Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable

Filogeografía del genoma completo del virus de la rabia circulante en *Desmodus rotundus* en México

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestra en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta:

MVZ Paulina Fragoso Zamora

Dirigida por:

Dra. Isabel Bárcenas Reyes

Co-dirigida por:

Dr. Juan Antonio Montaño Hirose

Dra. Isabel Bárcenas Reyes Presidenta	Firma
Dr. Juan Antonio Montaño Hirose Secretario	Firma
Dra. Sara González Ruiz Vocal	Firma
Dr. Feliciano Milián Suazo Vocal	Firma
MC. Emilio Venegas Cureño Vocal	Firma

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

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DGBSDI-UAQ

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.

RESUMEN

Se realizó un estudio de epidemiología molecular del virus de la rabia (VRAB) asociado a *D. rotundus* en México, se analizaron datos epidemiológicos, genéticos y espaciales a partir de la información de 13 secuencias de genoma completo (SGC) del VRAB provenientes de muestras encefálicas de *D. rotundus* en México del 2020 al 2024. Se recopilaron 160 registros de casos de rabia en el periodo de 2010 a 2024, distribuido en 24 entidades. El análisis filogenético reveló dos clados principales subdivididos en cuatro agrupamientos con un buen soporte estadístico (>75 % de bootstrap). Los cuatro grupos correspondieron a las regiones del centro-oeste (Jalisco, Colima, Estado de México, Michoacán, Nayarit), norte (Chihuahua, Sinaloa), costa-sur (Guerrero, Oaxaca, Puebla) y Golfo-centro (Tamaulipas, Veracruz, Querétaro). La reconstrucción temporal permitió estimar el ancestro común más reciente (tMRCA), que infirió que la diferenciación de los dos clados principales alrededor de 1808. Dentro de estos grupos se identificaron nodos entre finales de 1800 e inicios de los 2000. En el análisis de estructura poblacional, se observó que la población viral estudiada es genéticamente homogénea. En cuanto al componente ecológico, se identificó que la orografía es el factor más importante para la distribución de los 13 murciélagos muestreados y que las variables bioclimáticas relevantes están relacionadas con la estacionalidad de la precipitación en los meses más secos y la estabilidad de la temperatura. En conjunto, los resultados muestran que la distribución de las 13 SGC del VRAB están influenciadas por la proximidad y conectividad entre colonias del murciélago hematófago. Este estudio aporta información molecular y ambiental para comprender la dinámica del VRAB asociado a *D. rotundus* en México y destaca la importancia de fortalecer la vigilancia epidemiológica y genómica en México.

Palabras clave: rabia, genoma completo, filogeografía, *Desmodus rotundus*, México.

SUMMARY

A molecular epidemiological study of the rabies virus (RABV) associated with *D. rotundus* in Mexico was performed, based on an analysis of epidemiological, genetic, and spatial data derived from 13 whole-genome sequences (WGS) of RABV obtained from brain samples of *D. rotundus* in Mexico from 2020 to 2024. A total of 160 rabies case records were recorded between 2010 and 2024, distributed across 24 states. Phylogenetic analysis revealed two major clades subdivided into four clusters with strong statistical support (>75 % bootstrap). The four groups corresponded to the Central-West (Jalisco, Colima, State of México, Michoacán, Nayarit), North (Chihuahua, Sinaloa), South Coast (Guerrero, Oaxaca, Puebla), and Central Gulf (Tamaulipas, Veracruz, Querétaro) regions. Temporal reconstruction allowed for the estimation of the most recent common ancestor (tMRCA), locating the divergence of the two main clades around 1808. Nodes between the late 1800s and early 2000s were identified within these clusters. In the population structure analysis, it was observed that the bat population studied is genetically homogeneous. Concerning the ecological component, it was found that orography is the most important factor contributing to the distribution of the 13 bat species sampled, and that the relevant bioclimatic variables are related to the seasonality of precipitation during the driest months and temperature stability. In summary, the results show that the distribution of the 13 WGS of the RABV is influenced by the proximity and connectivity between colonies of the hematophagous bat. This study provides molecular and environmental information to understand the dynamics of the RABV associated with *D. rotundus* and highlights the importance of strengthening epidemiological and genomic surveillance in Mexico.

Keywords: rabies, whole genome, phylogeography, *Desmodus rotundus*, Mexico.

DEDICATORIA

Gracias a la gran red de amor que me ha sostenido e impulsado en cada paso de mi vida y de mi formación. Este logro lo dedico a quienes me han acompañado en este camino y que me han brindado su apoyo.

A Fernando Mateo Fragoso. Aunque no estás físicamente para celebrar este logro conmigo, vives en mi corazón y tu amor sigue siendo esa luz que me acompaña en cada paso. Gracias por el amor infinito que compartimos en este corto tiempo, la enseñanza de lo valiente que incluso un niño se puede ser. Sé que desde el cielo me acompañas a cumplir este sueño y cada uno de mis logros van dedicados hasta el cielo para ti.

A mis papás. Por ser mi gran ejemplo de fuerza y perseverancia, por creer en mí y brindarme su apoyo para seguir mis metas. Todo lo que soy es reflejo de su esfuerzo y amor incondicional.

A mi esposo. Por tu amor y paciencia, por mantenerte incondicional a mi lado, aún a kilómetros de nuestro hogar. Por estar conmigo en cada tutorial dándome ánimos y ser mi fortaleza en los momentos en los que más lo necesitaba. Este logro es tan tuyo como mío.

A mis hermanas. Mis compañeras y fuente de alegría. Gracias por escucharme, animarme y por las risas que aligeraban los momentos de estrés. Su presencia y apoyo son invaluables en mi vida.

A mi amiga Jacqui. Por las risas y pláticas que aligeraron no solo las clases y trabajos, si no también la vida queretana. Gracias por las tardes divertidas, los cafés compartidos y tu entusiasmo siempre contagioso, tu amistad es sin duda, de lo más valioso que me llevo de esta experiencia llamada MSPAS.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo a la ciencia e investigación en nuestro país.

Al Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA), lugar en el que surgió mi interés por el control de la rabia, y a su Director, el Dr. Carlos Enrique Jasso Villazul que apoyó en el desarrollo de este trabajo, por su compromiso con la sanidad animal de nuestro país y el acompañamiento académico durante la maestría.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por brindarme la oportunidad de pertenecer a su comunidad académica, por su compromiso con la educación continua y sus programas de posgrado diseñados para atender las problemáticas de nuestro país.

A la Facultad de Ciencias Naturales por ofrecer un espacio que fomenta el trabajo interdisciplinario y enriquece a la comunidad estudiantil en cada una de nuestras actividades.

A la Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable que me permitió formarme no solo en áreas científicas aplicadas a mi proyecto, sino también en la sustentabilidad como una disciplina a considerar en cada una de nuestras áreas de trabajo, esto con el acompañamiento de profesores preparados y apasionados por sus temas.

A la Dra. Isabel Bárcenas Reyes, mi Directora de tesis, por brindarme un espacio de aprendizaje y confianza, su apoyo fue una luz constante en este camino, ha sido ejemplo de lo que es ser una mujer en la ciencia, con pasión por la investigación acompañada de calidez humana, abriendo camino a otras mujeres a las que inspira.

Al Dr. Juan Antonio Montaño Hirose, mi Codirector. Por motivarme a cumplir el sueño de hacer este posgrado, a pensar en grande y no temer a los desafíos. Por ser una fuente de inspiración constante, agradezco cada plática en la que me compartió su sabiduría, visión y amistad.

A la Dra. Sara González Ruiz, que además de ser parte de mi comité tutorial, me ha brindado su maravillosa amistad y compañía, siendo un gran apoyo, gracias por formar parte de los momentos más increíbles de la maestría.

Al Dr. Feliciano Milian Suazo por su valioso tiempo, acompañamiento y aportaciones en cada tutorial que ayudaron a enriquecer significativamente este trabajo bajo su perspectiva y experiencia.

Al Dr. Emilio Venegas Cureño, miembro de mi comité tutorial y jefe del Laboratorio de Biología Molecular del CENASA, quien me brindó su apoyo para el desarrollo de este trabajo y me permitió enriquecer mis habilidades de laboratorio.

Al Departamento de Zoonosis Virales del Animal and Plant Health Agency (APHA) en el Reino Unido, especialmente al Dr. Anthony Fooks, la Dra. Lorraine McElhinney y el Dr. Joan Amaya Cuesta, por recibirme en su laboratorio, brindarme su apoyo y compartir sus conocimientos durante tan enriquecedora estancia. Me llevo una gran experiencia tanto profesional como personal. Gracias también a Laura y Hooman, por su compañerismo y amistad.

A mi familia, mi esposo Moisés por su amor, apoyo, acompañamiento y paciencia, que fueron un gran soporte durante el tiempo de este proyecto de vida. A mis papás y a mis hermanas, que siempre han confiado en mí y me han motivado a seguir aprendiendo, gracias por ser mi fortaleza.

A mis compañeros y amigos de la MSPAS por compartir conmigo estos dos años de clases, por ser un grupo tan unido y empático, gracias a cada uno de ustedes que me brindaron su amistad.

A mis amigos del CENASA, quienes fueron mi equipo de trabajo y me brindaron su apoyo, motivándome a hacer este posgrado, los llevo en mi corazón con mucho cariño. Gracias especialmente a Paty y Marco del área de secuenciación, por los conocimientos compartidos. Y a mis amigos Adrián, Gaby, Jaqui, Isaac e Isra.

INDICE

RESUMEN.....I
SUMMARY II
DEDICATORIA III
AGRADECIMIENTOS..... IV
INDICE VI
ÍNDICE DE CUADROS..... VIII
ÍNDICE DE FIGURAS..... IX
I. INTRODUCCIÓN.....1
II. REVISIÓN DE LITERATURA 4
2.1.1. La rabia.....4
2.1.2. Generalidades de los lyssavirus 5
2.1.3. El virus de la rabia 8
2.1.4. Patogenia del virus de la rabia 10
2.1.5. Ciclo de replicación del virus de la rabia.....12
2.1.6. Situación de los casos de rabia en diferentes especies animales en América 14
2.1.7. Reservorios del virus de la rabia y potenciales transmisores en México 16
2.1.8. Rabia en *Desmodus rotundus* 17
2.2. Situación epidemiológica de los casos de rabia en murciélagos de América 23
2.2.1. Situación epidemiológica de la rabia en *Desmodus rotundus* en México 25
2.3. Diagnóstico y caracterización del virus de la rabia 32
2.3.1. Epidemiología molecular del virus de la rabia 35
2.3.2. Análisis filogenéticos 37
2.3.3. Filogeografía del virus de la rabia.....40

III. HIPÓTESIS 42
IV. OBJETIVOS 43
4.1.1. Objetivo general 43
4.1.2. Objetivos específicos.....43
V. MATERIAL Y MÉTODOS 44
5.1. Obtención de la información de casos de rabia en *D. rotundus* 44
5.2. Obtención de las SGC del VRAB proveniente de *D. rotundus* 45
5.3. Análisis espacial de los casos de rabia en *D. rotundus* y las SGC 46
5.4. Análisis filogenético 47
5.5. Análisis filogeográfico 48
VI. RESULTADOS 52
VII. DISCUSIÓN.....82
VIII. CONCLUSIÓN.....91
IX. REFERENCIAS 92

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Especies del género *Lyssavirus*.	6
2	Número de casos de rabia en murciélagos en el Continente Americano de 2020 al 2024.	24
3	Distribución de casos de rabia en murciélagos en México por estado de 2020 al 2024.	30
4	Número de muestras encefálicas provenientes de murciélagos enviadas a diagnóstico de rabia por IFD en México (2020-2024).	31
5	Variantes antigénicas del VRAB.	34
6	Variables bioclimáticas.	51
7	Frecuencia del número de casos de rabia en México en *D. rotundus* por año en el periodo de 2010 al 2024..	52
8	Distribución de los casos de rabia en *D. rotundus* ocurridos en México de 2010 al 2024 por estado.	53
9	Secuencias de genoma completo del VRAB proveniente de *D. rotundus* mexicanos del periodo 2020 a 2024.	57
10	Modelo de sustitución para cada grupo de secuencias.	62
11	Secuencias de genoma completo aisladas en *D. rotundus.*	65
12	Secuencias de genoma completo del virus de la rabia aisladas en México.	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Componentes del virus rábico.	9
2	Ciclo de replicación del virus de la rabia.	13
3	Estructura del genoma del virus de la rabia.	13
4	Distribución de casos de rabia y grupo de animales afectados en las Américas del 2020 al 2025.	15
5	Casos de rabia en las Américas por tipo de variante del 2020 al 2025.	16
6	Distribución geográfica de sitios con reporte de presencia de *Desmodus rotundus*.	19
7	Componentes de un árbol filogenético.	39
8	Distribución espacial de los casos de rabia en *D. rotundus* reportados del 2010 al 2024.	54
9	Distribución de la presencia de *D. rotundus* (de 1901 a 2019) y casos de rabia de 2010 a 2024 en *D. rotundus* en México.	55
10	Distribución altitudinal de la presencia y casos positivos a rabia en *D. rotundus.*	56
11	Mapa de distribución espacial de 13 SGC-VRAB-DR-MX de acuerdo con la altitud en m s. n. m.	57
12	Distribución espacial de 13 SGC-VRAB-DR-MX, registros de presencia de *D. rotundus* y casos de rabia en humanos asociados a las variantes antigénicas del reservorio.	59
13	Distribución de los sitios con presencia de murciélago *D. rotundus* con el número de cabezas de ganado bovino.	60
14	Distribución de los casos de rabia en bovinos, humanos y *D. rotundus* sobre la producción bovina en México.	61
15	Árbol filogenético de 13 secuencias de genoma completo del virus de la rabia circulante en *Desmodus rotundus* de 13 estados de México.	64
16	Árbol filogenético de secuencias del virus de la rabia aisladas de Desmodus rotundus o asociada a *D. rotundus*.	66
17	Árbol filogenético de secuencias del virus de la rabia aislados en México.	70
18	Árbol filogenético con reloj molecular por inferencia bayesiana de 16 SGC-VRAB-DR-MX.	71
19	Árbol filogenético con reloj molecular de SGC-VRAB-DR-MX de México.	74
20	Proporción de ancestría de las 13 SGC-VRAB-DR-MX-MEX.	75
21	Proporción de ancestría de secuencias de genoma completo aisladas o caracterizadas como origen *D. rotundus* de México.	76

Figura		Página
22	Varianza explicada: Orografía, altitud y 9 variables bioclimáticas para 13 sitios de muestreo de *D. rotundus* en México.	78
23	Análisis de la contribución de las variables bioclimáticas y altitud para la distribución de 13 sitios con presencia de *D. rotundus.*	79
24	Distribución 13 SGC-VRAB-DR-MX de acuerdo con las 15 provincias fisiográficas de México.	80
25	Análisis de la relación entre los sitios de origen geográfico de 13 murciélagos *D. rotundus* mexicanos positivos al VRAB con las provincias fisiográficas de México.	80

I. INTRODUCCIÓN

La rabia es zoonosis causada por un virus de ARN neurotrópico de la familia *Rhabdoviridae* del género *Lyssavirus*, con una letalidad del 100 % una vez que se desarrollan los signos clínicos (Carnieli *et al*., 2009; Escobar *et al*., 2013; Dietzgen *et al*., 2017). Según el tipo de reservorio, la rabia presenta dos ciclos epidemiológicos, el ciclo urbano que afecta a perros y otras especies de mamíferos en estrecho contacto con el ser humano y el ciclo silvestre que involucra a reservorios de fauna silvestre terrestre y a murciélagos (Aréchiga-Ceballos *et al*., 2022). En América Latina el reservorio principal y potencial transmisor del virus de la rabia a animales domésticos y humanos es el murciélago hematófago o vampiro común *Desmodus rotundus* (*D. rotundus*) (Dietzgen *et al*., 2017). En 2019, México fue reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como país libre de casos humanos de rabia transmitida por perros como problema de salud pública, sin embargo, el virus de la rabia (VRAB) se mantiene circulando en fauna silvestre, principalmente en *D. rotundus*, lo que representa un riesgo para la incidencia de casos de rabia en humanos, perros, gatos y especies ganaderas en las zonas donde el murciélago está presente (Aréchiga-Ceballos *et al*., 2022; Ortega-Sánchez *et al*., 2024).

De acuerdo con los registros de los casos de rabia depositados en el Sistema de Información de la Rabia en las Américas (SIRVERA) del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria (PANAFTOSA/SPV), los casos de rabia en México se han asociado a la transmisión del VRAB mantenido en el ciclo epidemiológico silvestre, donde el transmisor es principalmente, el murciélago *D. rotundus*, seguido de especies terrestres silvestres tales como: zorros y zorrillos. El último caso de rabia en humano transmitido por perro, fue en el Estado de México en 2006, y el último caso en un canino por la variante antigénica 1 (AgV1), asociada a caninos, fue en el 2016 en Chiapas, lo que refleja el control del ciclo urbano

en nuestro país. Es así que, en los últimos veinte años, de acuerdo con lo reportado en el SIRVERA y por el Centro Nacional de Prevención y Control de Enfermedades (CENAPRECE) de la Secretaría de Salud, de los 37 casos confirmados de rabia en humanos la mayoría fueron transmitidos directamente por la mordedura de fauna silvestre infectada con el VRAB (cinco por zorros, tres por zorrillo, un caso por murciélago no hematófago, diecisiete por murciélago hematófago y ocho por murciélagos no identificados) y solo dos por gato doméstico (no vacunados) por contacto con *D. rotundus* y dos por contacto con bovinos infectados con el VRAB. En cuanto al impacto de la rabia en animales, la vigilancia epidemiológica se centra en las especies domésticas y el murciélago hematófago como el principal reservorio.

De acuerdo con los datos disponibles de rabia en animales del SIRVERA, del 2020 al 2024, la especie bovina representa el 88.43 % de los casos de rabia, seguida de los equinos y murciélago hematófago con el 4.67 % y 4.35 % respectivamente, en menor porcentaje ovinos y caprinos. Los estados más afectados en este periodo fueron principalmente Veracruz con un 16.18 % de los casos de rabia, Puebla con un 10.10 %, Nayarit y Chiapas con el 9.5 %, Tabasco y San Luis Potosí con el 6.84 % (PANAFTOSA s.f.).

El VRAB circulante en murciélagos *D. rotundus* es un problema urgente de atender en México como parte de los esfuerzos para la meta global de cero casos humanos de rabia para el 2030. La epidemiología molecular del VRAB en México se ha basado en la construcción de filogenias a partir de secuencias parciales del genoma, esto ha permitido explicar asociaciones entre los linajes virales circulantes en sus reservorios en una misma zona geográfica de acuerdo con sus variantes antigénicas y ha sido útil para comprender la diseminación del virus de campo en diferentes zonas geográficas. Sin embargo, la evaluación de genes parciales limita la

comparación entre genes, regiones reguladoras y no codificantes que pudieran interferir en la presión de selección y por ende en la tasa de mutación de cada región ocultando patrones filogenéticos de los linajes virales que circulan en murciélagos vampiro (Wadas *et al*., 2025). El uso de secuencias de genoma completo del VRAB en los estudios filogenéticos aumenta el poder discriminatorio para una mejor diferenciación de los linajes (Bárcenas-Reyes *et al*., 2017; Wadas *et al*., 2025) para identificar riesgos zoonóticos emergentes de la enfermedad a causa de la potencial adaptación evolutiva del virus en sus reservorios naturales como *D. rotundus*.

Por lo anterior, el análisis filogeográfico de las secuencias de genoma completo nos permite conocer con mayor precesión la diversidad y distribución geográfica de los linajes del VRAB que afectan al quiróptero *D. rotundus* en el territorio mexicano con miras a un combate más informado y científico de la rabia en los bovinos y otras especies ganaderas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.1. La rabia

La rabia es una zoonosis causada por un virus de ARN neurotrópico (familia *Rhabdoviridae* del género *Lyssavirus*, del orden *Mononegavirales*), que afecta a un amplio rango de mamíferos, es transmitida frecuentemente por la mordedura de un animal infectado a través de la saliva. La enfermedad tiene una distribución mundial, excepto en la Antártida y Oceanía (Rupprecht *et al*., 2022). La rabia, anualmente causa 59,000 muertes en humanos de las cuales el 40 % ocurre en niños menores de 15 años (OMS 2024). Se ha documentado que el 99 % de todos los casos de rabia humana en el mundo se produce a través de la transmisión por perros, particularmente en Asia con y África con 20,000 y 24,000 casos respectivamente (Acharya *et al.,* 2022). La rabia tiene dos ciclos epidemiológicos, asociados con especies de los órdenes *Carnivora* y *Chiroptera* (Troupin *et al*., 2016), como principales reservorios.

En América Latina y México el murciélago hematófago *D. rotundus* es la principal fuente natural de infección y reservorio del VRAB. La mayoría de los casos de rabia transmitidos por *D. rotundus* infectados ocurren en las especies ganaderas, principalmente bovinos, aunque en recientes años se ha observado un aumento en el número de caso en seres humanos asociado a la transmisión indirecta del VRAB proveniente de variantes antigénicas (AgV3, AgV5 y AgV11) correspondientes a *D. rotundus* (Carnieli *et al*., 2009; Escobar *et al*., 2013; Dietzgen *et al*., 2017).

Esta zoonosis es mortal una vez que se desarrollan los signos clínicos, por lo cual, se han desarrollado vacunas para prevenir la enfermedad en animales y en humanos (Acharya *et al.,* 2022). En países en los que la rabia transmitida por caninos había sido controlada a través de campañas de vacunación masiva y control poblacional, es considerada como una

enfermedad reemergente, ya que generalmente los casos están asociados al creciente contacto con especies silvestres o por contacto indirecto con animales domésticos (Johnson *et al*., 2014). La rabia es una zoonosis modelo para el enfoque de “Una Sola Salud”, ya que su estudio involucra la interacción de las especies virales, los diversos reservorios mamíferos, así como de las poblaciones humanas y animales expuestos que habitan un ambiente en común, por lo que se requiere de trabajo interdisciplinario para el óptimo control de esta enfermedad (Banyard y Fooks, 2017; Fooks *et al*., 2017; Velasco-Villa *et al*., 2017; Stuchin *et al*., 2018; Rupprecht *et al*., 2022; Dascalu *et al*., 2023; Huaman *et al*., 2023).

2.1.2. Generalidades de los lyssavirus

Los virus clasificados en el género *Lyssavirus* contienen cinco genes de proteínas estructurales: N (nucleoproteína), P (fosfoproteína), M (proteína de la matriz), G (glicoproteína) y L (ARN polimerasa dependiente de ARN), en el orden 3′- N - P - M - G - L -5′ (Kuzmin *et al*., 2008; Schnell *et al*., 2010; Albertini *et al*., 2011; Fisher *et al*., 2018; Walker *et al*., 2022; Khairullah *et al*., 2023; Tordo y Walker, 2025). La caracterización viral ha demostrado la diversidad del género *Lyssavirus* y con los avances tecnológicos, como la secuenciación de genomas, la taxonomía de este género continúa evolucionando, lo que es de gran importancia, para conocer a organismos de importancia tanto para la salud pública como para la salud animal (Banyard y Fooks, 2017; Fooks *et al*., 2017; Rupprecht *et al*., 2022).

Los lyssavirus causan encefalomielitis progresiva aguda (rabia) en mamíferos, y se transmiten entre individuos susceptibles directamente por mordeduras, rasguños o contaminación de las membranas mucosas con saliva infectada. La mayoría de las especies de este género (Cuadro 1) se han relacionado a quirópteros, actualmente de 19 virus que conforman el

género, 17 están asociados con murciélagos, así como los 3 virus que están en revisión por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, por sus siglas en inglés de International Committee on Taxonomy of Viruses), para ser clasificados dentro del género (Walker *et al*., 2022; Tordo y Walker, 2025).

La clasificación de los lyssavirus por el ICTV es en función de las propiedades antigénicas y las relaciones filogenéticas, por lo que se agruparon a en dos filogrupos (Walker *et al*., 2022) y en otros reportes se menciona un tercer filogrupo en donde agrupan a los virus más divergentes del género WCBV, IKOV y LLBV (Huaman *et al*., 2023; Organización Mundial de Sanidad Animal [OMSA], 2023).

El filogrupo I agrupa al VRAB, ABLV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ARAV, KHUV, KBLV, BBLV, IRKV, TWBLV, KBLV y GBLV. El filogrupo II incluye a MOKV, LBV y SHIBV (Walker *et al*., 2022). La importancia de conocer que estos filogrupos con patogenicidad e inmunogenicidad bien diferenciadas (Kuzmin *et al*., 2010) radica en que las vacunas y esquemas profilácticos contra el VRAB podrían no aportar inmunidad cruzada contra virus fuera del filogrupo I (OMSA, 2023).

Cuadro 1. Especies del género *Lyssavirus.*

Especie	Acceso al GenBank	Nombre del virus	Abreviatura	Filogrupo
Lyssavirus aravan	EF614259	Aravan virus	ARAV	I
Lyssavirus australis	AF081020	Australian bat lyssavirus	ABLV	I
Lyssavirus bokeloh	JF311903	Bokeloh bat lyssavirus	BBLV	I
Lyssavirus duvenhage	EU293119	Duvenhage virus	DUVV	No clasificado
Lyssavirus hamburg	EF157976	European bat lyssavirus 1	EBLV-1	I
Lyssavirus helsinki	EF157977	European bat lyssavirus 2	EBLV-2	I
Lyssavirus gannoruwa	KU244266	Gannoruwa bat lyssavirus	GBLV	I
Lyssavirus ikoma	JX193798	Ikoma lyssavirus	IKOV	No clasificado

Lyssavirus irkut	EF614260	Irkut virus	IRKV	I
Lyssavirus khujand	EF614261	Khujand virus	KHUV	I
Lyssavirus kotalathi	LR994545	Kotalathi bat lyssavirus	KBLV	I
Lyssavirus lagos	EU293108	Lagos bat virus	LBV	II
Lyssavirus Lleida	KY006983	Lleida bat lyssavirus	LLEBV	
Lyssavirus mokola	Y09762	Mokola virus	MOKV	II
Lyssavirus rabies	M13215	Rabies virus	VRAB	I
Lyssavirus shimoni	GU170201	Shimoni bat virus	SHIBV	II
Lyssavirus formosa	MF472710	Taiwan bat lyssavirus	TWBLV	I
Lyssavirus caucasicus	EF614258	West Caucasian bat virus	WCBV	No clasificado
Virus relacionados, no clasificados	OQ428158	Divaea bat lyssavirus	DBLV	-
	OQ970171	Phala bat lyssavirus	PBLV	-
	ON437589	Taiwan bat lyssavirus 2	TWBLV2	-

Modificado de Walker *et al* (2022)

Los lyssavirus tienen una distribución mundial, excepto en la Antártida y algunas islas. Los reservorios y su distribución geográfica de algunos de estos virus, como los de murciélago europeos (EBLV) en Europa, están bien documentados, sin embargo, para la mayoría de los lyssavirus hay poca información desde una perspectiva epidemiológica, debido a la escasez de aislamientos de estos virus y monitoreo en estas especies. Específicamente, el VRAB tiene una distribución mundial y en las Américas tiene una asociación con los murciélagos hematófagos *D. rotundus* (Banyard y Fooks, 2017; Fooks *et al*., 2017).

Para todas las especies de lyssavirus, otros mamíferos, incluidos los humanos y las especies pecuarias representan casos de transmisión entre especies. La caracterización y clasificación de este género en quirópteros se sigue impulsando debido al interés de estas especies como reservorios de

agentes zoonóticos, desarrollar investigaciones sobre la patogenia, vías de trasmisión, tratamientos post-exposición y vacunación (Fooks *et al*., 2017).

2.1.3. El virus de la rabia

La composición química del virus de la rabia consta de ARN (2-3 %), proteínas (67-74 %), lípidos (20-26 %) y carbohidratos (3 %) (Walker *et al*., 2022; Tordo y Walker, 2025). Su virión posee una morfología en forma de bala de aproximadamente 75 x 200 nm (Itakura *et al*., 2023; Khairullah *et al*., 2023), atribuida a las condiciones de la gemación y captación viral (Fisher *et al*., 2018). La microscopía electrónica revela que la estructura del virión consta de una nucleocápside helicoidal interna y una envoltura lipídica que se deriva de la membrana citoplasmática del hospedero durante la gemación; también se observan espigas que atraviesan la membrana del virión, correspondientes a ectodominios de la proteína G (Hummeler *et al*., 1967; Gaudin *et al*., 1992; Walker *et al*., 2022).

En cuanto al material genético, es ARN monocatenario de sentido negativo y tiene una longitud de aproximadamente 12 kb. El ARN está asociado con la nucleocápside dentro de la Ribonucleoproteína (RNP) y es la plantilla para la transcripción y replicación del virus. Se transcribe en cinco ARNm monocistrónicos que codifican cinco proteínas estructurales (Figura 1) 3′- N - P - M - G - L -5′ (Kuzmin *et al*., 2008; Schnell *et al*., 2010; Albertini *et al*., 2011; Fisher *et al*., 2018; Walker *et al*., 2022; Khairullah *et al*., 2023; Tordo y Walker, 2025).

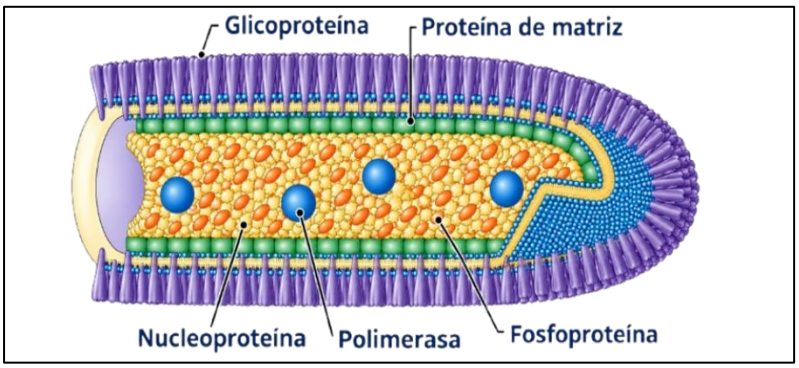


Figura 1. Componentes del virus rábico (Modificado de Schnell *et al., 2010*).

Las funciones de estas proteínas son vitales para el ciclo de replicación del virus. La fosfoproteína (P) es elemental tanto para la transcripción y replicación, como para el transporte axoplásmico mediante la interacción con los componentes proteicos celulares. El gen L codifica a la ARN polimerasa, los genes M y G codifican a la proteína de matriz y a la glicoproteína, respectivamente. La glicoproteína (G) es crucial para la unión inicial durante la infección de células susceptibles y es el blanco de los anticuerpos neutralizantes del virus (Khairullah *et al*., 2023).

Para la replicación del virus, es necesaria la interacción de sus componentes a nivel estructural, la subunidad no catalítica de la polimerasa (L) y la fosfoproteína (P) conforman un complejo que da lugar a la cápside viral. Esta se rodea de una membrana derivada de la célula hospedera que interactúa con las proteínas de matriz (M) y glicoproteína (G) del VRAB. La proteína M interactúa con la proteína G en el ensamblaje del virión lo que confiere la morfología de bala al condensar el ARN (Schnell *et al*., 2010; Mahadevan *et al*., 2016; Walker *et al*., 2022; Khairullah *et al*., 2023). De manera experimental se determinó que, en células infectadas, las proteínas N, P y M del VRAB tienen función en la modulación de la respuesta inmunitaria del hospedero a la infección (Masatani *et al*., 2010; Walker *et al*., 2022).

La continua evaluación y caracterización de los componentes del virus altamente conservado entre diferentes cepas, permite identificar objetivos potenciales para el desarrollo de vacunas y estrategias terapéuticas (Mahadevan *et al*., 2016).

2.1.4. Patogenia del virus de la rabia

El virus de la rabia tiene una vía de entrada y patogenia muy particular, caracterizadas por una eficiente evasión del sistema inmunitario. Al propagarse a través del sistema nervioso se evita la respuesta inmunitaria del hospedero, lo que da como resultado la ausencia de una respuesta temprana de anticuerpos. Esta neuroinvasión permite su progresión al sistema nervioso central (SNC) sin una fase virémica (Johnson *et al*., 2010; Schnell *et al*., 2010; Mahadevan *et al*., 2016).

La enfermedad se transmite por el contacto con saliva de animales infectados por el VRAB, mediante agresiones como mordeduras, rasguños o por exposición de membranas mucosas. En menor medida, se reporta la infección por aerosoles, en entornos en donde el VRAB se encuentra en altas concentraciones, lo que sugiere que esta vía de transmisión es de importancia en la circulación natural del virus (Fisher *et al*., 2018). Tras la inoculación de las partículas virales en la piel hasta los músculos y tejidos subcutáneos, el virus de la rabia utiliza el receptor nicotínico de acetilcolina en la membrana muscular, a nivel postsináptico de la unión neuromuscular para una infección eficiente de las neuronas motoras o sensoriales. Posteriormente se propaga hasta el sistema nervioso central (SNC) siguiendo las conexiones neuronales y utilizando el transporte axonal retrógrado a una velocidad de 12 a 24 mm por día (Kucera *et al*., 1985; Lycke y Tsiang, 1987; Tsiang *et al*., 1991; Jackson, 2002; Mahadevan *et al*., 2016).

Respecto al VRAB asociado a murciélagos, en un estudio realizado por Preuss y colaboradores en 2009 en el que se utilizó virus de la rabia origen murciélago, se demostró que el virus se propaga en la sangre e invade el SNC en la unión neurovascular del hipotálamo (Preuss *et al*., 2009; Schnell *et al*., 2010; Fisher *et al*., 2018). Se ha descrito que estas variantes son más virulentas que el virus de la rabia de origen canino, debido a su capacidad de replicarse más rápido en células que no son neuronas y a temperaturas más bajas (Messenger *et al*., 2002; Mahadevan *et al*., 2016).

Durante su progresión a través del sistema nervioso el virus se replica en el ganglio de la raíz dorsal, en el ganglio del trigémino (neurona sensorial) y en las células del asta anterior (neuronas motoras) de la médula espinal (Iwasaki *et al*., 1985; Mahadevan *et al*., 2016). Una vez que el VRAB se establece en las neuronas de la médula espinal o del tronco del encéfalo, se disemina rápidamente por todo el sistema nervioso central mediante transporte axonal y muestra una marcada afinidad por áreas con inervación colinérgica, como la corteza cerebral y las estructuras límbicas, incluidas la amígdala, el hipocampo, el tálamo, el hipotálamo y los ganglios basales (Jackson, 2002; Ugolini, 2011; Mahadevan *et al*., 2016).

Los viriones son transportados en dirección retrógrada a través del axón de la neurona infectada, una vez que las partículas virales llegan al cuerpo celular de la neurona, en la cual se lleva a cabo la producción del virión a través de la transcripción, replicación y síntesis del virus (Kelly y Strick, 2000; Preuss *et al*., 2009; Schnell *et al*., 2010).

En cuanto al periodo de incubación, existe un intervalo de tiempo amplio en la duración, atribuido a factores como la carga viral inoculada, la susceptibilidad o estado inmunitario del hospedero. Durante la mayor parte de este periodo, el virus permanece cerca del sitio de incubación, en lo que denomina fase de eclipse, la cual es indetectable con las técnicas diagnósticas actuales. Lo que explica por qué en condiciones naturales la

enfermedad puede desarrollarse desde en un par de semanas hasta meses, e incluso superar el año (Charlton *et al*., 1997; Jackson, 2002; Mahadevan *et al*., 2016). Asimismo, la susceptibilidad entre especies se ha relacionado con la cantidad de receptores de acetilcolina en el tejido muscular (Lentz *et al*., 1982; Baer *et al*., 1990; Mahadevan *et al*., 2016).

La infección del SNC produce cambios neuropatológicos relativamente leves sin muerte neuronal evidente. Estas observaciones han llevado a la conclusión de que la enfermedad neurológica en la rabia debe ser el resultado de una disfunción neuronal (Iwasaki y Tobita, 2002) dada por fallas en la neurotransmisión de acetilcolina, serotonina y ácido amino-n-butírico (GABA) (Jackson, 2002) más que por muerte celular.

2.1.5. Ciclo de replicación del virus de la rabia

El ciclo de replicación del VRAB se divide en tres fases fundamentales desde que ingresa a su hospedero. La primera fase (Figura 2a) incluye la unión al receptor y la endocitosis seguida de la fusión de la membrana viral y la liberación del genoma viral en el citoplasma (Schnell *et al*., 2010; Fooks *et al*., 2017).

En la segunda fase, tras la inoculación el VRAB ingresa a las neuronas motoras en la unión neuromuscular, las partículas virales son transportadas de forma retrógrada por el axón hasta el soma neuronal (Figura 2b). Allí comienza la transcripción, replicación y síntesis proteica (Figura 2c) (Kelly y Strick, 2000; Schnell *et al*., 2010; Preuss *et al*., 2009; Fooks *et al*., 2017).

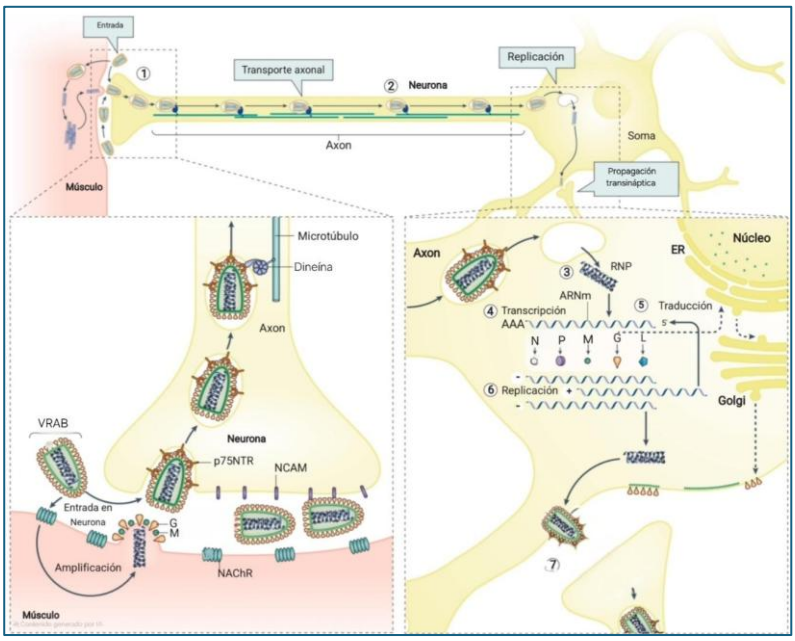


Figura 2. Ciclo de replicación del virus de la rabia. Modificado de Fooks *et al.* (2017).

En la última fase, el genoma de VRAB contiene una secuencia líder de 58 nt, seguida de cinco genes de proteína estructural en el orden 3′- N - P - M - G - L -5′ (Figura 3), separados por regiones intergénicas no transcritas y seguidos por un tráiler de 57–70 nt (Kuzmin *et al*., 2008; Fooks *et al*., 2017; Walker *et al*., 2022).

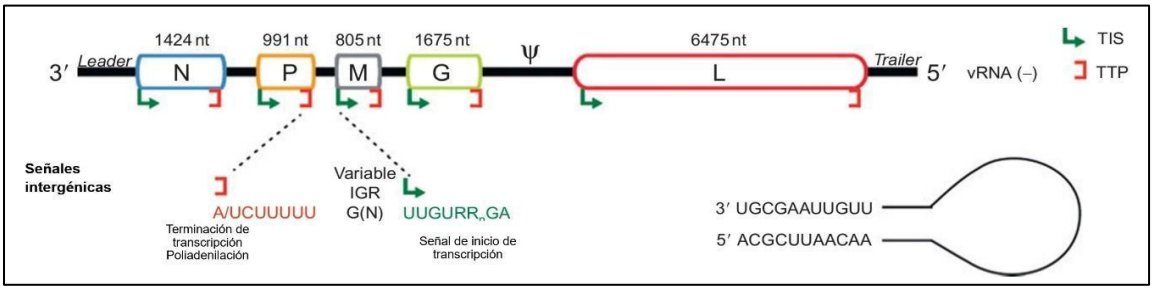


Figura 3. Estructura del genoma del virus de la rabia. Modificado de Albertini *et al*. (2011).

La señal de inicio de la transcripción de cada ARNm se conserva (3′-UUGUXR-5′), así como la señal de terminación de la transcripción-

poliadenilación (3′-WCUUUUUUU-5′). Las regiones no traducidas de los ARNm son relativamente cortas. La transcripción y replicación de VRAB tienen lugar en el citoplasma de las neuronas infectadas (Kuzmin *et al*., 2008; Albertini *et al*., 2011; Walker *et al*., 2022), culminando con el ensamblaje de los componentes y la gemación de viriones maduros para iniciar nuevos ciclos de infección (Schnell *et al*., 2010).

2.1.6. Situación de los casos de rabia en diferentes especies animales en América

Se han descrito múltiples hospederos para el VRAB, contemplando a una variedad de especies, que van desde los animales domésticos hasta los animales de vida silvestre (Stuchin *et al*., 2018; Rupprecht *et al*., 2022). Es el único lyssavirus que está bien adaptado a carnívoros terrestres a nivel mundial y a una diversidad de hasta 40 especies de murciélagos en las Américas (Markotter y Coertse, 2018; Fooks *et al.,* 2021). Pese a que el VRAB se ha limitado a los murciélagos de esta región, otros lyssavirus se han detectado en poblaciones de quirópteros de África, Eurasia y Australia (Banyard *et al*., 2011; Kuzmin *et al*., 2012; Davis *et al*., 2013; Kuzmina *et al*., 2013a; Troupin *et al*., 2016). En un estudio filogenético por Hayman y colaboradores en 2016 se reportó que el tiempo del ancestro común más reciente (tMRCA, por sus siglas en inglés de Time to the Most Recent Common Ancestor) para el VRAB en murciélagos en las Américas se estima en 1423, anterior a la colonización europea.

De acuerdo con la base de datos del SIRVERA, desde el 2020 la proporción de animales positivos a rabia en la región de las Américas en países como Estados Unidos, Canadá y Argentina corresponde a especies silvestres principalmente. Sin embargo, en Brasil, Perú, México, Colombia y Ecuador la mayor proporción de los reportes de rabia ocurren en el ganado

bovino y otras especies ganaderas debido a que posiblemente, la vigilancia epidemiológica se centra en especies ganaderas (Figura 4).

En un estudio en 2025, por Soler-Tovar, se describe un promedio de 450 brotes anuales para los países donde se distribuye el murciélago hematófago. Para Perú, El Salvador y Brasil revelaron una correlación entre la incidencia de rabia en *D. rotundus* y brotes de rabia en el ganado (Soler-Tovar *et al*., 2025).

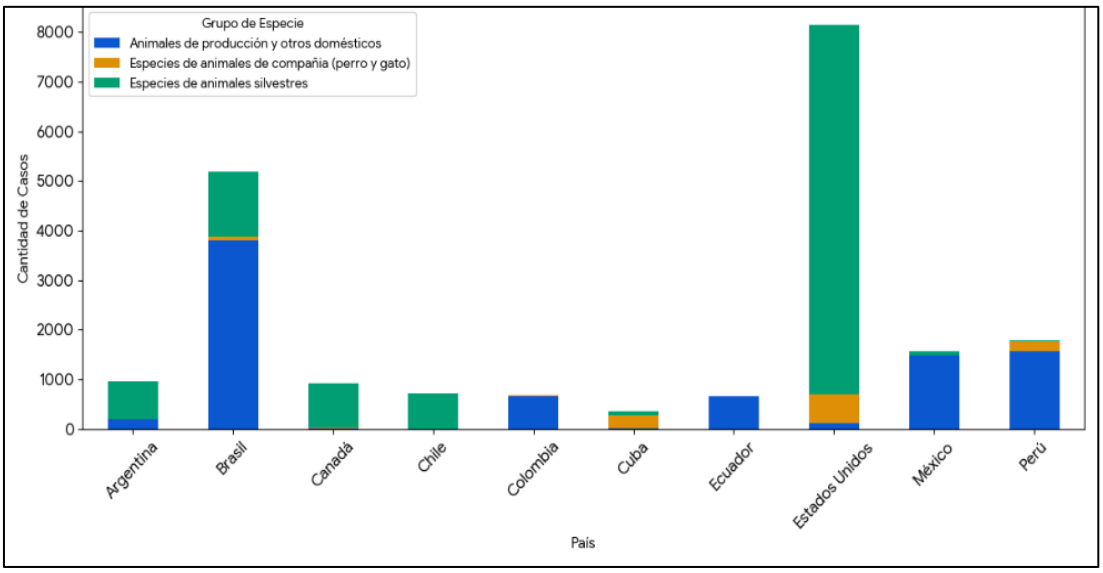


Figura 4. Distribución de casos de rabia y grupo de animales afectados en las Américas del 2020 al 2025.
(Elaboración propia a partir de los datos de SIRVERA, PANAFTOSA s.f.).

En 1983, bajo la dirección de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la región de las Américas inició un programa para la prevención, control y eliminación de la rabia canina. Gracias a ello, la incidencia de casos de rabia en humanos ha disminuido. Sin embargo, actualmente la mayor proporción de casos están asociados a variantes del VRAB circulante en fauna silvestre, principalmente en países en los que la rabia transmitida por perros ha sido controlada como se observa en la Figura 5 (Garcés-Ayala *et al.,* 2022; Rupprecht *et al.,* 2022).

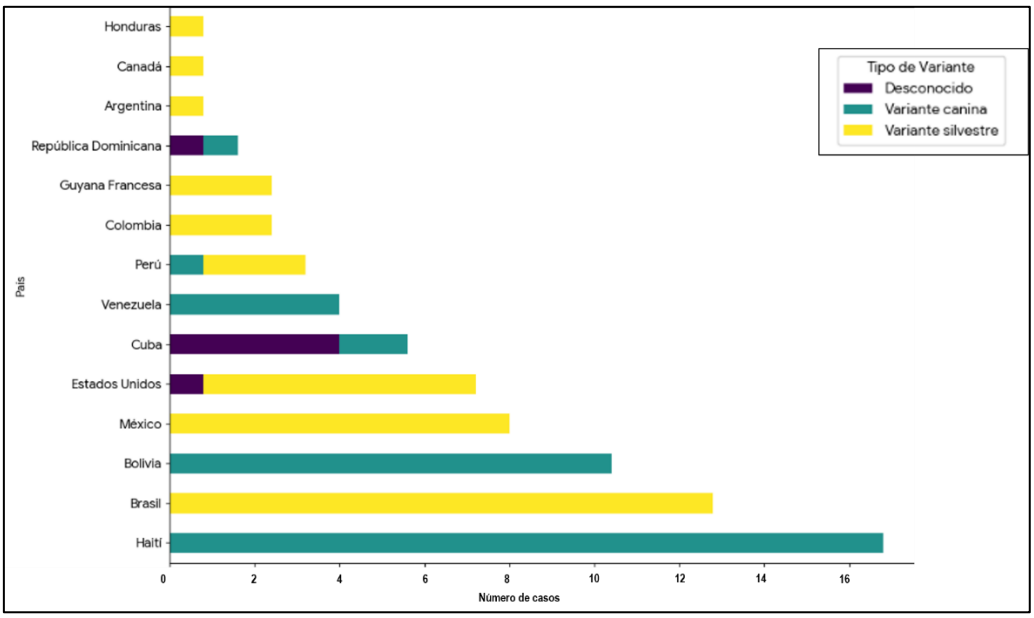


Figura 5. Casos de rabia en las Américas por tipo de variante del 2020 al 2025. Elaboración propia con datos obtenidos del SIRVERA, PANAFTOSA (s.f.).

2.1.7. Reservorios del virus de la rabia y potenciales transmisores en México

México fue reconocido en 2019 como el primer país libre de rabia humana transmitida por perros (Garcés-Ayala *et al*., 2022; Rupprecht *et al*., 2022). Es así que se ha identificado a la rabia silvestre como una amenaza creciente para la salud pública, influenciada por la gran diversidad de reservorios silvestres que mantienen el virus en la naturaleza (Aréchiga-Ceballos *et al*., 2022; Garcés-Ayala *et al*., 2022) y que no ha sido completamente investigado el rol de estos animales en la permanencia y propagación del virus (Acharya *et al*., 2022; Garcés-Ayala *et al*., 2022), favorecido por las actividades antropogénicas, la fragmentación del hábitat y la interacción de animales silvestres con humanos en entornos naturales (Stuchin *et al*., 2018; Acharya *et al*., 2022; Garcés-Ayala *et al*., 2022).

En México, entre 2007 y 2020, la Secretaría de Salud confirmó 407 casos de rabia en animales silvestres, donde los murciélagos representan el 63 % de los casos, los zorrillos el 28 % y el 9 % restante está compuesto por

otras especies como zorros, coatíes, gatos monteses, pumas, coyotes, ciervos y zarigüeyas (Garcés-Ayala *et al*., 2022). Dado que no existe un programa de vigilancia activa del virus de la rabia en animales silvestres, gran proporción de estos casos están relacionados con el contacto humano. Entre 2000 y 2019, el 90 % de los 46 casos humanos de rabia transmitida por animales silvestres fueron por murciélagos o zorrillos (Aréchiga-Ceballos *et al*., 2022).

Así también, en el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia Humana de la Secretaría de Salud de México, se hace referencia a siete casos humanos de rabia para el periodo de 2020 a 2025 de los cuales, cinco casos fueron por fauna silvestre y dos por fauna urbana. Un caso humano confirmado de rabia transmitida por un felino sin antecedente de vacunación en Nayarit. Adicionalmente, reporta un caso de un canino en enero de 2023, cuya caracterización antigénica fue la variante 7 asociada a zorro gris (SSA, 2024).

En México, como en otros países, se ha reportado que la ocurrencia real en fauna silvestre puede estar subestimada (Velasco-Villa *et al*., 2002; Stuchin *et al*., 2018; Acharya *et al*., 2022; Garcés-Ayala *et al*., 2022), sin embargo, diferentes estudios epidemiológicos han realizado el seguimiento de los casos de rabia ocurridos en los reservorios naturales mediante la caracterización antigénica o genética, lo que ha sido útil para identificar las posibles vías de transmisión del VRAB interespecie e intraespecies (Velasco-Villa *et al*., 2006; Stuchin *et al*., 2018).

2.1.8. Rabia en *Desmodus rotundus*

Los murciélagos pertenecen al orden *Chiroptera*, representan el grupo de mamíferos más importante, actualmente ocupan el segundo lugar en riqueza de especies, con más de 1,300 especies reconocidas, agrupadas en

175 géneros organizados en 20 familias (Moratelli y Calisher, 2015). Su distribución es mundial (excepto la Antártida) y habitan gran variedad de espacios como cuevas, minas, troncos de árboles, edificios, etc. (Sánchez *et al*., 2024).

Dentro del orden *Chiroptera*, se identifican tres especies de murciélagos hematófagos (*Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi* y *Diphylla ecaudata*). Sin embargo, sólo el murciélago vampiro común *Desmodus rotundus*, es reservorio del VRAB (Johnson *et al*., 2014) causando la enfermedad en humanos y miles de muertes de ganado cada año (Blackwood *et al*., 2013; Bergner *et al*., 2021).

La relación entre la rabia en el ganado y los murciélagos hematófagos fue establecida en 1911 por el director del Instituto Pasteur de São Paulo Antonio Carini. Sin embargo, el primer aislamiento del virus de la rabia de *D. rotundus* fue en 1931 (Almeida *et al*., 2005; Moratelli y Calisher, 2015).

D. rotundus es endémico del Neotrópico, cuenta con plasticidad ecológica que le permite adaptarse a las condiciones ambientales de las regiones tropicales y subtropicales presentes desde México hasta del sur al centro de Chile y el norte de Argentina (Figura 6) y se ha localizado hasta los 3,600 metros sobre el nivel del mar (m s. n. m.) en la cordillera de los Andes (Zarza *et al*., 2017; Van De Vuurst *et al*., 2022a). Se han descrito dos subespecies: *D. r. rotundus* (Trinidad y Tobago, Colombia, Venezuela, las Guayanas, Ecuador, Perú, Brasil, Bolivia, Paraguay, Argentina, Uruguay y Chile central) y *D. r. murinus* (México, América Central, norte y oeste de Colombia y laderas occidentales de los Andes en Ecuador y Perú) (Van De Vuurst *et al*., 2022a).

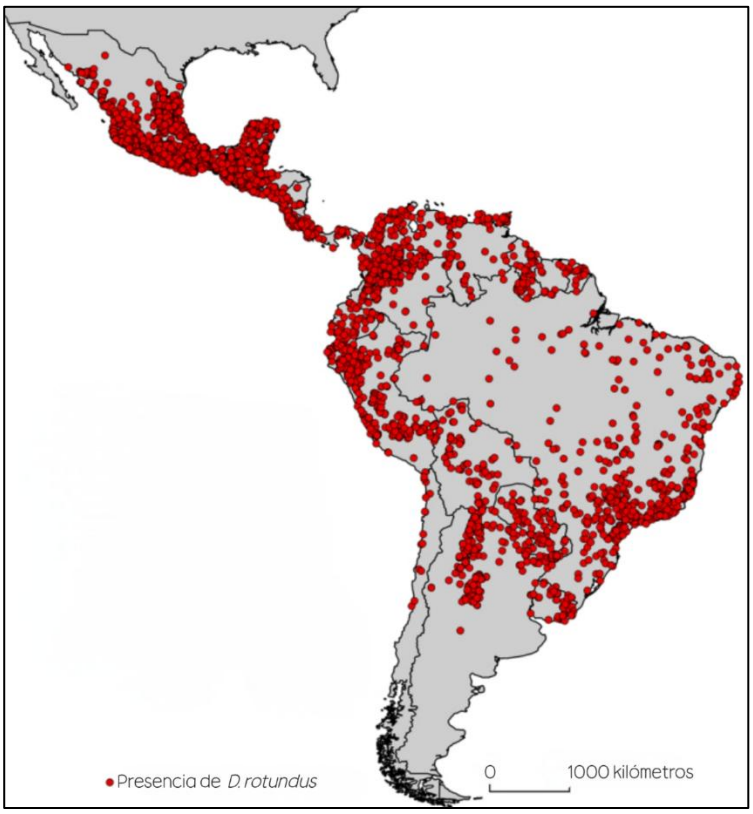


Figura 6. Distribución geográfica de sitios con reporte de presencia de *Desmodus rotundus*.
Modificado de Van De Vuurst *et al*. (2022).

En México, las zonas endémicas de rabia, asociadas a la presencia de *D. rotundus* se extienden en 26 estados, desde el sur del estado de Sonora hasta Chiapas, y de la costa del sur de Tamaulipas hasta la península de Yucatán, a excepción de la región central en el altiplano del centro y el norte de México (SENASICA, 2022; SENASICA, 2025).

Las colonias de vampiro generalmente se localizan en regiones con temperaturas de templadas a cálidas (entre 20 y 27 °C), se ha reportado su supervivencia a temperaturas desde los 10 °C hasta los 37 °C (Ávila-Flores y Medellín, 2004). Aunque, el rango óptimo de humedad relativa en sus refugios es del 70 al 100 %, no debe bajar del 45 % para su supervivencia. Aunque Zarza *et al*. (2017) señalaron que, en México, *D. rotundus* prefería

regiones isotérmicas y a una altitud no mayor de 2,300 m s. n. m., reportes recientes del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), sitúan casos de rabia paralítica relacionados a la presencia del vampiro en municipios con una altura de 2,400 m s. n. m. (Zarza *et al*., 2017, SENASICA, 2025).

La alimentación de *D. rotundus* es de sangre de mamíferos terrestres de tamaño mediano a grande, en particular ungulados, aunque existen informes de que el murciélago hematófago también se alimenta de pequeños mamíferos, mamíferos marinos, aves y reptiles (Brown y Escobar, 2023). Entre las presas de fauna silvestre se reportan venados chital y cola blanca, cerdo salvaje, pecaríes de collar y de labios blancos, capibaras, tapires y oso hormiguero, en menor medida a pumas, coyotes y lobos marinos. En lo que se refiere a las especies ganaderas, el orden de preferencia es: ganado vacuno, caballos, cerdos y los pequeños rumiantes (Van De Vuurst *et al*., 2022a; Brown y Escobar, 2023), se ha visto que, actualmente el ganado bovino es más depredado debido a su disponibilidad abundante en comparación con las presas de la vida silvestre, ya que las actividades humanas han perturbado las interacciones interespecíficas naturales, y esto se ha asociado a la migración de las presas habituales y a la adaptación del depredador a las nuevas fuentes de alimento (Brown y Escobar, 2023).

Las colonias de *D. rotundus* poseen una estructura social compleja y características vinculadas al altruismo y la cohesión social (Carter y Leffer, 2015) que, consiste en lamer para estimular la regurgitación sanguínea, un factor considerado una de las principales dinámicas de transmisión del VRAB entre murciélagos (Streicker *et al*., 2012; Mantovan *et al*., 2022). Sin embargo, la dispersión espacial de los murciélagos infectados se considera lenta ya que el virus se propaga de colonia en colonia debido a la tendencia de la especie a visitar colonias cercanas, infectando a menudo nuevos grupos (Kobayashi *et al*., 2008; Mantovan *et al*., 2022). La literatura refiere que el

VRAB infecta a muchos individuos de la colonia, sin embargo, solo algunos mueren. Debido a la presencia de anticuerpos contra el virus, se infiere que hay individuos que sobreviven a la exposición (Johnson *et al*., 2014).

La transmisión del VRAB puede ocurrir tanto entre murciélagos vampiros, como del murciélago al ganado, a animales de vida silvestre, o con menor frecuencia, a los humanos mediante la mordedura que de manera frecuente ocurre durante la noche, ya que *D. rotundus* tiene hábitos nocturnos que le permiten alimentarse sin ser detectados por sus presas (Streicker *et al*., 2012; Johnson *et al*., 2014; Cárdenas-Canales *et al*., 2022).

El murciélago hematófago ha desarrollado adaptaciones morfológicas, fisiológicas y de comportamiento que facilitan la transmisión del VRAB. Por ejemplo, para detectar a sus presas ha ampliado el rango de frecuencia de audición a 20 kHz, posee la capacidad de identificar individuos específicos por el sonido de su respiración y a través de los receptores de radiación infrarroja que rodean su hoja nasal localizar a sus presas (Heffner *et al*., 2013; Blumer *et al*., 2022). Adicionalmente, *D. rotundus* tiene la habilidad de desplazarse en el suelo, con el objetivo de acercarse a sus presas y alzar el vuelo desde un salto para evadirlas (Johnson *et al*., 2014). Los incisivos superiores son triangulares, afilados y sin esmalte, lo que le permite cortar la piel de la presa de manera indolora. También, cuenta con dos componentes que funcionan como anticoagulantes en su saliva, la draculina y la desmoteplasa, que evitan que la sangre de la presa se coagule durante la alimentación, además de un cóctel de otras sustancias como vasodilatadores y anestésicos locales que mantienen el flujo sanguíneo y evitan que la presa despierte, lo que minimiza la respuesta defensiva de la presa y asegura un tiempo prolongado de contacto con la herida, optimizando la exposición de las terminaciones nerviosas del músculo al VRAB (Heffner *et al*., 2013; Johnson *et al*., 2014; Blumer *et al*., 2022).

La relación del hospedero con el virus también está dada por la historia natural de la enfermedad. Debido a que el VRAB es detectable en la saliva durante la fase clínica, se infiere que el aumento en la agresividad entre los vampiros positivos al virus rábico permite mejorar la transmisión. Finalmente, en la fase terminal, estos animales tienen una menor actividad y desarrollan parálisis hasta su muerte (Johnson *et al*., 2014, Cárdenas-Canales *et al*., 2020; Cárdenas-Canales *et al*., 2022).

Se ha descrito que la presentación clínica de la rabia en el murciélago hematófago puede ser furiosa o paralítica, reportándose además largos períodos de incubación después de la exposición al VRAB en murciélagos en climas templados (Moreno y Baer, 1980). En infecciones naturales hay murciélagos que desarrollan rabia furiosa y algunos que mueren sin mostrar signos de la enfermedad (Almeida *et al*., 2005, Cárdenas-Canales *et al*., 2020). Los signos que se han descrito en la presentación furiosa son hipersalivación, aumento en la vocalización, bruxismo, agresión, fotofobia e hiperacusia. Los individuos con signos de rabia paralítica cursaron por aislamiento social, letargo y aparente dificultad respiratoria (Cárdenas-Canales *et al*., 2020). Otros signos descritos son la disminución del consumo de sangre, que conduce a la deshidratación en sus primeras etapas de la enfermedad, signos neurológicos como parálisis de las alas, temblores y dificultad para caminar, debilidad y flacidez muscular (Setién *et al*., 1998; Almeida *et al*., 2005; Johnson *et al*., 2014; Cárdenas-Canales *et al*., 2020). La causa de que los murciélagos desarrollen una u otra presentación de la rabia sigue siendo incierta, generalmente asociada a la dosis inoculada (Moreno y Baer, 1980; Cárdenas-Canales *et al*., 2020).

La probabilidad que tiene *D. rotundus* para desarrollar una infección letal es aproximadamente del 10 %, en la mayoría de los casos, lo cual se debe a la exposición previa al VRAB que da origen a una infección subclínica que puede resultar en poblaciones de murciélagos con anticuerpos, lo que

faculta la persistencia viral a largo plazo en las colonias (Blackwood *et al*., 2013; Johnson *et al*., 2014). Diferentes estudios reportan que los casos de rabia en murciélagos están asociados a la inmigración, como método de propagación entre poblaciones, por lo que la interacción entre murciélagos de diferentes colonias es necesaria para mantener la cadena de transmisión (Blackwood *et al*., 2013; Johnson *et al*., 2014).

2.2. Situación epidemiológica de los casos de rabia en murciélagos de América

La epidemiología del VRAB en murciélagos vampiros sugieren que el virus infecta a una proporción considerable de la colonia; no obstante, solo algunos mueren y la mayoría sobreviven a la exposición, lo cual se ha evidenciado en estudios de anticuerpos contra el virus (Almeida *et al*., 2005; Blackwood *et al*., 2013; Meza *et al*., 2022). Un factor importante para mantener la cadena de transmisión es la inmigración en las poblaciones de murciélagos, tanto hematófagos como en interacción con otras especies; este fenómeno demográfico está relacionado con la dinámica del virus de la rabia dentro de las poblaciones, donde la incidencia de la enfermedad aumenta cuando hay una cantidad suficiente de individuos susceptibles (Johnson *et al*., 2014).

Es conocido que de una gran cantidad de especímenes que se envían a diagnóstico no se reporta la especie, este es el caso de Brasil que en el periodo 2020 al 2025, de 1,088 casos totales ocurridos en murciélagos, más de la mitad de ellos (67 %) no tenía la clasificación de la especie (Cuadro 2). Sin embargo, es importante mencionar que la vigilancia epidemiológica de la rabia, en estos países y México, contempla a los quirópteros por su importancia como reservorio natural del VRAB, pero esto depende de la problemática de cada país, por ejemplo, en Chile, Argentina y Canadá el 100 % de los casos corresponde a especies no hematófagas, en contraste con México que de 78 casos positivos 68 (87.2 %) fueron en *D. rotundus.*

Cuadro 2. Número de casos de rabia en murciélagos en el Continente Americano de 2020 al 2024

País	Año						Total
	2020	2021	2022	2023	2024	2025	
Argentina	114	94	133	142	105		588
Murciélago no hematófago	114	94	133	142	105		588
Belice		1			1		2
Murciélago		1			1		2
Brasil	252	264	209	363			1088
Murciélago	181	230	109	212			732
Murciélago hematófago	2	2	3				7
Murciélago no hematófago	69	32	97	151			349
Canadá	75	51	79	79	126	7	417
Murciélago no hematófago	75	51	79	79	126	7	417
Chile	174	196	122	133	76		701
Murciélago no hematófago	174	196	122	133	76		701
Colombia	1	1					2
Murciélago hematófago		1					1
Murciélago no hematófago	1						1
Cuba	3	1	1				5
Murciélago no hematófago	3	1	1				5
Estados Unidos	1	49					50
Murciélago no hematófago	1	49					50
México	17	11	15	24	11		78
Murciélago	1	1					2
Murciélago hematófago	16	8	15	21	8		68
Murciélago no hematófago		2		3	3		8
Paraguay	3	2		1		3	9
Murciélago	1			1		3	5
Murciélago hematófago		2					2
Perú		2		1			3
Murciélago hematófago		1		1			2
Murciélago no hematófago		1					1
República Dominicana		1	2	1			4
Murciélago		1		1			2
Murciélago hematófago			1				1
Murciélago no hematófago			1				1
Uruguay			1	3			4
Murciélago no hematófago			1	3			4
Venezuela		2	1				3
Murciélago hematófago		2	1				3
Total	640	675	563	747	319	10	2954

Cuadro elaborado con datos tomados del SIRVERA, PANAFTOSA (s.f.)

2.2.1. Situación epidemiológica de la rabia en *Desmodus rotundus* en México

El monitoreo del VRAB en *D. rotundus*, es a través de las actividades establecidas en la campaña de erradicación y control de la rabia paralítica bovina y otras especies ganaderas (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2011). El número de quirópteros enviados para diagnóstico de rabia por la técnica de Inmunofluorescencia directa (IFD) a los laboratorios autorizados de México se muestra en el Cuadro 3, en el cual se observa que en el periodo comprendido entre 2020 y 2025 se registraron 6,450 resultados de diagnóstico, de los cuales solo 83 (1.29 %) fueron positivos. En términos generales, se muestra la baja proporción de positividad en este periodo para *D. rotundus* en México. La distribución anual de los casos positivos muestra una disminución entre 2021 y 2022, y durante 2023 y 2024 se encuentran el 53% de las muestras confirmadas como positivas al VRAB. En cuanto a la distribución por entidad federativa, Puebla presentó el mayor número de resultados positivos (20 casos), seguida de Tabasco con 10, Chiapas con 7, Oaxaca y San Luis con 6 cada una y Guerrero con 5 casos. Sin embargo, la frecuencia de positivos es mayor en Tabasco, con 10 de las 56 muestras encefálicas analizadas, equivalente al 17.86 %, mientras que Puebla con los 20 casos confirmados de 1,039 ejemplares enviados, representa solo el 19.2 %. La diferencia entre el número de casos y la proporción de positividad es un factor importante para la interpretación epidemiológica del estatus de la rabia en *D. rotundus* en México y evidencia el esfuerzo que se realiza para el monitoreo del reservorio en el país.

Cuadro 3. Distribución de casos de rabia en murciélagos en México por estado de 2020 al 2024.

Entidad	2020		2021		2022		2023		2024		Total, por Entidad		
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	% (+)
Baja California Sur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Campeche	0	0	4	0	1	0	12	2	36	2	57	4	6.56
Chiapas	20	1	10	0	5	5	4	1	2	0	48	7	12.73
Chihuahua	43	1	46	0	37	0	41	0	41	0	209	1	0.48
Coahuila	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Colima	0	0	49	0	50	0	50	0	39	1	189	1	0.53
Durango	18	0	18	0	15	0	18	0	18	0	87	0	0
Edo. de México	40	0	51	0	43	0	28	1	32	0	195	1	0.51
Guanajuato	42	0	30	0	25	0	31	0	41	0	169	0	0
Guerrero	37	3	45	0	40	1	37	0	30	1	194	5	2.51
Hidalgo	12	0	12	1	6	1	20	0	23	0	75	2	2.60
Jalisco	95	2	130	1	104	0	90	0	84	0	506	3	0.59
Michoacán	11	0	146	0	40	0	49	0	169	4	419	4	0.95
Morelos	35	0	48	0	29	0	42	0	39	0	193	0	0
Nayarit	50	0	60	1	57	1	60	0	54	0	283	2	0.70
Nuevo León	2	0	12	0	2	0	2	0	47	0	65	0	0
Oaxaca	40	2	26	0	27	0	14	3	28	1	141	6	4.08
Puebla	235	5	223	4	244	2	186	4	111	5	1019	20	1.92
Querétaro	20	0	34	0	36	0	16	1	24	0	131	1	0.76
Quintana Roo	13	0	7	0	10	1	12	0	13	0	56	1	1.75
San Luis Potosí	35	0	102	0	98	2	90	2	118	2	449	6	1.32
Sinaloa	84	1	103	0	90	0	91	0	81	1	451	2	0.44
Sonora	60	0	72	0	76	0	65	0	67	0	340	0	0
Tabasco	4	0	10	0	9	1	4	6	9	3	46	10	17.86
Tamaulipas	66	0	72	0	51	0	65	2	69	1	326	3	0.91
Veracruz	13	0	10	2	16	1	16	0	44	0	102	3	2.86
Yucatán	111	0	100	0	109	0	102	0	70	1	493	1	0.20
Zacatecas	10	0	22	0	29	0	33	0	30	0	124	0	0
Total/año	1096	15	1442	9	1249	15	1178	22	1319	22	6367	83	1.29
Total, Dx/año	1111		1451		1264		1200		1341				
% Positivos/año	1.37		0.62		1.20		1.87		1.67				

Cuadro elaborado con datos tomados del SENASICA (2025)

El número de muestras asciende a más de mil por año y se puede observar que el número de casos de rabia positivos en murciélagos hematófagos ha incrementado y, además, se reportan casos en otras especies de murciélago no hematófagas (Cuadro 4) (SENASICA, 2026).

Cuadro 4. Número de muestras encefálicas provenientes de murciélagos enviadas a diagnóstico de rabia por IFD en México (2020-2024).

Año	Muestras enviadas	Casos positivos		
		Murciélago hematófago	Murciélago insectívoro	Murciélago frugívoro
2020	1111	15	0	0
2021	1451	9	1	0
2022	1264	15	0	0
2023	1200	22	2	1
2024	1341	22	4	1

Elaborado con datos del SIAS-SENASICA (2026).

De acuerdo con los reportes oficiales del SENASICA, desde el año 2018 se presentaron casos de rabia en especies ganaderas de Nuevo León, que hasta ese año era considerado libre del murciélago, si bien, los operativos de captura y diagnóstico en *D. rotundus* se realiza desde 2017, no se ha reportado un caso positivo en esta especie y los casos en ganado no cuentan con caracterización, sin embargo, desde 2020 se detectaron tres municipios con presencia de *D. rotundus*. Debido a la cercanía con las zonas con focos rábicos de Nuevo León, y la detección de 1 caso de rabia en *D. rotundus* en 2020 en Chihuahua, Coahuila en 22 implementó medidas preventivas el monitoreo de la rabia y presencia de vampiro en el municipio de Arteaga Coahuila.

En los últimos años, la vigilancia epidemiológica de la rabia en murciélagos ha revelado una diversidad notable de especies infectadas. En 2021, en Chihuahua se reportó un caso positivo en un murciélago insectívoro, para el año 2023, en el estado de Guerrero se diagnosticó un caso en *Tadarida brasiliensis (T. brasiliensis),* otro caso en murciélago insectívoro sin la identificación de la especie, en Puebla y

en Yucatán un caso en murciélago frugívoro sin la identificación de la especie. Durante el 2024, en Jalisco se detectó un caso en el murciélago insectívoro *Lasiurus cinereus* y otro en el murciélago frugívoro *Artibeus literatus*. En el Estado de México y Veracruz se notificaron casos en *Tadarida brasiliensis*, mientras que en Morelos se identificó un caso positivo en murciélago insectívoro de la familia *Molossidae* (SENASICA, 2026).

2.3. Diagnóstico y caracterización del virus de la rabia

El diagnóstico del virus de la rabia se realiza exclusivamente por pruebas de laboratorio, ya que los signos y lesiones macroscópicas no son patognomónicas. En México, la NOM-067-ZOO-2007 “Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas” refiere que las pruebas de detección del VRAB se deben realizar de acuerdo con los descrito en la NOM-056-ZOO-1995, “Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria” y en el Manual de Pruebas Diagnósticas y Vacunas para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal. Este último divide a las técnicas en métodos para la detección del virus y las pruebas serológicas para la evaluación de la respuesta inmunitaria post-inmunización, ya que, debido a la seroconversión tardía y a la alta letalidad del agente, carece de valor diagnóstico (OMS, 2019; OMSA, 2023).

La calidad del diagnóstico está directamente relacionada con la calidad de las muestras a analizar, para las pruebas de detección del virus de la rabia la toma de muestra debe contener áreas con alta concentración del virus como el tallo encefálico, el cerebelo, el tálamo y el pie del hipocampo (Jackson, 2018;OMSA, 2023; Abrahamian y Rupprecht, 2022; Miller *et al.,* 2024).

La inmunofluorescencia directa (IFD) es la prueba de referencia y es la más utilizada para el diagnóstico de rabia, dado que su sensibilidad y especificidad son muy altas (96-97 %), por lo que es la prueba recomendada por la OMSA y la OMS

(OMS, 2019; OMSA, 2023). Se realiza mediante la impronta del tejido encefálico de un animal que haya muerto con signos nerviosos, y su fundamento radica en la detección del antígeno de la nucleoproteína viral mediante la unión al anticuerpo policlonal o monoclonal marcado con isotiocianato de fluoresceína (FITC). La unión antígeno anticuerpo es evidenciada a través de la fluorescencia específica bajo el microscopio de epifluorescencia. Como una alternativa en laboratorios que no cuentan con un microscopio de fluorescencia, se puede realizar la prueba rápida de inmunodiagnóstico (dRIT), que utiliza la tinción de estreptavidina-biotina-peroxidasa. Ambas técnicas evidencian la presencia de la nucleoproteína del VRAB, favorecido por ser la proteína más abundante, conformando inclusiones intracitoplasmáticas al encapsidar el ARN genómico (OMSA, 2023).

Una prueba molecular que detecta el genoma viral (ARN) es la Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcripción Inversa (RT-PCR), que a través de la retrotranscripción del ARN a ADN complementario y su amplificación exponencial se emplea para confirmar casos clínicos y detectar ARN del virus cuando las pruebas principales como la IFD o la dRIT dan resultados indeterminados o requieren validación adicional (Marston *et al*., 2019; *Dettinger et al*., 2022; OMSA, 202. Además, es una herramienta para la generación de amplicones para las técnicas de secuenciación genómica y estudios filogenéticos (Gigante *et al*., 2020).

En los casos negativos se debe realizar el aislamiento viral en cultivo celular (principalmente en células Neuro-2a) o la inoculación en ratón lactante (por vía intracerebral), estas técnicas permiten demostrar que el virus tiene replicación activa (OMS, 2019; OMSA, 2023). Actualmente, la OMSA (2023) recomienda el aislamiento *in vitro* para optimizar el tiempo de diagnóstico y por bioética. Tras la inoculación de las células o los ratones, la infección se evidencia a través de la tinción del tejido con anticuerpos fluorescentes.

La caracterización del VRAB puede llevarse a cabo mediante anticuerpos monoclonales (AcMo), o secuenciación parcial o completa del genoma (OMSA, 2023). Los AcMO permiten la caracterización fenotípica, desarrollados en la década

de los setenta por T. J. Wiktor y H. Koprowski en el Instituto Wistar de Anatomía y Biología, su especificidad se debe a que son producidos por hibridomas que se unen de manera específica a epítopos de la nucleocápside (Wiktor *et al*., 1980). La caracterización de las variantes (Cuadro 5) ha permitido esclarecer la epidemiología de la enfermedad, en situaciones en donde no hay antecedentes de exposición, puede diferenciar al reservorio y la posible distribución geográfica (Wiktor y Koprowski, 1980; Diaz *et al*., 1994; OPS, 2000). Si bien, esta caracterización ha sido fundamental para la epidemiología, presenta limitaciones debido a la amplia variedad de variantes antigénicas presentes en las poblaciones, por ejemplo, en las variantes presentes en murciélagos u otras especies silvestres como el coatí en el sureste de México (Nadin-Davis y Loza-Rubio, 2006; Aréchiga-Ceballos *et al*., 2010; Loza-Rubio *et al*., 2012; Johnson *et al*., 2014; OPS, 2020).

Cuadro 5. Variantes antigénicas del VRAB.

Variante	Especie asociada
1	Perro/mangosta
2	Perro
3	Murciélago hematófago
4	*Tadarida brasilensis*
5	Murciélago hematófago
6	*Lasiurus cinereus*
7	Zorro gris
8	Zorrillo (SLP)
9	*Tadarida brasilensis*
10	Zorrillo (BCS)
11	Murciélago hematófago

Cuadro elaborado con datos de Loza-Rubio *et al*. (2012).

2.3.1. Epidemiología molecular del virus de la rabia

La epidemiología molecular del VRAB se ha realizado en su mayoría por técnicas de secuenciación parcial de su genoma, esto ha logrado clasificar al VRAB de acuerdo con sus genotipos, filogrupos y linajes, sin embargo, en la última década se ha utilizado la secuencia completa del genoma viral (Delmas *et al*., 2008; Campbell *et al*., 2022). Inicialmente, el análisis de la nucleoproteína permitió identificar al menos siete genotipos de lyssavirus: (GT1-mundial) rabia; (GT2-África) murciélago de Lagos; (GT3-África) Mokola; (GT4- África) Duvenhage; (GT5-Europa) lyssavirus 1 del murciélago europeo o EBL1; (GT6-Europa) EBL2, y (GT7-Australia) lyssavirus del murciélago australiano o ABLV (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2000; Badrane *et al*., 2001).

En el continente americano, solo se han identificado aislados perteneciente al GT1 (Nadin-Davis y Loza-Rubio, 2006). Este virus se ha mantenido en la naturaleza mediante ciclos en poblaciones de cánidos domésticos, carnívoros terrestres y murciélagos, los cuales actúan como reservorios del VRAB (Velasco-Villa *et al*., 2002; OMSA, 2004; Velasco-Villa *et al*., 2006; OPS, 2020).

En la actualidad, la creciente disponibilidad de datos de secuencias genómicas de los patógenos de interés ha facilitado un mejor conocimiento de la epidemiología molecular (Pybus *et al*., 2015; Campbell *et al*., 2022), al permitir una mejor diferenciación de los linajes virales y relacionarlas con sus reservorios (Brunker *et al*., 2018). La secuenciación de genomas completos es una técnica precisa y cada vez más factible de realizar, incluso en países del Sur Global (Burian *et al*., 2021). Esta técnica molecular supera las limitaciones de las técnicas tradicionales con el uso de secuencias parciales, por ejemplo, en un estudio publicado por Bárcenas-Reyes (2017) y colaboradores, el análisis filogenético de SGC del virus de la rabia en México obtuvieron un soporte de bootstrap mayor al 90 % en 22 de 23 nodos internos, en comparación con análisis en secuencias parciales del gen G y el gen P mostraron solo 13 y 12 nodos respectivamente con un valor mayor al 90 %. En otro estudio de 54 secuencias del virus de la rabia en

mapaches en Ontario (Nadin-Davis *et al*., 2017), los análisis filogenéticos con SGC 16 nodos internos tuvieron valores de bootstrap de >75%, mientras que las secuencias de los genes N, P y G contenían solo 2 y un nodo respectivamente con este valor, a su vez, el mismo estudio reportó que el número de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) detectados en las 54 SGC fue mayor (rango de 0 a 34) que en las secuencias parciales (1 a 3) con un máximo de 7 diferencias de SNP por gen, lo que evidencia una mejor diferenciación de las muestras (Nadin-Davis *et al*., 2017).

A su vez, se ha impulsado el desarrollo de la genómica comparativa, la cual, es un apoyo para los estudios evolutivos. No obstante, se requiere de herramientas bioinformáticas y softwares diseñados para analizar las secuencias de nucleótidos, con la finalidad de caracterizar, comprender la estructura y evolución de los virus (Lin *et al*., 2013; Mutte y Weijers, 2020; Gorbalenya y Lauber, 2022). En este contexto, la filogenética utiliza datos del genoma completo para robustecer las inferencias evolutivas y la clasificación taxonómica (Lin *et al*., 2013; Wadas y Domingues, 2025). Por lo que, el ICTV aprobó la genómica comparativa como única base aceptable para el reconocimiento de taxones de virus (Simmonds *et al*., 2017, Gorbalenya y Lauber, 2022).

El estudio de la genética y evolución viral es fundamental para la comprensión de enfermedades infecciosas. Los virus ARN, como el virus de la rabia se distinguen por tasas de mutación elevadas, que oscilan entre 10^{-6} y 10^{-4} sustituciones por nucleótido por ciclo de infección (Smith, 2017). Estas tasas de mutación les confiere adaptabilidad y virulencia, facilitando la diversidad genética dentro de las poblaciones virales. Esta plasticidad es vital para la adaptación del virus a diferentes entornos, respuesta inmunitaria y salto entre especies (Streicker, 2012).

Históricamente, los estudios del VRAB se han basado en regiones parciales, principalmente de los genes N, P o G (Johnson *et al*., 2014). El uso de genomas completos es más informativo, ya que las mutaciones y deleciones ocurren a ritmos

diferentes (Lin *et al*., 2013; Brunker *et al*., 2018). En el VRAB la variabilidad es heterogénea: el gen M presenta la mayor tasa (1.6%), seguido de los genes P y G (1%), L (0.4%) y N (0.2%) (Bonnaud *et al*., 2019). Sin embargo, no hay consenso sobre el fragmento más apropiado del genoma del virus de la rabia a utilizar y diferentes regiones dan resultados similares (Johnson *et al*., 2014).

Los análisis filogenéticos tienen un papel fundamental en el control de los virus, principalmente en los virus zoonóticos, como el virus de la rabia, permiten conocer y predecir patrones de transmisión viral entre diferentes especies hospedadores o susceptibles, el diagnóstico, la filogeografía, los estudios evolutivos y la taxonomía de los virus (Nadin-Davis y Real, 2011; Gorbalenya y Lauber, 2017). En el caso del VRAB, estas mutaciones pueden modificar la estructura de la glicoproteína, lo que altera la afinidad a receptores celulares y, en consecuencia, el rango de hospedadores y patogenia (Virojanapirom, 2016). La comprensión de esta dinámica viral es un factor esencial para el desarrollo de estrategias de control de las enfermedades.

2.3.2. Análisis filogenéticos

El análisis filogenético tiene como propósito reconstruir la historia evolutiva de los organismos mediante la cuantificación de las diferencias acumuladas y la evaluación de las similitudes en las secuencias de ADN, ARN o proteínas. Este método permite dilucidar relaciones de parentesco y trazar trayectorias evolutivas desde ancestros comunes hasta las variantes actuales (Mutte y Weijers, 2020; Wadas y Domingues, 2025). A la relación entre estos genomas relacionados con un ancestro común se le denomina filogenia (Gorbalenya y Lauber, 2017).

Para la virología, los análisis filogenéticos son herramientas fundamentales para identificar mecanismos de propagación, adaptación a hospederos, clasificar nuevas cepas o linajes, comprender procesos de selección y tasas de mutación, lo que permite a los epidemiólogos realizar predicciones de evolución viral y el

desarrollo de estrategias de prevención más efectivas (Johnson *et al*., 2014; Brunker *et al*., 2018; Young *et al*., 2022; Wadas y Domingues, 2025; Wang *et al*., 2025):

La construcción de filogenias confiables requiere considerar las características de las diferentes regiones del genoma, ya que están bajo una presión de selección diferente, por esto, se han planteado diversos modelos de evolución (Lin *et al*., 2013). El proceso de generación del árbol filogenético implica el alineamiento de las secuencias, la selección del modelo de sustitución y la inferencia del árbol. Cada etapa es crítica para evitar sesgos metodológicos (Zou *et al*., 2024; Wang *et al*., 2025), por lo que se han desarrollado herramientas bioinformáticas para disminuir la incertidumbre de las inferencias (Lin *et al*., 2013).

Un árbol filogenético (Figura 7) es la representación de las líneas de descendencia evolutiva de las especies desde un ancestro común, muestra la distancia entre grupos y el grado de parentesco (Abaza, 2020) está compuesto por nodos externos que representan las unidades taxonómicas operativas (OTU), es decir, las secuencias analizadas, nodos internos, que representan las unidades taxonómicas hipotéticas (HTU), que corresponden a ancestros comunes estimados y ramas, las cuales indican las relaciones temporales o distancias genéticas entre nodos. El clado dentro de un árbol abarca un nodo y los linajes que se originan de él (Zou *et al*., 2024). Las especies que descienden de un nodo interno en un árbol enraizado forman un linaje, al nodo se le denomina ancestro común más reciente (MRCA) ese linaje se dice que es monofilético (Gorbalenya y Lauber, 2017).

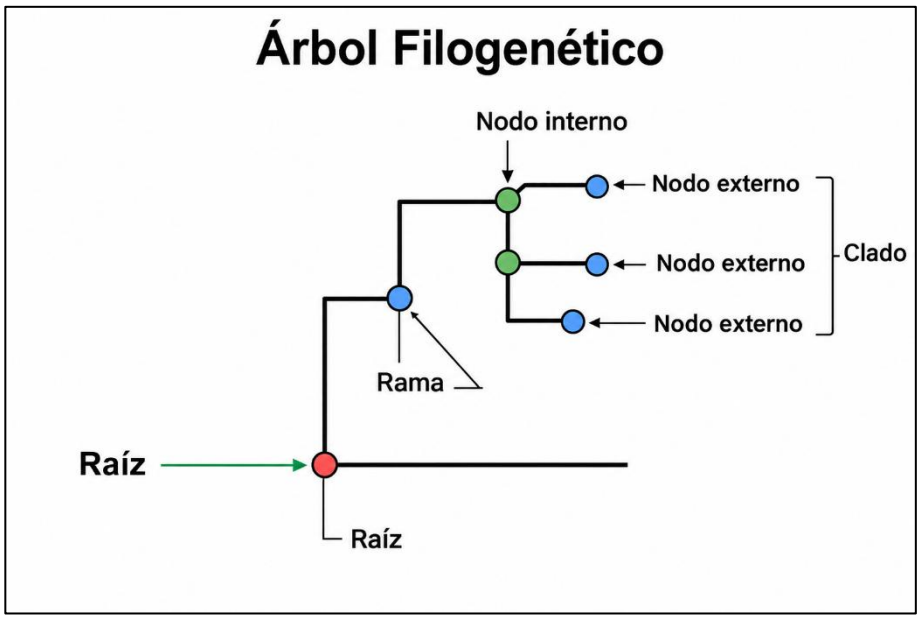


Figura 7. Componentes de un árbol filogenético.
Elaboración propia basado en Mendoza-Revilla (2012).

En los análisis filogenéticos se han desarrollado diversos enfoques de inferencia. Existen aquellos basados en parsimonia, los cuales se basan en la búsqueda del árbol con menor número de cambios evolutivos mediante la reducción del número de eventos necesarios desde un ancestro común (Lin *et al*. 2013). El otro enfoque es el basado en distancias, en los cuales éstas son estimadas por pares para genera una matriz de distancias con el método de Neighbor-joining, la precisión depende de la estimación de la distancia el otro enfoque es el de máxima verosimilitud que evalúa la probabilidad de que un modelo y un árbol específico produzca los datos observados con mayor precisión, pero son costosos computacionalmente (Lin *et al*., 2013). En 1996, Rannala y Yang introdujeron en la filogenética la idea de utilizar el análisis bayesiano y las probabilidades a posteriori (PP) para estimar árboles filogenéticos y soportes de ramas, respectivamente. Larget y Simon (1999) desarrollaron aún más el enfoque bayesiano de la filogenética, y el programa intuitivo MrBayes facilitó su adopción generalizada. Las PP son más fáciles de interpretar, es equivalente a la probabilidad de que se encuentre un nodo particular en el árbol verdadero dados los datos, el modelo y los

valores anteriores, incluyendo longitudes de rama y topología. El PP representa la probabilidad real de que se encuentre un nodo dado en el árbol verdadero, dados los datos, el modelo y los valores anteriores. Los soportes de Bootstrap son más nebulosos y numerosos estadísticos los interpretan de manera diferente, como se describió anteriormente (Simon, 2022).

Los diferentes enfoques filogenéticos son soportados por técnicas de remuestreo o bootstrap, en el que, los datos se muestrean aleatoriamente hasta que la pseudomuestra tenga el mismo tamaño que el original, se crea un árbol para cada réplica y la proporción de bootstrap es el porcentaje de pseudomuestras en las que se sustenta la rama original (Felsenstein 1985). Holmes en 2003, describió el bootstrap como “una medida de la robustez de los resultados de un análisis filogenético ante pequeños cambios en los datos”.

2.3.3. Filogeografía del virus de la rabia

La filogeografía es una disciplina que emplea la información genética para investigar la relación de la distribución geográfica con los linajes genealógicos (Holmes *et al*., 2026). Su objetivo es inferir los patrones de dispersión y describir los mecanismos que explican su distribución como pueden ser las fuerzas ecológicas, climáticas y demográficas proporcionando una comprensión mecanicista de la biogeografía viral (Kumar y Kumar, 2018; Zhang *et al*., 2025). Permite no solo conocer en dónde se encuentran los linajes, sino en por qué están allí y cómo llegaron, identificando los factores que contribuyeron a su distribución espacial, lo cual es de gran ayuda a la epidemiología predictiva, ya que al identificar las fuerzas ambientales y demográficas que dan forma a la propagación viral, se pueden anticipar futuros patrones de dispersión, detectar áreas de alto riesgo para la emergencia o reemergencia de enfermedades, y diseñar estrategias de intervención más efectivas y geográficamente dirigidas, transformando la cartografía descriptiva

en modelos predictivos de la biogeografía viral (De Carvalho *et al*., 2023; Zhang *et al*., 2025; Holmes *et al*., 2026).

La base de los estudios filogeográficos radica en la recopilación de secuencias virales de diversas ubicaciones geográficas y hospederos. Mediante la comparación de estas secuencias, es posible construir árboles filogenéticos que revelan los vínculos evolutivos entre los aislados virales (Faria *et al*., 2011; Wadas y Domingues, 2025).

Los estudios filogeográficos modernos se apoyan en herramientas bioinformáticas avanzadas como los programas de inferencia bayesiana, entre los cuales el más utilizado es BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) (Drummond y Rambaut, 2007). Estas herramientas permiten una visualización de las rutas contemplando el tiempo, el árbol filogenético y un escenario filogeográfico, lo que lleva a inferir la dinámica de la propagación viral (Chevenet *et al*., 2018). De la misma forma, factores como la región climática del hospedero y la estacionalidad de la transmisión influyen significativamente en las tasas de evolución viral (Streicker *et al*., 2012; Brunker *et al*., 2018). Los datos obtenidos pueden visualizarse también como gráficos de distribución que facilitan la comprensión de los patrones complejos de dispersión viral y migración (Siljic *et al*., 2023).

Los análisis filogenéticos y filogeográficos son complementarios y esenciales para una comprensión holística de la dinámica viral, ya que la evolución viral ocurre simultáneamente con su dispersión geográfica (Faria *et al*., 2011; Pybus *et al*., 2015). La secuenciación del genoma completo de los virus de la rabia, combinada con datos epidemiológicos y geográficos, está mejorando la capacidad de monitorear brotes y comprender los procesos que afectan la propagación viral a una velocidad sin precedente (Brunker *et al*., 2018).

III. HIPÓTESIS

El virus de la rabia circulante en *Desmodus rotundus* tiene diferencias en el genoma completo dependiendo de la región geográfica de procedencia.

IV. OBJETIVOS

4.1.1. Objetivo general

Establecer la relación filogeográfica de las secuencias del genoma completo del virus de la rabia circulante en *Desmodus rotundus* de México.

4.1.2. Objetivos específicos

Identificar el patrón de distribución geográfica de los casos de rabia ocurridos en murciélagos *Desmodus rotundus* en México.

Obtener la secuencia del genoma completo del virus rábico de muestras encefálicas positivas a rabia provenientes de murciélagos *Desmodus rotundus* en México.

Identificar la relación filogenética entre las secuencias obtenidas a través de la elaboración de árboles filogenéticos.

Analizar las secuencias de genoma completo del virus de la rabia para inferir su filogeografía.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología que se describe a continuación tiene la aprobación del comité de bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, con registro 091FCN2024.

5.1. Obtención de la información de casos de rabia en *D. rotundus*

Los casos de rabia en murciélagos *D. rotundus* reportados durante el periodo 2010 al 2019 en México fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Acceso a la Información (INAI), se obtuvo la base de datos de los casos de rabia en *D. rotundus* confirmados por laboratorio mediante la prueba de IFD, para los casos ocurridos del 2020 al 2024 se consultó el Sistema Regional de Información para la Vigilancia Epidemiológica de la Rabia (SIRVERA) (Disponible en: https://sirvera.panaftosa.org.br/) y el Sistema de Información de Acciones Sanitarias (SIAS) del SENASICA se registró en una base de datos en Excel la fecha, estado y municipio de ocurrencia de los casos.

Para obtener los casos de rabia confirmados en humanos del periodo 2010 al 2024 en México, se consultó la base de datos pública del SIRVERA, de la cual se seleccionó la información por fecha, estado y municipio de los casos asociados a la transmisión del VRAB por *D. rotundus* o de aquellos casos en los que se tuviera la información de las variantes antigénicas asociadas a *D. rotundus* (AgV3, AgV5 y AgV11). Con este criterio se usó información de 23 registros de casos de rabia en humanos ocurridos en el periodo de 2010 a 2024 de los cuales 2 fueron transmitidos por gatos no vacunados (asociados a fauna silvestre), 10 casos por murciélago hematófago, 10 por murciélagos cuya especie no fue identificada y 1 caso por murciélago no hematófago.

Con el propósito de conocer el patrón de distribución geográfica del murciélago *D. rotundus* en México, se obtuvieron los registros georreferenciados reportados y publicados en la base de datos de Van de Vuurst y colaboradores (2022b), que contempla registros desde los años de 1901 a 2019. Se obtuvieron

8,097 registros totales de presencia de *D. rotundus* para México, de los cuales 3,033 fueron registros únicos y fueron los datos con los que se elaboró un shape de puntos.

Con cada información obtenida se generó una base de datos en con el software Excel (v2610) y cada observación fue georreferenciada en coordenadas decimales (latitud y longitud).

5.2. Obtención de las SGC del VRAB proveniente de *D. rotundus*

A partir de ejemplares de *D. rotundus* remitidos a diagnóstico de rabia por la prueba de IFD en el periodo 2020-2024, como parte de las actividades de la Campaña de prevención y control de la rabia en especies ganaderas (NOM-067-ZOO-2007) en el Laboratorio de Referencia de Rabia para la OMSA del Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA) se obtuvieron 13 encéfalos positivos, los virus fueron secuenciadas en el Laboratorio de Biología Molecular del CENASA, de acuerdo con sus protocolos establecidos para la secuenciación de genoma completo con uso de la plataforma de secuenciación Illumina con el kit Illumina TruSeq® RNA Sample Preparation v2 Guide. Las 13 secuencias de genoma completo del virus de la rabia de *D. rotundus* mexicanos (SGC-VRAB-DR-MX) se encuentran reportadas en la base de datos del GenBank del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI, por sus siglas en inglés de National Center for Biotechnology Information) con los siguientes números de referencia: PQ379828, PQ379830, PQ379834, PQ379839, PQ379840, PQ379843, PQ379846, PQ379848, PQ379849, PQ379850, PQ510119, PQ510120 y PQ510121. Los metadatos (fecha, estado y municipio de procedencia) asociados a las SGC-VRAB-DR-MX fueron proporcionados por el CENASA para este trabajo.

5.3. Análisis espacial de los casos de rabia en *D. rotundus* y las SGC

Para la generación de mapas de la distribución geográfica de los casos de rabia en *D. rotundus*, casos de humanos, presencia del murciélago y las 13 SGC-VRAB-DR-MX se utilizaron los datos georreferenciados en coordenadas decimales y estos fueron convertidos a datos vectoriales con el sistema de referencia WGS84; EPSG:4326 usando el paquete *sf* en R studio (Pebesma, 2018).

Como base del territorio de México se utilizó el shapefile de la base de datos de Áreas Administrativas Globales (GADM, versión 4.1) disponible en: https://geodata.ucdavis.edu/gadm/gadm4.1/shp/gadm41_MEX_shp.zip.

Para representar la variación altitudinal del territorio, se obtuvo un modelo digital de elevación (DEM, por sus siglas en inglés) mediante la función *get_elev_raster* de la paquetería *elevatr* utilizando los datos de elevación de Amazon Web Services Terrain (AWS) Tiles en el entorno de programación R (Hollister, 2017). Posteriormente el DEM fue convertido a formato ráster mediante la paquetería *terra* (Hijmans *et al*., 2020) y utilizado como capa para la representación de los 13 registros correspondiente a las SGC-VRAB-DR-MX.

Para la generación del mapa se ejecutó la paquetería *ggplot2* (Wickham, 2016) y se adicionaron los elementos cartográficos vectoriales y en formato Ráster con uso de *ggspatial* (Dunnington, 2026) del programa R (v2025.09.1).

Con el propósito de conocer la relación espacial del principal huésped susceptible, el ganado bovino y *D. rotundus* se elaboró un mapa con los datos de la población bovina a nivel estatal (en millones de cabezas de ganado) se extrajeron de los registros del Padrón Ganadero Nacional (PGN-SINIGA) correspondientes al año 2026, disponibles en: https://www.pgn.org.mx/consultaPgn.html. Con esta base, se generó un mapa coroplético con la paquetería *ggplot* (Wickham, 2016), al cual se le agregó la capa de las coordenadas de la presencia de *D. rotundus.* en R studio (Hijmans *et al*., 2026). Con el mismo mapa base de la población de bovinos, se generó otro mapa con una capa que representó los focos rábicos de 2015 a 2025

por municipio reportados en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SIVE) del SENASICA.

5.4. Análisis filogenético

Para el análisis filogenético se utilizaron tres sets de secuencias: inicialmente, se construyó el primer grupo con las 13 SGC-VRAB-DR-MX y el segundo set de secuencias con 28 SCG-VRAB-DR-MX, que constó de las 13 iniciales más 13 secuencias reportadas en el GenBank que cumplieron con los criterios de ser genomas completos, ser origen *D. rotundus* y que fueron de México, más do secuencias asociadas a *D. rotundus* una de humano (JQ685953) y otra de bovino (JQ685936) para estos dos sets se descargó la secuencia OM971004 (*Nasua narica*, de Tekax, Yucatán aislada en 2017) de genoma completo seleccionada como grupo externo (outgroup), ya que es de un reservorio diferente. El tercer set de 51 secuencias incluyó a aquellas secuencias de genoma completo del VRAB que fueron reportadas en México (SGC-VRAB-MX) sin importar el huésped del cual fue aislado. Adicionalmente, se descargó la secuencia K244266 (de Gannoruwa bat lyssavirus) de genoma completo seleccionada como grupo externo. Las secuencias se descargaron en formato FASTA.

Con las secuencias de nucleótidos recuperadas, se realizó un alineamiento global múltiple de los tres sets de SGC-VRAB y de su grupo externo correspondiente, con la finalidad de alinear las posiciones homólogas (Edgar y Batzoglou, 2006), utilizando el programa MAFFT (Katoh y Standley, 2013).

Se realizó la evaluación del modelo de sustitución de nucleótidos que mejor se adaptó a cada set de secuencias a analizadas con el programa ModelTest-NG v0.1.7 (Darriba *et al*., 2020), en el cual se obtuvo el modelo de sustitución general reversible en el tiempo (GTR) con tasa de distribución gamma (G) y sitios invariantes (Γ) con base en el criterio de información de Akaike (AIC) y Criterio de Información Bayesiano (BIC).

Para el análisis filogenético se utilizó el programa IQTREE v 2.4. (Nguyen *et al*., 2015) que realiza inferencia de máxima verosimilitud (mL), se hicieron ensayos con 1,000 y con 5,000 réplicas. También se realizó el análisis mediante inferencia bayesiana (IB) con el programa MrBayes (v3.2.7) (Ronquist *et al*., 2012) con dos corridas independientes con cuatro cadenas de Markov cada una, realizando un total de 100,000 generaciones, con muestreo cada 100 generaciones.

Los árboles filogenéticos se visualizaron en el FigTree v1.4.4, con base en los metadatos proporcionados para cada de una de las 13 SGC-VRAB-DR-MX se pudo señalar la entidad y el año y municipio de origen. Para el segundo set de SGC-VRAB-DR-MX se colocó México y año de origen para las secuencias de las que no se tuvo el estado de procedencia y para el ultimo set, incluye en la identificación la especie y año en la que fue reportada la secuencia.

5.5. Análisis filogeográfico

Se realizó la reconstrucción del árbol molecular de las 13 SGC-VRAB-DR-MX. Para esto se utilizó un enfoque de inferencia bayesiana en el programa BEAST 2 v1.10.4 (Drummond y Rambaut, 2007), con base en la literatura sobre análisis filodinámicos y filogeográficos de genomas completos en lyssavirus (Brunker *et al*., 2015; Hayman *et al*., 2016; Trewby *et al*., 2017; Zhang *et al*., 2025) y revisando los modelos de dispersión en los linajes circulantes en *D. rotundus* y reservorios en América (Seetahal *et al*., 2013; Condori-Condori *et al*., 2013; Torres *et al*., 2014; Carvalho *et al*., 2023).

Las configuraciones del análisis se realizaron en la herramienta BEAUti v1.10.4, las particiones de los codones fue CP1+2, CP3, partiendo de la estación independiente de tasa relativas y el modelo de sustitución obtenido en la evaluación previa en ModelTest-NG v0.1.7 (Darriba *et al*., 2020). Para este análisis se realizaron réplicas para modelos de reloj estricto y relajado, para que, con base en los resultados, se seleccionara el mejor modelo para las secuencias. Las fechas de

las secuencias se incorporaron a BEAUti en formato decimal y en los casos en los que la secuencia no tuviera una fecha completa se modeló solo con el año (Streicker *et al*., 2019).

Para la inferencia del árbol se utilizó el modelo Bayesian Skyline Plot (Drummond *et al*., 2005), ya que es más flexible en cuanto al número de secuencias incluidas en el análisis (Condori-Condori *et al*., 2013; Brunker *et al*., 2015; Streicker *et al*., 2019). La estimación se realizó con el algoritmo de Cadenas de Markov Monte Carlo. Para cada modelo de reloj (estricto y relajado) se ejecutaron dos réplicas de 20,000,000 generaciones cada una, los registros de ambas réplicas se combinaron con LogCombiner (40,000,000 totales) descartando el 10 % inicial de cada cadena (Brunker *et al*., 2015). Finalmente, el análisis se validó en Tracer v1.7.2 y se generó el árbol en TreeAnnotator v1.10.4, se reportó la edad del nodo con la media del intervalo de densidad posterior 95 % (Condori-Condori *et al*., 2013; Trewby *et al*., 2017).

Para el análisis filogeográfico se realizó un análisis de estructura poblacional. Esta metodología cuantifica la composición genética de las secuencias en relación con un conjunto de poblaciones ancestrales que estiman para cada una de las secuencias la fracción de su genoma que puede ser asignada a cada uno de los grupos o ancestros (K) inferidos, lo que permite a su vez detectar la subestructura geográfica o ecológica, eventos de mezcla históricos o recientes y la diferenciación entre subpoblaciones (Alexander *et al*., 2009; Liu *et al*., 2013). Se usó la librería de *ADMIXTURE* en entorno R, con un enfoque de máxima verosimilitud (Alexander *et al*., 2009).

Como primer paso se usaron los sets las 13 SGC del VRAB y set de 26 secuencias de origen murciélago *D. rotundus* disponibles en el GenBank. A partir de un alineamiento global múltiple de las SGC-VRAB utilizando el programa MAFFT (Katoh y Standley, 2013), se convirtió a una matriz de SNPs. Se obtuvieron archivos de proporciones (.q) y frecuencias de alelos por clúster (.p) con la librería *hierBAPS*.

Para correr la librería de *ADMIXTURE*, se cargó el archivo .q y los metadatos de las secuencias (individuo, municipio), el resultado de visualiza en barras apiladas con la paquetería de *ggplot2*, ordenando individuos por K dominante o por población.

Posteriormente, se realizó un análisis factorial múltiple (MFA) en el cual se usaron dos librerías: *FactoMineR*, que maneja las variables complementarias (orografía, altitud) y datos mixtos (variables bioclimáticas) (Escofier y Pagès, 1994; Lê *et al*., 2008). Para identificar y señalar variables que están altamente correlacionadas entre sí y disminuir el riesgo de sobrestimación de los datos, se utilizó *Caret* con la función *findCorrelation* (Kuhn, 2008), para garantizar que los componentes principales capturados sean verdaderamente independientes y representen la máxima varianza con el menor número de dimensiones posible, como comúnmente se realiza en los estudios de nicho ecológico de murciélagos (Van De Vuurst *et al.,* 2025a; Van De Vuurst *et al.,* 2025b)

La selección de las variables bioclimáticas del WORDCLIM (Disponible en: https://www.worldclim.org/data/bioclim.html) que conformaron la matriz de datos para el MFA (Cuadro 6), fue calculada mediante una correlación de Pearson con un umbral del 0,85, con la finalidad de evitar la redundancia entre las variables (Hayes y Piaggio, 2018; Van De Vuurst *et al*., 2025; Olave-Leyva *et al*., 2025a). Con los datos filtrados se estructuró la base de datos en columnas por grupo:

- Grupo 1: Altitud.
- Grupo 2: Clima (BIO1, BIO2, BIO3, BIO4, BIO7, BIO13, BIO15, BIO17, BIO18 y BIO19).
- Grupo 3: Fisiografía (Orografía) para la ejecución del algoritmo para tablas mixtas, ponderando los grupos de variables para balancear su influencia en el modelo.

Cuadro 6. 19 Variables bioclimáticas.

Variable	Descripción
BIO1	**Temperatura media anual**
BIO2	**Rango diurno medio**
BIO3	**Isotermalidad**
BIO4	**Estacionalidad de la temperatura**
BIO5	Temperatura máxima del mes más cálido
BIO6	Temperatura mínima del mes más frío
BIO7	**Rango anual de temperatura**
BIO8	Temperatura media del trimestre más húmedo.
BIO9	Temperatura media del trimestre más seco
BIO10	Temperatura media del trimestre más cálido
BIO11	Temperatura media del trimestre más frío
BIO12	Precipitación anual
BIO13	**Precipitación del mes más húmedo.**
BIO14	Precipitación del mes más seco
BIO15	**Estacionalidad de la precipitación**
BIO16	Precipitación del trimestre más húmedo.
BIO17	**Precipitación del trimestre más seco**
BIO18	**Precipitación del trimestre más cálido**
BIO19	**Precipitación del trimestre más frío**

Nota: En letras negritas se señala las variables conservadas para el MFA.

Para este análisis se utilizó la georreferencia de los sitios de captura de los 13 murciélagos *D. rotundus* que fueron positivo al VRAB y que fueron secuenciados para este estudio.

VI. RESULTADOS

Durante el período comprendido entre 2010 a 2024 se diagnosticaron 160 casos positivos a rabia en *D. rotundus,* en la cual se observó una variabilidad en la frecuencia del número de casos por año. Sin embargo, hay una tendencia al alza a partir del año 2015, excepto para los años del 2019 y 2021 que solo se notificaron 8 casos en ambos años (Cuadro 7). El mayor número de casos ocurrieron en los años 2023 (13 %) y 2024 (14 %).

Cuadro 7. Frecuencia del número de casos de rabia en México en *D. rotundus* por año en el periodo de 2010 al 2024.

Año	Número de casos	%
2010	2	1
2011	1	1
2014	5	3
2015	12	8
2016	16	10
2017	15	9
2018	19	12
2019	8	5
2020	16	10
2021	8	5
2022	15	9
2023	21	13
2024	22	14
Total	160	100

Durante el periodo de 2010 a 2024 se registraron 160 casos positivos de rabia en *D. rotundus* distribuidos en 24 entidades federativas de México (Cuadro 8). Puebla presentó la mayor proporción de casos registrados (18.8 %), seguido de los estados de San Luis Potosí (8.1 %) y Tabasco (6.9 %); en conjunto, estos tres estados representaron el 33.8 % de los casos totales, por otra parte, Chihuahua,

Guanajuato, Querétaro y Quintana Roo registraron las frecuencias más bajas, con un caso cada uno.

Cuadro 8 Distribución de los casos de rabia en *D. rotundus* ocurridos en México de 2010 al 2024 por estado.

Estado	Frecuencia	Frecuencia relativa (%)
Campeche	5	3.13
Chiapas	8	5.00
Chihuahua	1	0.63
Colima	5	3.13
Durango	4	2.50
Guanajuato	1	0.63
Guerrero	9	5.63
Hidalgo	9	5.63
Jalisco	6	3.75
Estado de México	4	2.50
Michoacán	8	5.00
Nayarit	4	2.50
Oaxaca	8	5.00
Puebla	30	18.75
Querétaro	1	0.63
Quintana Roo	1	0.63
San Luis Potosí	13	8.13
Sinaloa	7	4.38
Sonora	5	3.13
Tabasco	11	6.88
Tamaulipas	3	1.88
Veracruz	8	5.00
Yucatán	6	3.75
Zacatecas	3	1.88
Total	160	100

Con la información de la geolocalización de 149 de los 60 casos positivos en *D. rotundus,* se realizó el mapa del patrón de distribución geográfica de los casos de rabia reportados en *D. rotundus* de acuerdo con la altitud en m s. n. m. del periodo 2010 al 2024 en México (Figura 8), en cual se observó que los casos positivos (puntos azules), se localizan desde el sur de Tamaulipas hasta la

península de Yucatán por la costa del Golfo de México, así como desde el sur de Sonora hasta Chiapas por la costa del Pacífico con tendencia de diseminación hacia la región del centro de México. La mayor concentración espacial de la distribución de los casos coincide con las zonas que tienen elevaciones de hasta 1,000 m s. n. m. Sin embargo, en altitudes mayores a 2,000 m s. n. m. también se observaron casos, particularmente en el municipio de Pueblo Nuevo, Durango (2,539 m s. n. m.), seguido de los municipios de Guadalupe y Calvo, Chihuahua (2,399 m s. n. m.), San Joaquín, Querétaro (2,384 m s. n. m.), San Pedro Cholula, Puebla (2,382 m s. n. m.) y el Arenal, Hidalgo (2,239 m s. n. m.).

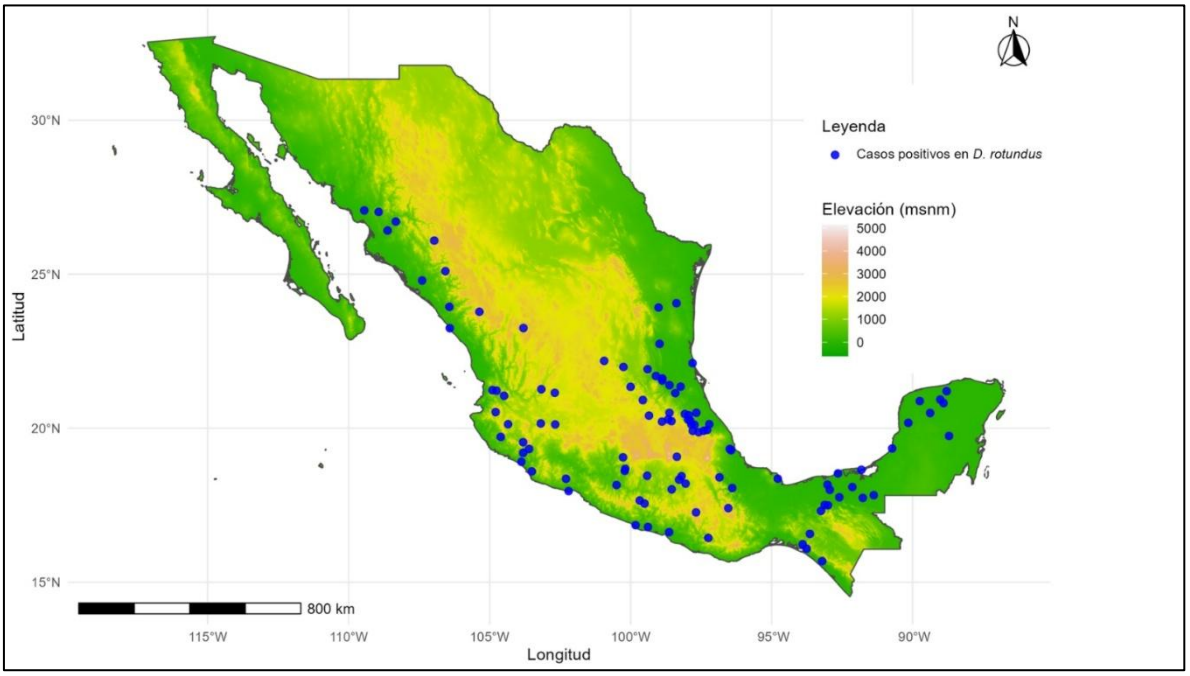


Figura 8. Distribución espacial de los casos de rabia (puntos azules) en *D. rotundus* reportados del 2010 al 2024, de acuerdo con la altitud en m s. n. m. en México.

Al analizar geográficamente la distribución de los casos de rabia en *D. rotundus* y las 3,033 geolocalizaciones de presencia de *D. rotundus* en México

(Figura 9), se observó que ambas distribuciones son similares a excepción de la zona sur del país, principalmente en regiones de Chiapas, Quintana Roo y Campeche. A su vez, la mayoría de los registros se localizaron en áreas con altitudes inferiores a los 2,000 m s. n. m. y solo se reportaron tres registros de presencia de *D. rotundus* en altitudes mayores a 3,100 m s. n. m., dos de ellos en Unión Juárez, Chiapas y uno en Ixtlán de Juárez, Oaxaca.

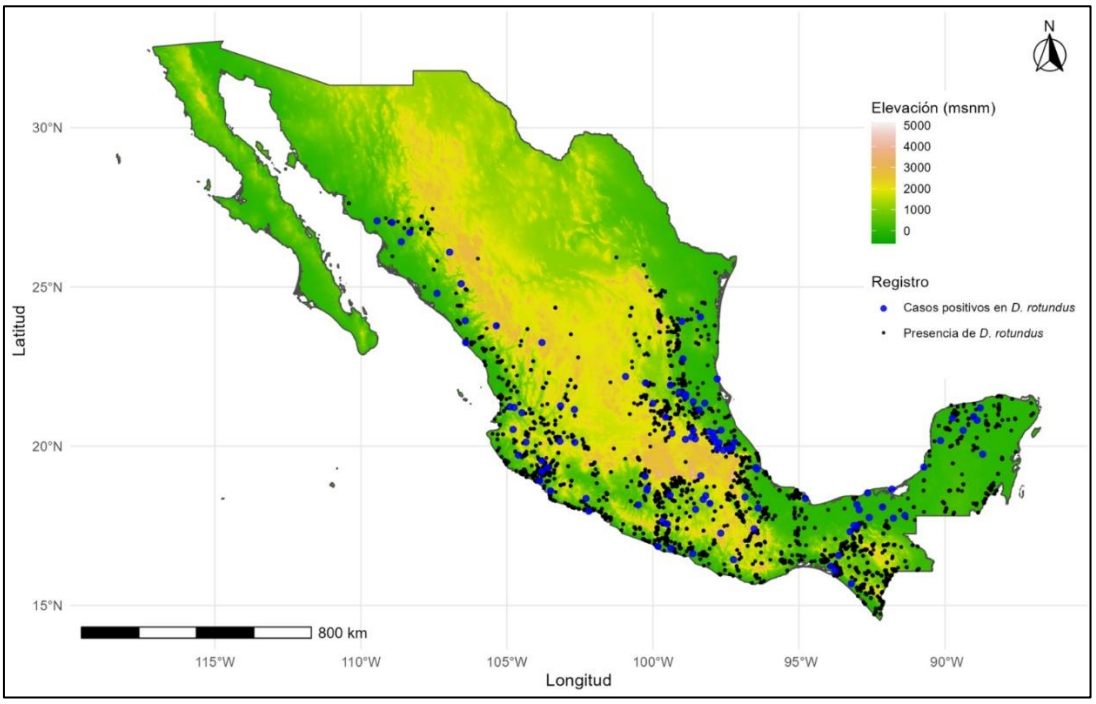


Figura 9. Distribución de la presencia de *D. rotundus* (puntos negros) (de 1901 a 2019) y casos de rabia de 2010 a 2024 en *D. rotundus* (puntos azules) en México.

Para evaluar la distribución altitudinal de los casos positivos y los registros de presencia de *D. rotundus,* las coordenadas se procesaron para extraer la elevación en m s. n. m., con los datos se generó el gráfico de barras que se observa en la Figura 10, se puede apreciar que la mayoría de los casos y reportes de presencia de *D. rotundus* (48.7 % y 42.2 %, respectivamente) fueron entre 0 y 500 m s. n. m. y si bien, se reporta un bajo porcentaje (>10 %) de sobre los

2,000 m s. n. m., se deberá seguir monitoreando la salud de las colonias de *D. rotundus*, ya que, aunque en baja proporción ya existen casos del VRAB en estas regiones.

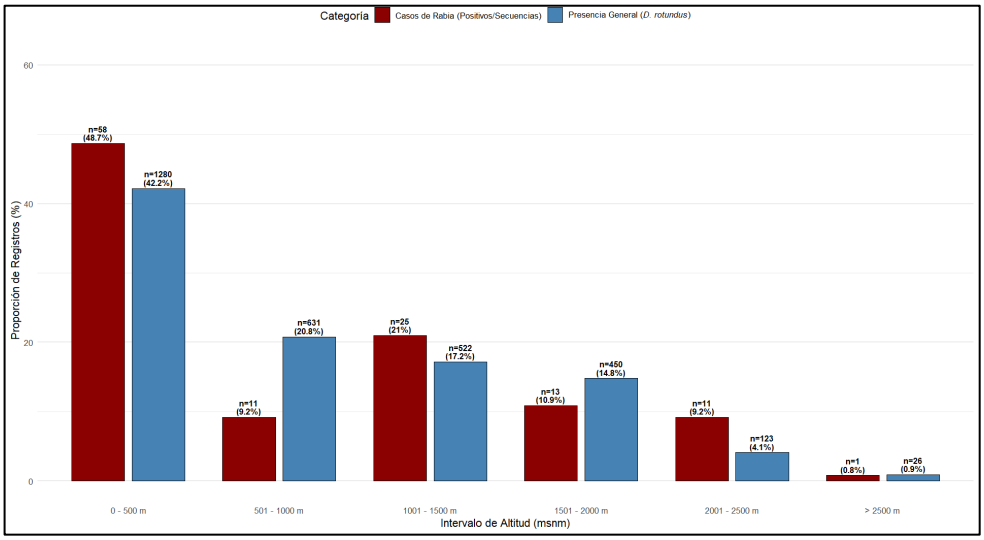


Figura 10. Distribución altitudinal de los casos de rabia (barras rojas) y presencia de *D. rotundus* (barras azules) en México.

A partir de 13 muestras de encéfalos positivos al virus de la rabia provenientes de murciélagos *D. rotundus* mexicanos del periodo del 2020 al 2024, se obtuvieron 13 SGC del VRAB con sus metadatos proporcionados por el CENASA. Las SGC fueron reportadas en el GenBank, los datos se pueden observar en el Cuadro 9.

La distribución espacial de las 13 SGC-VRAB-DR-MX del periodo del 2020 al 2024 mostró que diez provienen de tres zonas, la costa del Golfo de México, costa del Pacífico y zona Central distribuidas en áreas con altitudes menores a los 2,000 m s. n. m., de las cuales, una proviene del estado de Tamaulipas y una del estado de Veracruz correspondientes a la zona del Golfo de México, mientras que, para la zona del Pacífico con una secuencia por entidad correspondientes a Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Guerrero y para la región Central del país Puebla,

Michoacán y Edo. de México. Sin embargo, también se observó que las secuencias de Chihuahua, Oaxaca y Querétaro provenían de zonas con altitudes mayores a los 2,000 m s. n. m. s. cercanas a las cadenas montañosas que dividen a México (Figura 11).

Cuadro 9. Secuencias de genoma completo del VRAB proveniente de *D. rotundus* mexicanos del periodo 2020 a 2024.

ID	Estado	Altitud m s. n. m.	Mes	Año	Número de acceso
1	Sinaloa	163	7	2020	PQ379848
2	Chihuahua	2,384	10	2020	PQ379843
3	Jalisco	1,396	12	2020	PQ379846
4	Nayarit	1,006	5	2021	PQ379840
5	Puebla	1,234	12	2021	PQ379839
6	Veracruz	28	2	2022	PQ379834
7	Querétaro	2,382	2	2023	PQ379850
8	Oaxaca	2,096	2	2023	PQ379849
9	Estado de México	1,417	5	2023	PQ379828
10	Tamaulipas	170	11	2023	PQ379830
11	Michoacán	1,896	4	2024	PQ510119
12	Guerrero	1,269	5	2024	PQ510120
13	Colima	532	6	2024	PQ510121

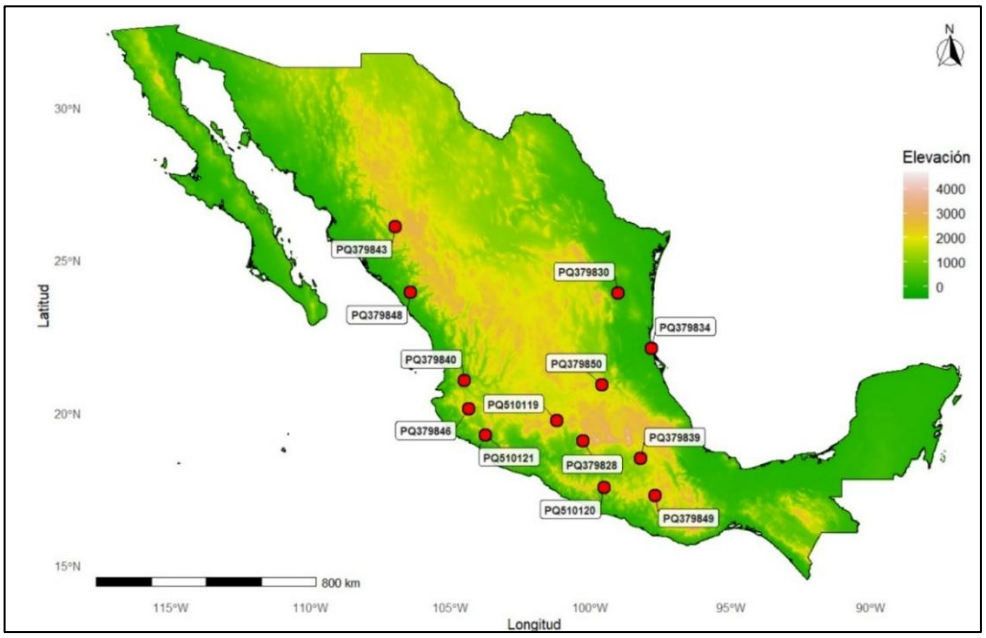


Figura 11. Mapa de distribución espacial de 13 SGC-VRAB-DR-MX (puntos rojos) de acuerdo con la altitud en m s. n. m.

La relación espacial de las 13 SGC-VRAB-DR-MX con el número de casos reportado, los sitios con presencia de *D. rotundus* y los sitios geográficos donde se reportaron los casos en humanos asociados a las variantes antigénicas correspondientes al reservorio en México coinciden geográficamente. Esto ocurre principalmente en aquellas zonas donde se tiene un mayor reporte del número de casos de rabia en humanos transmitida por murciélagos.

En la figura 12 se observa que, de estos casos, en diez de ellos, se identificó que la especie transmisora correspondía a *D. rotundus* (Triángulos azules), diez casos a murciélagos cuya especie no fue identificada (Triángulos negros) y un caso a un murciélago no hematófago (Triangulo amarillo).

De manera particular, se observó que la distribución de murciélagos hematófagos infectados con el VRAB coincide con casos en humanos transmitidos por la mordedura de otras especies domésticas, por ejemplo, en el estado de Quintana Roo en donde se observa un caso en humano transmitido por un gato infectado con el VRAB identificado con la variante AgV5. Si bien la distribución geográfica de las 13 SGC-VRAB-DR-MX obtenidas en este estudio no coincide con los casos en humanos asociados de *D. rotundus* en el sureste del país, no implica ausencia del virus, podría sugerir una falta de muestreo en esa zona.

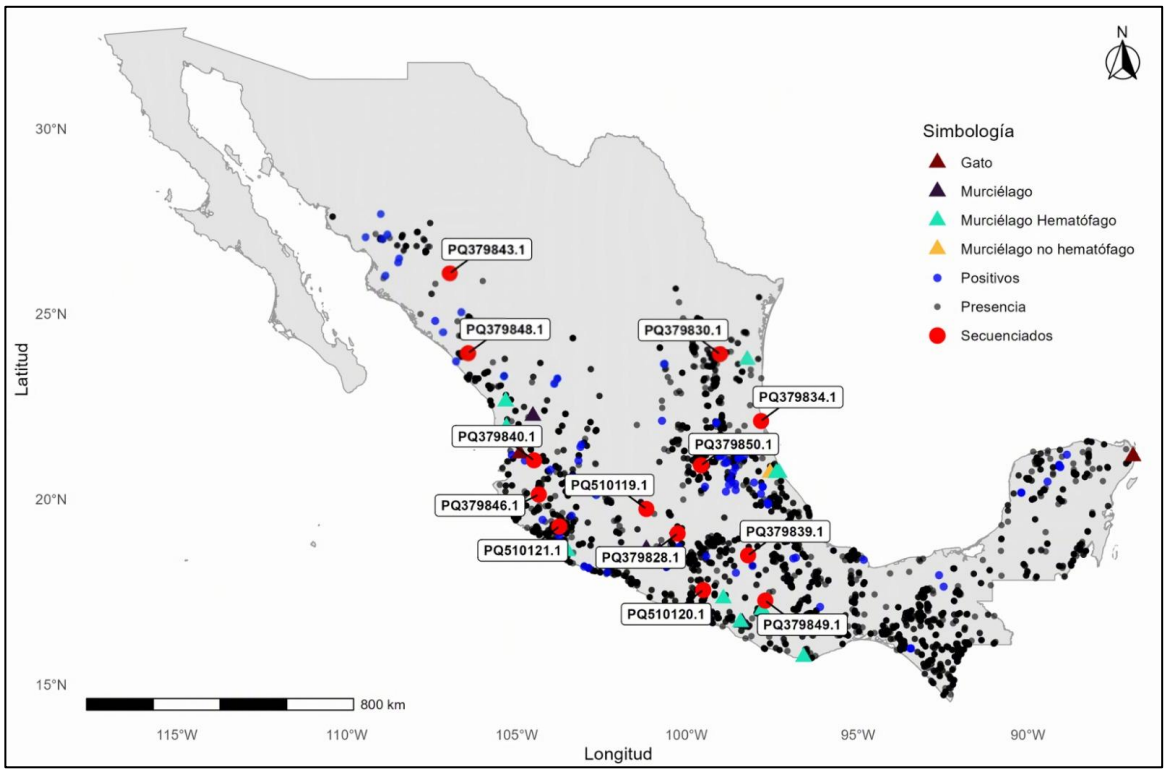


Figura 12. Distribución espacial de 13 SGC-VRAB-DR-MX, registros de presencia de *D. rotundus* y casos de rabia en humanos asociados a las variantes antigénicas del reservorio. Los puntos rojos representan a las 13 SGC-VRAB-DR-MX; los puntos azules los sitios con presencia de *D. rotundus* (Van De Vuurst et al 2022b). Los triángulos señalan los casos de rabia en humanos según su fuente de transmisión (obtenido del SIRVERA): *D. rotundus* (azul), murciélagos no identificados (negro), murciélago no hematófago (amarillo) y gato (café).

La distribución de los sitios con presencia de murciélago *D. rotundus* desde 1901 hasta 2019 de acuerdo con el número de cabezas de ganado bovino (cabz. bov) en la Figura 13, mostró una amplia distribución del reservorio (puntos negros) en tres zonas: la costa del Golfo de México, la costa del Pacífico y la zona central. Hay una coincidencia de la presencia de *D. rotundus* con el número de cabz. bov., ya que, la mayor concentración de sitios de registros del vampiro se encontró en estados con densidades poblacionales arriba de 1,000,000 de cabz. bov. Por

ejemplo, en los estados de Veracruz (4,425,250 cabz. bov) Chiapas (3,594,238 cabz. bov.) y Jalisco (3,681,618 cabz. bov). Sin embargo, también se observó que hay entidades que cuentan con más de 1 000 000 de cabz. bov. como Chihuahua (3,178,026 cabz. bov.) y Tabasco (1,911,981 cabz. bov) con pocos datos de sitios para la presencia de *D. rotundus*. Se observó una fuerte concentración de refugios y estados con una menor producción bovina como Colima que tiene una población ganadera de 180,262 cabz. bov y Michoacán con 946,757 cabz. bov, colindantes con Jalisco. De manera particular, para los estados del norte a pesar de tener un alto inventario ganadero, no tienen registro de la presencia de murciélago hematófago.

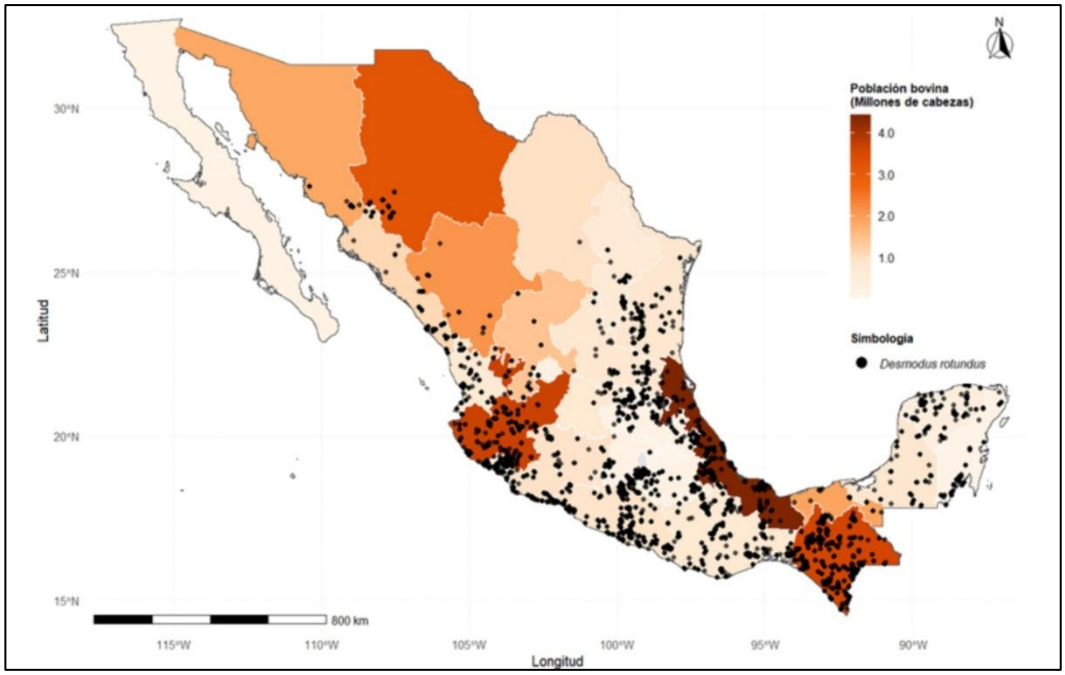


Figura 13. Distribución de los sitios con presencia de murciélago *D. rotundus* (puntos negros) de acuerdo con el número de cabezas de ganado bovino.

Con la finalidad de conocer la relación de la producción bovina (como la especie más susceptible) con los focos de rabia por municipio (SIAS, 2026), los casos de rabia en *D. rotundus* y los casos de rabia en humanos se elaboró el mapa

de la Figura 14. Se observa que la ocurrencia de los casos en humanos por *D. rotundus* no son independientes a lo que sucede en el ámbito de sanidad animal, ya que se observa que en las regiones con gran cantidad de focos rábicos coincide espacialmente con los casos de rabia en murciélago hematófago y en humanos. Como en el caso de Jalisco, Veracruz, Guerrero y Oaxaca.

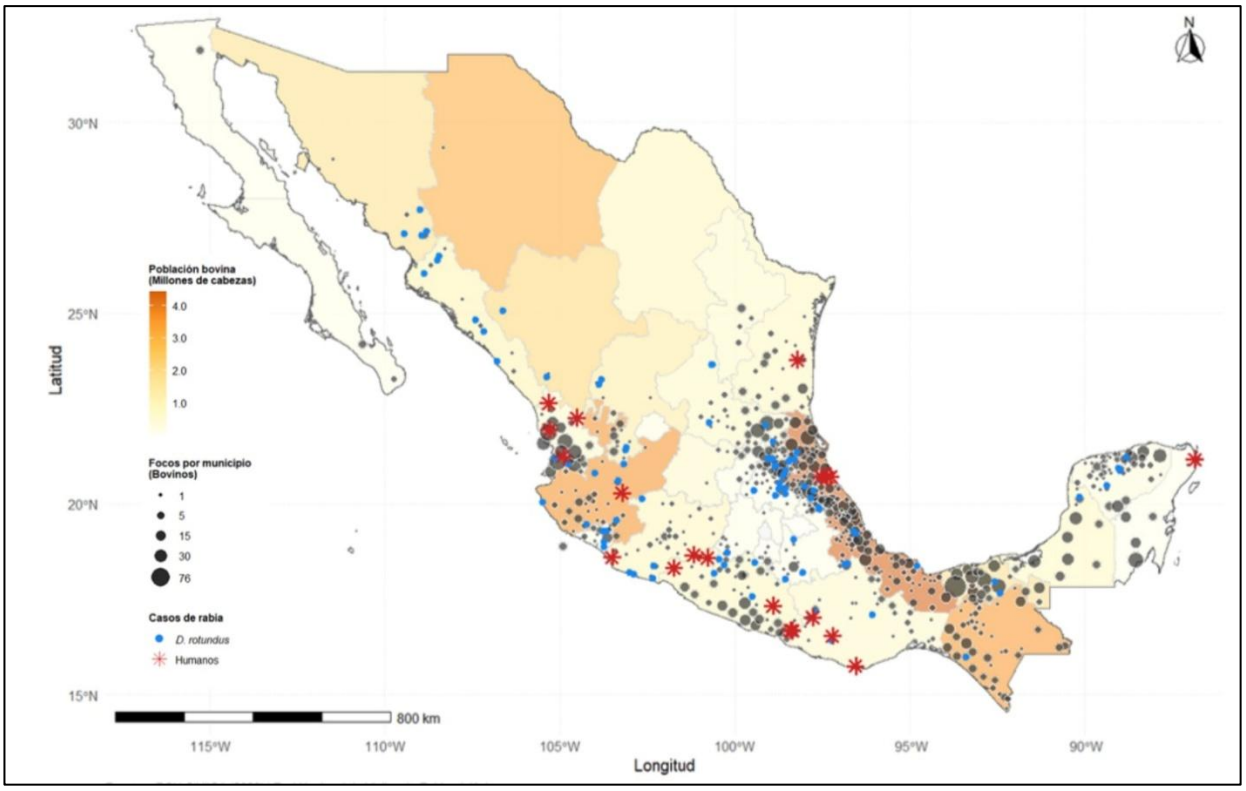


Figura 14. Distribución de los focos de rabia en bovinos (círculos negros), casos en humanos (asterisco rojo) y *D. rotundus* (puntos azules) sobre la producción bovina en México.

Para el análisis filogenético, primero se obtuvo el modelo de sustitución para cada uno de los sets de secuencias (Cuadro 10). De acuerdo con el criterio AIC para los tres análisis por máxima verosimilitud y dos con el criterio BIC para inferencia bayesiana, se observa que el modelo reversible en el tiempo generalizado (GTR, por sus siglas en ingles de General Time Reverse) con distribución gamma de 4 categorías (G4) con sitios invariables (I), este modelo explicó mejor la historia

evolutiva de las secuencias, siendo uno de los más complejos, ya que el modelo GTR asume que las cuatro bases nitrogenadas (A, T, G y C) no están en la misma proporción y que las tasas de sustitución entre ellas ocurren de manera diferente. La G4, se refiere a que las tasas de mutación son heterogéneas en los genomas alineados, en cuanto a los sitios invariables, el modelo asume que una proporción del genoma no tiene tasas de mutación, común bajo presión purificadora en regiones de importancia funcional para los organismos. El modelo de transversión (TVM) asume que las transiciones son homogéneas (A↔G y C↔T) y que las transversiones son independientes y heterogéneas, ya que detecta que la tasa de transición es muy similar y evita el sobreajuste de los parámetros.

Cuadro 10. Modelo de sustitución para cada grupo de secuencias.

Secuencias	Número de secuencias	AIC (mL)	BIC (IB)
SGC-VRAB-DR-MX	13 +1 outgroup	GTR+G4+I	GTR+G4+I
SGC-VRAB-DR-MX	28 +1 outgroup	GTR+G4+I	TVM+G4+I
SGC-VRAB-MX	53 +1 outgroup	GTR+G4+I	GTR+G4+I

El árbol filogenético construido con las 13 SGC-VRAB-DR-MX por máxima verosimilitud mostró cuatro clados con correspondencia geográfica con una buena robustez y un fuerte soporte estadístico, dado que, de nueve nodos terminales, ocho tuvieron valores de bootstrap del 100 % y solo uno del 75 % (Figura 15).

Un primer grupo (color rosa), soportado por un nodo interno del 100 %, que incluyó a las SGC circulantes en la región centro-sur: una de Puebla en 2021 (PQ379839), una de Oaxaca del 2023 (PQ379849) y una de Guerrero del 2024 (PQ510120). En este, la secuencia de Guerrero se sitúa de forma basal como linaje hermano del subclado correspondiente de este grupo.

El segundo grupo (color azul claro) incluyó agrupadas en un mismo subclado a las SGC de Veracruz del año 2022 (PQ379834), zona correspondiente a la costa del Golfo de México y una de la región central de México proveniente de Querétaro en 2023 (PQ379850), con un bootstrap del 75 %. Dentro de este grupo, la secuencia de Tamaulipas en 2023 (PQ379830) ocupó la posición basal.

El tercer grupo fue el más pequeño (color amarillo), agrupó dos SGC del 2020 en la zona del Norte: una proveniente de Chihuahua (PQ379843) y otra del estado de Sinaloa (PQ379848).

En un cuarto grupo (color azul fuerte) agruparon las SGC de la región del occidente y centro del país, a lo largo del eje neovolcánico. Aquí se observó que las SGC del VRAB circulantes en *D. rotundus* están bien diferenciados del resto del país. Dentro de este clado, la secuencia originaria de Nayarit (PQ379840) es la secuencia más divergente, agrupó con un nodo interno del que se infieren dos subclados bien diferenciados (100 % de bootstrap), uno para la región central que agrupó a la SGC PQ379828 del Edo. de México del 2023 y la PQ510119 de Michoacán del 2024; y otro para la región de la costa del occidente con una SGC de Jalisco (PQ379846) del año 2020 y una de Colima (PQ510121) del 2024 que posiblemente sea resultado de la proximidad territorial de estos estados.

El análisis filogenético de las 13 SGC-VRAB-DR-MX reveló que el VRAB circulante en *D. rotundus* se asocia por la proximidad de estas zonas colindantes, independientemente de los años en las que fueron colectadas las muestras. A excepción de la secuencia PQ379839 de Querétaro (2023) que difiere de las circulantes en la región costa del Golfo de México con las que agrupó.

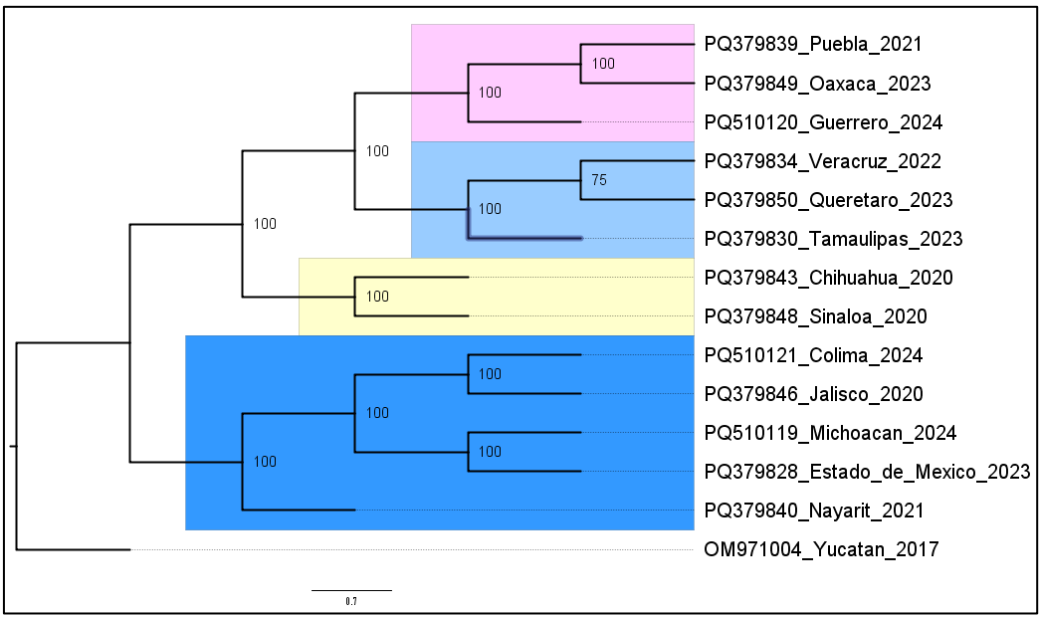


Figura 15. Árbol filogenético de 13 secuencias de genoma completo del virus de la rabia circulante en *Desmodus rotundus* de 13 Estados de México. Color rosa: región sur-centro. Color azul claro: región Golfo-centro. Color amarillo: región del norte. Color azul fuerte: región occidente-centro.

Se formó un set de 28 SGC-VRAB-DR-MX (Cuadro 11) con el que se realizó el análisis filogenético (Figura 16) y en el que se observó que al incrementar número de SGC (letras negras), se mejoró la resolución de la ancestría de las 13 SGC obtenidas en este estudio (letras azules). El árbol conservó su topología y a las dos grandes divergencias entre el occidente y el resto del país, así como la agrupación de las secuencias con origen conocido en los cuatro clados. Los valores de bootstrap fueron en su mayoría del 100 %, excepto el nodo en que se agruparon las SGC de Querétaro-Veracruz (89 %) y el nodo que agrupó a dos secuencias externas dentro del clado de Michoacán (50 %).

Cuadro 11. Secuencias de genoma completo aisladas en *D. rotundus.*

ID	País	Huésped	Año	Acceso al GenBank
1	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379843.1
2	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379846.1
3	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379848.1
4	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379839.1
5	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379840.1
6	México	*Desmodus rotundus*	2022	PQ379834.1
7	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379828.1
8	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379830.1
9	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379849.1
10	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379850.1
11	México	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510119.1
12	México	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510120.1
13	México	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510121.1
14	México	*Bos taurus**	2009	JQ685936.1
15	México	*Homo sapiens**	2009	JQ685953.1
16	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379829.1
17	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379831.1
18	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379832.1
19	México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379833.1
20	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379835.1
21	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379836.1
22	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379837.1
23	México	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379838.1
24	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379841.1
25	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379842.1
26	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379844.1
27	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379845.1
28	México	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379847.1

*Asociada a *Desmodus rotundus*

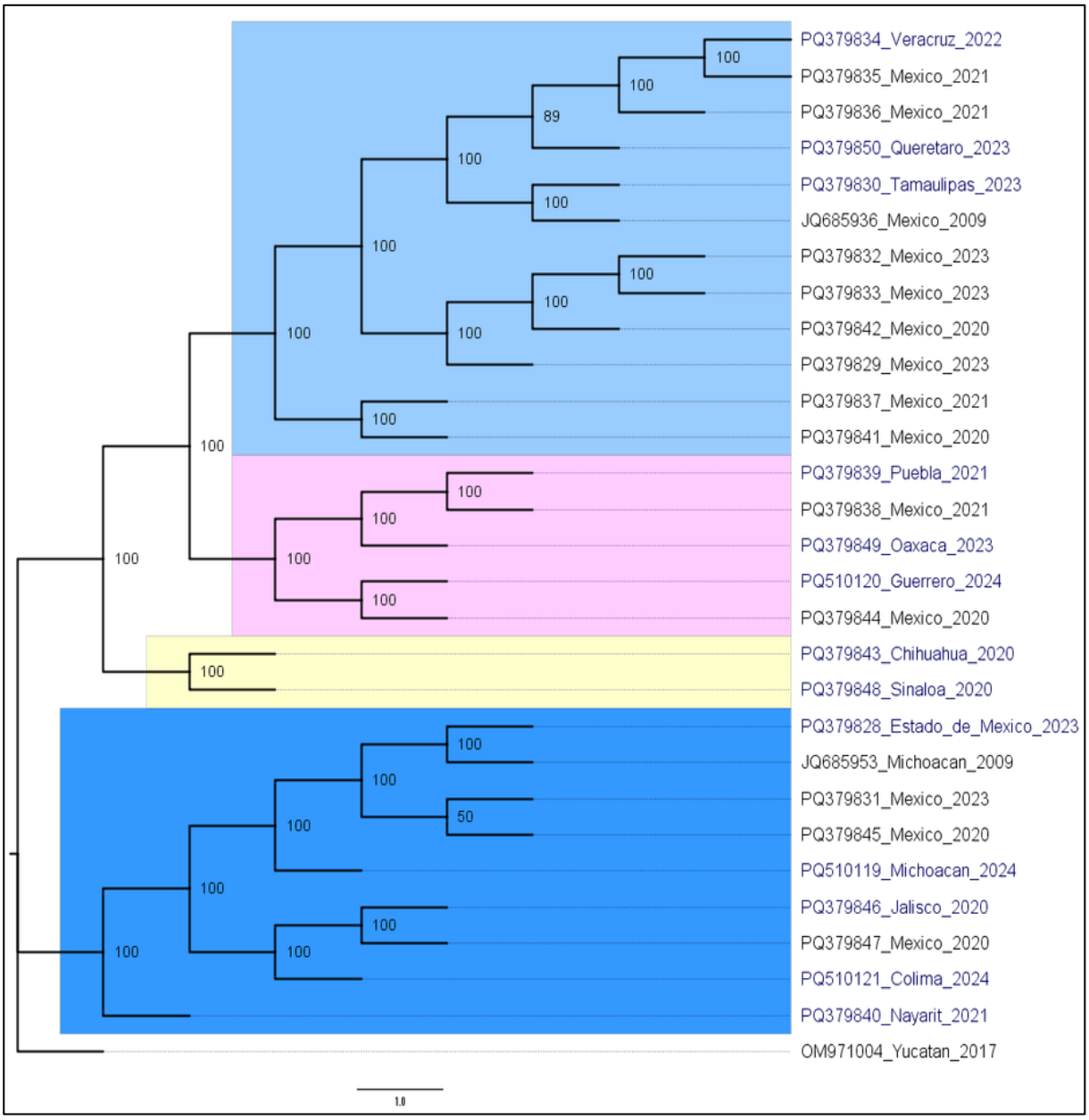


Figura 16. Árbol filogenético de secuencias del virus de la rabia aisladas de *Desmodus rotundus* o asociada a *D. rotundus.* Color rosa: región sur-centro. Color azul claro: región Golfo-centro. Color amarillo: región del norte. Color azul fuerte: región occidente-centro.

Se identificó que en el clado de la región del Golfo de México (azul claro) se agruparon una SGC de Tamaulipas de 2023 (PQ379830) y una de México de 2009 (JQ685936) en un grupo hermano, lo que podría sugerir que el linaje de

este grupo se ha conservado a lo largo del tiempo en la región. En un nodo anterior, se observa la relación de este linaje de Tamaulipas con el nodo de donde divergen las secuencias de Querétaro y los linajes agrupados en el subclado con la SCG de Veracruz en 2022 (PQ379834). Inferencias tuvieron un buen valor de bootstrap de 100 % y 89 %.

El siguiente clado (rosa claro), reveló dos agrupamientos; el primero incluyó a una SGC de Puebla en 2021 (PQ379839) y una SGC PQ379838 mexicana (Sin dato de procedencia) de 2021, mientras que la secuencia de Oaxaca se ubicó en una rama hermana de este linaje. Un segundo agrupamiento, incluyó a una SGC de Guerrero 2024 (PQ510120) con otra mexicana de 2020 sin dato de procedencia (PQ379844).

Respecto a las secuencias del norte Chihuahua y Sinaloa (PQ379843 y PQ379848 respectivamente), se agruparon en el mismo grupo monofilético con un soporte del 100 %. Esto, podría sugerir que sean origen de dos brotes aislados en estas entidades, ya que solo un caso de rabia en *D. rotundus* fue notificado en Chihuahua y siete en Sinaloa (ver Cuadro 7).

Finalmente, en el segundo gran clado de la zona centro y occidente (azul fuerte), la SGC de Nayarit en 2021 (PQ379840) sigue siendo la más divergente del grupo. En el subgrupo superior, se observó que la SGC del Edo. de México de 2023 (PQ379828) es más reciente que la de Michoacán de 2024 (PQ510119). Destaca que la secuencia aislada de humano en 2009 se agrupa con un soporte del 100 % de soporte junto a la secuencia PQ379828 de 2023, lo que permite confirmar que el caso reportado como asociado a *D. rotundus* es de este origen y el virus permanece circulando la región. El subgrupo inferior, conserva a las secuencias de Jalisco y Colima, se agregó una secuencia al linaje de Jalisco.

En el análisis filogenético del tercer set (Cuadro 12), que incluyó a las 13 SGC-VRAB-DR-MX con otras 40 SGC-VRAB-MX de diferentes hospederos se usó la SGC correspondiente al *Lyssavirus gannoruwa* como grupo externo

(KU244266), de este análisis se obtuvo el árbol filogenético de la Figura 17. En el que se observaron dos macro linajes, el primero agrupó SGC del VRAB correspondientes el ciclo silvestre aéreo (en letras azules), mayormente representado por SGC de *D. rotundus*, el segundo agrupó al ciclo terrestre en el que agruparon SGC del VRAB correspondientes a fauna silvestre (zorrillos y coatíes) y perros principalmente. En ambos clados hubo secuencias de coatíes. De 52 nodos internos totales, 44 de ellos tenía valores de bootstrap mayores al 95 %. Las 13 SGC-VRAB-DR-MX analizadas en este estudio agruparon en el macro linaje correspondiente a los reservorios naturales del VRAB en el ciclo silvestre aéreo de México, por lo que se puede inferir que los linajes del VRAB circulante en *D. rotundus* mexicanos son aún bien diferenciadas de aquellas que circulan en reservorios del ciclo terrestre, tanto en fauna silvestre, como en perros.

Cuadro 12. Secuencias de genoma completo del virus de la rabia aisladas en México.

Origen			Huésped	Año	Acceso al GenBank
ID	País	**Estado**			
1	México	Chihuahua	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379843
2	México	Jalisco	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379846
3	México	Sinaloa	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379848
4	México	Puebla	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379839
5	México	Nayarit	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379840
6	México	Veracruz	*Desmodus rotundus*	2022	PQ379834
7	México	Estado de México	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379828
8	México	Tamaulipas	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379830
9	México	Oaxaca	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379849
10	México	Querétaro	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379850
11	México	Michoacán	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510119
12	México	Guerrero	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510120
13	México	Colima	*Desmodus rotundus*	2024	PQ510121
14	México	-	*Canis familiaris*	2011	HQ450386
15	México	-	*Spilogale putorius*	2009	JQ685929
16	México		*Bos taurus*	2009	JQ685936
17	México	-	*Homo sapiens*	2009	JQ685953

18	México	-	*Spilogale putorius*	2007	JQ685954
19	México	Quintana Roo	*Nasua narica*	2009	JQ685963
20	México	-	*Spilogale putorius*	2009	JQ685975
21	México	-	*Canis familiaris*	2013	KT006769
22	México	-	*Canis familiaris*	1991	KX148102
23	México	-	*Canis familiaris*	1991	KX148111
24	México	-	*Homo sapiens*	1991	KX148112
25	México	Yucatán	*Canis familiaris*	2015	KX708499
26	México	Yucatán	*Canis familiaris*	2014	KX708500
27	México	Yucatán	*Canis familiaris*	2013	KX708501
28	México	Chiapas	*Canis familiaris*	2012	KX708502
29	México	Chiapas	*Canis familiaris*	2014	KX708503
30	México	-	*Canis familiaris*	1991	KX148110
31	México	Yucatán	*Canis familiaris*	2008	KX708504
32	México	-	*Equus caballus*	2021	OK564514
33	México	Quintana Roo	*Nasua narica*	2007	OM971001
34	México	Quintana Roo	*Nasua narica*	2008	OM971002
35	México	Yucatán	*Nasua narica*	2015	OM971003
36	México	Yucatán	*Nasua narica*	2017	OM971004
37	México	Yucatán	*Nasua narica*	2020	OM971005
38	México	-	*Bos taurus*	2022	PP736759
39	México	-	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379829
40	México	-	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379831
41	México	-	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379832
42	México	-	*Desmodus rotundus*	2023	PQ379833
43	México	-	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379835
44	México	-	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379836
45	México	-	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379837
46	México	-	*Desmodus rotundus*	2021	PQ379838
47	México	-	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379842
48	México	-	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379844
49	México	-	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379845
50	México	-	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379847
51	México	-	*Desmodus rotundus*	2020	PQ379841
52	México	-	Insectivorous bat	2024	PQ510122
53	México	-	*Canis familiaris*	2002	LT909544

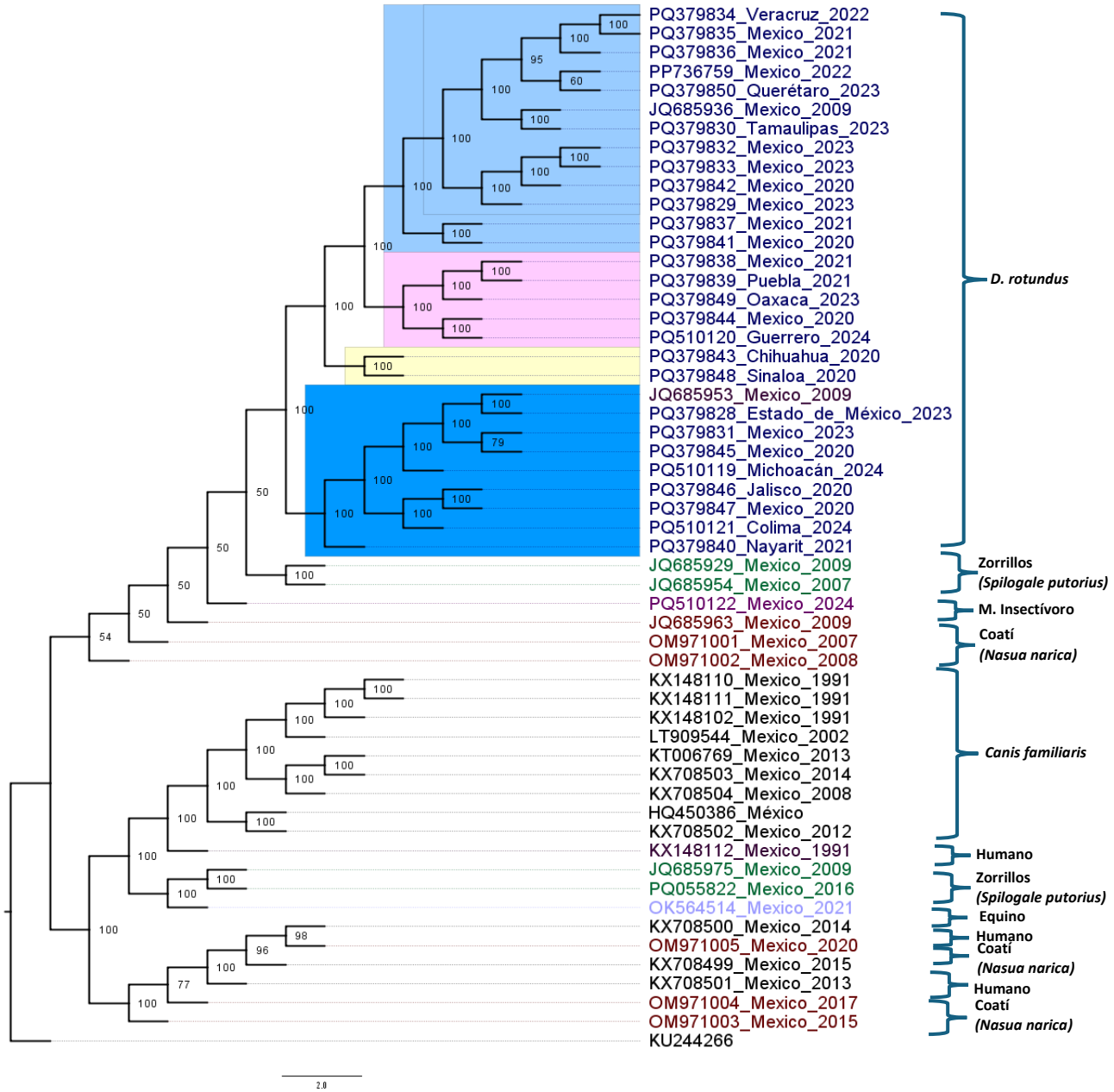


Figura 17. Árbol filogenético de 53 secuencias del virus de la rabia aislados en México.

En el análisis por inferencia bayesiana se obtuvo el árbol con reloj molecular (Figura 18) para estimar el tiempo hasta el ancestro común más reciente (tMRCA). En el cual se utilizaron las 13 SGC-VRAB-DR-MX de este estudio, las SGC: JQ685936 y JQ685953 del 2009 por ser las secuencias de origen *D. rotundus* más

antiguas reportadas en México y la SGC mexicana OM971004 proveniente de Yucatán por ser de otro reservorio (*Nasua narica*).

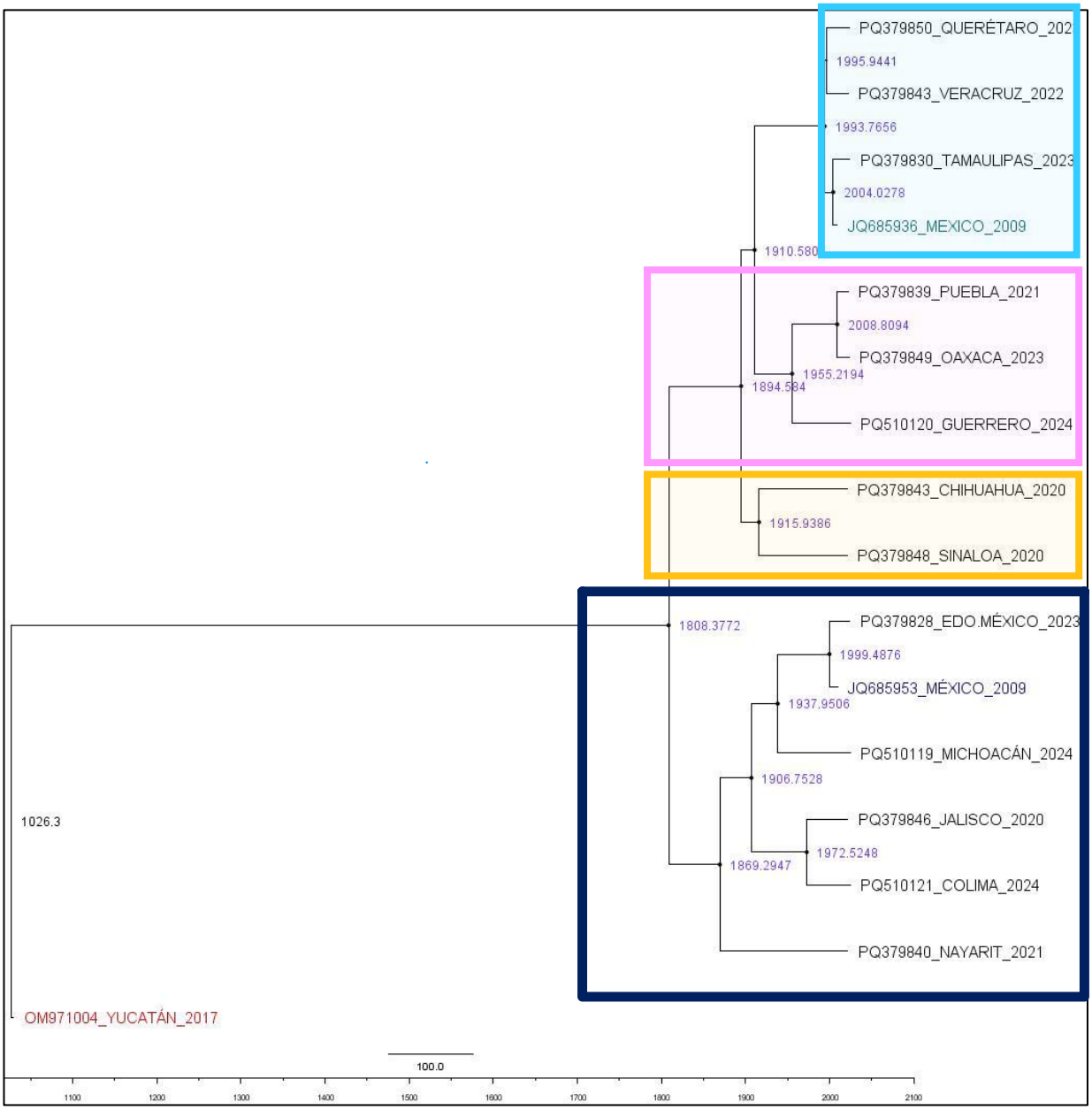


Figura 18. Árbol filogenético con reloj molecular por inferencia bayesiana de 16 SGC-VRAB-DR-MX.

Al comparar la reconstrucción filogenética con calibración temporal (Figura 18) con el árbol construido por máxima verosimilitud sin datos temporales (Figura 15) se observó que la topología en ambos arboles fue similar.

En este análisis se observa que de acuerdo con la estimación del tMRCA, un nodo separa a los dos clados principales de murciélagos cerca del año 1808. En el clado indicado en color azul claro correspondiente a las SGC-VRAB-DR-MX del Golfo de México y Querétaro, los subclados de Querétaro (2023) y Veracruz (2022) divergen aproximadamente en 1993 de la secuencia de Tamaulipas (2023) y JQ685936 mexicana (2009). Las SGC de Veracruz y Puebla se diferenciaron en 1995, mientras que la de Tamaulipas 2023 y la JQ685936 su tMRCA está datado en 2004, lo que sugiere que la historia evolutiva de los linajes del norte de la costa del Golfo de México es relativamente reciente.

El segundo grupo (color rosa) que incluyó a las SGC circulantes en la región centro-sur: una de Puebla de 2021 (PQ379839), una de Oaxaca del 2023 (PQ379849) fueron las que presentaron una fecha de divergencia más actual alrededor del año 2008 de todo el análisis, por otra parte, el linaje de Guerrero (PQ510120) comenzó a evolucionar de manera independiente desde el año de 1955.

El tercer grupo fue el más pequeño (color amarillo), agrupó dos SGC del 2020 en la zona del Norte: una para Chihuahua (PQ379843) y una para Sinaloa (PQ379848). El análisis de reloj molecular estimó que la divergencia de estos linajes del norte con el resto de las secuencias de su clado (indicadas en color azul claro y rosa) ocurrió alrededor del año 1915.

En un cuarto grupo (recuadro azul oscuro) agrupan las SGC de la región del occidente y centro del país, a lo largo del eje neovolcánico. Aquí se observó que las SGC del VRAB circulantes en *D. rotundus* están bien diferenciados del resto del país desde 1808. Dentro de este clado, la secuencia originaria de Nayarit (PQ379840) tiene un tMRCA estimado alrededor de 1869 respecto al resto de linajes del clado. Se identificó un nodo con fecha estimada en 1906 que separó a

las SGC de los estados de la costa (Jalisco y Colima) con los estados del centro (Edo. de México y Michoacán). Las SGC del Edo. de México (2023) y la SGC mexicana JQ685953 del 2009 tienen un nodo estimado en 1999.5, siendo el más reciente de este clado y que entre ambas secuencias existe una diferencia de muestreo de 14 años.

Con la finalidad de precisar la data del reloj molecular para las 13 SGC-VRAB-DR-MX obtenidas en este estudio se elaboró un árbol filogenético con las 13 SGC-VRAB-DR-MX adicionales del segundo set (ver Cuadro 10). Este análisis mostró que el incremento de datos genómicos las estimaciones temporales de los nodos de divergencia entre las SGC cambian para años más recientes dentro en los nodos terminales, mientras que los nodos internos varían entre uno y tres años, conservando la misma topología (Figura 19). Los grandes clados inferidos donde se encuentran las secuencias del occidente-centro del país y el resto de las secuencias tienen un tMRCA datado alrededor de 1809.

En el clado superior, para las secuencias del Golfo de México se estimó que la divergencia entre esta región y las de la región del sur-centro del país fue en 1914. Para las secuencias agrupadas en la región del Golfo de México, el incremento de las secuencias con datos temporales permitió observar que la fecha de divergencia de las secuencias que circulan en Veracruz, Tamaulipas y Querétaro es alrededor del año 1996. De manera particular en el subclado que agrupó a la SGC de Veracruz se observó una mayor divergencia entre la temporalidad de los linajes al mostrar un nodo terminal en el año 2019 y otro estimado en el año 2020 para SGC del 2023 sin datos de procedencia geográfica.

La SGC de Puebla del año 2021, agrupó con otra secuencia mexicana del mismo año, con una data de divergencia a partir del año 2020, mientras que el linaje hermano correspondiente a la SGC de Oaxaca reportada en 2023, su historia evolutiva se estima aproximadamente en 2008. La fecha estimada para la divergencia de las secuencias del norte con el resto del clado fue alrededor de 1898, y en 1918 entre ambos linajes.

La mayoría de las SGC-DR-MEX provenientes de la región del occidente y centro del país agrupada en el cuarto clado mostraron los eventos de divergencia entre los años de 1936 al 1999, particularmente la SGC proveniente del estado de Jalisco es la más reciente de este grupo con una fecha de divergencia en el año 2016.

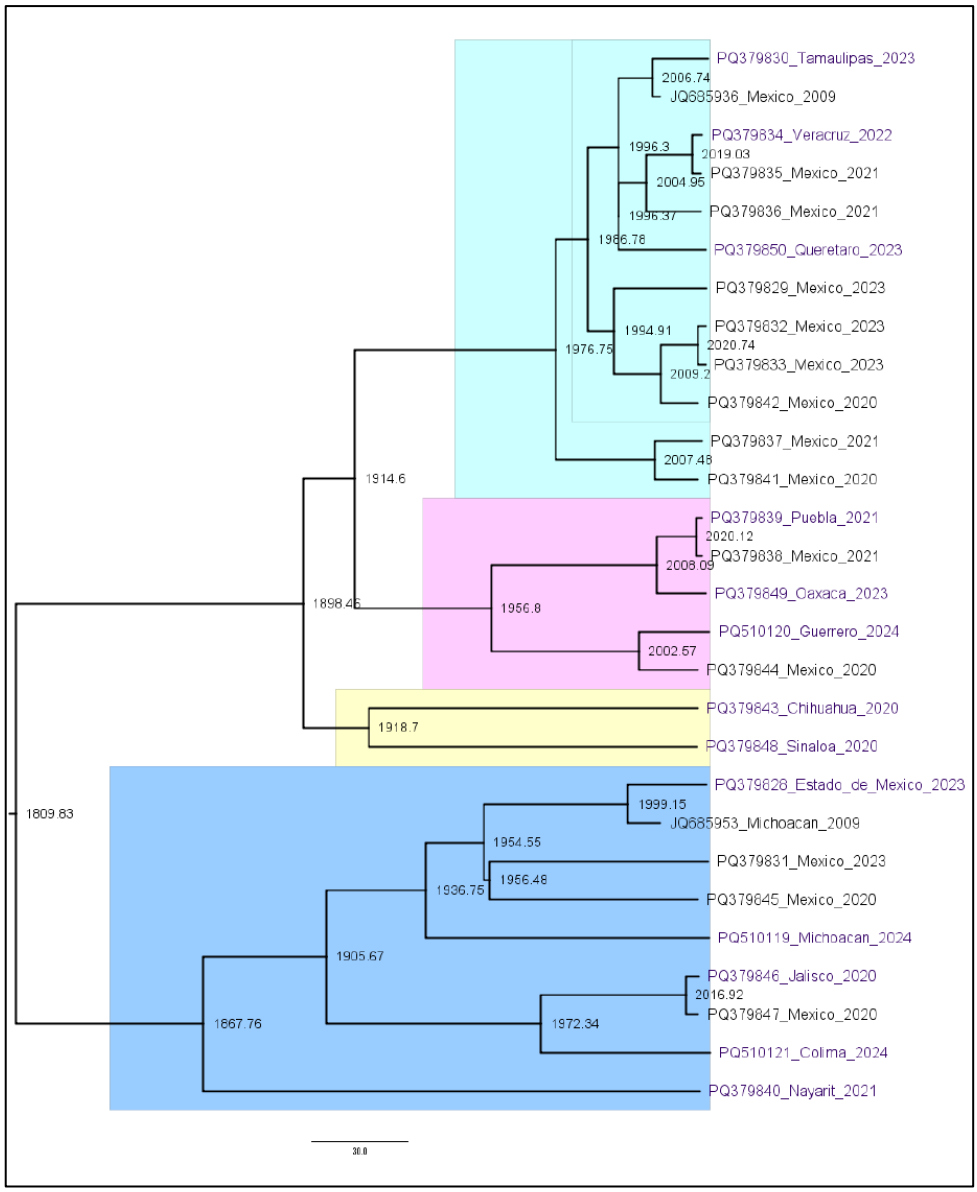


Figura 19. Árbol filogenético con reloj molecular de SGC-VRAB-DR-MX de México.

El gráfico de la Figura 20 muestra el análisis de estructura genética de las poblaciones virales de las 13 SGC-VRAB-DR-MX obtenidas en este estudio. Se detectaron tres clústeres (K=3), los cuales se representan en barras uniformes, cada color indica individuos asignados mayoritariamente a un clúster y la proporción de mezcla del genoma de estas poblaciones virales. Estos grupos mostraron correspondencia con los clados identificados en la reconstrucción filogenética (Figura 15). Las poblaciones virales se encuentran bien delimitadas de acuerdo con su zona de origen, dado que la proporción de su genoma pertenece a un clúster bien delimitado, por lo tanto, no existe evidencia de eventos de mezcla reciente entre los linajes. En este primer análisis, se observa que el K1 agrupa a las secuencias del occidente y centro de México; el K2 corresponde a las secuencias de la costa del Golfo de México y Querétaro, el K3 agrupa a las secuencias del norte (Sinaloa y Chihuahua) con secuencias de la costa sur (Guerrero y Oaxaca) y Puebla.

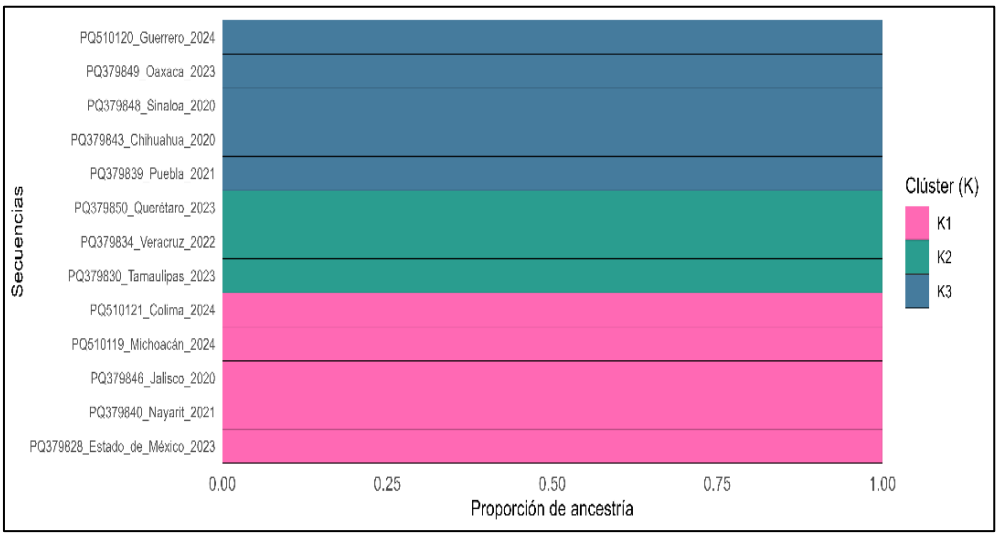


Figura 20. Proporción de ancestría de las 13 SGC-VRAB-DR-MX-MEX.

Este análisis se robusteció al enriquecer la base de datos con SGC provenientes de *D. rotundus* (descritas en el Cuadro 10). Al incrementar el tamaño

de la muestra, el modelo resolvió cuatro componentes ancestrales (K=4, Figura 21). A pesar de esta mayor resolución, la composición genética viral se mantuvo homogénea en cada una de las regiones, lo que sugiere circulación regional y endémica del virus. De manera general, el número de estos cuatro clústeres coincide con los cuatro linajes que se muestran en el árbol filogenético (Figura 16).

El clúster correspondiente al Golfo de México y Querétaro (K1), fue el grupo que expandió su representatividad con el incremento del número de secuencias. Por su parte, el linaje de Nayarit occidente y centro (Michoacán y Estado de México), permanece en un clúster separado K2, lo que reafirma que filogenética y estructuralmente se encuentra bien diferenciado. Destaca la separación de las secuencias de Jalisco y Colima en el K3, las cuales, en el árbol filogenético están bien diferenciada. En el cuarto clúster se agruparon las secuencias del norte (Chihuahua y Sinaloa) y las secuencias de Guerrero, Oaxaca y Puebla como en la inferencia filogenética.

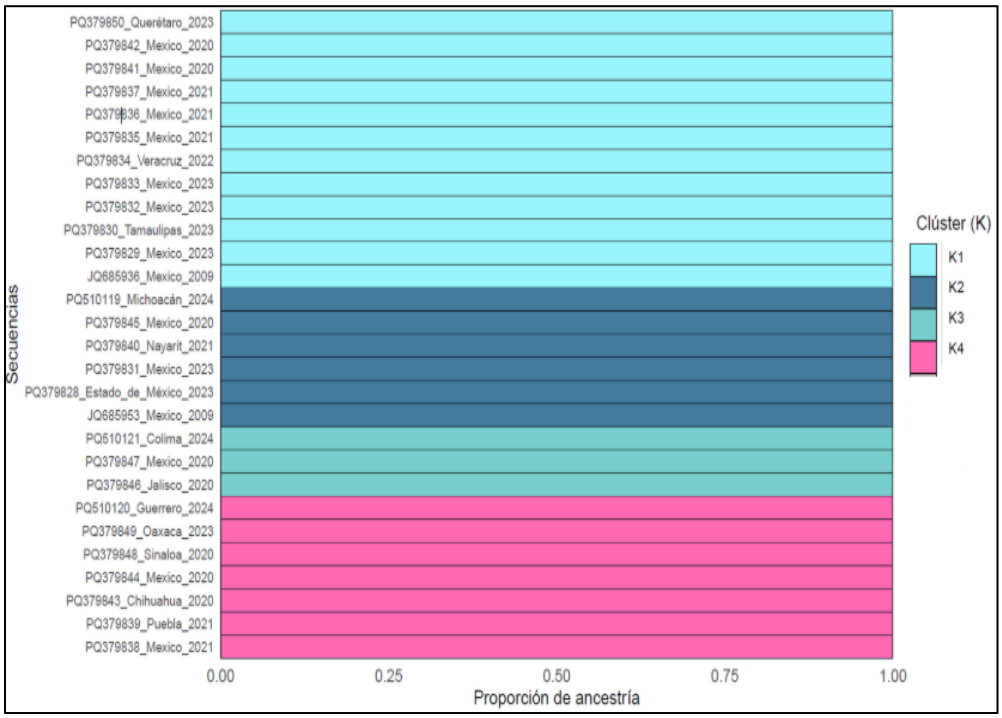


Figura 21. Proporción de ancestría de secuencias de genoma completo aisladas o caracterizadas como origen *D. rotundus* de México.

El Análisis Factorial Múltiple (MFA) para la caracterización de los sitios geográficos de procedencia de los 13 murciélagos *D. rotundus* positivos al VRAB con las variables de altitud, clima y orografía mostró que la distribución de los 13 *D. rotundus* no depende de una sola variable. La contribución de las variables se reparte entre las primeras 5 dimensiones, lo que sugiere que el hábitat de *D. rotundus* en las 13 zonas de captura evaluadas es heterogéneo y que, de estas, la orografía es el factor más importante. Las diferencias orográficas pesaron más que las variaciones climáticas o altitudinales aisladas. En la Dimensión (Dim) 1 se explicaron los sitios de acuerdo con el gradiente altitud/clima dado por la orografía y en la Dim2 contempla las características climáticas independientemente de la altura. Las variables bioclimáticas y su relación con la altitud de los sitios de distribución de *D. rotundus* de este trabajo, reflejaron que, a mayor altitud, hay una menor temperatura (Figura 22).

En la Figura 23, sobre el efecto de la influencia de las variables bioclimáticas para la distribución del murciélago en los 13 estados, se observa que el rango diurno medio (BIO2) y la isotermalidad (BIO3) son variables importantes para la presencia del murciélago hematófago en el Edo. de México (PQ379828) y los estados de Guerrero (PQ510120), Puebla (PQ379839) y Jalisco (PQ379846) que se distribuyen en sitios en donde es importante que las temperaturas sean más estables. Los *D. rotundus* capturados en Veracruz (PQ379834) y Tamaulipas (PQ379830) son los que habitan en regiones donde es importante la estacionalidad de la temperatura (BIO4).

La presencia del murciélago en Sinaloa (PQ379848) está más influenciada por la temperatura media anual, precipitación del mes más húmedo y precipitación del trimestre más seco (BIO1, BIO13 y BIO18). Los murciélagos obtenidos de Nayarit (PQ379840) y Colima (PQ510121) están distribuidas en zonas donde la estacionalidad de la precipitación (BIO15) parece tener un papel importante para la presencia de *D. rotundus*.

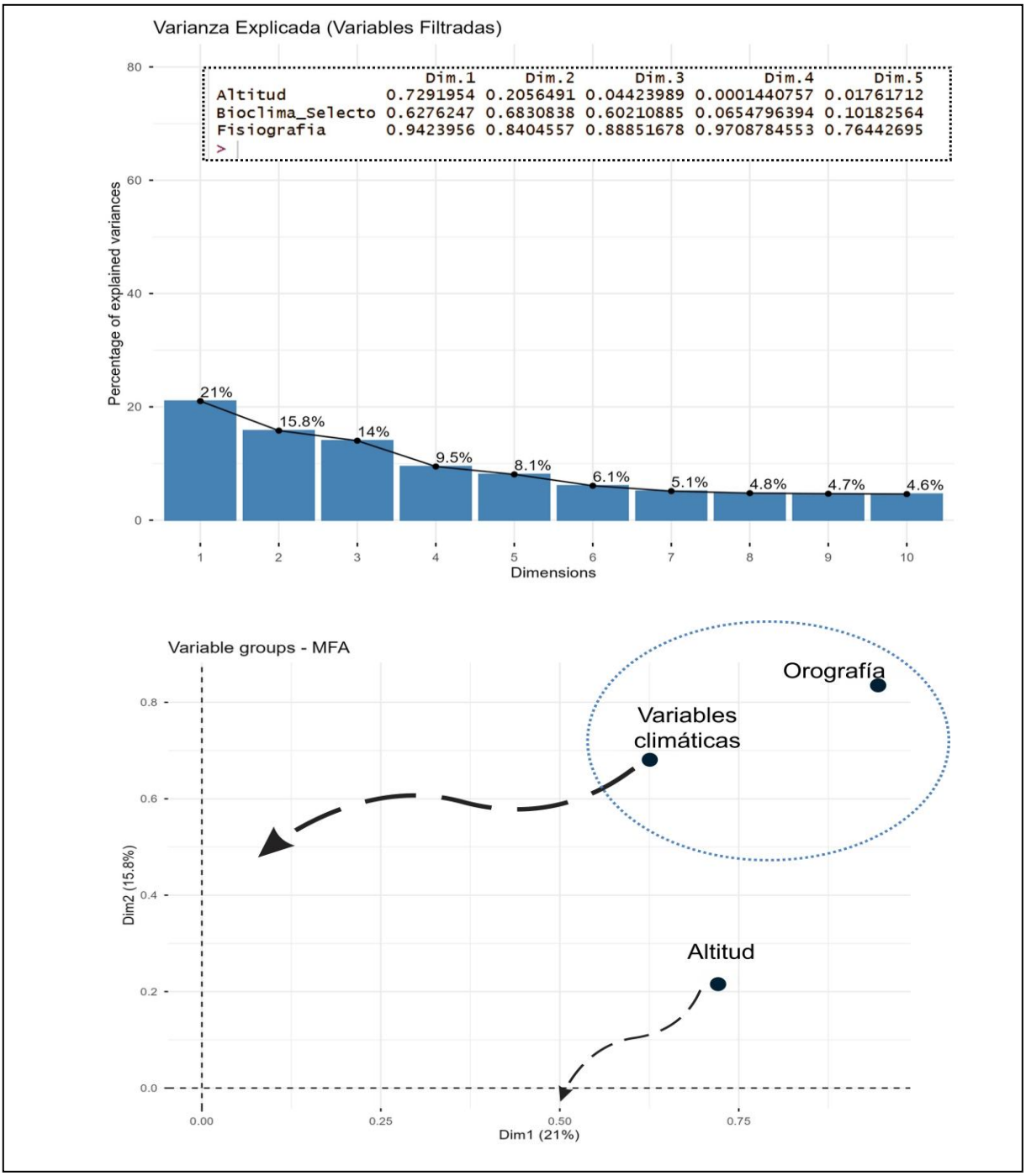


Figura 22. Varianza explicada: Orografía, altitud y nueve variables bioclimáticas para 13 sitios de muestreo de *D. rotundus* en México.

El murciélago capturado en Querétaro (PQ379850) presenta características muy particulares, su presencia está más influenciada por la altitud, al estar de lado

opuesto a las flechas de temperatura media anual (BIO1) y precipitación del mes más húmedo (BIO13), sugiere que es un sitio alto y frio.

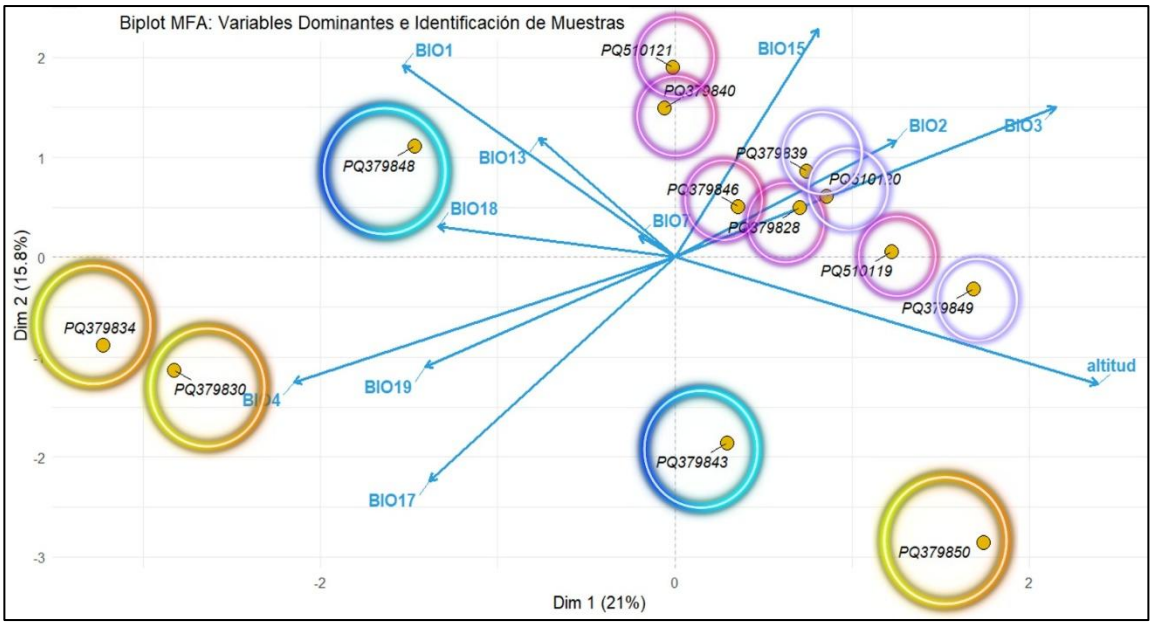


Figura 23. Análisis de la contribución de las variables bioclimáticas y altitud para la distribución de 13 sitios con presencia de *D. rotundus.*

La distribución de los sitios de origen de las 13 SGC-VRAB-DR-MX de acuerdo con las 15 provincias fisiográficas de México, muestra que las 13 localizaciones están distribuidas solo en cinco provincias fisiográficas (Figura 24).

En el análisis MFA, se observó que los 13 *D. rotundus* habitaron en condiciones ambientales distintas propias de cada provincia fisiográfica (Figura 25). Se aprecia que las provincias fisiográficas del eje neovolcánico que incluyen a los estados de Colima, Nayarit, Jalisco, Puebla, Michoacán, así como los sitios de los estados que corresponden a la Sierra Madre del Sur (Edo. de México, Oaxaca y Guerrero) tienen áreas con altitud y condiciones ambientales similares pero que separan a los sitios de origen de 10 murciélagos positivos al VRAB de manera vertical, mientras que, en la región del norte, que incluye a un murciélago proveniente de Chihuahua y otro de Sonora, se encuentran separados por la Sierra

Madre Occidental, lo que sugiere que las condiciones de esta provincia fisiográfica son heterogéneas. En contraste la provincia que corresponde a la llanura costera del golfo norte, uno de Veracruz y otro de Tamaulipas se localizaron juntos, lo que indicaría que están bajo condiciones similares en esta región.



Figura 24 Distribución 13 SGC-VRAB-DR-MX de acuerdo con las 15 provincias fisiográficas de México.

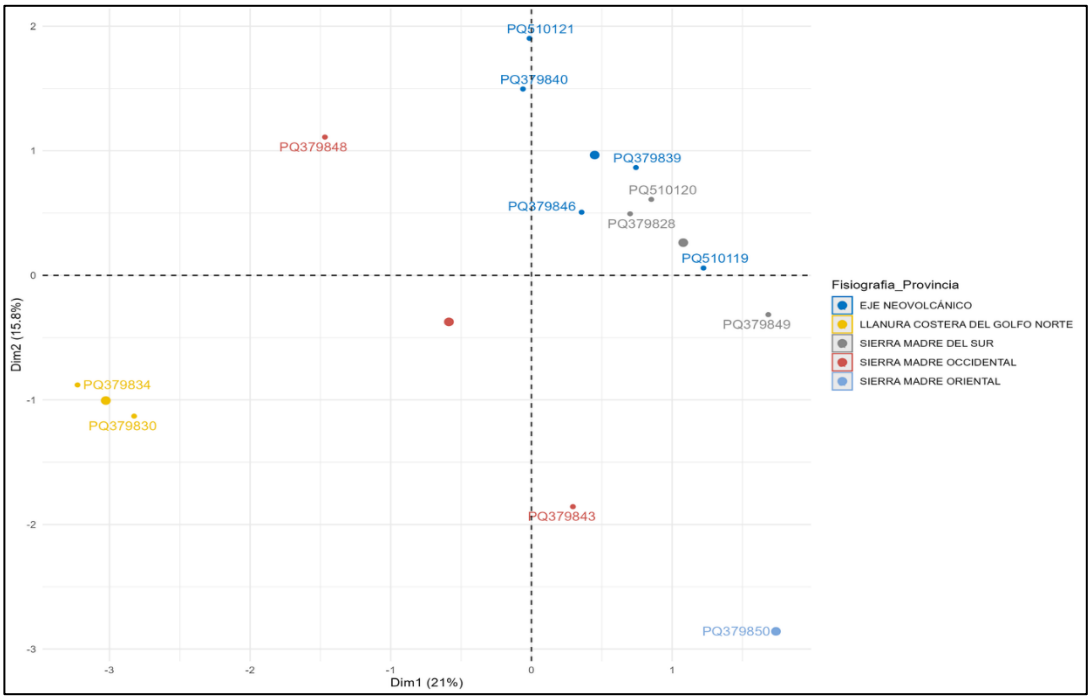


Figura 25. Análisis de la relación entre los sitios de origen geográfico de 13 murciélagos *D. rotundus* mexicanos positivos al VRAB con las provincias fisiográficas de México.

VII. DISCUSIÓN

En México la frecuencia del número de casos de rabia en murciélagos *D. rotundus* es variable año con año, sin embargo, los estados de Puebla, San Luis Potosí y Tabasco fueron los que reportaron un mayor número de casos, fenómeno que se asocia al número de muestras enviadas a diagnóstico por cada región, ya que el monitoreo de casos de rabia en este quiróptero depende de la confirmación de brotes en el ganado bovino de nuestro país (Olave-Leyva *et al*., 2025a). La distribución de los sitios de presencia de *D. rotundus* en la zona de la costa del Golfo de México, la costa del Pacífico y la zona centro del país observada en este estudio era esperado, ya que desde la década de los setenta esta zona ha sido determinada endémica de casos de rabia en el ganado y otras especies ganaderas asociada a la presencia del murciélago hematófago (Johnson *et al*., 2014, Ortega-Sánchez *et al.,* 2024). Esto es congruente con lo reportado por Lee *et al*. (2012) y Zarza *et al*. (2017), que mediante modelos de predicción espacial para la presencia de casos de rabia en el ganado y de distribución geográfica de *D. rotundus*, identificaron que las áreas con mayor probabilidad (> 50 %) para la distribución de este quiróptero corresponde a lo largo de las zonas tropicales y subtropicales de las costas del Pacifico y el Golfo de México, consideradas también con las condiciones climáticas favorables para la sobrevivencia de ésta especie. Sin embargo, se ha reportado la presencia de la enfermedad en el ganado por transmisión de *D. rotundus* en zonas que no tenían las condiciones favorables para la presencia del vampiro, como es el caso de en la región del Centro del país o como en el sur de Nuevo León (Olave-Leyva *et al*., 2025b).

La distribución de *D. rotundus* y los casos de rabia en este estudio, nos muestran que el 48.7 % de los casos y el 42.2 % de los registros de presencia de *D. rotundus* se ubica entre 0 y 500 m s.n.m., mientras que el porcentaje de casos a más de 2,000 m s.n.m. es por debajo el 10 %. En estudios previos por Zarza y colaboradores en 2017, la altitud máxima a la que encontraron los refugios del

murciélago vampiro era a los 2,500 m s.n.m., en este trabajo se observaron reportes de presencia de hasta a 3,175 m s.n.m. en Chiquihuite, Chiapas, lo que confirma la plasticidad del murciélago para adaptarse a áreas de mayor altitud (Johnson *et al*., 2014) y es congruente con lo descrito por Bárcenas-Reyes *et al.* (2015) que al analizar 1,037 casos de rabia paralitica en bovinos de los estados de Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro reportó que el 12.6 % de los casos se registraban a altitudes mayores a los 1,500 m s.n.m., lo que sugiere que la altitud no es un factor limitante para la distribución de casos de rabia en *D. rotundus*. Esto es congruente con lo que ha sido observado en la región de la cordillera de los Andes, en donde hay registros de la presencia de *D. rotundus* hasta los 3,600 m s.n.m. (Van de Vuurst *et al*., 2025a). La distribución geográfica de los murciélagos puede estar asociada a factores microclimáticos, debido a que las cuevas o refugios en elevaciones superiores a los 1,500 m s. n. m. funcionan como un microhábitat, al proporcionar un microclima más estable que el externo, y les impide perder calor debido a las temperaturas más frías (Ávila-Flores y Medellín, 2004). Por ejemplo, para los murciélagos que habitan en altitudes mayores de hasta 3,600 m s. n. m., son la temperatura del mes más frío y la ganadería extensiva las variables que explican la presencia de *D. rotundus* en estas regiones (Van de Vuurst, *et al*., 2025a).

La coincidencia geográfica observada entre la relación espacial de las 13 SGC-VRAB-DR-MX con el número de casos reportados en *D. rotundus,* los sitios con presencia de esta especie y los sitios geográficos donde se reportaron los casos en humanos son consistentes con lo esperado. Estos resultados concuerdan con Ortega-Sánchez y colaboradores (2024) que proponen que el monitoreo del VRAB en la fauna silvestre, principalmente *D. rotundus* es una herramienta centinela para la identificación de patrones en transición epidemiológica entre zonas endémicas y otras áreas que contribuyen a la transmisión del VRAB, involucrando al reservorio, a las especies ganaderas y a la fauna silvestre. Sumado a lo anterior, como se observó en los mapas que incluyen la presencia de ganado en las áreas de distribución de *D. rotundus*, la posible disponibilidad de la fuente alimento se ve

relacionada con los casos de rabia en los animales y en seres humanos por su estrecha convivencia en estas regiones (Benavides *et al*., 2020; Acharya *et al*., 2022; Brown *et al*., 2022), esta relación ha sido reportada en el estado de San Luis Potosí por Torres-Mejía *et al.,* (2022), donde se encontraron que alrededor de 5 km de cada refugio con poblaciones de *D. rotundus* existen al menos 976 comunidades rurales y que la distancia promedio desde los refugios del murciélago hasta los asentamientos humanos más cercanos son de 518.65 metros (± 11.33 m), lo que representa un riesgo sanitario para la presencia de nuevos casos de rabia en el ganado y las poblaciones humanas (Ortega-Sánchez *et al*., 2024).

Respecto al análisis filogenético realizado únicamente con las 13 SGC-VRAB-DR-MX (Figura 15) se observó que en todos sus nodos internos los valores de bootstrap fueron del 100 %, mientras que para los nodos externos solo uno fue del 75 %. Lo que confirma que el uso de SGC tiene un alto poder discriminatorio para la diferenciación entre los linajes circulantes en *D. rotundus* en las cuatro regiones geográficas obtenidas identificadas en este estudio. Esto coincide con un estudio realizado en México que demuestra que el uso de SGC para la epidemiologia molecular del VRAB mejora la robustez de inferencia filogenética que cuando se usan secuencias parciales (Bárcenas-Reyes *et al.,* 2017). Respecto a la diferenciación entre las SGC agrupadas en los cuatro clados con correspondencia geográfica sugiere que los linajes circulantes en *D. rotundus* son endémicas de la región de procedencia y diferentes entre ellas. Sin embargo, la capacidad de inferencia de los análisis filogenéticos depende de la exhaustividad y representación del muestreo (Nadin-Davis y Real, 2011; Gorbalenya y Lauber, 2017). El análisis filogenético realizado con las 13 SGC-VRAB-DR-MX obtenidas en este estudio reveló que las SGC del grupo de occidente y centro forman un clado bien diferenciado respecto a los tres clados del resto del país. Esto mismo fue observado por Velasco-Villa *et al*., (2006) en un estudio filogenético basado en secuencias parciales del gen N, en el que se identificaron siete linajes diferentes del VRAB proveniente de *D. rotundus* de los cuales los dos occidentales (Dr6 y Dr7) se

diferenciaron claramente de los linajes orientales (Dr1 a Dr5). Esto sugiere que el VRAB podría circular en diferentes colonias de *D. rotundus,* pero muy posiblemente la fragmentación del paisaje por las cadenas montañosas en México podría desempeñar un papel importante en la circulación endémica del virus en *D. rotundus* por región geográfica (Velasco-Villa *et al*., 2006; Torres *et al*., 2014).

En este trabajo las trece secuencias analizadas agruparon por proximidad territorial, sin embargo, es necesario enriquecer el muestreo genómico a nivel regional, con uso de SGC provenientes de *D. rotundus*. Debido a que la estructura filogeográfica de los VRAB en *D. rotundus* está relacionada por factores como su desplazamiento, incluso en la misma región o zona geográfica (Holmes *et al*., 2026). Por ejemplo, en la región central de México Bárcenas-Reyes *et al*., (2017) analizaron cuatro SGC provenientes de aislados del VRAB de muestras encefálicas de bovinos de Querétaro, asociadas a la variante antigénica AgV11, correspondiente a *D. rotundus*, lo que mostró que la circulación del VRAB es genéticamente estable, sin embargo, la fuente de infección para el ganado en la región de los valles centrales de Querétaro provenía de otros estados. Esto podría sugerir que el nivel de bootstrap más bajo obtenido fuera en los nodos de la SGC originaria de Querétaro (PQ379850), ya que su relación geográfica y filogenética con las secuencias del Golfo de México no es tan estrecha como con la región de la Sierra Gorda Queretana y con los estados de Hidalgo o San Luis Potosí. En 2017 Bárcenas-Reyes *et al*., también identificaron que la secuencia del 2014 0635CattleAcatlanHgo-QroMex reportada en Querétaro fue relacionada filogenéticamente al estado de Hidalgo. La región del centro del país ha sido identificada como zona de transición epidemiológica, ya que es donde convergen la Sierra Madre Oriental, el eje neovolcánico y conecta las planicies del Golfo de México con el Centro del país por lo que es un potencial corredor ecológico para *D. rotundus* y otros murciélagos (Zarza *et al*., 2017; Bárcenas-Reyes *et al*., 2019; Olave-Leyva *et al*., 2025a). Lo que refuerza la necesidad de tener un monitoreo del

VRAB en *D. rotundus* que permita la prevención y el control de la enfermedad en el contexto de una Sola Salud.

Respecto al árbol filogenético (Figura 16) construido con el set de 26 SGC-VRAB-DR-MX también se observó que todos los nodos internos tenían valores de bootstrap del 100 %, lo que confirmó que entre más datos de SGC sean incorporados en estudios filogenéticos el poder discriminatorio es más robusto para diferenciar entre los linajes del VRAB de *D. rotundus* circulantes en las distintas regiones geográficas (Kobayashi *et al*. 2008; Torres *et al*., 2014; Bárcenas-Reyes *et al*., 2017). En este estudio, particularmente, esto fue observado en el nodo terminal correspondiente a la SGC de Querétaro en el que los valores de bootstrap aumentaron del 75 % al 89 % al momento de adicionar las secuencias obtenidas del GenBank.

A pesar de la divergencia entre las SGC de la costa de occidente y centro del país (Colima, Nayarit, Jalisco, Michoacán y Estado de México) con las SGC del resto del país, los linajes de *D. rotundus* mexicanos se agrupan y están bien diferenciadas de los linajes circulantes en otros reservorios del ciclo terrestre, por ejemplo, de los zorrillos y caninos (Figura 17). Lo que confirma ciclos de transmisión mantenidos en los murciélagos de manera independiente a la fauna silvestre terrestre (Velasco-Villa *et al*., 2002). Este resultado concuerda con estudios previos realizados por De Mattos y colaboradores en 1999 que reportaron que el VRAB proveniente de bovinos y equinos asociado a *D. rotundus* correspondían a dos variantes antigénicas y genéticas que circulaban simultáneamente en el sur y el este de México en los estados de Veracruz, Chiapas (AgV3 y 11) y Tabasco (AgV11), aún con el uso de la secuencia parcial del gen de la nucleoproteína (N). Los resultados obtenidos en este estudio basado en el análisis de SGC del VRAB proveniente de *D. rotundus* mexicanos confirman la estabilidad del virus con una mejor resolución filogenética en espacios geográficos para diferentes huéspedes y reservorios originarios de México. Esto coincide con los reportado por Velasco-Villa *et al*., 2006 y Nadin-Davis y Loza-Rubio (2006) con secuencias parciales del gen N) y de la

fosfoproteína (P), ambos mostraron ciclos bien diferenciados para los grupos monofiléticos relacionados con la rabia en murciélagos y aquellos relacionados con la rabia en carnívoros terrestres.

Al comparar el árbol filogenético calibrado temporalmente (Figura 18) y el árbol construido por máxima verosimilitud sin datos temporales (Figura 15) se observó que la topología en ambos arboles fue similar. Las fechas inferidas por el análisis para la introducción de los linajes en las cuatro regiones geográficas identificadas (región centro-sur, región de la costa del Golfo de México, región del Norte y la región del occidente-centro) fueron en diferentes momentos, lo que muy posiblemente se debió a la expansión ganadera del país, ya que, la presencia del ganado y el cambio de uso de suelo son factores que favorecen la presencia de *D. rotundus* (Bolívar-Cimé *et al*., 2019; Mendoza-Sáenz *et al*., 2023; Brown y Escobar, 2023). Los nodos con tiempos estimados a mediados de 1900 en este estudio podrían estar relacionados a que alrededor de 1960 la ganadería en México expandió su distribución geográfica, que causó eventos antropogénicos como el cambio de uso de suelo y conversión de la vegetación nativa a los forrajes (González-Montagut, 1999; Gavito *et al*., 2017).

La limitada disponibilidad de datos genómicos y geográficos provenientes de muestras de casos positivos en *D. rotundus* dificulta la trazabilidad del origen de transmisión en las poblaciones de murciélagos, así como la introducción del VRAB en nuevas zonas geográficas del país (Brunker *et al*., 2018; Wang *et al*., 2024). Es ampliamente reconocido que el monitoreo del VRAB en *D. rotundus* se facilita al momento de las notificaciones de casos de rabia que ocurren en el ganado bovino u otras especies ganaderas por lo que en zonas geográficas que son de reciente infección muy posiblemente no existe un suficiente número de muestras biológicas provenientes de murciélagos hematófagos (Olave-Leyva *et al*., 2025a). Esta es una limitante que evidencia la necesidad de generar una mayor vigilancia genómica para el VRAB circulante en *D. rotundus* independientemente de la notificación de brotes de rabia en el ganado, principalmente en los estados del norte del país, que en este

estudió reveló ser un clado bien diferenciado y que su divergencia evolutiva del resto de secuencias data alrededor del año 1915. Sin embargo, no debe descartarse que exista una sub-notificación sobre la circulación del VRAB en poblaciones de murciélagos.

También se resalta la importancia de fortalecer la vigilancia genómica de los linajes del VRAB circulantes en *D. rotundus* que prioricen las comunidades humanas colindantes con zonas de alta incidencia de casos de la enfermedad en huéspedes y reservorios. Por ejemplo, el estado de Veracruz que tiene alta incidencia de casos de rabia paralitica en el ganado bovino, pero que además ha reportado casos de la enfermedad en humanos transmitida por murciélagos en 2020 y en 2025. En este estudio el nodo correspondiente a la SGC-VRAB-DR-MEX PQ379834,de Veracruz en el año 2022 fue datado en 2019, lo que sugiere que es un linaje de reciente introducción y que ahora circula en esta zona endémica, donde muy posiblemente los factores de carga animal y ambientales han influido para la divergencia del VRAB en esta región (Streicker *et al*., 2016 y de Carvalho *et al*., 2025). Por otro lado dado que la SGC Guerrero y la de Oaxaca se distribuyen en la región de la Sierra Madre del Sur, y la de Puebla en el eje Neovolcánico, podría sugerir la dispersión del murciélago hematófago infectado a zonas donde el VRAB aún no ha sido introducido, por la conectividad geográfica con el Centro y la costa del Golfo de México (Torres *et al*., 2014).

En los análisis de proporción de ancestría para las 13 SGC-VRAB-DR-MEX se observó que las poblaciones virales tuvieron correspondencia con la agrupación inferida por los análisis filogenéticos e identificó tres clústeres bien definidos. Esto sugiere que circulación regional de los linajes del VRAB en *D. rotundus* son endémicas para cada una de las cuatro regiones identificadas en este estudio. Esta información permite inferir que si bien *D. rotundus* tiene la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales y climáticas (Bárcenas-Reyes *et al*., 2019). los linajes de las 13 SGC-VRAB han permanecido en las poblaciones de murciélagos

hematófagos de acuerdo con su zona geográfica de origen sin observarse una mezcla entre los linajes correspondientes al ciclo epidemiológico aéreo.

Se debe considerar ampliar la cobertura de colecta de muestras (Lawson *et al.*, 2018) que permita obtener datos moleculares georreferenciados de los casos de rabia reportados en *D. rotundus* en el país, ya que en este estudio al realizar el mismo análisis de clústeres pero con un mayor número de SGC (Figura 21) se identificaron cuatro clústeres y diferenció a las SGC-VRAB-DR-MX del clado del occidente-centro en dos clústeres de ancestría: uno para las secuencias del centro y otro para las secuencias de la costa del occidente, lo que se explica por el año de divergencia de ambos linajes estimada (tMRCA de 1905) el cual es más antiguo que los tMRCA que dieron origen a otros linajes inferidos en la filogenia con reloj molecular de la Figura 19 (1914 para la secuencia de Veracruz y 1918 para las de Oaxaca y Puebla). aunque, esta divergencia también puede estar asociada a la falta de información necesaria para estos análisis de estructura poblacional que son sensibles al tamaño de la muestra (Lawson *et al*., 201). Pese a estas limitaciones, con los datos obtenidos se puede inferir que el intercambio viral entre los linajes circulantes en *D. rotundus* está limitada para la región, muy posiblemente por el rango de desplazamiento nocturno de estos murciélagos al momento de buscar refugios cercanos al ganado, el cual se ve limitado por el paisaje (Benavides *et al*., 2020; Rojas-Sereno *et al*., 2022).

El análisis de MFA para los sitios de captura de los murciélagos de este trabajo, identificó que la circulación de los linajes del VRAB en las poblaciones de *D. rotundus* es un fenómeno complejo y que no puede ser atribuido solo a una sola variable, sin embargo, para estas 13 muestras, la mayor contribución a la explicación, es que la distribución de *D. rotundus* está dada por la orografía de México, lo cual se había sugerido previamente en México, Argentina y Brasil (Velasco-Villa *et al*., 2006; Kobayashi *et al*. 2008; Torres *et al*.,2014)

En los sitios muestreados de los murciélagos positivos al VRAB de Nayarit y Colima se observó que se mantenían en ambientes calurosos con temporadas de

lluvia marcadas, mientras que, en las regiones de los estados de Puebla, Jalisco, Edo. de México y Guerrero, se mantienen por la temperatura en invierno, el rango diurno y la estacionalidad de la precipitación del eje neovolcánico. Los murciélagos de las zonas elevadas del eje Neovolcánico (Michoacán), Sierra Madre Oriental (Oaxaca) y Sierra Madre Occidental (Querétaro) muy posiblemente están colonizando zonas en las que la altitud es el factor principal para su distribución. Los resultados son consistentes con lo reportado por Lee y colaboradores en 2012, que determinaron que la estacionalidad de la precipitación, estacionalidad de la temperatura, precipitación en el mes más húmedo. y la temperatura del mes más frio fueron las variables climáticas que mayor contribución tuvieron en su estudio. De manera similar, Zarza *et al*., (2017) identificaron que la temperatura, particularmente durante el mes más frio es una variable importante para la distribución de *D. rotundus* en nuestro país. El aumento de las temperaturas mínimas da la posibilidad a los murciélagos de establecerse en ecosistemas fríos.

En un estudio de Colombia, Van de Vuurst *et al*. (2025a) cuando evaluaron las variables climáticas la estacionalidad de la precipitación tuvo la mayor contribución porcentual (44.5 %), seguida de la precipitación anual (39.4 %), la temperatura mínima del mes más frío (8.4 %) y la isotermalidad (7.7 %), estos resultados son congruente con el panorama de los 13 sitios de captura de los *D. rotundus* de este trabajo para México. La integración de la información de los sitios de origen de murciélagos positivos al VRAB permite evidenciar que tanto para la presencia del murciélago y en consecuencia del posible riesgo de transmisión del virus, la temperatura también es un factor importante y que si bien, en altitudes donde la temperatura podría ser una limitante, mientras el microclima de los refugios sea mayor a los 15 °C (Lee *et al*., 2012) el murciélago podría habitar en esas regiones y las barreras orográficas que hasta el momento estructuraron estas poblaciones, ya no sean una limitante para la dispersión de colonias de *D. rotundus* donde circula el virus de la rabia.

VIII. CONCLUSIÓN

En México la distribución espacial de los casos de rabia en *D. rotundus* van en aumento año con año y coinciden con la distribución de los casos de rabia en humanos y especies ganaderas. Lo que confirma que *D. rotundus* es el principal reservorio y transmisor de VRAB en México, potencialmente en zonas con altitudes de hasta 3,000 m s. n. m. donde se encuentra presente.

Las 13 SGC del VRAB proveniente de *D. rotundus* mexicanos obtenidas en este estudio mostraron diferencias entre sus genomas de acuerdo con la región geográfica de procedencia, se demostró con una sólida robustez filogeográfica que existen linajes de divergencia genética que corresponden a las regiones del Centro-Occidente, Norte, costa-Sur y Golfo-Centro. Los resultados de la evaluación de la estructura poblacional del VRAB sugieren que hasta la fecha la transmisión viral puede estar relacionada con la proximidad territorial entre las colonias de murciélagos y es endémica de su región.

En el Análisis Factorial Múltiple (MFA) reveló que la orografía es el factor que más contribuye a la presencia de *D. rotundus* en sus sitios de origen, por encima de las variaciones climáticas o altitudinales aisladas. Sin embargo, la distribución de los murciélagos no depende de una sola variable. La región del eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur presentan una alta similitud ecológica, sugiriendo un corredor ambiental potencial para el reservorio, puede ser el canal de flujo viral más importante y que permita una diseminación de linajes nuevos en regiones donde no se encontraban.

Este trabajo generó información sobre la circulación del VRAB en *D. rotundus* en trece ubicaciones diferentes, sin embargo, para abordar de una manera integral y contribuir al conocimiento de la filodinámica viral es necesario una vigilancia genómica sólida que incluya más regiones de nuestro país, principalmente en aquellas zonas de transición epidemiológica que permitan anticipar la diseminación del virus en los reservorios, principalmente en *D. rotundus*.

IX. REFERENCIAS

Abrahamian, F. M., y Rupprecht, C. E. (2022). Rhabdovirus: Rabies. En Viral Infections of Humans (pp. 1–49). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9544-8_28-1

Acharya, K. P., Chand, R., Huettmann, F., y Ghimire, T. R. (2022). Rabies elimination: is it feasible without considering wildlife? *J. Trop. Med*., 2022, 1-6. https://doi.org/10.1155/2022/5942693

Albertini, A. A. V., Ruigrok, R. W. H., y Blondel, D. (2011). Rabies virus transcription and replication. *Adv Virus Res*, 79, 1-22. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00001-9

Alexander, D. H., Novembre, J., y Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.*, 19(9), 1655–1664. https://doi.org/10.1101/gr.094052.109

AL-Eitan, L. N., Wu, G., Golding, M., Tang, Y., Goharriz, H., Marston, D. A., Fooks, A. R., y McElhinney, L. M. (2021). Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis of rabies viruses from Jordan. *PLoS Negl. Trop. Dis*., 15 (5), e0009431. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009431

Almeida, M. F., Martorelli, L. F. A., Aires, C. C., Sallum, P. C., Durigon, E. L., y Massad, E. (2005). Experimental rabies infection in haematophagous bats *Desmodus rotundus*. *Epidemiol. Infect*., 133(3), 523-527. https://doi.org/10.1017/S0950268804003656

Aréchiga-Ceballos, N., Velasco-Villa, A., Shi, M., Flores-Chávez, S., Barrón, B., Cuevas-Domínguez, E., González-Origel, A., y Aguilar-Setién, A. (2010). New rabies virus variant found during an epizootic in white-nosed coatis from the Yucatan Peninsula. *Epidemiol. Infect*., 138(11), 1586–1589. https://doi.org/10.1017/S0950268810000762

Aréchiga Ceballos, N., Puebla Rodríguez, P., y Aguilar Setién, Á. (2022). the new face of human rabies in Mexico, what's next after eradicating rabies in dogs. *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 22 (2), 69-75. https://doi.org/10.1089/vbz.2021.0051

Avila-Flores, R., y Medellín, R. A. (2004). Ecological, taxonomic, and physiological correlates of cave use by mexican bats. *J. Mammal.*, 85(4), 675-687. https://doi.org/10.1644/BOS-127

Ávila-Flores, R., Medellín, R. A., y Torres-Knoop, L. (2020). Rabies in vampire bats (*Desmodus rotundus*): Current knowledge and future directions. *J. Wildl. Dis.*, 56(1), 1-12. https://doi.org/10.7589/2019-04-099

Baer, G. M., Shaddock, J. H., Quirion, R., Dam, T. V., y Lentz, T. L. (1990). Rabies susceptibility and acetylcholine receptor. *Lancet*, 335 (8690), 664-665. https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)90454-D

Banyard, A. C., Hayman, D., Johnson, N., McElhinney, L., y Fooks, A. R. (2011). Bats and Lyssaviruses. En *Research Advances in Rabies* (Vol. 79, pp. 239-289). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00012-3

Banyard, A. C., y Fooks, A. R. (2017). The impact of novel *lyssavirus* discovery. *Microbiol. Aust.*, 38 (1), 17-21. https://doi.org/10.1071/MA17006

Badrane, H., Bahloul, C., Perrin, P., y Tordo, N. (2001). evidence of two *Lyssavirus* phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol*, 75(7), 3268-3276. https://doi.org/10.1128/JVI.75.7.3268-3276.2001

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 viruses isolated from cattle. *Res. Vet. Sci.*, 113, 21-24. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.08.004

Bárcenas-Reyes, I., Nieves-Martínez, D. P., Cuador-Gil, J. Q., Loza-Rubio, E., González-Ruíz, S., Cantó-Alarcón, G. J., y Milian-Suazo, F. (2019). Spatiotemporal analysis of rabies in cattle in central Mexico. *Geospat. Health*, 14(2). https://doi.org/10.4081/gh.2019.805

Benavides, J. A., Valderrama, W., Recuenco, S., Uieda, W., Suzán, G., Avila-Flores, R., Velasco-Villa, A., Almeida, M., Andrade, F. A. G. D., Molina-Flores, B., Vigilato, M. A. N., Pompei, J. C. A., Tizzani, P., Carrera, J. E., Ibanez, D., y Streicker, D. G. (2020). defining new pathways to manage the ongoing emergence of bat rabies in Latin America. *Viruses,* 12(9), 1002. https://doi.org/10.3390/v12091002

Benavides, J. A., Valderrama, W., y Streicker, D. G. (2022). Spatial expansion and viral adaptation of vampire bat rabies in Latin America. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 16 (3), e0010254. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010254

Bergner, L. M., Mollentze, N., Orton, R. J., Tello, C., Broos, A., Biek, R., y Streicker, D. G. (2021). Characterizing and evaluating the zoonotic potential of novel viruses discovered in vampire bats. *Viruses*, 13 (2), 252. https://doi.org/10.3390/v13020252

Blackwood, J. C., Streicker, D. G., Altizer, S., y Rohani, P. (2013). Resolving the roles of immunity, pathogenesis, and immigration for rabies persistence in

vampire bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 110 (51), 20837-20842. https://doi.org/10.1073/pnas.1308817110

Blumer, M., Brown, T., Freitas, M. B., Destro, A. L., Oliveira, J. A., Morales, A. E., Schell, T., Greve, C., Pippel, M., Jebb, D., Hecker, N., Ahmed, A.-W., Kirilenko, B. M., Foote, M., Janke, A., Lim, B. K., y Hiller, M. (2022). Gene losses in the common vampire bat illuminate molecular adaptations to blood feeding. *Sci. Adv.*, 8(12). https://doi.org/10.1126/sciadv.abm6494

Bolívar-Cimé, B., Flores-Peredo., R., García-Ortíz, S. A., Murrieta-Galindo, R., y Laborde, J. (2019). Influence of landscape structure on the abundance of *Desmodus rotundus* (Geoffroy 1810) in northeastern Yucatan, Mexico. *Ecosistemas Recur. Agropecu*., 6(17), 263-271. https://doi.org/10.19136/era.a6n17.1968

Botto Nuñez, G., Becker, D. J., Lawrence, R. L., y Plowright, R. K. (2020). Synergistic effects of grassland fragmentation and temperature on bovine rabies emergence. *EcoHealth*, 17(2), 203-216. https://doi.org/10.1007/s10393-020-01486-9

Brown, N., y Escobar, L. E. (2023). A review of the diet of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*) in the context of anthropogenic change. *Mamm. Biol*., 103 (4), 433-453. https://doi.org/10.1007/s42991-023-00358-3

Brunker, K., Marston, D. A., Horton, D. L., Cleaveland, S., Fooks, A. R., Kazwala, R., Ngeleja, C., Lembo, T., Sambo, M., Mtema, Z. J., Sikana, L., Wilkie, G., Biek, R., y Hampson, K. (2015). Elucidating the phylodynamics of endemic rabies virus in eastern Africa using whole-genome sequencing. *Virus Evol.*, *1*(1), vev011. https://doi.org/10.1093/ve/vev011

Brunker, K., Nadin-Davis, S., y Biek, R. (2018). Genomic sequencing, evolution and molecular epidemiology of rabies virus. *Rev. Sci. Tech.*, 37(2), 401-408. https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2810

Brunker, K., Jaswant, G., Thumbi, S. M., Lushasi, K., Lugelo, A., Czupryna, A. M., Ade, F., Wambura, G., Chuchu, V., Steenson, R., Ngeleja, C., Bautista, C., Manalo, D. L., Gomez, Ma. R. R., Chu, M. Y. J. V., Miranda, M. E., Kamat, M., Rysava, K., Espineda, J., Hampson, K. (2020). Rapid in-country sequencing of whole virus genomes to inform rabies elimination programmes. *Wellcome Open Res*., 5, 3. https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15518.2

Burian, A. N., Zhao, W., Lo, T., y Thurtle-Schmidt, D. M. (2021). Genome sequencing guide: An introductory toolbox to whole-genome analysis methods. *Biochem. Mol. Biol. Educ*., 49(5), 815-825. https://doi.org/10.1002/bmb.21561

Campbell, K., Gifford, R. J., Singer, J., Hill, V., O'Toole, A., Rambaut, A., Hampson, K., y Brunker, K. (2022). Making genomic surveillance deliver: A lineage

classification and nomenclature system to inform rabies elimination. *PLoS Pathog.*, 18(5), e1010023. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010023

Cárdenas-Canales, E. M., Gigante, C. M., Greenberg, L., Velasco-Villa, A., Ellison, J. A., Satheshkumar, P. S., Medina-Magües, L. G., Griesser, R., Falendysz, E., Amezcua, I., Osorio, J. E., y Rocke, T. E. (2020). Clinical presentation and serologic response during a rabies epizootic in captive common vampire bats (*Desmodus rotundus*). *Trop. Med. Infect. Dis.*, 5(1), 34. https://doi.org/10.3390/tropicalmed5010034

Cárdenas-Canales, E. M., Stockmaier, S., Cronin, E., Rocke, T. E., Osorio, J. E., y Carter, G. G. (2022). Social effects of rabies infection in male vampire bats (*Desmodus rotundus*). *Biol. Lett.*, 18 (9), 20220298. https://doi.org/10.1098/rsbl.2022.0298

Carnieli, P., Castilho, J. G., De Oliveira Fahl, W., Véras, N. M. C., y Do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky, M. (2009). Genetic characterization of Rabies virus isolated from cattle between 1997 and 2002 in an epizootic area in the state of São Paulo, Brazil. *Virus Res.*, 144 (1-2), 215-224. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.05.001

Carter, G., y Leffer, L. (2015). Social grooming in bats: are vampire bats exceptional? *PLoS One*, 10(10), e0138430. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138430

Castilho, J. G., Carnieli, P., Durymanova, E. A., Fahl, W. D. O., Oliveira, R. D. N., MacEdo., C. I., Travassos Da Rosa, E. S., Mantilla, A., Carrieri, M. L., y Kotait, I. (2010). Human rabies transmitted by vampire bats: Antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from the Amazon region (Brazil and Ecuador). *Virus Res.*, 153 (1), 100-105. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.07.012

Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Pública Veterinaria (s. f.). Sistema de Información Regional para Vigilancia Epidemiológica de la Rabia en las Américas (SIRVERA). Recuperado el 4 de junio de 2025, de https://SIRVERA.panaftosa.org.br/

Charlton, K. M., Nadin-Davis, S., Casey, G. A., y Wandeler, A. I. (1997). The long incubation period in rabies: Delayed progression of infection in muscle at the site of exposure. *Acta Neuropathol.*, 94 (1), 73-77. https://doi.org/10.1007/s004010050674

Chevenet, F., Fargette, D., Bastide, P., Vitré, T., y Guindon, S. (2024). EvoLaps 2: Advanced phylogeographic visualization. *Virus Evol.*, 10(1), vead078. https://doi.org/10.1093/ve/vead078

Chowdhury, B., y Garai, G. (2017). A review on multiple sequence alignment from the perspective of genetic algorithm. *Genomics*, 109(5-6), 419–431. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.06.007

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). https://doi.org/10.3201/eid1809.130083

Darriba, D., Posada, D., Kozlov, A. M., Stamatakis, A., Morel, B., y Flouri, T. (2020). ModelTest-NG: A new and scalable tool for the selection of dna and protein evolutionary models. *Mol. Biol. Evol.*, 37(1), 291–294. https://doi.org/10.1093/molbev/msz189

Dascalu, M. A., Picard-Meyer, E., Robardet, E., Servat, A., Arseniev, S., Groza, O., Starciuc, N., Vuta, V., Barbuceanu, F., Tanase, O. I., Daraban Bocaneti, F., Quenault, H., Hirchaud, E., Blanchard, Y., Velescu, E., y Cliquet, F. (2023). Whole genome sequencing and phylogenetic characterisation of rabies virus strains from Moldova and north-eastern Romania. *PLoS Negl. Trop. Dis*., 17 (7), e0011446. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011446

Davis, R., Nadin-Davis, S. A., Moore, M., y Hanlon, C. (2013). Genetic characterization and phylogenetic analysis of skunk-associated rabies viruses in North America with special emphasis on the central plains. *Virus Res.*, 174(1-2), 27-36. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.02.008

De Carvalho Ruthner Batista, H. B., Vieira, L. F. P., Kawai, J. G. C., De Oliveira Fahl, W., Barboza, C. M., Achkar, S., De Novaes Oliveira, R., Brandão, P. E., y Carnieli Junior, P. (2023). Dispersion and diversification of *Lyssavirus rabies* transmitted from haematophagous bats *Desmodus rotundus*: A phylogeographical study. *Virus Genes*, 59 (6), 817-822. https://doi.org/10.1007/s11262-023-02030-x

Delmas, O., Holmes, E. C., Talbi, C., Larrous, F., Dacheux, L., Bouchier, C., y Bourhy, H. (2008). Genomic diversity and evolution of the *Lyssaviruses*. *PLoS One*, 3(4), e2057. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002057

De Mattos, C. C., De Mattos, C. A., Loza-Rubio, E., Aguilar-Setién, A., Orciari, L. A., y Smith, J. S. (1999). Molecular characterization of rabies virus isolates from Mexico: Implications for transmission dynamics and human risk. The American *J. Trop. Med.* and hygiene, 61(4), 587-597. https://doi.org/10.4269/ajtmh.1999.61.587

Dettinger, L., Gigante, C. M., Sellard, M., Seiders, M., Patel, P., Orciari, L. A., Yager, P., Lute, J., Regec, A., Li, Y., y Xia, D. (2022). Detection of Apparent Early Rabies Infection by LN34 Pan-Lyssavirus Real-Time RT-PCR Assay in Pennsylvania. *Viruses*, 14(9), 1845. https://doi.org/10.3390/v14091845

Dietzgen, R. G., Kondo, H., Goodin, M. M., Kurath, G., y Vasilakis, N. (2017). The family Rhabdoviridae: Mono- and bipartite negative-sense RNA viruses with diverse genome organization and common evolutionary origins. *Virus Res*., 227, 158-170. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.10.010

Drummond, A. J., y Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol*, 7(1), 214. https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214

Edgar, R. C., y Batzoglou, S. (2006). Multiple sequence alignment. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 16(3), 368–373. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.04.004

Escobar, L. E., Peterson, A. T., Favi, M., Yung, V., Pons, D. J., y Medina-Vogel, G. (2013). Ecology and geography of transmission of two bat-borne rabies lineages in Chile. *PLoS Negl. Trop. Dis.,* 7 (12), e2577. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002577

Escofier, B., y Pagès, J. (1994). Multiple factor analysis (AFMULT package). *Comput. Stat. Data Anal.*, 18(1), 121-140. https://doi.org/10.1016/0167-9473(94)90135-X

Faria, N. R., Suchard, M. A., Rambaut, A., y Lemey, P. (2011). Toward a quantitative understanding of viral phylogeography. *Curr. Opin. Virol*., 1(5), 423-429. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.003

Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, *39*(4), 783–791. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x

Fisher, C. R., Streicker, D. G., y Schnell, M. J. (2018). The spread and evolution of rabies virus: Conquering new frontiers. *Nat. Rev. Microbiol.*, 16(4), 241-255. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.11

Fooks, A. R., Shipley, R., Markotter, W., Tordo, N., Freuling, C. M., Müller, T., McElhinney, L. M., Banyard, A. C., & Rupprecht, C. E. (2021). Renewed Public Health Threat from Emerging Lyssaviruses. Viruses, 13(9), 1769. https://doi.org/10.3390/v13091769

Fooks, A. R., Cliquet, F., Finke, S., Freuling, C., Hemachudha, T., Mani, R. S., Müller, T., Nadin-Davis, S., Picard-Meyer, E., Wilde, H., y Banyard, A. C. (2017). Rabies. *Nat. Rev. Dis. Primers*, 3 (1), 17091. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.91

Garcés-Ayala, F., Aguilar-Setién, Á., Almazán-Marín, C., Cuautle-Zavala, C., Chávez-López, S., Martínez-Solís, D., Gómez-Sierra, M., Sandoval-Borja, A., Escamilla-Ríos, B., López-Martínez, I., y Aréchiga-Ceballos, N. (2022). Rabies virus variants detected from cougar (*Puma concolor*) in Mexico 2000–2021. *J. Pathog.,* 11 (2), 265. https://doi.org/10.3390/pathogens11020265

Gaudin, Y., Ruigrok, R. W. H., Tuffereau, C., Knossow, M., y Flamand, A. (1992). Rabies virus glycoprotein is a trimer. *Virology*, 187(2), 627-632. https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)90465-2

Gavito, M. E., Van Der Wal, H., Aldasoro, E. M., Ayala-Orozco, B., Bullén, A. A., Cach-Pérez, M., Casas-Fernández, A., Fuentes, A., González-Esquivel, C., Jaramillo-López, P., Martínez, P., Masera-Cerruti, O., Pascual, F., Pérez-Salicrup, D. R., Robles, R., Ruiz-Mercado, I., y Villanueva, G. (2017). Ecología, tecnología e innovación para la sustentabilidad: Retos y perspectivas en México. *Rev. Mex. Biodivers.*, 88. https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.09.001

Gigante, C. M., Yale, G., Condori, R. E., costa, N. C., Long, N. V., Minh, P. Q., Chuong, V. D., Tho, N. D., Thanh, N. T., Thin, N. X., Hanh, N. T. H., Wambura, G., Ade, F., Mito, O., Chuchu, V., Muturi, M., Mwatondo, A., Hampson, K., Thumbi, S. M., … Li, Y. (2020). Portable Rabies Virus Sequencing in Canine Rabies Endemic Countries Using the Oxford Nanopore MinION. *Viruses*, 12(11), 1255. https://doi.org/10.3390/v12111255

Gorbalenya, A. E., y Lauber, C. (2022). Bioinformatics of virus taxonomy: Foundations and tools for developing sequence-based hierarchical classification *Curr. Opin. Virol*., 52, 48-56. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.11.003

Guarino, H., Castilho, J. G., Souto, J., Oliveira, R. D. N., Carrieri, M. L., y Kotait, I. (2013). Antigenic and genetic characterization of rabies virus isolates from Uruguay. *Virus Res.,* 173 (2), 415-420. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.12.013

González-Montagut, R. (1999). Factors that contributed to the expansion of cattle ranching in Veracruz, Mexico. *Mex. Stud.*, 15(1), 101-130. https://doi.org/10.2307/1051944

Hayes, M. A., y Piaggio, A. J. (2018). Assessing the potential impacts of a changing climate on the distribution of a rabies virus vector. *PLoS One*, 13(2). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192887

Hayman, D. T. S., Bowen, R. A., Cryan, P. M., McCracken, G. F., O'Shea, T. J., Peel, A. J., Gilbert, A., Webb, C. T., y Wood, J. L. N. (2013). Ecology of zoonotic infectious diseases in bats: current knowledge and future directions. *Zoonoses Public Health*, 60 (1), 2-21. https://doi.org/10.1111/zph.12000

Hayman, D. T. S., Fooks, A. R., Marston, D. A., y Garcia-R, J. C. (2016). The global phylogeography of Lyssaviruses—challenging the «out of africa» hypothesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10(12), e0005266. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005266

Heffner, R. S., Koay, G., y Heffner, H. E. (2013). Hearing in American leaf-nosed bats. IV: The Common vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Hear. Res.*, 296, 42-50. https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.09.011

Hijmans, R. J., Brown, A., Barbosa, A. M., Cordano, E., y Dyba, K. (2020). terra: Spatial Data Analysis (p. 1.9-50) [Dataset]. https://doi.org/10.32614/CRAN.package.terra

Hollister, J. (2017). elevatr: Access Elevation Data from Various APIs (p. 0.99.1) [Dataset]. https://doi.org/10.32614/CRAN.package.elevatr

Holmes, S. (2003). Bootstrapping phylogenetic trees: Theory and methods. *Statistical Science*, *18*(2), 241–255.

Holmes, A. L., Broos, A., Becker, D. J., Carrera, J. E., Farrell, M. J., Ribeiro, R., Tello, C., Bergner, L. M., y Streicker, D. G. (2026). Virus-dependent geographic structure of co-circulating viruses in a single bat species. *Mol. Ecol.*, 35(5). https://doi.org/10.1111/mec.70295

Huaman, C., Paskey, A. C., Clouse, C., Feasley, A., Rader, M., Rice, G. K., Luquette, A. E., Fitzpatrick, M. C., Drumm, H. M., Yan, L., Cer, R. Z., Donduashvili, M., Buchukuri, T., Nanava, A., Hulseberg, C. E., Washington, M. A., Laing, E. D., Malagon, F., Broder, C. C., Schaefer, B. C. (2023). Genomic surveillance of rabies virus in Georgian canines. *Viruses*, 15(9), 1797. https://doi.org/10.3390/v15091797

Hummeler, K., Koprowski, H., y Wiktor, T. J. (1967). Structure and development of rabies virus in tissue culture. *J. Virol*, 1(1), 152-170. https://doi.org/10.1128/jvi.1.1.152-170.1967

Hyeon, J.-Y., Risatti, G. R., Helal, Z. H., McGinnis, H., Sims, M., Hunt, A., Chung, D. H., Kim, J., Desiato, J., y Lee, D.-H. (2021). Whole genome sequencing and phylogenetic analysis of rabies viruses from bats in Connecticut, USA, 2018–2019. *Viruses*, 13 (12), 2500. https://doi.org/10.3390/v13122500

Itakura, Y., Tabata, K., Saito, T., Intaruck, K., Kawaguchi, N., Kishimoto, M., Torii, S., Kobayashi, S., Ito, N., Harada, M., Inoue, S., Maeda, K., Takada, A., Hall, W. W., Orba, Y., Sawa, H., y Sasaki, M. (2023). Morphogenesis of bullet-shaped rabies virus particles regulated by tsg101. *J. Virol*., 97 (5), e00438-23. https://doi.org/10.1128/jvi.00438-23

Iwasaki, Y., Liu, D.-S., Yamamoto, T., y Konno, H. (1985). On the Replication and Spread of Rabies Virus in the Human Central Nervous System. J*. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 44 (2), 185-195. https://doi.org/10.1097/00005072-198503000-00007

Jackson, A. C. (2002). Rabies pathogenesis. *J. Virol*, 8 (4), 267-269. https://doi.org/10.1080/13550280290100725

Jackson, A. C. (2018). Rabies: A medical perspective: -EN- Rabies: a medical perspective -FR- Le point de vue de la médecine sur la rage -ES- La rabia desde el punto de vista médico. *Rev Sci Tech*, 37(2), 569-580. https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2825

Johnson, N., Aréchiga-Ceballos, N., y Aguilar-Setien, A. (2014). Vampire bat rabies: ecology, epidemiology and control. *Viruses*, 6 (5), 1911-1928. https://doi.org/10.3390/v6051911

Johnson, N., Cunningham, A. F., y Fooks, A. R. (2010). The immune response to rabies virus infection and vaccination. *Vaccine*, 28 (23), 3896-3901. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.03.039

Katoh, K., y Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30(4), 772–780. https://doi.org/10.1093/molbev/mst010

Kelly, R. M., y Strick, P. L. (2000). Rabies as a transneuronal tracer of circuits in the central nervous system. *J. Neurosci. Methods*, 103 (1), 63-71. https://doi.org/10.1016/S0165-0270(00)00296-X

Khairullah, A., Kurniawan, S., Hasib, A., Silaen, O., Widodo, A., Effendi, M., Ramandinianto, S., Moses, I., Riwu, K., y Yanestria, S. (2023). Tracking lethal threat: In-depth review of rabies. *Open Vet. J.,* 13 (11), 1385. https://doi.org/10.5455/OVJ.2023.v13.i11.1

Kobayashi, Y., Sato, G., Mochizuki, N., Hirano, S., Itou, T., Carvalho, A. A., Albas, A., Santos, H. P., Ito, F. H., y Sakai, T. (2008). Molecular and geographic analyses of vampire bat-transmitted cattle rabies in central Brazil. *BMC Vet. Res*, 4(1), 44. https://doi.org/10.1186/1746-6148-4-44

Kucera, P., Dolivo, M., Coulon, P., y Flamand, A. (1985). Pathways of the early propagation of virulent and avirulent rabies strains from the eye to the brain. J*. Virol*., 55 (1), 158-162. https://doi.org/10.1128/jvi.55.1.158-162.1985

Kuhn, M. (2008). Building Predictive Models in R Using the caret Package. *J. Stat. Softw.*, 28(5). https://doi.org/10.18637/jss.v028.i05

Kumar, R., y Kumar, V. (2018). A review of phylogeography: biotic and abiotic factors. *Geol. Ecol. Landsc.*, 2(4), 268–274. https://doi.org/10.1080/24749508.2018.1452486

Kustin, T., y Stern, A. (2021). Biased mutation and selection in RNA viruses. *Mol. Biol. Evol*., 38(2), 575-588. https://doi.org/10.1093/molbev/msaa247

Kuzmin, I. V., Wu, X., Tordo, N., y Rupprecht, C. E. (2008). Complete genomes of Aravan, Khujand, Irkut and West Caucasian bat viruses, with special attention to the polymerase gene and non-coding regions. *Virus Res*., 136 (1-2), 81-90. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.04.021

Kuzmin, I. V., Shi, M., Orciari, L. A., Yager, P. A., Velasco-Villa, A., Kuzmina, N. A., Streicker, D. G., Bergman, D. L., y Rupprecht, C. E. (2012). Molecular inferences suggest multiple host shifts of rabies viruses from bats to

mesocarnivores in Arizona during 2001–2009. *PLoS J. Pathog*., 8 (6), e1002786. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002786

Kuzmina, N. A., Lemey, P., Kuzmin, I. V., Mayes, B. C., Ellison, J. A., Orciari, L. A., Hightower, D., Taylor, S. T., y Rupprecht, C. E. (2013). The phylogeography and spatiotemporal spread of south-central skunk rabies virus. *PLoS One*, 8(12), e82348. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082348

Kuzmina, N. A., Kuzmin, I. V., Ellison, J. A., Taylor, S. T., Bergman, D. L., Dew, B., y Rupprecht, C. E. (2013). A reassessment of the evolutionary timescale of bat rabies viruses based upon glycoprotein gene sequences. *Virus Genes*, 47(2), 305-310. https://doi.org/10.1007/s11262-013-0952-9

Larget, B., y Simon, D. L. (1999). Markov Chasin Monte Carlo algorithms for the bayesian analysis of phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol*., 16(6), 750-759. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026160

Lawson, D. J., Van Dorp, L., y Falush, D. (2018). A tutorial on how not to over-interpret STRUCTURE and ADMIXTURE bar plots. *Nat. Commun.*, 9(1), 3258. https://doi.org/10.1038/s41467-018-05257-7

Lê, S., Josse, J., y Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *J. Stat. Softw.*, 25(1). https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01

Lentz, T. L., Burrage, T. G., Smith, A. L., Crick, J., y Tignor, G. H. (1982). Is the Acetylcholine Receptor a Rabies Virus Receptor? *Science*, 215 (4529), 182-184. https://doi.org/10.1126/science.7053569

Lin, Y., Hu, F., Tang, J., y Moret, B. M. E. (2013). Maximum likelihood phylogenetic reconstruction from high-resolution whole-genome data and a tree of 68 eukaryotes. *Pacific Symposium on Biocomputing*.285-296.

Liu, Y., Nyunoya, T., Leng, S., Belinsky, S. A., Tesfaigzi, Y., y Bruse, S. (2013). Softwares and methods for estimating genetic ancestry in human populations. *Hum. Genomics*, 7(1), 1. https://doi.org/10.1186/1479-7364-7-1

Loza-Rubio, Elizabeth, Nadin-Davis, Susan A., y Morales Salinas, Elizabeth. (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.

Luis, A. D., Hayman, D. T. S., O'Shea, T. J., Cryan, P. M., Gilbert, A. T., Pulliam, J. R. C., Mills, J. N., Timonin, M. E., Willis, C. K. R., Cunningham, A. A., Fooks, A. R., Rupprecht, C. E., Wood, J. L. N., y Webb, C. T. (2013). A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: Are bats special? *Proc. Biol. Sci.*, 280 (1756), 20122753. https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2753

Lycke, E., y Tsiang, H. (1987). Rabies virus infection of cultured rat sensory neurons. *J. Virol*., 61 (9), 2733-2741. https://doi.org/10.1128/jvi.61.9.2733-2741.1987

Mahadevan, A., Suja, M. S., Mani, R. S., y Shankar, S. K. (2016). Perspectives in diagnosis and treatment of rabies viral encephalitis: insights from pathogenesis. *Neurotherapeutics*, 13 (3), 477-492. https://doi.org/10.1007/s13311-016-0452-4

Mantovan, K. B., Menozzi, B. D., Paiz, L. M., Sevá, A. P., Brandão, P. E., y Langoni, H. (2022). Geographic distribution of common vampire bat *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) Shelters: Implications for the spread of rabies virus to cattle in southeastern Brazil. *Pathogens*, 11(8), 942. https://doi.org/10.3390/pathogens11080942

Markotter, W., y Coertse, J. (2018). Bat lyssaviruses: -EN- Bat lyssaviruses -FR- Les lyssavirus des chauves-souris -ES- Lisavirus de los murciélagos. *Rev. Sci. Tech.* 37(2), 385-400. https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2809

Marston, D. A., Jennings, D. L., MacLaren, N. C., Dorey-Robinson, D., Fooks, A. R., Banyard, A. C., y McElhinney, L. M. (2019). Pan-lyssavirus Real Time RT-PCR for Rabies Diagnosis. *J. Vis. Exp.,* (149), 59709. https://doi.org/10.3791/59709

Marz, M., Beerenwinkel, N., Drosten, C., Fricke, M., Frishman, D., Hofacker, I. L., Hoffmann, D., Middendorf, M., Rattei, T., Stadler, P. F., y Töpfer, A. (2014). Challenges in RNA virus bioinformatics. *Bioinform.,* 30(13), 1793-1799. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu105

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 (8), 4002-4012. https://doi.org/10.1128/JVI.02220-09

Mendoza-Sáenz, V. H., Saldaña-Vázquez, R. A., Navarrete-Gutiérrez, D., Kraker-Castañeda, C., Ávila-Flores, R., y Jiménez-Ferrer, G. (2023). Reducing conflict between the common vampire bat *Desmodus rotundus* and cattle ranching in Neotropical landscapes. *Mammal Rev.*, 53(2), 72-83. https://doi.org/10.1111/mam.12313

Messenger, S. L., Smith, J. S., y Rupprecht, C. E. (2002). Emerging epidemiology of bat-associated cryptic cases of rabies in humans in the United States. *Clin Infect Dis*., 35 (6), 738-747. https://doi.org/10.1086/342387

Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., Carroll, K. C., Chapin, K. C., Gonzalez, M. D., Harrington, A., Jerris, R. C., Kehl, S. C., Leal, S. M., Patel, R., Pritt, B. S., Richter, S. S., Robinson-Dunn, B., Snyder, J. W., Telford, S., Theel, E. S., Thomson, R. B., Weinstein, M. P., y Yao, J. D. (2024). Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2024 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the

American Society for Microbiology (ASM). *Clin. Infect. Dis*., ciae104. https://doi.org/10.1093/cid/ciae104

Mochizuki, N., Kobayashi, Y., Sato, G., Hirano, S., Itou, T., Ito, F. H., y Sakai, T. (2011). Determination and molecular analysis of the complete genome sequence of two wild-type rabies viruses isolated from a haematophagous bat and a frugivorous bat in Brazil. *J. Vet. Med. Sci.*, 73 (6), 759-766. https://doi.org/10.1292/*J. Vet. Med. Sci.*.10-0238

Moratelli, R., y Calisher, C. H. (2015). Bats and zoonotic viruses: Can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 110 (1), 1-22. https://doi.org/10.1590/0074-02760150048

Mutte, S., y Weijers, D. (2020). High-resolution and deep phylogenetic reconstruction of ancestral states from large transcriptomic data sets. *Bio Protoc*., 10(6). https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3566

Nadin-Davis, S. A., y Loza-Rubio, E. (2006). The molecular epidemiology of rabies associated with chiropteran hosts in Mexico. *Virus Res.*, 117(2), 215-226. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2005.10.006

Nadin-Davis, S. A., y Real, L. A. (2011). Molecular Phylogenetics of the Lyssaviruses—Insights from a coalescent approach. *Adv. Virus Res*. (Vol. 79, pp. 203-238). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00011-1

Nahata, K. D., Bollen, N., Gill, M. S., Layan, M., Bourhy, H., Dellicour, S., y Baele, G. (2021). On the use of phylogeographic inference to infer the dispersal history of rabies virus: a review study. *Viruses*, 13 (8), 1628. https://doi.org/10.3390/v13081628

Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., von Haeseler, A., y Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, 32(1), 268–274. https://doi.org/10.1093/molbev/msu300

Olave-Leyva, J. I., Martínez-Burnes, J., Toro-Cardona, F. A., Aréchiga-Ceballos, N., Aguilar-Setién, Á., Barrios–García, H., López-Martínez, I., Casar-Solares, A., y Soria-Díaz, L. (2025). Distribution of *Desmodus rotundus* and Its Implications for Rabies in Mexico. *EcoHealth*, 22(3), 360-372. https://doi.org/10.1007/s10393-025-01719-9

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2004). Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004. Capítulo 2.2.5. — Rabia (Versión en línea). Recuperado de https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Publications_y_Documentation/docs/pdf/2.2.05_Rabia.pdf

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2023). Manual Terrestre de la OMSA 2023. Capítulo 3.1.19. Rabia (infección por el virus de la rabia y otros lyssavirus) (Versión en línea). Recuperado de

https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.19_RABIES.pdf

Organización Panamericana de la Salud. (2000). Los anticuerpos monoclonales en la caracterización y vigilancia de los virus de la rabia en América Latina y el Carib. *Rev. Panam. Salud Publica*, 8, 214–217. Recuperado de: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/8768/3037.pdf?sequence=1yisAllowed=y

Pebesma, E. (2018). Simple features for R: standardized support for spatial vector data. *R J.*, 10(1), 439. https://doi.org/10.32614/RJ-2018-009

Pybus, O. G., Tatem, A. J., y Lemey, P. (2015). *Virus Evol.* and transmission in an ever more connected world. *Proc. Biol. Sci*, 282(1821), 20142878. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2878

Preuss, M. A. R., Faber, M.-L., Tan, G. S., Bette, M., Dietzschold, B., Weihe, E., y Schnell, M. J. (2009). Intravenous inoculation of a bat-associated rabies virus causes lethal encephalopathy in mice through invasion of the brain via neurosecretory hypothalamic fibers. *PLoS J. Pathog.,* 5 (6), e1000485. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000485

Rannala, B., Yang, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: A new method of phylogenetic inference. *J Mol Evol* 43, 304–311 (1996). https://doi.org/10.1007/BF02338839

Rocha, F., y Dias, R. A. (2020). The common vampire bat *Desmodus rotundus* (*Chiroptera: Phyllostomidae*) and the transmission of the rabies virus to livestock: A contact network approach and recommendations for surveillance and control. *Prev. Vet. Med.*, 174, 104809. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104809

Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., y Huelsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.*, 61(3), 539-542.

Rojas-Sereno, Z. E., Streicker, D. G., Medina-Rodríguez, A. T., y Benavides, J. A. (2022). Drivers of spatial expansions of vampire bat rabies in Colombia. *Viruses*, 14(11), 2318. https://doi.org/10.3390/v14112318

Rupprecht, C. E., Mani, R. S., Mshelbwala, P. P., Recuenco, S. E., y Ward, M. P. (2022). Rabies in the Tropics. *Curr. Trop. Med. Rep*., 9 (1), 28-39. https://doi.org/10.1007/s40475-022-00257-6

Sánchez, C. A., Phelps, K. L., Frank, H. K., Geldenhuys, M., Griffiths, M. E., Jones, D. N., Kettenburg, G., Lunn, T. J., Moreno, K. R., Mortlock, M., Vicente-Santos, A., Víquez-R, L. R., Kading, R. C., Markotter, W., Reeder, D. M., y Olival, K. J. (2024). Advances in understanding bat infection dynamics across

biological scales. *Proc. Biol. Sci*, 291(2018), 20232823. https://doi.org/10.1098/rspb.2023.2823

Schnell, M. J., McGettigan, J. P., Wirblich, C., y Papaneri, A. (2010). The cell biology of rabies virus: Using stealth to reach the brain. *Nat. Rev. Microbiol.,* 8 (1), 51-61. https://doi.org/10.1038/nrmicro2260

Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2011, 20 de mayo). *Norma Oficial Mexicana NOM-067-Z00-2007, Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas.* Diario Oficial de la Nación. https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-067-zoo-2007

Secretaría de Salud de México. (2024). Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la rabia humana. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/920193/MANUAL_VE_RABIA_2024_JUN24.pdf3

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2022, 1 de julio). Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas. Gobierno de México. Recuperado de https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-para-la-prevencion-y-control-de-la-rabia-en-bovinos-y-especies-ganaderas

Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2026, 30 de abril). *Indicadores de la Campaña Nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas*. Gobierno de México. Recuperado de: https://www.gob.mx/senasica/documentos/indicadores-de-la-campana-nacional-para-la-prevencion-y-control-de-la-rabia-en-bovinos-y-especies-ganaderas

Sétien, A. A., Brochier, B., Tordo, N., De Paz, O., Desmettre, P., Péharpré, D., y Pastoret, P.-P. (1998). Experimental rabies infection and oral vaccination in vampire bats (*Desmodus rotundus*). *Vaccine*, 16(11-12), 1122-1126. https://doi.org/10.1016/S0264-410X(98)80108-4

Seetahal, J. F. R., Velasco-Villa, A., Allicock, O. M., Adesiyun, A. A., Bissessar, J., Amour, K., Phillip-Hosein, A., Marston, D. A., McElhinney, L. M., Shi, M., Wharwood, C.-A., Fooks, A. R., y Carrington, C. V. F. (2013). Evolutionary history and phylogeography of rabies viruses associated with outbreaks in Trinidad. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 7(8), e2365. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002365

Siljic, M., Sehovic, R., Jankovic, M., Stamenkovic, G., Loncar, A., Todorovic, M., Stanojevic, M., y Cirkovic, V. (2023). Evolutionary dynamics of Usutu virus: Worldwide dispersal patterns and transmission dynamics in Europe. *Front. Microbiol.*, 14, 1145981. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1145981

Simon, C. (2022). An evolving view of phylogenetic support. *Syst. Biol.,* 71(4), 921-928. https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa068

Streicker, D. G., Recuenco, S., Valderrama, W., Gomez Benavides, J., Vargas, I., Pacheco, V., Condori Condori, R. E., Montgomery, J., Rupprecht, C. E., Rohani, P., y Altizer, S. (2012). Ecological and anthropogenic drivers of rabies expose in vampire bats: Implications for transmission and control. *Proc. Biol. Sci*, 279 (1742), 3384-3392. https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0538

Streicker, D. G., Lemey, P., Velasco-Villa, A., y Rupprecht, C. E. (2012). Rates of viral evolution are linked to host geography in bat rabies. *PLoS Pathog.*, 8(5), e1002720. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002720

Streicker, D. G., y Allgeier, J. E. (2016). Foraging choices of vampire bats in diverse landscapes: Potential implications for land-use change and disease transmission. *J. Appl. Ecol*., 53 (4), 1280-1288. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12690

Streicker, D. G., Fallas González, S. L., Luconi, G., Barrientos, R. G., y Leon, B. (2019). Phylodynamics reveals extinction–recolonization dynamics underpin apparently endemic vampire bat rabies in costa Rica. *Proc. Biol. Sci*, 286(1912), 20191527. https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1527

Streicker, D. G., *et al*. (2021). Host-pathogen evolutionary signatures reveal dynamics and future invasions of vampire bat rabies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 118(15), e2001707118. https://doi.org/10.1073/pnas.2001707118

Stuchin, M., Machalaba, C. M., Olival, K. J., Artois, M., Bengis, R. G., Caceres, P., Diaz, F., Erlacher-Vindel, E., Forcella, S., Leighton, F. A., Murata, K., Popovic, M., Tizzani, P., Torres, G., y Karesh, W. B. (2018). Rabies as a threat to wildlife: -EN- Rabies as a threat to wildlife -FR- La rage en tant que menace pour la faune sauvage -ES- La rabia, una amenaza para la fauna silvestre. *Rev Sci Tech*, 37 (2), 341-357. https://doi.org/10.20506/rst.37.2.2858

Soler-Tovar, D., y Escobar, L. E. (2025). Rabies transmitted from vampires to cattle: An overview. *PLoS One*, 20(1), e0317214. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317214

Troupin, C., Dacheux, L., Tanguy, M., Sabeta, C., Blanc, H., Bouchier, C., Vignuzzi, M., Duchene, S., Holmes, E. C., y Bourhy, H. (2016). Large-scale phylogenomic analysis reveals the complex evolutionary history of rabies virus in multiple carnivore hosts. *PLoS Pathog.*, 12(12), e1006041. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006041

Tsiang, H., Ceccaldi, P. E., y Lycke, E. (1991). Rabies virus infection and transport in human sensory dorsal root ganglia neurons. *J. Gen. Virol*., 72 (5), 1191-1194. https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-5-1191

Torres, C., Lema, C., Dohmen, F. G., Beltran, F., Novaro, L., Russo, S., Freire, M. C., Velasco-Villa, A., Mbayed, V. A., y Cisterna, D. M. (2014). Phylodynamics of vampire bat-transmitted rabies in Argentina. *Mol. Ecol.*, 23(9), 2340-2352. https://doi.org/10.1111/mec.12728

Trewby, H., Nadin-Davis, S. A., Real, L. A., y Biek, R. (2017). Processes underlying rabies virus incursions across US–Canada Border as revealed by whole-genome phylogeography. *Emerg. Infect. Dis.,* 23(9), 1454-1461. https://doi.org/10.3201/eid2309.170325

Ugolini, G. (2011). Rabies virus as a transneuronal tracer of neuronal connections. *Adv Virus Res* 79, 165-202. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00010-X

Van De Vuurst, P., Díaz, M. M., Rodríguez-San Pedro, A., Allendes, J. L., Brown, N., Gutiérrez, J. D., Zarza, H., De Oliveira, S. V., Cárdenas-Canales, E., Barquez, R. M., y Escobar, L. E. (2022a). A database of common vampire bat reports. *Sci. Data*, 9 (1), 57. https://doi.org/10.1038/s41597-022-01140-9

Van de Vuurst, P., Díaz, M., Pedro, A. R.-S., Allendes, J. L., Brown, N., Gutiérrez, J. D., Zarza, H., Vilges de Oliveira, S., Cárdenas-Canales, E., Barquez, R., y Escobar Quinonez, L. (2022b). *Desmodus rotundus occurrence record database* (p. 23660309 Bytes) [Dataset]. figshare. https://doi.org/10.6084/M9.FIGSHARE.15025296.V8

Van De Vuurst, P., Qiao, H., Soler-Tovar, D., y Escobar, L. E. (2024). Climate change linked to vampire bat expansion and rabies virus spillover. *Ecography*, 2024(10), e06714. https://doi.org/10.1111/ecog.06714

Van De Vuurst, P., Rist, C., Medina-Rodriguez, T., Osejo-Varona, A. F., Soler-Tovar, D., y Escobar, L. E. (2025a). Drivers of rabies virus spillover risk from vampire bats to livestock in Colombia. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 19(9), e0013508. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0013508

Van De Vuurst, P., Gohlke, J. M., y Escobar, L. E. (2025b). Future climate change and the distributional shift of the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. *Sci. Rep.*, 15(1), 5989. https://doi.org/10.1038/s41598-025-87977-7

Velasco-Villa, A., Gómez-Sierra, M., Hernández-Rodríguez, G., Juárez-Islas, V., Meléndez-Félix, A., Vargas-Pino, F., Velázquez-Monroy, O., y Flisser, A. (2002). Antigenic diversity and distribution of rabies virus in Mexico. *J. Clin. Microbiol.*, 40(3), 951-958. https://doi.org/10.1128/JCM.40.3.951-958.2002

Velasco-Villa, A., Orciari, L. A., 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. E. (2006). Molecular diversity of rabies viruses associated with bats in Mexico and other countries of the Americas. *J. Clin.*

Microbiol., 44 (5), 1697-1710. https://doi.org/10.1128/JCM.44.5.1697-1710.2006

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 Research*, 143, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.03.023

Wadas, I., y Domingues, I. (2025). Systematic review of phylogenetic analysis techniques for RNA viruses using bioinformatics. *Int. J. Mol. Sci.,* 26(5), 2180. https://doi.org/10.3390/ijms26052180

Walker, P. J., Freitas-Astúa, J., Bejerman, N., Blasdell, K. R., Breyta, R., Dietzgen, R. G., Fooks, A. R., Kondo, H., Kurath, G., Kuzmin, I. V., Ramos-González, P. L., Shi, M., Stone, D. M., Tesh, R. B., Tordo, N., Vasilakis, N., Whitfield, A. E., y ICTV Report Consortium. (2022). ICTV Virus Taxonomy Profile: Rhabdoviridae 2022: This article is part of the ICTV Virus Taxonomy Profiles collection. *J. Gen. Virol*., 103 (6). https://doi.org/10.1099/jgv.0.001689

Wickham, H. (2016). ggplot2: *Elegant Graphics for Data Analysis* (2nd ed. 2016). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4

Wiktor, T. J., y Koprowski, H. (1980). Antigenic variants of rabies virus. The J*J. Exp. Med.*, 152(1), 99–112. https://doi.org/10.1084/jem.152.1.99

Wiktor, T. J., Flamand, A., y Koprowski, H. (1980). Use of monoclonal antibodies in diagnosis of rabies virus infection and differentiation of rabies and rabies-related viruses. *J. Virol. Methods*, 1(1), 33-46. https://doi.org/10.1016/0166-0934(80)90005-1

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, y World Organisation for Animal Health. (2018). Zero by 30: The global strategic plan to end human deaths from dog-mediated rabies by 2030. World Health Organization; WHO IRIS. https://iris.who.int/handle/10665/272756

Zarza, H., Martínez-Meyer, E., Suzán, G., y Ceballos, G. (2017). Geographic distribution of *Desmodus rotundus* in Mexico under current and future climate change scenarios: Implications for bovine paralytic rabies infection. *Vet. Mex. OA*, 4(3). https://doi.org/10.21753/vmoa.4.3.390

Zhang, L., Cruz, J., Tian, Y., Wang, Y., Jiang, J., Gonzales, R. M., Azul, R. R., Peña, R. C. D., Sun, S., Liu, Y., Jiang, T., Fang, L., Tu, C., Gong, W., y Feng, Y. (2025). Phylogeography analysis reveals rabies epidemiology, evolution, and transmission in the Philippines. *Mol. Biol. Evol.*, 42(2), msaf007. https://doi.org/10.1093/molbev/msaf007

Zou, Y., Zhang, Z., Zeng, Y., Hu, H., Hao, Y., Huang, S., y Li, B. (2024). Common methods for phylogenetic tree construction and their implementation in R. *Bioengineering*, 11(5), 480. https://doi.org/10.3390/bioengineering11050480