

INQUÉRITO BACTERIOLÓGICO DE SERPENTES DOENTES E MORTAS MANTIDAS EM CATIVEIRO*

Sofia Calixto MAVRIDIS **
Marcio HIPOLITO ***
Lucia BALDASSI ***
Ercilia M. B. CALIL ***
Aurélia A.P. MOULIN ***
Maria Luisa BARBOSA ****

RESUMO: Foram realizadas 69 culturas para isolamento de bactérias aeróbias de diferentes materiais provenientes de exames clínicos e necropsias de 60 serpentes, sendo 55 *Bothrops* sp; 2 *Crotalus* sp; 1 *Lachesis* sp e 2 *Boa* sp. As serpentes mantidas em cativeiro eram utilizadas para extração de veneno, com exceção das do gênero *Boa*. Os principais agentes encontrados nos animais doentes foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp, *Proteus* sp e *Aeromonas hydrophila* em raspados bucais; *Salmonella* sp nas fezes e *Proteus* sp e *Pseudomonas aeruginosa* em abscessos bucais. Dos animais necropsiados foram isoladas *Salmonella* sp e *Proteus* sp nos pulmões; *Salmonella* sp e *Edwardsiella ictaluri* no conteúdo intestinal e *Pseudomonas aeruginosa* e *Citrobacter* sp, nas vísceras de filhotes.

UNITERMOS: Serpentes cativas, bactérias aeróbias, necropsia, material clínico

INTRODUÇÃO

É grande o número de bactérias citadas na literatura como agentes causais de doença em répteis^{4, 15, 24}, destacando-se para os ofídios a *Aeromonas hydrophila* como agente da septicemia hemorrágica e da estomatite necrosante^{21, 22};

* Trabalho apresentado no IV Congresso Internacional de Veterinária da Língua Portuguesa e V Semana de Medicina Veterinária, 1987, São Paulo, SP

** Seção de Febre Aftosa, Instituto Biológico C.P. 7179 CEP 01064-970

*** Seção de Bacteriologia Animal

**** Seção de Bacteriologia Animal (estagiária). Recebido para publicação em 31.05.93 e aceito em 19.10.93.

as enterobactérias relacionadas com processos septicêmicos³, as *Pseudomonas* sp e *Providencia rettigeri* citadas como agentes de infecções oculares e pulmonares¹⁸, além das *Salmonella* sp isoladas de casos de pneumonia¹¹.

Em nosso meio, há ocorrências de difteróides relacionado a epizootias em serpentes⁷; *Proteus mirabilis* e *Alcaligenes faecalis* como agentes de necrose de ponta de cauda²³; *Streptococcus viridans*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila* em casos de estomatite^{12, 13, 16} sendo que estes processos patológicos aparecem sempre relacionados a serpentes mantidas em cativeiro.

O presente trabalho é o resultado de exames bacteriológicos de materiais oriundos de serpentes peçonhentas e não peçonhentas mantidas em cativeiro para obtenção de veneno ou para exposição, tendo por objetivo contribuir para um melhor conhecimento dos agentes bacterianos envolvidos nos processos patológicos de ofídios.

MATERIAIS E MÉTODO

Os materiais, provenientes de 60 serpentes, com 55 espécimes do gênero *Bothrops* (jararaca) e 2 exemplares de cada uma das espécies: *Boa constrictor constrictor* (jibóia), *Crotalus durissus terrificus* (cascavel) e um de *Lachesis muta* (surucucu pico de jaca), constituíram 69 amostras de materiais clínicos e de necropsia (tabela 1), para pesquisa da presença de bactérias aeróbicas, coletadas de acordo com as lesões apresentadas e na medida em que se manifestavam.

TABELA 1

Materiais submetidos a exames bacteriológicos provenientes de ofídios doentes e necropsiados, São Paulo, 1984-86.

Origem	Material	Quantidade
clínica	raspado da cavidade bucal	17
	fezes	03
	ponta de cauda	01
	secreção ocular	01
	veneno	02
	abcesso bucal	04
subtotal		28
necropsia	pulmões/vias aéreas	12
	conteúdo intestinal	08
	ovos atrésicos	02
	vísceras de filhotes	10
	fezes	03
	coração	01
	fígado	01
	presas de veneno	03
	abcesso bucal	01
subtotal		41
total		69

As coletas, na sua maioria, foram realizadas pelos próprios autores, ou sob sua supervisão, procurando seguir-se ao máximo os procedimentos de assepsia para se evitar a contaminação secundária. Todos os materiais foram acondicionados em frascos esterilizados e encaminhados diretamente para exames.

A semeadura dos materiais bucais, oculares e de venenos, foi feita nos meios de caldo simples, ágar sangue de carneiro a 5% e ágar Mac Conkey; os conteúdos intestinais e as fezes, em caldo simples e caldo tetracionato. Os fragmentos de órgãos, ponta de cauda e vísceras de filhotes, após serem triturados, eram cultivados nos mesmos meios usados para os materiais bucais e incubados aerobicamente a 37° C por 24 a 48 horas. Os caldos simples que apresentavam crescimento eram repicados em ágar sangue e ágar Mac Conkey e os caldos tetracionato em ágar verde brilhante, nas mesmas condições de tempo e temperatura.

A identificação, após isolamento das diferentes colônias, foi obtida por bacterioscopia pela coloração de Gram e pelo comportamento bioquímico^{8, 14}.

RESULTADOS

Os resultados dos exames bacteriológicos dos materiais coletados nas serpentes doentes e necropsiadas estão apresentados na tabela 2.

DISCUSSÃO

A manutenção em ambiente artificial aliada ao *stress* que as serpentes sofrem desde o ato da captura até o manejo para a extração do veneno, a má nutrição e a falta de higiene, são os principais fatores que determinam a queda da resistência orgânica das mesmas, permitindo a instalação de processos patológicos por bactérias oportunistas^{5, 11, 15}.

No presente trabalho, os materiais oriundos da cavidade oral e pulmões, juntamente com as vias aéreas, aparecem como sendo os de maior importância na determinação de afecções, estando de acordo com outras citações^{1, 11}.

Dentre as bactérias presentes nos materiais oriundos da cavidade oral (raspado, abscesso, presas de veneno e veneno), o maior número de isolamentos foi de *Pseudomonas aeruginosa*, agente oportunista envolvido em processos de estomatite^{5, 16, 24} e pela *Aeromonas hydrophila*, amplamente incriminada como agente primário da estomatite necrótica *mouth-rot* em serpentes mantidas em cativeiro^{12, 15, 21, 24}.

Outras bactérias isoladas destes materiais são citadas como possíveis agentes de estomatites, como *Proteus mirabilis*^{13, 24}, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* e *Escherichia coli*⁹. A presença de cocos Gram-positivos como *Streptococcus* sp e *Staphylococcus* coagulase negativa em venenos nos casos de estomatite e infecções de presas de veneno também é citada na literatura^{5, 9, 10, 14}.

A *Pseudomonas aeruginosa* foi igualmente isolada de processo necrótico de ponta de cauda e de infecção ocular, neste último caso outros pesquisadores fizeram observações similares^{6, 18}.

A presença de *Salmonella* sp nas fezes e conteúdo intestinal é fato conhecido^{2, 19, 20}, estando também este gênero envolvido com quadros de gastroenterites^{15, 24}.

TABELA 2

Agentes bacterianos e freqüência de isolamentos nos materiais coletados de casos clínicos e de necropsias de serpentes. São Paulo, 1984-86

Material	Bactéria	Freqüência de isolamentos
CLÍNICOS		
Secreção bucal	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
	<i>Salmonella</i> sp; <i>Proteus</i> sp	3*
	<i>Aeromonas hydrophila</i> ; bacilo Gram-negativo não fermentador; <i>Citrobacter</i> sp	2*
	<i>Pseudomonas</i> sp; <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa; <i>Serratia</i> sp <i>Morganella morganii</i> ; <i>Providencia stuartii</i>	1*
		22
fezes	<i>Salmonella</i> sp	3
		3
abcesso bucal	<i>Proteus</i> sp	4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Edwardsiella tarda</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Citrobacter freundii</i>	1*
		8
secreção ocular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
		1
		2
veneno	<i>Streptococcus</i> sp 2 <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa; <i>Proteus</i> sp	1*
		4
ponta de cauda	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
		1
subtotal		39
NECROPSIA		
pulmão/ vias aéreas	<i>Salmonella</i> sp	7
	<i>Proteus</i> sp	5
	<i>Enterobacter</i> sp;	
	bacilo Gram-neg. não fermentador;	3*
	<i>Edwardsiella tarda</i> ; <i>P. aeruginosa</i>	2*
	<i>E. coli</i> ; <i>Citrobacter</i> sp;	
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ;	
	<i>Aeromonas salmonicida</i> ; <i>Klebsiella</i> sp;	
	<i>Streptococcus</i> sp	1*
		28
conteúdo intestinal	<i>Salmonella</i> sp	5
	<i>Edwardsiella tarda</i>	3
	<i>Shigella</i> sp; <i>Enterobacter</i> sp	2*
	<i>E. coli</i> ; <i>Citrobacter</i> sp	1*
		14
ovos atrésicos	<i>P. aeruginosa</i> ; <i>Proteus</i> sp	2*
		4

vísceras de filhotes	<i>P. aeruginosa</i>	5
	<i>Citrobacter</i> sp	4
	<i>E. coli</i> ; <i>Proteus</i> sp	2*
	<i>E. tarda</i> ; <i>Alcaligenes denitrificans</i> ;	
	<i>Morganella morganii</i> ; <i>Salmonella</i> sp	1*
		17
fezes	<i>Salmonella</i> sp; <i>Citrobacter</i> sp; <i>Klebsiella</i> sp; <i>P. aeruginosa</i>	1*
		4
coração	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa;	
	<i>Edwardsiella tarda</i> ; <i>Salmonella</i> sp;	
	<i>Klebsiella</i> sp; <i>E. coli</i>	1*
		5
fígado	<i>Corynebacterium</i> sp; <i>E. coli</i> ; <i>Klebsiella</i> sp; <i>Acinetobacter</i> sp	1*
		4
presas de veneno	<i>E. coli</i> ; <i>Edwardsiella tarda</i>	2*
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa;	
	<i>Candida</i> sp	1*
		6
abcesso bucal	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa; <i>A. salmonicida</i> ; <i>P. aeruginosa</i>	1*
		3
subtotal		85
Total		124

*número de isolamentos para cada agente indicado.

Nos materiais oriundos de coleta necroscópica, como pulmão/vias aéreas e vísceras de filhotes, as bactérias predominantemente isoladas foram *Salmonella* sp, *Proteus* sp e *Pseudomonas* sp, seguidas por *Escherichia coli* e *Citrobacter* sp, à semelhança do citado por MARCUS¹⁵ e WALLACH²⁴, bem como a presença de *Providência rettigeri* em pulmão, relatada por MILLICHAMP e cols.¹⁸. Foi apresentado por HILF e cols.¹¹, isolamento de *Salmonella* sp de casos de pneumonia, coincidindo com o atual achado, onde este gênero foi o mais isolado na mesma situação patológica.

Quanto às espécies e idade das serpentes não se registrou diferenças com relação aos achados bacteriológicos, situação também observada por GOLDSTEIN e cols.¹⁰.

Os resultados deste e da maioria dos trabalhos aqui referendados demonstram que muitas das bactérias responsáveis por estas patologias fazem parte da microbiota normal¹⁷ e que por quebra de resistência orgânica ocasionada por fatores adversos, assumem patogenicidade agindo como oportunistas¹⁰. Os ofídios utilizados nas extrações rotineiras de veneno constituem um grupo de destaque na predisposição ao desenvolvimento destas doenças^{1, 12, 16}, em virtude de um manejo constante com conseqüentes traumas, como os da mucosa bucal mostrada na foto 1.



Foto 1: Lesão de abscesso bucal em *Bothrops* sp, doadora de veneno, com o isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT: A total number of 69 aerobic bacteriological cultures were performed of a great variety of materials related with clinical and necroscopic cases of 60 snakes. This number comprised 55 *Bothrops* sp; 2 *Crotalus* sp; 1 *Lachesis* sp and 2 *Boa* sp. These specimens were held captive to venom extraction, with the exception of the *Boa* specimens. The main agents found in clinical materials culture were *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp, *Proteus* sp and *Aeromonas hydrophila* in buccal swabs, *Salmonella* sp in dregs, and *Proteus* sp and *Pseudomonas aeruginosa* in buccal abscess. From the materials obtained by necropsy it was found: *Salmonella* sp and *Proteus* sp from lungs, *Salmonella* sp and *Edwardsiella tarda* from intestinal contents and *Pseudomonas aeruginosa* and *Citrobacter* sp from young snakes viscera.

KEYWORDS: Captive snakes, aerobic bacteria, necropsy, clinical samples.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BELLUOMINI, H.E., SALIBA, A.M., ABE, A.S. Inquérito anátomo-patológico em serpentes dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae). *Mem. Inst. Butantan*, v. 40/41, p. 123-8, 1976/77.

MAVRIDIS, S.C., HIPOLITO, M., BALDASSI, L., CALIL, E.M.B., MOULIN, A.A.P., BARBOSA, M.L. Inquérito bacteriológico de serpentes doentes e mortas mantidas em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan*, v. 55, supl. 1, p. 55-62, 1993.

2. CHIODINI, R.J., SUNDBERG, J. Salmonellosis in reptiles: a review. *Am. J. Epidemiol.*, v. 113, p. 494-9, 1981.
3. COOPER, J.E, LEAKEY, J.H.E. A septicaemic disease of East African snakes associated with Enterobacteriaceae. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 70, p. 80-4, 1976.
4. COWAN, D.F. Disease of captive reptiles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 153, p. 848-59, 1968.
5. DRAPER, C.S., WALKER, R.D., LAWLER, H.E. Patterns of oral bacterial infection in captive snakes. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 179, p. 1.223-26, 1981.
6. FIRMIN, Y. Quelques aspects de la pathologie des serpents. *Rec. Méd. Vét.*, v. 152, p. 721-7, 1976.
7. FURLANETTO, R.S., BELLUOMINI, H.E., IIZUKA, H., ROLIM ROSA, R. Epizootia provocada por um bacilo difteróide em serpentes mantidas em biotério. *Rev. Microb. São Paulo*, v. 10, p. 139-43, 1979.
8. GLORIOSO, J.C., AMBORSKI, R.L., LARKIN, J.M., AMBORSKI, G.F., CULLEY, D.C. Laboratory identification of bacterial pathogens of aquatic animals. *Am. J. Vet. Res.*, v. 35, p. 447-50, 1974.
9. GOLDSTEIN, E.J.C., CITRON, D.M., GONZALEZ, H., RUSSEL, E., FINEGOLD, S.M. Bacteriology of rattlesnake venom and implications for therapy. *J. Infect. Dis.*, v. 140, p. 818-21, 1979.
10. ———, AGYARE, E. O., VAGVOLGYI, A.E., HALPERN, M. Aerobic bacterial oral flora of garter snakes: development of normal flora and pathogenic potential for snakes and humans. *J. Clin. Bacteriol.*, v. 13, p. 954-6, 1981.
11. HILF, M., WAGNER, R.A., YU, V.I. A prospective study of upper airway flora in healthy boid snakes and snakes with pneumonia. *J. Zoo Wildlife Med.*, v. 21, p. 318-25, 1990.
12. HIPÓLITO, M., MAVRIDIS, S.C., BALDASSI, L., MOULIN, A.A.P., BARBOSA, M.L. *Aeromonas hydrophila* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de caso de estomatite em *Bothrops alternatus* (Serpente, Viperidae). *Rev. Microbiol. São Paulo*, v. 18, p. 224-8, 1987.
13. IIZUKA, H., CANTER, H.M., OLIVEIRA, E.P.T., HIGASHI, H.G., ROLIM ROSA, R. Estomatite ulcerativa infecciosa em *Boa constrictor constrictor* mantida em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan*, v. 47/48, p. 113-20, 1983-4.
14. LEDBETTER, E.O., KUTSCHER, A.E. The aerobic flora of rattlesnake fangs and venom. *Arch. Environ. Health*, v. 19, p. 770-8, 1969.
15. MARCUS, L.C. Infectious diseases of reptiles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 159, p. 1.626-31, 1971.
16. MAVRIDIS, S.C., BALDASSI, L., MOULIN, A.A.P., HIPÓLITO, M. *Pseudomonas aeruginosa* como agente causal de abscesso em serpentes (*Bothrops neuwiedi*). *Rev. Microbiol. São Paulo*, v. 17, p. 28-30, 1986.
17. ———, HIPÓLITO, M., BALDASSI, L., MOULIN, A.A.P., CALIL, E.M.B., BARBOSA, M.L. Estudo da microbiota aeróbica de serpentes *Bothrops* sp (Serpente, Viperidae) recém-capturadas. *Mem. Inst. Butantan*, v. 55, n. 2, p. 59-64, 1993.
18. MILLICHAMP, N.J., JACOBSON, E.R., DAN WOLF, E. Disease of the eye and ocular adnexal in reptiles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 183, p. 1.205-12, 1983.
19. MORENO, G., LOPES, C.A.M., BELLUOMINI, H.E., PESSOA, C.V.A., BIASI, P., ANDRADE, J.C.R. Enterobactérias isoladas de anfíbios e répteis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 15, p. 122-6, 1973.

MAVRIDIS, S.C., HIPOLITO, M., BALDASSI, L., CALIL, E.M.B., MOULIN, A.A.P., BARBOSA, M.L. Inquérito bacteriológico de serpentes doentes e mortas mantidas em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan*, v. 55, supl. 1, p. 55-62, 1993.

20. MULLER, H.E. Über die aerobe fakalflora von Reptilien, insbesondere über die Enterobakterien von Schlangen. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. D Infektionskr. Hyg. Erste. Abt. Orig. Reihe. A Med. Mikrobiol. Parasitol.*, v. 222, p. 487-95, 1972.
21. PAGE, L.A. Experimental ulcerative stomatitis in King Snakes. *Cornell Vet.*, v. 51, p. 258-66, 1972.
22. STULL, P.A., ANDERSON, M.P. Stomatitis in *Boa constrictor*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 169, p. 939-40, 1976.
23. VEINERT, T., BELLUOMINI, H.E., IIZUKA, H., FEDULLO, J.D.L. Necrose de ponta de cauda em *Eunectes notaeus* COPE, 1862 (Serpentes, Boidae, Boinae). *Mem. Inst. Butantan*, v. 47/48, p. 189-94, 1983/94.
24. WALLACH, J.D. Medical care of reptiles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 155, p. 1.017-34, 1969.