



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PREVALENCIA DE FIEBRE Q (*COXIELLA BURNETII*), MEDIANTE LA TÉCNICA DE
ELISA INDIRECTA EN OFIDIOS DE LAS FAMILIAS *BOIDAE* Y *VIPERIDAE* BAJO
CUIDADO PROFESIONAL

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médica Veterinaria

AUTORA: MELANNIE BETZABETH MORALES RODRIGUEZ

TUTOR: ING. MAURICIO XAVIER SALAS RUEDA, Mgtr.

Cuenca - Ecuador

2025

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Melannie Betzabeth Morales Rodriguez con documento de identificación N° 1720555034 manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 14 de febrero del 2025

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Melannie M.', enclosed within a large, loopy oval shape.

Melannie Betzabeth Morales Rodriguez

1720555034

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Melannie Betzabeth Morales Rodriguez con documento de identificación N° 1720555034, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Prevalencia de Fiebre Q (*Coxiella burnetii*), mediante la técnica de ELISA indirecta en ofidios de las familias *Boidae* y *Viperidae* bajo cuidado profesional”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médica Veterinaria, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 14 de febrero del 2025

Atentamente,



Melannie Betzabeth Morales Rodriguez

1720555034

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mauricio Xavier Salas Rueda con documento de identificación N° 0603329681, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: PREVALENCIA DE FIEBRE Q (COXIELLA BURNETII), MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA INDIRECTA EN OFIDIOS DE LAS FAMILIAS BOIDAE Y VIPERIDAE BAJO CUIDADO PROFESIONAL, realizado por Melannie Betzabeth Morales Rodriguez con documento de identificación N° 1720555034, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 14 de febrero del 2025

Atentamente,



Ing. Mauricio Xavier Salas Rueda, Mgr.

0603329681

Este trabajo va dedicado a mi madre que es mi guía y a
mis abuelos que han sido el pilar fundamental para mis
estudios.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mi madre Ximena, quien ha estado a mi lado en cada momento, tanto en los buenos como en los malos. Su apoyo y amor incondicional me ha ayudado a superar situaciones difíciles en las que mi mente me decía que no había solución ni motivación para seguir, gracias por toda enseñanza que me ha llevado hasta este punto en mi vida.

Agradezco a mis abuelos Carlos y Anita por su amor y cariño, además que sin su ayuda y apoyo no habría tenido la oportunidad de tener una educación de calidad.

Agradezco a mis amigos Tania, Jhon, Fernando y Diego, y a cada una de las personas que en algún punto han compartido conmigo un logro o una experiencia que me dejó una enseñanza valiosa.

Finalmente, expreso mi más sincero agradecimiento a Santiago, Edwin y Nelson, cuya colaboración fue fundamental para la recolección de datos. A Ernesto Arbeláez, por su apertura y disposición, y especialmente a mi tutor, Mauricio, cuyo conocimiento y constante apoyo hicieron posible la culminación de este trabajo.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Problema.....	16
1.2. Delimitación	16
1.2.1. Delimitación Espacial	16
1.2.2. Delimitación Temporal	18
1.2.3. Delimitación Académica	18
1.3. Explicación del problema	18
1.4. Objetivo	18
1.4.1. Objetivo General	18
1.4.2. Objetivos Específicos.....	18
1.5. Hipótesis	19
1.5.1. Hipótesis Alternativa.....	19
1.5.2. Hipótesis Nula	19
1.6. Fundamentación teórica.....	19
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL	20
2.1. Orden Squamata	20
2.2. Principales Especies que encontramos en el Bioparque	21
2.3. Manipulación y Contención del individuo	27

2.4.	Recolección y Manejo de Muestras.....	27
2.5.	Fiebre Q	28
2.5.1.	Generalidades	28
2.5.2.	Etiología y Taxonomía	29
2.5.3.	Ciclos de la enfermedad	30
2.5.4.	Vías de infección	30
2.5.5.	Patogenia	31
2.5.6.	Manifestaciones clínicas en animales y en humanos	33
2.5.7.	Método de diagnóstico	33
2.6.	ELISA.....	34
2.6.1.	Generalidades y Principio técnico.....	34
2.6.2.	Tipos de ELISA.....	35
2.7.	Resumen del estado del arte del estudio del problema.....	37
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.1.	Materiales Físicos	39
3.2.	Materiales Biológicos	40
3.3.	Población y Muestra	40
3.4.	Metodología y Procedimiento	41
3.4.1.	Obtención de las Muestras y Transporte	41
3.4.2.	Análisis de muestras.....	42
3.4.3.	Criterios de validación de la prueba	44

3.4.4.	Interpretación de Resultados	44
3.4.5.	Procesamiento de datos	45
3.4.6.	Diseño Estadístico	45
3.5.	Operalización de Variables.....	46
3.5.1.	Variables Dependientes.....	46
3.5.2.	Variables Independientes	46
3.6.	Consideraciones Éticas	46
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1.	Cuadros de frecuencia	49
5.	CONCLUSIONES	53
6.	RECOMENDACIONES	54
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	55
8.	ANEXOS.....	59

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Información Matacaballo del Oriente</i>	21
Tabla 2. <i>Información Matacaballo de la costa</i>	22
Tabla 3. <i>Información Boa Arcoíris</i>	23
Tabla 4. <i>Información Pitón de Birmania</i>	24
Tabla 5. <i>Información Pitón Reticulada</i>	25
Tabla 6. <i>Información Equis Terciopelo</i>	26
Tabla 7. <i>Materiales de oficina</i>	39
Tabla 8. <i>Materiales Físicos</i>	39
Tabla 9. <i>Materiales Biológicos</i>	40
Tabla 10. <i>Censo total Serpentario Amaru</i>	40
Tabla 11. <i>Interpretación para muestras de suero o plasma</i>	44
Tabla 12. <i>Variables Dependientes</i>	46
Tabla 13. <i>Variables Independientes</i>	46
Tabla 14. <i>Prevalencia Total de fiebre Q en serpientes</i>	48
Tabla 15. <i>Frecuencia de fiebre Q por familia</i>	50
Tabla 16. <i>Frecuencia de fiebre Q por antecedentes de garrapatas</i>	50
Tabla 17. <i>Frecuencia de fiebre Q por sexo</i>	51
Tabla 18. <i>Frecuencia de fiebre Q por espécimen</i>	52

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Bioparque Amaru Vista Satelital	17
<i>Figura 2.</i> Ubicación Georreferenciada del Bioparque Amaru	17
<i>Figura 3.</i> Matacaballo del Oriente	22
<i>Figura 4.</i> Matacaballo de la Costa	23
<i>Figura 5.</i> Boa Arcoíris	24
<i>Figura 6.</i> Pitón de Birmania.....	25
<i>Figura 7.</i> Pitón Reticulada	25
<i>Figura 8.</i> Equis Terciopelo	26
<i>Figura 9.</i> Punción vena caudal ventral.....	28
<i>Figura 10.</i> Punción vena palatina	28
<i>Figura 11.</i> Principales reservorios de <i>C. burnetii</i> . Vías de excreción en rumiantes y de infección en seres humanos.....	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>Gráfico 1.</i> Dinámica de Densidad Óptica	47
---	----

RESUMEN

La Fiebre Q es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico tiene gran relevancia tanto para la salud animal como para el bienestar de la población ecuatoriana. Si bien su mayor impacto se observa en la ganadería, es fundamental analizar todos los posibles focos de transmisión de esta enfermedad. En este contexto, se ha considerado la posible participación de las serpientes como vectores en su propagación, por lo que se ha decidido evaluar a la población del Bioparque Amaru, en la ciudad de Cuenca. Esta elección responde al hecho de que la mayoría de estas han sido rescatadas o decomisadas de distintas regiones del Ecuador, lo que permite obtener una muestra representativa de distintas regiones del país. Además, la interacción entre especies silvestres, patógenos y vectores ha sido poco estudiada en Ecuador, especialmente en el caso de enfermedades zoonóticas como la Fiebre Q. Los animales silvestres suelen estar implicados en la transmisión de ciertas enfermedades a poblaciones de animales domésticos, lo que resalta la importancia de identificar posibles patógenos zoonóticos en esta especie de reptil. Para la presente investigación se ha realizado un diagnóstico mediante la técnica ELISA indirecta en 32 muestras sanguíneas de animales aparentemente sanos, en donde se ha presentado una prevalencia del 0%.

ABSTRACT

Q Fever an infectious zoonotic disease that is highly relevant to both animal health and the well-being of Ecuadorian population. Although its greatest impact is observed in livestock, it is essential to analyze all potential sources of transmission. In this context, the possible role of snakes as vectors in its spread has been considered, leading to the decision to evaluate the population at Bioparque Amaru in the city of Cuenca. This choice is based on the fact that most of these specimens have been rescued or confiscated from various regions of Ecuador, providing a representative sample from different areas of the country. Furthermore, the interaction between wild species, pathogens, and vectors has been poorly studied in Ecuador, particularly in the case of zoonotic diseases such as Q fever. Wild animals are often involved in the transmission of certain diseases to domestic animal populations, highlighting the importance of identifying potential zoonotic pathogens in this reptile species. For this study, an indirect ELISA diagnostic test was performed on 32 blood samples from healthy animals, with a prevalence of 0% detected.

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación surgió ante la necesidad de entender los mecanismos de transmisión de la bacteria *Coxiella burnetii*, agente causal de la Fiebre Q, con el propósito de identificar los posibles vectores que podrían representar un riesgo tanto para seres humanos y como para otras especies de importancia para la salud pública. La Fiebre Q es una enfermedad de carácter zoonótica que ha sido ampliamente documentada en mamíferos domésticos, principalmente en bovinos, caprinos y ovinos, los cuales actúan como reservorios comunes de la bacteria. Sin embargo, el papel de otras especies como los reptiles, en este caso en serpientes sigue siendo poco estudiada.

Hay que tomar en cuenta que en la última década ha existido un aumento en la interacción entre seres humanos y fauna silvestre debido a factores como la expansión urbana, el comercio de animales exóticos y el ecoturismo. Este acercamiento con este tipo de fauna representa un posible riesgo al hablar de la transmisión de enfermedades zoonóticas. En este contexto, la presente investigación busca proporcionar información que será útil para aquellas comunidades en donde haya una interacción directa con fauna silvestre, con el fin de identificar y prevenir posibles brotes de esta enfermedad que afectan a la salud reproductiva de los animales y a la salud de los humanos.

En conclusión, este estudio representa un avance en el campo de la salud pública y de la epidemiología, al abordar la posible relación entre *Coxiella burnetii* y los reptiles. La información obtenida será de utilidad tanto para la comunidad científica como para aquellas poblaciones afectadas debido a su proximidad con estas especies.

1.1. Problema

Ecuador es uno de los países con mayor biodiversidad del mundo, según (Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, 2021) en el país existe “alrededor de 230 especies de serpientes de las cuales 35 son venenosas... Están concentradas principalmente en áreas cuyas altitudes son menores a los 2.500 m.s.n.m., en zonas de clima tropical y subtropical.” En el mismo informe se menciona que en el año 2021 se reportaron aproximadamente 628 mordeduras de serpientes. Al tomar en cuenta que estos animales podrían llegar a ser portadores de la enfermedad esta investigación no solo tiene alcance a nivel veterinario abre paso a que se pueda estar hablando de un peligro epidemiológico a nivel nacional.

Por otro lado, sabemos que Ecuador es un país biodiverso al hablar en términos culturales, étnicos, flora y fauna. Se menciona que en el territorio ecuatoriano “existen 498 especies de reptiles” (International Union for Conservation of Nature, 2023), si bien existen varios proyectos de conservación para la fauna silvestre son escasas las directrices que promueven un adecuado manejo preventivo para enfermedades infecciosas y parasitarias para esta especie.

El Bioparque Amaru tiene como visión ser una institución que promueve la investigación, manejo y sobre todo la conservación de la biodiversidad, por tal motivo es fundamental conocer los posibles problemas ocasionados por enfermedades infecciosas que podrían afectar la salud de estos animales y de sus cuidadores. Contribuyendo a evitar pérdidas significativas en la población del Bioparque y garantizar el bienestar animal en el futuro.

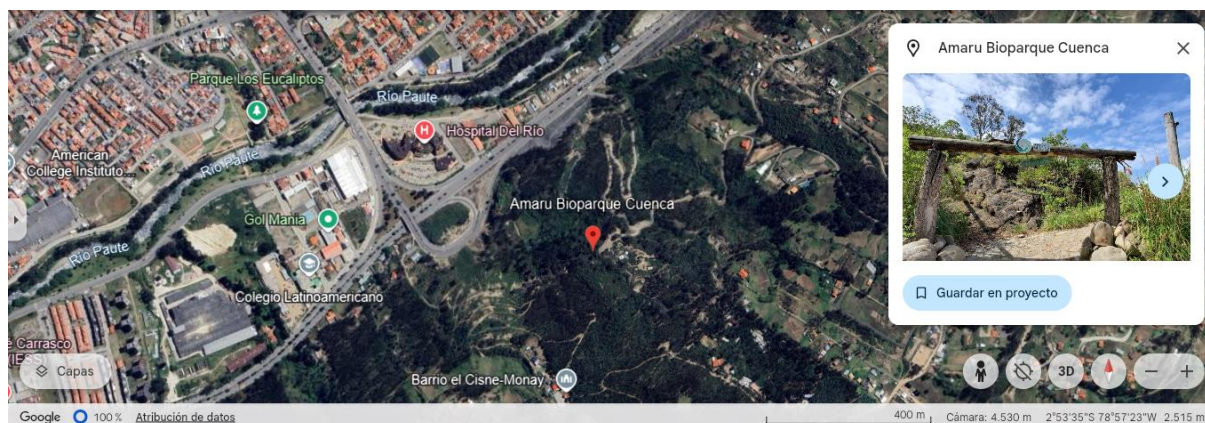
1.2. Delimitación

1.2.1. Delimitación Espacial

La recolección de muestras se realizó en el Bioparque Amaru ubicado en la provincia del Azuay en la ciudad de Cuenca ubicado “en la autopista Cuenca-Azogues en el Km 10 1/2 (sector

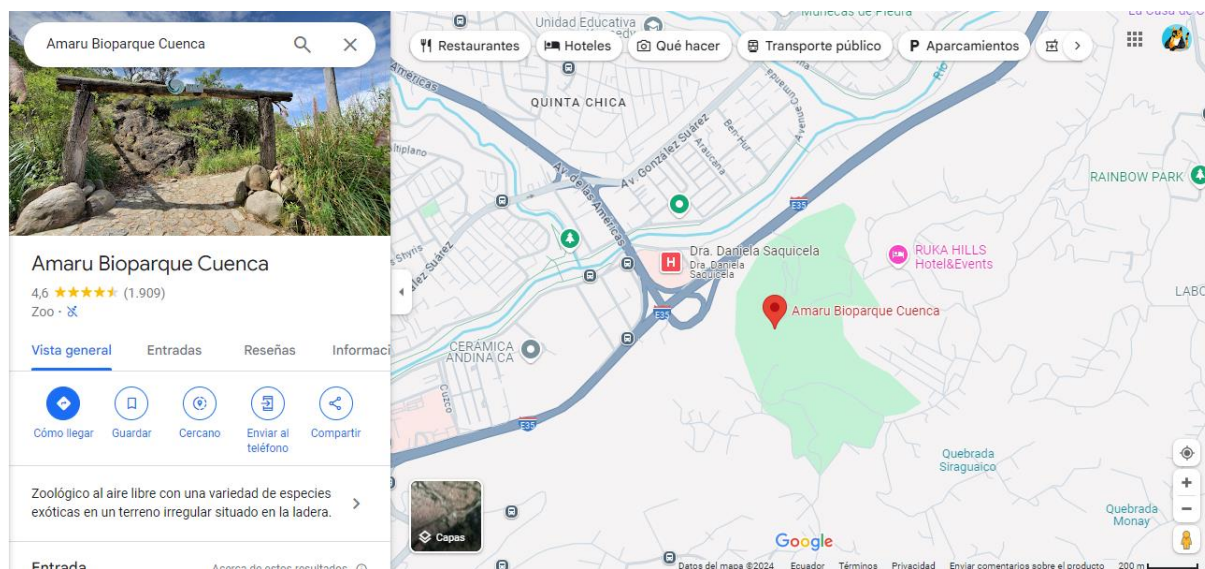
hospital del río)” (Bioparque Amaru, s.f). Se encuentra geográficamente en las coordenadas $2^{\circ}53'35''\text{S}$ $78^{\circ}57'23''\text{W}$ y a 2.515 m.s.n.m.

Figura 1. Bioparque Amaru Vista Satelital



Fuente: (Google Maps, 2024)

Figura 2. Ubicación Georreferenciada del Bioparque Amaru



Fuente: (Google Maps, 2024)

1.2.2. Delimitación Temporal

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en un total de 400 horas, las cuales incluyeron el trabajo experimental y la redacción.

1.2.3. Delimitación Académica

El presente trabajo experimental aporta conocimiento al área de Sanidad Animal y epidemiología, con el fin de ser útil en la prevención de enfermedades infecciosas y zoonóticas.

1.3. Explicación del problema

Según la Organización Mundial de la Sanidad Animal “La fiebre Q es una enfermedad generalizada causada por la bacteria *Coxiella burnetii*, que puede infectar a mamíferos, aves, reptiles y artrópodos.” (OMSA, 2022). Dado que las garrapatas son vectores importantes en la transmisión de esta enfermedad y considerando que muchos animales pueden haber estado expuestos a estas en algún punto de su vida, es crucial llevar a cabo este estudio.

La investigación no solo nos ayudara a entender esta enfermedad, sino que también esta representa un riesgo potencial en la salud pública ya que además de afectar a los trabajadores encargados del manejo afectaría a terceros como a voluntarios y a visitantes.

1.4. Objetivo

1.4.1. Objetivo General

Determinar la prevalencia de Fiebre Q (*Coxiella burnetii*), mediante la técnica de ELISA indirecta en ofidios de las familias *Boidae* y *Viperidae* bajo cuidado profesional dentro del Bioparque AMARU en la ciudad de Cuenca.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Detectar anticuerpos contra la Fiebre Q (*Coxiella burnetii*), en suero sanguíneo utilizando la técnica de ELISA indirecta.

- Calcular la prevalencia de Fiebre Q (*Coxiella burnetii*), en ofidios de las familias *Boidae* y *Viperidae*.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis Alternativa

La prevalencia de Fiebre Q en ofidios de las familias *Boidae* y *Viperidae* bajo cuidado profesional dentro del Bioparque AMARU en la ciudad de Cuenca es alta.

1.5.2. Hipótesis Nula

La prevalencia de Fiebre Q en ofidios de las familias *Boidae* y *Viperidae* bajo cuidado profesional dentro del Bioparque AMARU en la ciudad de Cuenca es baja.

1.6. Fundamentación teórica

Este estudio contribuye a la ampliación de datos sobre *Coxiella burnetii*, con el fin de analizar y comparar estudios similares que ayudaran a las comunidades a llevar un mejor control sobre la Fiebre Q y otras enfermedades que puedan afectar tanto a humanos como a los animales.

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1. Orden *Squamata*

Los ofidios, conocidos comúnmente como serpientes pertenecen al “orden *Squamata* que comprende: serpientes, lagartijas, lagartos e iguanas”. (Divers & Stahl, 2019, p. 50). Este orden se caracteriza por tener su cuerpo cubierto de escamas y mudar de piel periódicamente. Estos según (Guzmán et al, 2011) son característicos por tener escamas los cuales por evolución han perdido su cintura escapular y pélvica, además de tener una ausencia de patas.

Dentro de las serpientes hay dos subórdenes descritos por (Doneley et al., 2018) los cuales son *Alethinophidia* que incluyen boas, pitones, víboras, colúbridos y elapidos; y *Scolecophidia* que incluyen a las serpientes ciegas. Por otro lado, (O'Malley, 2007, p. 100) nos indica que “Existen cuatro principales familias dentro del suborden de los ofidios las cuales son: *Boidae*, *Viperidae*, *Colubridae* y *Elapidae*”. El presente trabajo se enfocará en las dos primeras antes indicadas, (Aguilar, Hernández, Divers, & Perpiñán, 2010); se menciona que la familia de los boídos incluye las Boas y a las Pitones las cuales tienen una alimentación constrictora y cuentan con fosas faciales receptoras infrarrojas, se distinguen por su manera de reproducirse, las Boas son vivíparas y proceden de América, y las Pitones son ovíparas, originarias de África, Asia y Australia. En (Guzmán et al. 2011) se menciona que esta especie es una de las más primitivas ya que se evidencia que estas conservan vestigios de patas, lo que es una evidencia de que este tipo de animales en la antigüedad andaba en cuatro patas.

La familia de los colúbridos comprende el 70% de las especies de serpientes (1.700 especies). Las cuales según (O'Malley, 2007) se encuentran mayormente distribuidas en América del Norte, estas se diferencian anatómicamente por tener “los dientes inyectoras de veneno en la parte posterior del maxilar, pero la mayoría de las especies no son peligrosas. Estas

serpientes más evolucionadas tienen un solo pulmón funcional, el derecho, y una sola arteria carótida, la izquierda” (O'Malley, 2007, p. 100).

Por último, los vipéridos es considerada como una de las serpientes más avanzada en términos evolutivos según (Guzmán et al., 2011) esto se debe a los colmillos desarrollados, así como de las fosetas loreales que son órganos termo-receptores, éstas de acuerdo con (O'Malley, 2007) “tienden a ser cortas y fornidas, con cabezas anchas, y pueden ser ovíparas o vivíparas. Tienen una sola arteria carótida, un pulmón, el derecho, y un maxilar acortado y articulado que le permite poner erectos los colmillos frontales”.

2.2. Principales Especies que encontramos en el Bioparque

A continuación, se detalla unas tablas con las principales especies identificadas en el Serpentario del Bioparque Amaru, incluyendo información relevante sobre su taxonomía, características y estado de conservación.

Tabla 1. *Información Matacaballo del Oriente*

Nombre Común	Nombre Científico	Familia	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Matacaballo del Oriente	<i>Boa Constrictor</i>	<i>Boidae</i>	•Cuerpo café o beige claro •Cola Rojiza •Marcas dorsales angulares y anchas en forma de silla •Longitud promedio de 2 a 3m	Bosques lluviosos, pastizales, tierras agrícolas y plantaciones.	Lista Roja de la UICN: No evaluada Lista Roja Carrillo: Vulnerable

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recopilada de (Pazmiño- Otamendi et al, 2024)

Figura 3. Matacaballo del Oriente



Fuente: (Ron, s.f.)

Tabla 2. Información Mataballo de la costa

Nombre Común	Nombre Científico	Familia	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Mataballo de la Costa	<i>Boa Imperator</i>	<i>Boidae</i>	•Cuerpo gris •Cola Amarillenta •Marcas dorsales angulares y anchas en forma de silla •Fanja media oscura en la cabeza con proyecciones laterales hacia los ojos •Longitud promedio de 2 a 3m	Bosques lluviosos, zonas semiáridas de bosques secos tropicales, pastizales, zonas semidesérticas, tierras agrícolas y plantaciones.	Lista Roja de la UICN: Preocupación menor Lista Roja Carrillo: Vulnerable

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recopilada de (Pazmiño- Otamendi et al, 2024)

Figura 4. Matacaballo de la Costa



Fuente: (Almeida, 2016)

Tabla 3. Información *Boa Arcoíris*

Nombre Común	Nombre Científico	Familia	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Boa Arcoíris	<i>Epicrates cenchria</i>	<i>Boidae</i>	- Dorsalmente café a café rojizo, volviéndose gris pálido o beige - Manchas en forma de anillos anaranjados cobrizos, rojizos o cafés amarillentos, que son delimitados por un anillo negro - Cabeza más oscura que el resto del cuerpo, con cinco franjas - Bajo la luz del sol presenta	Bosque Montano Oriental, Bosque Piemontano Oriental, Bosque Húmedo Tropical Amazónico.	Lista Roja de la UICN: No evaluada Lista Roja Carrillo: Preocupación menor

coloración azul iridiscente.

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recopilada de (Pazmiño- Otamendi et al, 2024)

Figura 5. Boa Arcoíris



Fuente: (Ron, s.f.)

Tabla 4. Información Pitón de Birmania

Nombre Común	Nombre Científico	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Pitón de Birmania	<i>Python bivittatus</i>	•Cuerpo marrón amarillento o gris •Manchas de color marrón rojizo delineadas en crema o dorado •Marca en forma de flecha en la parte superior de la cabeza que apunta hacia la nariz	Ambientes tropicales y subtropicales.	Lista Roja de la UICN: Vulnerable Lista Roja Carrillo: Vulnerable

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recaudada de (Campbell & Freedman, 2022)

Figura 6. Pitón de Birmania



. Fuente: (Irwin, 2024)

Tabla 5. Información Pitón Reticulada

Nombre Común	Nombre Científico	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Pitón Reticulada	<i>Python reticulatus</i>	•Cuerpo amarillento claro a marrón en la parte dorsal •Puede ser albina •Líneas negras que se extienden desde el área ventral de los ojos en diagonal hacia el hocico •Dimorfismo sexual: hembras más grandes	Selvas tropicales, bosques lluviosos y en zonas cercanas al agua	Lista Roja de la UICN: Preocupación menor

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recaudada de (Brown, 2016)

Figura 7. Pitón Reticulada



Fuente: (Mariluna, 2008)

Tabla 6. Información Equis Terciopelo

Nombre Común	Nombre Científico	Familia	Características	Hábitat	Estado de Conservación
Equis Terciopelo	<i>Bothrops asper</i>	Viperidae	• Cuerpo variable: habano, café, verde oliva, gris, café-grisáceo, rosado o casi negro • Franja postorbital café oscura que se extiende desde atrás del ojo hacia el ángulo de la boca y puede invadir las supralabiales • Patrón con triángulos negros o café negruzcos con bordes pálidos en cada lado del cuerpo • Dimorfismo sexual: machos pigmentación más oscura	Matorral Seco de la Costa, Bosque Deciduo de la Costa, Bosque Húmedo Tropical del Chocó, Bosque Piemontano Occidental, Bosque Montano Occidental	Lista Roja de la UICN: No evaluada Lista Roja de Carrillo: Preocupación menor

Fuente: Elaborado por el autor. Nota: Información recopilada de (Rodríguez, 2020)

Figura 8. Equis Terciopelo



Fuente: (Torres Carvajal, s.f.)

2.3. Manipulación y Contención del individuo

Se debe considerar que la manipulación de los individuos debe ser cuidadosa, buscando siempre el bienestar del personal, así como del animal, es por eso que (Herpetological Animal Care and Use Committee of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists, 2004) sugiere que la mejor manera de trabajar con estos animales es de manera silenciosa y con el mínimo personal necesario, de preferencia se debe trabajar en condiciones ligeramente oscuras que tienden a aliviar el estrés y tranquilizar a los animales. Para reducir el esfuerzo, el daño o el estrés al individuo se puede utilizar herramientas como ganchos, pinzas, etc. Como la toma de muestras se realizará de manera indirecta no será necesario el uso de fármacos tranquilizantes o sedantes.

2.4. Recolección y Manejo de Muestras

Para la venopunción de estos animales (Gómez & Torres, 2023), menciona que el equipo a utilizar es:

- Aguja Calibre 27 a 22
- Jeringas de 1 a 3cc
- Tubos sin anticoagulante
- Algodón y alcohol

En el Manual de Manejo y Toma de Muestras En Fauna Silvestre por (Toriano, 2013), nos enseña dos métodos de extracción, el método con sistema de vacío y el método con jeringa, el cual será utilizado. Además, (Divers, 2020) indica que los sitios de venopunción más comunes son la vena caudal ventral que se encuentra detrás de la cloaca, al utilizar esta vía se evita los hemipenes del macho y el sitio menos preferente es el corazón, (Toriano, 2013) nos da otra opción que es la vena palatina usada comúnmente en serpientes de gran tamaño. En las siguientes figuras se visualizará los sitios de punción venosa.

Figura 9. Punción vena caudal ventral.



Fuente: (Gómez & Torres, 2023)

Figura 10. Punción vena palatina.



Fuente: (Gómez & Torres, 2023)

2.5. Fiebre Q

2.5.1. Generalidades

En el libro (Mader, 1996) nos reporta que, en 1978, en Nueva York se reportaron casos de Fiebre Q en trabajadores de una compañía de importación de aves y de reptiles exóticos, para ser exactos en una importación de pitones, en la cual indica que se identificaron 3 tipos de garrapatas la cual es el principal vector de esta enfermedad, hay que tomar en cuenta que este dato es de gran importancia para esta investigación, si bien no se han reportado casos hay que tomar en cuenta que en la actualidad hay una creciente demanda en la tenencia de este tipo de

animales, (Bale, 2020) indica que “Entre 1997 y 2018, se exportaron legalmente 3,6 millones de pitones reales desde África occidental.”(párr. 3), además en el mismo artículo Hellebuyck, veterinario e investigador de patologías en fauna silvestre menciona que “se sabe que las serpientes y otros reptiles, por ejemplo, son portadores de cepas de salmonela, el virus del Nilo occidental y enfermedades transmitidas por garrapatas.” Con esta información se concluye que no se lleva un registro de enfermedades para estos animales por lo que es necesario este tipo de estudio ya que corre en riesgo la salud pública. Además, hay que hacer hincapié en lo dicho por (Fleitas et al., 2012-2013, p60) “a pesar de ser una enfermedad emergente o reemergente en muchos países, ha estado muy desatendida.”

2.5.2. Etiología y Taxonomía

Por otro lado, (The Center for Food Security and Public Health, 2007) indica que la Fiebre Q es causada por la infección de *Coxiella burnetii*, catalogado dentro de la familia *Rickettsiaceae*, la cual es descrita por (Fraile & Muñoz, 2010) como un bacilo Gram negativo, que es descrito por (Fleitas et al., 2012-2013) como una pequeña bacteria intracelular obligado, capsulado e inmóvil. Su aspecto según (Baca & Pareysky, 1983) “varía entre coco y bacilar, y sus dimensiones oscilan entre 0,4 y 1 micra de largo, y 0,2 y 0,4 micras de ancho”

Su taxonomía es la siguiente mencionada por (López, 2021) es

- Dominio: Bacteria.
- Reino: Monera.
- Filo: Proteobacteria.
- Clase: Proteobacteria Gamma.
- Orden: Legionellales.
- Familia: Coxiellaceae.

- Género: *Coxiella*.
- Especie: *Coxiella burnetii*.

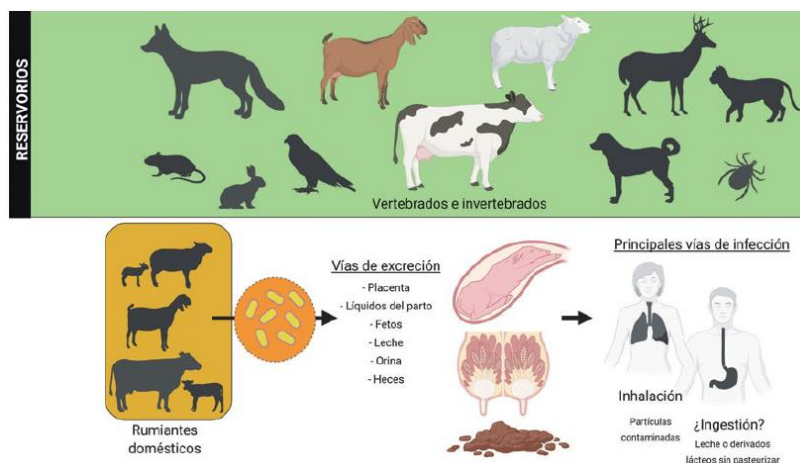
2.5.3. Ciclos de la enfermedad

La enfermedad presenta dos ciclos los cuales son mencionados por (Fleitas, et al. 2012-2013), el ciclo doméstico donde ocurre un contagio de animal a animal y el otro que es de interés de la investigación el ciclo salvaje que se ven involucrados hospedadores de la fauna silvestre a través de los vectores como son las garrapatas. Esto puede llevar a una interrelación, al saber que el hábitat natural de la mayoría de los ofidios son zonas tropicales y templadas, tomando en cuenta que en muchas de estas zonas se practica la ganadería podría existir una correlación entre estos dos ciclos.

2.5.4. Vías de infección

Se menciona que *C. burnetii* puede transmitirse por contacto directo con secreciones de animales contaminados, especialmente con fluidos como placenta, leche incluso orina y heces. (The Center for Food Security and Public Health, 2007). Por otro lado, (Maurin & Raoult, 1999) resalta que cuando la infección se da por vía aerógena las primeras células en ser infectadas durante la fase agua son los macrófagos alveolares. Se considera que la vía oral a través del consumo de leche o sus derivados no tiene tanta relevancia. (Arricau & Rodolakis, 2005).

Figura 11. Principales reservorios de *C. burnetii*. Vías de excreción en rumiantes y de infección en seres humanos.



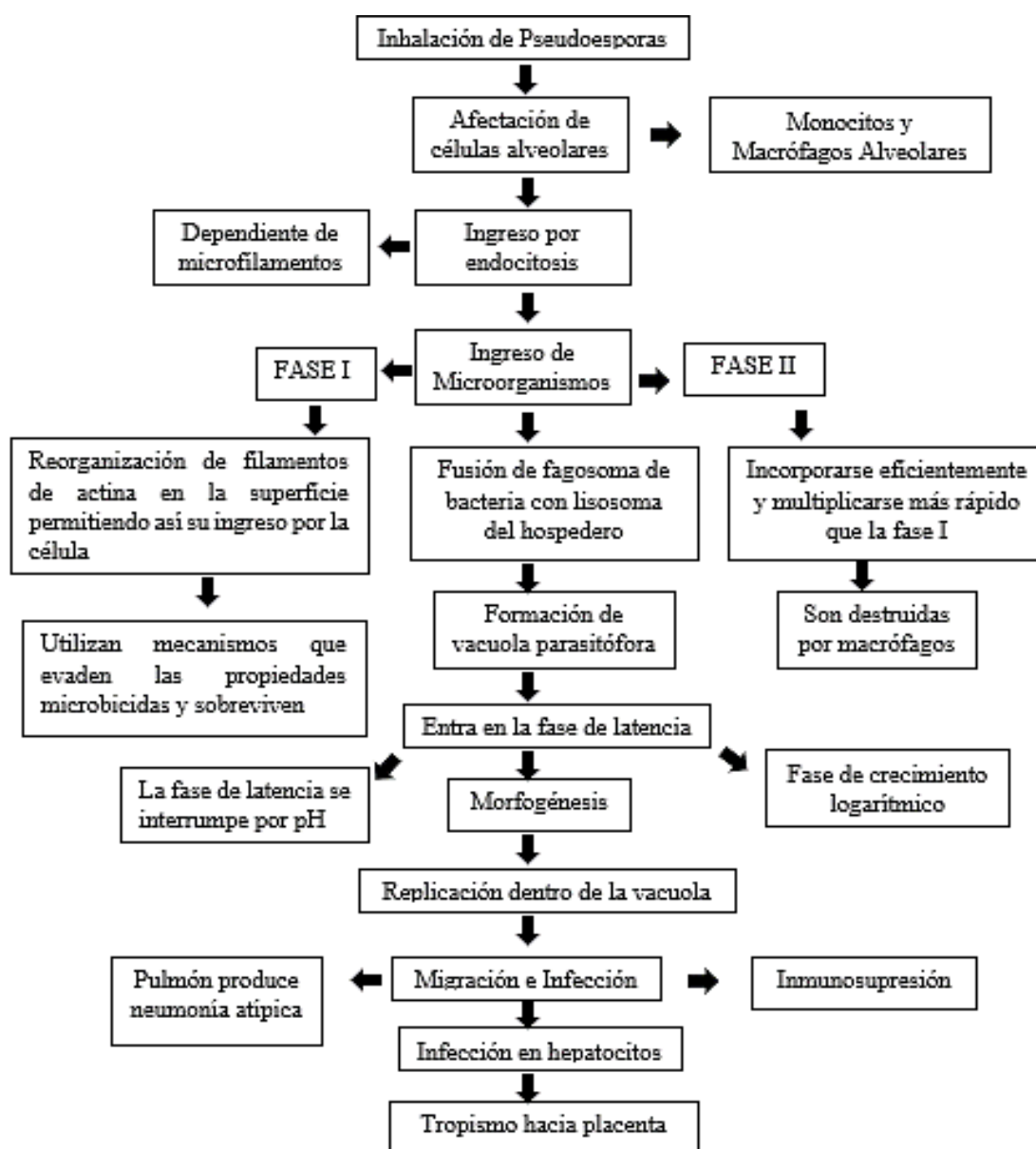
Fuente: (Rabaza, Fraga, & Giannitti, 2020)

2.5.5. Patogenia

Al hablar sobre la patogenia de la enfermedad (Roca, 2007) menciona que la enfermedad puede adoptar dos formas una aguda que se caracteriza por una reacción inflamatoria intensa en donde existe una mínima cantidad de microorganismos los cuales son eliminados con rapidez, y una crónica la cual se presenta por una reacción inflamatoria menos intensa, pero con una gran cantidad de bacterias, este tipo de reacción va a depender del sistema inmune de cada individuo. Por otro lado, (Bofill et al, 2007, pp. 35-38) indica que después de que la bacteria entre al huésped, el periodo de incubación es variable, pero este oscila entre los 15-30 días, en donde se va a producir “por vía hemática la generalización de este agente el cual alcanza los diferentes órganos donde va a producir su acción patógena, pulmones, útero de las hembras gestantes, ubre, etcétera.” Hay que considerar que la ruta de infección va a ser crucial al momento de hablar de la manifestación patológica (Fournier, Marrie, & Raoult, 1998).

Se menciona que la bacteria *C. burnetii* vive en vacuolas ácidas de macrófagos y monocitos, además (Fraile & Muñoz, 2010) resaltan que la bacteria puede crecer solo en células vivas y cuando esta afecta a animales y a humanos de forma natural se va a encontrar en Fase I la cual es altamente infecciosa. Para un mejor entendimiento sobre la patogenia presentamos el siguiente esquema.

Figura 12. Patogenia Fiebre Q.



Fuente: (Eldin, et al, 2017)

2.5.6. Manifestaciones clínicas en animales y en humanos

Como se mencionó anteriormente esta enfermedad puede llegar a afectar varias especies, sin embargo, en especies como los reptiles esta enfermedad puede ser asintomática según (Arricau & Rodolakis, 2005), pero en mamíferos suele causar abortos y nacidos muertos.

La enfermedad en humanos es una enfermedad ocupacional con sintomatología variable que se puede presentar como una gripe común o como lo menciona el mismo autor hasta un 60% de esta llega a ser asintomática por tal motivo (Marrie, 1990) menciona que esta enfermedad es muy difícil diagnosticar. Los casos agudos se caracterizan por fiebre de hasta 40° C., dolor de cabeza incluso neumonías además que se puede presentar hepatitis. (Arricau & Rodolakis, 2005).

2.5.7. Método de diagnóstico

Hay varios métodos de diagnóstico aparte del clínico como es el anatomopatológico, la cual se obtiene a través de muestras de tejidos de órganos infectados los cuales se analizan a través de la técnica de inmuno-peroxidasa (Brouqui, Dumler, & Raoult, 1994), asimismo (Fournier, Marrie, & Raoult, 1998) indican que se puede utilizar un sistema de ensayo de inmunofluorescencia ligado a enzimas, además de métodos de amplificación de ADN como es el método de PCR al detectar *C. burnetii* en muestras clínicas, la ventaja de este método es la alta sensibilidad y especificidad, finalmente tenemos diagnósticos serológicos como la micro aglutinación o el que utilizaremos para la investigación que es por medio del sistema de captura de antígeno mediante ELISA el cual el mismo autor muestra que este tiene una sensibilidad para el antígeno IgG del 80% y una especificidad mayor al 99%, mientras que al antígeno IgM tiene una especificidad y una sensibilidad del 84%.

2.6. ELISA

2.6.1. Generalidades y Principio técnico

“El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima o también conocido como ELISA fue introducido por primera vez en 1971 por Engvall y Perlman” (Arce-Mendoza, Rosas-Tarco, & Rodríguez-Tovar, 2007, pág. 155) esta ha tomado relevancia a nivel de diagnóstico por su gran sensibilidad y especificidad. Este método utiliza una enzima para medir la formación de complejos antígeno-anticuerpo. La técnica consiste en que “el marcador enzimático que se emplea se conjuga con un ligando, que puede ser un antígeno o un anticuerpo específico para el antígeno de interés o un anticuerpo para el anticuerpo primario.” (Guzmán E. , 2004), el mismo autor recalca que esta técnica se basa en varias teorías:

1. El antígeno y anticuerpo pueden enlazarse a una superficie portadora insoluble y retener su reactividad inmunológica.
2. Las enzimas tienen actividad específica alta y convierten una cantidad relativamente grande de sustrato en producto detectable, lo que permite detectar concentraciones muy bajas del ligando.
3. La actividad enzimática o reactividad inmunológica de los conjugados se preserva y permanece estable durante el análisis y el almacenamiento
4. Las enzimas no están presentes en el líquido biológico que se va a analizar.

(Guzmán, 2004, p48)

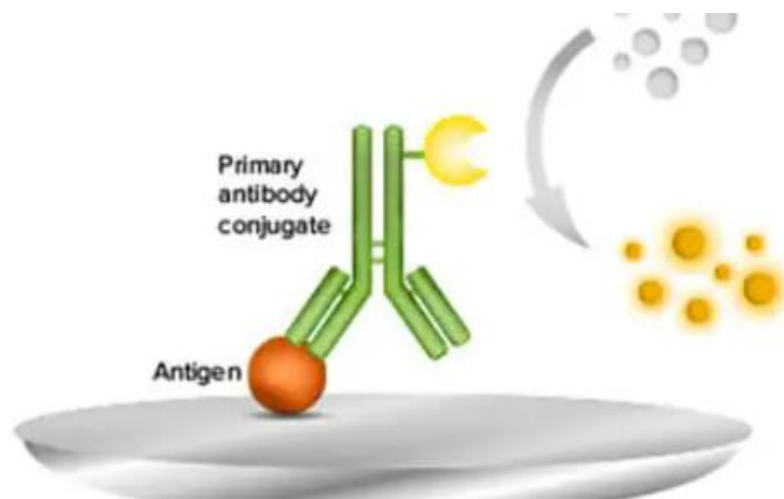
Además, se conoce que existen cuatro tipos principales de ELISA: directo, indirecto, competitivo y tipo sándwich. (Molecular Devices, s.f.).

2.6.2. Tipos de ELISA

2.6.2.1. ELISA Directo

Se conoce gracias a (Abyntek, 2019) que en este tipo de ELISA es el más rápido y simple, ya que se en los pocillos de la microplaca se encuentra el antígeno específico, al momento de añadir la muestra, en el caso de existir un anticuerpo este se unirá de inmediato permitiendo la detección de este.

Figura 13. ELISA Directo.

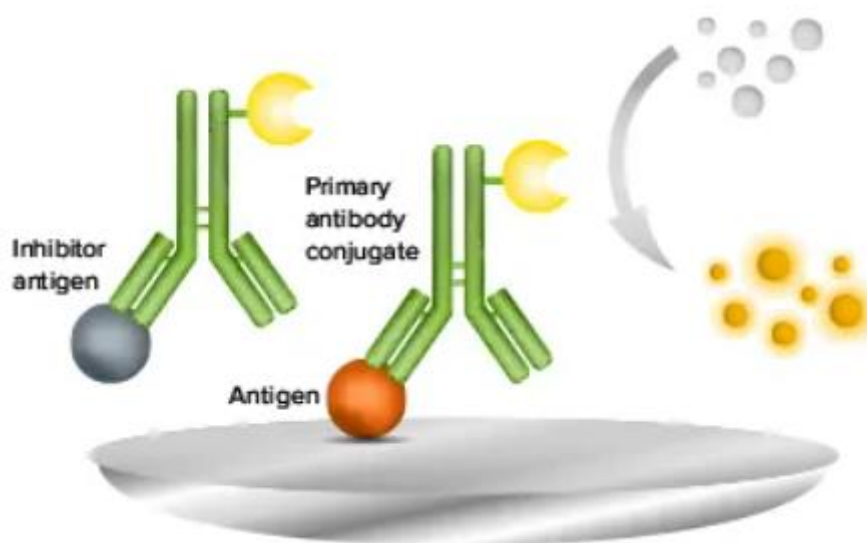


Fuente: (Molecular Devices, s.f.)

2.6.2.2. ELISA Competitivo

Este tipo de procedimiento se utiliza para detectar antígenos presentes en pequeñas cantidades (Abyntek, 2019), en este el pocillo de la microplaca contiene un antígeno de referencia, se añade la muestra junto a un anticuerpo primario previamente incubado, al añadir esta mezcla el antígeno de referencia competirá con el antígeno presente en la muestra por la unión al anticuerpo (Molecular Devices, s.f.).

Figura 14. ELISA Competitivo.

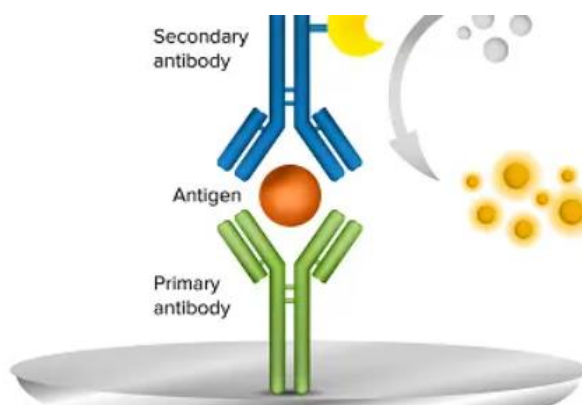


Fuente: (Molecular Devices, s.f.)

2.6.2.3. ELISA Tipo Sándwich

En este se utiliza dos anticuerpos específicos, uno de captura que se encuentra inmóvil en la placa, al colocar la muestra que contiene el antígeno se añade el segundo anticuerpo que esta conjugado a una enzima de detección, logrando que el par de anticuerpos se unan a epítomos diferentes del antígeno, permitiendo su identificación. (Abyntek, 2019).

Figura 15. ELISA Tipo Sandwich.

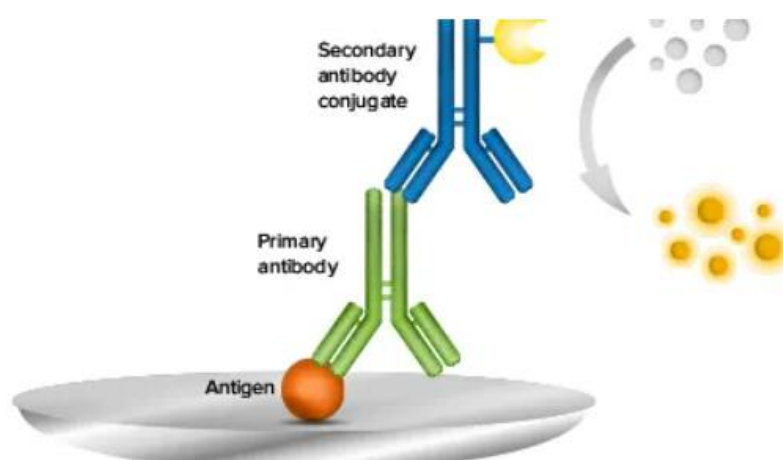


Fuente: (Molecular Devices, s.f.)

2.6.2.4. ELISA Indirecto

Finalmente, para este estudio utilizaremos el método de ELISA indirecto el cual consiste en el análisis de antisueros o sobrenadantes, en estos se observará anticuerpos específicos de la enfermedad. Consiste en que el antígeno se encuentra en el fondo del pocillo de la microplaca en donde se añade un anticuerpo primario y uno secundario conjugado que permite la detección.

Figura 16. ELISA Indirecto.



Fuente: (Molecular Devices, s.f.)

2.7. Resumen del estado del arte del estudio del problema

Como se ha mencionado anteriormente la Fiebre Q transmitida por *C. burnetii* es una enfermedad de gran relevancia a nivel de Salud Pública y Animal, por tal motivo se ha realizado varios estudios que aportan información para un mejor entendimiento de esta enfermedad.

Siroký et al. (2010) realizan un estudio con garrapatas de tortuga *Hyalomma aegyptium* con el fin de analizar como esta garrapata puede albergar al patógeno *C. burnetii* durante largos periodos, sugiriendo que esta garrapata puede contribuir a la transmisión de Fiebre Q, en ambientes donde las tortugas y las garrapatas tienen interacción con otros animales y humanos. Este hallazgo tiene relevancia epidemiológica ya que resalta el papel de esta enfermedad en reservorios no convencionales.

Por otro lado, tomando referencias que son de importancia a nivel nacional Palacios (2022), examina la prevalencia de Fiebre Q en bovinos de fenotipo lechero, en donde las muestras analizadas presentaron un 15% positivo para anticuerpos contra *C. burnetii*, los resultados son un punto clave para la implementación de controles sanitarios y programas de vigilancia en el ganado lechero.

Además, (Guamá, 2021), investigó la prevalencia de esta enfermedad en cobayos criados en pequeñas explotaciones familiares, este estudio presento un 8% de cobayos positivos a anticuerpos de *C. burnetii*, si bien esto indica una exposición baja, sigue siendo de gran relevancia ya que estos animales podrían actuar como reservorios potenciales en el entorno doméstico, representando un riesgo para la Salud Pública en áreas rurales.

Finalmente, Torres (2021) evaluó la presencia de anticuerpos de *C. burnetii* en perros aparentemente sanos que fueron esterilizados durante campañas, del total de muestras recolectadas se presentó un 10% de presencia de anticuerpos contra *C. burnetii*. Este hallazgo sugiere que animales de compañía que se encuentran en contacto continuo con humanos pueden ser portadores asintomáticos de la enfermedad, destacando la necesidad de monitorear esta enfermedad en animales de compañía debido a su potencial papel en la transmisión zoonótica en áreas urbanas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales Físicos

Tabla 7. *Materiales de oficina*

Descripción	Unidad	Cantidad
Computadora	Unidad	1
Resma de papel Bond (A4)	Unidad	1
Marcador Permanente	Unidad	1
Esferos	Unidad	2

Tabla 8. *Materiales Físicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Tubo tapa roja (10cc)	Caja de 100 unidades	3
Tubo Eppendorf 1,5 ml	Funda	1
Guantes nitrilo	Caja	1
Alcohol 1L	Unidad	1
Algodón 500 gr	Unidad	1
Hielera Cooler	Unidad	1
Centrifugadora	Unidad	1
Pipeta Automática	Unidad	3
Jeringas de 3ml	Caja de 100 unidades	1

3.2. Materiales Biológicos

Tabla 9. *Materiales Biológicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Kit ELISA ID Screen ®	Caja	1
Q Fever Indirect Multi-species	Unidad	90

3.3. Población y Muestra

La población total del serpentario de las familias mencionadas dentro del Bioparque Amaru es de 90 especímenes de los cuales se tomará como muestra la población que sea viable para la toma de sangre, es decir que las serpientes de menor tamaño no serán evaluadas ni aquellas especies que se consideren vulnerables y únicas en el Bioparque. El censo total se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 10. *Censo total Serpentario Amaru*

Nº DE INDIVIDUOS	NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	ESTADO DE CONSERVACION
30	<i>Bothrops asper</i>	Equis terciopelo	No evaluada / Preocupación menor
10	<i>Bothrops freirelasconi</i>	Equis del Rio León	No determinado
1	<i>Bothrops atrox</i>	Hoja podrida	No evaluado / Preocupación menor
3	<i>Bothrops lojanus</i>	Víbora Macanchi	No evaluada /En peligro
1	<i>Bothrocophias microphthalmus</i>	Equis tigre amazónica	No evaluada / Vulnerable
2	<i>Bothrocophias hyoprora</i>	Nariz de puerco	No evaluada /Preocupación menor
1	<i>Lachesis muta</i>	Yamunga	No evaluada / Vulnerable
2	<i>Bothrocophias microphthalmus</i>	Equis tigre	No evaluada / Vulnerable
1	<i>Bothriechis schlegelii</i>	Cabeza de candado	No evaluada / Casi amenazada
1	<i>Crotalus durissus ruruima</i>	Cascabel tropical	Preocupación menor (LC)
1	<i>Bothrocophias campbelli</i>	Víbora Curruncha	No evaluada / Preocupación menor
1	<i>Porthidium arcossae</i>	Sabanera	No evaluada /En peligro
1	<i>Pantherophis guttatus</i>	Serpiente de maíz	Preocupación menor (LC)
4	<i>Mastigodryas reticulatus</i>	Serpiente reticulada o sayama	Casi amenazada (NT)
1	<i>Python bivittatus</i>	Pitón de Birmania	Vulnerable (VU)
3	<i>Boa constrictor imperator</i>	Matacaballo costero	Preocupación menor (LC)
1	<i>Oxybelis brevirostris</i>	Culebra Bejuquillo	Preocupación menor (LC)
1	<i>Phrynonax shopshirei</i>	Culebra estrella	Preocupación menor (LC)

1	<i>Leptodeira ornata</i>	Serpiente ojos de gato del Norte	Datos insuficientes (DD)
1	<i>Sibon nebulata</i>	Serpiente caracolera	Preocupación menor (LC)
1	<i>Imantodes cenchoa</i>	Culebra cordoncillo	Preocupación menor (LC)
1	<i>Drymarchon melanurus</i>	Colambo	Preocupación menor (LC)
1	<i>Chironius grandiscuamis</i>	Chonta tigres	Preocupación menor (LC)
1	<i>Erythrolampus fraseri</i>	Serpiente corredora	Preocupación menor (LC)
1	<i>Epicrates cenchria</i>	Boa arcoíris	No evaluada
5	<i>Boa constrictor constrictor</i>	Boa mataballo amazónica	Vulnerable (VU)
2	<i>Boa constrictor ortonii</i>	Boa lojana	No determinado
3	<i>Corallus hortulanus</i>	Boas de jardín	No evaluada
5	<i>Boa constrictor imperator</i>	Boa mataballo costera	No evaluada
2	<i>Eunectes marinus</i>	Anaconda verde	No evaluada / En peligro
1	<i>Python bivittatus</i>	Pitón de Birmania	Vulnerable (VU)
1	<i>Python bivittatus</i>	Pitón de Birmania albina	Vulnerable (VU)
2	<i>Malayopython reticulatus</i>	Pitón reticulada	Vulnerable (VU)
1	<i>Malayopython reticulatus</i>	Pitón reticulada albina	Vulnerable (VU)

Nota: Datos proporcionados por Bioparque Amaru

3.4. Metodología y Procedimiento

3.4.1. Obtención de las Muestras y Transporte

La extracción de sangre se llevó a cabo en días de menor carga laboral para los responsables del manejo de serpientes. Se obtuvo entre 0.5 y 1 ml de sangre, la cual fue centrifugada de inmediato a 5000 revoluciones por minuto durante 5 minutos. El suero se recolectó de manera inmediata utilizando una micropipeta para evitar la contaminación de la muestra. Posteriormente, el suero se depositó en un tubo Eppendorf previamente etiquetado.

Estos fueron transportados de inmediato en un cooler con gel refrigerante para garantizar su integridad, hasta su llegada a los laboratorios de la universidad. Los tubos con suero se mantuvieron bajo congelación hasta que se finalizó la recolección total de muestras

Para cada individuo se completó un registro que incluye todos los datos de identificación: especie, sexo, origen, terrario de residencia y, el dato más importante para esta investigación, los antecedentes relacionados con infestaciones de garrapatas.

3.4.2. Análisis de muestras

El análisis de muestra es un paso crítico para cualquier investigación ya que de esta dependerá la obtención de resultados confiables. En este caso, las muestras de suero recolectadas han seguido un riguroso proceso de preparación previo a ser utilizadas en la prueba ELISA indirecta. A continuación, se detalla el protocolo completo seguido para el procesamiento de muestras para la ejecución de la prueba ELISA.

3.4.2.1. Preparación de las muestras

En primer lugar, se deberá descongelar las muestras lentamente a temperatura ambiente, evitando las variaciones bruscas de temperatura, una vez descongeladas se mezcla suavemente el suero en los tubos Eppendorf para garantizar homogeneidad y prevenir la sedimentación de proteínas o partículas, de ser necesario las muestras deberán ser centrifugadas nuevamente con el fin de eliminar cualquier posible precipitado que pudiera interferir con el análisis.

3.4.2.2. Preparación de la solución de lavado

Según las especificaciones del fabricante, “es necesario equilibrar la Solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente y agitar correctamente para obtener la disolución de los cristales. Preparar la Solución de lavado (1X) diluyendo al 1:20 la Solución Concentrada (20X) con agua destilada/desionizada. Los resultados pueden ser influenciados dependiendo de la calidad del lavado, por tal motivo hay que asegurarse que los pocillos se encuentren completamente vacíos entre cada lavado.” (Innovative Diagnostics, 2017)

3.4.2.3. Procedimiento

Colocar todos los reactivos a temperatura ambiente 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados y homogenizarlos por vortex o por inversión.

Para muestras de suero o plasma (Innovative Diagnostics, 2017) da las siguientes indicaciones:

1. Las muestras son ensayadas a la dilución final 1:50 como sigue:
 - a. En una placa de pre-dilución, añadir:
 - 5 μl de Control Negativo a los pocillos A1 y B1.
 - 5 μl de Control Positivo a los pocillos C1 y D1.
 - 5 μl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
 - 245 μl de Diluyente 2 a cada pocillo.
 - b. En la placa ELISA, añadir:
 - 100 μl del Control Negativo pre-diluido en los pocillos A1 y B1,
 - 100 μl del Control Positivo pre-diluido en los pocillos C1 y D1,
 - 100 μl de las muestras pre-diluidas como preparadas previamente.
2. Cubrir la placa e incubar 45 min $\pm$ 4 min a 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).
3. Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300 μl de Solución de lavado. Evitar el secado de los pocillos entre los lavados

Para todos los procedimientos

4. Preparar el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado Concentrado 10X al 1:10 en el Diluyente 3.
5. Añadir 100 μl de Conjugado 1X a cada pocillo.
6. Cubrir la placa e incubar 30 min $\pm$ 3 min a 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).

7. Vaciar los pocillos. Lavar 3 veces cada pocillo con al menos 300 µl de Solución de lavado. Evitar el secado de los pocillos entre los lavados.
8. Añadir 100 µl de la Solución de revelación a cada pocillo.
9. Cubrir la placa e incubar 15 min ± 2 min a 21°C (± 5°C) en la oscuridad.
10. Añadir 100 µl de Solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden que en el paso N°8 para detener la reacción.
11. Leer la densidad óptica a 450 nm.

3.4.3. Criterios de validación de la prueba

La prueba es validada si:

- La densidad óptica media del Control Positivo (DO_{CP}) es superior a 0.350.

$$DO_{CP} > 0.350$$

- El cociente del promedio de las densidades ópticas de los Controles Positivo y Negativo (DO_{CP} y DO_{CN}) es superior a 3.

$$DO_{CP} \text{ y } DO_{CN} > 3$$

3.4.4. Interpretación de Resultados

Para cada muestra, calcular el porcentaje S/P (S/P%):

$$S/P \% = \frac{DO_{muestras} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} * 100$$

Tabla 11. Interpretación para muestras de suero o plasma

Suero o Plasma	
RESULTADO	ESTATUS
$S / P \% \leq 40\%$	Negativo
$40\% < S / P \% \leq 50\%$	Dudoso
$50\% < S / P \% \leq 80\%$	Positivo
$S / P \% > 80\%$	Positivo Fuerte

Fuente: (Innovative Diagnostics, 2017)

3.4.5. Procesamiento de datos

Con los datos obtenidos de la prueba de ELISA se construirá la base de datos en EXCEL y posteriormente el procesamiento y cálculo de prevalencias se realizará con el software EPINFO 7.0

3.4.6. Diseño Estadístico

El registro de datos se realizó en base a una ficha de campo donde se tomó en cuenta el sexo del individuo a estudiar si estas tienen antecedentes de garrapatas y su origen, es decir si estas crecieron bajo cuidado profesional o fueron rescatadas de su hábitat natural.

Para el cálculo de la prevalencia de Fiebre Q, se empleó la siguiente fórmula:

$$P = \frac{\text{muestras positivas de Fiebre Q}}{\text{total de muestras}} * 100$$

Estos datos son necesarios para un análisis descriptivo entre los valores obtenidos de la prevalencia en comparación con los factores anteriormente mencionados. Esto es muy importante, ya que ayudará a entender cómo cada uno de estos aspectos influye en la salud y el bienestar de las especies de ofidios. Con esta información, se podrá tomar decisiones para la conservación y protección de estos reptiles, lo que contribuirá a asegurar su supervivencia en el futuro.

3.5. Operalización de Variables

3.5.1. Variables Dependientes

Tabla 12. *Variables Dependientes*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Prevalencia de anticuerpos en ofidios de las familias <i>Boidae</i> y <i>Viperidae</i> a partir de análisis serológico	• Biológica: Suero Sanguíneo	• Volumen de suero • Medición de anticuerpos	• Mililitro (ml) • Densidad Óptica

3.5.2. Variables Independientes

Tabla 13. *Variables Independientes*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Ofidios de las familias <i>Boidae</i> y <i>Viperidae</i>	• Familias • Antecedentes de garrapatas	• $\frac{S}{P} \%$ • Si/No/Desconocido	+/-

3.6. Consideraciones Éticas

En este apartado se debe tomar en cuenta el rol que se cumple como investigadores, es necesario destacar que esta enfermedad es de importancia dentro de la Salud Pública, hay que tomar en cuenta que en el territorio ecuatoriano la Agencia de Regulación y Control Fito Zoosanitario en la resolución 0008, en el artículo dos menciona que “Toda persona natural o jurídica dentro de las cuales, están principalmente productores, médicos veterinarios... están obligados a notificar a la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario cualquier

sospecha, diagnóstico o presencia de las enfermedades contenidas en el Anexo 1” (Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario, 2019) dentro de las cuales se encuentra la Fiebre Q.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico serológico mediante ELISA indirecta se realizó en suero de 32 serpientes aparentemente sanas de las familias *Boidae* y *Viperidae*. Los resultados evidenciaron una seropositividad de 0% y una seronegatividad del 100%, lo que indica la ausencia de anticuerpos detectables de *Coxiella burnetii* en los especímenes analizados. Este hallazgo es relevante, ya que sugiere que los ofidios mantenidos bajo cuidado profesional no constituyen un reservorio significativo para la bacteria. Sin embargo, es importante considerar que estudios en poblaciones más amplias o en condiciones silvestres podrían arrojar resultados distintos, los resultados se observan en la siguiente tabla.

Tabla 14. *Prevalencia Total de fiebre Q en serpientes*

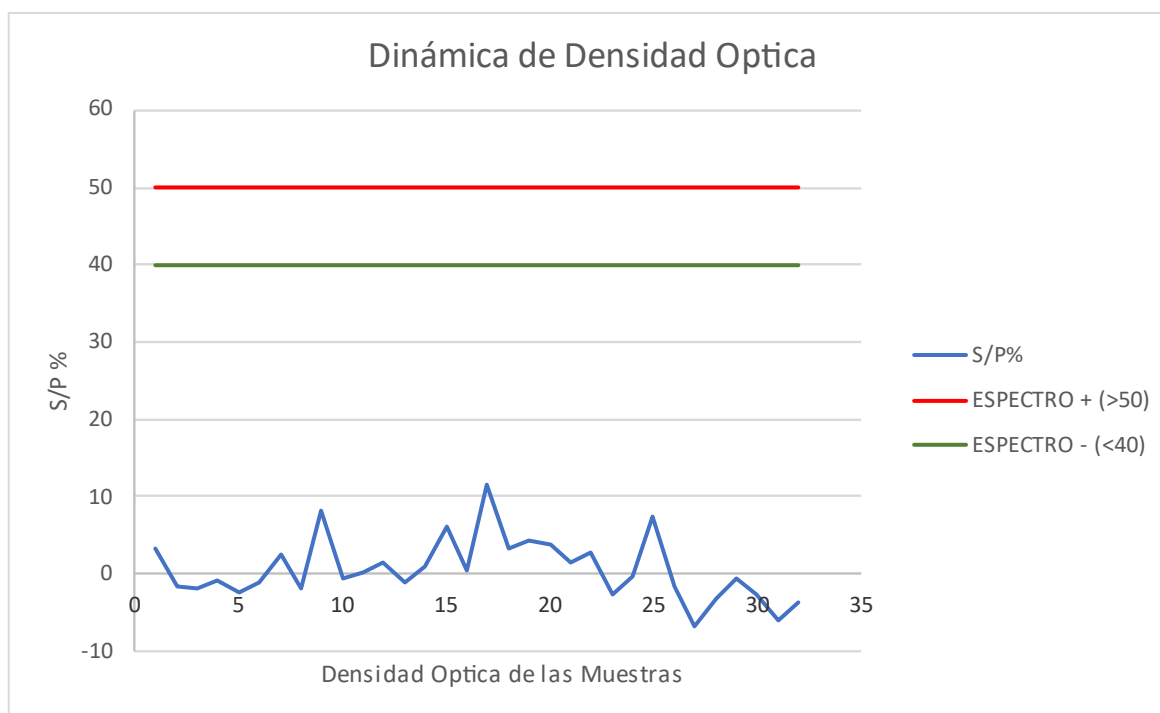
Prevalencia Total	Frecuencia	Prevalencia	LI 95%	LS 95%
Negativo	32	100,00	89,11	100,00
Total	32	100,00		

Fuente: Elaborado por el autor

En el siguiente gráfico se puede observar la relación entre la densidad óptica de las muestras analizadas y el porcentaje S/P%, el cual es un indicador para determinar la presencia de anticuerpos frente a un patógeno. Podemos observar que todas las muestras analizadas presentan valores de S/P% por debajo del umbral negativo (<40%), lo que confirma la ausencia de muestras seropositivas en el estudio. Debemos tomar en cuenta que, aunque el ELISA indirecto es una técnica de alta sensibilidad de detección de anticuerpos, su interpretación puede verse afectada por factores como la especificidad del antígeno utilizado además se debe contemplar que “La inmunología de los reptiles no ha sido estudiada en profundidad” (Muñoz Tenería, 2001) por lo cual desconocemos la capacidad de los ofidios para generar una respuesta humoral frente a la bacteria, asimismo hay que tomar en cuenta que no todos los especímenes

han sido expuestos a reservorios o vectores de *Coxiella burnetii* en su entorno, lo que disminuye el riesgo de infección en estos animales.

Gráfico 1. Dinámica de Densidad Óptica



Fuente: Elaborado por el autor

4.1. Cuadros de frecuencia

La distribución de individuos analizados por familia mostró que el 68.75% de las serpientes pertenecían a la familia *Boidae* y el 31.25% a la familia *Viperidae*, se incluye esta separación en el estudio debido a que los hábitos ecológicos y la interacción con potenciales vectores pueden variar entre ellas. En un estudio en un ámbito silvestre debemos considerar que la familia *Boidae* suele ser más terrestre o semi-arbórea por lo que podrían tener menor contacto con garrapatas, mientras que la familia *Viperidae* suelen habitar en zonas más húmedas y de mayor contacto con artrópodos. No obstante, la presencia de casos negativos sugiere que el riesgo se reduce significativamente en un ambiente controlado.

Tabla 15. *Frecuencia de fiebre Q por familia*

Familia	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Boidae	22	68,75	49,99	83,88
Viperidae	10	31,25	16,12	50,01
Total	32	100,00		

Fuente: Elaborado por el autor

Dado que los artrópodos que incluyen a las garrapatas pueden actuar como vectores de *Coxiella burnetii*, es de gran importancia analizar los antecedentes de infestaciones de garrapatas de las serpientes estudiadas. Se encontró que el 25% de los individuos analizados tenían antecedentes de garrapatas, mientras que el 18.75% no había registrado exposición y un 56.25% tenía un historial desconocido, esto se debe a que el Bioparque Amaru funciona como un centro de rescate por lo que llegan animales que han sido encontrados en lugares fuera de su hábitat natural como en camiones de transporte por lo cual no se conoce su historial médico lo que es una limitación importante ya que impide evaluar con precisión una posible correlación entre la infestación de ectoparásitos y la exposición a *Coxiella burnetii*.

Tabla 16. *Frecuencia de fiebre Q por antecedentes de garrapatas*

Garrapatas	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
No	6	18,75	7,21	36,44
Desconocido	18	56,25	37,66	73,64
SI	8	25,00	11,46	43,40
Total	32	100,00		

Fuente: Elaborado por el autor

El análisis por sexo muestra un marcado predominio de hembras (87.50%) frente a machos (12.50%) en la población estudiada. En términos epidemiológicos, (Klein & Flanagan, 2016) menciona que el sexo puede influir en la respuesta inmunológica a antígenos extraños y propios al cuerpo. Por otro lado, (Zimmerman, Vogel, & Bowden, 2010) menciona que ciertos estudios han demostrado que no hay diferencias sexuales en la proliferación de linfocitos en reptiles, hay que tomar en cuenta que los linfocitos con exactitud los de tipo B son los encargados de elaborar anticuerpos para luchar contra bacterias y otros patógenos. Sin embargo, en el mismo artículo se menciona que en 1989, en un estudio elaborado por Abdel Saad en Serpientes de arena rayada las hembras presentaron una mayor proliferación de linfocitos en respuesta con Concanavalina A (Con A) y Fitohemaglutinina (PHA). En todo caso, en este estudio no se encontraron casos positivos, lo que impide evaluar si existe una diferencia en la susceptibilidad a *Coxiella burnetii* entre hembras y machos.

Tabla 17. Frecuencia de fiebre Q por sexo

Sexo	Frecuencia	Porcentaje	LI 95	LS 95%
H	28	87,50	71,01	96,49
M	4	12,50	3,51	28,99
Total	32	100,00		

Fuente: Elaborado por el autor

Por último, el análisis de la seroprevalencia tomando en cuenta la especie, muestra que las *Boa constrictor*, la *Boa imperator* y la *Bothrops asper* fueron las especies más significativas en la muestra. La ausencia de casos positivos nos indica que la especie no desempeña un papel determinante en la epidemiología de la Fiebre Q bajo cuidado profesional.

Es importante destacar que según (Garman, 1984) la especie *Bothrops asper* suele tener hábitos terrestres además de que esta habita principalmente en regiones húmedas, lo que implica

un mayor riesgo de infección en condiciones naturales, esto coincide con los registros obtenidos ya que la mayoría de estos individuos llegaron al Bioparque infestados de garrapatas.

Es de gran relevancia resaltar este tipo de frecuencia con el fin de que en algún próximo estudio se encontraran casos positivos se pueda realizar un mapeo epidemiológico en base al origen de las especies analizadas.

Tabla 18. *Frecuencia de fiebre Q por espécimen*

Nombre Científico	Nombre Común	Frecuencia	Porcentaje	LI 95%	LS 95%
Epicrates cenchria	Boa Arcoíris	1	3,13	0,08	16,22
Boa constrictor	Matacaballo	7	21,88	9,28	39,97
	Amazónica				
Boa imperator	Matacaballo Costera	7	21,88	9,28	39,97
Boa ortonii	Boa Lojana	2	6,25	0,77	20,81
Bothrocophias microphthalmus	Equis Tigre	1	3,13	0,08	16,22
Bothrops asper	Equis terciopelo	6	18,75	7,21	36,44
Bothrops freirelasconi	Equis del Río León	3	9,38	1,98	25,02
Malayopython reticulatus	Pitón Reticulada	2	6,25	0,77	20,81
Python bivittatus	Pitón de Birmania	3	9,38	1,98	25,02
Total		32	100,00		

Fuente: Elaborado por el autor

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mediante ELISA indirecta evidencian una seroprevalencia del 0%, lo que indica la ausencia de anticuerpos detectables contra *Coxiella burnetii* en los especímenes analizados. Estos hallazgos permiten aprobar la hipótesis nula, ya que la prevalencia total resulto ser baja o en este caso nula.

Los datos obtenidos sugieren que los ofidios bajo cuidado profesional no desempeñan un papel relevante como reservorios para la bacteria en el Bioparque Amaru. Concluyendo que la exposición a reservorios o vectores potenciales para la bacteria es reducida al estar bajo cuidado profesional en ambientes controlados.

Existieron varias limitaciones en el estudio, una de las principales es el hecho que más del 50% de los individuos analizados tenían antecedentes desconocidos de infestaciones por garrapatas. Esta falta de información dificulta la evaluación precisa de la relación entre este factor y la exposición a la bacteria. Además, la mayoría de los individuos analizados pertenecían a la familia *Boidae* lo que podría generar un sesgo epidemiológico al evaluar la prevalencia en un grupo taxonómico específico. De la misma manera la predominancia de hembras con el 87.50% en la muestra podría influir en la respuesta inmunitaria de la población.

Dado que esta enfermedad no ha sido previamente descrita en estas especies este estudio representa un primer acercamiento valioso para comprender el comportamiento de *Coxiella burnetii* en esta especie. Sin embargo, los resultados no son concluyentes al tratarse de una muestra pequeña.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda aumentar el tamaño de la muestra en futuros estudios para un análisis más amplio en esta especie y así minimizar los posibles sesgos en el estudio.

Se sugiere incluir individuos provenientes de su hábitat natural con el fin de contrastar los resultados obtenidos en un ambiente controlado entre a especímenes que se encuentran en mayor exposición a vectores.

Para fortalecer estos hallazgos es fundamental complementar la detección de *Coxiella burnetii* con otras técnicas de detección molecular como PCR en tejidos u otros fluidos biológicos, con el fin de confirmar la ausencia total de la bacteria en la población estudiada.

Finalmente, es de gran importancia establecer un sistema de monitoreo detallado, con el objetivo de mejorar los registros y antecedentes médicos de cada uno de los individuos con el fin de facilitar la recolección de datos epidemiológicos para futuras investigaciones que son escasas dentro de la comunidad científica.

Dada la escasez de investigaciones sobre la respuesta inmunitaria en reptiles, se sugiere llevar a cabo estudios específicos para comprender mejor los mecanismos de defensa frente a enfermedades zoonóticas en estos individuos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abyntek. (28 de junio de 2019). *Tipos de ELISA, ¿conoces las diferencias?* Obtenido de Biotech Spain: <https://biotech-spain.com/es/articles/tipos-de-elisa-conoces-las-diferencias-/>
- Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. (23 de enero de 2019). Resolución 008: Catálogo de enfermedades, infecciones e infestaciones de notificación o declaración obligatoria, así como aquellas determinadas como de control oficial en el Ecuador. Quito, Ecuador. Obtenido de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2024/10/Resol.-008.pdf>
- Aguilar, R. F., Hernández, S. M., Divers, S., & Perpiñán, D. (2010). *Medicina de Animales Exóticos* (2 ed.). Buenos Aires: Intermédica.
- Almeida, D. (28 de octubre de 2016). *BIOWEB*. Obtenido de <https://bioweb.bio/galeria/FotoEspecimen/Boa%20imperator/378172/1/35/Espec%C3%ADmenes%20QCAZ%20En%20vida>
- Arce-Mendoza, A., Rosas-Tarco, A., & Rodríguez-Tovar, L. (2007). *Prácticas de inmunología general aplicada y veterinaria*. México: El Manual Moderno.
- Arricau, N., & Rodolakis, A. (2005). Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Veterinary Research*, 36(3), 327-349.
- Baca, O., & Pareysky, D. (1983). Q fever and *Coxiella burnetii*: a model for host-parasite interactions. *Microbiological Reviews*, 47(2), 127-149. doi: <https://doi.org/10.1128/mr.47.2.127-149.1983>
- Bale, R. (6 de julio de 2020). Las exportaciones de pitones reales suscitan preocupación ante el aumento de su demanda como mascotas. *National Geographic*. Obtenido de <https://www.nationalgeographic.es/animales/2020/07/exportaciones-pitones-reales-preocupacion-aumento-demanda-mascotas>
- Bioparque Amaru. (s.f). *ZooBioparque Amaru*. Obtenido de <https://www.zoobioparqueamaru.com/como-llegar/>
- Bofill, P., Ramírez, W., Montanez, J., Reinaldo, L., Pérez, M., Percedo, M., & Abeledo, M. (2007). *Manual de Enfermedades Infecciosas de los Animales* (Vol. 3). La Habana: Félix Varela.
- Brouqui, P., Dumler, S., & Raoult, D. (1994). Immunohistologic demonstration of *Coxiella burnetii* in the valves of patients with Q fever endocarditis. *The American Journal of Medicine*, 97(5), 451-458.
- Brown, C. (2016). *Animal Diversity Web*. Recuperado el 27 de 12 de 2024, de https://animaldiversity.org/accounts/Python_reticulatus/

- Campbell, G., & Freedman, J. (27 de 06 de 2022). *Servicio Geológico de Estados Unidos, Base de datos de especies acuáticas no autóctonas*. Recuperado el 2024, de <https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?SpeciesID=2552>
- Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. (2021). *Ministerio de Salud Pública de Ecuador*. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Obtenido de <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/10/GACETA-GENERAL-EFECTOS-TOXICOS-SEM-40.pdf>
- Divers, S. (junio de 2020). Procedimientos clínicos para reptiles. *MSD Veterinary Manual*. Obtenido de https://www.msdsvetmanual.com/es/animales-ex%C3%B3ticos-y-de-laboratorio/reptiles/procedimientos-cl%C3%ADnicos-para-reptiles#Extracci%C3%B3n-de-sangre_v48831709_es
- Divers, S., & Stahl, S. (2019). *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery* (2 ed.). St. Louis, Missouri: ELSEVIER.
- Doneley, B., Monks, D., Johnson, R., & Carmel, B. (2018). *Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice*. Oxford: Wiley Blackwell. Obtenido de <https://www.umces.edu/sites/default/files/Doneley%20et%20al%202017%20-%20Book%20--%20Reptile%20Medicine%20and%20Surgery%20in%20Clinical%20Practice.pdf>
- Eldin, C., Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., . . . Raoult, D. (2017). From Q Fever to *Coxiella burnetii* Infection: a Paradigm Change. *Clinical microbiology reviews*, 30(1), 115-190. doi: <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-16>
- Fleitas, J., Rosales, R., Suárez, A., Poveda, C., Vega, O., Mederos, L., & Ramírez, A. (2012-2013). Fiebre Q. *Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias* (8), 60-67.
- Fournier, P., Marrie, T., & Raoult, D. (1998). Diagnosis of Q Fever. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(7), 1823–1834. doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.36.7.1823-1834.1998>
- Fraille, M. T., & Muñoz, C. (2010). Infección por *Coxiella burnetii* (Fiebre Q). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(7), 29-32.
- Garman, S. (1984). *Bioweb*. Obtenido de <https://bioweb.bio/faunaweb/reptiliaweb/FichaEspecie/Bothrops%20asper>
- Gómez, S., & Torres, F. (2023). *Envío y Toma de Muestras Sanguíneas en Ofidios, Quelonio, Saurios, Avis y Cocodrilianos*. Obtenido de <https://repository.udca.edu.co/bitstreams/96fc41f4-c47e-42bd-a21c-ecfd9e8f645a/download>
- Google Maps. (2024). Obtenido de https://www.google.com/maps/search/amaru/@-2.8963125,-78.9564478,357m/data=!3m2!1e3!4b1?entry=tту&g_ep=EgoyMDI1MDIwOS4wIKXMDS0ASAFAw%3D%3D

- Guamá, J. (2021). Prevalencia de Fiebre Q en cobayos (*Cavia porcellus*) por el método de ELISA indirecto. (*Tesis de grado*). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca.
- Guzmán, E. (2004). Las pruebas de Elisa. *Gac Méd Méx*, 140(3), 48-49.
- Guzmán, R., Flores, E., Vásquez, R., & Magán, J. (2011). *Secretos de los Reptiles*. Lima: SURCO.
- Herpetological Animal Care and Use Committee of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists. (2004). *Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field and laboratory research*. American Society of Ichthyologists and Herpetologists.
- Innovative Diagnostics. (noviembre de 2017). Q Fever Indirect Multi-species. Francia.
- International Union for Conservation of Nature. (03 de mayo de 2023). Ecuador celebra el mes de la biodiversidad. Obtenido de <https://iucn.org/es/articulo/202305/ecuador-celebra-el-mes-de-la-biodiversidad#:~:text=Por%20ello%2C%20el%202023%20es,haciendo%20para%20la%20conservaci%C3%B3n%20y>
- Irwin, E. (25 de noviembre de 2024). *iNaturalist Ecuador*. Obtenido de <https://ecuador.inaturalist.org/photos/453352760>
- Klein, S., & Flanagan, K. (2016). Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*, 16(10), 626–638. doi: <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>
- López, B. (07 de junio de 2021). *Coxiella burnetii*. Obtenido de Lifeder: <https://www.lifeder.com/coxiella-burnetii/>
- Mader, D. (1996). *Reptile Medicine and Surgery*. St. Louis, Missouri: ELSEVIER Saunders.
- Mariluna. (2008). Obtenido de https://es.wikipedia.org/wiki/Malayopython_reticulatus#/media/Archivo:Python_reticulatus_%D1%81%D0%B5%D1%82%D1%87%D0%B0%D1%82%D1%8B%D0%B9_%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%BD-2.jpg
- Marrie, T. (agosto de 1990). Q fever- A review. *Can Vet*, 31(8), 555-563.
- Maurin, M., & Raoult, D. (1999). Q fever. *Microbiology Rev.* 12, 12(4), 518-553. doi:10.1128/CMR.12.4.518.
- Molecular Devices. (s.f.). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Obtenido de Molecular Devices: <https://es.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa>
- Muñoz Tenería, F. A. (2001). Inmunología de los reptiles. *AMMVEPE*, 12(2), 57-60.
- O'Malley, B. (2007). *Anatomía y Fisiología Clínica de Animales Exóticos*. Zaragoza: Servet.
- OMSA. (26 de mayo de 2022). *Fiebre Q*. Obtenido de OMSA- Organización Mundial de Salud Animal: <https://www.woah.org/es/enfermedad/fiebre->

8. ANEXOS

Anexo 1: Ficha de registro

Muestra	Familia	Individuo	Densidad Óptica	S/P%	PREVALENCIA TOTAL	Sexo	Garrapatas
M1	Boidae	Boa constrictor	0,128	3,14754098	NEGATIVO	H	No
M2	Boidae	Boa imperator	0,091	-1,70491803	NEGATIVO	M	SI
M3	Boidae	Boa imperator	0,089	-1,96721311	NEGATIVO	M	No
M4	Boidae	Boa constrictor	0,097	-0,91803279	NEGATIVO	H	No
M5	Boidae	Boa ortonii	0,085	-2,49180328	NEGATIVO	H	No
M6	Boidae	Boa ortonii	0,095	-1,18032787	NEGATIVO	H	No se sabe
M7	Boidae	Boa imperator	0,122	2,36065574	NEGATIVO	H	No se sabe
M8	Boidae	Boa imperator	0,089	-1,96721311	NEGATIVO	H	No se sabe
M9	Boidae	Boa imperator	0,165	8	NEGATIVO	M	No se sabe
M10	Boidae	Pyton bivittatus	0,099	-0,6557377	NEGATIVO	H	SI
M11	Boidae	Boa arcoiris	0,104	0	NEGATIVO	H	No se sabe
M12	Boidae	Boa imperator	0,115	1,44262295	NEGATIVO	H	No se sabe
M13	Boidae	Boa imperator	0,094	-1,31147541	NEGATIVO	H	No se sabe
M15	Boidae	Pyton bivittatus	0,111	0,918033	NEGATIVO	H	No se sabe
M17	Boidae	Malayopython reticulatus	0,151	6,163934	NEGATIVO	H	No se sabe
M18	Boidae	Malayopython reticulatus	0,107	0,393443	NEGATIVO	H	No se sabe
M19	Boidae	Pyton bivittatus	0,192	11,54098	NEGATIVO	H	No se sabe
M20	Boidae	Boa constrictor	0,128	3,147541	NEGATIVO	H	No se sabe
M21	Boidae	Boa constrictor	0,136	4,196721	NEGATIVO	H	No se sabe
M22	Boidae	Boa constrictor	0,132	3,672131	NEGATIVO	H	No se sabe
M23	Boidae	Boa constrictor	0,114	1,311475	NEGATIVO	H	No se sabe
M24	Boidae	Boa constrictor	0,124	2,622951	NEGATIVO	H	No se sabe
M25	Viperidae	Bothrops asper	0,157	-2,71348763	NEGATIVO	M	No se sabe
M26	Viperidae	Bothrops asper	0,172	-0,31923384	NEGATIVO	H	No se sabe

M27	Viperida e	Bothrops asper	0,220	7,34237829	NEGATIVO	H	SI
M28	Viperida e	Bothrops asper	0,164	-1,59616919	NEGATIVO	H	SI
M29	Viperida e	Bothrops asper	0,131	-6,86352753	NEGATIVO	H	SI
M30	Viperida e	Bothrops asper	0,153	-3,35195531	NEGATIVO	H	SI
M31	Viperida e	Bothrocophias microphthalmus	0,169	-0,7980846	NEGATIVO	H	SI
M33	Viperida e	Bothrops freirelasconi	0,157	-2,71348763	NEGATIVO	H	SI
M34	Viperida e	Bothrops freirelasconi	0,135	-6,22505986	NEGATIVO	H	No
M35	Viperida e	Bothrops freirelasconi	0,151	-3,67118915	NEGATIVO	H	No

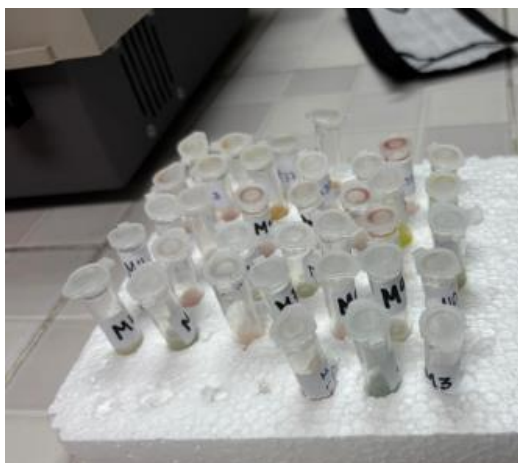
Fuente: Elaborado por el autor

Anexo 2: Venopunción



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 3: Preparación de muestras



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 4: Centrifugación de muestras previo a análisis ELISA



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 5: Preparación de placas con solución de conjugado



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 6: Lavado de pocillos



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 7: Aplicación de solución de lavado



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 8: Aplicación de solución de revelación



Fuente: Tomada por el autor

Anexo 9: Resultados Densidad óptica

	1	2	3	10	11	12
A	0001 0.174	0009 0.131	0017 0.153	0073 0.125	0081 0.122	0089 0.151
B	0002 0.174	0010 0.153	0018 0.163	0074 0.085	0082 0.089	0090 0.107
C	0003 0.677	0011 0.163	0019 0.186	0075 0.128	0083 0.165	0091 0.192
D	0004 0.924	0012 0.157	0020 0.169	0076 0.091	0084 0.099	0092 0.128
E	0005 0.157	0013 0.135	0021 0.152	0077 0.089	0085 0.104	0093 0.136
F	0006 0.172	0014 0.151	0022 0.155	0078 0.097	0086 0.115	0094 0.132
G	0007 0.220	0015 0.198	0023 0.182	0079 0.085	0088 0.094	0095 0.114
H	0008 0.164	0016 0.168	0024 0.145	0080 0.095	0087 0.111	0096 0.124

Fuente: Tomada por el autor