 2004), un enlace desordenado (aminoácido 134-185) y un dominio C-terminal (aminoácido 185-297) el cual, se une a los complejos de ARN-N. Además, contiene un gran número de sitios de unión a proteínas tanto del huésped como virales, los cuales le permiten desempeñar funciones claves durante la replicación, así como aquellas relacionadas con la evasión de la respuesta inmunitaria del hospedero (Sugiyama *et al.*, 2020); tal es el caso de los motivos que se unen a STAT1 e IRF-3, dicha unión inhibe la fosforilación de ambos factores de transcripción, evadiendo la respuesta inmunitaria innata, actuando como antagonista del IFN-1 (Brzózka *et al.*, 2005; Rieder y Conzelmann, 2011).

Entre otras interacciones relevantes dadas por motivos presentes en la proteína P, se encuentra la interacción con la cadena ligera de la dineína citoplasmática (LC8), que, además de promover la transcripción del ARN viral, colabora con el transporte axonal retrógrado del virus a través del sistema nervioso central (SNC) (Raux *et al.*, 2000) y la unión a la quinasa

de adhesión focal en una región ubicada en el dominio de dimerización central (aminoácido 106-131) que regula la infección del VRAB (Fouquet *et al.*, 2015).

2.3.3. Gen de la proteína matriz.

El gen M codifica para la proteína matriz, es una proteína no glicosilada ni fosforilada y es quien le brinda al virus su característica forma de bala, ya que mantiene condensada la nucleocápside helicoidal. En su estructura primaria presenta un segmento central abundante en aminoácidos hidrofóbicos (aminoácido 89-107), esta propiedad, le permite unirse a las membranas y debido a su localización interna en la envoltura lipídica, también interactúa con el complejo de la RNP (Tordo *et al.*, 1986).

Sus funciones se encuentran mayormente asociadas a la regulación de la transcripción y replicación del ARN viral (UniProt Consortium, 2023), ya que, emplea un mecanismo de regulación negativa de la transcripción del ARN, a través de la regulación de la ARN polimerasa. Cuando la proteína M alcanza ciertos niveles de concentración citoplasmática, detiene la transcripción de ARNm y activa la replicación de ARN genómico (Finke y Conzelmann, 2005).

Se ha observado que la proteína M también participa en funciones y mecanismos relacionados con la citopatogenicidad, como su capacidad para regular las vías de JAK/STAT en conjunto con la fosfoproteína, a través de la inhibición dada por la interacción de los aminoácidos 77, 100, 104 y 110 de la proteína matriz (Sonthonnax *et al.*, 2019). También se ha reportado que esta proteína viral, interactúa con la región C-terminal de RelA/p43 (miembro de la familia NF- κ B), esta interacción específica inhibe la transducción de señal de NF- κ B y la transcripción de IFN- β (Khalifa *et al.*, 2016).

2.3.4. Gen de la glicoproteína.

El gen G del VRAB codifica para la glicoproteína o proteína G (G-VRAB), la cual es una proteína trimérica de tipo 1 glicosilada (Khalifa *et al.*, 2016; Shi *et al.*, 2022), y que forma de 400 a 600 espículas en la envoltura viral (Poian *et al.*, 2005). La glicoproteína

funciona como el único componente proteico en la superficie del virus, es vital para el reconocimiento al receptor, la fusión de membrana y el transporte intracelular, adicionalmente, esta proteína es el objetivo principal de los anticuerpos neutralizantes y el mayor componente de las vacunas rábicas (You *et al.*, 2025). Presenta tres dominios, un ectodominio que existe en forma de homotrímero, en donde cada monómero se conforma de 439 residuos de aminoácidos, un dominio transmembranal, compuesto de 20 aminoácidos y un dominio intracitoplasmático que comprende 44 aminoácidos y que interactúa directamente con la proteína M (Maillard *et al.*, 2003; Real *et al.*, 2005). Cabe destacar que esta proteína presenta una secuencia compuesta por 19 aminoácidos hidrofóbicos que corresponden a un péptido señal, el cual es removido de la estructura de la proteína, una vez que penetra a nivel de retículo endoplásmico rugoso (Ross *et al.*, 2008).

Para el establecimiento de la infección del VRAB se debe llevar a cabo el reconocimiento y fusión al receptor de membrana de la célula hospedero, para posteriormente entrar por la vía endocítica, ambas acciones mediadas por la glicoproteína; lo que convierte a esta proteína en un componente fundamental para el desarrollo de la patogénesis viral (Maillard *et al.*, 2003; Albertini *et al.*, 2012). Cabe mencionar que los aminoácidos hidrofóbicos involucrados en la fusión, se encuentran contenidos en el segmento del ectodominio (aminoácidos 103-179) y, se ha observado que para llevar a cabo su función fusogénica, la proteína G adquiere cambios conformacionales reversibles mediados por el pH del medio, logrando adquirir una forma de prefusión a un pH 7 y una forma de postfusión a un pH 5.6-6 (Gaudin *et al.*, 1992; Poian *et al.*, 2005; Albertini *et al.*, 2012). Yang *et al.* (2019) observaron que a un pH básico el ectodominio de la glicoproteína adopta una estructura de horquilla, mientras que, a un pH ácido el ectodominio presenta una estructura elongada, esto involucra la pérdida de la estructura secundaria y terciaria (Figura 2).

Antigénicamente el ectodominio de la proteína G, es el principal componente para la inducción de actividad de anticuerpos neutralizantes (Yang *et al.*, 2019), también es capaz de iniciar la respuesta inmunitaria humoral y estimular a las células T (Real *et al.*, 2005). Además de inducir la actividad de anticuerpos neutralizantes es determinante en la activación de la respuesta inmunitaria innata del hospedero (Zhang *et al.*, 2013), y se ha demostrado que

cambios en la estructura primaria de esta proteína influyen directamente sobre la patogenicidad (Takayama-Ito *et al.*, 2006). Tal es el caso de la arginina 333, que al ser sustituido por glutamina, isoleucina o glicina provoca la pérdida de la neurovirulencia del VRAB (Conzelmann *et al.*, 1990).

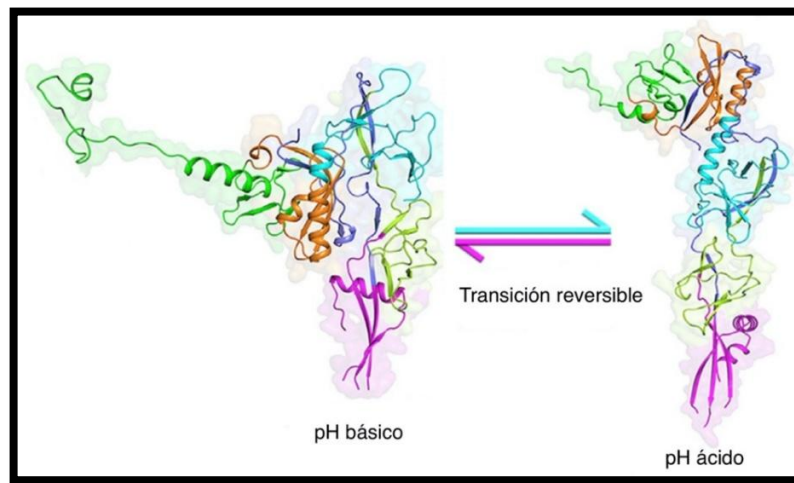


Figura 2. Diferencia en la estructura de la glicoproteína a pH básico y a pH ácido. Modificada de Yang *et al.* (2019).

2.3.5. Pseudogen ψ .

Los genes se encuentran separados por regiones intergénicas (RIG) cortas que varían en nucleótidos y extensión, a excepción de la RIG entre las proteínas G/L la cual presenta una longitud de 423 nucleótidos, así como, SIT y STTP. A pesar de ello esta región no codifica a ningún producto de expresión proteica, por lo que, se considera un gen remanente o pseudogen ψ (Loza y Aguilar, 1998). Sin embargo, se ha observado que el pseudogen ψ juega un papel de regulación de la transcripción del gen L repercutiendo de manera directa en la expresión del genoma, ya que, en algunos casos el complejo de transcripción ignora el STTP del gen G y reconoce la de ψ , generando un ARNm de mayor longitud de la proteína G (Velasco, 2014).

2.3.6. Gen de la ARN polimerasa.

El gen L, denominado así por *large* (largo), codifica para la proteína de la polimerasa del virus de la rabia (2142-2197 aminoácidos). La cual juega un papel fundamental en los procesos de replicación y transcripción (Yin *et al.*, 2021). Esta se ha descrito como la proteína más conservada de todas las proteínas de los virus que presentan un genoma de ARN monocatenario en sentido negativo (Montano y Mata, 1996).

Es una proteína multifuncional que presenta una organización multidominio compuesta por tres dominios enzimáticos, uno de ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), un dominio de *capping* (CAP) y un dominio de metiltransferasa (MT), adicionalmente presenta dos dominios no enzimáticos un dominio conector (DC) y un dominio C-terminal (DCT), los cuales flanquean el dominio MT (Horwitz *et al.*, 2020). La proteína L se une a la fosfoproteína, la cual actúa como cofactor para llevar a cabo su función de RdRp, esta región de unión L-P se localiza en el DCT de la proteína L (Nakagawa *et al.*, 2017).

2.4. Variabilidad molecular del virus de la rabia.

La variabilidad molecular implica diversidad genética, la cual juega un importante papel en la evolución, patogénesis, evasión de la respuesta inmunitaria y efectividad de las vacunas en las poblaciones virales (Wang *et al.*, 2019; Sanjuán y Domingo-Calap, 2021). Estos cambios a nivel de las secuencias genómicas del virus, se encuentran asociados a diversos mecanismos como la tasa de mutación, la cual presenta variabilidad entre los virus y depende de la naturaleza de su genoma. Los virus de ARN monocatenario en sentido negativo, tienen una tasa de mutación de 10^{-6} a 10^{-4} sustituciones de base por ronda de replicación, y se ha observado que la tasa de evolución (sustituciones/nucleótido/año) aumenta al elevar los valores de la tasa de mutación (sustituciones/nucleótido/ronda de copia) (Figura 3a). La introducción de nuevas mutaciones, se ve influenciada por errores en la replicación, ausencia de corrección de errores en la replicación, así como, procesos asociados a la selección natural y la deriva genética (Sanjuán y Domingo-Calap, 2021).

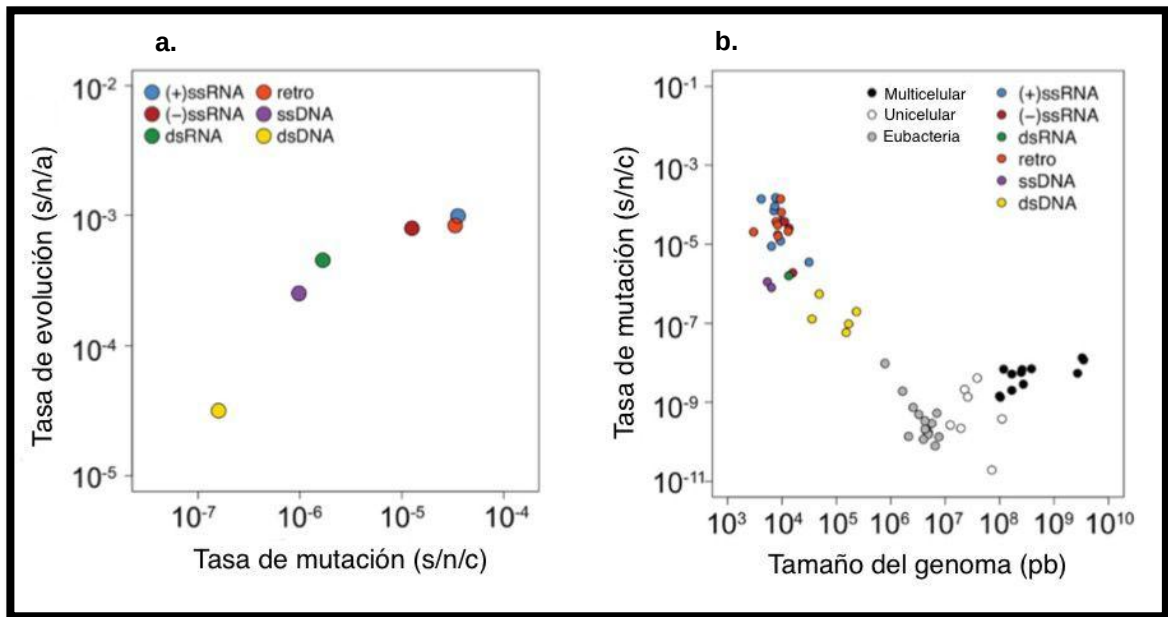


Figura 3. Tasas de mutación virales. **a.** Tasa de evolución. **b.** Correlación negativa entre la tasa de mutación y el tamaño del genoma (pares de bases). Modificado de Villanueva (2021).

En el caso de los virus de ARN, como el VRAB, sus tasas de mutación se asocian a la baja fidelidad de su ARN polimerasa (Domingo *et al.*, 2012). Esto da lugar a diversidad genómica, que a su vez puede dar lugar a estructuras de poblaciones virales coexistentes denominadas cuasiespecies, las cuales constituyen la base para las estrategias de adaptación de los virus de ARN (Domingo y Perales, 2019). Estas estrategias adaptativas están determinadas por cambios genéticos, la mayoría consiste en sustituciones de nucleótidos en regiones específicas del genoma, los cuales, dependiendo del sitio provocan cambios fenotípicos que repercuten a nivel de la estructura y función de las proteínas virales, resultando en un aumento de aptitud de adaptación ante nuevos entornos en los que se presente el virus, incluso en aquellos con presiones selectivas; tal es el caso de la presentación de variantes virales que escapan de las respuestas inmunitarias del hospedero (Conselheiro *et al.*, 2022).

Particularmente, en el VRAB, se ha reportado que aquellas cepas que presentan mutaciones en regiones específicas de la glicoproteína se ven modificadas a nivel de antigenicidad, inmunogenicidad y patogenicidad (Morimoto *et al.*, 1999; Ross *et al.*, 2008; Evans *et al.*, 2018). La inmunogenicidad de la glicoproteína se debe a su estructura secundaria y terciaria, así como, modificaciones post traduccionales que le permiten la formación de sitios antigénicos (Ross *et al.*, 2008). Se han determinado cuatro sitios antigénicos principales para esta proteína (Shi *et al.*, 2022):

- Sitio I: epítipo lineal altamente conservado compuesto por los residuos de aminoácidos (aa) 226-231 (Marissen *et al.*, 2005).
- Sitio II: epítipo conformacional discontinuo altamente conservado, compuesto por dos regiones aa 34-42 y aa 198-200 unidas por enlaces disulfuro (Prehaud *et al.*, 1988).
- Sitio III: epítipo conformacional compuesto por aa 330-338, los residuos 330, 333, 336 y 338 han sido catalogados como determinantes para la inmunogenicidad y patogenicidad del virus; se ha demostrado que en cepas mutantes donde hubo sustitución de aminoácidos Asp330Lys y Met333Arg perdieron su patogenicidad en ratones adultos y la sustitución de Lys336Asn se

observó en variantes de escape (Tuffereau *et al.*, 1989; Seif *et al.*, 1995; Coulon *et al.*, 1998).

- Sitio IV: epítipo lineal ubicado en aa 261-264, los residuos críticos de unión a anticuerpos neutralizantes de este epítipo son His261, Asp262 y Phe263 (Cai *et al.*, 2010).
- Sitio a: se conoce como sitio de neutralización menor, está compuesto por aa 342-343 (Benmansour *et al.*, 1991).

Por su parte, la nucleoproteína comprende cuatro sitios antigénicos. Sin embargo, estudios han demostrado que los anticuerpos dirigidos a esta proteína no presentan efectos neutralizantes, por lo que estos epítopos han sido empleados principalmente para el diagnóstico y clasificación del VRAB (Jiang *et al.*, 2010; Rahmahani *et al.*, 2019). No obstante, en un estudio realizado por Shimizu *et al.* (2007) reportaron que cambios en los genes que codifican para la proteína N, P y M alteraron la virulencia de cepas no virulentas.

2.5. Reservorios del virus de la rabia.

Los reservorios y transmisores son aquellas especies capaces de mantener al virus circulando en la naturaleza sin la interacción de uno o más especies hospedadoras adicionales (Gilbert, 2018). Los reservorios en el VRAB se clasifican de acuerdo a su ciclo epidemiológico, son el perro en el ciclo urbano, en el ciclo silvestre fauna terrestre como coyotes, mapaches, zorros, zorrillos entre otros, y los murciélagos como fauna silvestre aérea (Gilbert, 2018, OMSA, 2026). Si bien, algunas regiones de diferentes países han sido consideradas oficialmente libres de rabia, esto solo se refiere a la transmisión del VRAB por perros o carnívoros silvestres, sin embargo, esta consideración excluye a los murciélagos (OMS, 2019).

A nivel mundial, los reservorios del virus pertenecen a mamíferos del orden *Carnivora* y *Chiroptera*. Con respecto a los carnívoros la mayor diversidad de reservorios se encuentra en el suborden Caniformia, incluyendo especies de la familia *Canidae*, *Mephitidae*, *Mustelidae* y *Procyonidae*; mientras que los reservorios feliformes incluyen especies de la

familia *Herpestidae* (Scott *et al.*, 2013). Los carnívoros domésticos corresponden al principal reservorio de la enfermedad principalmente en países de África y Asia, donde el 99% de los casos de rabia en humanos es a causa de mordedura de perros infectados (OMSA, 2026).

Por su parte en América, existe una gran cantidad de reservorios tanto carnívoros como murciélagos (Gilbert, 2018). La circulación del virus en caninos domésticos ha sido eliminada en Norteamérica (Velasco-Villa *et al.*, 2017). Sin embargo, los saltos antigénicos de perros a reservorios silvestre han permitido el establecimiento para la circulación del linaje Cosmopolita asociado a diferentes especies carnívoras en diferentes zonas geográficas como: *Spilogale putorius* en Baja California Sur, México (variante zorrillo), *Urocyon cinereoargenteus* en Texas y Arizona (variante de zorro gris), *Mephitis mephitis* en California, Sinaloa/Durango/Sonora, México (variante zorrillo), entre otros como coyotes y mangostas. Así como, la circulación del linaje Ártico asociado a reservorios de zorros árticos y zorros rojos en Canadá, también, resultado de saltos antigénicos (Johnston y Beauregard, 1969). En Estados Unidos los mapaches son responsables de infecciones a animales domésticos y ganado (Wallace *et al.*, 2014), así como, de los altos niveles de exposición a seres humanos (Christian *et al.*, 2009). Por otro lado, el linaje Cosmopolita del VRAB circulante en caninos domésticos en la región de Centro y Suramérica se encuentra restringido a áreas en países como Perú, Brasil, Bolivia, Colombia y Venezuela (Velasco-Villa *et al.*, 2017). El murciélago vampiro común (*D. rotundus*), es el principal reservorio del VRAB en América Latina (Bárcenas-Reyes *et al.*, 2015), presentando una distribución geográfica desde el norte de México hasta Chile y el norte de Argentina (Reid, 1997). No obstante, en Suramérica se reconoce la circulación de otros linajes asociados a reservorios murciélagos, por ejemplo, murciélagos del género *Histiotus*, *Lasiurus*, *Myotis*, etcétera (Oliveira *et al.*, 2010; Condori-Condori *et al.*, 2013).

En México, *D. rotundus* es el principal reservorio y transmisor del VRAB para diferentes especies de ganado (Ortega-Sánchez, 2022). Este murciélago se ha registrado en 24 estados de la República Mexicana y espacialmente se distribuye por la zona del Pacífico desde el centro de Sonora, hasta Chiapas y por la costa del Golfo de México desde Nuevo León hasta Yucatán, abarcando los estados del centro (Sánchez-Cordero *et al.*, 2020).

Además del *D. rotundus*, se han identificado otros reservorios quirópteros como *Tadarida brasiliensis* y *Lasiurus cinereus* y en relación con los reservorios carnívoros identificados en nuestro país se describe la presencia de coyotes, zorrillos y zorros, los cuales presentan su propia variante antigénica asociada a su especie y/o ubicación geográfica (Velasco, 2014).

2.6. Ciclo de replicación del virus de la rabia.

El ciclo viral (Figura 4) es citoplásmico, inicia con la unión a los receptores de las células del hospedero y es ingresado vía endocitosis. El medio ácido del endosoma, induce cambios conformacionales de la glicoproteína viral que media la fusión de la envoltura viral con la membrana celular, posteriormente se libera el complejo RNP en el citoplasma de la célula y este constituye un molde para la transcripción del ARN mensajero (ARNm) de las cinco proteínas virales y en la replicación para generar una cadena de ARN antígenómico, la cual es la molécula precursora para la generación de genomas de ARN en sentido negativo (Albertini *et al.*, 2011). El proceso de transcripción del virus de la rabia inicia una vez que el RNP es liberado en el citoplasma, donde las proteínas P y L orquestan la replicación y transcripción, uniéndose al sitio de unión de la polimerasa en el extremo 3' del genoma. La polimerasa transcribe todo el genoma discontinuamente, reconociendo las señales tanto de inicio como de paro en cada secuencia que codifica a una proteína estructural, en este sentido cada que encuentra una señal de parada, la polimerasa se disocia para evadir las regiones intergénicas y se vuelve a asociar al leer una señal de inicio. Como resultado de este proceso se genera un ARN líder corto, seguido de cinco especies de ARNm virales, en donde la proteína L realiza las modificaciones en los extremos (5'-CAP y 3'-poliA del ARNm), esta secuencia es traducida por la maquinaria celular del hospedero (Nikolic *et al.*, 2017; Banyard y Tordo, 2018).

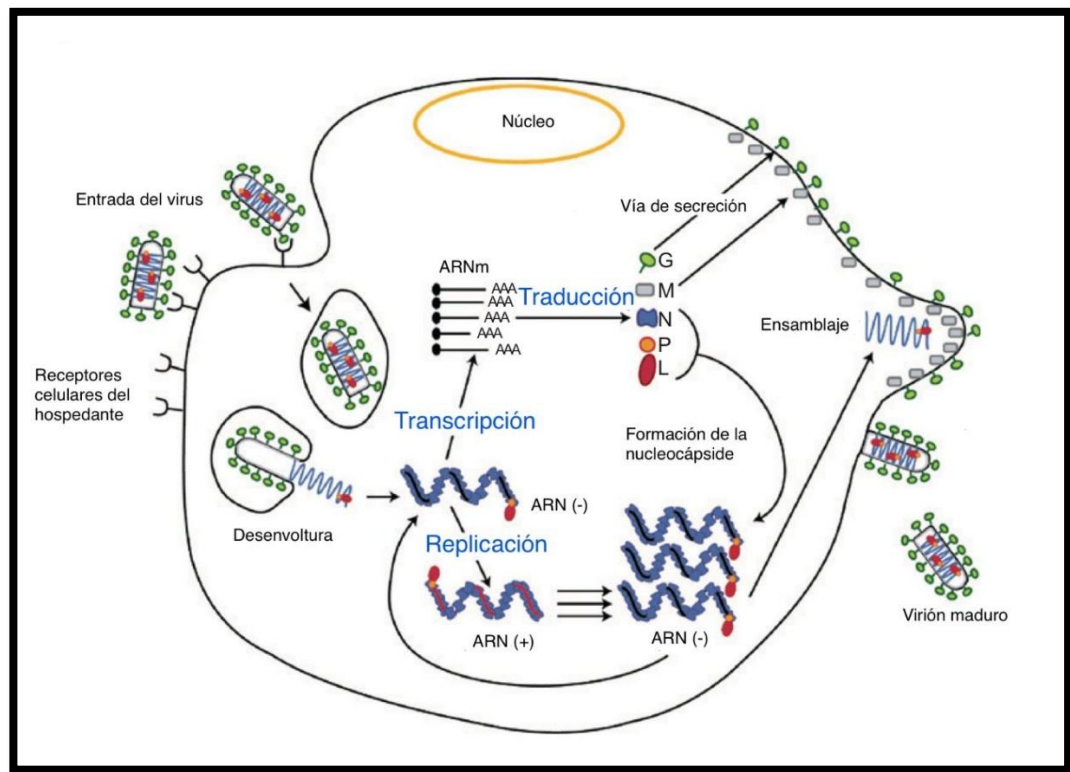


Figura 4. Ciclo viral de los *Lyssavirus*. Modificado de Albertini *et al.* (2011).

Los procesos de replicación y ensamblaje descritos previamente, tiene lugar en “fábricas virales”, las cuales son compartimentos intracelulares especializados, que se forman durante la replicación viral; en el caso de los *Lyssavirus* estas fábricas se denominan corpúsculos de Negri (CN). Los CN son cuerpos de inclusión citoplasmática, esféricos que se fusionan para formar estructuras de mayor tamaño localizados en células nerviosas infectadas con el virus, en donde se lleva a cabo la síntesis de los ARN virales y son resultado de la coexpresión de las proteínas N y P (Lahaye *et al.*, 2009; Nikolic *et al.*, 2017).

2.7. Patogenia.

La patogenia inicia con la penetración del VRAB proveniente de la saliva de un animal infectado, dicha transmisión puede establecerse por mordedura, heridas o superficies mucosas en contacto directo con el material de infección (saliva, líquido cefalorraquídeo o tejido nervioso) (Jackson, 2010; Fooks *et al.*, 2014). Esta enfermedad consta de dos fases i) fase prodrómica y ii) fase neurológica (OIRSA, 2021).

La fase prodrómica abarca desde el momento de la penetración del virus a las células del huésped, a nivel molecular, el VRAB se une a los receptores localizados en el sitio de mordedura (gangliósidos, fosfolípidos, glúcidos, nicotínicos de acetilcolina, moléculas de adhesión celular neuronal o CD56, receptor de neurotrofina p75, entre otros). Posteriormente es internalizado mediante adsorción por endocitosis mediada por clatrina y transportado a través de vesículas que se liberan en el cuerpo de células neuronales para llevar a cabo los procesos de replicación y transcripción viral (Fisher *et al.*, 2018). Después de cruzar de la placa neuromuscular a los nervios periféricos, se propaga a través del transporte axonal retrógrado que permiten su llegada al SNC y en la etapa final migra de forma anterógrada a otros órganos, incluyendo las glándulas salivales. La fase neurológica tiene lugar una vez que el virus llega al encéfalo, en donde provocará una serie de signos patológicos sistémicos asociados principalmente a afectación neurológica (Banyard y Tordo, 2018; Buenrostro *et al.*, 2019; OIRSA, 2021).

El cuadro clínico de la rabia es muy inespecífico y la sinología presentada puede clasificarse con base en las dos formas de presentación de la enfermedad: forma furiosa y forma paralítica (Figura 5).

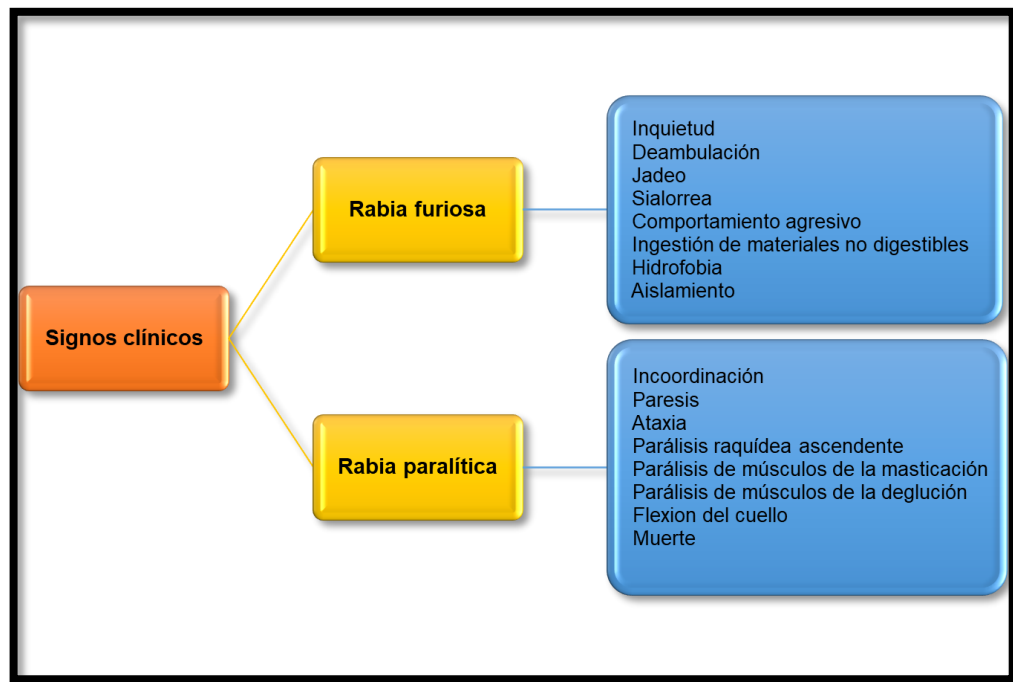


Figura 5. Sinología manifestada en las formas de presentación de la rabia. (CFSPH, 2009; OIRSA, 2021).

2.8. Diagnóstico.

En México, como en otros países, la prueba de oro para el diagnóstico de la enfermedad es la inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales contra la proteína de la nucleocápside viral conjugados con isotiocianato de fluoresceína (IFD) (OMSA, 2023) y es realizada *post mortem*, a partir de tejido cerebral proveniente de un humano o animal sospechoso a rabia (Bingham y Van der Merw, 2002). Esta prueba está a cargo de los laboratorios oficiales y autorizados en materia zoosanitaria (OMSA, 2023). La IFD ha demostrado tener una alta especificidad (98.8%-95% CI: 96.9–99.6%) pero menor sensibilidad (85.4%; 95% CI: 80.2–89.7%) debido, muy posiblemente, a desigualdades en la presencia del antígeno viral en el tejido cerebral y a la calidad de la muestra (Lodha *et al.*, 2023). Otro método de diagnóstico es por aislamiento viral por pruebas de inoculación en ratones o bien cultivo celular, las cuales muestran alta especificidad, desafortunadamente se han visto limitadas por los tiempos largos de respuesta y consideraciones éticas. También los ensayos inmunológicos basados en pruebas de ELISA han mostrado ser útiles con una sensibilidad entre el 70% y 95% (Lodha *et al.*, 2023). Diferentes estudios han demostrado

que las técnicas de diagnóstico molecular, particularmente la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR), tienen una mayor sensibilidad, incluso en diferentes tipos de muestras como saliva, líquido cefalorraquídeo y biopsia de cuero cabelludo para el diagnóstico *ante mortem* a diferencia de la IFD que solo usa tejido cerebral y se realiza *post-mortem* (Wadhwa *et al.*, 2017; Lodha *et al.*, 2023).

2.8.1. Tipificación antigénica del virus de la rabia en México.

Una variante antigénica se refiere a una población clonal de virus que expresan de manera multifásica moléculas antigénicamente diferentes, pero funcionalmente conservadas, estas variaciones suelen ser resultado de las presiones selectivas de la respuesta inmunitaria del hospedero (Perkins-Balding y Karls, 2013).

La tipificación antigénica ha sido ampliamente utilizada para la caracterización y la vigilancia epidemiológica de los virus de la rabia en América Latina y el Caribe desde 1999 (OPS, 1999). La reactividad es determinada mediante el uso de anticuerpos monoclonales (AcMo) generalmente antirribonucleoproteína (AntiRNP), específicos para epítomos de la proteína N viral (OPS, 2000). Gracias al empleo de esta técnica se ha comprobado la variación genética del virus, la cual depende de la especie animal, así como, la procedencia geográfica del aislamiento (Schneider, 1982). Esto, a su vez, ayudó a caracterizar las cepas del VRAB permitiendo determinar las interrelaciones entre especies transmisoras y reservorios (Bracamonte y Plaza, 2000; Johnson *et al.*, 2004). Así como, la distribución geográfica de diferentes variantes antigénicas, la descripción de nuevas variantes y la identificación de variantes conocidas en nuevos hospederos. La obtención de este conocimiento ha sido indispensable para la vigilancia epidemiológica (OPS, 2000). La tipificación antigénica también ha sido empleada para la planeación de estrategias de prevención y control orientadas a la vacunación y a las jornadas de captura de murciélagos hematófagos (Hidalgo *et al.*, 2005).

En México las variantes antigénicas circulantes en reservorios silvestres identificadas por un panel reducido de AcMo, son: V3, V5 y V11 murciélago hematófago (*Desmodus rotundus*), V4 y V9 murciélago insectívoro (*Tadarida brasiliensis mexicana*), V6 murciélago

de pelo cenizo (*Lasiurus cinereus*), V7 zorro gris (*Urocyon cinereoargenteus*), V8 zorrillo manchado del centro (*Spilogale putorius leucoparia*) y V10 zorrillo manchado de Baja California (*Spilogale putorius leucoparia*) (Velasco, 2014).

2.8.2. Tipificación genética del virus de la rabia en México.

La tipificación genética se ha llevado a cabo durante las últimas décadas a través de la secuenciación nucleotídica, una vez realizada la secuenciación nucleotídica se lleva a cabo el análisis filogenético, mediante el cual, se realiza la clasificación de las variantes del virus, a menudo con base en secuencias genéticas parciales de los genes estructurales (Matsumoto *et al.*, 2011).

La mayoría de los estudios genéticos para el monitoreo evolutivo y adaptativo en diferentes hospederos del VRAB en México, han sido realizados en secuencias parciales de los genes N, G y P mediante la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR) (Morales-Martínez *et al.*, 2006; Velasco-Villa *et al.*, 2006; Loza-Rubio *et al.*, 2012; Méndez-Ojeda *et al.*, 2018).

Con el paso del tiempo, la tendencia de estudio de más de un marcador genético ha ido en aumento y se ha observado que los patrones de agrupamiento que relacionan secuencias del virus con un reservorio específico o una distribución geográfica han sido consistentes, independientemente del marcador genético o del método para la reconstrucción de árboles filogenéticos (Tordo y Kouknetzoff, 1993; Nadin-Davis *et al.*, 1999). Estos hallazgos sugieren que la evolución del virus rábico está definida por una historia evolutiva compartida entre los genes estructurales que conforman su genoma (Velasco, 2014). Por lo tanto, el uso de secuencias parciales es limitante, ya que, se ha observado que no es posible determinar pequeños cambios relevantes para la evolución del virus, los cuales sí han sido observados a través del análisis de secuencias de genoma completo (SGC) (Matsumoto *et al.*, 2011; Nadin-Davis *et al.*, 2017).

2.8.3. Secuenciación de genoma completo del virus de la rabia.

En un inicio los estudios epidemiológicos moleculares se realizaban en regiones exónicas cortas de su genoma, aproximadamente <300 nucleótidos (Velasco, 2014). Sin embargo, gracias al avance de las tecnologías de amplificación y secuenciación, así como, el desarrollo de las técnicas de secuenciación de nueva generación, se han llevado a cabo análisis basados en datos genómicos, obtenidos de SGC.

Los datos genómicos, en conjunto con herramientas bioinformáticas para el análisis de regiones informativas dentro del genoma viral, han demostrado tener un alto potencial para dilucidar las relaciones estrechas de sus variantes con sus reservorios específicos, su distribución geográfica, así como, cambios en la evolución del virus (Velasco, 2014; Bárcenas-Reyes *et al.*, 2017). Además, la caracterización de los genomas del VRAB también ha permitido ilustrar la agrupación geográfica de los clados, la dinámica del movimiento viral por poblaciones humanas (Tohma *et al.*, 2014), la co-circulación de linajes (Reddy *et al.*, 2011) y la dinámica de meta poblaciones (Zinsstag *et al.*, 2017). Toda esta información es indispensable para la toma decisiones relacionadas con la vigilancia y monitoreo epidemiológico, así como, las medidas de prevención y control de la enfermedad (Bautista *et al.*, 2023).

Entre otras ventajas observadas tras la realización de estudios con datos de SGC, son que ofrece una mayor resolución filogenética, así como, una diferenciación mejorada en función de evaluación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) (Nadin-Davis *et al.*, 2017).

2.9. Prevención y control de la rabia en México.

En México la vigilancia epidemiológica de rabia humana, consta de la identificación, notificación, estudio clínico-epidemiológico, diagnóstico de laboratorio, seguimiento de caso y defunciones (SSA, 2023). Las metodologías y procedimientos específicos se encuentran descritas en el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de Rabia Humana 2025 basado en la NOM-017-SSA-2012, para la vigilancia epidemiológica y la NOM-011-SSA2-2011, para la prevención y control de la rabia humana en los perros y gatos.

Además de la vigilancia epidemiológica, una de las principales estrategias para el control, prevención y erradicación de las enfermedades infecciosas, es la vacunación (Loza, 2022). La vacunación representa una de las herramientas biológicas más efectivas para el control de la rabia, sin embargo, también representa una estrategia profiláctica bastante costosa, lo que ha dificultado su acceso a poblaciones humanas en regiones con escasos recursos en sus sistemas de salud (Hernández-Ávila *et al.*, 2020). En el mundo, se reportan 59,000 muertes humanas cada año a causa del VRAB y el 99% de estas muertes son atribuidas a mordedura de perro. Por lo tanto, se ha optado por llevar a cabo campañas de vacunación masiva y recurrente en caninos, ya que este método es costo-efectivo y factible para reducir la incidencia de rabia en humanos (Brunker y Mollentze, 2018).

En México, las campañas de vacunación masiva se priorizan en los animales domésticos como el perro y el gato, pero no así en el ganado bovino y otras especies ganaderas. Las vacunas antirrábicas empleadas en estas campañas deben ser aquellas elaboradas con virus activo modificado o inactivado (DOF, 2011). Ciertamente, México es uno de los países que más recurso designa para la vacunación canina, por ejemplo, en el periodo de 2009 a 2017 se aplicaron 158.9 millones de dosis de vacuna antirrábica canina y felina por un monto de compra aproximado de 1,915 MDP. Históricamente en el país mexicano, la vacunación masiva y gratuita para perros y gatos inició en 1990 con programas anuales denominados “Semana Nacional de Vacunación Antirrábica Canina y Felina” a cargo de la Secretaría de Salud y fue gracias a esta estrategia que no ha habido registros de

rabia humana transmitida por mordedura de perro desde el año 2005 (Hernández-Ávila *et al.*, 2020). En 2019, derivado de los esfuerzos de vacunación masiva a perros y gatos, México fue declarado libre de casos de rabia en humanos transmitida por perros por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (OMS, 2019). Sin embargo, el virus aún circula en el ciclo silvestre, en donde el *D. rotundus* es el principal transmisor de la enfermedad, principalmente al ganado, causando la rabia paralítica en bovinos y otras especies ganaderas (Ortega-Sánchez *et al.*, 2022).

2.9.1. Prevención y control de la RPB en México.

Las estrategias de vigilancia epidemiológica para el control de la RPB en México, están a cargo de la Campaña Nacional para la Prevención y Control de la Rabia en Bovinos y Especies Ganaderas de la dirección de campañas zoonosanitarias del SENASICA, son reguladas por la NOM-067-ZOO-2007 y están orientadas a:

- a) Control de poblaciones del murciélago hematófago mediante la captura de vampiros en zonas de alta incidencia de mordeduras y reportes de casos de rabia en bovinos u otras especies ganaderas.
- b) Vacunación al ganado en regiones donde la enfermedad es endémica, además de las zonas geográficas que tienen un mayor número de casos de RPB confirmados por laboratorio.

La vacunación del ganado contra la rabia es fundamental para prevenir y controlar la enfermedad. En México la NOM-067-ZOO-2007 tiene el principal objetivo de establecer las especificaciones zoonosanitarias, criterios, estrategias y técnicas operativas para diagnosticar, prevenir y controlar la rabia transmitida por vampiros del género *D. rotundus* a las especies ganaderas en riesgo (DOF, 2011; SENASICA, 2022). Esto bajo la premisa de controlar la diseminación de la rabia en el ganado al momento de presentarse un brote. Sin embargo, en México como en otros países de América Latina la cobertura de vacunación para las especies ganaderas, tiende a ser baja (<5%) (Gudiño-Escandón *et al.*, 2025). Diferentes estudios refieren que la baja cobertura de vacunación antirrábica al ganado se debe a un alto costo al vacunar un gran número de animales, la rotación de rebaños a lo largo de los años, los

sistemas de producción y la baja percepción de la rabia entre los agricultores (Gudiño-Escandón *et al.*, 2025).

La NOM-067-ZOO-2007 también estipula y regula los requisitos mínimos para las vacunas contra la rabia aplicables al ganado. Dichos biológicos pueden ser de virus activo modificado y/o de virus inactivado. Entre estos requisitos, se especifica que las vacunas antirrábicas deben tener un título igual o mayor a 1.0 Unidades Internacionales de protección para ser aprobadas, es así que, bajo esta normativa, en México existen dieciocho vacunas autorizadas para uso en especies ganaderas, provenientes de cinco cepas vacunales distintas (Cuadro 4). Dentro de esta norma también se describe el esquema de vacunación para bovinos y especies ganaderas, el cual indica que, en animales menores del año, la vacunación se debe realizar a partir del mes de edad con aplicación de refuerzos a los tres y seis meses con revacunación anual. Para el caso de animales mayores a un año de edad, la vacunación se llevará a cabo cuando las acciones de Campaña se encuentren en la zona y en ambos casos, deberá realizarse en zonas endémicas de la enfermedad (DOF, 2011).

Cuadro 4. Vacunas antirrábicas autorizadas para uso en ganado en México.

Cepa	Tipo de vacuna	No. de vacunas autorizadas
SAD	Virus activo modificado	6
Acatlán V-319	Virus activo modificado	7
Pasteur	Virus inactivado	2
ERA	Virus activo modificado	2
RV332	Virus activo modificado	1

Fuente: SENASICA-SADER, 2019.

2.9.1.1. Cepas vacunales ERA y SAD.

Las cepas SAD y ERA corresponden a cepas utilizadas alrededor del mundo para la elaboración de vacunas antirrábicas en animales domésticos de virus vivo modificado, así como, su uso para la elaboración de vacunas orales en fauna silvestre las cuales pueden ser de tipo recombinante o virus vivo modificado (Geue *et al.*, 2008), es importante mencionar que las vacunas antirrábicas todavía provienen de aislamientos virales obtenidos entre 50 y 100 años atrás (Natesan *et al.*, 2023). Las vacunas elaboradas a base de virus vivo modificado o atenuado son capaces de inducir inmunidad de manera eficiente alrededor del sitio de inoculación, también a diferencia de las vacunas de virus inactivado, una sola dosis es capaz de inducir anticuerpos neutralizantes (Yang *et al.*, 2014), además, este tipo de vacunas pueden ser utilizadas para la vacunación oral (Müller *et al.*, 2015).

La cepa SAD fue aislada en 1935 del encéfalo de un perro rabioso en Alabama, Estados Unidos de América, de ahí su nombre por sus siglas en inglés *Street Alabama Dufferin* y una vez aislada fue propagada exclusivamente en encéfalo de ratón (Fenje, 1960). Por su parte, la cepa *Evelyn Rokitniki Abelseth* (ERA) surge en Canadá en 1964 y esta se deriva del aislado original de la cepa SAD después de diversos pases y propagación en varias líneas celulares, tiene como principal objetivo principal la inmunización en cánidos, pero sobre todo en ganado, principalmente en bovinos y ovinos (Abelseth, 1964). En la actualidad, ambas cepas continúan siendo usadas para la vacunación tanto de animales de compañía como ganado (Datos Abiertos México, 2025) y a pesar de la amplia validación del desempeño de las vacunas elaboradas a base de estas cepas, el monitoreo de su desempeño frente a las cepas de campo circulantes en los territorios es fundamental, ya que, al ser vacunas de virus vivo modificado pueden llegar a presentar desventajas en su seguridad como lo han sido los reportes de casos de rabia en perros y gatos que fueron inmunizados y presentaron rabia a causa de reversión de patogenicidad por patogenicidad residual en las vacunas inoculadas (Whetstone *et al.*, 1984).

Molecularmente, estas cepas presentan mutaciones en residuos específicos principalmente de la G-VRAB. Por ejemplo, la mutación de Arg/Glu en el residuo 333, ha

sido ampliamente empleada para eliminar la patogenicidad residual en estas cepas vacunales (Yang *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2022); en este mismo residuo se ha observado que la mutación por Leu le confiere mayor estabilidad que Glu disminuyendo la probabilidad de adquirir mutaciones patogénicas como Arg333 o Lys333 (Ito *et al.*, 2021). Sin embargo, se ha reportado que en cepas vacunales con Leu/Glu333, también en la glicoproteína, ante la presencia de una mutación de Asn194Lys le vuelve a conferir a la cepa atenuada la letalidad (Faber *et al.*, 2005).

2.10. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs).

Un polimorfismo es la diferencia presente en las secuencias genómicas de dos individuos seleccionados al azar, es la forma más común de la variación de los genomas y consiste en la sustitución de un solo nucleótido por otro, por ello, a este cambio se le conoce como “polimorfismo de un solo nucleótido” (SNP) por sus siglas en inglés *Single Nucleotide Polymorphism* (Shastry, 2009). Los SNPs requieren una frecuencia mínima del 1% dentro de las poblaciones (NCI, s.f.). Suelen ser bialélicos y se utilizan ampliamente para estudiar las diferencias genéticas entre poblaciones e individuos (Ahmad *et al.*, 2018). Estas variaciones genéticas son consideradas como los biomarcadores más útiles para el diagnóstico de enfermedades debido a su frecuencia (Srinivasan *et al.*, 2016), y se ha observado que también presentan una gran influencia en la respuesta inmunitaria frente a patógenos, por lo tanto, pueden influir en la velocidad de progresión de las enfermedades (Skevaki *et al.*, 2015).

Los SNPs pueden clasificarse de acuerdo a su ubicación en el genoma o de acuerdo a su efecto a nivel de aminoácidos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Clasificación de SNPs.

Clasificación	Nombre	Descripción
Por su ubicación en el genoma	SNP codificante	Mutación localizada en una región codificante del genoma
	SNP no codificante	Mutación localizada en una región no codificante del genoma
Por su efecto a nivel de aminoácidos	SNP sinónimo	Mutación puntual que codifica para el mismo aminoácido
	SNP no sinónimo	Mutación puntual que codifica para un aminoácido diferente

Fuente: Ramírez-Bello *et al.*, 2013.

2.10.1. SNPs en el virus de la rabia.

Existen pocos estudios del VRAB enfocados en el análisis de SNPs, la distribución de estos, sigue siendo en gran medida desconocida, lo que realza la necesidad de realizar análisis más exhaustivos de genoma completo (Kumar *et al.*, 2024).

Nadin-Davis *et al.* (2017) realizaron un estudio donde compararon la cantidad de SNPs en secuencias genéticas parciales y SGC del VRAB aisladas de mapaches en Ontario, Canadá; reportaron una mayor proporción de SNPs exhibido en las SGG con un rango de 0-34 SNPS, en contraste con las secuencias parciales que algunas no presentaron SNPS y otras presentaron un rango de 0-3. Kumar *et al.* (2024) identificaron y caracterizaron la presencia de variantes nucleotídicas en 778 SGC del VRAB pertenecientes a 8 clados (África-2, África-3, Ártico, Asiático, Murciélagos, Cosmopolita, India y RAC-SK) aislados de 7 especies hospederas diferentes (perro, gato, bovino, cabra, caballos, humano y ovino), estas variantes fueron categorizadas en seis clases: SNPs- silenciosos SNPs, SNPs-paro, extragénica, inserción-marco de lectura y delección-marco de lectura, al obtener resultados observaron que la categoría de SNPs-silencioso es la clase de variabilidad nucleotídica con mayor prevalencia (70-82%) en los clados evaluados, mientras que la clase SNPs o sinónimos presenta un rango de del 11-15% y la clase extragénica del 6-15% entre los clados. En este estudio también se categorizaron mutaciones de alta frecuencia y presencia constante en más de un huésped, que permitieron identificar SNPs distintivos que delimitaban fiablemente los clados caracterizadas como “mutaciones específicas de clado” (Cuadro 6).

Cuadro 6. Mutaciones específicas de clado del VRAB reportadas en Kumar *et al.*, 2024.

Gen	No. de mutaciones	Clado
N	1	África y Ártico
P	1	Ártico
	2	África-2
G	5	África
	2	Ártico
L	5	África-2
	4	Asiático

III. HIPÓTESIS

Existen diferencias genómicas a nivel de SNPs en secuencias de genoma completo del virus de la rabia de campo y el genoma de cepas vacunales ERA y SAD, las cuales tienen un efecto sobre la estructura tridimensional de la glicoproteína.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Caracterizar y comparar los SNPs de 22 SGC del VRAB aisladas en México y evaluar su efecto a nivel de la estructura terciaria en sitios antigénicos de la glicoproteína.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar el número de SNPs en 22 SGC del VRAB con el genoma de referencia de las cepas 3634DR, ERA y SAD.
- Clasificar los SNPs de las 22 SGC del VRAB por su ubicación en el genoma y su efecto funcional a nivel de aminoácidos.
- Predecir la estructura terciaria de la glicoproteína en SGC del VRAB que presenten SNPs en regiones antigénicas.
- Comparar estructuralmente los sitios antigénicos de la glicoproteína con presencia de SNP-NOSIN entre SGC del VRAB y las cepas vacunales ERA y SAD.

V. METODOLOGÍA

5.1. Obtención de los datos.

Este proyecto de investigación fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (FCN-UAQ), con clave 092FCN2024.

Para la obtención de las 22 SGC-VRAB aisladas en México (Cuadro 7), se consultaron dos bases de datos *GenBank* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) y *Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center* (<https://www.bv-brc.org/>). Se realizó un alineamiento global de búsqueda (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) con cuatro SGC del VRAB obtenidas de un estudio previo realizado por Bárcenas-Reyes *et al.* (2017) (No. 1, 2, 3, 4). Todas las secuencias tenían por lo menos un 95% de similitud entre ellas y fueron obtenidas en formato FASTA.

También fueron obtenidas del *GenBank*, tres secuencias de genoma completo utilizadas como cepas de referencia: la cepa 3634DR (Número de acceso: JQ685936.1) correspondiente a la cepa más antigua anotada para el VRAB aislada de *D. rotundus* en México y las cepas vacunales ERA y SAD (Número de acceso ERA: EF206707.1 SAD: EF206716.1).

Cuadro 7. Datos de las SGC-VRAB mexicanas con %identidad >95 y valor de E=0.0 con cuatro SGC obtenidas de ganado en Querétaro.

No.	SGC-VRAB	Acceso al <i>GenBank</i>	Tamaño (pb)	Año de obtención	Hospedero
1	0635CattleAcatlanHgo-Qro.Mex		11906	2014	Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>
2	328CattleColnQro.Mex		11902	2014	Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>
3	0987CattleE.MontesQroMex		12006	2014	Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>
4	4225CattleJalpanQroMex		12202	2013	Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>
5	CENASA-MX24-Rab130	PQ603086	11902	2024	<i>D. rotundus</i>
6	CENASA-MX24-Rab129	PQ603087	11978	2024	<i>D. rotundus</i>
7	CENASA-MX24-Rab113	PQ510120	11957	2024	<i>D. rotundus</i>
8	CENASA-MX23-Rab92	PQ379850	11958	2023	Murciélago hematófago
9	CENASA-MX23-Rab89	PQ379849	11875	2023	<i>D. rotundus</i>
10	CENASA-MX20-Rab51	PQ379844	11905	2020	Murciélago hematófago
11	CENASA-MX20-Rab48	PQ379842	11923	2020	Murciélago hematófago
12	CENASA-MX20-Rab47	PQ379841	11914	2020	Murciélago hematófago
13	CENASA-MX21-Rab45	PQ379839	11935	2021	Murciélago hematófago
14	CENASA-MX21-Rab44	PQ379838	11928	2021	Murciélago hematófago
15	CENASA-MX21-Rab43	PQ379837	11908	2021	Murciélago hematófago
16	CENASA-MX21-Rab42	PQ379836	11905	2021	<i>D. rotundus</i>
17	CENASA-MX21-Rab41	PQ379835	11904	2021	Murciélago hematófago
18	CENASA-MX22-Rab39	PQ379834	11902	2022	<i>D. rotundus</i>
19	CENASA-MX23-Rab38	PQ379833	11924	2023	<i>D. rotundus</i>
20	CENASA-MX23-Rab37	PQ379832	11904	2023	<i>D. rotundus</i>
21	CENASA-MX23-Rab35	PQ379830	11924	2023	Murciélago hematófago
22	CENASA-MX23-Rab26	PQ379829	11888	2023	<i>D. rotundus</i>

5.2. Identificación de SNPs.

Para identificar los SNPs de las 22 SGC-VRAB, se realizó un script en donde se utilizaron las secuencias en formato FASTA. En *Ubuntu 24.04.1 LTS (GNU/Linux 5.15.167.4-microsoft-standard-WSL2 x86_64)*, se indexaron los genomas de referencia (3634DR, ERA y SAD) y se realizó un ensamble de las lecturas con el paquete *bwa align* via *Burrows-Wheeler transformation* (v. 0.7.17 r-1188) (<https://bio-bwa.sourceforge.net/>). Una vez obtenido el ensamble de las 22 SGC-VRAB con cada uno de los genomas de referencia se realizó el llamado de SNPs con la herramienta *Samtools* (v.1.19.2) (<https://samtools.sourceforge.net/>), el flujo de trabajo se muestra en la Figura 6. Finalmente se obtuvieron tres ensambles contenidos en un archivo VCF (*Variant Call Format*), cada uno contenía los SNPs totales encontrados en las 22 SGC-VRAB con cada uno de los genomas de referencia (VCF-1: 22 SGC-VRAB vs genoma de referencia 3634DR, VCF-2: 22 SGC-VRAB vs genoma de referencia ERA y VCF-3: 22 SGC-VRAB vs genoma de referencia SAD).

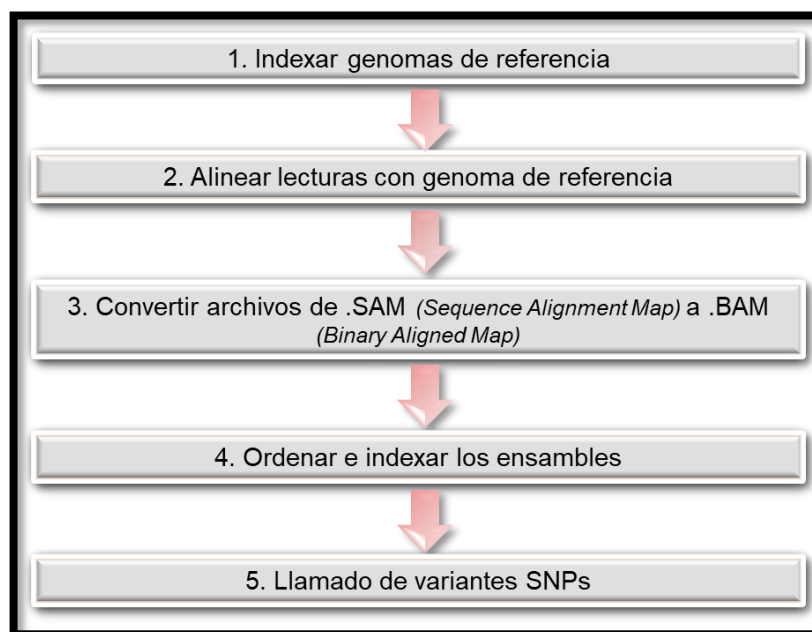


Figura 6. Diagrama de flujo para llamar a las variantes (SNPs).

5.3. Clasificación de SNPs.

Para clasificar los SNPs de las secuencias analizadas de acuerdo con su ubicación dentro del genoma y su efecto funcional a nivel de aminoácidos, se empleó un script en *RStudio* (v.4.5.1). Los SNPs identificados se clasificaron en:

- **Por su ubicación genómica:** SNP codificante (SNP-COD) y SNP no codificante (SNP-NOCOD).
- **Por su efecto funcional a nivel de aminoácidos:** SNP sinónimo (SNP-SIN) y SNP no sinónimo (SNP-NOSIN).

5.3.1. Clasificación de SNPs por su ubicación genómica.

Para clasificar los SNPs de acuerdo con su ubicación genómica se utilizó la paquetería *vcfR* (v. 1.15.0) de *RStudio* (v. 4.5.1), donde se cargaron los ensambles VCF-1, VCF-2, VCF-3 y un archivo GFF3 (*General Feature Format 3*) por cada genoma de referencia de los ensambles. Primero se anotaron las variantes con base en las columnas del nucleótido de la cepa de referencia (REF) y la variante nucleotídica alterna (ALT) de los archivos VCF y se clasificaron por tipo de variante en: SNP, inserción y delección. Posteriormente se leyó el GFF3 para delimitar y hacer coincidir las SGC-VRAB con las regiones genéticas descritas en el archivo para anotar la cantidad total del SNP-COD por cada uno de los genes (3'-N-P-M-G-L-5') y SNP-NOCOD correspondiente a regiones intergénicas y no codificantes a lo largo del genoma.

5.3.2. Clasificación de SNPs por su efecto funcional a nivel de aminoácidos.

Para clasificar los SNPs por su efecto funcional a nivel de aminoácidos se utilizó *RStudio* (v. 4.5.1) y las siguientes paqueterías *BiocManager* (v. 3.2.1), *GenomeInfoDb* (v. 1.44.3), *GenomicRanges* (v. 1.60.0), *Rsamtools* (v. 2.24.0), *Biostrings* (v. 2.67.0) *rtracklayer* (v. 1.68.0), *VariantAnnotation* (v. 1.54.1), *dplyr* (v. 1.1.4), *readr* (v. 2.5.1) y *tidyr* (v. 1.3.1). Se cargaron los archivos FASTA y los GFF3 de los tres genomas de referencia (3634DR,

ERA y SAD), así como, los tres ensambles correspondientes a cada genoma de referencia (VCF-1, VCF-2 y VCF-3) con sus respectivos CSV (*Comma Separated Values*) que contienen una matriz de SNPs, la cual presenta una columna que clasifica cada SNP identificado en regiones codificantes en SNP-SIN o SNP-NOSIN. El flujo de trabajo se presenta en la Figura 7.

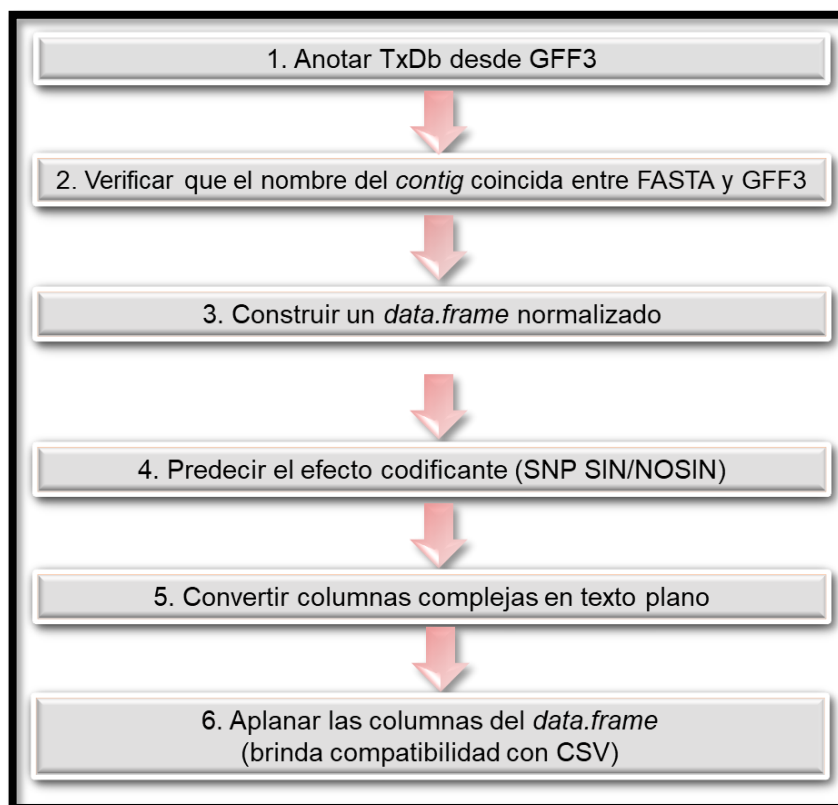


Figura 7. Diagrama de flujo para la anotación de SNPs sinónimos y no sinónimos.

Con base en el total de SNP clasificados en SNP-SIN y SNP-NOSIN se obtuvo la distribución porcentual para cada región genética. Posteriormente se realizó una estandarización para obtener la densidad de SNP-NOSIN entre genes por ensamble, a través del cálculo de la tasa de SNP por longitud de gen:

$$Tasa\ de\ SNP\ por\ longitud\ de\ gen = \frac{No.\ SNP\ NOSIN}{Long.\ gen} \times 1000$$

En dónde:

No. SNP**NOSIN**= Número de SNP-NOSIN identificado en cada gen.

Long. gen= Longitud en nucleótidos del gen.

Esta estandarización permitió comparar de manera proporcional la variabilidad genética entre genes con diferente longitud nucleotídica.

Por último, con base en los resultados obtenidos de la clasificación de SNPs por su efecto funcional a nivel de aminoácidos, se caracterizaron los SNPs identificados en sitios antigénicos de cada gen del VRAB reportados en la literatura (Shi *et al.*, 2022) y de estos se describieron únicamente los SNP-NOSIN, con los cuales se realizó un mapa genómico mostrando su distribución.

5.4. Predicción estructural de la glicoproteína del VRAB.

Para la predicción estructural de las glicoproteínas del VRAB (G-VRAB), se seleccionó un cristal como templatado. Para su selección se realizó un *blastp* (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>) de las secuencias de interés, las dos cepas de referencia vacunales: ERA (ABN11294.1), SAD (ABN11339.1) y una SGC-VRAB: CENASA-MX24-Rab113 (XKT22513.1). En el *blastp* se seleccionó como base de datos para el conjunto de búsqueda la opción de *Protein Data Bank* (PDB). Una vez realizada esta búsqueda se accedió al PDB y con los números de acceso de las secuencias con identidad >95% obtenidos del *blastp*, se evaluaron las estructuras con parámetros de resolución <3 Å y de acuerdo con los valores de las métricas de calidad para validación reportadas en el *wwPDB EM validation reports*, se seleccionó la estructura 8A1E como templatado para la predicción estructural de las G-VRAB. El cristal 81AE fue obtenido experimentalmente a través de microscopía electrónica y corresponde a la estructura trimérica de la glicoproteína del VRAB en estado de prefusión en complejo con dos anticuerpos protectores. No obstante, para fines de evaluación de mutaciones de SNP-NOSIN en sitios antigénicos, se utilizó *UCSF ChimeraX* (v. 1.11) para “limpiar” la estructura 81AE, seleccionando únicamente la cadena A de la glicoproteína.

Posteriormente se predijeron las estructuras de las G-VRAB a través de redes neuronales profundas en *ColabFold* v1.5.: *AlphaFold2* (<https://colab.research.google.com/github/sokrypton/ColabFold/blob/main/AlphaFold2.ipynb>). Aquí se ingresaron las secuencias de consulta correspondientes al ectodominio (aa 20-459) de la glicoproteína de ERA (G-ERA), SAD (G-SAD) y CENASA-MX24-Rab113 (G-CENASA-MX24-Rab113). Se ajustó la configuración únicamente para seleccionar el templatado (81AE), relajar cinco modelos y se ajustó dpi=300. Se obtuvieron cinco estructuras por secuencia en conjunto con sus respectivos gráficos para cobertura de la secuencia, *predicted Local Distance Difference Test* (pLDDT) y *Predicted Aligned Error* (PAE), los cuáles evalúan la fiabilidad de la predicción estructural realizada por *AlphaFold2*. Después se realizaron análisis de validación de las estructuras en *SAVE.6* (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) para cada uno de los modelos previamente obtenidos de *AlphaFold2* y con base en tres

parámetros de validación que evalúan la geometría de las estructuras (*ERRAT*, *VERIFY3D* y *PROCHECK*), se seleccionó el modelo que presentó mejores valores en estos parámetros. Por último, las estructuras se visualizaron en *UCSF ChimeraX* (v. 1.11) y para corroborar la precisión estructural con el templado, se superpusieron las estructuras a través de la herramienta *Matchmaker* y se determinó que una Desviación Media Cuadrática (RMSD por sus siglas en inglés *Root Mean Square Deviation*) $<1.8 \text{ \AA}$ era indicativo de una alta precisión entre las estructuras (Litso *et al.*, 2023).

5.5. Comparación estructural de sitios antigénicos con presencia de SNP-NOSIN.

Para comparar los péptidos antigénicos con presencia de SNP-NOSIN entre la glicoproteína de las cepas de referencia vacunales y la glicoproteína de la SGC-VRAB, se utilizó *UCSF ChimeraX* (v. 1.11). Se compararon los modelos G-ERA vs G-CENASA-MX24-Rab113 y G-SAD vs G-CENASA-MX24-Rab113 y se analizaron diferentes parámetros para evaluar las diferencias entre las estructuras:

1. Análisis de superposición estructural:

- a) *Distancia a nivel global*: se utilizó la herramienta “*Matchmaker*” que alineó las estructuras del ectodominio de las glicoproteínas, a partir de esta alineación se obtuvieron los valores estadísticos de RMSD. Este valor mide la desviación entre una estructura y otra utilizando una estructura como referencia tomando en cuenta los cuatro átomos principales del esqueleto peptídico, matemáticamente mide la distancia promedio entre átomos equivalentes. En este trabajo se utilizaron como referencia los modelos correspondientes a G-ERA y G-SAD y se consideró que un valor RMSD <1.8 Å era indicativo de una alta precisión entre las estructuras.
 - b) *Distancia a nivel regional y local*: se seleccionaron residuos adyacentes al sitio antigénico con presencia de SNP-NOSIN para cuantificar el RMSD entre las estructuras. Posteriormente se seleccionó a nivel residual los sitios donde se identificaron SNP-NOSIN y también se obtuvo el valor de *backbone* RMSD, tanto para G-ERA-G-CENASA-MX24-Rab113 y G-SAD-G-CENASA-MX24-Rab113. Para asegurar la confianza de los residuos con SNP-NOSIN, se obtuvieron sus valores específicos de pLDDT, a través de *b-factor*, en donde un valor >80 corresponde a un análisis confiable.
- #### 2. Análisis de exposición superficial:
- esta evaluación es crítica para sitios antigénicos, ya que, permite determinar el grado de accesibilidad al solvente por residuo, con base en la cuantificación de la accesibilidad a través de la

medición de Superficie Accesible al Solvente (SASA por sus siglas en inglés de *Solvent Accesible Surface Area*) en unidades físicas ($\text{\AA}^2$); para obtener esta medición se empleó la herramienta “Medir SASA” y se obtuvieron los valores de SASA para cada uno de los residuos de las estructuras de G-VRAB con presencia de SNP-NOSIN en sitio antigénico. Posteriormente se reportó la Accesibilidad Relativa al Solvente (RSA por sus siglas en inglés *Relative Solvent Accessibility*), la cual se calculó normalizando los valores de SASA previamente obtenidos con respecto a los valores teóricos máximos de Tien *et al.* (2013). El cálculo para la normalización de los valores de SASA a RSA se realizó a través de la fórmula:

$$RSA = SASA/SASAm_{ax}$$

En dónde:

SASA= valor de superficie accesible al solvente por residuo en la estructura.

SASAm_{ax}= valores teóricos máximos por residuo.

Con base en los valores de RSA se puede clasificar a los residuos como “expuestos” o “enterrados” (Pineda, 2021).

3. **Análisis de hidrofobicidad de la estructura:** se obtuvieron los valores de hidrofobicidad total de cada modelo de G-VRAB, así como, la hidrofobicidad del sitio antigénico IV tomando en cuenta que este sitio presentó SNP-NOSIN. Este análisis emplea la escala de Kyte y Doolittle (1982). La cual asigna valores numéricos a cada aminoácido; en dicha escala numérica los aminoácidos hidrofóbicos corresponden a valores positivos y los hidrofílicos, presentan valores negativos.
4. **Análisis de modificaciones químicas (puentes de hidrógeno):** para observar las alteraciones fisicoquímicas a nivel local, resultado del cambio de residuo en sitios con presencia de SNP-NOSIN, se evaluaron los puentes de hidrógeno con la herramienta “*Find H Bond*” con el fin de identificar nuevos puentes de hidrógeno, nuevas interacciones y/o cambios en la polaridad. Los puentes de hidrógeno pueden interactuar entre distintos

residuos, por lo tanto, son considerados como una fuerza motriz para la estabilización y flexibilidad de las estructuras terciarias de las proteínas (Bikadi *et al.*, 2007). Para ello se tomaron en cuenta los siguientes criterios geométricos: distancia de tolerancia= 0.5 Å y tolerancia de ángulo= 30. Únicamente se consideraron enlaces de hidrógeno estrictos a aquellas interacciones que cumplieron con los criterios geométricos, mientras que las interacciones adicionales identificadas fuera de los parámetros establecidos se analizaron como pseudoenlaces o posibles contactos estabilizadores.

VI. RESULTADOS

6.1. Identificación de SNPs.

Se obtuvieron tres ensambles en archivos VCF filtrados, para los cuales, se identificó el número total de SNPs a partir de las 22 SGC-VRAB con cada uno de los genomas de referencia. Para el ensamble VCF-1 se registraron 1,079 SNPs, para el VCF-2 1,973 SNPs y para el VCF-3, 2025 SNPs. Los SNPs identificados por cada SGC-VRAB se muestran en el Cuadro 8. Para el VCF-1 con genoma de referencia 3634DR la mayor presencia de SNPs fue de 433 en la SGC-VRAB No.7 CENASA-MX24-Rab113, para los ensambles con genomas de referencia correspondientes a las cepas vacunales (VCF-2 y VCF-3), la SGC-VRAB No.7 CENASA-MX24-Rab113 fue la de mayor cantidad numérica de SNPs, 1,742 y 1,716 para los ensambles con el uso de las cepas ERA y SAD como referencia.

Cuadro 8. SNPs identificados en SGC-VRAB de campo por genoma de referencia.

No.	SGC-VRAB	Acceso al GenBank	Hospedero	SNPs identificados por genoma de referencia		
				3634DR	ERA	SAD
1	0635CattleAcatlanHgo-Qro.Mex		Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>	118	1626	1633
2	328CattleColnQro.Mex		Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>	116	1627	1634
3	0987CattleE.MontesQroMex		Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>	102	1586	1594
4	4225CattleJalpanQroMex		Bovino asociado a <i>D. rotundus</i>	118	1653	1660
5	CENASA-MX24-Rab130	PQ603086	<i>D. rotundus</i>	136	1637	1646
6	CENASA-MX24-Rab129	PQ603087	<i>D. rotundus</i>	136	1637	1646
7	CENASA-MX24-Rab113	PQ510120	<i>D. rotundus</i>	433	1742	1716
8	CENASA-MX23-Rab92	PQ379850	Murciélago hematófago	137	1642	1649
9	CENASA-MX23-Rab89	PQ379849	<i>D. rotundus</i>	425	1739	1431
10	CENASA-MX20-Rab51	PQ379844	Murciélago hematófago	432	1705	1713
11	CENASA-MX20-Rab48	PQ379842	Murciélago hematófago	129	1637	1645
12	CENASA-MX20-Rab47	PQ379841	Murciélago hematófago	165	1648	1655
13	CENASA-MX21-Rab45	PQ379839	Murciélago hematófago	425	1737	1430
14	CENASA-MX21-Rab44	PQ379838	Murciélago hematófago	425	1737	1430
15	CENASA-MX21-Rab43	PQ379837	Murciélago hematófago	177	1615	1659
16	CENASA-MX21-Rab42	PQ379836	<i>D. rotundus</i>	110	1637	1644
17	CENASA-MX21-Rab41	PQ379835	Murciélago hematófago	123	1644	1651
18	CENASA-MX22-Rab39	PQ379834	<i>D. rotundus</i>	120	1633	1640
19	CENASA-MX23-Rab38	PQ379833	<i>D. rotundus</i>	135	1644	1652
20	CENASA-MX23-Rab37	PQ379832	<i>D. rotundus</i>	135	1646	1654
21	CENASA-MX23-Rab35	PQ379830	Murciélago hematófago	85	1708	1646
22	CENASA-MX23-Rab26	PQ379829	<i>D. rotundus</i>	141	1638	1647

6.2. Clasificación de SNPs.

La distribución numérica del total de SNPs de acuerdo a la región genómica se muestra en el Cuadro 9. Los ensambles VCF-2 y VCF3 presentan mayor cantidad de SNPs totales en comparación con el VCF-1. En relación a la distribución de los SNPs en las regiones genéticas (codificantes) y las regiones intergénicas (no codificantes); la región del gen L, que codifica para la ARN polimerasa, es la que presenta más SNPs para los tres ensambles, también se observa que los tres ensambles presentan una tendencia de distribución genómica similar (Figura 8), mostrando diferencias en:

- El VCF-1, con un orden de mayor a menor presencia de SNPs a lo largo del genoma fue: Gen L, Gen G, Intergénica, Gen N, Gen P y Gen M. En este ensamble, destaca la diferencia de SNPs en la región del Gen P en comparación con los dos ensambles vacunales.
- Los VCF-2 y VCF-3 comparten una distribución genómica de SNPs, con excepción del Gen M, el cual presenta mayor variabilidad en el VCF-2 con un orden de mayor a menor SNPs: Gen L, Gen N, Gen G, Gen M, Intergénica y Gen P. Mientras que, el VCF-3 se distribuye de mayor a menor SNPs en: Gen L, Gen N, Gen G, Intergénica, Gen M y Gen P.

Cuadro 9. SNPs identificados, filtrados y clasificados por región genómica.

Ensamble	Genoma de referencia	SNPs totales	Gen N*	Gen P*	Gen M*	Gen G*	Intergénica**	Gen L*
VCF-1	3634DR	1079	100	91	50	162	151	534
VCF-2	ERA	1973	239	25	120	227	73	1289
VCF-3	SAD	2025	260	26	53	235	77	1374
*Regiones codificantes. **Región no codificante.								

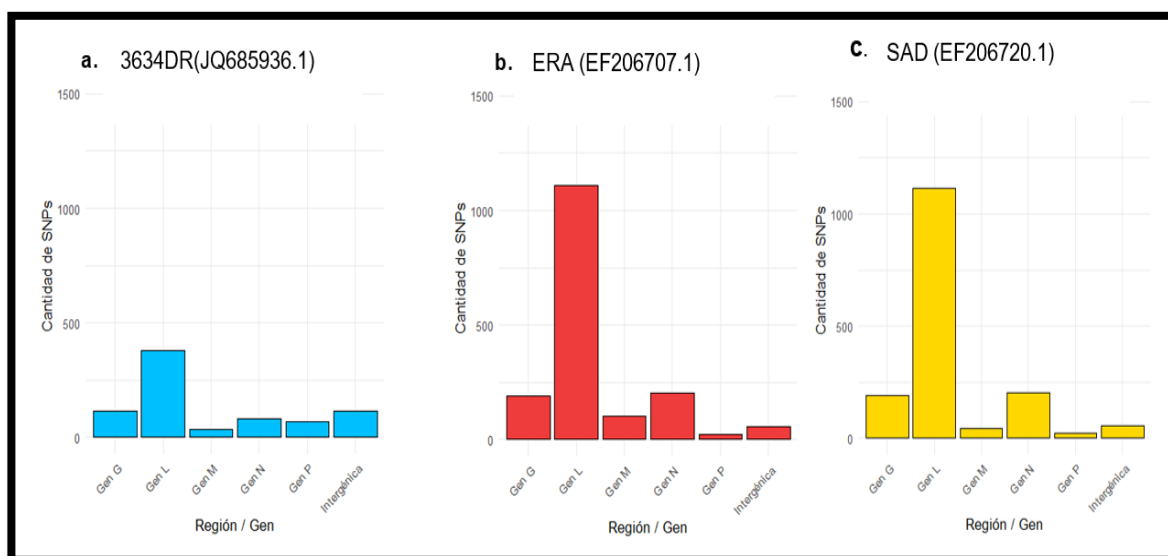


Figura 8. Distribución de SNPs por región genómica. **a.** Distribución con base en el genoma de referencia 3634DR, **b.** Distribución con base en el genoma de referencia de la cepa vacunal ERA, **c.** Distribución con base en el genoma de referencia a la cepa vacunal SAD.

En relación con los resultados obtenidos con base en la clasificación de SNPs por su efecto funcional a nivel de aminoácidos, se obtuvo la distribución de estas clases por ensamble y por cada una de las regiones codificantes del genoma del VRAB (Cuadro 10). Se identificó una mayor cantidad de SNP-SIN para las cinco regiones genéticas. El rango de distribución porcentual de SNP-SIN fue del 72.9% al 92.9%, mientras que, el rango de distribución porcentual de SNP-NOSIN fue del 7.1% al 27.1% (Figura 9), en donde también se observa la longitud de cada gen del VRAB en pares de bases (pb) y un gráfico de pastel que muestra la proporción de SNP-SIN y SNP-NOSIN por gen por ensamble.

Cuadro 10. SNPs identificados y clasificados por su efecto funcional a nivel de aminoácidos por ensamble por gen.

Ensamble	Genoma de referencia	SNP Gen N		SNP Gen P		SNP Gen M		SNP Gen G		SNP Gen L	
		SIN	NO SIN	SIN	NO SIN	SIN	NO SIN	SIN	NO SIN	SIN	NO SIN
VCF-1	3634DR	104	8	78	29	45	7	133	38	504	66
VCF-2	ERA	252	26	23	6	100	24	206	53	1253	188
VCF-3	SAD	254	26	22	6	43	12	197	52	1253	197

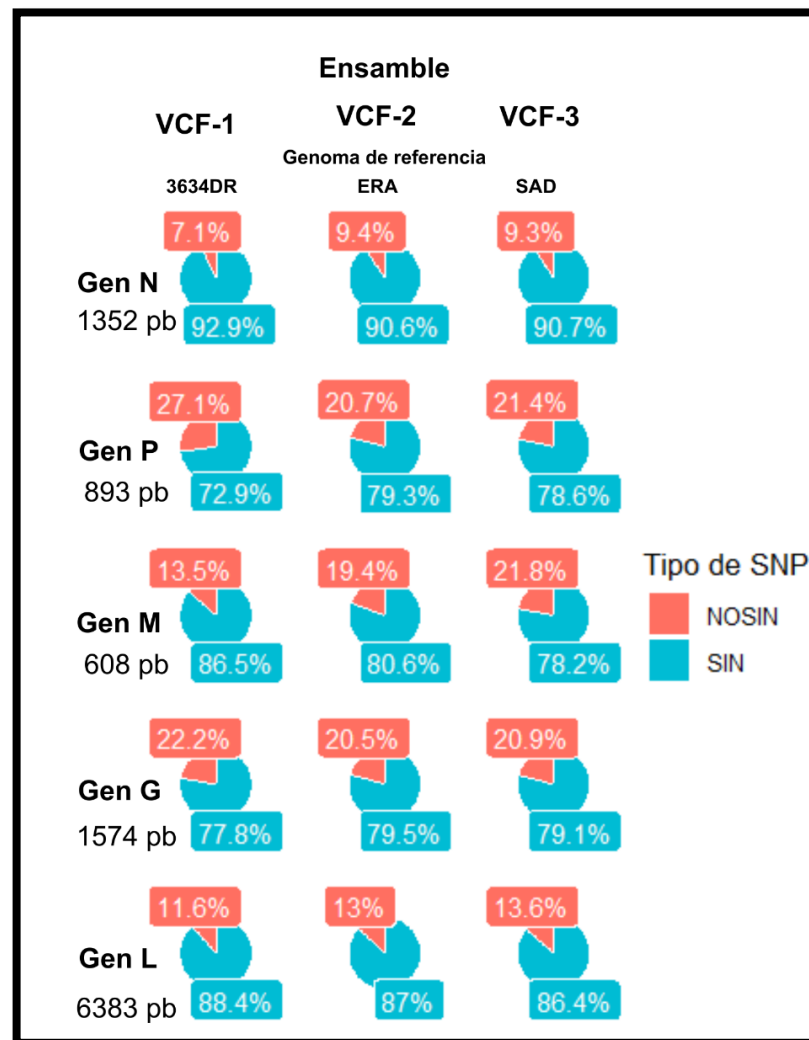


Figura 9. Distribución porcentual de SNP-SIN y SNP-NOSIN por gen por ensamble. Elaborado en *RStudio* (v. 4.5.1).

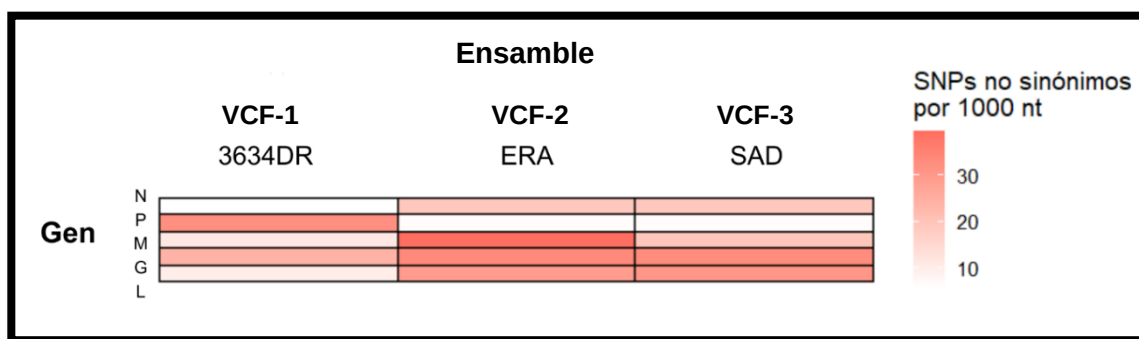


Figura 10. Densidad de SNPs no sinónimos entre genes por ensamble. Elaborado en *RStudio* (v. 4.5.1).

En la Figura 10 se observa que el VCF-1 (cepa de referencia 3634DR) presenta la mayor densidad de SNP-NOSIN en el gen P, mientras que, el VCF-2 (cepa de referencia ERA) corresponde al ensamble con mayor densidad de SNP-NOSIN en sus regiones genéticas sobre todo en el gen M, seguido de los genes G y L, lo mismo ocurre en estos dos últimos genes para el VCF-3 (cepa de referencia SAD).

Los SNPs identificados en sitios antigénicos de cada gen del VRAB se observan en el Cuadro 11, para ellos se describe el tipo de SNP-SIN o SON-NOSIN por ensamble de acuerdo con su genoma de referencia.

Cuadro 11. Número total de SNP-SIN y SNP-NOSIN identificados en sitios antigénicos del VRAB.

Gen	Sitio antigénico	Epítipo	Localización (aa)	Tipo SNPs	Sustitución nucleotídica (REF-ALT)	Sitio de sustitución (aa)	Sustitución aminoácido	3634DR	ERA	SAD
N	I	Lineal	358-367	SIN	C-T A-G T-C A-G G-A	359 361 362 364 367	Fen-Fen Arg-Arg Asp-Asp Lis-Lis Gln-Gln	+	+	+
	IV	Lineal	359-366, 375-383	SIN NOSIN SIN SIN SIN	G-A A-G A-C A-G	376 377 380 381	Lis-Lis Tre-Ala Ala-Ala Leu-Leu	- - - +	+	+
P		Lineal	262-266	SIN	G-A T-G	263 266	Leu-Leu Val-Val	+	-	-
M			25-30	SIN NOSIN SIN	A-G/T T-G C-T	26 26 30	Pro-Pro Leu-Pro Asp-Asp	+	-	-
	I	Lineal	226-231	SIN	C-T C-A A-G	226 227 229	Cis-Cis Gli-Gli Val-Val	+	+	+
	II	Conformacional	34-42 y 198-200	SIN	C-T G-C T-C C-T C-T	34 35 36 37 199	Ser-Ser Pro-Pro Ile-Ile Asp-Asp Pro-Pro	- - + - +	+	+
G	III	Conformacional	330-338	SIN	T-C A-G T-C C-T	330 332 334 335	Fen-Fen Lis-Lis Tir-Tir Tre-Tre	+	+	-
	IV	Lineal	261-264	NOSIN NOSIN	G-T G-T	261 262	Ala-Ser Met-Ile	- -	+	-
	a	Lineal	342-343	SIN	A-G	343	Glu-Glu	-	+	+
					G-A C-T A-C	1724	Val-Val Leu-Leu	- -	+	+
					T-C G-A	1725 1726	Arg-Arg Asn-Asn	- +	-	+
L					T-C C-T	1727	Arg-Arg Ser-Ser	- -	+	-
					T-C C-T	1727	Leu-Leu	-	-	+
					T-A	1728	Leu-Leu	-	+	-
					A-G	1728	Leu-Leu	-	-	+
-Ausencia de variante +Presencia de variante										

Se identificaron cuatro sustituciones no sinónimas en los sitios antigénicos (Cuadro 11), de las cuales, ninguna se presenta en el VCF-1, las cuatro se distribuyen en el VCF-2 y dos en el VCF-3. El VCF-2 y el VCF-3 comparten las mutaciones Tre377Ala (sitio antigénico IV nucleoproteína) y Met262Ile (sitio antigénico IV glicoproteína), adicionalmente el VCF-2 presenta Leu26Pro (sitio antigénico proteína matriz) y Ala261Ser (sitio antigénico IV glicoproteína). En la Figura 11 se presenta el mapa genómico indicando las sustituciones no sinónimas identificadas en los ensamblajes correspondientes a las cepas vacunales. Cabe destacar que todos los SNP-NOSIN caracterizados en los sitios antigénicos estuvieron presentes en las 22 SGC-VRAB utilizadas en este estudio.

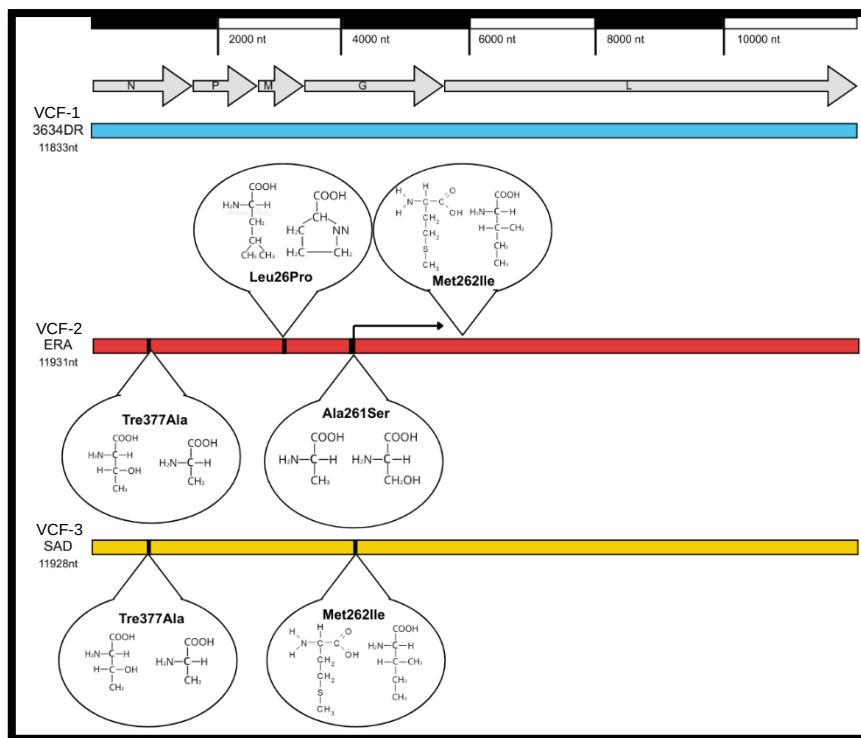


Figura 11. Distribución de mutaciones no sinónimas identificadas en sitios antigénicos del virus de la rabia por ensamble.

6.3. Predicción estructural de la glicoproteína del VRAB.

Una vez obtenidos los archivos que contenían los modelos predichos por *AlphaFold2*, se seleccionó el modelo *relaxed_rank002* para las tres G-RABV (Anexo 1) (Cuadro 12 y Figura 12). Los modelos de las estructuras secundarias se observan en la Figura 13, cada uno corresponde a un alineamiento estructural utilizando como referencia la estructura 81AE experimentalmente determinada. Para cada par de estructuras alineadas se estimaron los valores de RMSD del total de átomos: 81AE vs G-ERA (1.259 Å), 81AE vs G-SAD (1.285 Å) y 81AE vs G-CENASA-MX24-Rab113 (1.620 Å). Los tres valores, al ser >1.8 Å, indican una alta precisión estructural con el templado.

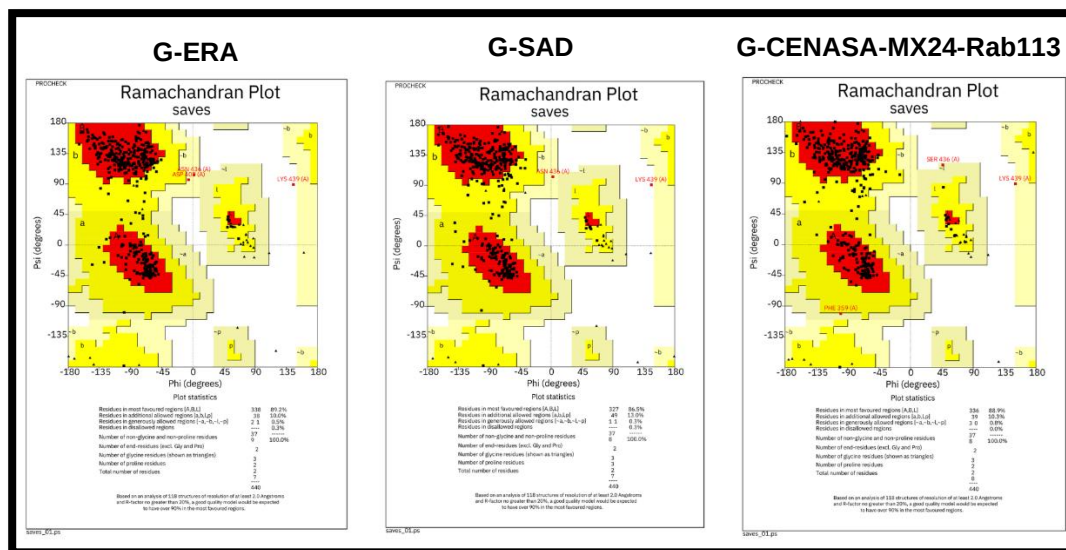


Figura 12. Mapas de Ramachandran obtenidos del parámetro *PROCHECK* en el análisis de *SAVE.6* correspondientes a las estructuras obtenidas de *AlphaFold2*. Elaborado en *SAVE.6*.

Cuadro 12. Puntajes de parámetros del análisis de calidad estructural en *SAVE.6*

Secuencia	<i>ERRAT</i>	<i>VERIFY3D</i>
G-ERA	91.0405	67.27
G-SAD	92.5926	67.50
G-CENASA-MX24-Rab113	96.1877	62.27

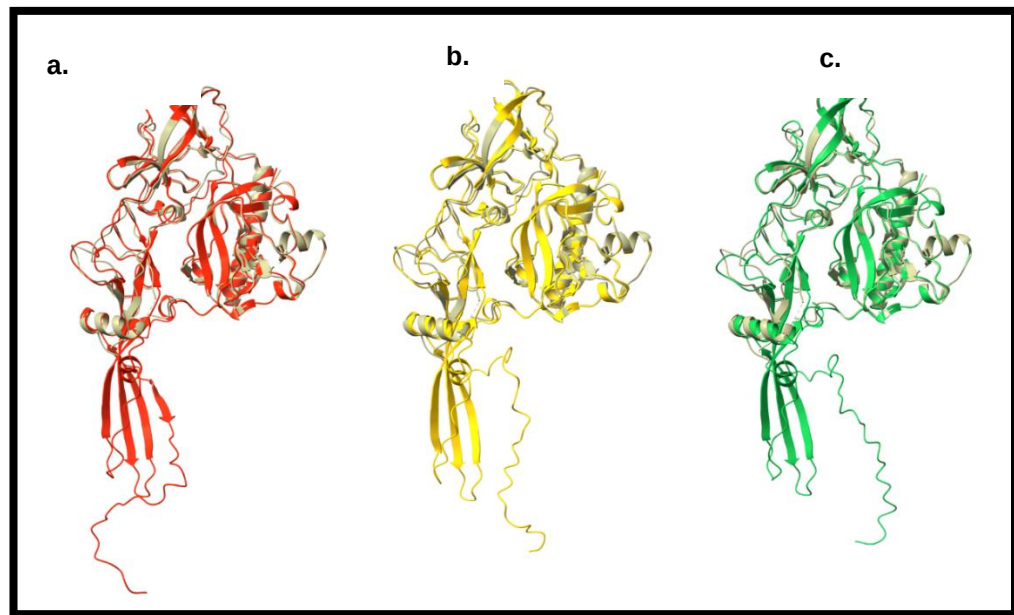


Figura 13. Alineamiento global entre estructura secundaria del ectodominio de la G-VRAB determinada experimentalmente (81AE) y modelos estructurales del ectodominio de G-VRAB derivado de *AlphaFold2*. **a.** Estructuras alineadas G-81AE (gris) vs G-ERA (rojo). **b.** Estructuras alineadas G -81AE (gris) vs G-SAD (amarillo). **c.** Estructuras alineadas G-81AE (gris) vs G-CENASA-MX24-Rab113 (verde).
Elaborado en *UCSF ChimeraX* (v. 1.11).

6.4. Comparación estructural entre las glicoproteínas y sitio antigénico IV con presencia de SNP-NOSIN.

6.4.1. Análisis de superposición estructural.

Al superponer G-ERA y G-SAD con G-CENASA-MX24-Rab113 para comparar y evaluar diferencias estructurales a nivel de distancia atómica, se obtuvieron los siguientes valores de RMSD para toda la estructura secundaria que compone el ectodominio, RMSD regional y *backbone* RMSD a nivel residual donde se identificaron SNP-NOSIN:

- a. G-ERA vs G-CENASA-MX24-Rab113: RMSD para 369/440 residuos alineados= 0.708 Å y para 440/440= 6.383 Å. La comparación estructural indica que ambas G-VRAB comparten una estructura terciaria casi idéntica en su esqueleto global, con variaciones restringidas a superficies flexibles. El RMSD regional entre estas dos estructuras, tomando en cuenta diez residuos adyacentes al sitio antigénico IV, fue de RMSD 255-265=0.532 Å y el valor de *backbone* RMSD a nivel residual de las mutaciones Ala261Ser= 0.803 Å (pLDDT-ERA= 89.75, pLDDT- CENASA-MX24-Rab113= 88.88) y Met262Ile= 0.430 Å (pLDDT-ERA= 89.31, pLDDT- CENASA-MX24-Rab113= 89.19) (Figura 14a). Los valores de RMSD obtenidos para cada caso indican una alta similitud estructural.
- b. G-SAD vs G-CENASA-MX24-Rab113: RMSD para 396/440 residuos alineados= 0.576 Å y para 440/440= 2.695 Å. La comparación estructural indica que ambas G-VRAB comparten una estructura terciaria casi idéntica en su esqueleto, con variaciones restringidas a superficies flexibles. El RMSD regional entre estas dos estructuras, tomando en cuenta diez residuos adyacentes al sitio antigénico IV, fue de RMSD 255-265=0.400 Å y el valor de *backbone* RMSD a nivel residual de las mutaciones Met262Ile= 1.725 Å (pLDDT-SAD= 89.94, pLDDT- CENASA-MX24-Rab113= 89.19) (Figura 14b). Los valores de RMSD obtenidos para cada caso indican una alta similitud estructural.

Los residuos 261 y 262 mostraron un alto grado de fiabilidad estructural (pLDDT), respaldando la interpretación estructural de las mutaciones Ala261Ser y Met262Ile en los modelos de G-VRAB.

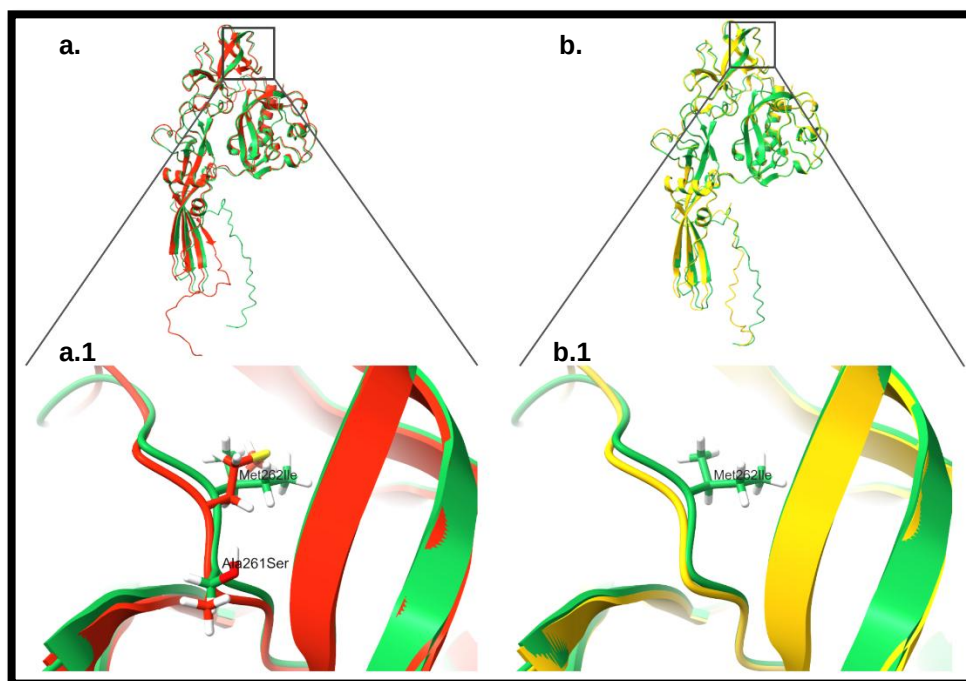


Figura 14. Superposición de estructuras de G-VRAB y sitios con SNP-NOSIN. **a.** Estructuras G-ERA y G-CENASA-MX24-Rab113 superpuestas. **a.1.** SNP- Ala261Ser, y SNP-Met262Ile. **b.** Estructuras G-SAD y G-CENASA-MX24-Rab113 superpuestas. **b.1.** SNP-Met262Ile. Elaborado en *UCSF ChimeraX* (v. 1.11).

6.4.2. Análisis de exposición superficial.

Al realizar la evaluación de exposición superficial con base en accesibilidad al solvente, enfocada en los residuos que componen el sitio antigénico IV, se obtuvieron los valores de SASA, así como, los valores de RSA de cada residuo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Valores de SASA y RSA para residuos del sitio antigénico IV en las G-VRAB.

G-VRAB	Residuo	SASA (Å ²)	SASAMax	RSA
G-ERA	Ala261	19.13	129.0	0.15
	Met262	11.54	224.0	0.05
	Gln263	172.63	225.0	0.77
	Thr264	36.68	172.0	0.21
G-SAD	Ser261	22.32	155.0	0.14
	Met262	8.17	224.0	0.04
	Gln263	155.25	225.0	0.70
	Thr264	29.56	172.0	0.17
G- CENASA-MX24-Rab113	Ser261	22.19	155.0	0.14
	Ile262	8.70	197.0	0.04
	Gln263	176.52	225.0	0.78
	Thr264	41.94	172.0	0.24
Los valores en negritas corresponden a residuos con SNP-NOSIN.				

El rango de RSA es de 0-1, siendo 0 un residuo completamente enterrado y 1 completamente expuesto. Por lo tanto, los residuos en las posiciones 261, 262 y 264 de las tres glicoproteínas con RSA <0.20 indican valores correspondientes a baja accesibilidad al solvente, lo que permite inferir que estos residuos se encuentran enterrados dentro de la estructura. Por otro lado, Gln263 presenta valores de RSA ≥ 0.70 en las tres estructuras indicando que este es el único residuo en el sitio antigénico IV de la G-VRAB con una alta exposición a la superficie y área accesible al solvente.

6.4.3. Análisis de hidrofobicidad.

En la Figura 15 se muestra una serie de imágenes que muestran la hidrofobicidad de superficie de las G-VRAB. La parte superior corresponde al ectodominio de las G-VRAB evaluadas en este trabajo. La colorimetría está dada con base en la escala de hidrofobicidad: el color azul corresponde a los residuos hidrofóbicos, el blanco a residuos con valor neutro y el anaranjado corresponde a residuos con valores hidrofílicos. Las tres estructuras muestran

un patrón de distribución similar de superficie hidrofóbica-neutra-hidrofílica. El recuadro rojo señalado en cada estructura, indica la región correspondiente al sitio antigénico IV en el ectodominio de las glicoproteínas y en la parte inferior de la Figura 15 se muestra esta región antigénica aumentada. Para este sitio en particular, G-ERA, G-SAD y G- CENASA-MX24-Rab113 se compone de residuos con características hidrofílicas-neutras sugiriendo que los residuos que componen esta región interactúan químicamente con moléculas de agua.

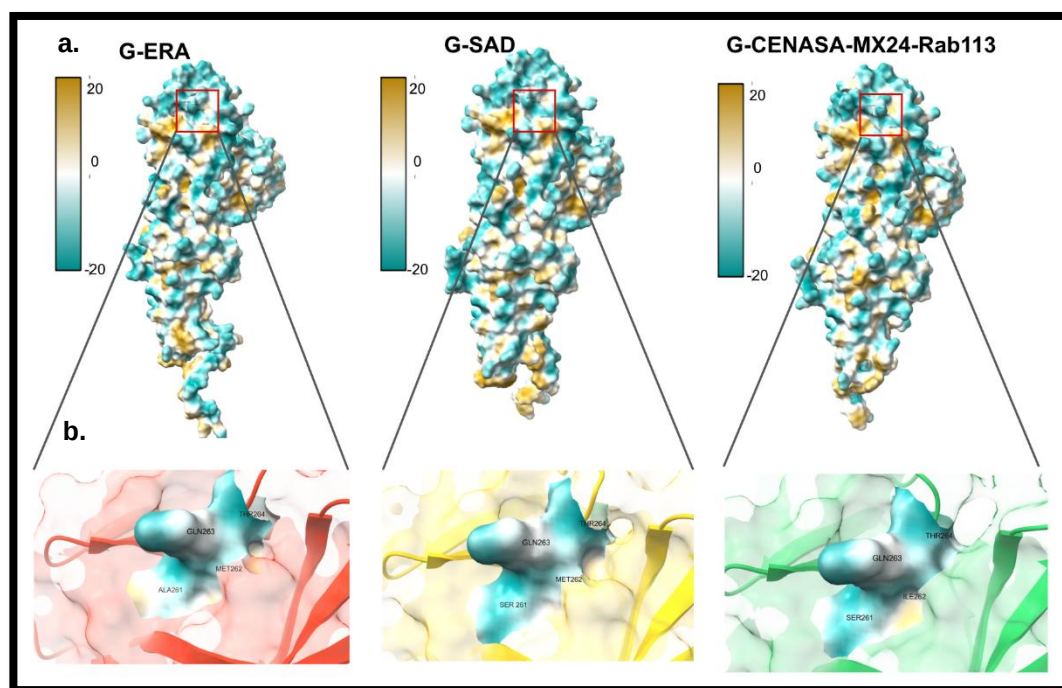


Figura 15. Análisis de hidrofobicidad de los modelos de G-VRAB. a. Análisis de hidrofobicidad de la estructura del ectodominio. b. Análisis de hidrofobicidad enfocado en el sitio antigénico IV de la estructura. Elaborado en UCSF ChimeraX (v. 1.11).

6.4.4. Análisis de modificaciones químicas (puentes de hidrógeno).

Los puentes de hidrógeno identificados para cada estructura en los residuos que conforman al sitio antigénico IV se describen en el Cuadro. 14.y la conformación estructural de estas interacciones químicas para cada modelo de G-VRAB se observa en la Figura 16. Se observó una diferencia entre la red de interacciones establecida en el residuo 261; en donde G-SAD y G-CENASA-MX24-Rab113 conservaron interacciones estrictas entre Met63 y Ser261, en contraste con G-ERA que presenta una reorganización en la interacción local, asociada a la sustitución aminoacídica por Ala261.

Cuadro 14. Enlaces de hidrógeno identificados en los residuos del sitio antigénico IV de las G-VRAB.

G-VRAB	Residuo donador	Residuo receptor	Distancia (Å)	Clasificación
G-ERA	Ala261(N)	Met63 (O)	2.822	Estricto
	Met262 (N)	Val260 (O)	3.148	Pseudoenlace
G-SAD	Met63(N)	Ser261(OG)	2.819	Estricto
	Ser261(N)	Met63(O)	2.842	Estricto
	Ser261(OG)	Ser261(O)	2.594	Pseudoenlace
	Met262(N)	Val260(O)	2.978	Pseudoenlace
G-CENASA-MX24-Rab113	Met63 (N)	Ser261 (OG)	2.805	Estricto
	Ser261 (N)	Met63 (O)	2.862	Estricto
	Ser261 (OG)	Ser61 (O)	2.610	Pseudoenlace
	Ile262 (N)	Val260 (O)	3.069	Pseudoenlace

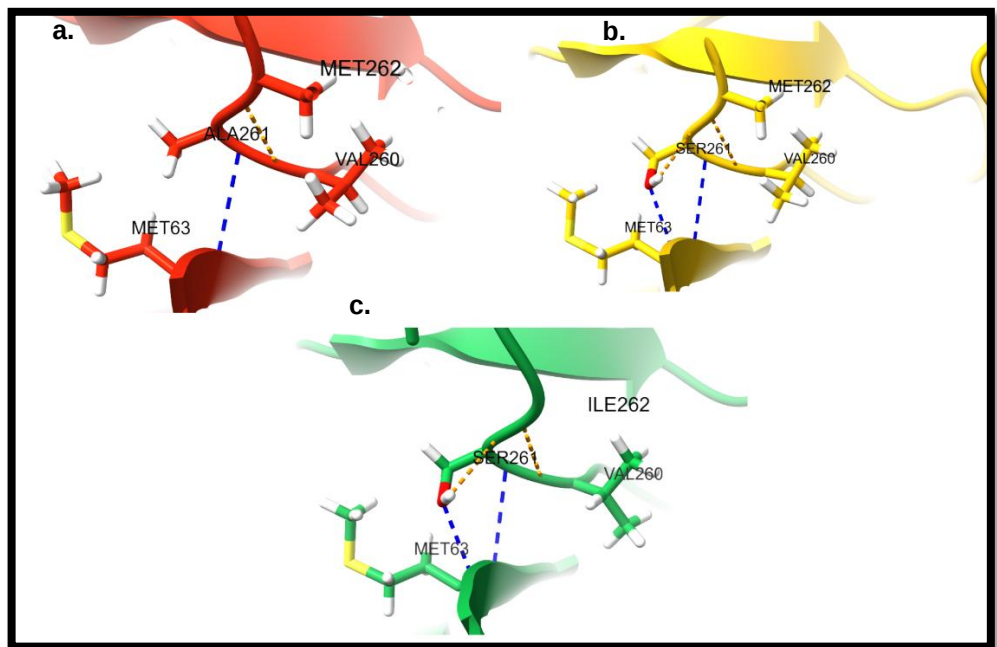


Figura 16. Estructuras de G-VRAB con puentes de hidrógeno identificados en residuos con SNP-NOSIN en el sitio antigénico IV. Los puentes de hidrógeno estrictos se encuentran representados con una línea discontinua color azul, mientras que, los pseudoenlaces se observan en línea discontinua de color naranja. **a.** G-ERA. **b.** G-SAD. **c.** G-CENASA-MX24-Rab113. Elaborado en UCSF ChimeraX (v. 1.11).

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio identifican la presencia de SNPs a lo largo de los genomas completos del VRAB mexicanos para los tres ensambles que han incluido a dos cepas vacunales y una cepa de campo antigua proveniente de *D. rotundus* en México. El rango del número total de SNPs identificados en las 22 SGC-VRAB con cada uno de los genomas de referencia representan, en parte, la tasa de cambio a través de la sustitución nucleotídica, que confirma uno de los mecanismos de evolución y diversificación de los virus de ARN (Troupin *et al.*, 2016). Como era de esperarse los ensambles que utilizan cepas vacunales (VCF-2 y VCF-3) como genoma de referencia, mostraron una mayor cantidad en el número total de SNPs identificados, en comparación con el ensamble que utiliza la cepa de campo como referencia (VCF-1), esto se puede atribuir a los mecanismos de atenuación empleados para la elaboración de las vacunas de primera generación a partir de cepas parentales (90 años) que han acumulado múltiples SNPs durante sus pasajes en cultivo celular o cerebros en cultivos de ratones (Ghatas *et al.*, 2021). Por otro lado, en estudios realizados en secuencias parciales, por ejemplo, las secuencias de la glicoproteína del VRAB de campo proveniente de caninos en diversas regiones geográficas del mundo también han presentado una tendencia a disminuir su similitud nucleotídica con las cepas vacunales Flury-LEP, aGV, CTN-1V, PM, y PV-2061 (Wang *et al.*, 2019).

En el ensamble VCF-1 se observó un rango de 82 a 433 SNPs lo que muy posiblemente se debe a que son secuencias obtenidas de cepas en un periodo de pocos años, pero que muy posiblemente la introducción del VRAB a las poblaciones de *D. rotundus* fue de diferentes sitios geográficos de México en un periodo corto de tiempo (Bhattacharjee y Bhadra, 2020).

En relación con los resultados obtenidos para la clasificación de SNPs por región genómica (SNP-COD y SNP-NOCOD), se observó una tendencia de distribución bastante similar entre los tres ensambles. Al estandarizar la cantidad de SNPs identificados con base en la longitud de cada gen, se obtiene que las SGC del virus de campo ensambladas con la SGC de la cepa de campo de referencia de *D. rotundus* (VCF-1), el gen de la fosfoproteína

presentó mayor cantidad de SNPs lo que confirma que este gen se caracteriza por tener una tasa de mutación más alta (Troupin *et al.*, 2016), seguido del gen G y el gen L, coincidiendo con lo reportado por Kumar *et al.* (2024). Los ensambles VCF-2 y VCF-3, que utilizan como referencia las cepas vacunales ERA y SAD respectivamente, presentan la mayor densidad de SNPs en el gen L; se ha documentado para otros virus con genomas de ARNss- (Influenza H5N1) que la acumulación de mutaciones específicas en este gen son la base de la adaptación temprana del virus, permitiendo una mejor replicación en células y tejidos de mamíferos, incluyendo los humanos (Dholakia *et al.*, 2026).

De acuerdo con la clasificación de SNPs por su efecto funcional a nivel de aminoácidos se observó que la mayor prevalencia fue para los SNP-SIN (72.9%-92.9%) y fue mayor al rango (70%-82%) descrito por Kumar *et al.* (2024). Por su parte, la proporción de SNP-NOSIN identificado en este estudio fue de 7.1%-27.1%, mayor a lo que se ha reportado en otros estudios (11%-15%) (Kumar *et al.*, 2024). Este aumento en la variabilidad puede explicarse por el clado Cosmopolita al que pertenecen las secuencias mexicanas; de acuerdo con Kumar *et al.* (2024) este clado reveló la mayor cantidad de SNP-NOSIN en comparación con el resto, sugiriendo que este clado puede encontrarse bajo una mayor presión de selección o mayor adaptabilidad para la supervivencia del VRAB en diversos ambientes, en diferentes regiones geográficas.

En la identificación de SNP-NOSIN en sitios antigénicos a nivel de todo el genoma, se observó que el ensamble (VCF-1) que incluyó a las SGC-VRAB con la cepa de campo de referencia proveniente de *D. rotundus* en México (3634DR), no presentó las cuatro sustituciones no sinónimas en los sitios antigénicos encontradas en los ensambles vacunales. Esto sugiere que el VRAB circulante en *D. rotundus* en México es endémico; estable en la naturaleza y funcional para infectar a sus hospederos naturales en un mismo nicho ecológico, aunque es importante considerar la variabilidad de los periodos de incubación entre los hospederos y reservorios en la evolución del VRAB a través de los años (Durrant, 2026). En este análisis se brindó especial enfoque a los sitios antigénicos que conforman a la G-VRAB, ya que, actúa como único inmunógeno de la vacuna contra el VRAB (Chen *et al.*, 2025), se observaron SNP-NOSIN únicamente en el sitio antigénico IV de los ensambles con genoma

de referencia de cepa vacunal (VCF-2 y VCF-3). En el VCF-2, con genoma de referencia ERA, se localizaron dos SNP-NOSIN (Ala261Ser y Met262Ile); mientras que el VCF-3, con genoma de referencia SAD, únicamente presentó un SNP-NOSIN (Met262Ile). Este hallazgo era de esperarse, debido a que la cepa ERA desciende a partir de un aislado de la cepa SAD original tras pasajes en diversas líneas celulares (Geue *et al.*, 2008). Respecto al hallazgo de los SNP-NOSIN localizados en el sitio antigénico IV, coincide con lo reportado en estudios anteriores que mencionan que este sitio alberga un epítipo lineal que se compone de los residuos 261-264, el cual es reconocido por el anticuerpo monoclonal neutralizante 6-15C4 con la secuencia primaria de la glicoproteína de la cepa vacunal ERA (Dietzschold *et al.*, 1990). En otro estudio que evaluó la variabilidad genética y antigénica del G-VRAB entre secuencias virales de campo y vacunales, se identificaron mutaciones en un residuo específico del sitio antigénico III (Arg333Pro y Arg333His) que redujeron la reactividad a los anticuerpos monoclonales (Wang *et al.*, 2019), sin embargo en este estudio la variabilidad fue observada en el sitio antigénico IV con un SNP-NOSIN compartido entre las cepas vacunales ERA y SAD, estos hallazgos tienen el potencial de dilucidar diferencias fenotípicas en la G-VRAB que podrían contribuir a una patogenicidad *in vivo* alterada (Almasoud *et al.*, 2023). Por ejemplo, las cepas patógenas del VRAB causan niveles leves de inflamación neuronal y muerte celular (Miyamoto y Matsumoto, 1967), a diferencia de cepas vacunales atenuadas que inducen una respuesta inflamatoria más exacerbada, con el fin de causar su reconocimiento y eliminación por el sistema inmunitario del hospedero (Sarmiento *et al.*, 2005).

El modelado y análisis estructural de las glicoproteínas demostró, a través de la evaluación de diferentes parámetros bioquímicos, que los SNP-NOSIN identificados no alteran drásticamente el plegamiento terciario global de las proteínas (Litso *et al.*, 2023). Los valores más altos de RMSD presentados al considerar el alineamiento de los 440 residuos del ectodominio de la G-VRAB probablemente corresponden a regiones flexibles superficiales o a *loops* (Oliva *et al.*, 1997). Dichas sustituciones tampoco alteran el microambiente estructural del sitio antigénico IV esto con base en los valores de RMSD obtenidos a nivel regional y local (Litso *et al.*, 2023).

Chen *et al.* (2025) plantearon que las características estructurales de las proteínas G aportan información sobre la relación entre los antígenos y la eficacia de las vacunas contra el VRAB, en este estudio los autores evaluaron a nivel bioinformático las alteraciones en hidrofobicidad y flexibilidad, por lo que, la metodología de evaluación realizada en este estudio es consistente con la de los autores mencionados y los resultados de estas evaluaciones sugieren que la sustitución Ala261Ser podría generar modificaciones a nivel local en las interacciones de puentes de hidrógeno debido a la incorporación de un grupo hidroxilo en su cadena lateral. Por su parte, la sustitución Met262Ile se puede categorizar como una sustitución conservadora con impacto estructural reducido en el sitio antigénico IV debido al cambio entre dos aminoácidos alifáticos. Con respecto al número de enlaces de hidrógeno estrictos identificados en este estudio (1-2) en cada modelo de G-VRAB, sugieren una interacción estable que contribuye a la estabilización de las estructuras proteicas de la glicoproteína en cepas vacunales (Tsujimura *et al.*, 2025).

Los resultados de SASA y RSA observados en los residuos con SNP-NOSIN evaluados en este estudio no presentan diferencias en la accesibilidad superficial entre las G-VRAB. El SNP Ala261Ser conserva valores similares de SASA y RSA entre las estructuras a pesar del cambio de un residuo alifático por un residuo polar, de igual manera, Met262Ile presentó los valores más bajos de SASA y RSA en todas las estructuras, indicando que es un residuo con baja exposición al solvente con altos valores hidrofílicos (Lins *et al.*, 2003; Pineda, 2021). Esto sugiere que, aunque existen diferencias genómicas a nivel de SNPs en SCG del VRAB y las cepas vacunales ERA y SAD, estas no representan un efecto a nivel estructural de la glicoproteína ya que la cantidad de interacciones intermoleculares (puentes de hidrógeno), no altera la accesibilidad en el sitio antigénico IV para aún lograr inducir anticuerpos contra regiones altamente conservadas del VRAB.

VIII. CONCLUSIÓN

Este es el primer estudio de su tipo realizado en México, el cual permitió caracterizar veintidós SGC-VRAB correspondientes a *D. rotundus* o asociadas a su variante antigénica (VA11) basado en la identificación de SNPs. Los datos genéticos obtenidos permiten concluir que las cepas de campo circulantes en nuestro país presentan más SNPs a nivel de secuencia en comparación con las cepas vacunales ERA y SAD. La caracterización genómica de este tipo de polimorfismos, confirma que, en cuanto a regiones genéticas, el gen P del VRAB presenta la mayor variabilidad nucleotídica entre cepas de campo, pero que al comparar cepas de campo con las cepas vacunales ERA y SAD es la región del gen L, la que presenta mayor cantidad de SNPs. También, a través de la clasificación de SNP-SIN y SNP-NOSIN, se confirma que los SNP-SIN tienen mayor prevalencia a lo largo de las SGC-VRAB. La identificación de SNP-NOSIN en sitios antigénicos, únicamente, entre las secuencias de las glicoproteínas de las cepas vacunales y las de campo sugiere que el VRAB circulante en *D. rotundus* en México es endémico y estable en la naturaleza. No obstante, al realizar el modelado y posterior análisis estructural enfocado a los SNP-NOSIN localizados en sitios antigénicos de la G-VRAB, se observó que las estructuras proteicas se encuentran bastante conservadas entre sí, a pesar de la variabilidad nucleotídica presentada en sus secuencias.

Es importante destacar el uso de herramientas bioinformáticas convencionales y la complementariedad con herramientas bioinformáticas de aprendizaje profundo, las cuales en conjunto permiten realizar predicciones con mayor sustento epidemiológico y molecular, que mejoren la orientación de estrategias y presupuestos para el control, monitoreo y vigilancia de la rabia en México pues una gran limitante de este estudio fue la cantidad reducida de datos genómicos del VRAB disponibles para su evaluación. Este trabajo también proporciona un flujo de trabajo bioinformático replicable para la caracterización de SNPs en SGC con base en el uso de cepas vacunales como referencia.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Abelseth, M. K. (1964). An Attenuated Rabies Vaccine for Domestic Animals Produced in Tissue Culture. *Can Vet J*, 5(11), 279-286.
- Ahmad T., Valentovic M. A., y Rankin G. O. (2018). Effects of cytochrome P450 single nucleotide polymorphisms on methadone metabolism and pharmacodynamics. *Biochem. Pharmacol.* 153, 196–204.
- Albertini, A., Ruigrok, R. W. H. y Blondel, D. (2011). Rabies Virus Transcription and Replication. *Advances in Virus Research*, 79, 1-22.
- Albertini, A.A., Baquero, E., Ferlin A., y Gaudin, Y. (2012). Molecular and cellular aspects of rhabdovirus entry. *Viruses* 4, 117–139.
- Almasoud, I., Charlton, F. W., Finke, S., Barr, J. N., y Mankouri, J. (2023). Internalization of rabies virus glycoprotein differs between pathogenic and attenuated virus strains. *J Gen Virol*, 104 (12), 001935.
- Baer, G. M. (Ed.). (1991). *The natural history of rabies* (2nd ed.). CRC Press.
- Banyard, A. C. y Tordo, N. (2018). Rabies pathogenesis and immunology. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 37(2), 323-330.
- Bárcenas-Reyes, I., Loza-Rubio, E., Cantó-Alarcón, G. J., Luna-Cozar, J., Enríquez-Vázquez, A., Barrón-Rodríguez, R. J. y Milián-Suazo, F. (2017). Whole genome sequence phylogenetic analysis of four Mexican rabies virus isolated from cattle. *Res Vet Sci*, 113, 21-24.
- Bárcenas-Reyes, I., Loza-Rubio, E., Zendejas-Martínez, H., Luna-Soria, H., Cantó-Alarcón, G. J., y Milián-Suazo, F. (2015). Comportamiento epidemiológico de la rabia paralítica bovina en la región central de México, 2001-2012. *Rev Panam Salud Pública*, 38(5), 396-402.

- Bárcenas-Reyes., I, Nieves-Martínez, D. P., Cuador-Gil, J. Q., Loza-Rubio, E., González-Ruiz, S., Cantó-Alarcón, G. J., *et al.* (2019). Análisis espaciotemporal de la rabia en bovinos del centro de México. *Salud Geospat.*, 14:805.
- Bautista, C., Jaswant, G., French, H., Campbell, K., Durrant, R., Gifford, R., Kia, G. S. N., Ogoti, B., Hampso, K. y Bruner, K. (2023). Whole Genome Sequencing for Rapid Characterization of Rabies Virus Using Nanopore Technology. *J Vis Exp*, 198, e65414.
- Benmansour, A., Leblois, H., Coulon, P., Tuffereau, C., Gaudin, Y., Flamand, A. y Lafay, F. (1991). Antigenicity of rabies virus glycoprotein. *J Virol*, 65(8).
- Bikadi, Z., Demko, L. y Hazai, E. (2007). Functional and structural characterization of a protein based on analysis of its hydrogen bonding network by hydrogen bonding plot. *Arch. Biochem. Biophys*, 461(2), 225-234.
- Bingham, J. y Van der Merwe, M. (2002). Distribution of rabies antigen in infected brain material: determining the reliability of different regions of the brain for the rabies fluorescent antibody test. *J. Virol. Methods*, 101, 85–94.
- Boutelle, C., Mollentze, N., Gigante, C., Roche, F., Vigilato, M. A. N., Streicker, D. G. y Wallace, R. (2025). A logistic regression model to predict the next rabies virus host-shift event. *Sci Rep*, 15, 19306.
- Bracamonte, M. y Plaza, N. (2000). Zoonosis más frecuentes en Venezuela. Enfermedades de los Animales. FONAIAP-CENIAP. Ed. Serie D 41, 24-33.
- Bruner, K., y Mollentze, N. (2018). Rabies Virus. *Trends in Microbiology*.
- Brzózka, K., Finke, S. y Conzelmann, K.-K. (2005). Identification of the Rabies Virus Alpha/Beta Interferon Antagonist: Phosphoprotein P Interferes with Phosphorylation of Interferon Regulatory Factor 3. *J Virol*, 79, 7673–7681.
- Buenrostro, A., Rodríguez, M. y García, J. (2019). Derriengue (Rabia parálítica bovina) y el murciélago hematófago. *Ciencia y Mar*, 23(68), 87-96.

- Cai, K., Feng, J., Wang, Q., Li, T., Shi, J., Hou, X., Gao, X., Liu, H., Tu, W., Xiao, L. y Wang, H. (2010). Fine mapping and interaction analysis of a linear rabies virus neutralizing epitope. *Microbes and Infection*, 12(12-13).
- Carini, A. (1911). Sur une grande epizootie de rage. *Ann Inst Pasteur*, 25, 843.
- Castel, G., Chteoui, M., Caignard, G., Prehaud, C., Mehoulas, S., Real, E., Jallet, C., Jacob, Y., Ruigrok, R.W.H. y Tordo, N. (2009). Peptides That Mimic the Amino-Terminal End of the Rabies Virus Phosphoprotein Have Antiviral Activity. *J Virol*, 83, 10808–10820.
- CFSPH. (2009). Rabia. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/rabies-es.pdf>
- Chen, C., Wang, X., Su, W., Tian, Y., Gao, Y., Liu, D., Xiang, H., Liu, B., Shi, J., Zhang, Y., Shen, D., He, W., Yang, L., Hong, C., Wu, F., Shi, L., Cun, Y. y Zhou, J. (2025). Changes in the dynamic characteristics of G-protein can alter the immune-protection efficacy of rabies virus vaccine. *J Virol*, 99, e01954-24.
- Christian, K.A., Blanton, J.D., Auslander, M. y Rupprecht, C.E. (2009). Epidemiology of rabies post-exposure prophylaxis: United States of America, 2006–2008. *Vaccine*, 27 (51), 7156–7161.
- Cocozza, J. y Roman, J. (1960). Estudio sobre la rabia en la frontera mexicano-estadounidense. *Boletín de la oficina sanitaria panamericana*.
- Condori-Condori, R. E., Streicker, D. G., Cabezas-Sanchez, C. y Velasco-Villa, A. (2013). Enzootic and epizootic rabies associated with vampire bats, Peru. *Emerg. Infect. Dis.*, 19 (9), 1463–1469.
- Conselheiro, J. A., Barone, G. T., Miyagi, S. A. T., de Souza Silva, S. O., Agostinho, W. C., Aguiar, J. y Brandão, P. E. (2022). Evolution of Rabies Virus Isolates: Virulence Signatures and Effects of Modulation by Neutralizing Antibodies. *Pathogens*, 11(12), 1556.

- Conzelmann, K. K., Cox, J. H., Schneidder, L. J. y Thiel, H. J. (1990). Molecular cloning and complete nucleotide sequence of the attenuated rabies virus SAD B19. *Virology*, 175(2), 485-499.
- Côrrea, K., Iamamoto, K., Asano, K., Enio, M., Estevez, A., Ackar, S. y de Oliveira, W. (2014). Murciélagos hematófagos como reservorios de la rabia. *RPMESP*, 13(2).
- Coulon, P., Ternaux, J., Flamand, A. y Tuffereau, C. (1998). An Avirulent Mutant of Rabies Virus Is Unable To Infect Motoneurons In Vivo and In Vitro. *J Virol*, 72(1).
- Datos Abiertos México. (2025). *Productos biológicos vigentes*. Gobierno de México. Recuperado el 18 de mayo de 2026, de https://www.datos.gob.mx/dataset/productos_biologicos_vigentes/resource/e46c0d1c-5969-4b40-982d-5b0201a2e9d3
- Davis, B., Rall, G. y Schnell, M. (2015). Everything You Always Wanted to Know About Rabies Virus (But Were Afraid to Ask). *Annu Rev Virol*, 2, 452-471.
- Dholakia, V., Quantrill, J. L., Richardson, S. A. S., Pankaew, N., Brown, M. D., Yang, J., Capelastegui, F., Masonou, T., Case, K. M., Ajeian, J., Woodall, M. N. J., Magill, C., Freimans, G., McCarron, A., Staller, E., Sheppard, C. M., Brown, I. H., Murcia, P. R., Smith, C. M., Iqbal, M., Digard, P., Barclay, W. S., Pinto, R. M., Peacock, T. P. y Goldhill, D. H. (2026). Polymerase mutations underlie early adaptation of H5N1 influenza virus to dairy cattle and other mammals. *Nat Commun*, 17, 1603.
- Dietzshold, B., Gore, M., Marchandier, D., Niu, H. S., Bunschoten, H. M., Otvos, L., Wunner, W. Ertl, H. C. J., Osterhaus, A. D. M. E. y Koprowski, H. (1990). Structural and Immunological Characterization of a Linear Virus Neutralizing Epitope of the Rabies Virus Glycoprotein and Its Possible Use in a Synthetic Vaccine. *J Virol*, 64(8), 3804-3809.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (2011). NORMA Oficial Mexicana NOM-067-Z00-2007, Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5190251yfecha=20/05/2011#gsc.tab=0

- Domingo, E. y Perales, C. (2019). Viral quasispecies. *PLoS Genet*, 15, e1008271.
- Domingo, E., Sheldon, J. y Perales, C. Viral quasispecies evolution. (2012). *Microbiol Mol Biol Rev*, 76(2), 159–216.
- Durrant, R., Dushoff, J., Arnorld, M., Cobbold, C. y Hampson. K. (2026). Differences in codon usage between host-species-specific rabies virus clades are driven by non-GC3 nucleotide composition. *Virus Evol*, 12(1).
- Escobar, E. (2004). Rabia transmitida por vampiros. *Biomédica*, 24:231–6.
- Escobar, L. E., Townsend, A., Favi, M., Yung, V. y Medina-Vogel, G. (2015). BAT-BORNE RABIES IN LATIN AMERICA. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 57(1), 63-72.
- Evans, J. S., Selden, D., Wu, G., Wright, E., Horton, D. L., Fooks, A. R. y Banyard, A. C. (2018). Antigenic site changes in the rabies virus glycoprotein dictates functionality and neutralizing capability against divergent lyssaviruses. *J Gen Virol*, 99, 2.
- Faber, M., Faber, M. L., Papaneri, A., Bette, M., Weihe, E., Dietzschold, B. y Schnell, M. J. (2005). A single amino acid change in rabies virus glycoprotein increases virus spread and enhances virus pathogenicity. *J Virol*. 79, 14141–8.
- Fenje, P. (1960). Propagation Of Rabies Virus In Cultures Of Hamster Kidney Cells. *Can J Microbiol*, 6(5), 479–484.
- Finke, S. y Conzelmann, K. K. (2005). Replication strategies of rabies virus. *Virus Res*, 111(2), 120-131.
- Fisher, C., Streicker, D. y Rápido, M. (2018). The spread and evolution of rabies virus: conquering new frontiers. *Nat Rev Microbiol*, 16(4), 241-255.
- Fooks A, Banyard A, Horton D, Johnson N, McElhinney L. y Jackson A. (2014). Current status of rabies and prospects for elimination. *Lancet*, 384, 1389-1399.

- Fouquet, B., Nikolic, J., Larrous, F., Bourhy, H., Wirblich, C., Lagaudrière-Gesbert, C. y Blondel, D. (2015). Focal adhesion kinase is involved in rabies virus infection through its interaction with viral phosphoprotein P. *J Virol*, 89, 1640–1651.
- Gaudin Y., Ruigrok R.W., Tuffereau C., Knossow M. y Flamand A. (1992). Rabies virus glycoprotein is a trimer. *Virology*, 187, 627–632.
- Ghattas, M., Dwivedi, G., Lavertu, M. y Alameh., M. G. (2021). Vaccine Technologies and Platforms for Infectious Diseases: Current Progress, Challenges, and Opportunities. *Vaccines*, 9(12), 1490.
- Geue, L., Schares, S., Schnick, C., Kliemt, J., Beckert, A., Freuling, C., Conraths, F. J., Hoffmann, B., Zanoni, R., Marston, D., McElhinney, L., Johnson, N., Fooks, A. R., Tordo, N. y Müller, T. (2008). Genetic characterisation of attenuated SAD rabies virus strains used for oral vaccination of wildlife. *Vaccine*, 26(26), 3227–3235.
- Gilbert, A. T. (2018). Rabies virus vectors and reservoir species. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 37 (2), 371-384.
- Gudiño-Escandón, R. S., Méndez-Ojeda, M. L., García-Sarabia, S. P., Luna-Azuara, C. G. y Vega, V. (2025). Pérdida económica por rabia paralítica en bovinos y especies ganaderas de México en 2022. *Rev Mex de Cienc Pecuarias*, 16(4).
- He, L., y Tan, H. L. (2025). From data to action: addressing geographic inequalities in rabies burden through targeted policies. *Front. Public Health*, 13:1683863.
- He, W., Zhang, H., Zhang, Y., Wang, R., Lu, S., Ji, Y., Liu, C., Yuan, P. y Su, S. (2017). Codon usage bias in the N gene for rabies virus. *Infect Genet Evol*, 54, 458-465.
- Hemachudha, T., Laothamatas, J. y Rupprecht, C. E. (2002). Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges. *Lancet Neurol*, 1(2), 101-109.
- Hernández, E. (2014). Historia del derriengue en México en E.Loza (Ed.), *LA RABIA: entre la tradición y la vanguardia* (Primera ed., 12-19). INIFAP.

- Hernández-Ávila, M. Castro-Onofer, M. M., y Cervantes-Trejo, A. (2020). Vacunación canina y felina masiva en México: pobre rectoría y fallo de mercado. *Salud Publ Mex*, 62(3).
- Hidalgo, M. A., Papo, S. M., Plaza, N. E. y Moreno, F. E. (2005). Caracterización Antigénica de Cepas de Virus Rábico Aisladas de Diferentes Regiones en Venezuela. Periodo 2001-2004. *Rev Fac de Cienc Vet*, 46(1).
- Hikufe E. H., Freuling, C. M., Athingo, R, Shilongo, A, Ndevaetela, E. E., et al. (2019). Ecology and epidemiology of rabies in humans, domestic animals and wildlife in Namibia, 2011-2017. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), e0007355.
- Horwitz, J., Simon, J. y Harrison, S. (2020). Structure of a rabies virus polymerase complex from electron cryo-microscopy. *PNAS*, 117(4).
- ICTV. (2026). Chapter: Rhabdoviridae. <https://ictv.global/report/chapter/rhabdoviridae/rhabdoviridae/lyssavirus>
- Ito N, Okamoto T, Sasaki M, Miyamoto S, Takahashi T, Izumi F, et al. (2021). Safety enhancement of a genetically modified live rabies vaccine strain by introducing an attenuating Leu residue at position 333 in the glycoprotein. *Vaccine*. 39, 3777–84.
- Jackson A. (2010). Rabies pathogenesis update. *Rev Pan-Amaz Saude*, 1, 167- 172.
- Jiang, Y., Luo, Y., Michel, F., Hogan, R., He, Y. y Fu., Z. F. (2010). Characterization of conformation-specific monoclonal antibodies against rabies virus nucleoprotein. *Arch Virol* 155, 1187–1192.
- Johnson, N., Letshwenyo, M., Baipoledi, E. K., Thobokwe, G. y Fooks, A. (2004). Molecular epidemiology of rabies in Botswana: A comparison between antibody typing and nucleotide sequence phylogeny. *Vet Microbiol*, 10, 31-38.

- Johnston D.H. y Beauregard M. (1969). Rabies epidemiology in Ontario. *Bull Wildl Dis Assoc*, 5 (3), 357– 370.
- Khalifa, B. Y., Luco, S., Besson, B., Sonthonnax, F., Archambaud, M., Grimes, J.M., Larrous, F. y Bourhy, H. (2016). The matrix protein of rabies virus binds to RelAp43 to modulate NF-kappaB-dependent gene expression related to innate immunity. *Sci Rep*. 6, 39420.
- Kumar, A., Kautsbuh, M., Nath, S. y Tatu, U. (2024). Identification of clade-specific single nucleotide polymorphisms for improved Rabies virus surveillance in *Canis familiaris* host. *New Microbes New Infect*, 62:101511.
- Kyte, J. y Doolittle, R. F. (1982). A Simple Method for Displaying the Hydropathic Character of a Protein. *J. Mol. Biol.*, 157, 105-132.
- Lahaye, X., Vidy, A., Pomier, C., Obiang, L., Harper, F., Gaudin, Y. y Blondel, D. (2009). Functional characterization of Negri bodies (NBs) in rabies virus-infected cells: Evidences that NBs are sites of viral transcription and replication. *J Virol.*, 83(16), 7948-7958.
- Litso, I., Plaitakis, A., Fadoulougrou, V. E., Providaky, M., Kokkinidis, M. y Zaganas, I. (2023). Structural Evolution of Primate Glutamate Dehydrogenase 2 as Revealed by In Silico Predictions and Experimentally Determined Structures. *Biomolecules.*, 14(1), 22.
- Lodha, L., Ashwini, A. M., Ramachandran, A., Sathya, M., Valagere, S., Mahadevan, A. y Mani, R. S. (2023). Evaluation of a rapid, chip-based, micro-PCR assay for detection of rabies virus in human and canine specimens. *J Med Virol*, 95, e29110.
- Loza, E. (2022). La rabia, una enfermedad ancestral muy vigente. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 30(2), 5-11.
- Loza-Rubio, E. y Aguilar-Setien, A. (1998). Estudio de la variabilidad molecular del virus de la rabia en México. *Ciencia Veterinaria.*, 8, 51-84.

- Loza-Rubio, E., Nadin-Davis, S. y Morales, E. (2012). Caracterización molecular y biológica del virus de la Rabia que circula en zorrillos de México enfocado a la variante del gen de la fosfoproteína (P). *Rev Mex Cienc Pecu.*, 3(2), 155-170.
- Maillard, A., Domanski, M., Brunet, P., Chaffotte, A., Guittet, E. y Gaudin, Y. (2003). Spectroscopic characterization of two peptides derived from the stem of rabies virus glycoprotein. *Virus Res*, 93, 151–158.
- Marissen, W. E., Kramer, R. A., Rice, A., Weldon, W. C., Niezgoda, M., Faber, M., Slootstra, J.W., Melen, R. H., Clijsters-van der Horst, M., Visser, T. J., Jongeneelen, M., Thijsse, S., Throsby, M., de Kruif, J., Rupprecht, C.E., Dietzschold, B., Goudsmit, J. y Bakker, A. B. H. (2005). Novel Rabies Virus-Neutralizing Epitope Recognized by Human Monoclonal Antibody: Fine Mapping and Escape Mutant Analysis. *J Virol*, 79(8).
- Masatani, T., Ito, N., Shimizu, K., Ito, Y., Nakagawa, K., Sawaki, Y., Koyama, H. y Sugiyama, M. (2010). Rabies Virus Nucleoprotein Functions To Evade Activation of the RIG-I-Mediated Antiviral Response. *J Virol.*, 84, 4002–4012.
- Matsumoto, T., Ahmed, K., Wimalaratne, O., Yamada, K., Nanayakkara, S., Perera, D., Karunanayake, D. y Nishizono, A. (2011). Whole-genome analysis of a human rabies virus from Sri Lanka. *Arch Virol*, 156, 659–669.
- Mavrakis, M., McCarthy, A. A., Roche, S., Blondel, D. y Ruigrok, R. W. (2004). Structure and Function of the C-Terminal Domain of the Polymerase Cofactor of Rabies Virus. *J Mol Biol*, 343, 819–831.
- Méndez-Ojeda, M., Rojas-Anaya, E., Morales, J., Tapia-Pérez, G., Suzán, G., Gaona, O., Medellín-Legorreta, R., Rupprecht, C. y Loza-Rubio, E. (2018). Detección del virus de la rabia en órganos no relacionados con el sistema nervioso central de murciélagos vampiro experimentalmente infectado. *Rev Mex Cienc Pecu*, 9(3), 436-450.
- Miyamoto, K. y Matsumoto, S. (1967). Comparative studies between pathogenesis of street and fixed rabies infection. *J Exp Med*, 125:447–456.

- Montano, J. A. y Mata, A. E. (1996). Estructura antigénica y mecanismos de infección del virus de la rabia. *Ciencia Veterinaria.*, 7, 67-102.
- Morales-Martínez, E., Rico-Rosillo, G., Gómez-Olivares, J. y Aguilar-Setién, A. (2006). Immunologic importance of the N protein in the rabies virus infection. *Vet Mex*, 37(3), 351-367.
- Morimoto, K., Hooper, C. D., Spitsin, S., Koprowski, H. y Dietzschold, B. (1999). Pathogenicity of Different Rabies Virus Variants Inversely Correlates with Apoptosis and Rabies Virus Glycoprotein Expression in Infected Primary Neuron Cultures. *J Virol*, 73(1).
- Müller, T. F., Schröder, R., Wysocki, P., Mettenleiter, T. C. y Freuling, C.M. (2015) Spatio-temporal use of oral rabies vaccines in fox rabies elimination programmes in Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 9, e0003953
- Nadin-Davis, S., Sampath, M. I., Casey, G. A., Tinline, R. R. y Wandaler, A. I. (1999). Phylogeographic patterns exhibited by Ontario rabies virus variants. *Epidemiol Infect*, 123(2), 325-336.
- Nadin-Davis, S., Colville, A., Trewby, H., Biek, R. y Real, L. (2017). Application of high-throughput sequencing to whole rabies viral genome characterization and its issue for phylogenetic re-evaluation of a raccoon strain incursion into province of Ontario. *Virus Res*, 232, 123-133.
- National Cancer Institute. (s.f.). SNP. Recuperado el 19 de mayo de 2026. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/genetics-dictionary/def/snp>
- Natesan, K., Shrikrishna, I., Vinayagamurthy, B., Ramakrishnaiah, S., Doddamane, R. y Fooks, A. R. (2023). Developments in Rabies Vaccines: The Path Traversed from Pasteur to the Modern Era of Immunization. *Vaccines*, 11(4).

- Nikolic, J., Le Bars, R., Lama, Z., Scrima, N., Lagaudrière-Gesbert, C., Gaudin, Y. y Blondel, D. (2017). Negri bodies are viral factories with properties of liquid organelles. *Nat Commun*, 8(58).
- Oliva, B., Bates, P. A., Querol, E., Avilés, F. X. y Sternberg, M. J. E. (1997). An automated classification of the structure of protein loops. *J Mol Bio*, 4(266), 814-830.
- Oliveira, R. D., de Souza, S. P., Lobo, R. S. V., Castilho, J. G., Macedo, C. I., Carnieli, P. Jr, Oliveira Fahl, W., Achkar, S. M., Scheffer, K. C., Kotait, I., Carrieri, M. L. y Brandão, P. E. (2010). Rabies virus in insectivorous bats: implications of the diversity of the nucleoprotein and glycoprotein genes for molecular epidemiology. *Virology*, 405 (2), 352–360.
- Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). (2021). *Generalidades y ciclos de transmisión de la rabia* [Presentación de diapositivas]. OIRSA. https://www.oirsa.org/contenido/2020-2/2021/Rabia_Paralitica_Bovina/GENERALIDADES%20Y%20CICLOS%20DE%20TRANSMISIÓN%20RABIA%20CURSO%20HONDURAS%20%20OIRSA%202021.pdf
- Organización Mundial de Salud Animal (OMSA). (2023). Manual terrestre de la OMSA 2023: RABIA (INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA RABIA Y OTROS LYSSAVIRUS). https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.18_RABIES.pdf
- Organización Mundial de Salud Animal (OMSA). (2026). Rabia. *Enfermedades*. <https://www.woah.org/es/enfermedad/rabia/>.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2004). Vigilancia epidemiológica de la rabia en las Américas. Río de Janeiro: PANAFTOSA-OPS/OMS, 40.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019). México está libre de rabia humana transmitida por perros. *Comunicados de prensa*. <https://www.who.int/es/news/item/11-11-2019-mexico-is-free-from-human-rabies-transmitted-by-dogs>

- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2023). Informe sobre la situación de la rabia en las Américas 2017–2022. https://www.paho.org/sites/default/files/informe_situacion-rabia-sirvera-esp_0.pdf
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2026). *Rabia*. <https://www.paho.org/es/temas/rabia>
- Ortega-Sánchez, R., Bárcenas-Reyes, I., Cantó-Alarcón, G., Luna-Cortázar, J., Rojas-Anaya, E., Contreras-Magallanes, Y., González-Ruiz, S., Cortez-García, B. y Milián-Suazo, F. (2022). Descriptive and Time-Series Analysis of Rabies in Different Animal Species in Mexico. *Front.Vet.Sci*, 9, 800735.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2000). Los anticuerpos monoclonales en la caracterización y vigilancia de los virus de la rabia en América Latina y el Caribe. *Rev Panam Salud Publica*, 8(3), 214-217.
- Pawan, J. L. (1936). Rabies in the Vampire Bat of Trinidad with Special Reference to the Clinical Course and the Latency of Infection. *Anntrop Med Parasit*, 30, 401-422.
- Perkins-Balding, D. y Karls, A. C. (2013). Antigenic Variation in S. Maloy y K. Hughes (Ed), *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. (Second Ed, 145-147). Academic Press.
- Pineda, S. Q. (2021). Estudio estructural e interacción del dominio r1 del factor de transcripción A-Myb de humano. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Poian D., Carneiro F., y Stauffer F. (2005). Viral membrane fusion: is glycoprotein G of rhabdoviruses a representative of a new class of viral fusion preteins? *Braz J Med Biol Res*, 38, 813-23.
- Prehaud, C., Coulon, P., LaFay, F., Thiers, C. y Flamand, A. (1988). Antigenic site II of the rabies virus glycoprotein: structure and role in viral virulence. *J Virol*, 62.
- Rahmahani, J., Suwarno, S., Yunuarti, W. M. y Rantam, F. A. (2019). Antigenic site of nucleoprotein gene from Indonesian rabies virus isolates. *Vet World*, 12.

- Ramírez-Bello, J., Vargas-Alarcón, G., Tovilla-Zárate, C. y Fragoso, J. M. (2013). Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs): implicaciones funcionales de los SNPs reguladores (rSNPs) y de los SNPS-ARN estructurales (srSNPs) en enfermedades complejas. *Gac Med Mex*, 149, 220-228.
- Raux, H., Flamand, A. y Blondel, D. (2000). Interaction of the Rabies Virus P Protein with the LC8 Dynein Light Chain. *J Virol*, 74, 10212–10216.
- Real, L.A., Henderson, J.C., Biek, R., Snaman, J., Jack, T.L., Childs, J.E., Stahl, E., Waller, L., Tinline, R. y Nadin-Davis, S. (2005). Unifying the spatial population dynamics and molecular evolution of epidemic rabies virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 12107–12111.
- Reid, F. A. (1997). A field guide to the mammals of Central America and Southeast Mexico. New York: *Oxford University Press*.
- Reddy, G. B., Singh, R., Singh, R. P., Singh, K. P., Gupta, P. K., Mahadevan, A., Shankar, S. K., Ramakrishnan, M. A. y Verma, R. (2011). Molecular characterization of Indian rabies virus isolates by partial sequencing of nucleoprotein (N) and phosphoprotein (P) genes. *Virus Genes*, 43(1), 13-7.
- Rieder, M. y Conzelmann, K.-K. (2011). Interferon in Rabies Virus Infection. *Adv Virus Res*, 79, 91–114.
- Ross, A., Favi, M. y Vásquez, A. (2008). Glicoproteína del virus rábico: Estructura, inmunogenicidad y rol en la patogenia. *Rev Chil Infect*, 25(2).
- Sánchez-Cordero, V., Rodríguez, P., Moreno-Almeraya, N. y Jiménez-Cruz, M. (2020). Desmodus rotundus (murciélago vampiro) Distribución Potencial en México. Catálogo de metadatos geográficos. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Geoportal CONABIO. <http://geoportal.conabio.gob.mx/metadatos/doc/html/dro040dpgw.html>.

- Sánchez, M., Díaz, O., Sanmiguel, R., Ramírez, A. y Escobar, L. (2019). Rabia en las Américas, varios desafíos y «Una Sola Salud»: artículo de revisión. *Rev investing vet Perú*, 30(4).
- Sanjuán, R. y Domingo-Calap, P. (2021). Genetic Diversity and Evolution of Viral Populations. *Encyclopedia of Virology*, 1, 53–61.
- Sarmiento, L., Li, X., Howerth, E., Jackson, A. C. y Fu, Z. F. (2005). Glycoprotein-mediated induction of apoptosis limits the spread of attenuated rabies viruses in the central nervous system of mice. *J Neurovirol*, 11:571–581.
- Schneider, L. G. (1982). Antigenic variants of rabies virus. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 5(1-3), 101-107.
- Scott T.P., Fischer M., Khaiseb S., Freuling C., Hoper D., Hoffmann B., Markotter W., Müller T. y Nel L.H. (2013). Complete genome and molecular epidemiological data infer the maintenance of rabies among kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) in Namibia. *PLoS ONE*, 8 (3), e58739.
- Secretaría de Salud (SSA). (2018). Rabies: an ancient disease. *Blog Secretaría de Salud*. <https://www.gob.mx/salud/en/articulos/rabies-an-ancient-disease#:~:text=Rabies%20is%20an%20ancient%20disease,qualifies%20Hector%20as%20%22rabid%22>.
- Secretaría de Salud (SSA). (2023). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS ESTANDARIZADOS PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE RABIA HUMANA. https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/27_Manual_VE_RabiaenHumano_2023.pdf
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2022). Rabia paralítica. *Campañas Zoonositarias*. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-para-la-prevencion-y-control-de-la-rabia-en-bovinos-y-especies-ganaderas>

- Seif, I., Coulon, P., Rollin, P. E. y Flamand, A. (1985). Rabies virulence: effect on pathogenicity and sequence characterization of rabies virus mutations affecting antigenic site III of the glycoprotein. *J Virol*, 53(3).
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2024). Rabia paralítica bovina. https://dj.senasica.gob.mx/ASIA/Zoosanitario/rabia_paralitica_bovina?tipoIngreso=publicy tipoVista=public
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2025). Rabia en bovinos y especies ganaderas. <https://dj.senasica.gob.mx/AtlasSanitario/storymaps/rpb.html>
- Shankar, S. K., Mahadevan, A., Dias, S., Ghodkirekar, M. S. G., Pinto, R. G. W. y Madhusudana, S. N. (2012). Rabies viral encephalitis with proable 25 year incubation period! *Ann Indian Acad Neurol*, 15(3), 221-223.
- Shastry, B. S. (2009). SNP: Impact on Gene Function and Phenotype en A. A. Komar (Ed.), Single Nucleotide Polymorphisms, 3–22.
- Shi, C., Sun, P., Yang, P., Liu, L., Tian, L., Liu, W., Wang, M., Zheng, X. y Zheng, W. (2022). Research progress on neutralizing epitopes and antibodies for the Rabies virus. *Infectious Medicine*, 1(4), 262-271.
- Shimizu, K., Ito, N., Mita., T., Yamada, K., Hosokawa-Muto, J., Sugiyama, M. y Minamoto, N. (2007). Involvement of nucleoprotein, phosphoprotein, and matrix protein genes of rabies virus in virulence for adult mice. *Virus Res*, 123(2).
- Skevaki C., Pararas M., Kostelidou K., Tsakris A. y Routsias J. G. (2015). Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. *Clin Exp Immunol*, 180, 165–177.

- Sonthonnax, F., Besson, B., Bonnaud, E., Jouvion, G., Merino, D., Larrous, F. y Bourhy, H. (2019). Lyssavirus matrix protein cooperates with phosphoprotein to modulate the Jak-Stat pathway. *Sci Rep*, 9, 12171.
- Srinivasan S., Clements J. A., y Batra J. (2016). Single nucleotide polymorphisms in clinics: Fantasy or reality for cancer? *Crit Rev Clin Lab Sci*, 53, 29–39.
- Streicker, D. y Biek, R. (2020). Evolution of rabies virus. *ELSEVIER*, 85-103.
- Sugiyama, A., Nomai, T., Jiang, X., Minami, M., Yao, M., Maenaka, K., Ito, N., Gooley, P.R., Moseley, G.W. y Ose, T. (2020). Structural comparison of the C-terminal domain of functionally divergent lyssavirus P proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 529, 507–512.
- Takayama-Ito, M., Ito, N., Yamada, K., Sugiyama, M. y Minamoto, N. (2006). Multiple amino acids in the glycoprotein of rabies virus are responsible for pathogenicity in adult mice. *Virus Res*, 115, 169–175.
- Tien, M. Z., Meyer, A. G., Sydykova, D. K., Spielman., S. J. y Wilke, C. O. (2013). Maximum Allowed Solvent Accessibilites of Residues in Proteins. *PLOS ONE*, 8(11), e80635.
- Tohma, K., Saito, M., Kamigaki, T., Tuason, L.T., Demetria, C.S., Orbina, J.R., Manalo, D.L., Miranda, M.E., Noguchi, A., Inoue, S., Suzuki. A., Quiambao, B.P. y Oshitani, H. (2014). Phylogeographic analysis of rabies viruses in the Philippines. *Infect Genet Evol*, 23, 86-94.
- Tordo, N. y Kouknetzoff, A. (1993). The rabies virus genome: an overview. *Onderstepoort J Vet Res*, 60(4), 263-269.
- Tordo, N., Poch, O., Ermine, A., y Keith, G. (1986). Primary structure of leader RNA and nucleoprotein genes of the rabies genome: segmented homology with VSV. *Nucleic Acids Res*, 14(6), 2671-2683.
- Tordo, N., Poch, O., Ermine, A., Keith, G. y Rougeon, F. (1988). Completion of the rabies virus genome sequence determination: highly conserved domains among the L (polymerase) proteins of unsegmented negative-strand RNA viruses. *Virology*, 165(2), 565-576.

- Torres-Castro, M. A., Cruz-Romero, A., Ochoa-Valencia, J. L., Torres-León, M. A. y Lugo-Caballero, C. I. (2023). La rabia: enfermedad zoonótica reemergente en México. *Bioagrociencias*, 16(1), 15-26.
- Troupin, C., Dacheux, L., Tanguy, M., Sabeta, C., Blanc, H., Bouchier, C., Vignuzzi, M., Duchene, S., Holmes, E. C. y Bouhry, H. (2016). Large-Scale Phylogenomic Analysis Reveals the Complex Evolutionary History of Rabies Virus in Multiple Carnivore Hosts. *PLoS Pathog*, 12(12), e1006041.
- Tuffereau, C., Leblois, H., Bénéjean, J., Coulon, P., Lafay, F. y Flamand, A. (1989). Arginine or lysine in position 333 of ERA and CVS glycoprotein is necessary for rabies virulence in adult mice. *Virology*, 172(1).
- UniProt Consortium. (2023). Transcription factor p65 subunit (P25223). UniProt. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P25223/entry>.
- Velasco, A. (2014). Epidemiología molecular de la rabia en México en E.Loza (Ed.), *LA RABIA: entre la tradición y la vanguardia* (Primera ed., 12-19). INIFAP.
- Velasco-Villa, A., Orciari, L., Juárez-Islas, V., Gómez-Sierra, M., Padilla-Medina, I., Flisser, A., Souza, V., Castillo, A., Franka, R., Escalante-Mañe, M., Sauri-González, I. y Rupprecht, C. (2006). Molecular Diversity of Rabies Viruses Associated with Bats in Mexico and Other Countries of the Americas. *J. Clin. Microbiol*, 44(5).
- Velasco-Villa, A., Escobar, L. E., Sanchez, A., Shi, M., Streicker, D. G., Gallardo-Romero, N. F., Vargas-Pino, F., Gutierrez-Cedillo, V., Damon, I. y Emerson, G. (2017). Successful strategies implemented towards the elimination of canine rabies in the Western Hemisphere. *Antiviral Res*, 143, 1–12.
- Vilchis, J. (1974). Epidemiología de la rabia en México. *Salud Pública de México*, 16(3), 407-418.
- Villanueva, A. (2021). Análisis en las mutaciones de las replicasas del virus Qβ. [Tesis de grado]. Universidad Politécnica de Madrid.

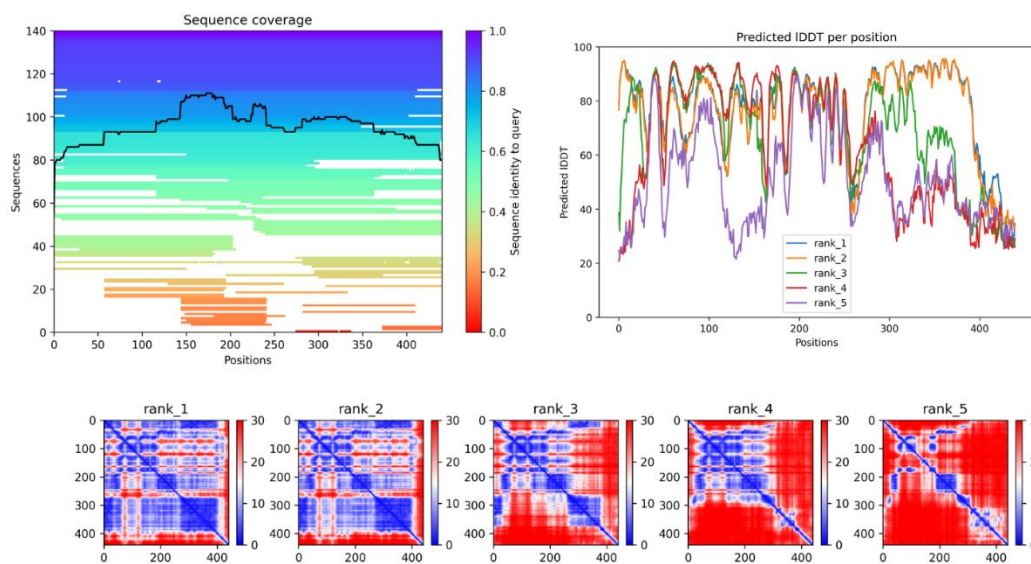
- Wadhwa, A., Wilkins, K., Gao, J., Condori-Condori, R. E., Gigante, C. M., Zhao, H., Ma, X., Ellison, J. A., Greenberg, L., Velasco-Villa, A., Orciari, L. y Li, Y. (2017). A Pan-Lyssavirus Taqman Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Highly Variable Rabies virus and Other Lyssaviruses. *PLoS Negl Trop Dis*, 11(1), e0005258.
- Wallace R.M., Gilbert A., Slate D., Chipman R., Singh A., Wedd C. y Blanton J.D. (2014). Right place, wrong species: a 20-year review of rabies virus cross species transmission among terrestrial mammals in the United States. *PLoS ONE*, 9 (10), e107539
- Wang, W., Ma, J., Nie, J., Li, J., Cao, S., Wang, L., Yu, C., Huang, W., Li, Y., Yu, Y., Liang, M., Zirkle, B., Chen, X. S., Li, X., Kong, W. y Wang, Y. (2019). Antigenic variations of recent street rabies virus. *Emerg Microbes Infect*, 8(1), 1584–1592.
- Whetstone, C. A., Bunn, T. O., Emmons, R. W. y Wiktor, T. J. (1984). Use of monoclonal antibodies to confirm vaccine-induced rabies in ten dogs, two cats, and one fox. *J Am Vet Med Assoc*. 85, 285–8
- Yaguana, J. y López, M. (2017). Canine rage: its history, epidemiology and its control measures. *REDVET*, 18(9), 1-13.
- Yang, D. K., Nakagawa, K., Ito, N., Kim, H. H., Hyun, B. H., Nah, J. J., Sugiyama, M. y Song, J. K. (2014). A single immunization with recombinant rabies virus (ERAG3G) confers complete protection against rabies in mice. *Clin Exp Vaccine Res*, 3, 176–84.
- Yang, F., Lin, S., Ye, F., Yang, J., Qi, J., Chen, Z., Lin, X., Wang, J., Yue, D., Cheng, Y., Chen, Z., Chen, H., You, Y., Zhang, Z., Yang, Y., Yang, M., Sun, H., Li, Y., Cao, Y., Yang, S., Wei, Y., Gao, G. y Lu, G. (2019). Structural Analysis of Rabies Virus Glycoprotein Reveals pH-Dependent Conformational Changes and Interactions with a Neutralizing Antibody. *Cell Host y Microbe*. *Cell Host y Microbe*, 27, 1-13.
- Yin,J., Wang,X., Mao,R., Zhang, Z., Gao, X., Luo, Y., Sun, Y. y Yin, X. (2021). Research Advances on the Interactions between Rabies Virus Structural Proteins and Host

- Target Cells: Accrued Knowledge from the Application of Reverse Genetics Systems. *Viruses*, 13, 2288.
- You, Y., Yang, F., Lin, S., Chen, Z., Shu, S., Yu, Y., He, B., Cao, Y., y Guangwen, L. (2025). Rabies virus glycoprotein: Structure, function, and antivirals. *hLife*, 1-20.
- Zandi, F., Goshadrou, F., Meyfour, A., y Vaziri, B. (2021). Rabies Infection: An Overview of Lyssavirus-Host Protein Interactions. *Iran.Biomed*, 25(4), 226-242.
- Zhang, G., Wang, H., Mahmood, F. y Fu, Z.F. (2013). Rabies virus glycoprotein is an important determinant for the induction of innate immune responses and the pathogenic mechanisms. *Veter Microbiol*, 162, 601–613.
- Zinsstag, J., Lechenne, M., Laager, M., Mindekem, R., Naïssengar, S., Oussiguéré, A., Bidjeh, K., Rives, G., Tessier, J., Madjaninan, S., Ouagal, M., Moto, D. D., Alfaroukh, I. O., Muthiani, Y., Traoré, A., Hattendorf, J., Lepelletier, A., Kergoat, L., Bourhy, H., Dacheux, L., Stadler, T. y Chitnis, N. (2017). Vaccination of dogs in an African city interrupts rabies transmission and reduces human exposure. *Sci Transl Med*, 9(421), eaaf6984.

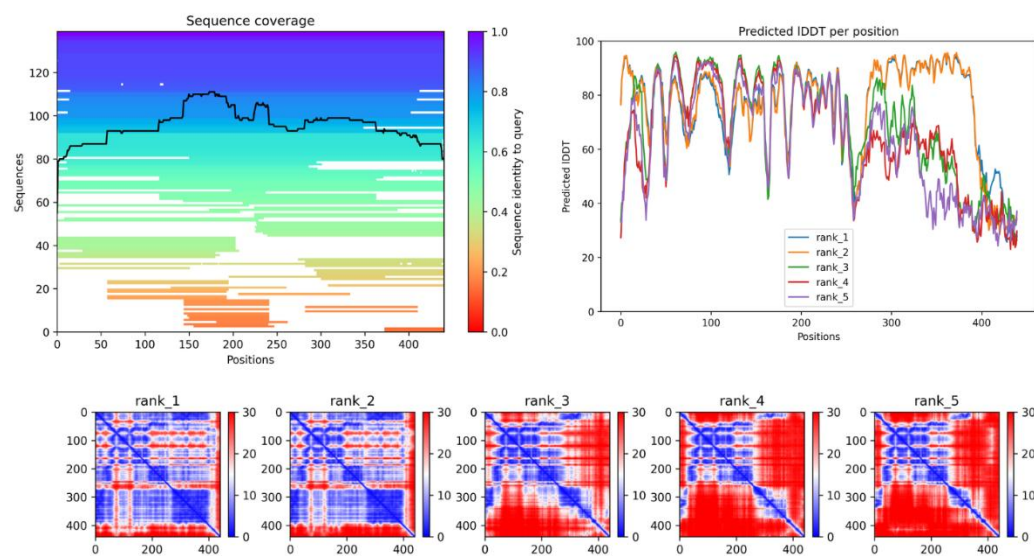
X. ANEXOS

Anexo 1.

a. Gráfico de cobertura, pLDDT y PAE de G_ERA



b. Gráfico de cobertura, pLDDT y PAE de G_SAD



c. Gráfico de cobertura, pLDDT y PAE de G_CENASA-MX24-Rab113

