

FLORA BACTERIANA DA CAVIDADE ORAL, PRESAS E VENENO DE *Bothrops jararaca*: POSSÍVEL FONTE DE INFECÇÃO NO LOCAL DA PICADA

Miguel Tanús JORGE(1), João Silva de MENDONÇA(2), Lindioneza Adriano RIBEIRO(3), Maria Lucia Ribeiro da SILVA(4), Elisa Junko Ura KUSANO(5) & Carmen Lúcia dos Santos CORDEIRO(6).

RESUMO

Materiais colhidos das presas, das bainhas das presas e do veneno de 15 *Bothrops jararaca* recém-capturadas, aparentemente saudáveis, foram submetidos a exame bacterioscópico e cultura aeróbia a anaeróbia. As bactérias mais freqüentemente isoladas foram os estreptococos do grupo D (12 serpentes), *Enterobacter* sp. (6), *Providencia rettgeri* (6), *Providencia* sp. (4), *Escherichia coli* (4), *Morganella morganii* (3) e *Clostridium* sp. (5). Como estas bactérias são semelhantes às encontradas nos abscessos de pacientes picados por serpentes do gênero *Bothrops*, é válido considerar a possibilidade de que bactérias da boca da serpente sejam inoculadas no momento da picada e, encontrando condições favoráveis de multiplicação, causem infecção.

UNITERMOS: *Bothrops jararaca*. Contaminação bacteriana.

INTRODUÇÃO

O gênero *Bothrops* é responsável por aproximadamente 90% dos acidentes por serpentes peçonhentas atendidos no Hospital Vital Brazil (HVB) do Instituto Butantan (IB)¹⁴. No período de 1981 a 1986 este Hospital atendeu a 1984 casos de acidente botrópico sendo que 9% dos pacientes desenvolveram abscesso na região da picada⁹. Destes abscessos, têm sido isolados sobretudo enterobactérias, estreptococo do grupo D e bac-

térias anaeróbias^{7,8,12,13}. Como tais bactérias não estão entre as que mais freqüentemente são isoladas da pele humana², é admissível considerar que elas possam ter provindo das presas e/ou do veneno da serpente.

O presente trabalho tem como objetivo estudar a flora bacteriana da cavidade oral, das presas e do veneno de serpentes *Bothrops jararaca* recém-capturadas no Estado de São Paulo, a fim de avaliar a possibilidade de que bactérias da presa e/ou do veneno da serpente constituam fonte de infecção no local da picada.

- (1) Médico do Serviço de Moléstias Infecciosas do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo (HSPE) e do Hospital Vital Brazil (HVB) – Instituto Butantan (IB). São Paulo – Brasil.
(2) Diretor do Serviço de Moléstias Infecciosas do HSPE.
(3) Médica do HVB – IB e Médica Sanitarista da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo – Comissão Permanente de Coordenação para o Controle dos Acidentes por Animais Peçonhentos.
(4) Encarregada do Setor de Hematologia e Biologia do Serviço de Laboratório Clínico do HSPE.
(5) Médica do Serviço de Laboratório Clínico do HSPE.
(6) Pesquisadora da Seção de Herpetologia do IB.

Endereço para correspondência: DR. Miguel Tanús Jorge. Hospital Vital Brazil, Instituto Butantan, Av. Vital Brazil, 1500. Caixa Postal 65. CEP 05504 São Paulo, SP, Brasil.

MATERIAL E MÉTODO

Foram selecionados exemplares de *Bothrops jararaca* aparentemente saudáveis, recentemente capturados (dentro de 24 horas), cujos venenos ainda não haviam sido extraídos e que foram transportados do local de captura até o IB em caixas de madeira, isoladamente ou juntos com outros também aparentemente saudáveis. As serpentes foram classificadas e medidas (quanto ao comprimento) na Seção de Herpetologia do IB e suas procedências foram registradas. Cada exemplar foi colocado sobre um lençol estéril e seguro por um técnico habilitado que lhe abriu a boca para que um dos pesquisadores (MTJ), com um cotonete de haste de madeira, fizesse um "swab" da presa direita, da bainha da presa e do veneno que escoava após compressão da glândula direita; a extremidade de cada cotonete foi quebrada dentro de um tubo com tioglicolato. Fez-se então de cada serpente um novo "swab" para se obter esfregaços em lâminas de vidro. A seguir, os mesmos procedimentos foram realizados para se obter material do lado esquerdo da boca de cada serpente, utilizando-se, neste caso, tubos com tioglicolato previamente servido por 10 minutos e esfriado que, logo após receberem os cotonetes, foram colocados em jarra de anaerobiose (sistema "GasPak"). Todo o material foi encaminhado imediatamente após a coleta, ao laboratório de bacteriologia do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo para isolamento e identificação das bactérias, bem como para bacterioscopia pelo método de Gram. As bactérias aeróbias foram submetidas a teste de sensibilidade a diversos antimicrobianos pela técnica de Kirby-Bauer.

RESULTADOS

Todas as 15 serpentes estudadas procederam de municípios próximos ao de São Paulo e mediram de 65 a 120 centímetros de comprimento.

Os esfregaços colhidos do lado direito mostraram riqueza em muco e fibrina (exceto em uma serpente) e, em somente cinco foram observados leucócitos. Bacilos Gram negativos foram vistos em nove dos 15 esfregaços e cocos Gram positivos em três. De todas as serpentes conseguiu-se cultivar algum bacilo Gram negativo aeróbio e de 12 (três das quais com presença de cocos Gram positivos no esfregaço) conseguiu-se cultivar um coco Gram positivo aeróbio. Nos esfregaços do lado esquerdo da boca os achados foram semelhantes.

Não foram vistos bacilos Gram positivos, mesmo nos cinco casos em que se isolou *Clostridium*.

As diferentes bactérias e a freqüência com que foram encontradas na boca das serpentes são mostradas no quadro I e a sensibilidade aos antimicrobianos testados é mostrada no quadro II.

QUADRO I

Distribuição das bactérias quanto à freqüência com que foram isoladas da boca de 15 *Bothrops jararaca* capturadas no Estado de São Paulo – 1987.

| Bactérias isoladas | Número de serpentes |
|---|---------------------|
| <i>Streptococo</i> do grupo D | 12 |
| <i>Providencia rettgeri</i> | 6 |
| <i>Enterobacter</i> sp. | 6 |
| <i>Providencia</i> sp. | 4 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4 |
| <i>Morganella morganii</i> | 3 |
| <i>Pseudomonas paucimobilis</i> | 2 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 1 |
| <i>Citrobacter</i> sp. | 1 |
| <i>Streptococo beta hemolítico</i> | 1 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 1 |
| <i>Clostridium</i> sp. | 5 |
| Bacilos Gram positivos anaeróbios não formadores de esporos | 2 |

DISCUSSÃO

A flora bacteriana encontrada na boca das serpentes, em diversas regiões do mundo é variada^{1,4,11}. Dentre os fatores sugeridos para explicar estas diferenças, alguns relacionam-se com a serpente e outros com a metodologia utilizada. Entre os primeiros, temos a espécie da serpente, sua origem (habitat natural ou cativeiro), seu estado de saúde, o fato de ter-se alimentado recentemente ou não e os animais utilizados na alimentação^{5,10,15}. Entre os últimos incluem-se os cuidados para não contaminar o veneno e o método utilizado na conservação e na cultura do material obtido^{1,5,10,15}. Alguns autores não foram capazes de isolar nenhum clostrídio e outros o fizeram em grande percentagem das serpentes^{1,5,10,15}. No presente estudo foram isolados clostrídios em cin-

QUADRO II

Sensibilidade das bactérias aeróbias aos antimicrobianos testados e frequência com que foram isoladas da boca de 15 *Bothrops jararaca* recém capturadas no Estado de São Paulo - 1987.

| Bactérias isoladas | Nº de serpentes com cultura positiva | Antimicrobianos testados | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|-------------|-----------|-------------|------------|----------|---------------|-------------|------------|-----------|------------|-------------|------------|--------------|------|------|------|------|
| | | amicacina | gentamicina | sismicina | netilmicina | cefalotina | SM/T/TMT | clorencenicol | fosfomicina | ampicilina | oxacilina | penicilina | lincomicina | cefotaxima | cefotetanida | 1/12 | 1/12 | 1/12 | 1/12 |
| <i>Streptococo do grupo D</i> | 12 | 0/12* | 2/12 | 3/12 | 2/12 | 4/12 | 6/12 | 2/11 | - | 5/12 | 9/12 | 11/11 | 2/12 | 12/12 | 0/7 | 7/11 | 1/12 | 1/12 | 1/4 |
| <i>Providencia rettgeri</i> | 6 | 6/6 | 6/6 | 6/6 | 6/6 | 4/5 | 6/6 | 5/6 | 6/6 | 1/6 | 6/6 | 3/6 | 3/6 | - | - | - | - | - | 2/2 |
| <i>Enterobacter sp.</i> | 6 | 6/6 | 5/5 | 6/6 | 6/6 | 2/6 | 4/6 | 1/4 | 6/6 | 2/6 | 5/5 | 4/6 | 2/6 | - | - | - | - | - | 1/1 |
| <i>Providencia sp.</i> | 4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 1/4 | 4/4 | 3/4 | 4/4 | 1/4 | 4/4 | 2/4 | 2/4 | - | - | - | - | - | 0/1 |
| <i>Escherichia coli</i> | 4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 0/4 | 3/4 | 1/4 | 3/4 | 3/4 | 4/4 | 4/4 | 0/3 | - | - | - | - | - | 1/1 |
| <i>Morganella morganii</i> | 3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 1/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 0/3 | 1/3 | - | - | - | - | - | 1/1 |
| <i>Pseudomonas paucimobilis</i> | 2 | 0/2 | 1/2 | 0/2 | 1/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | - | - | - | - | - | 0/1 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 1/1 | 1/1 | 0/1 | 1/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | - | - |
| <i>Citrobacter sp.</i> | 1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 0/1 | 1/1 | 0/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | - | - | - | - | - |
| <i>Estreptococo betahemolítico</i> | 1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | - | 0/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | - | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | - | - |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | - | - | - | - | - | 1/1 |

* O numerador indica o número de cepas sensíveis ao antimicrobiano e o denominador o número de cepas testadas.

co das 15 serpentes. Enterococos foram cultivados, em nosso meio, de presas e venenos de *Crotalus durissus terrificus*⁴ e, estreptococos do grupo D foram isolados de abscessos por picada de serpente do gênero *Bothrops*⁸.

O abscesso que ocorre no local da picada de serpente do gênero *Bothrops* deve-se, provavelmente, a bactérias que encontram no tecido lesado pelo veneno (ação proteolítica), condições propícias de multiplicação. A serpente *Crotalus durissus terrificus* que possui bactérias em seu veneno⁴ mas não possui peçonha com ação proteolítica, causa manifestações discretas no local da picada, que não evoluem para abscessos¹⁴. A possibilidade das bactérias provenientes da boca da serpente serem a causa da infecção que ocorre no local da picada já foi referida^{1,3,5,10,11}. Além das bactérias presentes nas presas e no veneno, têm sido sugeridas como fonte de infecção, bactérias presentes na pele e na roupa da vítima (transfixadas pelas presas no ato da picada), nas substâncias colocadas sobre o ferimento (como tentativa de tratamento), na saliva humana (casos em que realizou sucção), em instrumentos perfurantes (casos em que se perfurou o local da picada para se tentar retirar parte do veneno) e, finalmente, no hospital onde se internou o paciente (contaminação hospitalar)^{6,10}.

A julgar pelos casos em que a serpente causadora do acidente foi classificada quanto à espécie, a quase totalidade dos acidentes por serpentes do gênero *Bothrops* atendidos no HVB é causada por *Bothrops jararaca*⁹. Assim, serpentes pertencentes à mesma espécie das estudadas, procedentes da mesma região, são comumente causadoras de abscessos em vítimas humanas⁹. *Morganella morganii*, *Escherichia coli*, *Providencia rettgeri*, *Proteus* sp., estreptococo do grupo D, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sp. e *Bacteroides* sp. já foram isolados de abscessos de pacientes picados por serpentes do gênero *Bothrops* e atendidos no HVB^{7,8,13}. Como se vê, tais bactérias pertencem, na sua quase totalidade, às mesmas espécies encontradas no presente estudo. Quanto à sensibilidade das bactérias isoladas dos abscessos aos antimicrobianos, todos os bacilos Gram negativos foram sensíveis ao cloranfenicol, aos aminoglicosídios (gentamicina e amicacina) e à associação de sulfametoazol com trimetoprim, e todos os cocos Gram positivos, ao cloranfenicol, à ampicilina e à benzilpenicilina⁸. No presente estudo, se considerarmos apenas as espécies também encontradas nos abscessos, a sensibilidade aos antimicrobianos foi

semelhante, com excessão de uma *Escherichia coli* resistente à associação de sulfametoazol com trimetoprim e de quatro estreptococos do grupo D resistentes à benzilpenicilina.

Estão presentes, portanto, nas presas e/ou no veneno de *Bothrops jararaca*, bactérias aeróbias e, em menor freqüência, anaeróbias. Admite-se especular que, como estas bactérias são semelhantes às encontradas nos abscessos de pacientes picados por esta serpente, elas possam ser inoculadas no momento da picada e, encontrando condições favoráveis de multiplicação, causar infecção.

SUMMARY

Bacterial flora of the oral cavity, fangs and venom of *Bothrops jararaca*: possible source of infection at the local bite.

Culture of fang, fang sheath and venom of fifteen healthy freshly captured *Bothrops jararaca* were analysed. The bacteria most frequently encountered were group D streptococci (12 snakes), *Enterobacter* sp. (6), *Providencia rettgeri* (6), *Providencia* sp. (4), *Escherichia coli* (4), *Morganella morganii* (3) and *Clostridium* sp. (5). The bacteria observed are similar to those found in the abscesses from *Bothrops* bitten patients. Since these snake mouth bacteria may be inoculated during the snake bite, bacterial multiplication and infection may occur under favorable conditions.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração da Prof. Maria Regina Fernandes de Toledo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRUNKER, T. & FERNÁNDEZ, B. – Clostridios aislados de venenos de culebras costarricenses. *Acta méd. costarric.* 17:147-152, 1974.
2. COOPERSTOCK, M. – Indigenous flora in pathogenesis. In: FEIGIN, R.D. & CHERRY, J.D., ed. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 3.ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1987. p.106-133.
3. FONSECA, I. – Animais peçonhentos. São Paulo, Ed. Empresa gráfica da "Revista dos Tribunais", 1949. 376p.
4. GARCIA LIMA, E. & LAURE, C.J. – A study of bacterial contamination of rattlesnake venom. *Rev. Soc. bras. med. trop.*, 20:19-21, 1986.

5. GOLDSTEIN, E.J.C.; CITRON, D.M.; GONZALES, H.; RUSSELL, I.E. & FINEGOLD, S.M. – Bacteriology of rattlesnake venom and implications for therapy. *J. Infect. Dis.*, 140:818-821, 1979.
6. JORGE, M.T. & RIBEIRO, L.A. – Acidentes por animais peçonhentos. *Rev. méd. IAMSP*, 15:10-20, 1984.
7. JORGE, M.T.; MENDONÇA, J.S.; RIBEIRO, L.A.; CARDOSO, J.L.C. & SILVA, M.L. – Bacilos Gram-negativos aeróbios em abscessos por acidente botrópico (resumo). *Rev. Soc. bras. med. trop.*, 20(supl.):S5, 1987.
8. JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A.; SILVA, M.L.R.; KUSANO, E.J.U. & MENDONÇA, J.S. – Bacteria isolated from abscess caused by *Bothrops* sp. bites. In: **INTERNATIONAL CONGRESS FOR INFECTIOUS DISEASES E CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA**, 5, Rio de Janeiro, 1988. *Abstract book*. p. 177.
9. JORGE, M.T.; RIBEIRO, L.A. & MENDONÇA, J.S. – Acidente botrópico: experiencia del Hospital Vital Brazil. In: **CONGRESO 50 ANIVERSARIO DEL INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"**, Havana, 1988. *Resumenes*. p.189-190.
10. LEDBETTER, E.O. & KUTSCHER, A.E. – The aerobic and anaerobic flora of rattlesnake fangs and venom. *Arch. environm. Health*, 19:770-778, 1969.
11. PARRISH, H.M.; MACLAURIN, A.W. & TUTTLE, R.L. – North American pit vipers: bacterial flora of the mouths and venom glands. *Virginia med. mth.*, 83:383-385, 1956.
12. PINTO, R.N.L.; QUEIROZ, B.B.; NALBANDIAR, H.A.; SOUZA, M.N. & ANDRADE, J.G. – Flora bacteriana de abscessos ocasionados por acidente botrópico. In: **CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL**, 24, Manaus, 1988. *Programas e resumos*. p.122.
13. ROSA, R.R.; HIZUKA, H.; HIIGASHI, H.G.; CARDOSO, J.L.C.; JORGE, M.T. & SILVA, M.V. – Isolamento de bactérias de lesões provocadas por picadas de ofídios. In: **CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL**, 19, Rio de Janeiro, 1983. *Programas e resumos*. p.166.
14. SECRETARIA DO ESTADO DA SAÚDE. COORDENADORIA DE SERVIÇOS TÉCNICOS ESPECIALIZADOS. INSTITUTO BUTANTAN. HOSPITAL VITAL BRAZIL. *Manual para atendimento dos acidentes humanos por animais peçonhentos*. São Paulo, 1982. 30p.
15. WILLIAMS, F.E.; FREEMAN, M. & KENNEDY, E. – The bacterial flora of mouths of australian venomous snakes in captivity. *Med. J. Aust.* 2:190-193, 1934.

Recebido para publicação em 07/6/1989.