



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SEROPREVALENCIA, DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y CO-EXPOSICIÓN DE SEROVARIEDADES DE *Leptospira* spp. EN REBAÑOS CAPRINOS PERTENECIENTES A GRUPOS GANADEROS DE VALIDACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA DEL ESTADO DE GUANAJUATO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

FERNANDA GAYTÁN CAMARILLO

Asesores:

M. en C. Enrique Herrera López

Dr. Oscar Rico Chávez



Ciudad Universitaria, Cd.Mx.

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

“A mis padres

A mi hermana, mi modelo a seguir.”

A Tina, Nico, Dali, Panderero, Luna, Gonzalito, mis tortus y todos los animales que he conocido a lo largo de mi vida y mi carrera profesional, que son mi motor y la razón de mi pasión por las ciencias veterinarias.

Al Doctor Carlos Galina, mi más grande maestro y mi querido jefe.”

Agradecimientos

A mi padre Mario Gaytán Valle le agradezco que me enseñara constancia, fortaleza y resiliencia para realizar todo lo que me proponga. A mi madre María de Lourdes Camarillo Carmona le agradezco que siempre haya sido un ejemplo de paciencia y de amor por lo que haces, sin importar los obstáculos que haya. A mi Mani, que siempre ha estado ahí para levantarme cuando siento que ya no puedo, que limpió mis lágrimas y que siempre tuvo un comentario cómico para hacerme salir adelante. A Pimpi, por ser parte de mi corazón, por ayudarnos a formar el trio de hermanas perfecto, ¡Three Muskeeters!

Agradezco a mi Facultad, porque me brindó las herramientas para abrirme paso en un mundo de posibilidades profesionales.

A mis asesores Enrique Herrera López y Oscar Rico Chávez, gracias por enseñarme y guiarme por el camino correcto, y permitirme combinar dos ramas de estudio, demostrando que es posible trabajar juntos.

Al CENID- Microbiología, por abrirme las puertas para hacer mi servicio social y mi tesis en sus instalaciones y con sus recursos. De igual manera al Laboratorio de Ecología de Enfermedades por permitirme ser parte del grupo y perder el miedo a recibir comentarios sobre mi trabajo.

A mis niñas Deyra y Tania, que desde la preparatoria han estado a mi lado, en momentos buenos y malos, oyendo mis anécdotas y dándome los mejores consejos. A Capo, Vic, Tona y Teu, que son el ejemplo de caballero que toda niña necesita tener cerca, siempre cerca para consolarme y darme buenos consejos. Y a mi amigo Luis Cortés, por un diagnóstico oportuno de apendicitis, sin el cual no sé si estaría aquí.

A mis amigos de la facultad, que caminaron a mi lado en esta increíble aventura que es la universidad: Fer, Alan, Marcos, Juanito, Erick, Missael y Yabat gracias por ser la fuente de risas y momentos increíbles, sin sus ocurrencias la carrera no habría sido tan alegre; Frida, Jessy, Lilie, Sara y Selene, gracias por escucharme, por aceptar mi amistad y aceptarme como soy, sin filtros. A todos ustedes gracias por las experiencias buenas y malas, porque sin ellas no sería la persona que soy ahorita.

Alejandro Antonio Jiménez Ávila, gracias por llegar justo cuando debías y por enseñarme con el ejemplo a ser fuerte e independiente, como pareja y como profesionista, y gracias por estar a mi lado apoyándome en esta etapa.

-You see things as they are and ask, "Why?". I dream things as they never were and ask, "Why not?"
George Bernard Shaw.

Apoyo financiero

Este estudio fue parcialmente financiado por la Fundación Guanajuato Produce A.C., a través del proyecto **FGP636-15 “Establecimiento de una estrategia integral para la prevención y control de las principales enfermedades que afectan a caprinos en el Estado de Guanajuato”**.

CONTENIDO

.....	I
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Caprinocultura en México	2
Caprinocultura en el Estado de Guanajuato	3
Enfermedades reproductivas de caprinos	5
Leptospirosis	6
Leptospirosis caprina	8
• Signos.....	9
• Transmisión	9
• Patogenia.....	10
• Diagnóstico	12
Zoonosis: Salud animal y Salud Pública	14
Epidemiología espacial.....	14
Co-exposición	16
JUSTIFICACIÓN.....	17
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	18
Objetivo general	18
Objetivos específicos	18
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
Sitio de estudio.....	19

Muestreo	21
Toma de muestras serológicas.....	22
Prueba de aglutinación microscópica (MAT).....	23
Análisis estadístico.....	24
RESULTADOS	28
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSION	43
RECOMENDACIONES	44
REFERENCIAS	45
ANEXOS.....	50
ANEXO 1: Mantenimiento del cepario de <i>Leptospira</i> spp. y prueba de aglutinación microscópica (MAT).....	50
ANEXO 2. Bitácora muestras obtenidas por GGAVATT.....	52

RESUMEN

GAYTÁN CAMARILLO FERNANDA. Seroprevalencia, distribución geográfica y co-exposición de serovariedades de *Leptospira* spp. en rebaños caprinos pertenecientes a Grupos Ganaderos de Validación y Transferencia de Tecnología del Estado de Guanajuato. (bajo la dirección de: M. en C. Enrique Herrera López y Dr. Oscar Rico Chávez.)

Evaluar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* spp. en unidades de producción caprina es de gran importancia para determinar la exposición de los animales al agente y así establecer estrategias de prevención y control a la enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la seroprevalencia de serovariedades de *Leptospira* spp. en caprinos del Estado de Guanajuato y evaluar los patrones de distribución geográfica y co-exposición. Se realizó un muestreo serológico en 365 unidades de producción distribuidos en 22 municipios. Se analizaron 1,640 muestras mediante la prueba de aglutinación microscópica, utilizando 6 serovariedades de *Leptospira* spp., 3 de referencia (Wolffi, Hardjo, Tarassovi) y 3 aislamientos nacionales (Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Canicola). Se obtuvo una prevalencia total de 45.5% (765/1640), la prevalencia de Icterohaemorrhagiae fue la más alta, con 34.16% (589/1640), seguida de Hardjo con 6.77% (164/1640); el resto fue menor a 5%. Se observó una agrupación espacial global para Icterohaemorrhagiae ($I > 0$) y agrupaciones locales para 5 serovariedades ($I > 0$). Se detectaron co-exposiciones negativas entre la serovariedad Icterohaemorrhagiae con títulos altos y el resto de las serovariedades. La seroprevalencia de leptospirosis en Guanajuato puede explicarse por patrones de agrupación y por asociaciones negativas entre Icterohaemorrhagiae y el resto de las serovariedades. La aplicación de análisis espaciales y ecológicos en conjunto con la vigilancia serológica demostraron ser útiles para generar información necesaria para la formulación de estrategias de control y prevención de leptospirosis en el Estado de Guanajuato.

INTRODUCCIÓN

Caprinocultura en México

La población mundial de caprinos al 2016 fue de 1,151 millones de cabezas, de los cuales la mayoría se concentra en países asiáticos y africanos, por ejemplo, China, India, Nigeria, Paquistán y Bangladesh son los primeros 5 países con mayor población de caprinos. México ocupa el lugar 23° a nivel mundial y el 2° de América detrás de Brasil en número de caprinos de acuerdo a los datos reportados por la FAO (2018), con un inventario de 8,755,204 caprinos (SIAP, 2016a).

La importancia del ganado caprino en México, además del gran inventario con el que se cuenta, radica en que dichos animales se encuentran en su mayoría en sistemas de producción de subsistencia. La caprinocultura sostiene a cerca de 300 mil familias mexicanas, que se encuentran principalmente en zonas rurales, 80% de los sistemas de producción caprina son de tipo familiar, y se realizan en ocasiones como actividad secundaria a otras actividades pecuarias (Guerrero-Cruz, 2010). Este fenómeno se debe principalmente a la capacidad del ganado caprino de adaptarse a condiciones climatológicas variables y a condiciones de escasez de recursos naturales. Los productos caprinos en el mercado tienen un alto valor al llegar al consumidor final, lo cual no es congruente con la situación de la caprinocultura antes mencionada, y no se refleja en los ingresos de los productores primarios. El desarrollo de los sistemas de producción caprina tiene un potencial latente que radica en el valor agregado que puede darle a sus productos si cumplen con las exigencias que el consumidor demanda, es decir, la creciente demanda en la cantidad y calidad de los productos de origen caprino ha generado que los productores comiencen a interesarse en mejorar la producción (Cuéllar Ordaz, y col., 2012).

Los principales obstáculos para lograr mejorar la situación de la caprinocultura en México han sido:

- Falta de inversión y de apoyo para el ingreso a tecnologías de mejoramiento de la producción.

- Carencia de especialistas en producción y medicina de caprinos, así como en el desarrollo científico en el área.
- Deficiencias en la organización de productores en cooperativas o grupos ganaderos que tengan fácil acceso a apoyos tecnológicos.
- Deficiencias en la comercialización directa al consumidor, que favorece la presencia de intermediarios comerciales.
- Dificultad para hacer empresas rentables, por lo que se considera a la producción caprina como actividad secundaria.
- Falta de inversión en salud animal, lo que favorece la incidencia de enfermedades.

Caprinocultura en el Estado de Guanajuato

En México los caprinos se distribuyen de acuerdo al tipo de producción, cárnica o lechera (Flores-Puebla, 2016). La producción cárnica se desarrolla principalmente en dos zonas, la primera se encuentra en Oaxaca, Guerrero y Puebla, y es un sistema de producción de tipo trashumante; la segunda, localizada en Coahuila y Zacatecas, tiene un tipo de producción intensivo, por lo que la eficiencia en la producción es mayor, y genera más toneladas de carne con menor cantidad de caprinos (Flores-Puebla, 2016). Por otro lado, la producción lechera se concentra en el centro y norte del país, Coahuila, Guanajuato, Durango, Michoacán y Querétaro, donde se genera el 82% de la producción láctea caprina nacional (SIAP, 2016b). En el año 2016, el Estado de Guanajuato aportó el 27.3% de dicha producción, ocupando el 2º lugar en producción de leche de cabra a nivel nacional, únicamente superado por Coahuila, que ocupa el 1º lugar (SIAP, 2016b).

En Guanajuato existen 3 sistemas de producción: tecnificado, semi-tecnificado, que se concentran en la zona del Bajío del Estado en los municipios de Apaseo el Grande, Celaya, Salamanca, Irapuato, Pénjamo, Abasolo, Villagrán, Cortázar y Juventino Rosas; y el tercero, de tipo familiar, que es el que predomina, con 80% de las unidades de producción caprina del Estado (Andrade-Montemayor, 2017, Flores-Puebla, 2016). Este último sistema se realiza en su mayoría como actividad secundaria o de subsistencia, y su principal ingreso es la venta de leche a grandes productores para complementar su

producción. Debido al incremento de la demanda en cantidad y calidad de los productos de origen caprino en Guanajuato, los grandes productores han comenzado a aumentar las exigencias para comprar la leche de unidades de tipo familiar, en especial en materia de inocuidad. Los principales problemas en las unidades de producción de tipo familiar son la falta de recursos, el déficit sanitario y la incapacidad para acceder por si solos a tecnologías que permitan mejorar dichas circunstancias. En materia de salud animal la inversión suele ser poca o inexistente favoreciendo la presencia de enfermedades infecciosas en los animales que afectan la inocuidad y cantidad de leche producida (Andrade-Montemayor, 2017). La falta de tratamiento y control de dichas enfermedades generan pérdidas económicas para los productores que llegan a ser insostenibles (Cuéllar Ordaz, y col., 2012). Por lo tanto, los grandes productores han optado por apoyar a los pequeños productores, y se han comenzado a generar asociaciones de productores en Grupos Ganaderos de Validación y Transferencia de Tecnología (GGAVATT) con la finalidad de permitir la transferencia de tecnologías en materia de salud animal, alimentación, reproducción, administración de empresas pecuarias, entre otras, y así promover la tecnificación de las producciones de tipo familiar y fomentar su desarrollo empresarial.

En el 2008 el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) informó que en el Estado de Guanajuato había 345 productores de diferentes tipos de sistemas de producción, organizados en 19 GGAVATT (Bustos Contreras, y col., 2008), lo cual ha permitido que las unidades de producción de tipo familiar se incorporen a programas de acceso a tecnologías, entre los que se encuentran aquellos que fomentan la salud animal y la medicina preventiva. El INIFAP en conjunto con la Fundación Guanajuato Produce A.C., han fomentado el desarrollo de proyectos de investigación encaminados a ofrecer las tecnologías en materia de salud animal a los productores que se encuentran organizados en GGAVATT y que están interesados en mejorar la producción caprina en el Estado de Guanajuato, por medio del diagnóstico y prevención de las principales enfermedades que afectan a los caprinos. Un ejemplo de dichos esfuerzos lo representa el presente estudio, resultado del proyecto financiado parcialmente por la Fundación Guanajuato

Produce A.C., FGP636-15: “Establecimiento de una estrategia integral para la prevención y control de las principales enfermedades que afectan a caprinos en el Estado de Guanajuato” (Bustos Contreras, y col., 2008, Fundación Guanajuato Produce, 2018).

Enfermedades reproductivas de caprinos

En México existe poca información sobre las enfermedades que afectan a los caprinos y por lo mismo se le ha dado poca importancia, a pesar del papel social que la caprinocultura juega en nuestro país. Las enfermedades en los caprinos son un problema que afecta directamente a la eficiencia productiva, por lo que el interés que tienen los caprinocultores en ellas se hace evidente cuando las pérdidas económicas comienzan a aumentar. En el caso de la producción de leche, las enfermedades reproductivas que ocasionan abortos o infertilidad, son las que mayor impacto económico tienen, porque intervienen directamente con la cantidad y calidad de la leche producida. Existen varias causas asociadas a problemas reproductivos (bacterias, parásitos, problemas nutricionales, traumatismos, etc), sin embargo, se ha visto que 50% de las veces estos son ocasionados por enfermedades infecciosas (Matthews, 2016).

Conocer las enfermedades reproductivas que afectan a los caprinos y la dinámica de los agentes infecciosos que las ocasionan permite tomar decisiones en materia de control de las mismas, con el objetivo de incrementar la productividad de los animales. Actualmente, la enfermedad infecciosa de mayor importancia y la más conocida por los productores de cabras es la brucelosis, la cual ha sido controlada por medio de la campaña establecida por la NOM-041-ZOO-1995 (Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales) (DOF, 2016), sin embargo, ésta no es la única enfermedad abortiva en caprinos, existen otras enfermedades que provocan, entre otros problemas, abortos e infertilidad. Un ejemplo importante es el aborto enzoótico de los pequeños rumiantes o la leptospirosis caprina (Herrera & Ramírez, 2015) que no cuentan con campañas nacionales destinadas a informar a los productores sobre su existencia o fomentar esfuerzos de diagnóstico, control y prevención.

Leptospirosis

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica que ha re-emergido en la última década como una enfermedad infecciosa de importancia global, debido al incremento en la prevalencia que se ha visto favorecida por la globalización. Es de gran importancia ya que la presentación clínica que ocasiona en humanos puede llegar a ser fatal (Suepaul, y col., 2011). Es de distribución mundial, pero las regiones con lluvias constantes, climas tropicales, así como las malas condiciones sanitarias, favorecen su presencia, por lo que es común encontrarla en países en vías de desarrollo (Carmona-Gasca, y col., 2011). Se ha estudiado en la mayoría de los mamíferos, y se va visto que algunos de ellos, como roedores, perros, bovinos, ovinos y cerdos, actúan como reservorios de algunas serovariedades (Evangelista & Coburn, 2010).

Es una enfermedad infecciosa ocasionada por bacterias del género *Leptospira*, que pertenecen a la familia *Leptospiraceae*, segunda familia del orden *Spirochaetales*. Las bacterias de esta familia son espiroquetas largas, delgadas y de gran motilidad, con un diámetro promedio de 0.1 μ m, un rango de longitud de 6-20 μ m, con una estructura general de bacteria Gram negativa y aerobia estricta. Existen 21 especies las cuales se agrupan en 3 grupos: patógenas, patógenas intermedias y no patógenas (Figura 1) (Lehmann, y col., 2014).

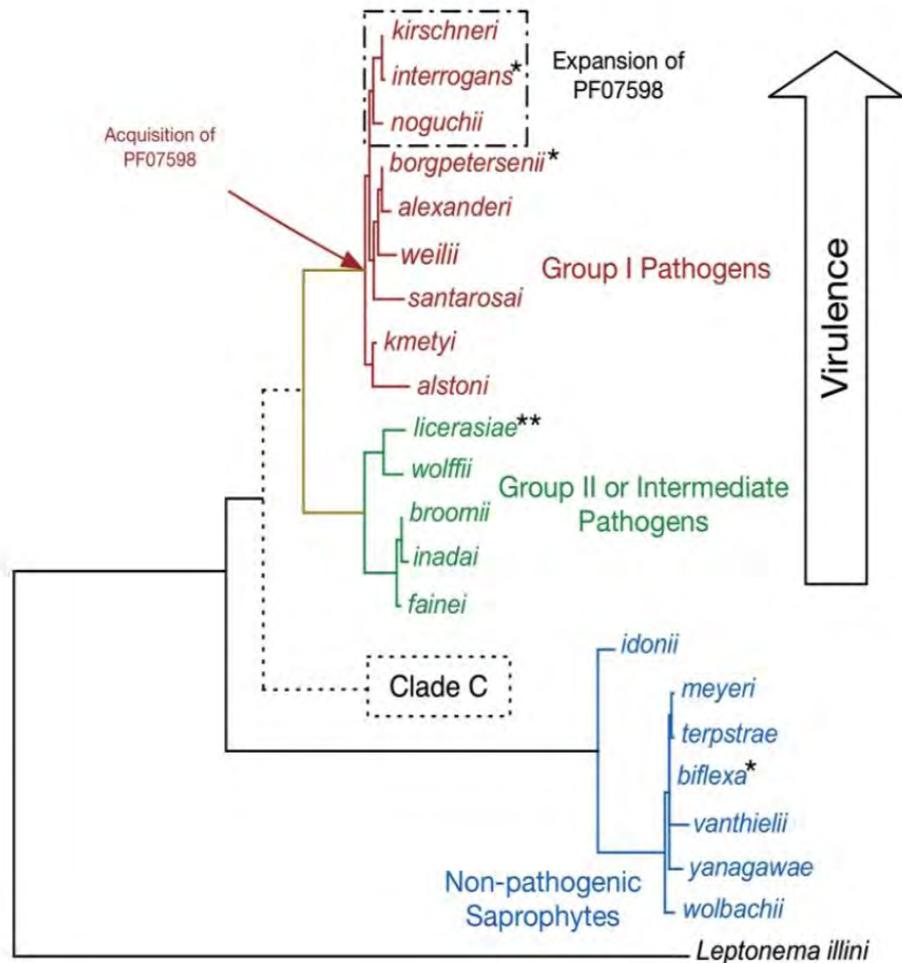


Figura 1. Filogenia de las 21 especies del género *Leptospira*, clasificadas en 3 subgrupos: el grupo de los infecciosos (Grupo I y II, llamados “patógenos” y “patógenos intermedios”, respectivamente) incluye 14 especies (nueve del Grupo I y cinco del Grupo II); y el grupo de los no infecciosos, que comprende siete especies denominadas “saprófitas”. Solo las más virulentas del Grupo I tienen proteínas propias de virulencia pertenecientes a la familia de genes PF07598, entre las que se encuentra *L. interrogans*. Tomado de Lehmann y colaboradores, 2014.

El grupo de las patógenas, que comprende 9 especies, se ha subclasificado a su vez en 250 serotipos, y son las especies causantes de enfermedad en humanos y animales, variando en severidad desde infecciones subclínicas hasta enfermedades severas y muerte. Se han aislado en varias especies de mamíferos domésticos y de fauna silvestre, tanto terrestres como acuáticos (Avalos-Tellez, y col., 2016, Carmona-Gasca, y col., 2011, Moreno, y col., 2016, Tadich, y col., 2016, Ellis, 2015). Existen más de 360 serovariedades de las especies patógenas de *Leptospira* spp., que se diferencian por los cambios de composición y orientación del lipopolisacárido de superficie, que a su vez participa como factor de virulencia o toxicidad de la bacteria y actúa como la principal estructura antigénica (Picardeau, 2014, Chirathaworn, y col., 2014, Evangelista & Coburn, 2010).

Leptospirosis caprina

La leptospirosis en pequeños rumiantes tiene distribución mundial; varios huéspedes se ven involucrados en la transmisión del agente a cabras, y por lo mismo no se ha identificado que exista una serovariedad específica en ellas. A pesar de su detección en caprinos, la leptospirosis en cabras ha sido poco estudiada. Se ha identificado como una de las principales causas de problemas reproductivos como abortos, mortinatos e infertilidad. Como consecuencia de la presentación de uno o varios de estos signos, se generan problemas en la producción como disminución o ausencia de producción de leche, y mortalidad de cabritos, lo que genera un impacto económico que llega a ser insostenible para los productores de caprinos (Lilenbaum, y col., 2008b, Dos Santos, y col., 2012). Aunado a ello, está la importancia en materia de salud pública de la leptospirosis, ya que al ser una zoonosis existe el riesgo ocupacional tanto para los productores, médicos veterinarios y para todas aquellas personas que entren en contacto con los caprinos en las unidades de producción (Carmona-Gasca, y col., 2011).

- **Signos**

La leptospirosis es una enfermedad que afecta varios órganos y provoca signos inespecíficos como fiebre, cefalea o dolores musculares. En pequeños rumiantes se ha visto menor susceptibilidad a presentar la enfermedad, sin embargo, se ha descrito que los signos que pueden presentar de forma aguda son anorexia, depresión, ictericia y síndromes anémicos y hemorrágicos (Lilenbaum, y col., 2008b). En la fase crónica se ha reportado que provoca infertilidad, muertes neonatales, abortos, momificaciones fetales y decremento en la producción de leche. Los signos de la forma crónica de la enfermedad son los que generan mayor interés en la producción de caprinos debido a las pérdidas económicas que genera la baja producción de leche y la falta de pie de cría para venta o reemplazo; por ello estos signos son los que más se reportan en cabras (Lilenbaum & Martins, 2014).

- **Transmisión**

Las especies patógenas de *Leptospira* spp. infectan gran variedad de animales, y la transmisión depende de un constante ciclo de excreción y adquisición de la bacteria entre hospederos primarios, accidentales, reservorios y las condiciones ambientales que favorecen la interacción entre ellos (Stuen, 2015). Las cabras a pesar de que no se han relacionado con una serovariedad específica, son susceptibles a adquirir la enfermedad por contacto con otros mamíferos domésticos, con reservorios silvestres o con agua contaminada, principalmente en el medio rural.

Las bacterias *Leptospira* spp. de tipo patógeno tienen preferencia por colonizar los túbulos renales, y a partir de los riñones son excretadas en la orina, y esta es la principal forma en la que este agente se disemina al medio ambiente, donde puede permanecer por días o meses. La transmisión se puede dar por contacto directo o indirecto con animales infectados y ocurre por medio del contacto con la orina infectada, productos del aborto y por la ingesta de leche infectada; la transmisión vertical también puede darse. Las principales vías de entrada que utiliza para infectar a sus hospederos son lesiones en piel o contacto con membranas mucosas, como la conjuntiva, cavidad oral o las superficies genitales (Ellis, 2015). De igual manera, Lilenbaum, y colaboradores (2008a),

reportaron la presencia de *Leptospira* spp. en fluidos vaginales y semen de caprinos, por lo que el riesgo de transmisión venérea también existe. La sobrevivencia del agente fuera del hospedero se ve favorecida por factores de tipo ambiental, como lluvias constantes, clima cálido, encharcamientos, inundaciones y/o pastoreo en lodazales; y por factores de manejo, como deficiencias de higiene en el corral, realizar curaciones sin asepsia, permitir el estancamiento de heces y orina en el corral, falta de control de fauna nociva en almacenes de alimento o en comederos, lo que permite la presencia de reservorios de la bacteria que diseminen el agente por medio de la orina (Stuen, 2015).

- **Patogenia**

La infección ocurre principalmente por la exposición de membranas mucosas del ojo, boca, nariz y/o genitales a suelo o agua contaminada, así como por ingesta de alimento o material contaminado. Otras vías de transmisión como la vertical o venérea han sido reportadas (Martins & Lilenbaum, 2014).

Primero las bacterias *Leptospira* spp. van a generar lesión a nivel endotelial gracias a la motilidad que le confiere su morfología y sus flagelos. Rápidamente pueden migrar a través de los tejidos y penetrar el endotelio de los vasos sanguíneos y diseminarse vía sanguínea a la mayoría de los órganos. Tras uno o dos días de la infección se produce un periodo de bacteremia que puede durar una semana; durante este tiempo la bacteria se puede aislar a partir de la sangre de la mayoría de los órganos e incluso del líquido cefalorraquídeo. El tropismo de estas bacterias es variado, lo que les confiere la capacidad de afectar a la mayoría de los órganos en la fase aguda de la enfermedad, donde se pueden observar signos como fiebres leves, ictericia, síndromes hemorrágicos y, en casos severos, la muerte (Picardeau, 2017).

Después de 10 – 14 días de la infección disminuye la bacteremia ya que se comienzan a generar anticuerpos contra el agente, esto permite que los órganos comiencen a expulsar a la bacteria, con excepción de los riñones y en algunas ocasiones los órganos genitales, donde las leptospiras pueden persistir largos periodos. Se ha observado que tienen preferencia por colonizar ciertos compartimientos inmunoprivilegiados, donde puedan replicarse. La producción

de adhesinas de superficie permite el establecimiento de la bacteria en estos órganos, ya que le permiten adherirse a diferentes células como fibroblastos, macrófagos, células endoteliales y células epiteliales del riñón (Picardeau, 2017, Ellis, 2015).

Se pueden encontrar leptospiras en los túbulos renales proximales, donde se reproducen y se excretan a través de la orina. La duración e intensidad de dicha diseminación varía entre diferentes especies animales y entre serovariedades de *Leptospira* spp., pero en algunos casos llega a durar hasta 2 años, representando una fuente de infección importante. De igual manera se llegan a dirigir al útero de hembras gestantes, generando enfermedades reproductivas como abortos, mortinatos y enfermedades en los neonatos, generalmente por infección en etapas tardías de la gestación; poco se conoce del mecanismo mediante el cual provoca estas presentaciones clínicas, pero se cree que es resultado de infección transplacentaria dada durante el periodo de bacteremia en la madre. En ocasiones, tras el aborto se puede excretar la bacteria a través de las descargas uterinas. El oviducto y útero de hembras no gestantes son también blanco de la bacteria, así como el tracto genital de los machos, por lo que la transmisión venérea también es de gran importancia. Otros sitios donde se ha visto que persisten las leptospiras son glándula mamaria y sus linfonodos, y en caballos se ha reportado también en ojos, provocando uveítis y cegueras (Picardeau, 2017, Lehmann, y col., 2014, Lilienbaum, y col., 2008a).

Sin embargo, lo más común es encontrar animales asintomáticos, en sitios con alta seroprevalencia se ha visto poca prevalencia de signos de enfermedad. Los títulos de anticuerpos tras 10-14 días de la infección van aumentando y pueden alcanzar niveles máximos tras 3 o 6 semanas de la infección. Después se pueden mantener títulos altos por hasta 6 semanas, dependiendo de cada especie, los cuales disminuyen gradualmente, pero pueden mantenerse por mucho tiempo; en algunos casos los títulos bajos pueden persistir por años (Ellis, 2015).

- **Diagnóstico**

El diagnóstico de laboratorio de leptospirosis se divide en dos grupos:

1. Identificación del agente: tiene como objetivo la detección directa del agente, por lo que las pruebas permiten poner en evidencia leptospiras, antígenos de leptospiras o ácidos nucleicos de leptospiras en tejidos animales o líquidos corporales. Entre estas se encuentran el aislamiento bacteriológico, técnicas inmunohistoquímicas o pruebas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
2. Pruebas serológicas para la detección de la respuesta inmunitaria: el objetivo es la detección indirecta del agente, y son pruebas diseñadas para detectar anticuerpos antileptospira, lo que refleja que hubo exposición al agente. La prueba de aglutinación microscópica (MAT) y la prueba de enzimoinmunoanálisis (ELISA) son las pruebas de este grupo disponibles para la detección de leptospirosis.

La técnica de diagnóstico estándar y la conocida como prueba tamiz es MAT y es la prueba más utilizada para realizar los estudios de seroprevalencia. De acuerdo con la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) los diferentes métodos analíticos tienen la capacidad para satisfacer diferentes propósitos (Cuadro 1), donde MAT resalta por ser el método recomendado para determinar la prevalencia de la enfermedad, realizar la vigilancia epidemiológica, confirmar casos clínicos y determinar la ausencia de infección en individuos antes de su desplazamiento. De igual manera es ampliamente utilizada por ser una prueba de bajo costo y confiable, ya que brinda una sensibilidad de 98.2% y especificidad de 96.4% (Bajani, y col., 2003).

Cuadro 1. Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de la leptospirosis y su propósito. (OIE, 2012)						
Método	Propósito					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar la ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos.	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infección-vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación
Identificación del agente¹						
Aislamiento e identificación	-	+++	-	+++	-	-
PCR	-	++	-	++	-	-
Detección de la respuesta inmunitaria²						
MAT	-	+++	-	++	+++	-
ELISA	+++	-	+++	+++	++	+++

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método idóneo; + = puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; - = no adecuado para este propósito.

Aunque no todas las pruebas clasificadas como +++ o ++ han sido validadas formalmente, su uso sistemático y hecho de que se hayan utilizado ampliamente sin resultados dudosos las hace aceptables.

PCR = reacción en cadena de la polimerasa; MAT = prueba de aglutinación microscópica; ELISA = enzimoanálisis

1 Se recomienda una combinación de métodos de identificación del agente en la misma muestra clínica.

2 Una de las pruebas serológicas de la lista es suficiente.

Zoonosis: Salud animal y Salud Pública

Las enfermedades infecciosas que de manera natural se comparten entre humanos y animales se denominan zoonosis. Las enfermedades zoonóticas afectan la vida del ser humano a nivel global, 75% de las enfermedades emergentes infecciosas que afectan al humano son enfermedades de origen animal; aproximadamente 60% de los patógenos de los seres humanos son agentes zoonóticos, por lo tanto, las zoonosis son un asunto de gran importancia en materia de salud pública. (Bueno-Marí, y col., 2015).

La salud pública se define como la ciencia que procura y protege la salud humana y de las comunidades con las que convive e interactúa; sus esfuerzos van dirigidos al control de enfermedades transmisibles y reducción de riesgos ambientales. En México es poco común relacionar la salud animal con la salud humana, lo que resulta en problemas en la prevención y control de enfermedades zoonóticas. La principal herramienta que tiene la salud pública para controlar problemas de salud es trabajar de manera multidisciplinaria para establecer estrategias de vigilancia, detección, difusión de información y establecimiento de medidas para prevenir y controlar las enfermedades (Novick & B Morrow, 2018).

Epidemiología espacial

Desde el punto de vista de la salud pública, conocer la localización de los problemas de salud es indispensable para entender las enfermedades infecciosas. La epidemiología espacial es el estudio de las enfermedades en el espacio, es decir, estudiar la seroprevalencia de un agente infeccioso en un área determinada para hacer una descripción de su distribución en el espacio geográfico y poder hacer modelos con los cuales podemos asumir cuales son las zonas donde existe mayor riesgo de entrar en contacto con el agente infeccioso (Anamzui-Ya, 2012). Es una herramienta descriptiva por naturaleza, que nos permite observar y analizar los patrones espaciales de la morbilidad y mortalidad de las enfermedades con respecto a factores demográficos, ambientales, conductuales, socioeconómicos, genéticos y de riesgos de infección, para poder formular hipótesis con respecto a la etiología de las enfermedades. Esta descripción permite identificar arreglos espaciales de las

enfermedades y realizar análisis comparativos entre regiones que comparten factores de riesgo.

Las principales herramientas que tiene la epidemiología espacial son: 1) mapeo de enfermedades, 2) agregación espacial de enfermedades; y 3) análisis ecológicos (Rezaeian, y col., 2007). La herramienta analítica que utiliza es la autocorrelación espacial, la cual implica determinar la correlación de la prevalencia a través del espacio basada en las ubicaciones geográficas y valores encontrados en los diferentes puntos de muestreo, y asume que las áreas cercanas entre ellas tienden a tener prevalencias similares debido a que comparten factores de riesgo como ambiente, vectores y dispersión de huéspedes (Tsai, y col., 2009). Una de las pruebas estadísticas que permiten la determinación de la autocorrelación espacial es el Índice de Moran Global y el Índice de Moran Local (Moran, 1950, Anselin, 1995), que comparan los pesos espaciales con la relación de covarianza por pares de sitios. El valor de autocorrelación espacial positivo determina que existe agrupación de los valores, es decir que los valores son estadísticamente similares en áreas cercanas; mientras que la autocorrelación negativa sugiere que existe dispersión de los valores, es decir que la cercanía geográfica no determina que los valores sean similares (Anamzui-Ya, 2012). Cuando se utiliza el índice de Moran Global la medida de correlación se hace para la región completa, arrojando sólo un valor. El índice local se usa cuando se requiere obtener indicadores locales de asociación espacial, es decir un valor por unidad.

La escasez de bases de datos apropiadas y el déficit en el uso de programas computacionales que analicen la información es la razón por la cual en México existe poca investigación sobre la influencia de la distribución geográfica de las enfermedades sobre la prevalencia, la morbilidad y la mortalidad. Sin embargo, actualmente es indispensable tomar en cuenta este tipo de análisis, ya que con esta información se puede mejorar la asignación de los recursos para la prevención, tratamiento y control de las enfermedades infecciosas (Rezaeian, y col., 2007).

Co-exposición

Cuando en un mismo individuo co-existen dos o más parásitos se llama co-infección, y la manera de determinar que hubo una infección se da regularmente mediante técnicas diagnósticas que permiten la identificación directa de los agentes (Tadin, y col., 2012, Arrevillaga & Gómez, 2006). Cuando múltiples patógenos co-ocurren, es decir, se encuentran simultáneamente en un lugar, (i.e. sitios u hospederos) se pueden generar asociaciones entre ellos, que pueden ser positivas, negativas o aleatorias (Griffith, y col., 2016, Veech, 2013). El análisis de los patrones de co-ocurrencia entre patógenos permite predecir su comportamiento en una determinada área geográfica con la finalidad de controlar y/o anticipar enfermedades presentes o futuras (Duijvestijn, y col., 2016, Murray, y col., 2015).

Cuando se hace un estudio serológico no se puede asegurar la presencia del agente en un individuo, pero se puede asumir con cierta confianza (sensibilidad y especificidad de las pruebas) que hubo exposición a dicho agente. Cuando se hace uso de la serología no se puede determinar la co-ocurrencia de las especies, sin embargo, detectar anticuerpos contra diversos agentes infecciosos en un mismo individuo significa que, en algún momento, hubo exposición a ellos, por lo que en el presente trabajo se usó en su lugar el término co-exposición, definida como detección de anticuerpos contra 2 o más agentes infecciosos en un mismo individuo, en este caso contra las diferentes serovariedades de *Leptospira* spp. Existe evidencia de que la exposición previa a un agente puede afectar la producción de anticuerpos contra agentes que infecten posteriormente. Por ejemplo, con *Leptospira* spp, se ha observado que los títulos de las diferentes serovariedades son igual de altos si la infección fuese al mismo tiempo o con corta diferencia de tiempo, sin embargo, cuando la diferencia de tiempo es alta, la producción de anticuerpos contra el agente que provocó la infección previa incrementa por influencia de una infección reciente, debido a reacciones cruzadas (Benkirane, y col., 2016).

En África, Mgode y colaboradores (2015), realizaron estudios de identificación directa de serovariedades de *Leptospira interrogans*, y concluyeron que muchas serovariedades conviven simultáneamente en una determinada

zona geográfica, e incluso en un mismo hospedero. Existen varios estudios que han determinado la presencia de múltiples serovariedades en caprinos, sin embargo hasta donde sabemos, no existen estudios donde se analicen los patrones de co-exposición que presentan las serovariedades (Ibáñez-Contreras, y col., 2010, Gautam, y col., 2010, Avalos-Tellez, y col., 2016, Mgode, y col., 2015).

JUSTIFICACIÓN

En el Estado de Guanajuato la falta de información y la falta de diagnóstico de leptospirosis en caprinos han sido los principales obstáculos para el control de la enfermedad. Por lo que es urgente el desarrollo de proyectos que incorporen nuevas aproximaciones para el estudio de los patrones implicados en la dinámica de la infección por *Leptospira* spp. en producciones caprinas, lo que podría aportar información indispensable para el establecimiento de estrategias de prevención y control de la enfermedad.

HIPÓTESIS

Los caprinos del Estado de Guanajuato se han expuesto a serovariedades de *Leptospira* spp. comunes en otros animales domésticos, y dichas serovariedades presentan patrones de agrupación espacial, por lo que interactúan simultáneamente en un sitio o individuo, lo que favorece la presentación de patrones de co-exposición que reflejan asociaciones positivas entre ellas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir la seroprevalencia de algunas serovariedades de *L. interrogans* y *L. borgpetersenii* en caprinos de unidades de producción pecuaria pertenecientes a Grupos Ganaderos de Validación y Transferencia de Tecnología (GGAVATT) del Estado de Guanajuato en función de su distribución geográfica y patrones de co-exposición.

Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia por serovariedad de *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato.
- Describir la distribución geográfica de la seroprevalencia de las serovariedades de *Leptospira* spp.
- Analizar los patrones de autocorrelación espacial en el Estado de Guanajuato
- Reconocer y evaluar los patrones de co-exposición a las serovariedades de *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato

MATERIAL Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El Estado de Guanajuato se encuentra en la parte central del territorio nacional, latitud norte de 21°51' al norte y 19° 55' al sur; y longitud oeste de 99° 40' al este y 102° 06' al oeste. Cuenta con una superficie territorial de 30, 608.44 km², que representan el 1.6% del territorio nacional; limita al norte con los Estados de Zacatecas y San Luis Potosí, al este con Querétaro; al sur con Michoacán de Ocampo; y al oeste con Jalisco. Cuenta con 46 municipios, cuyas condiciones territoriales permiten la distinción de 4 grandes regiones, que a su vez se dividen en diez subregiones con características económicas, sociales, culturales y ambientales particulares (Cuadro 2) (IPLANEG, 2015).

Para el presente estudio se muestrearon unidades de producción de la región III-Centro y la región IV-Sur, donde se encuentran municipios que destacan en la producción caprina. La región III-Centro cuenta con una superficie de 7,760.6 km², abarca 25% del Estado, se integra por 16 municipios de los cuales 12 fueron incluidos en el presente estudio ya que esta región aporta el 38.7% al volumen de producción caprina del Estado. En esta región predomina el uso de suelo agrícola y el matorral, seguido de bosques, pastizales inducidos y, en menor medida, pastizales naturales, ideales para el pastoreo (Iracheta, 2009a). La región IV-Sur, abarca el 26% del Estado con una superficie de 7,889.43 km², se ubica en la provincia fisiográfica del Eje Neovolcánico, el cual abarca a todos sus municipios, por lo que la forma de relieve que predomina es la sierra volcánica compleja. A pesar de ello la actividad agrícola predomina en la región, cubriendo 64.72% del uso de suelo, seguido de 15% de vegetación secundaria, y pastizales en un 10%. El clima predominante es el semi-cálido subhúmedo con régimen de lluvias en verano. En esta región da el 30.10% de la producción caprina del Estado, y de los 16 municipios que la conforman 9 se tomaron en cuenta para este estudio (Iracheta, 2009b).

Cuadro 2. Regiones y subregiones económicas del Estado de Guanajuato y municipios que las componen (*Visión 2018. Programas Regionales de Guanajuato, síntesis. 2015*)

Región	Subregión	Municipio
I NORESTE	1. Sierra Gorda	Atarjea Santa Catarina Tierra Blanca Victoria Xichú
	2. Chichimeca	Doctor Mora San José Iturbide San Luis de la Paz
II NORTE	3. Sierras de Guanajuato	Ocampo San Diego de la Unión San Felipe
	4. Bicentenario	San Miguel de Allende Dolores Hidalgo, C.I.N. Guanajuato
III CENTRO	5. Metropolitana de León	León Purísima del Rincón San Francisco del Rincón Romita Silao de la Victoria
	6. Metropolitana Irapuato-Salamanca	Irapuato Salamanca
	7. Metropolitana Laja-Bajío	Apaseo el Alto Apaseo el Grande Celaya Comonfort Cortázar Jaral del Progreso Santa Cruz de Juventino Rosas Tarimoro Villagrán
IV SUR	8. Agave azul	Abasolo Manuel Doblado Cuerámaro Huanímaro Pénjamo Pueblo Nuevo

	9. Lacustre	Moroleón Salvatierra Santiago Maravatío Uriangato Valle de Santiago Yuriria
	10. Sierra de los Agustinos	Acámbaro Coroneo Jerécuaro Tarandacua

Muestreo

Se realizó un estudio transversal de tipo descriptivo en la población. Se obtuvieron muestras de suero de caprinos machos y hembras en edad reproductiva mediante muestreo por conveniencia, con productores cooperantes pertenecientes GGAVATT. Además, como criterio de inclusión de hembras se consideró que fueran hembras con al menos un parto, así como aquellas hembras que presentaran signos clínicos de leptospirosis como abortos, momificación fetal, mortinatos o periodos de infertilidad. El antecedente de vacunación contra leptospirosis era un criterio de exclusión de las unidades de producción. Las muestras se obtuvieron de 375 unidades de producción, de las cuales se registró el GGAVATT al que pertenecen, localidad y municipio en la que se encontraban. Algunos GGAVATT están conformados por unidades de producción distribuidas en más de un municipio y en diferentes localidades (Cuadro 3). Por lo que en cada una de las UP visitadas se tomaron los datos de latitud y longitud, o en su defecto, la dirección para poder obtener dichas coordenadas y determinar las diferentes zonas que ocupa cada GGAVATT.

Cuadro 3. Municipios y localidades por GGAVATT.
Resaltados los grupos en más de 1 municipio.

GGAVATT	Municipios	Localidades
1	1	4
2	1	4
3	1	10
4	3	7
5	4	7
6	1	5
7	2	6
8	4	7
9	1	4
10	4	6
11	2	4
12	1	2
13	1	9
14	1	1
15	3	4
16	2	9
17	2	5
18	1	10
19	4	8
20	1	7
21	1	1
22	5	6
23	2	6

Toma de muestras serológicas

Para la obtención del suero sanguíneo se realizó la venopunción de la yugular con agujas de calibre 21G. La sangre se colectó en tubos sellados al vacío (Vacutainer®), sin anticoagulante, los cuales se identificaron con el número de identificación del animal, la edad, el sexo y el signo clínico en caso de presentar. Una vez obtenidas las muestras, se almacenaron en refrigeración a 4°C, para después ser transportadas al CENID- Microbiología Animal del INIFAP. En el laboratorio se centrifugaron las muestras a 2500 rpm por 5 minutos, para obtener el suero sanguíneo, el cual se decantó en tubos de microcentrífuga (Eppendorf®), que se separaron por grupos, y se identificaron con el número de unidad de producción e identificación del animal y se conservaron en congelación, a -4°C, hasta su uso para el diagnóstico serológico de leptospirosis.

Diagnóstico serológico de leptospirosis

Prueba de aglutinación microscópica (MAT)

Se utilizó la prueba de aglutinación microscópica (MAT) que permite el diagnóstico indirecto de leptospirosis caprina por medio de la detección de anticuerpos contra serovariedades de *Leptospira* spp. en el suero sanguíneo. Para el presente estudio se utilizaron 6 antígenos vivos de serovariedades de *Leptospira* spp., 3 de referencia (Wolffi, Hardjo, Tarassovi) y 3 aislamientos nacionales (*Icterohaemorrhagiae*, Hardjo, Canicola) (Cuadro 4), las cuales han sido previamente encontradas en caprinos de Guanajuato por Flores y colaboradores (2017), y forman parte del cepario mantenido en el CENID-Microbiología, INIFAP.

Cuadro 4. Especies de *Leptospira* spp. utilizadas en el presente estudio. *
Aislamientos nacionales. (Bharti, y col., 2003)

Especie	Serogrupo	Serovariedad	Cepas
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Wolffi	3707
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
<i>L. interrogans</i>	Sejröe	Hardjo	Hardjoprajitno H-89*
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Palo Alto*
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Portland-vere	Sinaloa ACR *

Para la prueba se realizaron diluciones dobles seriadas de los sueros sanguíneos, a partir de 1:20 hasta 1:640 de acuerdo al manual de laboratorio de leptospirosis del CENID-Microbiología, para cada una de las serovariedades utilizadas. La prueba se consideró positiva si presentaba 50% o más de aglutinación, en comparación al cultivo control diluido a la mitad en solución salina tamponada con fosfato (PBS) (Anexo 1)

Tras realizar la prueba de MAT se registraron los resultados a cada serovariedad con la siguiente nomenclatura:

- N= Negativo.
- Título 1:20= Sospechoso.
- Títulos 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 y 1:640= Positivo.

Análisis estadístico

Prevalencia de las serovariedades *Leptospira* spp.

Para el cálculo de la prevalencia de *Leptospira* spp. en caprinos del Estado de Guanajuato se consideraron aquellas muestras que fueron positivas a al menos una serovariedad. Se calculó la prevalencia verdadera (P_{RG}) basándose en “pruebas imperfectas”, por medio del estimador Rogan-Gladen que utiliza la sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) de la prueba y determina la proporción de muestras probadas que son verdaderamente positivas utilizando la siguiente fórmula:

$$P_{RG} = \frac{AP + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$$

Así se determina a través de la frecuencia aparente (AP) la prevalencia verdadera (Rogan & Gladen, 1978), y se calculan los intervalos de confianza utilizando la fórmula establecida por Reiczigel, y colaboradores (2010). De igual manera se calculó la prevalencia de las serovariedades de *Leptospira* spp. en caprinos del Estado de Guanajuato, por municipio, por GGAVATT y por localidad tomando en cuenta tamaños de muestra mayores a 10. Los análisis se realizaron con ayuda de la paquetería “epiR” (Stevenson, 2013) implementada en el software libre R (RStudio Team, 2015). La información se mostró haciendo el uso de “heatmaps”, que son una herramienta gráfica que permite explorar bases de datos complejas; y se realizaron con ayuda de la paquetería “superheat” (Barter & Yu, 2018) implementada en el software libre R (RStudio Team, 2015).

Distribución geográfica y análisis de autocorrelación espacial

Para visualizar geográficamente esta información se realizaron mapas, usando la paquetería “ggmap” (Kahle & Wickham, 2013), y se representó la distribución de las prevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp. por municipio. Se realizaron mapas para evaluar la distribución de la prevalencia por

municipios y compararla con los GGAVATT, bajo el supuesto de que los municipios con mayor prevalencia albergan a los GGAVATT que presentan también prevalencias altas. Sin embargo, estos datos de prevalencia obtenidos son por municipio y la distancia que puede haber entre las localidades que lo conforman puede ser mayor entre ellas que con localidades de otro municipio vecino, por lo cual se decidió utilizar las coordenadas centrales de las localidades donde se encuentran las UP para evaluar de una mejor manera la distribución y correlación espacial de las prevalencias.

Utilizando las prevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp. por localidad calculadas ($n \geq 10$) se realizó el estudio de autocorrelación espacial, en el que se calculó el índice de Moran Global y Local con ayuda de la paquetería “spdep” (Bivand & Piras, 2015), implementada en el software libre R (RStudio Team, 2015). El índice de Moran Global mide la autocorrelación espacial de las localidades y los valores de prevalencia simultáneamente y permite evaluar si la prevalencia está dada por patrones de agregación, dispersión o aleatorios, lo que permite determinar cómo se está comportando la enfermedad a nivel regional. El índice de Moran Global se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$I = \frac{n \sum_i \sum_j W_{ij} (X_i - \bar{X})(X_j - \bar{X})}{\sum_i \sum_j W_{ij} \sum_i (X_i - \bar{X})^2}$$

Donde:

X_i = prevalencia de la serovariedad en la i 'localidad;
 \bar{X} = prevalencia promedio de todas las localidades;
 X_j = prevalencia de la serovariedad en la j 'localidad;
 W_{ij} = un parámetro del peso de la distancia entre las localidades i y j ;
 n = número de localidades.

Así, $I > 0$ indica patrones de agregación (valores de prevalencia similares se encuentran juntos); $I = 0$ indica un patrón aleatorio; y $I < 0$ indica patrones de dispersión (valores altos y bajos se encuentran dispersos). El índice de Moran local es un estadístico local de autocorrelación espacial basado en el estadístico del Moran, y es un indicador local de asociación espacial (LISA) que presenta las siguientes propiedades: a) el LISA de cada observación sugiere la agregación

espacial de valores similares alrededor de esa observación, y b) la suma de los LISA de todas las observaciones es proporcional a la asociación espacial global. Este índice se calculó para cada localidad para explorar las agregaciones espaciales de prevalencias similares, y se calcula para cada localidad (i) de acuerdo a Anselin (1995):

$$I_i = \frac{(X_i - \bar{X}) \sum_j W_{ij} (X_j - \bar{X})}{S^2}$$

Donde:

- X_i = prevalencia de la serovariedad en la i'localidad;
- \bar{X} = prevalencia promedio de todas las localidades;
- X_j = prevalencia de la serovariedad en la j'localidad;
- W_{ij} = un parámetro del peso de la distancia entre las localidades i y j;
- S = la desviación estándar de la prevalencia de la serovariedad.

La interpretación se da de la misma manera que en el índice de Moran Global. El índice de Moran local identifica patrones de agregación espacial de las localidades estadísticamente significativas ($p > 0.05$) con prevalencias altas o bajas. Aquellas localidades con patrones de agregación con altos valores de prevalencia son consideradas zonas de riesgo alto; mientras que la agregación espacial de las localidades con valores bajos de prevalencia se consideran zonas de riesgo bajo.

Estudio de Co-exposición de las serovariedades de *Leptospira spp.*

Se realizó el estudio de la co-exposición utilizando un modelo probabilístico de co-ocurrencia de especies, con la paquetería "cooccur" (Griffith, y col., 2016). En nuestro modelo se consideraron a los individuos como "sitios", seleccionando aquellos individuos encontrados en las mismas localidades utilizadas para la evaluación de la autocorrelación espacial. La prueba consiste en calcular la probabilidad de que pares de serovariedades se encuentren en un mismo individuo. Se utilizaron las 6 serovariedades y adicionalmente se tomó en cuenta si se presentaron en títulos bajos, o en títulos altos, por lo tanto, se clasificó a los resultados de cada serovariedad en sospechosos (títulos de 1:20) y en positivos (títulos de 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 y 1:640), con lo que se pudo

obtener 12 variables (6 serovariedades x 2 resultados). La prueba analiza por pares únicos por tanto para 12 variables se obtuvieron 66 pares:

$$pares = \frac{n * (n - 1)}{2} \qquad pares = \frac{12 * (12 - 1)}{2} = 66 \text{ pares}$$

Con los resultados encontrados se evaluó el nivel de co-exposición para establecer en qué casos la asociación presentada se da con mayor intensidad, y para ello se formaron 3 combinaciones usando la clasificación por títulos: positivos – positivos, positivos – sospechosos y sospechosos – sospechosos. Los valores de co-exposición de dichas combinaciones se compararon mediante un análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS

Prevalencia total y de las serovariedades *Leptospira* spp.

Se obtuvieron un total de 1,640 muestras de 23 GGAVATT participantes en el estudio, distribuidos en 126 localidades de 21 municipios. De las 1,640 muestras, 618 (37.7%) eran machos y 1,022 (62.3%) eran hembras, de las cuales 472 (46%) presentaron signos característicos de leptospirosis (Ver Anexo 2).

La seroprevalencia de *Leptospira* spp. en los municipios muestreados fue de 46.65% (765/1640) y la estimación de la seroprevalencia verdadera fue de 45.50% (I.C= 42.96% - 48.06%). Se observó una mayor seroprevalencia en machos (47.68%) que en hembras (43.98%). Hubo seroprevalencias altas en las hembras que presentaron signos clínicos, el signo con mayor prevalencia fue la infertilidad, seguida de abortos (Cuadro 5). Las hembras que tuvieron momificaciones fueron 2 y ambas resultaron positivas.

Cuadro 5. Muestras positivas a *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato.

(n \geq 10). Se utilizó la sensibilidad de 98.2% y especificidad de 96.4% reportada en Bajani y colaboradores (2003)

Muestras	Positivos	Negativos	Frecuencia (%)	Seroprevalencia (%)	Intervalos de confianza (%):	
					bajo	alto
1640	765	875	46,65	45,5	42,96	48,06
Machos	301	317	48,71	47,68	43,54	51,84
Hembras:	462	558	45,21	43,98	40,77	47,21
Sin signos	247	303	44,91	43,67	39,33	48,08
Abortos	182	230	44,17	42,89	37,90	47,99
Infertilidad	29	19	60,42	60,06	45,15	73,34
Mortinatos	4	6	40,00	38,48	13,97	68,85

En el análisis de las seroprevalencias de las 6 serovariedades de *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato se observó que la serovariedad con mayor prevalencia fue Icterohaemorrhagiae* con una seroprevalencia verdadera estimada de 34.16% (I.C= 31.74% - 36.65%), seguida de Hardjo con 6.77% (I.C=

5.33% - 8.40%). El resto de las serovariedades tuvieron valores por debajo del 5%. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Seroprevalencia de serovariedades de *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato. 1= Icterohaemorrhagiae*, 2= Hardjo, 3= Tarassovi, 4= Canicola*, 5= Hardjo* y 6= Wolffi. (*Aislamientos Nacionales)

ID	Resultado a MAT			Frecuencia (%)	Prevalencia (%)	Intervalos de confianza (%)	
	Negativos	Sospechosos	Positivos			bajo	alto
1	1014	37	589	35.91	34.16	31.74	36.65
2	1450	26	164	10.00	6.77	5.33	8.40
3	1482	36	122	7.44	4.06	2.82	5.51
4	1534	27	79	4.82	1.29	0.30	2.50
5	1546	16	78	4.76	1.22	0.24	2.43
6	1526	39	75	4.57	1.03	0.07	2.21

Distribución geográfica y análisis de autocorrelación espacial

Se evaluó la seroprevalencia de 19 municipios ($n \geq 10$) y se encontró que 18 de ellos presentaron valores mayores al 15% de la serovariedad Icterohaemorrhagiae y que el municipio con mayor seroprevalencia fue Apaseo el Alto con 80%, seguido de Salamanca (56%), León (46.8%) y Celaya (41%). Sin embargo, los municipios Apaseo el Alto y Celaya ocuparon los primeros lugares al tener 3 serovariedades con prevalencias mayores al 15%. Yuriria fue el único municipio que no rebasó el 5% de prevalencia en ninguna de las serovariedades y que fue negativo a la serovariedad Icterohaemorrhagiae (Figura 2). Se observó una correlación negativa entre los valores de prevalencia de Icterohaemorrhagiae* con los valores de Canicola* y Wolffi. Se evaluó la seroprevalencia de *Leptospira* spp. en los GGAVATT y se encontró que todos ellos tienen prevalencias mayores al 10% de la serovariedad Icterohaemorrhagiae (Figura 3), observando una correlación negativa de dicha serovariedad con la serovariedad Canicola*.

Seroprevalencia (%) de Serovariedades de *Leptospira* spp. por municipios del Estado de Guanajuato.

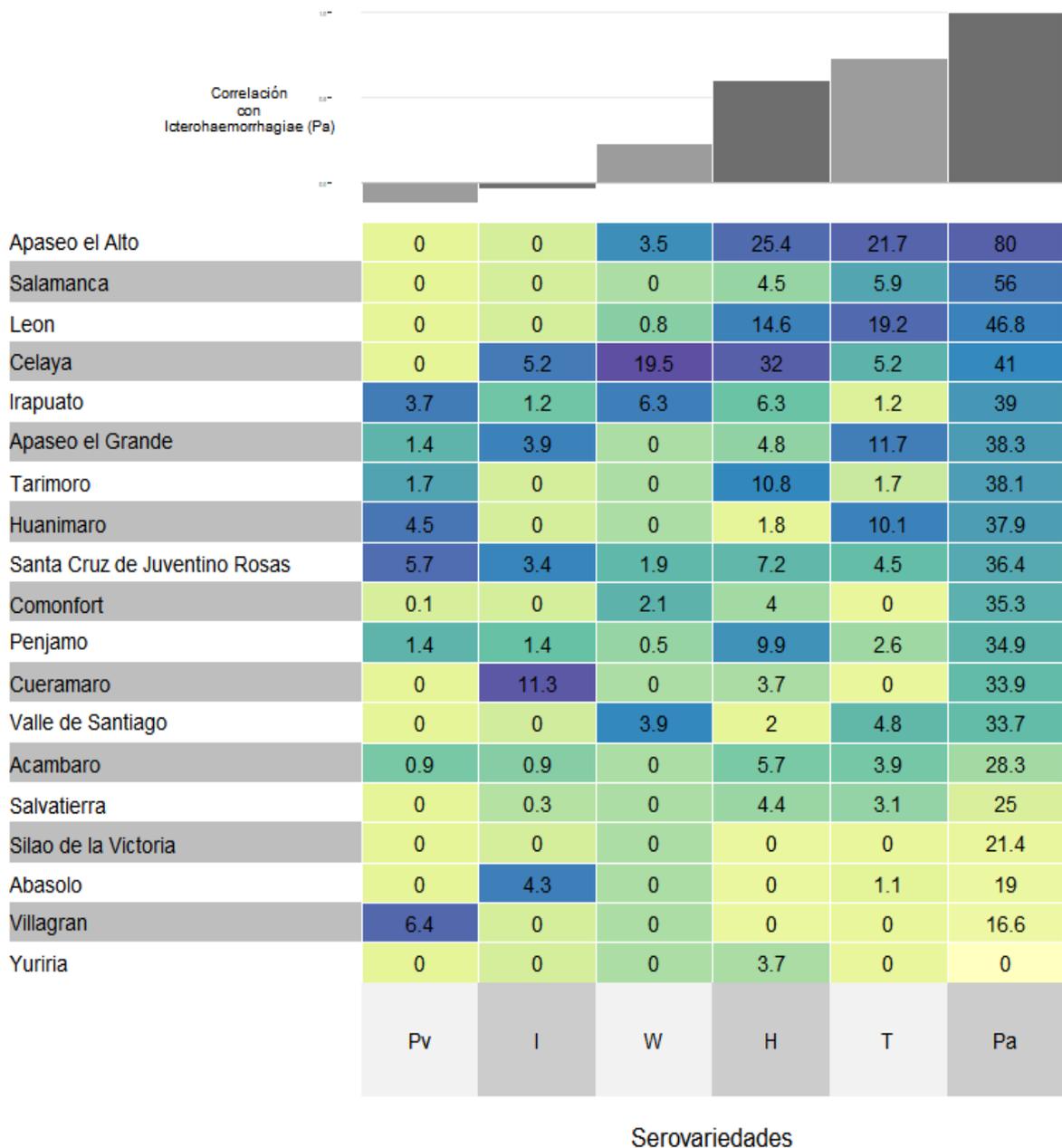


Figura 2. Seroprevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp. en 19 municipios del Estado de Guanajuato ($n \geq 10$). Se observaron correlaciones negativas con las serovariedades Canicola* y Hardjo*. Nomenclatura de las serovariedades: "H"= "Hardjo", "I"= "Hardjo*", "Pa"= "Icterohaemorrhagiae*", "Pv"= "Canicola*", "T"= "Tarassovi", "W"= "Wolffi" (*Aislamiento nacional).

Seroprevalencia (%) de Serovariedades de *Leptospira* spp. por GGAVATT del Estado de Guanajuato.

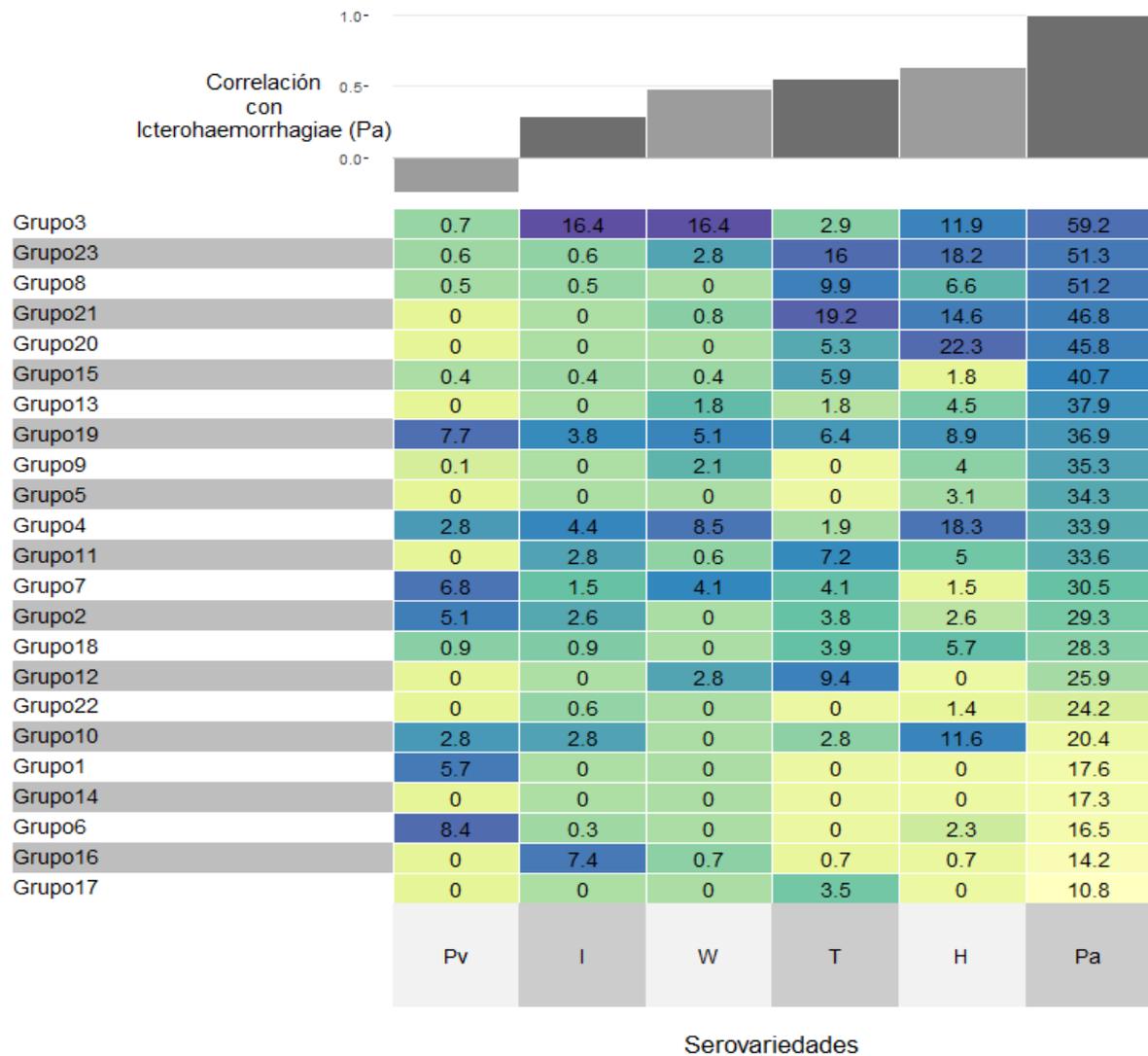


Figura 3. Seroprevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp. en los 23 GGAVATT de caprinos del Estado de Guanajuato. Se observan correlaciones negativas con las serovariedades Canicola* y Hardjo*. Nomenclatura de las serovariedades: "H"= "Hardjo", "I"= "Hardjo*", "Pa"= "Icterohaemorrhagiae*", "Pv"= "Canicola*", "T"= "Tarassovi", "W"= "Wolffi" (*Aislamiento nacional).

La representación geográfica de la prevalencia de las serovariedades permitió observar que Icterohaemorrhagiae abarca gran parte del Estado de Guanajuato, con prevalencias altas en todos los municipios excepto Yuriria, que se encuentra al sur de Guanajuato, cercano a Michoacán. De igual manera se pudo ver que las prevalencias altas de otras serovariedades se concentran, en su mayoría en la región Centro (Figura 4).

Seroprevalencia de Serovariedades de *Leptospira* spp. en el Estado de Guanajuato.

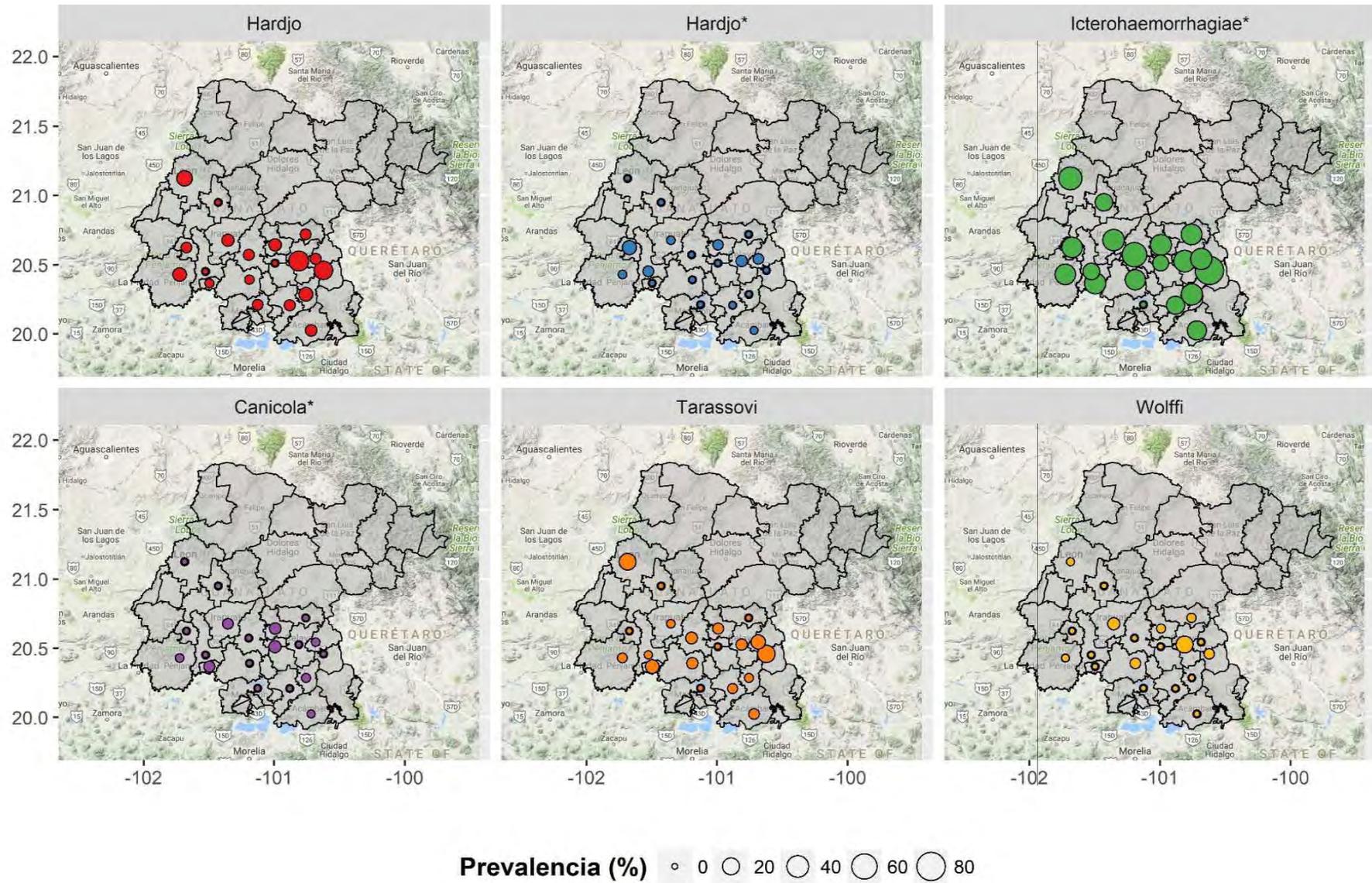


Figura 4. Mapa de Guanajuato con la distribución espacial de las seroprevalencias de las serovariedades de *Leptospira* spp.

Al realizar la representación geográfica de los municipios con mayor seroprevalencia de *Icterohaemorrhagiae* junto con los grupos con mayor prevalencia (>40%) encontramos que hay algunos grupos con prevalencias altas que se encuentran en municipios donde la prevalencia no fue mayor a la total del Estado. El grupo 3 y el 20, se encuentran en el municipio de Pénjamo, el cual tuvo 35% de prevalencia de la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* (Figura 5).

Distribución de la seroprevalencia de *Leptospira* spp. en los municipios y GGAVATT con mayor prevalencia en el Estado de Guanajuato.

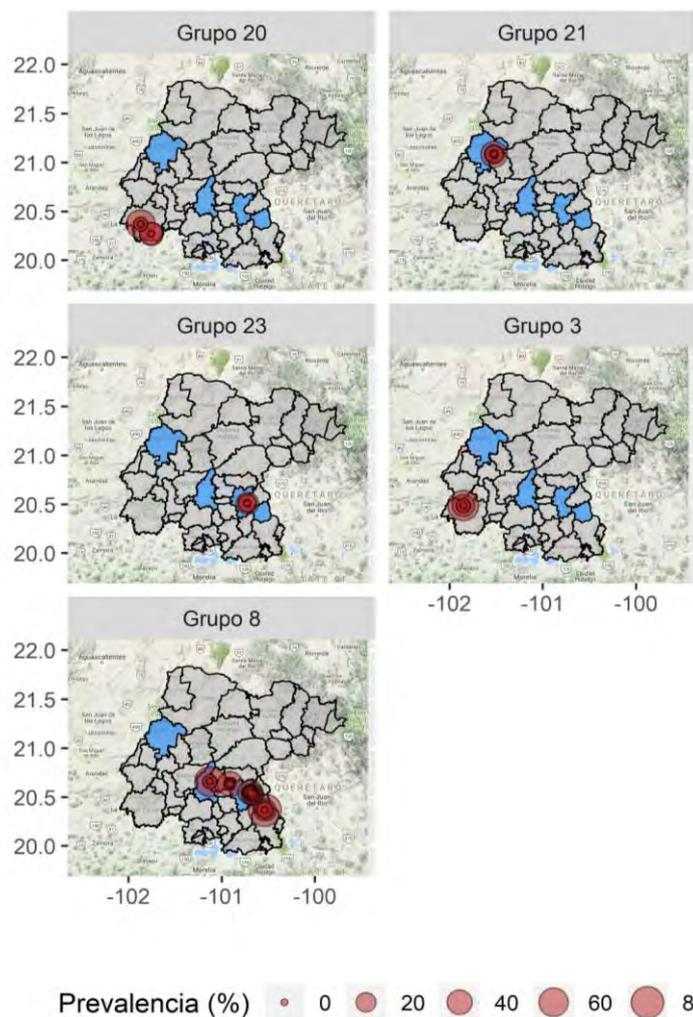


Figura 5. Los municipios resaltados en azul son Apaseo el Alto, Salamanca, León y Celaya, los cuales tuvieron prevalencias > 40%. Los GGAVATT 3, 23, 8, 21 y 20, fueron aquellos con la seroprevalencia más alta.

En el estudio de las seroprevalencias por localidad se seleccionaron aquellas con $n \geq 10$ por lo que sólo se tomaron en cuenta 51 localidades para realizar el análisis de autocorrelación espacial de la prevalencia verdadera por cada serovariedad.

En el cálculo del índice de Moran Global se obtuvo que las serovariedades *Icterohaemorrhagiae**, *Canicola* y *Tarassovi* tuvieron valores de autocorrelación positivos, por lo tanto, las prevalencias se encuentran agregadas, sin embargo, sólo el valor de *Icterohaemorrhagiae* fue estadísticamente significativo. Cuando el valor p es estadísticamente significativo ($p \leq 0.05$) y la puntuación de z es positiva, significa que la distribución espacial de los valores está más agrupada espacialmente de lo que se esperaría si los procesos espaciales subyacentes fueran aleatorios (Cuadro 7).

Cuadro 7. Índice de Moran Global calculado para cada serovariedad de *Leptospira* spp. *Aislamientos nacionales. Los valores estadísticamente significativos se encuentran resaltados.

Serovariedad	I	P	Z	Interpretación
Hardjo	-0.068	0.608	-0.274	no significativa
Hardjo*	-0.061	0.594	-0.238	no significativa
<i>Icterohaemorrhagiae</i> *	0.270	0.040	1.672	agregación
<i>Canicola</i> *	0.205	0.098	1.296	no significativa
<i>Tarassovi</i>	0.215	0.088	1.353	no significativa
<i>Wolffi</i>	-0.070	0.613	-0.287	no significativa

Los resultados del índice de Moran local mostraron que las serovariedades que presentan patrón de agrupación son Hardjo, Hardjo*, *Icterohaemorrhagiae**, *Canicola** y *Tarassovi*. Se encontraron patrones de agregación espacial de estas serovariedades en 11 de 51 localidades (21.56%), las cuales pertenecen a 6 municipios (27.27%) y a 7 GGAVATT (30.43%) (Cuadro 8).

En los municipios Apaseo el Grande, Santa Cruz de Juventino Rosas y Villagrán se observó la agrupación de más de una serovariedad, siendo la serovariedad Icterohaemorrhagiae una de ellas en los dos últimos municipios. En las unidades de producción de tres GGAVATT, los grupos 4, 8 y 19, se encontraron patrones de agrupación de más de una serovariedad, siendo Icterohaemorrhagiae una de ellas en dos de ellos. Con esta información se realizó un mapa que contiene los índices de Moran local de las localidades que presentan patrones de agrupación, para visualizar su cercanía (Figura 6).

Cuadro 8. Índice de Moran local, presentación de las localidades con agrupación ($I > 0$, $Z > 0$) y con valor p significativo ($p <= 0.05$). Seroprevalencia de la serovariedad encontrada en dicha localidad. *Aislamientos Nacionales

Leptospira	Loc	GGAVATT	Municipio	Seroprevalencia (%)	I_i	Z
Hardjo	22	4	Celaya	46.934	3.74	4.06
Hardjo*	43	8	Apaseo el Grande	10.609	1.94	2.03
	44		Apaseo el Grande	5.004	1.94	2.03
Icterohaemorrhagiae	7	2	Juventino Rosas	58.376	2.14	2.21
	9	3	Pénjamo	70.190	2.96	3.04
	23	4	Juventino Rosas	61.246	2.14	2.21
	104	19	Villagrán	4.326	2.78	2.86
	110	20	Pénjamo	59.619	2.96	3.04
Canicola*	25	4	Villagrán	6.105	3.38	3.49
	25	6	Villagrán	6.105	3.38	3.49
	25	19	Villagrán	6.105	3.38	3.49
	102		Juventino Rosas	12.211	3.38	3.49
Tarassovi	43	8	Apaseo el Grande	20.219	2.27	2.34
	44		Apaseo el Grande	9.408	2.27	2.34
	48		Apaseo el Alto	16.015	5.41	5.55

Autocorrelación espacial= Agregación

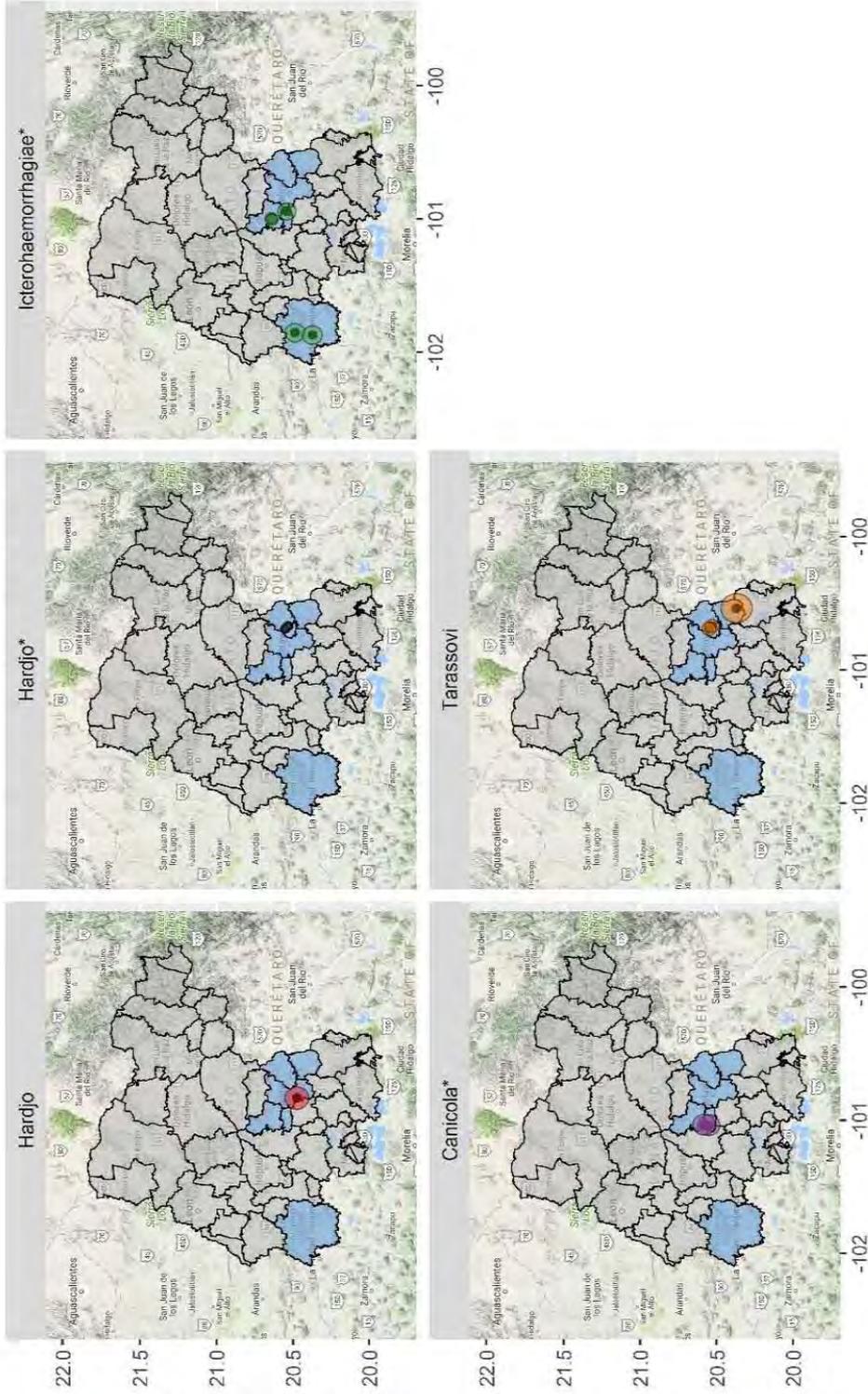


Figura 6. Mapa con la representación de los índices de Moran local en cada localidad que presentó agrupación y cuyo valor p fue significativo. Se encuentran distribuidas en 6 municipios: Apaseo el Alto, Apaseo el Grande, Celaya, Santa Cruz de Juventino Rosas, Pénjamo y Villagrán.

Análisis de Co-exposición de las serovariedades de *Leptospira* spp.

El análisis de co-exposición a las serovariedades de *Leptospira* spp. realizado en los caprinos de las 51 localidades, evaluó los resultados encontrados en 647 caprinos, y de los 66 pares de variedades, 9 pares (13.64 %) fueron eliminados del análisis porque su co-exposición esperada fue menor a 1; por lo tanto, sólo se analizaron 57 combinaciones. De estas, 37 fueron aleatorias (64.91%); la co-exposición negativa se presentó en 24% de las combinaciones analizadas; y fueron 6 positivas (10.52%).

La co-exposición negativa, en su mayoría (57%), se dio en pares formados por la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* en títulos altos (Pa_P), presentando asociaciones negativas con la mayoría de las serovariedades (Figura 7).

Co-exposición a Serovariedades de *Leptospira* spp.
en localidades (n \geq 10)

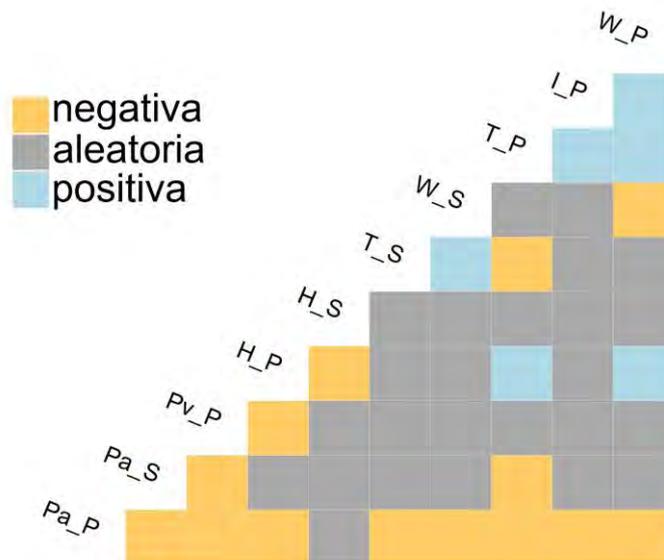


Figura 7. Se representa la co-exposición entre pares de serovariedades a diferentes títulos. Nomenclatura de las serovariedades: "H"= "Hardjo", "I"= "Hardjo*", "Pa"= "Icterohaemorrhagiae*", "Pv"= "Canicola*", "T"= "Tarassovi", "W"= "Wolffi" (*Aislamiento nacional). S= sospechoso y P= positivo.

Las co-exposiciones de interés son las negativas y las positivas, sin embargo, las co-exposiciones positivas fueron insuficientes para realizar la prueba de ANOVA de los 3 grupos establecidos. Solo se obtuvieron asociaciones negativas en 2 combinaciones: positivo - positivo (P-P) y sospechoso - positivo (S-P), y se determinó que no había diferencia significativa ($F = 0.136$, $p > 0.05$) entre el valor de co-exposición en los grupos en esta asociación de co-exposición.

DISCUSIÓN

La co-exposición negativa asociada a la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* en títulos positivos puede deberse a una infección reciente por una serovariedad de *Leptospira* spp., elevando los títulos de anticuerpos contra infecciones previas, por lo tanto, es posible que la infección por esta serovariedad sea más reciente o que se esté manteniendo constante debido a la falta de control de fauna nociva, principalmente roedores, que se presentan en la mayoría de las unidades muestreadas (Benkirane, y col., 2016). Las asociaciones positivas se dieron principalmente entre las serovariedades Hardjo (Nacional y de Referencia), Wolffi y Tarassovi; las primeras dos pertenecen al serogrupo Serjoe, por lo que pudo haberse producido una reacción cruzada. La serovariedad Tarassovi, así como las serovariedades del serogrupo Serjoe, han sido encontradas previamente en bovinos, y es posible que la causa de que se encuentren asociadas positivamente en caprinos sea por la constante convivencia con bovinos infectados que actúan como portadores (Carvajal-de la Fuente, y col., 2012, Ellis, 2015). El presente trabajo representa la probabilidad de que los anticuerpos contra diferentes serovariedades se encuentren, lo cual puede verse influenciado por factores como reacciones cruzadas y/o la inmunosupresión de los individuos, por lo tanto, es importante complementar esta información con las asociaciones que puedan presentarse al hacer un estudio de co-ocurrencia, en el que se haga la identificación directa de la serovariedad, para evaluar cuál es la serovariedad ocasionando la infección en ese momento y compararla con lo encontrado en serología, de tal manera se podría validar el estudio de co-exposición y podría funcionar como herramienta para determinar asociaciones y usar esta información en el establecimiento de estrategias de control de la leptospirosis.

El estudio de autocorrelación espacial demostró ser una herramienta útil para la determinación de zonas de riesgo de leptospirosis. El presente trabajo permitió determinar que la prevalencia de las diferentes serovariedades de *Leptospira* spp. se explica por la cercanía entre los sitios de estudio. Mediante el índice de Moran Global se demostró que existen patrones de agregación espacial de la serovariedad *Icterohaemorrhagiae*. Los resultados obtenidos, sin embargo, no permiten conocer el comportamiento entre las localidades

cercanas, y sólo toma en cuenta las distancias entre las coordenadas centrales de los municipios, y hace un análisis regional, lo cual omite mucha información sobre localidades vecinas pertenecientes a diferentes municipios, o sobre los GGAVATT que se encuentran en ellas. Anteriormente se había demostrado que existe agregación espacial de la leptospirosis pero en humanos, y que se encontraba determinada por las condiciones climatológicas y geográficas de los sitios (Rood, y col., 2017, Robertson, y col., 2012) . Además en estudios previos sobre enfermedades como cáncer, cólera o sobre cuestiones sociales que usan tanto el índice Global como el Local, debido a que con ello se logra describir de mejor manera el comportamiento de las enfermedades, ya que permiten explorar mejor los mapas epidemiológicos (Al-Ahmadi & Al-Zahrani, 2013, Tsai, y col., 2009, Anamzui-Ya, 2012). Así, mediante el índice de Moran local, pudimos obtener información que se estaba omitiendo con el estudio global, como que también existían patrones de agregación para las serovariedades Hardjo, Hardjo*, Canicola* y Tarassovi (*Aislamientos nacionales), y se pudo ver cuáles son los municipios que presentan agrupación en cada una de ellas. Con el mapa se pudo observar que los municipios donde se presentó agrupación son municipios vecinos, con excepción de Pénjamo. Los municipios cercanos comparten características geográficas, climatológicas y sociales al pertenecer todas a la región centro de Guanajuato (Iracheta, 2009a), lo que puede ser una de las razones por las que se está presentando estos patrones de agregación. Por otro lado, tres GGAVATT presentaron valores de agregación espacial para más de una serovariedad, lo que puede deberse a que existen características similares en el manejo reproductivo, de bioseguridad y de medicina preventiva entre las unidades de producción que pertenecen a un mismo grupo. Se ha visto que entre los factores de riesgo que existen para la presentación de la leptospirosis, además de los factores ambientales, se encuentran las características de manejo como el tipo de producción. En un estudio hecho en Brasil se observó que se presentaba mayor prevalencia de leptospirosis en cabras que se encontraban en sistemas semi-intensivos (23%) que en cabras en sistemas de tipo intensivo (3.8%) (Cortizo, y col., 2015). En el presente estudio la mayoría de las UP eran de tipo familiar, sin embargo, en las zonas con patrones de agregación se encuentran algunas con sistemas de tipo semi-intensivo. En estudios posteriores sería conveniente registrar el tipo de sistema

de producción de las UP muestreadas por medio de parámetros preestablecidos, para hacer la correlación entre sistema de producción y prevalencia de leptospirosis. Conocer que las serovariedades presentan patrones de agrupación en estos grupos puede ser de utilidad para establecer medidas de control y prevención dirigidas a los GGAVATT y a las serovariedades que están generando problemas en ellos.

El presente estudio encontró alta prevalencia en las regiones Centro y Sur de Guanajuato, debido que la región del norte no se muestrearon por falta de ganaderos participativos, sin embargo, Flores y colaboradores (2017) mencionan una prevalencia del 54.17% en la región Noreste, haciendo a la región Norte susceptible por la colindancia con ambas regiones, por lo que sería conveniente realizar estudios que involucren a sitios de esta región. Los municipios con mayor prevalencia del presente estudio, son municipios donde se ha concentrado el mejoramiento genético de los caprinos, con la finalidad de mejorar parámetros reproductivos (Valencia & Montaldo, 2006). Estos sitios comercializan animales de razas con buenas características productivas a los demás municipios, lo que puede estar favoreciendo que la enfermedad se extienda en el Estado, aunado a la falta de diagnóstico oportuno por parte de los productores que los adquieren.

La prevalencia de *Leptospira* spp. diagnosticada en el presente estudio fue mayor a la encontrada previamente en Guanajuato por Flores y colaboradores (2017), que reportaron una prevalencia de 37.9%; y de igual manera había reportado que la serovariedad Icterohaemorrhagiae era la más frecuente. Este aumento en la prevalencia y la persistencia de Icterohaemorrhagiae pueden deberse a deficiencias en higiene y a la falta de control de fauna nociva, ya que esta serovariedad es transmitida principalmente por roedores, por lo que es importante enfatizar en estrategias dirigidas al ambiente para disminuir el riesgo de infección en caprinos (Webster & Macdonald, 2009). Icterohaemorrhagiae ha sido una de las principales serovariedades encontradas en estudios realizados en bovinos en México, y en cabras se ha encontrado dentro de las primeras 3 serovariedades más comunes en varios estudios de países de todo el mundo (Luna Álvarez, y col., 2005, Martins & Lilenbaum, 2014). También se encontró que la prevalencia es mayor en machos, los cuales entran en contacto con todas las hembras del hato y se

ha demostrado la presencia del agente en semen y fluidos vaginales, lo que permite una mayor distribución del agente (Lilenbaum, y col., 2008a). Cuando se adquieren nuevos sementales es indispensable diagnosticar la mayor cantidad de enfermedades posibles, entre ellas leptospirosis, para prevenir los abortos y las pérdidas económicas que generan. Los signos característicos de leptospirosis tienen muchos diagnósticos diferenciales como brucelosis, clamidiosis, o incluso de deficiencias nutricionales, pero el presente estudio permitió demostrar que esta enfermedad tiene un lugar importante a considerar cuando se observan estos signos en el rebaño, ya que arriba del 40% de las hembras con signos fueron positivas, por lo que es importante que los productores sepan sobre ella y que implementen medidas que permitan disminuir los problemas que ocasiona y el riesgo que representa para la salud de sus animales y de ellos mismos. En el presente trabajo sólo se incluyeron 6 serovariedades, sin embargo, existen estudios en caprinos hechos en Brasil donde se han encontrado otras serovariedades como Autumnalis, Pyrogenes, Shermani y Grippotyphosa (Dos Santos, y col., 2012, Lilenbaum, y col., 2008a, Lilenbaum, y col., 2008b), por lo tanto es recomendable aumentar el panel de serovariedades en estudios posteriores.

La salud pública requiere del conocimiento de las enfermedades comunes entre humanos y animales, y el ambiente en el que se desarrollan, por ello es necesario conocer la manera en que estas enfermedades se están distribuyendo geográficamente para determinar asociaciones con el clima y con el ecosistema en el que se encuentran, así como los huéspedes, reservorios y/o vectores involucrados. En el caso de leptospirosis, se ha visto que los trabajos multidisciplinarios como lo realizado por Vinetz y colaboradores (2005), han permitido entender mejor la enfermedad y establecer medidas dirigidas a humanos para controlarla, tomando en cuenta el las condiciones ambientales, económicas, políticas y sociales en las que se encuentran los brotes de la enfermedad. Demostrar que este problema persiste en Guanajuato y que se concentra en las principales zonas caprinas sustenta los esfuerzos que la industria caprina está realizando para controlar y disminuir los problemas de salud en caprinos, y ayuda para controlar el riesgo en materia de salud pública.

CONCLUSION

La seroprevalencia de leptospirosis se ha elevado respecto a lo reportado en 2016, y se encuentra distribuida en casi el 50% del Estado de Guanajuato; la serovariedad *Icterohaemorrhagiae* se ha mantenido como la más importante de las diagnosticadas hasta ahora en caprinos de Guanajuato. La seroprevalencia encontrada puede explicarse por la cercanía entre las UP, ya que se encontraron patrones de agrupación espacial, y esto nos permite identificar zonas de riesgo, que pueden proyectarse en mapas. La serovariedad *Icterohaemorrhagiae* se está manteniendo alta debido a que se encontraron asociaciones de co-exposición negativas con las otras serovariedades. La incorporación de diferentes herramientas analíticas espaciales en conjunto con la determinación de la prevalencia permite generar información más puntual para la descripción de las enfermedades, permitiendo detectar las áreas afectadas y las zonas con mayor riesgo de exposición. Mientras que análisis de tipo ecológico nos permiten explorar la dinámica de co-exposición a las diferentes serovariedades y su implicación biológica. Los resultados encontrados en el presente trabajo nos brindan información que nos permitirá plantear estrategias de control y prevención dirigidas a las serovariedades encontradas, a las deficiencias de higiene y bioseguridad y a las zonas que presentan mayor riesgo. Además, permitirá informar a los productores sobre la situación actual de leptospirosis en sus unidades de producción y concientizar sobre el riesgo a la salud pública que esta enfermedad representa.

RECOMENDACIONES

En el caso de la leptospirosis en caprinos en México, es importante tomar en cuenta el contexto en el que se encuentra la caprinocultura en nuestro país para implementar medidas de control y prevención, por ejemplo:

- Fomentar la organización de productores en grupos ganaderos, y facilitar el registro de dichos grupos en GGAVATT, para permitir el acceso a tecnologías.
- Capacitar a los técnicos de los GGAVATT existentes para que puedan identificar los signos de las principales enfermedades en caprinos.
- Fomentar el uso de registros para identificar rápidamente animales repetidores que pueden ser portadores de la enfermedad.
- Recomendar la separación de animales con signos, la limpieza continua de los corrales, el mejoramiento de las instalaciones para evitar que haya materiales que puedan generar heridas, principalmente en patas.
- Establecer calendarios de vacunación contra *Leptospira* spp. que incluyan las principales serovariedades encontradas y que se realicen en las épocas recomendadas.
- Promover que los productores realicen el diagnóstico de leptospirosis, y de otras enfermedades, antes de adquirir un animal, en especial sementales, y fomentar la aplicación de cuarentenas de animales nuevos.
- Establecer medidas de control de fauna nociva y mantener la higiene en los almacenes de alimento para evitar la propagación de plagas.
- Informar sobre signos característicos de leptospirosis en humanos y fomentar el diagnóstico de los productores con hatos positivos para realizar tratamientos oportunos.

REFERENCIAS

- AL-AHMADI, K. & AL-ZAHRANI, A. (2013). Spatial autocorrelation of cancer incidence in Saudi Arabia. *Int J Environ Res Public Health*, 10, 7207-28.
- ANAMZUI-YA, J. A. (2012). Spatial analysis and mapping of cholera causing factors in Kumasi, Ghana. Tesis: Master of Science, University of Twente Faculty of Geo-Information and Earth Observation (ITC).
- ANDRADE-MONTEMAYOR, H. M. (2017). Producción de Caprino en México. *Tierras Caprino. VIII FORO NACIONAL DEL CAPRINO*, 18, 24-27.
- ANSELIN, L. (1995). Local Indicators of Spatial Association—LISA. *Geographical Analysis*, 27, 93-115.
- ARREVILLAGA, B. & GÓMEZ, G. (2006). Aspectos moleculares de coinfecciones de virus respiratorios con bacterias. *Enf Inf Microbiol*, 26, 115-22.
- AVALOS-TELLEZ, R., CARRILLO-CASAS, E. M., ATILANO-LOPEZ, D., GODINEZ-REYES, C. R., DIAZ-APARICIO, E., RAMIREZ-DELGADO, D., RAMIREZ-ECHENIQUE, M. F., LEYVA-LEYVA, M., SUZAN, G. & SUAREZ-GUEMES, F. (2016). Pathogenic *Leptospira* Serovars in Free-Living Sea Lions in the Gulf of California and Along the Baja California Coast of Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*, 52, 199-208.
- BAJANI, M. D., ASHFORD, D. A., BRAGG, S. L., WOODS, C. W., AYE, T., SPIEGEL, R. A., PLIKAYTIS, B. D., PERKINS, B. A., PHELAN, M., LEVETT, P. N. & WEYANT, R. S. (2003). Evaluation of four commercially available rapid serologic tests for diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol*, 41, 803-9.
- BARTER, R. L. & YU, B. (2018). Superheat: An R package for creating beautiful and extendable heatmaps for visualizing complex data. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 1-30.
- BENKIRANE, A., NOURY, S., HARTSKEERL, R. A., GORIS, M. G., AHMED, A. & NALLY, J. E. (2016). Preliminary Investigations on the Distribution of *Leptospira* Serovars in Domestic Animals in North-west Morocco. *Transbound Emerg Dis*, 63, e178-e184.
- BHARTI, A. R., NALLY, J. E., RICARDI, J. N., MATTHIAS, M. A., DIAZ, M. M., LOVETT, M. A., LEVETT, P. N., GILMAN, R. H., WILLIG, M. R., GOTUZZO, E. & VINETZ, J. M. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infectious Diseases*, 3, 757-771.
- BIVAND, R. & PIRAS, G. (2015). Comparing Implementations of Estimation Methods for Spatial Econometrics. *Journal of Statistical Software*, 63, 36.
- BUENO-MARÍ, R., ALMEIDA, A. P. G. & NAVARRO, J. C. (2015). Editorial: Emerging Zoonoses: Eco-Epidemiology, Involved Mechanisms, and Public Health Implications. *Frontiers in Public Health*, 3, 1-2.
- BUSTOS CONTRERAS, D. E., ESPINOSA GARCÍA, J. A., GONZÁLEZ OROZCO, T. A. & TAPIA NARANJO, C. A. (2008). Los Grupos Ganaderos de Validación y Transferencia de Tecnología en el Estado de Guanajuato. Análisis del cambio de actitud en los productores., México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Publicación técnica num. 1, Primera edición. Disponible en: www.inifap.gob.mx/circe/.../Publicacion%20Transferencia%20GGAVATT%205.pdf. [Consultado: 2 de febrero de 2018]

- CARMONA-GASCA, C. A., LARA, L. L., CASTILLO-SANCHEZ, L. O., RAMIREZ-ORTEGA, J. M., KO, A., PALOMERA, C. L. & DE LA PENA-MOCTEZUMA, A. (2011). Detection of *Leptospira santarosai* and *L. kirschneri* in cattle: new isolates with potential impact in bovine production and public health. *Veterinaria Mexico*, 42, 277-288.
- CARVAJAL-DE LA FUENTE, V., ZAPATA-CAMPOS, C., LOREDO-OSTI, J., LOPEZ-ZAVALA, R., JASSO-OBREGON, J. O. & MARTINEZ-BAUTISTA, E. (2012). Seroprevalence and Risk Factors associated with Leptospirosis (*L. interrogans*) in Bovine Cattle in Northeastern Mexico. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 42, 7-12.
- CORTIZO, P., LOUREIRO, A. P., MARTINS, G., DO RODRIGUES, P. R., FARIA, B. P., LILENBAUM, W. & DEMINICIS, B. B. (2015). Risk factors to incidental leptospirosis and its role on the reproduction of ewes and goats of Espirito Santo state, Brazil. *Trop Anim Health Prod*, 47, 231-5.
- CUÉLLAR ORDAZ, J. A., TÓRTORA PÉREZ, J., TREJO GONZÁLEZ, A. & ROMÁN REYES, P. (2012). La producción caprina mexicana, particularidades y complejidades. , México, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. .
- CHIRATHAWORN, C., INWATTANA, R., POOVORAWAN, Y. & SUWANCHAROEN, D. (2014). Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, S162-S164.
- DOF. NOM-041-ZOO-1995. Norma Oficial Mexicana, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. SENASICA. Publicado en: Diario Oficial de la Federación, 20 de junio de 2016.
- DOS SANTOS, J. P., LIMA-RIBEIRO, A. M. C., OLIVEIRA, P. R., DOS SANTOS, M. P., JÚNIOR, Á. F., MEDEIROS, A. A. & TAVARES, T. C. F. (2012). Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 101-106.
- DUIJVESTIJN, M., MUGHINI-GRAS, L., SCHUURMAN, N., SCHIJF, W., WAGENAAR, J. A. & EGBERINK, H. (2016). Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-)occurrence, clinical relevance and risk factors. *Veterinary Microbiology*, 195, 115-122.
- ELLIS, W. A. (2015). Animal Leptospirosis. En: ADLER, B. (ed.) *Leptospira and leptospirosis*. Australia: Springer, 100-114.
- EVANGELISTA, K. V. & COBURN, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*, 5, 1413-1425.
- FAO. (2018). Live animals. Goats. [Online]. FAO. Mayo 7, 2018, Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> [Consultado: Abril, 2018].
- FLORES-PUEBLA, M. P. (2016). Diagnóstico serológico de *Leptospira interrogans* y *Brucella melitensis* en rebaños caprinos en el Estado de Guanajuato. . Tesis: Tesis de licenciatura, Médico Veterinario Zootecnista, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
- FLORES, P., HERRERA, E., GUTIÉRREZ, J., PALOMARES, G. & DÍAZ, E. (2017). Detección de anticuerpos contra brucelosis y leptospirosis en las principales zonas caprinas en el Estado de Guanajuato. En: PÉREZ LUNA, E. D. J., YONG ANGEL, G., MACIAS FARRERA, G. P., SÁNCHEZ MUÑOZ, J. B., YAMASAKI MAZA, A., PÉREZGROVAS GARZA, R. A., LÉON VELASCO, H. & RUIZ ROJAS, J. L., eds. XLIV Reunión científica

- de la asociación mexicana para la producción animal y seguridad alimentaria, A.C., 6 al 8 de septiembre, 2017 2017 Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. AMPA, 417-420.
- FUNDACIÓN GUANAJUATO PRODUCE. (2018). Proyecto Cabras: Presentación de resultados salud en cabras. [Online]. Disponible en: www.fundacionguanajuato.mx/index.php/noticias/253-proyecto-cabras-presentacion-de-resultados-salud-en-cabras [Consultado: 1 marzo].
- GAUTAM, R., WU, C. C., GUPTILL, L. F., POTTER, A. & MOORE, G. E. (2010). Detection of antibodies against *Leptospira* serovars via microscopic agglutination tests in dogs in the United States, 2000-2007. *J Am Vet Med Assoc*, 237, 293-8.
- GRIFFITH, D. M., VEECH, J. A. & MARSH, C. J. (2016). cooccur: Probabilistic Species Co-Occurrence Analysis in R. *Journal of Statistical Software*, 69, 1-17.
- GUERRERO-CRUZ, M. M. (2010). La caprinocultura en México, una estrategia de desarrollo. *Revista Universitaria Digital de Ciencias Sociales*, 1, 1-8.
- HERRERA, L. & RAMÍREZ, M. (2015). Leptospirosis caprina. En: DÍAZ, A., TÓTORA, P., PALOMARES, R. & GUTIÉRREZ, H. (eds.). *Enfermedades de las cabras*. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, 121-128.
- IBÁÑEZ-CONTRERAS, A., HERNÁNDEZ-GODÍNEZ, B., TORRES-BARRANCA, J. & MELÉNDEZ-VÉLEZ, P. (2010). Antibodies findings against *Leptospira* sp., of the serovars Panama, Lai, Australis, Shermani, and Patoc, in a group of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) in conditions of captivity. *Arch Med Vet*, 42, 101-104.
- IPLANEG. (2015). Programas regionales del Estado de Guanajuato. Visión 2018. Síntesis. México, Instituto de Planeación, Estadística y Geografía, . 60
- IRACHETA, A. X. (2009a). Planes Región 2035 del Estado de Guanajuato. Región III Centro. México, IPLANEG. 193
- IRACHETA, A. X. (2009b). Planes Región 2035 del Estado de Guanajuato. Región IV Sur. México, IPLANEG. 169
- KAHLE, D. & WICKHAM, H. (2013). ggmap: Spatial Visualization with ggplot2. *The R Journal*, 5, 144-161.
- LEHMANN, J. S., MATTHIAS, M. A., VINETZ, J. M. & FOUTS, D. E. (2014). Leptospiral Pathogenomics. *Pathogens*, 3, 280-308.
- LILENBAUM, W. & MARTINS, G. (2014). Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transbound Emerg Dis*, 61 Suppl 1, 63-8.
- LILENBAUM, W., VARGES, R., BRANDAO, F. Z., CORTEZ, A., DE SOUZA, S. O., BRANDAO, P. E., RICHTZENHAIN, L. J. & VASCONCELLOS, S. A. (2008a). Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology*, 69, 837-42.
- LILENBAUM, W., VARGES, R., MEDEIROS, L., CORDEIRO, A. G., CAVALCANTI, A., SOUZA, G. N., RICHTZENHAIN, L. & VASCONCELLOS, S. A. (2008b). Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Res Vet Sci*, 84, 14-7.
- LUNA ÁLVAREZ, M. Á., MOLES Y CERVANTES, L. P., GAVALDÓN ROSAS, D., NAVA VASQUEZ, C. & SALAZAR GARCÍA, F. (2005). Estudio retrospectivo de seroprevalencia de leptospirosis bovina en México

- considerando las regiones ecológicas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 57, 28-31.
- MARTINS, G. & LILENBAUM, W. (2014). Leptospirosis in sheep and goats under tropical conditions. *Trop Anim Health Prod*, 46, 11-7.
- MATTHEWS, J. G. (2016). *Diseases of The Goat*, Wiley.
- MGODE, G. F., MACHANG'U, R. S., MHAMPHI, G. G., KATAKWEBA, A., MULUNGU, L. S., DURNEZ, L., LEIRS, H., HARTSKEERL, R. A. & BELMAIN, S. R. (2015). *Leptospira* Serovars for Diagnosis of Leptospirosis in Humans and Animals in Africa: Common *Leptospira* Isolates and Reservoir Hosts. *PLoS Negl Trop Dis*, 9, e0004251.
- MORAN, P. A. P. (1950). Notes on Continuous Stochastic Phenomena. *Biometrika*, 37, 17-23.
- MORENO, L. Z., MIRAGLIA, F., MARVULO, M. F. V., SILVA, J. C. R., PAULA, C. D., COSTA, B. L. P., MORAIS, Z. M., FERREIRA, F., NETO, J. S. F., DELLAGOSTIN, O. A., HARTSKEERL, R. A., VASCONCELLOS, S. A. & MORENO, A. M. (2016). Characterization of *Leptospira santarosai* Serogroup Grippotyphosa Serovar Bananal Isolated from Capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 52, 688-693.
- MURRAY, K. A., PRESTON, N., ALLEN, T., ZAMBRANA-TORRELIO, C., HOSSEINI, P. R. & DASZAK, P. (2015). Global biogeography of human infectious diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 12746-12751.
- NOVICK, L. & B MORROW, C. (2018). Defining public health: historical and contemporary developments.
- PICARDEAU, M. (2014). The Family Leptospiraceae. *En*: ROSENBERG, E., DELONG, E. F., LORY, S., STACKEBRANDT, E. & THOMPSON, F. (eds.). *The Prokaryotes*. 4th. Berlin, Germany: Springer, 711-729.
- PICARDEAU, M. (2017). Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? *Nat Rev Microbiol*, 15, 297-307.
- REICZIGEL, J., FOLDI, J. & OZSVARI, L. (2010). Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiol Infect*, 138, 1674-8.
- REZAEIAN, M., DUNN, G., ST LEGER, S. & APPLEBY, L. (2007). Geographical epidemiology, spatial analysis and geographical information systems: a multidisciplinary glossary. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 61, 98-102.
- ROBERTSON, C., NELSON, T. & STEPHEN, C. (2012). Spatial epidemiology of suspected clinical leptospirosis in Sri Lanka. *Epidemiology & Infection*, 140, 731-743.
- ROGAN, W. J. & GLADEN, B. (1978). Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*, 107, 71-76.
- ROOD, E. J. J., GORIS, M. G. A., PIJNACKER, R., BAKKER, M. I. & HARTSKEERL, R. A. (2017). Environmental risk of leptospirosis infections in the Netherlands: Spatial modelling of environmental risk factors of leptospirosis in the Netherlands. *PLOS ONE*, 12, e0186987.
- RSTUDIO TEAM. (2015). RStudio: integrated development for R. *RStudio, Inc., Boston, MA* <http://www.rstudio.com>.
- SIAP. (2016a). Población Ganadera. Caprinos [Online]. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en:

- <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762?idiom=es> [Consultado: 2 de febrero de 2018].
- SIAP. (2016b). Producción Ganadera. Avance de la producción pecuaria por producto. . [Online]. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp [Consultado: 2 de febrero 2018].
- STEVENSON, M. (2013). Epir: An R Package for the Analysis of Epidemiological Data.
- STUEN, S. (2015). Small Ruminants and Zoonotic Infections: Live or Dead— Direct or Indirect. *En*: SING, A. (ed.) *Zoonoses-Infections Affecting Humans and Animals*. Netherlands: Springer,
- SUEPAUL, S. M., CARRINGTON, C. V., CAMPBELL, M., BORDE, G. & ADESIYUN, A. A. (2011). Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Tropical Animal Health and Production*, 43, 367-375.
- TADICH, T. A., TAPIA, C. & GONZALEZ, D. (2016). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Working Horses Located in the Central Region of Chile. *Journal of Equine Veterinary Science*, 38, 14-18.
- TADIN, A., TURK, N., KORVA, M., MARGALETIC, J., BECK, R., VUCELJA, M., HABUS, J., SVOBODA, P., ZUPANC, T. A., HENTTONEN, H. & MARKOTIC, A. (2012). Multiple co-infections of rodents with hantaviruses, *Leptospira*, and *Babesia* in Croatia. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 12, 388-92.
- TSAI, P. J., LIN, M. L., CHU, C. M. & PERNG, C. H. (2009). Spatial autocorrelation analysis of health care hotspots in Taiwan in 2006. *BMC Public Health*, 9, 464.
- VALENCIA, M. & MONTALDO, H. Genetic evaluation of goats in the State of Guanajuato, Mexico. Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 13-18 August, 2006, 2006. Instituto Prociência, 02-06.
- VEECH, J. A. (2013). A probabilistic model for analysing species co-occurrence. *Global Ecology and Biogeography*, 22, 252-260.
- VINETZ, J. M., WILCOX, B. A., AGUIRRE, A., GOLLIN, L. X., KATZ, A. R., FUJIOKA, R. S., MALY, K., HORWITZ, P. & CHANG, H. (2005). Beyond Disciplinary Boundaries: Leptospirosis as a Model of Incorporating Transdisciplinary Approaches to Understand Infectious Disease Emergence. *EcoHealth*, 2, 291-306.
- WEBSTER, J. P. & MACDONALD, D. W. (2009). Parasites of wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. *Parasitology*, 111, 247-255.

ANEXOS

ANEXO 1: Mantenimiento del cepario de *Leptospira* spp. y prueba de aglutinación microscópica (MAT).

Mantenimiento del cepario de diagnóstico

Mantener las características antigénicas del cepario para el diagnóstico de leptospirosis en animales y humanos.

- a. Limpiar con una solución de alcohol al 66% el área de trabajo y colocar en cada extremo un mechero.
- b. Rotular los tubos con 10 ml del medio de Cox con fecha y serovariedad.
- c. Una vez que está todo preparado para trabajar en condiciones de esterilidad, agregar 1 ml de suero estéril de conejo a cada tubo.
- d. Agregar 1 ml del cultivo anterior al medio de cultivo.
- e. Incubar de 4 a 7 días a una temperatura de 28 a 30 °C \pm 1°C.
- f. Comprobar crecimiento, a través del microscopio de campo oscuro.
- g. Almacenar el cepario en un lugar fresco y oscuro.

Nota: El cepario de diagnóstico deberá ser resembrado como máximo cada 21 días.

Procedimiento MAT

Evaluar la presencia de anticuerpos para leptospirosis.

Dilución inicial:

- Animales de laboratorio, producción, mascotas y fauna silvestre se requiere de una dilución 1:50.
 - Humanos, pequeños rumiantes y evaluación de bacterinas se requiere una dilución 1:20.
1. Tomar una pipeta con 0.9 ml de PBS (solución amortiguadora de fosfatos) y depositarlo en un tubo de ensaye.
 2. Del suero a evaluar tomar 0.1 ml y agregarlo en un tubo con PBS.
Obteniendo así una dilución inicial de 1:10, la cual será transformada en la placa posteriormente a 1:20

3. Una vez que se obtiene la dilución inicial; se procede a colocar en la microplaca serológica 50 microlitros (μl) de PBS en el segundo y tercer pozo con la micropipeta multicanal y puntas, dejando el primer pozo vacío. También se deberá colocar 50 μl de PBS a los pozos destinados para el control.
4. Posteriormente el contenido del tubo de ensaye "dilución inicial" se vierte en una tapa.
5. Se cambian las puntas de la micropipeta y se toman 50 μl de la dilución y son depositados en el primer pozo, se toman otros 50 μl y se revuelven en el segundo pozo tomando 50 μl que pasaran al tercer pozo donde se revuelven y se toman nuevamente 50 μl los cuales serán desechados
6. Encender dos mecheros cada uno con un radio de cobertura de 15 a 20 cm entre ellos. Y limpiar con una solución de alcohol al 66%.
7. Llevar a esta área la microplaca preparada y el cepario de diagnóstico.
8. Se toma asépticamente 0.7 ml o la cantidad que sea necesaria de la cepa a evaluar, se vacía en una canaleta (se va a cambiar de pipeta para cada toma de diferente cepa).
9. Adicionar 50 μl de la cepa a cada uno de los pozos correspondientes a la cepa incluyendo el control (No revolver). Realizar el mismo procedimiento para cada una de las cepas restantes, cambiando de puntas para cada una.
10. Se someten a un periodo de incubación de una 1 hora en la cámara húmeda.
11. Al término de la incubación se procede a realizar la lectura de la prueba.

ANEXO 2. Bitácora muestras obtenidas por GGAVATT.

Grupo	Productores	Muestras totales	Sexo		Hembras con signos	Signos			
			Hembras	Machos		A	B	C	D
1	19	89	75	14	30	29	0	0	1
2	11	48	27	21	13	13	0	0	0
3	16	48	30	18	14	11	2	0	1
4	12	32	20	12	10	10	0	0	0
5	14	38	29	9	13	13	0	0	0
6	10	10	4	6	2	2	0	0	0
7	16	76	50	26	25	19	6	0	0
8	18	47	30	17	13	12	0	0	1
9	15	29	14	15	3	3	0	0	0
10	28	178	138	40	58	47	11	0	0
11	19	83	47	36	20	18	2	0	0
12	23	83	56	27	14	13	1	0	0
13	12	81	64	17	32	23	9	0	0
14	5	23	15	8	8	4	4	0	0
15	19	121	99	22	48	38	8	0	2
16	13	48	21	27	10	10	0	0	0
17	15	47	32	15	16	16	0	0	0
18	23	129	96	33	59	50	4	1	4
19	25	61	28	33	14	13	0	0	1
20	14	52	39	13	20	20	0	0	0
21	19	40	14	26	5	5	0	0	0
22	19	223	52	171	24	24	0	0	0
23	10	54	42	12	21	19	1	1	0
	375	1640	1022	618	472	412	48	2	10

A= abortos; B= infertilidad; C= momificaciones; D= mortinatos