



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**Detección de *Orthobunyavirus* en ganado bovino
y en murciélagos hematófagos (*Desmodus
rotundus*) en unidades de producción bovina de
Yucatán, México**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR:

**Médico Veterinario Zootecnista
Laura Ivone López Apodaca**



Directores:

POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

**Dr. Carlos Machain-Williams
Dra. Silvia Hernández Betancourt**

Mérida, Yuc., México, octubre de 2018



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNA: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
LAURA IVONE LÓPEZ APODACA**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DRA. MARÍA CRISTINA MAC SWINEY GONZÁLEZ
UNIVERSIDAD VERACRUZANA**

**DR. ANTONIO ORTEGA PACHECO
CCBA-UADY**

**DR. EDWIN GUTIÉRREZ RUIZ
CCBA-UADY**

**DR. ROGER IVÁN RODRIGUEZ VIVAS
CCBA-UADY**

**DRA. CELIA ISELA SÉLEM SALAS
CCBA-UADY**

MÉRIDA, YUCATÁN, OCTUBRE DE 2018

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la Universidad Autónoma de Yucatán para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos.

A mis tíos Lalo y Paty.

A mis amigos.

A toda la gente maravillosa que he tenido la fortuna de toparme durante estos dos años.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a:

Mis padres y hermanos por su amor y apoyo incondicional a pesar de la distancia.

Mis tíos por brindarme siempre la calidez y alegría de su hogar.

A mis amigos del posgrado y los de hace años por el apoyo moral, las idas a comer y todas las risas.

A las personas que me acompañaron a campo y todas las aventuras que eso conlleva: César y Alma. Tere, muchas gracias por las desveladas y por acompañarme siempre, pero sobre todo gracias por todos estos años de amistad.

Al laboratorio de Arbovirología del CIR DR. Hideyo Noguchi y a las personas que hacen posible su funcionamiento. Gracias por la paciencia y todo el conocimiento que compartieron conmigo. Rosy, mil gracias por los consejos, las risas y toda la comida. Lucio, gracias por todo lo enseñado y por los “buenísimos chistes”. Lula, Suemy, Lupita y Luis gracias por todo. ¡Nada de esto hubiese sido posible sin su apoyo, de todo corazón gracias!

A mis asesores. Gracias Dra. Silvia, por estar siempre pendiente y ser una de las mejores profesoras que he conocido. Gracias Dr. Machain por acompañarme a campo, por confiar en mí y por permitirme ser parte de este proyecto y del Laboratorio de Arbovirología.

Al proyecto “Aplicación de metagenómica en la vigilancia y detección de arbovirosis con potencial emergente y reemergente en comunidades vulnerables de alto riesgo” financiado por CONACYT-Problemas Nacionales 2014-247005.

RESUMEN

Los *Orthobunyavirus* (familia Peribunyaviridae) son virus de ARN con cadena negativa y segmentada. Algunos de los cuales son patógenos de una amplia variedad de animales domésticos, silvestres y humanos. En animales productivos, como el ganado bovino y ovino se han observado signos nerviosos, malformaciones fetales y abortos. En Yucatán, existe el registro de algunos de estos virus (por ejemplo: Cache Valley, Kairi y South River) en animales domésticos y ganado bovino. El objetivo del presente estudio fue realizar la identificación de *Orthobunyavirus* en ganado bovino y en la especie de murciélago hematófago, *Desmodus rotundus*. Esto con la finalidad de poder detectar la circulación de virus con potencial zoonótico y de posible importancia para la producción ganadera. Se realizaron muestreos en 7 unidades de producción y se hicieron conglomerados con las muestras obtenidas para realizar la detección molecular. Un conglomerado de especímenes de *D. rotundus* y otro de bovinos resultaron positivos tanto al serogrupo California, como a Bwamba. Este es el primer registro que se tiene de estos virus en la especie *Desmodus rotundus* y en ganado bovino en México. La información aquí presente enriquece la investigación ya existente acerca de estos virus y reitera su presencia en el estado de Yucatán y México.

Palabras clave: arbovirus, ganado, México, murciélago vampiro común, *Orthobunyavirus*, Yucatán

SUMMARY

The *Orthobunyavirus* (family Peribunyaviridae) are negative-strand RNA viruses. Some of which are pathogens of a wide variety of animals, both wild, domestic and, humans. It has been observed in livestock, such as bovines and sheep, signs associated to neurological damage, fetal malformations and abortions associated to these pathogens. In Yucatan, there is evidence of circulation some of these viruses (e.g. Cache Valley, Kairi and South River) in domestic animals and mosquitoes. The present study aims to identify *Orthobunyaviruses* in cattle and *Desmodus rotundus*. In order to detect the circulation of viruses with zoonotic potential and possible importance for livestock production. Samples were taken in different ranches and specimen pools were prepared to perform the molecular detection. A conglomerate of *D. rotundus* and another of bovines tested positive for both the California and Bwamba serogroups. This is the first report of these viruses in the common vampire bat, *Desmodus rotundus*, and in cattle from Mexico. The present data enriches the existing information about these viruses and reiterates its presence in the state of Yucatan and Mexico.

Key words: arbovirus, cattle, common vampire bat, Mexico, *Orthobunyavirus*, Yucatán

Índice General

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Arbovirus.....	3
2.2 Orden Bunyvirales y familia Peribunyaviridae.....	4
2.2.1 Género <i>Orthobunyavirus</i>	5
2.2.2 Ciclo de vida	6
2.2.3 Replicación	6
2.2.4 Vector biológico.....	7
2.2.5 <i>Orthobunyavirus</i> identificados en la Península de Yucatán	8
2.2.6 Diagnóstico	10
2.3 Orden Chiroptera.....	11
2.3.1 El murciélago vampiro común, <i>Desmodus rotundus</i>	12
2.3.2 Importancia de los murciélagos en la transmisión de enfermedades .	13
3. HIPOTESIS.....	16
4. OBJETIVO GENERAL.....	17
4.1. Objetivos particulares	17
5. REFERENCIAS	18
6. ARTÍCULO.....	25

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de bovinos y captura de *Desmodus rotundus* para la identificación de *Orthobunyavirus*..... 29

Figura 2. Gel de agarosa al 2% de los productos de PCR obtenidos de los conglomerados de tejido de *Desmodus rotundus* para la identificación de *Orthobunyavirus*..... 35

Figura 3. Gel de agarosa al 2% con los productos de PCR obtenidos de los conglomerados de suero de bovino para la identificación de *Orthobunyavirus*..... 36

Índice de cuadros

Cuadro 1. Evidencia de <i>Orthobunyavirus</i> en la Península de Yucatán.....	10
--	----

Índice de cuadros del Artículo Científico

Cuadro 1. Mezclas de reacción empleadas para el diagnóstico molecular de <i>Orthobunyavirus</i> en unidades ganaderas de Yucatán, México	32
---	----

Cuadro 2. Cebadores específicos para los serogrupos Bunyamwera, California y Bwamba empleados para el diagnóstico molecular de <i>Orthobunyavirus</i> en unidades ganaderas de Yucatán, México	33
---	----

Cuadro 3. <i>Desmodus rotundus</i> capturados y número de conglomerados analizados para la detección de <i>Orthobunyavirus</i> en unidades ganaderas de Yucatán, México	34
--	----

Cuadro 4. Número de Bovinos muestreados y conglomerados analizados para la detección de <i>Orthobunyavirus</i> en unidades ganaderas de Yucatán, México	36
--	----

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los bunyavirus son el mayor grupo de virus de ARN, que alberga diversas especies con distribución global y que presentan potencial patogénico para humanos, animales y plantas (Calisher, 1996; Coffey et al. 2014). Son transmitidos, en su mayoría, por artrópodos hematófagos, principalmente mosquitos (Elliott, 2009; Blitvich et al. 2012b). Hasta el 2016 conformaban la familia Bunyaviridae; sin embargo, debido a que aproximadamente la mitad de las 530 especies descritas hasta el momento no pueden ser asignadas a ninguno de los géneros anteriormente establecidos (*Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus* y *Tospovirus*), el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) tomó la decisión de crear el orden Bunyavirales (ICTV, 2016)

Una cualidad importante del género *Orthobunyavirus*, es que tienen la capacidad de evolucionar rápidamente mediante el reordenamiento de sus genomas segmentados, dando como resultado la aparición de especies virales no reconocidas (Horne y Vanlandingham, 2014). Lo importante de este reordenamiento es que se pueden producir cambios fenotípicos radicales, causados por nuevas combinaciones de segmentos, que pudieran tener como resultado virus altamente patogénicos y virulentos; así como cambios en cuanto al tipo de hospedero o vector (Briese et al. 2013).

De manera experimental, se ha observado que algunos de estos virus producen fiebre, depresión, desorientación y signos de daño al sistema nervioso central en bovinos adultos, mientras que la infección en hembras gestantes han resultado en malformaciones del producto y abortos (Edwards et al. 1998; Concha-Bermejillo, 2003). En seres humanos se han reportado casos de encefalitis severas, así como la presencia de anticuerpos neutralizantes contra estos agentes, por lo que son considerados zoonóticos (Campbell et al. 2006; Blitvich et al. 2012b).

En la Península de Yucatán, México, ha sido documentada la presencia de *Orthobunyavirus* (serogrupo Bunyamwera y California), en animales de producción, caballos, mosquitos y seres humanos (Farfan-Ale et al. 2009; Farfan-Ale et al. 2010;

Blitvich et al. 2012c; Blitvich et al. 2012b), lo cual podría implicar tanto pérdidas económicas para los productores de ganado, como también problemas de salud pública.

Los murciélagos, además de ser importantes por los servicios ecosistémicos que desempeñan, también lo son por su papel como reservorios naturales de una gran variedad de virus (Han et al. 2015). Algunos de los más importantes y que pueden infectar tanto a animales domésticos, como a humanos e insectos hematófagos, pertenecen a las familias Togaviridae (género *Alphavirus*), Flaviviridae (género *Flavivirus*), Bunyaviridae (género *Orthobunyavirus* y *Phlebovirus*) y Arenaviridae (género *Arenavirus*) (Melaun et al. 2014).

Los murciélagos, comparten una serie de características ecológicas y de comportamiento que facilita la transmisión de enfermedades. En el caso del murciélago vampiro común, *Desmodus rotundus*, algunas de ellas son: a) sus hábitos alimentarios, ya que podría resultar infectado, tras ingerir sangre de un individuo virémico y a su vez, podría transmitir el virus al siguiente individuo del que se alimente; b) su capacidad de volar, ya que al estar infectado le permitiría propagar los virus entre unidades de producción que se encuentren dentro de su ámbito hogareño; c) su comportamiento social que aumenta la probabilidad de transmisión murciélago-murciélago, debido a que es común que individuos compartan el alimento con otros que no logren alimentarse; d) su longevidad, permitiendo el mantenimiento del virus por largos periodos de tiempo y e) la ocupación, como sitios de percha, de lugares hechos por el hombre, incrementando el contacto entre personas, animales de compañía y ganado (Calisher et al. 2006; Wong et al. 2007).

Debido a la interacción que existe entre los murciélagos de la especie *Desmodus rotundus* con el ganado bovino, y tomando en cuenta la evidencia antes mencionada de la presencia de virus del género *Orthobunyavirus*, el presente estudio tiene como objetivo realizar un monitoreo en pequeñas unidades de producción de ganado bovino para determinar la presencia de estos virus en bovinos y *Desmodus rotundus*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Arbovirus

El término arbovirus es un acrónimo de la frase en inglés "arthropod-borne virus" que se emplea para agrupar a virus que son transmitidos, entre hospederos, por artrópodos hematófagos, predominantemente dípteros y garrapatas (Gubler, 2006). La mayoría de los arbovirus de importancia médica que causan morbilidad y mortalidad severa en los seres humanos y animales domésticos pertenecen a las familias Flaviviridae, Togaviridae, Bunyaviridae, Reoviridae y Rhabdoviridae (Kuno y Chang, 2005; Franz et al. 2015).

En los seres humanos, la mayoría de las enfermedades arbovirales son asintomáticas o presentan signos leves como fiebre, dolores de cabeza, mialgia y malestar general. Sin embargo, los casos más severos exhiben fiebres hemorrágicas o meningoencefalitis que pueden provocar la muerte o secuelas de tipo neurológico (Dash et al. 2013).

Los arbovirus también representan una amenaza para la industria ganadera. Virus como Cache Valley, Schmallenberg, lengua azul o el virus de la estomatitis vesicular, pueden generar grandes pérdidas económicas por abortos, disminución en la productividad o muertes en algunas especies de importancia doméstica (Mackenzie y Jeggo, 2013; Horne y Vanlandingham, 2014).

La transmisión de estos agentes depende en gran medida de la disponibilidad de una población suficiente de huéspedes vertebrados susceptibles, que desarrollen una viremia prolongada y elevada, que permitan la infección del vector (Kuno y Chang, 2005). Esta relación que existe entre el virus y el artrópodo transmisor es altamente específica y es debida a un proceso de coevolución. En esta interacción, un arbovirus particular se adapta para superar aquellos factores y mecanismos intrínsecos del vector (inmunidad innata y barreras tisulares), logrando así una infección persistente, por lo que se dice que no todos los artrópodos hematófagos son vectores competentes (Franz et al. 2015).

En los últimos 50 años la reciente aparición de enfermedades arbovirales epidémicas, como dengue, zika, chikungunya, fiebre amarilla, virus del Oeste del Nilo y encefalitis japonesa, entre otras, resaltan la problemática mundial que la emergencia y reemergencia de estos virus representa. Así como también se hace evidente la necesidad de investigar acerca de estos virus y los factores ecológicos que intervienen en su mantenimiento y emergencia. Principalmente, debido a que factores como el hacinamiento urbano, los viajes internacionales constantes y las perturbaciones en el equilibrio ecológico causadas por el hombre, pueden ser catalizadores importantes que favorezcan la aparición de estas enfermedades, e incluso la emergencia de nuevos patógenos (Fauci y Morens, 2016; Wilder-Smith et al. 2017).

2.2 Orden Bunyvirales y familia Peribunyaviridae

El orden Bunyvirales fue establecido para integrar virus con genomas de ARN segmentados, lineares, de una sola hebra, con sentido negativo o de ambos sentidos, los cuales están distribuidos en nueve familias: Feraviridae, Fimoviridae, Hantaviridae, Jonviridae, Nairoviridae, Peribunyaviridae, Phasmaviridae, Phenuiviridae y Tospoviridae (Maes, et al. 2018).

La familia Peribunyaviridae incluye a los géneros *Orthobunyavirus* y *Herbevirus*. Éste último fue creado para albergar a virus de invertebrados (Maes et al. 2018). Las familias Peribunyaviridae, Nairoviridae y Phenuiviridae son arbovirus, cuyo ciclo natural incluye la replicación en artrópodos hematófagos y vertebrados homeotermos. Los tospovirus (Tospoviridae), son fitopatógenos, que también se transmiten por artrópodos. A diferencia del resto, los integrantes de la familia Hantaviridae, son mantenidos en la naturaleza a través de pequeños roedores y transmitidos a partir de sus secreciones o excreciones (Elliott, 2009). Una gran parte de estos virus, son considerados como patógenos emergentes, debido al incremento reciente en su incidencia en nuevos hospederos y zonas geográficas (Walter y Barr, 2011).

Algunas de las características que comparten los miembros del orden Bunyvirales son: a) tres segmentos lineales de ARN negativos o de doble sentido (segmento grande, mediano y chico), presentes dentro de la partícula viral como ribonucleoproteínas (RNP); b) cuatro proteínas estructurales y una no estructural; c) replicación citoplasmática; y d) ensamblaje y maduración en el aparato de Golgi (Savji et al. 2011). En el caso de las proteínas, la proteína de la nucleocápside (N) es transcrita a partir del segmento pequeño de ARN; las dos glicoproteínas de la envoltura (Gn y Gc) y otra proteína no estructural (NSm), por el segmento de ARN mediano; y la polimerasa viral, por el ARN grande (Briese et al. 2013).

Los peribunyavirus son relativamente únicos entre los arbovirus, debido a su rápida capacidad de evolucionar mediante el reordenamiento de sus genomas segmentados. Este proceso se da cuando dos bunyavirus estrechamente relacionados, que presentan distribución simpátrica y un vector compartido, infectan la misma célula susceptible al mismo tiempo (Horne y Vanlandingham, 2014). Como resultado, los segmentos genómicos pueden incorporarse de manera diversa en su progenie, generando la aparición de especies virales no reconocidas (Briese et al. 2013).

2.2.1 Género *Orthobunyavirus*

Este género, considerado el más grande, contiene más de 170 virus agrupados en 18 serogrupos, basándose en relaciones antigénicas determinadas principalmente por ensayos de inhibición de la hemoaglutinación, fijación del complemento y neutralización (Savji et al. 2011; Briese et al. 2013).

Los serogrupos asociados a enfermedades en seres humanos y animales son California (CAL), Bunyamwera (BUN), el grupo C y Simbu (Savji et al. 2011). Los *Orthobunyavirus* han sido aislados de tábanos, culicoides, garrapatas, flebotominos y mosquitos, siendo estos últimos los principales vectores de la mayoría de los virus que integran este género (Calisher, 1996).

2.2.2 Ciclo de vida

Después de la inoculación intradérmica por el vector, los virus son transportados por la linfa y la sangre a otros tejidos, tales como músculos esqueléticos y cardíacos, donde ocurre la replicación primaria. Esto es seguido por un corto periodo virémico de 3-7 días durante el cual el virus se distribuye al resto del cuerpo. Dentro de la célula, la multiplicación del virus ocurre en el citoplasma, y los viriones maduran en las membranas del aparato de Golgi (Concha-Bermejillo, 2003).

Los mosquitos resultan infectados tras alimentarse de un huésped vertebrado virémico. Una vez ingerida la sangre infectada, el virus se replica en las células del intestino medio del mosquito. Posteriormente es liberado en la hemocele, para poder así infectar y replicarse en las células de las glándulas salivales. El virus es secretado en la saliva cuando el mosquito se alimenta nuevamente, facilitando su transmisión. El tiempo transcurrido, entre la infección inicial y la posterior transmisión del virus a través la saliva, se denomina período de incubación extrínseca (Elliott, 2009).

2.2.3 Replicación

El proceso de replicación es estrictamente citoplasmático y comienza con el reconocimiento, de los receptores celulares, por las glicoproteínas (Gn y Gc) presentes en la envoltura del virión. El virión ingresa a la célula, por endocitosis, generando un cambio en el pH que produce modificaciones conformacionales en las glicoproteínas, y la consecuente fusión de la envoltura viral con la membrana del endosoma. Posteriormente las RNP son liberadas al citoplasma y se da inicio a la transcripción primaria. La cual es mediada por la proteína L, al insertar una secuencia de 10 a 18 nucleótidos desde el extremo 5' del ARNm celular, para usarlo como cebador e iniciar la transcripción. Dando como resultado ARNm viral y la subsecuente traducción de proteínas virales por parte de los ribosomas celulares (Doceul et al. 2013).

En el caso de los bunyavirus, el ensamblaje difiere al resto de los virus ARN negativos. Ya que se da en fábricas virales, situadas alrededor del aparato de Golgi,

con forma tubular que conectan a la mitocondria y al retículo endoplasmático. Esta estructura está compuesta tanto por componentes celulares como virales (Briese et al. 2013).

Los procesos de ensamblaje que se dan en las células de mamíferos y mosquitos son distintos. En las células de mamíferos, estas fábricas son grandes y perinucleares e implican la formación de estructuras tubulares, que anclan los organelos celulares al compartimento de Golgi. En las células de insectos, las fábricas de virus que se forman durante la fase aguda de la infección son menos extensas y las partículas virales ensambladas no se encuentran dentro del lumen de los sacos del aparato de Golgi, sino que se encuentran en la periferia (Walter y Barr, 2011).

Estas estructuras tubulares, forman un sitio protegido para que la polimerasa viral (L) pueda generar copias complementarias de todo el genoma viral, llamadas antigenomas, las cuales también se encuentran presentes como RNP's y son necesarias para la producción de grandes cantidades de genoma viral. Los antigenomas se asocian a las glicoproteínas Gn y Gc, acumuladas en el complejo de Golgi. La maduración de las partículas virales ocurre por gemación, al salir a través de la membrana modificada de aparato de Golgi. Una vez maduras son transportadas en vesículas al plasma de la membrana y son liberadas al compartimento extracelular por exocitosis (Fontana et al. 2008; Walter y Barr, 2011).

2.2.4 Vector biológico

Un vector puede definirse como un organismo, usualmente artrópodo hematófago, que transmite un patógeno de un hospedero a otro. Cuando el patógeno se multiplica o atraviesa algún tipo de desarrollo dentro del vector, entonces recibe el nombre de vector biológico (Gubler, 2006; Mackenzie y Jeggo, 2013).

Se conoce que los integrantes de los serogrupos Bunyamwera y California, son transmitidos en su mayoría por mosquitos (Horne y Vanlandingham, 2014). Uno de los integrantes del serogrupo Bunyamwera más estudiado, con respecto a sus vectores es el virus de Cache Valley (CVV). Este virus ha sido aislado

principalmente de especies del género *Aedes*, *Psorophora*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex* y la especie *Culiseta inornata* (Andreadis et al. 2014). En los estudios realizados por Farfán-Ale y colaboradores (2009, 2010), los *Orthobunyavirus* detectados fueron aislados de mosquitos de la especie *Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus*, el cual es considerado uno de los principales vectores de CVV en Estados Unidos, lugar donde el virus es endémico (Concha-Bermejillo, 2003).

2.2.5 *Orthobunyavirus* identificados en la Península de Yucatán

Los virus de este género, reconocidos hasta el momento, en la Península de Yucatán, son Cache Valley, Kairi, Cholul y South River (Tabla 1). El CVV, fue aislado por primera vez en 1956 de mosquitos de la especie *Culiseta inornata* en Utah, Estados Unidos (Holden y Hess 1959), pero no se le relacionó con ninguna enfermedad, hasta la aparición de un brote en borregos de Texas en 1987 (Chung et al. 1990). Se sabe que los principales hospederos amplificadores del virus son ungulados, como venados, caballos, ovejas y bovinos, debido a la gran cantidad de anticuerpos neutralizantes contra CVV detectados en estos animales. Adicional a esto, también ha sido identificado en cerdos, zorros y mapaches, por lo que se dice que mantiene un amplio rango de hospederos (Concha-Bermejillo, 2003; Blitvich et al. 2012c; Andreadis et al. 2014).

La mayoría de los casos de infección en rumiantes, tanto domésticos como silvestres, son subclínicos; sin embargo, se ha observado que en hembras gestantes de ganado bovino y ovino puede provocar fiebre, inapetencia, abortos, fetos momificados y malformaciones congénitas, como artrogriposis e hidranencefalia, principalmente (Chung et al. 1990; Concha-Bermejillo, 2003; Meyers et al. 2015). En seres humanos se han reportado, hasta ahora, tres individuos con encefalitis severas en Estados Unidos, de los cuales el primer caso resultó fatal. Adicional a esto, también se han identificado anticuerpos neutralizantes contra este virus o variantes de éste (Sexton et al. 1997; Campbell et al. 2006; Blitvich et al. 2012b; Nguyen et al. 2013).

El virus Kairi, fue aislado por primera vez de mosquitos de la especie *Ochlerotatus (Aedes) scapularis*, en la isla de Trinidad en 1955 (Anderson et al. 1960). Así mismo, se ha detectado en mosquitos, monos y roedores en Brasil; en mosquitos en México (Yucatán) y en un caballo febril en Argentina (Farfan-Ale et al. 2009; Soto et al. 2009). De igual modo se han identificado anticuerpos neutralizantes en seres humanos, bovinos y algunas especies de aves silvestres en Argentina. Sin embargo, a pesar de estos hallazgos, se desconoce si este agente patógeno está relacionado con algún padecimiento específico en personas o animales (Tauro et al. 2009, 2015).

El virus Cholul fue identificado recientemente como un virus producto del reordenamiento genético, ya que su genoma está compuesto por el segmento S de CVV y los segmentos M y L del virus Potosi (POTV); a pesar de esto, hasta el momento no existe información que indique la circulación de POTV en México. El virus Cholul (CHLV), fue aislado en un principio de la especie *Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus* en Cholul, Yucatán y se han detectado anticuerpos neutralizantes en humanos, caballos y borregos en la Península de Yucatán (Blitvich et al. 2012a; Blitvich et al. 2012b; Blitvich et al. 2012c).

El único miembro del serogrupo California identificado en la Península de Yucatán es el virus South River; este virus poco caracterizado, no se encuentra reconocido como causante de enfermedad humana o animal. Fue aislado por primera vez en Nueva Jersey en 1960 de la especie de mosquito *Anopheles crucians*, y posteriormente se detectó en las especies *Aedes sollicitans* y *Culiseta melanura* en ese mismo lugar; en Pensilvania fue aislado de *Culex salinarius*, *Cx. pipiens* y *Culiseta melanura*; y en Georgia de *Anopheles punctipennis* (Blitvich et al. 2012c). En Yucatán, se aisló una variante de este virus de *Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus*, así como también se detectaron anticuerpos neutralizantes en borregos (Blitvich et al. 2012d).

Cuadro 1. Evidencia de *Orthobunyavirus* en la Península de Yucatán.

Referencia	Individuos infectados	Sitio	Serogrupo	Virus	Diagnóstico
Farfán-Ale et al. 2009	<i>Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus</i>	Mérida, Yuc.	BUN	CVV KRIV	Aislamiento viral y RT-PCR
Farfán-Ale et al. 2010	<i>Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus</i>	Celestún, Yuc.	BUN	CVV	Aislamiento viral y RT-PCR
			CAL	SORV	
Blitvich et al. 2012b	Humanos	Yucatán	BUN	CVV CHLV	PRNT
			CAL	SORV	
Blitvich et al. 2012c	Caballos	José Ma. Morelos Q. Roo.	BUN	CVV CHLV	PRNT
		Panabá, Yuc.			
		Tizimín, Yuc.			
	Borregos	Mérida, Yuc.	CAL	SORV	
			BUN	CVV CHLV	
			CAL	SORV	

Donde: BUN= Bunyamwera; CAL= California; CVV= Virus Cache Valley; KRIV= Virus Kairi; CHLV= Virus Cholul; SOURV= Virus South River; PRNT= Prueba de neutralización por reducción en placas.

2.2.6 Diagnóstico

La detección de estos agentes puede ser de manera directa, a través del aislamiento viral y/o técnicas moleculares. De manera indirecta se detecta con pruebas serológicas, como la neutralización por reducción en placas (PRNT) o el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) (OIE, 2014).

Los virus pueden aislarse de conglomerados de mosquitos, muestras de sangre o de líquido cefalorraquídeo, en individuos virémicos; así como de cultivos en líneas

celulares (Concha-Bermejillo, 2003; Campbell et al. 2006; Horne y Vanlandingham, 2014).

Con respecto al diagnóstico molecular, en el caso de virus de ARN, la transcripción reversa seguida de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), desempeña un papel importante, debido a que es altamente sensible para la detección de pequeñas cantidades de ácidos nucleicos (OIE 2014). En el caso de los *Orthobunyavirus*, se han diseñado cebadores específicos que permiten distinguir entre los serogrupos Bunyamwera y California (Kuno et al. 1996; Moreli et al. 2001).

Las pruebas serológicas más empleada son las de neutralización, específicamente la neutralización por reducción en placas (PRNT, por sus siglas en inglés). Esta técnica es considerada como la ideal para la búsqueda de anticuerpos neutralizantes contra el serogrupo Bunyamwera (Meyers et al. 2015). Las pruebas de ELISA, fijación del complemento e inhibición de la hemoaglutinación, también han sido empleadas (Concha-Bermejillo, 2003). Es importante tener en cuenta que debido a que los integrantes de cada serogrupo son antigénicamente similares, se pueden obtener reacciones cruzadas, dificultando la especificidad en el diagnóstico serológico (Meyers et al. 2015).

2.3 Orden Chiroptera

Los quirópteros, conocidos comúnmente como murciélagos, representan el segundo orden de mamíferos más diverso, con más de 1,200 especies conocidas en todo el mundo (Racey, 2015). Su distribución es global con excepción de los polos. Independientemente de la negativa perspectiva pública que se tiene de ellos, son elementos críticos en los ecosistemas que habitan, debido a los diversos roles ecológicos con los que cumplen. Por ejemplo, las especies insectívoras funcionan como control biológico de plagas; mientras que las frugívoras colaboran con la dispersión de semillas y con la consecuente restauración de zonas perturbadas; y las especies que se alimentan de néctar, son de vital importancia para la polinización (Calisher et al. 2006).

En México se reportan 138 especies de murciélagos, de éstos 62 especies se han registrado en la Península de Yucatán y 37 en el Estado de Yucatán (MacSwiney et al. 2007; Medellín et al. 2008).

2.3.1 El murciélago vampiro común, *Desmodus rotundus*

Los murciélagos vampiros pertenecen a la familia Phyllostomidae, subfamilia Desmodontinae. Esta subfamilia está formada por tres especies de hábitos hematófagos, *Desmodus rotundus*, que se alimenta de sangre de mamíferos; y *Diaemus youngii* y *Diphylla ecaudata*, que consumen sangre de aves. Además de sus hábitos alimenticios, se distinguen de otras especies de murciélagos neotropicales por la naturaleza rudimentaria de su hoja nasal, la falta de cola y uropatagio reducido. Además, sus extremidades son robustas, bien desarrolladas y con los pulgares alargados (Mialhe, 2014; Wray et al. 2016).

La notable capacidad de estos murciélagos de alimentarse con sangre, indica un proceso evolutivo de sus glándulas salivales. En el que los genes fueron reclutados o desarrollados para producir péptidos y proteínas biológicamente activas que, al ser secretadas en la saliva, inhiben la formación de coágulos y disuelven los coágulos ya formados, manteniendo así el flujo de sangre en la herida, lo que le permite a los murciélagos beber su alimento (Badalà et al. 2008).

Desmodus rotundus, se distribuye desde México hasta el norte de Argentina, vive en colonias pequeñas de 10-200 individuos, que pueden compartir refugio con otras especies de quirópteros (Mayen, 2003). Físicamente, presenta un tamaño mediano (75-93 mm de longitud total). Su pelaje es suave y la coloración varía. En los juveniles el dorso va de gris pálido a gris oscuro, mientras que en los adultos la coloración de la espalda es parda-rojiza oscura y el vientre es de color blanco. Ésta especie posee tres cojinetes en sus pulgares, ojos grandes, orejas pequeñas y puntiagudas, labio inferior en forma de “V” e incisivos grandes a manera de navajas; que mantiene afilados al frotarlos contra los caninos inferiores (Medellín et al. 2008; Johnson et al. 2014).

Un murciélago vampiro bebe de 15 a 25 ml por ingesta y, en el caso de *D. rotundus*, tienen preferencia por los animales domésticos, en particular por los animales más grandes, como vacas, caballos y ovejas, debido a que tienden a permanecer en el mismo lugar, por varias noches (Johnson et al. 2014).

Por lo general, visitan un solo animal por noche, pero pueden beber sangre del mismo individuo por varias noches consecutivas, por lo que se dice que son leales a su presa. Como consecuencia de este comportamiento, y sumándole que una presa puede ser visitada por más de un individuo de *D. rotundus* por noche, se produce la pérdida de grandes volúmenes de sangre (Voigt y Kelm, 2006). Esto resulta en debilidad, pérdida de peso, disminución en la producción de leche, infecciones secundarias en la zona de la mordida y el riesgo de contraer rabia o algún otro patógeno presente en la saliva del murciélago (Anderson et al. 2014). Lee y colaboradores (2012), mencionan que el ataque frecuente de *D. rotundus* puede reducir la producción de leche (en una sola vaca) hasta por 260 litros por año y en el caso de la producción de carne (por individuo) hasta 39.7 kg por año, sin contar las pérdidas económicas asociadas a enfermedades relacionadas con *D. rotundus*.

2.3.2 Importancia de los murciélagos en la transmisión de enfermedades

Por muchas décadas, los científicos y el público han reconocido los importantes servicios ecosistémicos que los murciélagos proporcionan, generando así conciencia para su conservación. Sin embargo, la aparición de enfermedades altamente virulentas y la búsqueda de sus reservorios potenciales, generó un mayor interés en la investigación de los quirópteros, ya no solo como piezas clave para el mantenimiento de los ecosistemas, sino también para la transmisión de patógenos emergentes, de naturaleza zoonótica (Han et al. 2015).

Los primeros descubrimientos de virus en los murciélagos fueron realizados en su mayoría de manera incidental al estudiar la transmisión del virus de la rabia. De este modo, el primer virus aislado, sin contar los Rhabdovirus, en murciélagos (*Tadarida brasiliensis mexicana*) fue el virus de Rio Bravo. Actualmente se han aislado o

detectado alrededor de 200 virus, en 11 familias y 37 géneros de murciélagos (Calisher, 2015).

Los quirópteros han atravesado por un proceso de coevolución, de miles o incluso millones de años, con los patógenos que se encuentran presentes en ellos de manera natural; y cuyo ciclo biológico se mantenía enzoótico (Wibbelt et al. 2010). Sin embargo, las constantes perturbaciones antrópicas sobre los ecosistemas naturales, han modificado las interacciones ecológicas, entre los virus y sus hospederos naturales, generando un aumento en la transmisión de enfermedades, tanto al hombre como a animales domésticos, que antes carecían de oportunidad de acceder a ellos (Wong et al. 2007).

Las principales actividades humanas que conducen a la aparición de enfermedades zoonóticas, por virus de los murciélagos (por ejemplo Ébola, SARS-CoV, Nipah y Hendra), son: la expansión o intensificación agrícola y/o ganadera, la deforestación, la cacería, el comercio de animales silvestres y los viajes globales (Epstein y Field, 2015) .

Entre los atributos ecológicos que convierten a los murciélagos en reservorios competentes de diversos patógenos se encuentran: i) su capacidad de volar, lo que favorece la dispersión de patógenos; ii) algunas especies viven en grandes colonias con estrecho contacto entre individuos, lo cual, sumado a su comportamiento altamente sociable, aumenta la probabilidad de transmisión murciélago-murciélago de varios agentes infecciosos; iii) su longevidad, que facilita el mantenimiento de los patógenos; iv) su variable estructura poblacional ofrece oportunidades de mantener infecciones agudas y persistentes, generando brotes periódicos de infección; y v) algunas especies viven en cercanía de las personas e interactúan con el ganado u otros animales domésticos que son potenciales hospederos intermediarios para los patógenos (Kuzmin et al. 2011; Mackenzie y Jeggo, 2013; Han et al. 2015).

A pesar de que los murciélagos pueden ser reservorios de enfermedades potencialmente perjudiciales para el ser humano, son esenciales para el mantenimiento de los procesos ecológicos de las selvas y bosques alrededor del

mundo. Por lo que es importante determinar su papel en los ciclos naturales de transmisión de cualquier virus del que puedan estar infectados, antes de señalarlos como reservorios perjudiciales. Esto con el fin de evitar un control reduccionista en el manejo de las enfermedades infecciosas, de manera que los murciélagos no se conviertan simplemente en objeto de persecución y erradicación (Wibbelt et al. 2010).

3. HIPOTESIS

Existe la presencia de virus del género *Orthobunyavirus* en el murciélago hematófago, *D. rotundus*, y ganado bovino en Yucatán, México.

4. OBJETIVO GENERAL

Detectar la presencia de *Orthobunyavirus* en el murciélago hematófago, *Desmodus rotundus*, y bovinos en unidades de producción bovina de Yucatán, México.

4.1. Objetivos particulares

Detectar, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la presencia de *Orthobunyavirus* en tejidos (hígado, bazo y riñón), sangre y saliva de *D. rotundus*.

Detectar mediante PCR la presencia de *Orthobunyavirus* en suero de bovinos.

5. REFERENCIAS

- Anderson A, Shwiff S, Gebhardt K, Ramírez AJ, Shwiff S, Kohler D, Lecuona L. 2014. Economic Evaluation of Vampire Bat (*Desmodus rotundus*) Rabies Prevention in Mexico. *Transbound Emerg Dis* 61:140–146.
- Anderson C, Aitken T, Spence L, Downs W. 1960. Kairi virus, a new virus from Trinidadian forest mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 9:70–2.
- Andreadis TG, Armstrong PM, Anderson JF, Main AJ. 2014. Spatial-Temporal Analysis of Cache Valley Virus (Bunyaviridae: *Orthobunyavirus*) Infection in *Anopheline* and *Culicine* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Northeastern United States, 1997–2012. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 14:763–773.
- Badalà F, Nouri-mahdavi K, Raouf DA. 2008. The “Vampirome”: Transcriptome and proteome analysis of the principal and accessory submaxillary glands of the vampire bat *Desmodus rotundus*, a vector of human rabies. *J Proteomics* 144:724–732.
- Blitvich B, Saiyasombat R, Dorman K, Garcia-Rejon J, Farfan-Ale J, Loroño-Pino M. 2012a. Sequence and phylogenetic data indicate that an *Orthobunyavirus* recently detected in the Yucatan Peninsula of Mexico is a novel reassortant of Potosi and Cache Valley viruses. *Arch Virol* 157:1199–1204.
- Blitvich B, Saiyasombat R, Garcia-Rejon J, Farfan-Ale J, Machain-Williams C, Loroño-Pino M. 2012b. *Orthobunyavirus* Antibodies in Humans, Yucatan Peninsula, México. *Emerg Infect Dis* 18.
- Blitvich B, Saiyasombat R, Da Rosa A, Tesh R, Calisher C, Garcia-Rejon J, Farfán-Ale J, Loroño R, Bates A, Loroño-Pino M. 2012c. Orthobunyaviruses, a common cause of infection of livestock in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 87:1132–1139.
- Blitvich B, Staley M, Loroño-Pino M, García-Rejón J, Farfán-Ale J, Dorman K. 2012d. Identification of a novel subtype of South River virus (family Bunyaviridae). *Arch*

Virology 157:1205–1209.

Briese T, Calisher CH, Higgs S. 2013. Viruses of the family Bunyaviridae: Are all available isolates reassortants? *Virology* 446:207–216.

Calisher C. 1996. The Bunyaviridae. In: R. M. Elliott, editor. Springer US, Boston, MA. pp. 1–17.

Calisher C. 2015. Viruses in bats: A Historic Review. In: *Bats and Viruses*, L.-F. Wang and C. Cowled, editors. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ. pp. 23–46.

Calisher C, Childs JE, Field HE, Holmes K V, Schountz T. 2006. Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 19:531–545.

Campbell GL, Mataczynski JD, Reisdorf ES, Powell JW, Martin DA, Lambert AJ, Haupt TE, Davis JP, Lanciotti RS. 2006. Second human case of Cache Valley virus disease. *Emerg Infect Dis* 12:854–856.

Chung S, Livingston CW, Edwards JF, Crandell RW, Shope RE, Shelton MJ, Collisson EW. 1990. Evidence that Cache Valley virus induces congenital malformations in sheep. *Vet Microbiol* 21:297–307.

Coffey LL, Page BL, Greninger AL, Herring BL, Russell RC, Doggett SL, Haniotis J, Wang C, Deng X, Delwart EL. 2014. Enhanced arbovirus surveillance with deep sequencing: Identification of novel rhabdoviruses and bunyaviruses in Australian mosquitoes. Elsevier. *Virology* 448:146–158.

Concha-Bermejillo A. 2003. Cache Valley virus is a cause of fetal malformation and pregnancy loss in sheep. *Small Rumin Res* 49:1–9.

Dash AP, Bhatia R, Sunyoto T, Mourya DT. 2013. Emerging and re-emerging arboviral diseases in Southeast Asia. *J Vector Borne Dis* 50:77–84.

Doceul V, Lara E, Sailleau C, Belbis G, Richardson J, Bréard E, Viarouge C, Dominguez M, Hendrikx P, Calavas D, et al. 2013. Epidemiology, molecular

virology and diagnostics of Schmallenberg virus, an emerging orthobunyavirus in Europe. *Vet Res* 44:1–13.

Edwards JF, Higgs S, Beaty BJ. 1998. Mosquito Feeding-Induced Enhancement of Cache Valley Virus (Bunyaviridae) Infection in Mice. *J Med Entomol* 35:261 LP-265.

Elliott R. 2009. Bunyaviruses and climate change. *Clin Microbiol Infect* 15:510–517.

Epstein J, Field H. 2015. Anthropogenic Epidemics: The ecology of bat-borne viruses and our role in their emergence. In: *Bats and Viruses*, L.-F. Wang and C. Cowled, editors. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ. pp. 249–279.

Farfan-Ale J, Loroño-Pino M, Garcia-Rejon J, Hovav E, Powers A, Lin M, Dorman K, Platt K, Bartholomay L, Soto V, et al. 2009. Detection of RNA from a Novel West Nile-like Virus and High Prevalence of an Insect-specific Flavivirus in Mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 80:85–95.

Farfan-Ale J, Loroño-Pino M, Garcia-Rejon J, Soto V, Lin M, Staley M, Dorman K, Bartholomay L, Hovav E, Blitvich B. 2010. Detection of flaviviruses and orthobunyaviruses in mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico in 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10:777–83.

Fauci A, Morens D. 2016. Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat. *N Engl J Med* 374:601–603.

Fontana J, López-Montero N, Elliott RM, Fernández JJ, Risco C. 2008. The unique architecture of Bunyamwera virus factories around the Golgi complex. *Cell Microbiol* 10:2012–2028.

Franz AWE, Kantor AM, Passarelli AL, Clem RJ. 2015. Tissue barriers to arbovirus infection in mosquitoes. *Viruses* 7:3741–3767.

Gubler DJ. 2006. Human Arbovirus Infections Worldwide. *Ann N Y Acad Sci* 951:13–24.

- Han HJ, Wen H ling, Zhou CM, Chen FF, Luo LM, Liu J wei, Yu XJ. 2015. Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. Elsevier B.V. *Virus Res* 205:1–6.
- Holden P, Hess AD. 1959. Cache Valley virus, a previously undescribed mosquito-borne agent. *Science (80)* 130:1187–1188.
- Horne KME, Vanlandingham DL. 2014. Bunyavirus-vector interactions. *Viruses* 6:4373–4397.
- ICTV. 2016. Bunyavirales proposal. https://talk.ictvonline.org/files/ictv_official_taxonomy_updates_since_the_8th_report/m/animal-dsrna-and-ssrna--viruses/6647/download. Consultado en agosto de 2017.
- Johnson N, Aréchiga-Ceballos N, Aguilar-Setien A. 2014. Vampire bat rabies: Ecology, epidemiology and control. *Viruses* 6:1911–1928.
- Kuno G, Chang G-JJ. 2005. Biological Transmission of Arboviruses: Reexamination of and New Insights into Components, Mechanisms, and Unique Traits as Well as Their Evolutionary Trends. *Clin Microbiol Rev* 18:608–637.
- Kuno G, Mitchell CJ, Chang GJ, Smith GC. 1996. Detecting bunyaviruses of the Bunyamwera and California serogroups by a PCR technique . Updated information and services can be found at: These include: Detecting Bunyaviruses of the Bunyamwera and California Serogroups by a PCR Technique. *J Clin Microbiol* 34:1184–1188.
- Kuzmin I V, Bozick B, Guagliardo SA, Kunkel R, Shak JR, Tong S, Rupprecht CE. 2011. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats J* 4:1-49.
- Lambert AJ, Lanciotti RS. 2009. Consensus Amplification and Novel Multiplex Sequencing Method for S Segment Species Identification of 47 Viruses of the *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, and *Nairovirus* Genera of the Family

- Bunyaviridae. *J Clin Microbiol* 47:2398–2404.
- Lee DN, Papeş M, Van Den Bussche RA. 2012. Present and Potential Future Distribution of Common Vampire Bats in the Americas and the Associated Risk to Cattle. *PLoS One* 7:e42466.
- Mackenzie JS, Jeggo M. 2013. Reservoirs and vectors of emerging viruses. *Curr Opin Virol* 3:170–179.
- MacSwiney MC, Vilchis P, Clarke FM, Racey PA. 2007. The importance of cenotes in conserving bat assemblages in the Yucatan, Mexico. *Biol Conserv* 136:499–509.
- Maes P, Alkhovsky S V, Bào Y, Beer M, Birkhead M, Briese T, Buchmeier MJ, Calisher CH, Charrel RN, Choi IR, et al. 2018. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch Virol*:1–16.
- Mayen F. 2003. Haematophagous Bats in Brazil, Their Role in Rabies Transmission, Impact on Public Health, Livestock Industry and Alternatives to an Indiscriminate Reduction of Bat Population. *J Vet Med Ser B Infect Dis Vet Public Heal* 50:469–472.
- Medellín R, Arita H, Sánchez O. 2008. *Identificación de los murciélagos de México. Clave de campo*. 2ª edición. Instituto de Ecología, UNAM., México.
- Melaun C, Werblow A, Busch MW, Liston A, Klimpel S. 2014. Bats as Potential Reservoir Hosts for Vector-Borne Diseases. In: *Bats (Chiroptera) as Vectors of Diseases and Parasites*, S. Limpel and H. Mehlhorn, editors. Springer. Germany. pp. 25–61.
- Meyers MT, Bahnson CS, Hanlon M, Koprál C, Srisinlapudom S, Cochrane ZN, Sabas CE, Saiyasombat R, Burrough ER, Plummer PJ, et al. 2015. Management Factors Associated with Operation-Level Prevalence of Antibodies to Cache Valley Virus and Other Bunyamwera Serogroup Viruses in Sheep in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* 15:683–693.

- Mialhe PJ. 2014. Preferential prey selection by *Desmodus rotundus* (E. Geoffroy, 1810, Chiroptera, Phyllostomidae) feeding on domestic herbivores in the municipality of Sao Pedro. *Brazilian J Biol VO* - 74:579.
- Moreli ML, Aquino VH, Figueiredo LTM. 2001. Identification of Simbu, California and Bunyamwera serogroup bunyaviruses by nested RT-PCR. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95:108–113.
- Nguyen NL, Zhao G, Hull R, Shelly MA, Wong SJ, Wu G, George KS, Wang D, Menegus MA. 2013. Cache valley virus in a patient diagnosed with aseptic meningitis. *J Clin Microbiol* 51:1966–1969.
- OIE. 2014. Enfermedades bunyavirales en animales. <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>. Consultado en Mayo 2017.
- Racey PA. 2015. The uniqueness of bats. In: *Bats and Viruses*, L.-F. Wang and C. J. Cowled, editors. Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ. pp. 1–22.
- Salmier A, Tirera S, De Thoisy B, Franc A, Darcissac E, Donato D, Bouchier C, Lacoste V, Lavergne A. 2017. Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and *Molossus molossus*) in French Guiana. *PLoS One* 12:1–25.
- Savji N, Palacios G, da Rosa AT, Hutchison S, Celone C, Hui J, Briese T, Calisher CH, Tesh RB, Lipkin WI. 2011. Genomic and phylogenetic characterization of Leanyer virus, a novel orthobunyavirus isolated in northern Australia. *J Gen Virol* 92:1676–1687.
- Sexton D, Rollin P, Breitschwerdt E, Corey G, Myers S, Dumais M, Bowen M, Goldsmith C, Zaki S, Nichol S, et al. 1997. LIFE -THREATENING CACHE VALLEY VIRUS INFECTION. *N Engl J Med* 336:547–549.
- Sikes RS, Gannon WL. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *J Mammal* 92:235–253.
- Simmons N. 2005. Order Chiroptera, 3rd edition. In: *Mammal species of the world:*

a taxonomic and geographic reference, D. Wilson and D. Reeder, editors. Johns Hopkins University Press, EUA. pp. 312–529.

Soto V, Dorman KS, Miller WA, Farfan-Ale JA, Lorono-Pino MA, Garcia-Rejon JE, Blitvich BJ. 2009. Complete nucleotide sequences of the small and medium RNA genome segments of Kairi virus (family Bunyaviridae). *Arch Virol* 154:1555–1558.

Tauro LB, Almeida FL, Contigiani MS. 2009. First detection of human infection by Cache Valley and Kairi viruses (*Orthobunyavirus*) in Argentina. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 103:197–199.

Tauro LB, Batallan GP, Rivarola ME, Visintin A, Berrón CI, Sousa EC, Diaz LA, Almirón WR, Nunes MR, Contigiani MS. 2015. Detection of Orthobunyavirus in mosquitoes collected in Argentina. *Med Vet Entomol* 29:338–343.

Voigt CC, Kelm DH. 2006. Host preference of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*; Chiroptera) assessed by stable isotopes. *J Mammal* 87:1–6.

Walter CT, Barr JN. 2011. Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J Gen Virol* 92:2467–2484.

Wibbelt G, Moore MS, Schountz T, Voigt CC. 2010. Emerging diseases in Chiroptera: why bats? *Biol Lett*:rsbl20100267.

Wilder-Smith A, Gubler DJ, Weaver SC, Monath TP, Heymann DL, Scott TW. 2017. Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. *Lancet Infect Dis* 17:e101–e106.

Wong S, Lau S, Woo P, Yuen K. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Rev Med Virol* 17:67–91.

Wray AK, Olival KJ, Moran D, Lopez MR, Alvarez D, Navarrete-Macias I, Liang E, Simmons NB, Lipkin WI, Daszak P, et al. 2016. Viral Diversity, Prey Preference, and *Bartonella* Prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *Ecohealth*:1–14.

6. ARTÍCULO

Encabezado: López-Apodaca, et al. *Orthobunyavirus* in vampire bats and cattle from Mexico

IDENTIFICACIÓN DE *ORTHOBUNYAVIRUS* EN *DESMODUS ROTUNDUS* Y BOVINOS DE UNIDADES GANADERAS DE YUCATÁN, MÉXICO

López-Apodaca L¹, Hernández-Betancourt S³, Machain-Williams, C.²

1. Maestría en Ciencias Agropecuarias, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP, 97135 Mérida, Yucatán, México.
2. Laboratorio de Arbovirología, Centro de Investigaciones Regionales 'Dr. Hideyo Noguchi', Universidad Autónoma de Yucatán, calle 96e / Av. Jacinto Canek y 47, CP, 97225 Mérida, Yucatán, México.
3. Departamento de Zoología, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP, 97135 Mérida, Yucatán, México

Autor de correspondencia: Carlos Machain Williams. Dirección: Calle 96e / Av. Jacinto Canek y 47, CP, 97225 Mérida, Yucatán, México. Teléfono: 9245755 Ext.1260. Correo electrónico: carmachain@gmail.com

2028 palabras

[Artículo escrito bajo las políticas y lineamientos editoriales de la revista Journal of Wildlife Diseases]

IDENTIFICACIÓN DE *ORTHOBUNYAVIRUS* EN *DESMODUS ROTUNDUS* Y BOVINOS DE UNIDADES GANADERAS DE YUCATÁN, MÉXICO

López-Apodaca L¹, Hernández-Betancourt S³, Machain-Williams, C.^{2,4}

1. Maestría en Ciencias Agropecuarias, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP, 97135 Mérida, Yucatán, México.
2. Laboratorio de Arbovirología, Centro de Investigaciones Regionales 'Dr. Hideyo Noguchi', Universidad Autónoma de Yucatán, calle 96e / Av. Jacinto Canek y 47, CP, 97225 Mérida, Yucatán, México.
3. Departamento de Zoología, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, CP, 97135 Mérida, Yucatán, México
4. Autor de correspondencia (carmachain@gmail.com)

RESUMEN: Los *Orthobunyavirus* (familia Peribunyaviridae) son virus de ARN con cadena negativa y segmentada. Algunos de los cuales son patógenos de una amplia variedad de animales domésticos, silvestres y humanos. En animales productivos, como el ganado bovino y ovino se han observado signos nerviosos, malformaciones fetales y abortos. En Yucatán, existe el registro de algunos de estos virus (Cache Valley, Kairi y South River) en animales domésticos y de producción. El presente estudio se propone realizar la identificación de *Orthobunyavirus* en ganado bovino y, en la especie de murciélago hematófago, *Desmodus rotundus*. Esto con la finalidad de detectar la circulación de virus con potencial zoonótico y de potencial importancia para la producción ganadera. Se realizaron muestreos en distintas unidades de producción y se prepararon conglomerados con las muestras obtenidas para realizar la detección molecular. Un conglomerado de *D. rotundus* y otro de bovinos resultaron positivos tanto al serogrupo California, como a Bwamba. Este es el primer registro que se tiene de estos virus en la especie *Desmodus rotundus* y en ganado bovino en México. La información aquí presente enriquece la información ya existente acerca de estos virus y reitera su presencia en el estado de Yucatán y México.

Palabras clave: Arbovirus, ganado bovino, murciélago vampiro común, *Orthobunyavirus*, Yucatán, México

INTRODUCCIÓN

El género *Orthobunyavirus* (familia Peribunyaviridae, orden Bunyaviral), alberga una gran cantidad de virus que afectan humanos, animales silvestres y animales de producción. El genoma viral se caracteriza por ser una cadena tripartita de ARN con sentido negativo. Presentan una distribución global y son transmitidos por artrópodos hematófagos, principalmente mosquitos. (Calisher, 1996; Elliott, 2009).

Los *Orthobunyavirus* tienen la capacidad de evolucionar rápidamente mediante el reordenamiento de sus genomas segmentados, dando como resultado la aparición de especies virales no reconocidas (Horne y Vanlandingham, 2014). Lo importante de este reordenamiento es que se pueden producir cambios fenotípicos radicales, que pudieran tener como resultado virus altamente patógenos e infecciosos; así como cambios en cuanto al tipo de hospedero o vector (Briese et al. 2013).

De manera experimental, se ha observado que algunos *Orthobunyavirus* producen fiebre, depresión, desorientación y signos de daño al sistema nervioso central en bovinos adultos, mientras que las infecciones en hembras gestantes han resultado en malformaciones del producto y abortos (Edwards et al. 1998; Concha-Bermejillo, 2003). En seres humanos se han reportado casos de encefalitis severas, así como la presencia de anticuerpos neutralizantes contra estos agentes, por lo que son considerados zoonóticos (Campbell et al. 2006; Blitvich et al. 2012c).

En la Península de Yucatán, México, ha sido documentada la presencia de *Orthobunyavirus* (serogrupo Bunyamwera y California), en animales de producción, caballos, mosquitos y seres humanos (Farfán-Ale et al. 2009; Farfán-Ale et al. 2010; Blitvich et al. 2012c; Blitvich et al. 2012b), por lo que su vigilancia es importante para evitar pérdidas económicas para los productores de ganado, así como también problemas de salud pública.

Los murciélagos, además de ser importantes por los servicios ecosistémicos que desempeñan, también lo son por su papel como reservorios naturales de una gran variedad de virus (Han et al. 2015; Machain-Williams et al. 2013). Características como su longevidad, la habilidad de volar, sus hábitos alimentarios y su alta

sociabilidad entre otras, favorecen la transmisión y mantenimiento de agentes patógenos (Calisher et al. 2006; Wong et al. 2007; Allocati et al. 2016). Algunos de los virus más importantes y que pueden infectar tanto a animales domésticos, como a humanos e insectos hematófagos, pertenecen a las familias Togaviridae (género *Alphavirus*), Flaviviridae (género *Flavivirus*), Bunyaviridae (género *Orthobunyavirus* y *Phlebovirus*) y Arenaviridae (género *Arenavirus*) (Melaun et al. 2014).

El murciélago hematófago, *Desmodus rotundus*, representa un vínculo importante entre ganado, humanos y otras especies de murciélagos, siendo así una pieza clave en la transmisión de enfermedades (Lee et al. 2012; Anderson et al. 2014). Debido a la interacción que existe entre los murciélagos de la especie *Desmodus rotundus* con el ganado bovino, y tomando en cuenta la evidencia antes mencionada de la presencia de virus del género *Orthobunyavirus*, el presente estudio tiene como objetivo identificar la presencia de estos virus en bovinos y *Desmodus rotundus* de unidades ganaderas de Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de los sitios de estudio

El estudio se realizó en siete unidades de producción bovina del estado de Yucatán. Dichas unidades fueron seleccionadas, por conveniencia, de modo que cumplieran con los siguientes criterios: que contaran con corral de manejo, un máximo de 50 cabezas de ganado, que presentaran reportes de ataque de *D. rotundus* de manera frecuente y que no hubieran recibido algún tratamiento previo para combatir dichos ataques.

El clima y la topografía de los sitios de estudio son similares. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, una temperatura promedio anual de 27°C, precipitación pluvial anual promedio en cada sitio de estudio varía de 430 a 1,100 mm. La vegetación que predomina en los sitios es de selva baja caducifolia, principalmente arbustos y matorrales espinosos; con excepción del sitio ubicado en Peto, cuya vegetación está compuesta por zonas de selva alta subperennifolia con

vegetación secundaria y otras con selva mediana subcaducifolia (SEFOE, 2017). La ubicación geográfica de los sitios de estudio se encuentra en la figura 1.

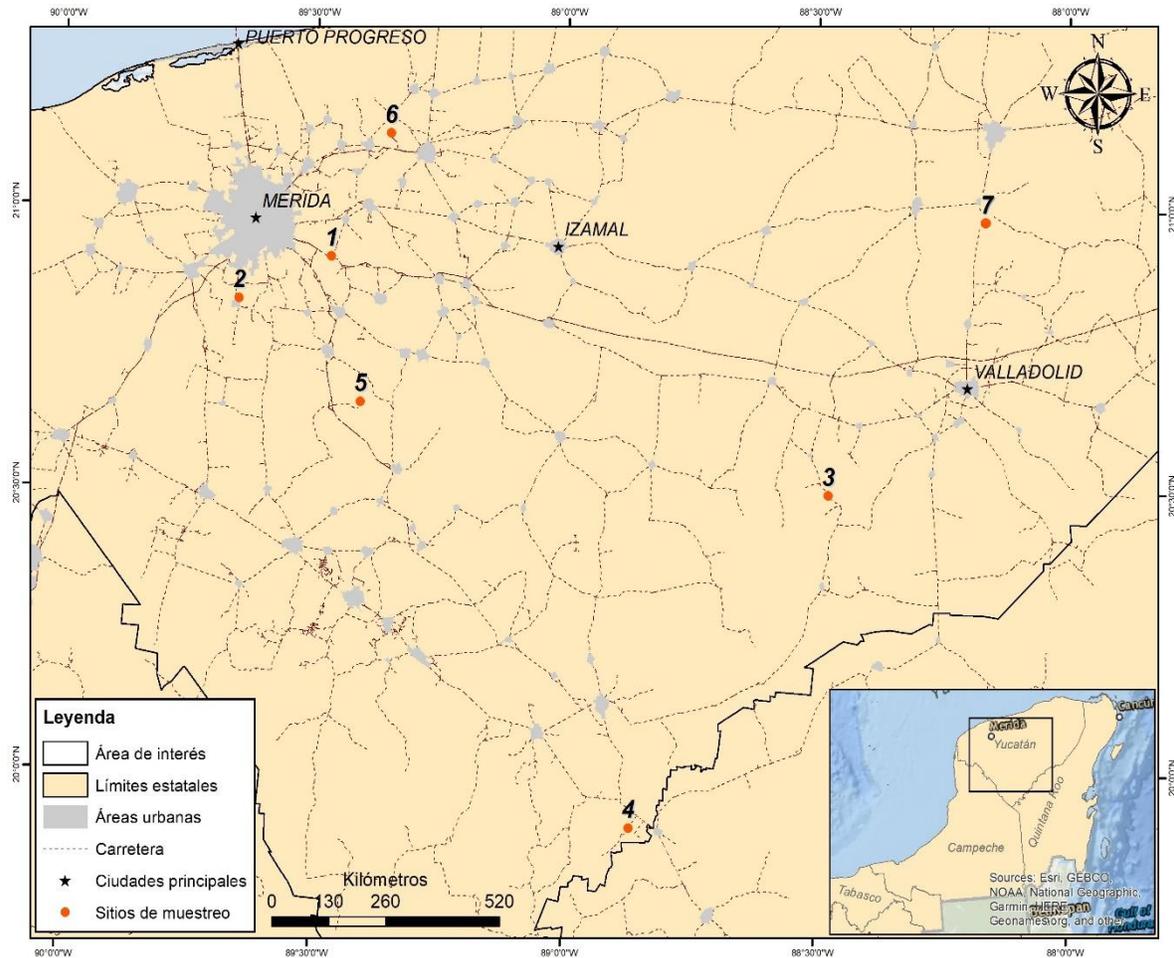


Figura 1. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo de bovinos y captura de *Desmodus rotundus* para la identificación de *Orthobunyavirus*. Donde: 1= Hubilá, municipio de Tixcocob; 2= Dzununcan, municipio de Mérida; 3= Xanlah, municipio de Chankom; 4= Peto, municipio de Peto; 5= Pixyah, municipio de Tecoh; 6= Hilí; municipio de Motul y 7= Calotmul; municipio de Calotmul.

Captura y toma de muestras de *Desmodus rotundus*

Cada sitio se muestreó, evitando los días de luna llena, comenzando en abril y finalizando en diciembre de 2017. Las visitas realizadas a cada unidad de producción dependieron del número de individuos colectados, permaneciendo una sola noche en sitios con actividad nula y hasta tres en aquellos con mayor actividad. Se emplearon cuatro redes de niebla de 6 m de largo x 2.6 m de alto y dos de 12 m de largo x 2.6 m de alto. Las redes se colocaron alrededor del corral de manejo, donde previamente se había introducido al ganado, y se abrieron al anochecer durante 4 horas, revisándose cada 30 minutos o dependiendo de la actividad que cada una de ellas presentaba. Los murciélagos fueron removidos de la red con ayuda de guantes de carnaza y depositados en sacos de tela. Una vez colectados, cada individuo fue identificado por medio de claves especializadas (Medellín et al. 2008), los individuos de *D. rotundus* gestantes o lactando, así como cualquier otra especie distinta a ésta no fueron incluidos en el estudio debido a cuestiones éticas.

Para facilitar el manejo de los murciélagos, éstos fueron anestesiados con pentobarbital (0.2 cc/ml volumen total) (Cabrera-Romo et al. 2016). Se colectaron muestras de saliva con una micropipeta de 20µl y la muestra de sangre se obtuvo por punción intracardiaca. Para la contención de las muestras se emplearon tubos de microcentrífuga de 1.5ml. Los individuos fueron sacrificados siguiendo las Normas de la Sociedad Americana de Mastozoología para el Uso de Animales Silvestres en la Investigación (Sikes y Gannon, 2011). Tanto las muestras como los especímenes fueron mantenidos y trasladados, en cadena fría, al Laboratorio de Arbovirología del Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi, y conservadas a -80°C hasta ser procesadas. Se realizó una necropsia a cada espécimen y se colectaron riñones hígado y bazo. Cada órgano fue depositado en tubos de microcentrífuga de 1.5ml y congelados a -80°C hasta su procesamiento.

La toma de muestras, como la colecta de los individuos se llevó a cabo con el permiso de colecta SGPA/DGVS/12598/15; así como con la autorización del Comité de Bioética del Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CB-CCBA-I-2017-006).

Muestreo de bovinos

Debido al manejo de los animales y por razones comerciales, los bovinos de cada sitio fueron muestreados una sola vez. El ganado fue colocado en la manga de manejo de las unidades de producción y se identificó a los individuos de acuerdo al número de registro o, en ausencia de éste, por las marcas hechas por los productores. Los animales fueron inspeccionados en busca de heridas producidas por mordidas de murciélago y posteriormente se tomó la muestra de sangre de la vena coccígea con vacutainer y tubos estériles para suero (tapón rojo), ésta se conservó en refrigeración, hasta su centrifugación para la obtención de suero y posteriormente ser conservado a -80°C hasta que fue analizado.

Extracción de ARN viral

Las muestras fueron agrupadas en conglomerados, de acuerdo al tipo de muestra, especie y sitio. En el caso de los tejidos de *D. rotundus* colectados, éstos fueron macerados de manera individual con medio de cultivo celular L-15 y centrifugados a 5000 rpm, utilizando el sobrenadante obtenido para realizar los conglomerados. La extracción de ARN se realizó de acuerdo con las instrucciones del producto comercial Trizol® y conservado a -80°C.

Identificación viral por RT-PCR

A partir del ARN de los conglomerados, se realizó la transcripción reversa. Se incubaron 9.5µl de ARN con 0.5 µl de hexámeros (20µg) a 70°C por cinco minutos y posteriormente a 4°C durante cinco minutos. Una vez realizado esto, se colocaron 10µl de la mezcla de reacción, cuyas especificaciones se encuentran en el cuadro 1 y se aplicaron las condiciones sugeridas por el fabricante.

Los cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa, específicos para los serogrupos California, Bwamba y Bunyamwera, se encuentran descritos en el cuadro 2. Los protocolos empleados fueron los descritos por Kuno y colaboradores (1996), así como Lambert y Lanciotti (2009). Los resultados fueron visualizados a través de la electroforesis del producto de PCR resultante en un gel de agarosa al 2%.

Cuadro 1. Mezclas de reacción empleadas para el diagnóstico molecular de *Orthobunyavirus* en unidades ganaderas de Yucatán, México.

	Cantidad (μ l)	Reactivo	Concentración	Fabricante
Transcripción reversa	4	Buffer de reacción 5X	5X	Promega
	2	MgCl ₂	25mM	Promega
	1	dNTPs	10 μ M	Promega
	1	RT	20U	Promega
	2	Agua libre de nucleasas	-	Promega
Reacción en cadena de la polimerasa	2.5	Buffer de reacción 5X	5X	Promega
	2	MgCl ₂	25mM	Promega
	0.2	dNTPs	10 μ M	Promega
	0.5	Primer Forward	10 μ M	Promega
	0.5	Primer Reverse	10 μ M	Promega
	0.15	Polimerasa Taq	5U	Promega
	16.65	Agua libre de nucleasas	-	Promega

Cuadro 2. Cebadores específicos para los serogrupos Bunyamwera, California y Bwamba empleados para el diagnóstico molecular de *Orthobunyavirus* en unidades ganaderas de Yucatán, México.

Nombre	Secuencia	Tamaño (pb)	Referencia
BCS82C	ATGACTGAGTTGGAGTTTCATGATGTTCGC	251	Kuno et al. 1996
BCS332V	TGTTCCCTGTTGCCAGGAAAAT	S	
Cal/Bwa Fw	GCAAATGGATTTGATCCTGATGCAG	210	Lambert y Lanciotti 2009
Cal/Bwa Rv	TTGTTCCCTGTTTGCTGGAAAATGAT	SN	
Bun Fw	CTGCTAACACCAGCAGTACTTTTGAC	250	Lambert y Lanciotti 2009
Bun Rv	TGGAGGGTAAGACCATCGTCAGGAACTG	SN	

Pb= Pares de bases; Cal/Bwa= California/Bwamba; Bun= Bunyamwera; Fw= Sentido 5'-3'; Rv= Sentido 3'-5'; S= Segmento pequeño de ARN; SN= Segmento pequeño de ARN, lugar de codificación de la proteína N.

RESULTADOS

Desmodus rotundus

Se colectaron un total de 38 individuos, 17 hembras y 21 machos, de los cuales el 6.8% fueron juveniles y el 63.1% adultos (Cuadro 3). El sitio con mayor número de capturas fue Xanlah (57.8%); mientras que no se obtuvo captura alguna en el sitio de Dzununcan. Con respecto a la detección de *Orthobunyavirus*, se analizaron un total de 30 conglomerados (Cuadro 3) con los cebadores y protocolos antes mencionados. Ninguno de los conglomerados resultó positivo al serogrupo Bunyamwera; mientras que el conglomerado de hígado perteneciente al sitio 4 (Peto) resultó positivo a los serogrupos California/Bwamba.

Cuadro 3. *Desmodus rotundus* capturados y número de conglomerados analizados para la detección de *Orthobunyavirus* en unidades ganaderas de Yucatán, México.

Sitio	Capturas			No. de conglomerados*					
	♀	♂	Total	S	Sa	H	R	B	Total
Hubilá	2	1	3	1	1	1	1	1	5
Xanlah	9	14	23	2	2	1	1	1	10
Peto	1	1	2	1	1	1(+)	1	1	5
Pixyah	3	2	5	1	1	1	1	1	5
Hilí	2	3	5	1	1	1	1	1	5
Total	17	21	38	Total					30

* S: sangre; Sa: saliva; H: hígado; R: riñón y B: Bazo

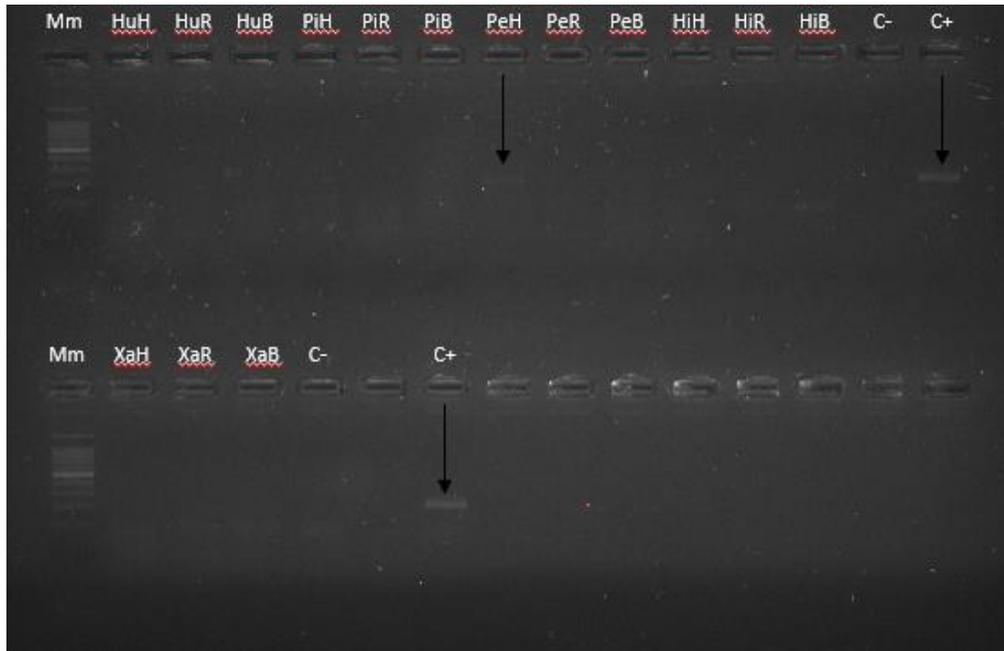


Figura 2. Gel de agarosa al 2% de los productos de PCR obtenidos de los conglomerados de tejido de *Desmodus rotundus*. Donde Mm= Marcador de peso molecular (100pb). Primeras dos letras corresponden al sitio: Hu= Hubilá; Pi= Pixyah; Pe= Peto; Hi= Hilí. Última letra en mayúscula se refiere al tipo de tejido: Hígado, Riñón o Bazo. C-= Control negativo y C+: Control positivo.

Bovinos

Se muestrearon un total de 82 individuos, siendo el 90.2% hembras (Cuadro 4). Los sitios de Hilí y Peto no fueron muestreados, debido a que los propietarios se reusaron.

De los 6 conglomerados de suero analizados para la detección de *Orthobunyavirus*, uno de los dos pertenecientes al sitio 7 (Calotmul) resultó positivo a los serogrupos California/Bwamba (Figura 3); ninguno fue positivo al serogrupo Bunyamwera.

Cuadro 2. Número de Bovinos muestreados y conglomerados analizados para la detección de *Orthobunyavirus*

Sitios						
	Hubilá	Dzununcan	Xanlah	Pixyah	Calotmul	Total
♀	17	10	14	8	25	74
♂	5	0	2	1	0	8
Total	22	10	16	9	25	82
Conglomerados						Total
	1	1	1	1	2	6



Figura 3. Gel de agarosa al 2% con los productos de PCR obtenidos de los conglomerados de suero de bovino. Donde Mm= Marcador de peso molecular (100pb); Hu= Hubilá; Pi= Pixyah; Pe= Peto; Hi= Hilí; C-= Control negativo y C+= Control positivo.

DISCUSIÓN

El presente trabajo provee de evidencia molecular de *Orthobunyavirus* en ganado bovino, y murciélagos de la especie *Desmodus rotundus* en ranchos del municipio de Calotmul y Peto respectivamente; siendo este el primer registro en ambas especies. Sin embargo, debido a que los cebadores empleados solo indican, en este caso, dos posibles serogrupos (California o Bwamba), la identidad del virus detectado es desconocida por el momento.

La única variante identificada hasta ahora perteneciente al serogrupo California en Yucatán es el virus de South River, el cual fue aislado de mosquitos de la especie

Ochlerotatus (Aedes) taeniorhynchus; así mismo ha sido reportada seroprevalencia de este mismo virus en seres humanos, ovejas y caballos (Cuadro 1) (Farfán-Ale et al. 2009; Farfán-Ale et al. 2010; Blitvich et al. 2012b; Blitvich et al. 2012c).

La presencia de estos patógenos en *D. rotundus* puede ser resultado de la transmisión natural a través de mosquitos infectados, sin embargo, es necesario tomar en cuenta los hábitos hematófagos de esta especie. En un estudio realizado por Salmier y colaboradores (2017), acerca de la diversidad viral de dos especies de murciélagos, se menciona que la mayoría de las familias virales encontradas, son un reflejo de los hábitos alimentarios de las especies estudiadas. Por lo que la hematofagia del *D. rotundus* lo podría hacer susceptible a agentes patógenos presentes en sus presas. El estudio acerca de esta especie es imperante, ya que representa una interfaz entre el ganado, los seres humanos y otras especies de murciélagos y animales silvestres; además de poseer hábitos sociales únicos, como el compartir su alimento con otros miembros de su colonia. Convirtiéndose así en una pieza clave para la transmisión de enfermedades infecciosas (Wray et al. 2016).

Debido a que se trata de arbovirus, conocer la diversidad de mosquitos y detección viral en éstos se hace necesario para comprender bien la circulación de estos agentes patógenos. De igual modo, habría que considerar otros posibles vectores tales como ectoparásitos presentes tanto en ganado bovino y *D. rotundus*. Esto tomando en cuenta la naturaleza evolutiva de estos virus y al descubrimiento de un nuevo *Orthobunyavirus* en la especie de ectoparásito *Eucampsipoda africana*, procedentes de murciélagos fruteros egipcios (*Rousettus aegyptiacus*) en Sudáfrica (Van Vuren et al. 2018).

La presencia de *Orthobunyavirus*, en mosquitos, seres humanos, animales domésticos y silvestres (*D. rotundus*), sugiere la circulación de estos virus en Yucatán. Considerando esto, y el hecho de que la emergencia de zoonosis ocurre usualmente debido a actividades humanas, que alteran el ambiente (urbanización, deforestación, expansión agrícola y ganadera, etc.) y favorecen el contacto con animales silvestres y sus agentes patógenos (Epstein y Field, 2015), se hace evidente la importancia de continuar investigando acerca de estos arbovirus, sus

posibles reservorios y vectores; ya que éste género, así como algunos otros contenidos en el orden Bunyvirales, continuarán siendo agentes de importancia para la salud pública debido no solo a su rápida evolución, sino también a su continua emergencia en los últimos años (Lambert y Lanciotti, 2009) .

CONCLUSIÓN

Los resultados presentados en este trabajo enriquecen la información ya existente acerca de los *Orthobunyavirus*. Ya que indican la presencia de éstos en murciélagos hematófagos y bovinos de Yucatán. De igual modo, reiteran la circulación de estos virus en el Estado.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto “Aplicación de metagenómica en la vigilancia y detección de arbovirosis con potencial emergente y reemergente en comunidades vulnerables de alto riesgo” financiado por CONACYT-Problemas Nacionales 2014-247005.

LITERATURA CITADA

- Allocati N, Petrucci AG, Di Giovanni P, Masulli M, Di Ilio C, De Laurenzi V. 2016. Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. *Cell Death Discov* 2:16048.
- Anderson A, Shwiff S, Gebhardt K, Ramírez AJ, Shwiff S, Kohler D, Lecuona L. 2014. Economic evaluation of vampire bat (*Desmodus rotundus*) rabies prevention in Mexico. *Transbound Emerg Dis* 61:140–146.
- Blitvich B, Saiyasombat R, Garcia-Rejon J, Farfan-Ale J, Machain-Williams C, Loroño-Pino M. 2012a. Orthobunyavirus Antibodies in Humans, Yucatan Peninsula, México. *Emerg Infect Dis* 18.
- Blitvich B, Saiyasombat R, Da Rosa A, Tesh R, Calisher C, Garcia-Rejon J, Farfán-Ale J, Loroño R, Bates A, Loroño-Pino M. 2012b. Orthobunyaviruses, a common cause of infection of livestock in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 87:1132–1139.
- Briese T, Calisher CH, Higgs S. 2013. Viruses of the family Bunyaviridae: Are all available isolates reassortants? *Virology* 446:207–216.
- Cabrera-Romo S, Max Ramirez C, Recio-Tótoro B, Tolentino-Chi J, Lanz H, del Ángel RM, Sánchez-Cordero V, Rodríguez-Moreno, Ludert JE. 2016. No Evidence of Dengue Virus Infections in Several Species of Bats Captured in Central and Southern Mexico. *Zoonoses Public Health* 63:579–583.
- Calisher C, Childs JE, Field HE, Holmes K V, Schountz T. 2006. Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin Microbiol Rev* 19:531–545.
- Campbell GL, Mataczynski JD, Reisdorf ES, Powell JW, Martin DA, Lambert AJ, Haupt TE, Davis JP, Lanciotti RS. 2006. Second human case of Cache Valley virus disease. *Emerg Infect Dis* 12:854–856.

- Concha-Bermejillo A. 2003. Cache Valley virus is a cause of fetal malformation and pregnancy loss in sheep. *Small Rumin Res* 49:1–9.
- Edwards JF, Higgs S, Beaty BJ. 1998. Mosquito Feeding-Induced Enhancement of Cache Valley Virus (Bunyaviridae) Infection in Mice. *J Med Entomol* 35:261–265.
- Epstein J, Field H. 2015. Anthropogenic Epidemics: The ecology of bat-borne viruses and our role in their emergence. In: *Bats and Viruses*, Wang L, Cowled C, editors. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. pp. 249–279.
- Farfan-Ale J, Loroño-Pino M, Garcia-Rejon J, Hovav E, Powers A, Lin M, Dorman K, Platt K, Bartholomay L, Soto V, et al. 2009. Detection of RNA from a Novel West Nile-like Virus and High Prevalence of an Insect-specific Flavivirus in Mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 80:85–95.
- Farfan-Ale J, Loroño-Pino M, Garcia-Rejon J, Soto V, Lin M, Staley M, Dorman K, Bartholomay L, Hovav E, Blitvich B. 2010. Detection of flaviviruses and orthobunyaviruses in mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico in 2008. *Vector Borne Zoonotic Dis* 10:777–83.
- Han HJ, Wen H ling, Zhou CM, Chen FF, Luo LM, Liu J wei, Yu XJ. 2015. Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Res* 205:1–6.
- Horne KME, Vanlandingham DL. 2014. Bunyavirus-vector interactions. *Viruses* 6:4373–4397.
- Kuno G, Mitchell CJ, Chang GJ, Smith GC. 1996. Detecting bunyaviruses of the Bunyamwera and California serogroups by a PCR technique. *J Clin Microbiol* 34:1184–1188.
- Lambert AJ, Lanciotti RS. 2009. Consensus amplification and novel multiplex sequencing method for S segment species identification of 47 Viruses of the

Orthobunyavirus, *Phlebovirus*, and *Nairovirus* genera of the family bunyaviridae. *J Clin Microbiol* 47:2398–2404.

Lee DN, Papeş M, Van Den Bussche RA. 2012. Present and potential future distribution of common vampire bats in the Americas and the associated risk to cattle. *PLoS One* 7:e42466.

Medellin R, Arita H, Sánchez O. 2008. *Identificación de los Murciélagos de México. Clave de Campo*. Instituto de Ecología, UNAM, Mexico, D. F.

Melaun C, Werblow A, Busch MW, Liston A, Klimpel S. 2014. Bats as Potential Reservoir Hosts for Vector-Borne DiseasesSpringer. In: *Bats (Chiroptera) as Vectors of Diseases and Parasites*, Limpel S, Mehlhorn H, editors, Germany, pp. 25–61.

Salmier A, Tirera S, De Thoisy B, Franc A, Darcissac E, Donato D, Bouchier C, Lacoste V, Lavergne A. 2017. Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and *Molossus molossus*) in French Guiana. *PLoS One* 12:1–25.

Sikes RS, Gannon WL. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *J Mammal* 92:235–253.

Van Vuren PJ, Wiley MR, Palacios G, Storm N, Markotter W, Birkhead M, Kemp A, Paweska JT. 2018. Isolation of a novel orthobunyavirus from bat flies (*Eucampsipoda africana*). *J Gen Virol* 98:935–945.

Wong S, Lau S, Woo P, Yuen K. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Rev Med Virol* 17:67–91.

Wray AK, Olival KJ, Moran D, Lopez MR, Alvarez D, Navarrete-Macias I, Liang E, Simmons NB, Lipkin WI, Daszak P, et al. 2016. Viral diversity, prey preference, and *bartonella* prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *Ecohealth*:1–14.