

MICROBIOTA BACTERIANA E ANTIBIOGRAMA DA CAVIDADE ORAL DE SERPENTES MANTIDAS SOB CUIDADOS HUMANOS

Samanta Arruda Quile de Oliveira¹
Julia Mara Souza Eisenlohr¹
Mônica Rodrigues Alves¹
Beatriz Fernandes de Camargo¹
Jéssica Parisi²
Bianca Gianola Belline Silva³
Rodrigo Hidalgo Friciello Teixeira⁴

RESUMO

Os zoológicos modernos desempenham um papel essencial na conservação da biodiversidade, contribuindo para o manejo de espécies selvagens mantidas sob cuidados humanos. As serpentes podem abrigar bactérias com potencial zoonótico na cavidade oral, representando um risco tanto para a saúde dos répteis quanto para outros animais e humanos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a microbiota bacteriana da cavidade oral de serpentes das famílias *Boidae*, *Colubridae* e *Dipsadidae* mantidas no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, em Sorocaba/SP. A pesquisa foi conduzida com a coleta de amostras da cavidade oral de 30 serpentes, utilizando swabs estéreis. As amostras foram cultivadas em meio de cultura Ágar MacConkey e submetidas a testes bioquímicos, coloração de Gram e antibiogramas para a identificação e avaliação da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos. Os resultados indicaram a presença de diversas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com *Citrobacter freundii* sendo a espécie mais prevalente, seguida por *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* spp., *Salmonella* spp., e *Escherichia coli*. Os testes de sensibilidade antimicrobiana demonstraram que os antibióticos Meropenem e Piperacilina apresentaram maior eficácia, com taxas de sensibilidade de 85,2%, enquanto outros fármacos, como ampicilina e cefotaxima, mostraram maior resistência, variando de 40,7% a 59,3%. As técnicas empregadas permitiram mapear a microbiota bacteriana da cavidade oral das serpentes estudadas e avaliar a resistência antimicrobiana. Esses dados são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de manejo sanitário e tratamentos mais eficazes, reduzindo riscos de infecções e resistência bacteriana em serpentes sob cuidados humanos.

Palavras-chave: antimicrobianos; enterobactérias; isolamento bacteriano; répteis; resistência bacteriana; zoológicos.

BACTERIAL MICROBIOTA AND ANTIBIOGRAM OF THE ORAL CAVITY OF SNAKES UNDER HUMAN CARE

ABSTRACT

Modern zoos play an essential role in biodiversity conservation, contributing to the management of wild species kept under human care. Snakes can harbor bacteria with zoonotic potential in their oral cavity, posing a risk to the health of reptiles as well as other animals and

¹ Universidade de Sorocaba (UNISO). quilesamanta@gmail.com

² jessica_pari@msn.com

³ Universidade de Sorocaba (UNISO). <https://orcid.org/0000-0002-8979-8017>. bianca.belline@prof.uniso.br

⁴ a. Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB), Sorocaba, SP; b. Programa de Pós-graduação em Animais Selvagens, UNESP, Botucatu, SP; c. Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, SP. <https://orcid.org/0000-0001-8219-0845>. rhftzoo@hotmail.com

humans. This study aimed to evaluate the bacterial microbiota of the oral cavity of snakes from the families Boidae, Colubridae, and Dipsadidae kept at the Quinzinho de Barros Municipal Zoo, in Sorocaba/SP, Brazil. The research was conducted through the collection of oral cavity samples from 30 snakes using sterile swabs. The samples were cultured in MacConkey Agar and subjected to biochemical tests, Gram staining, and antibiograms for bacterial identification and evaluation of antimicrobial sensitivity. The results indicated the presence of various Gram-negative and Gram-positive bacteria, with *Citrobacter freundii* being the most prevalent species, followed by *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* spp., *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. Antimicrobial sensitivity tests demonstrated that Meropenem and Piperacillin were the most effective antibiotics, with sensitivity rates of 85.2%, while other drugs, such as ampicillin and cefotaxime, showed higher resistance, ranging from 40.7% to 59.3%. The techniques employed allowed mapping of the bacterial microbiota of the studied snakes' oral cavity and evaluation of antimicrobial resistance. These findings are fundamental for the development of sanitary management strategies and more effective treatments, reducing the risks of infections and bacterial resistance in snakes under human care.

Keywords: antimicrobials; enterobacteria; bacterial isolation; reptiles; bacterial resistance; zoos.

MICROBIOTA BACTERIANA Y ANTIBIOGRAMA DE LA CAVIDAD ORAL DE SERPIENTES MANTENIDAS BAJO CUIDADO HUMANO

RESUMEN

Los zoológicos modernos desempeñan un papel esencial en la conservación de la biodiversidad, contribuyendo al manejo de especies silvestres mantenidas bajo cuidado humano. Las serpientes pueden albergar bacterias con potencial zoonótico en su cavidad oral, representando un riesgo tanto para la salud de los reptiles como para otros animales y humanos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la microbiota bacteriana de la cavidad oral de serpientes de las familias Boidae, Colubridae y Dipsadidae, mantenidas en el Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, en Sorocaba/SP, Brasil. La investigación se realizó mediante la recolección de muestras de la cavidad oral de 30 serpientes, utilizando hisopos estériles. Las muestras fueron cultivadas en Agar MacConkey y sometidas a pruebas bioquímicas, tinción de Gram y antibiogramas para la identificación bacteriana y evaluación de la sensibilidad a los antimicrobianos. Los resultados indicaron la presencia de diversas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, siendo *Citrobacter freundii* la especie más prevalente, seguida por *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* spp., *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*. Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana demostraron que Meropenem y Piperacilina fueron los antibióticos más eficaces, con tasas de sensibilidad del 85,2%, mientras que otros fármacos, como ampicilina y cefotaxima, mostraron mayor resistencia, variando entre 40,7% y 59,3%. Las técnicas empleadas permitieron mapear la microbiota bacteriana de la cavidad oral de las serpientes estudiadas y evaluar la resistencia antimicrobiana. Estos datos son fundamentales para el desarrollo de estrategias de manejo sanitario y tratamientos más eficaces, reduciendo los riesgos de infecciones y resistencia bacteriana en serpientes bajo cuidado humano.

Palabras clave: antimicrobianos; enterobacterias; aislamiento bacteriano; reptiles; resistencia bacteriana; zoológicos.

INTRODUÇÃO

Os zoológicos modernos vão além do entretenimento, desempenhando um papel crucial na conservação da vida selvagem e no resgate de animais do tráfico ilegal (1, 2). Além disso, promovem interações humano-animal de forma ética, incentivando a empatia e a conscientização da população (2). O bem-estar animal é priorizado, considerando aspectos físicos, mentais e emocionais para garantir condições adequadas e comportamentos naturais das espécies, além de atuarem como centros de pesquisa e sensibilização sobre a biodiversidade (3).

Sabendo que existem inúmeras espécies de serpentes distribuídas em diversas regiões do mundo, alguns fatores podem modificar a microbiota da cavidade oral e predispor o desenvolvimento de bacterioses em répteis, como variações no sistema imunológico, desnutrição, adaptação inadequada e condições ambientais desfavoráveis (4). A composição bacteriana pode diferir entre espécies e até mesmo entre indivíduos da mesma espécie devido a fatores como habitat, dieta, altitude e estratégias de predação (4, 5).

Além disso, a cavidade oral das serpentes abriga uma diversidade microbiana que inclui bactérias potencialmente patogênicas, como *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Acinetobacter* e *Clostridium*, que podem causar infecções graves, afetando não apenas os répteis, mas também outros animais, inclusive seres humanos (6). Essas bactérias podem atingir o trato respiratório e gastrointestinal, resultando em infecções sistêmicas e comprometendo a saúde do animal (7, 8). Portanto, compreender os fatores que influenciam a microbiota bacteriana oral das serpentes é essencial para aprimorar medidas de manejo, prevenção e tratamento de doenças nesses animais (9).

A cultura e isolamento dos microrganismos que colonizam a cavidade oral das serpentes, associado a realização de provas bioquímicas para identificação, auxilia em um diagnóstico fidedigno das doenças com manifestações clínicas provocadas por bactérias (10). Além disso, a caracterização destes agentes associados a realização de antibiogramas permite verificar o perfil de resistência desses microrganismos, auxiliando no melhor tratamento e resultando na remissão da doença e dos sintomas (11).

Atualmente grande parte das terapias de infecções localizadas e/ou sistêmicas iniciadas com antimicrobianos ocorrem de forma empírica, ou seja, sem a identificação do agente patológico responsável pela infecção e a sua sensibilidade aos fármacos escolhidos. Isso pode implicar em um tratamento ineficaz, sendo um dos principais fatores associados a taxa de falhas terapêuticas, resistência bacteriana, e até mesmo, aumento da mortalidade (12).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a microbiota bacteriana da cavidade oral de serpentes das famílias *Boidae*, *Colubridae* e *Dipsadidae* mantidas sob cuidados humanos, por meio do isolamento e identificação bioquímica dos microrganismos presentes, utilizando coloração de Gram e antibiogramas, permitindo uma melhor compreensão da dinâmica microbiana nesses répteis e fornecendo subsídios para protocolos terapêuticos mais eficazes.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido em colaboração com o Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (PZMQB), situado na cidade de Sorocaba/SP, situado nas coordenadas geográficas: 23°30'19.4 N e -47°26'15 W, com uma área de 128.339 m². O material do presente estudo foi proveniente da cavidade oral de 14 serpentes da família *Boidae*, 15 serpentes da família *Colubridae* e uma serpente da família *Dipsadidae*, todas com idades variadas e sem sexo definido mantidas sob cuidados humanos no Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros”, localizado na cidade de Sorocaba/SP (Tabela 1). Esta pesquisa foi iniciada após a

aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade de Sorocaba, sob o protocolo número 235/2023.

Tabela 1. Perfil dos animais submetidos a coleta de amostras da cavidade oral no Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros”.

| Nome Comum | Nome Científico | Peso (kg) |
|-----------------------|---|-----------|
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 1,435 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 1,610 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 1,720 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 1,280 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,085 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,075 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,070 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,085 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,085 |
| Salamanta da Amazônia | <i>Epicrates cenchria</i> | 0,070 |
| Salamanta da Caatinga | <i>Epicrates assisi</i> | 1,280 |
| Jiboia | <i>Boa constrictor</i> | 1,565 |
| Jiboia | <i>Boa constrictor</i> | 4,410 |
| Jiboia | <i>Boa constrictor</i> | 5,350 |
| Kingsnake | <i>Lampropeltis getula</i> | 1,050 |
| Milk Snake | <i>Lampropeltis triangulum</i> | 0,985 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,640 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,250 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,550 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,085 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,195 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,640 |
| Cobra do milho | <i>Pantherophis guttatus</i> | 0,470 |
| Híbrida | <i>Lampropeltis getula</i> × <i>L. triangulum</i> | 0,315 |
| Falsa coral | <i>Oxyrhopus guibei</i> | 0,145 |
| Cobra rateira | <i>Pantherophis obsoletus</i> | 0,105 |
| Cobra rateira | <i>Pantherophis obsoletus</i> | 0,430 |
| Cobra rateira | <i>Pantherophis obsoletus</i> | 0,210 |
| Cobra rateira | <i>Pantherophis obsoletus</i> | 0,235 |
| Cobra rateira | <i>Pantherophis obsoletus</i> | 0,530 |

Fonte: elaboração dos autores

Coleta, transporte e processamento laboratorial das amostras

A contenção dos animais foi realizada pela equipe da instituição com o uso de equipamentos de proteção individual e um abridor de boca para melhor visualização da cavidade oral. A coleta do material biológico foi feita com swabs estéreis, percorrendo toda a região oral do animal (Figura 1). Em seguida, os swabs foram inseridos em tubos de ensaio contendo Caldo Triptona de Soja (*Tryptic Soy Broth*, TSB) ou Caldo Cérebro e Coração (*Brain Heart Infusion*, BHI) para transporte imediato até o processamento laboratorial.



Figura 1. Contenção e coleta da amostra de uma Salamanta da Caatinga (*Epicrates assisi*). (A) Contenção física da espécie *Epicrates assisi*; (B) Coleta de amostra da cavidade oral de *Epicrates assisi* por meio de Swab estéril. Fonte: arquivo dos autores

Identificação bacteriana e provas bioquímicas

As amostras foram cultivadas em placas de Petri contendo Ágar Mac Conkey e incubadas a 37°C por 18 a 24 horas em estufa bacteriológica, sendo após esse período processadas para identificação. A identificação das bactérias foi realizada utilizando kits da marca Probac do Brasil®, complementada por testes bioquímicos específicos, incluindo catalase, e coloração de Gram para diferenciação entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A técnica do Enterokit foi aplicada em colônias previamente cultivadas em Ágar MacConkey, sendo a inoculação realizada em Meio de Ágar EPM (Iron Agar), Meio Ágar MILi (Motilidade, Indol e Lisina) e Meio de Citrato de Simmons. Além disso, foi avaliada a capacidade das bactérias de utilizar a ureia e o citrato como parte do seu metabolismo, contribuindo para a diferenciação bioquímica das espécies isoladas.

Antibiograma

O teste de sensibilidade antimicrobiana foi realizado pelo método de difusão em disco (Kirby-Bauer) utilizando meio Ágar Mueller-Hinton. As colônias foram previamente diluídas em BHI e ajustadas à escala de MacFarland 0,5 ($\sim 10^8$ UFC/mL). O material foi semeado homogeneamente e discos impregnados com os seguintes antimicrobianos amoxicilina/Ácido Clavulânico, ampicilina 10 mcg, Piperacilina/Tazobactam 100/10 mcg, cefoxitina 30 mcg, cefepime 30 mcg, cefotaxima 30 mcg, ceftriaxona 30 mcg, gentamicina 30 mcg, meropenem 10 mcg, ciprofloxacina, aztreonam 30 mcg, sulfazotrim 25 mcg.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas e os halos de inibição foram medidos com régua milimetrada (Figura 2), comparando os resultados com os valores de referência do BrCAST (*Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*).

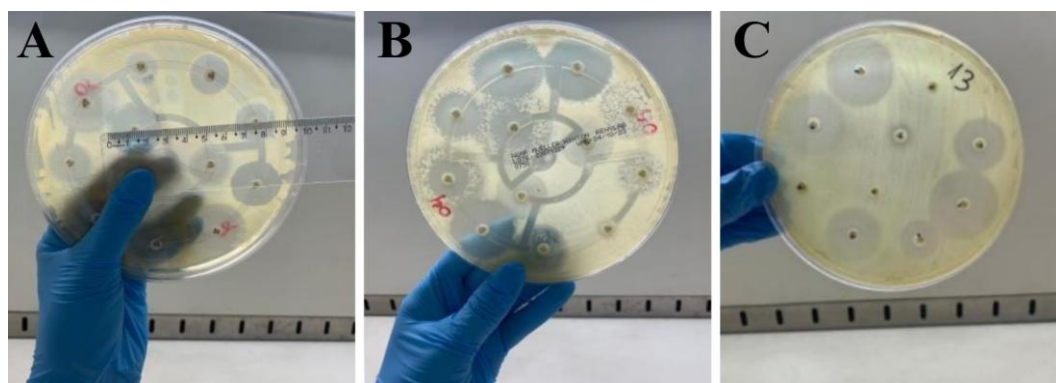


Figura 2. Halos formados em placa de Petri contendo Ágar Mueller Hinton e discos de antibiótico. (A) Mensuração dos halos em placa de Petri contendo Ágar Mueller Hinton e discos de antibiótico; (B) Crescimento de colônias bacterianas dentro do halo; (C) Ausência de crescimento de alguns halos. **Fonte:** arquivo dos autores

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises realizadas permitiram a identificação e a classificação das bactérias. Além disso, foi avaliado a capacidade da bactéria de utilizar a ureia, e o citrato como parte de seu metabolismo, mensurando ainda o potencial de motilidade e produção de gás do microrganismo.

Foram identificadas as seguintes bactérias Gram-negativas das amostras coletadas: *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella*

spp, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella* spp, *Serratia liquefaciens*, *Serratia* spp; e Gram-positivas: *Enterococcus aerogenes* e *Enterococcus* spp (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados dos enterokits e teste de oxidase das amostras coletadas que cresceram em Agar MacConkey (MAC)

| Espécie | Meio | LAC | CIT | EPM | H2S | UREIA | LTD | MOT | LIS | INDOL | Resultado |
|------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-------|-------------------------------|
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | - | - | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | - | - | + | - | - | + | + | <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | + | - | + | + | - | - | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | + | + | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | + | - | - | - | + | + | - | <i>Serratia</i> spp |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | + | + | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | + | + | - | - | - | + | + | - | <i>Serratia</i> spp |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | - | + | - | - | - | + | + | - | <i>Serratia liquefaciens</i> |
| <i>E. cenchria</i> | MAC | + | - | + | - | - | - | + | - | - | <i>Serratia liquefaciens</i> |
| <i>Boa constrictor</i> | MAC | - | - | - | + | + | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>Boa constrictor</i> | MAC | + | + | + | - | + | - | - | + | + | <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| <i>Boa constrictor</i> | MAC | - | - | + | - | - | - | + | - | + | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>L. getula</i> | MAC | + | + | + | + | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>L. triangulum</i> | MAC | + | + | + | + | - | + | + | + | + | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | + | + | + | + | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | - | - | - | + | - | + | + | + | + | <i>Enterococcus</i> spp |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | + | + | + | - | + | - | - | + | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | - | + | + | + | - | - | + | + | - | <i>Enterococcus aerogenes</i> |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | + | + | - | - | + | - | - | - | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>P. guttatus</i> | MAC | - | + | + | - | - | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>L. getula</i> | MAC | + | + | + | - | + | - | - | + | - | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>O. guibui</i> | MAC | - | + | + | + | - | - | + | + | - | <i>Salmonella</i> spp |
| <i>P. obsoletus</i> | MAC | + | - | + | - | + | - | - | + | - | <i>Klebsiella</i> spp |
| <i>P. obsoletus</i> | MAC | - | - | + | - | - | - | + | - | - | <i>Salmonella paratyphi</i> |
| <i>P. obsoletus</i> | MAC | - | + | + | - | + | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>P. obsoletus</i> | MAC | - | + | - | + | + | - | + | - | - | <i>Citrobacter freundii</i> |
| <i>P. obsoletus</i> | MAC | - | - | + | + | - | - | + | - | - | <i>Salmonella paratyphi</i> |

Fonte: Elaboração dos autores

A maior frequência de enfermidades causadas por bactérias em serpentes ocorre no trato digestivo, sendo as infecções por gram-negativas mais prevalentes (13, 14). Bactérias *Citrobacter* spp. foram as mais comumente isoladas na cavidade oral das serpentes envolvidas neste estudo, seguidas de *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Salmonella* spp, *Enterococcus* spp e *Escherichia coli*. A infecção por algumas bactérias pode ocorrer através do contato com solo, alimento, água e intestino das presas, como no caso da *Citrobacter* spp, ou ser simbiótica nativa, como sugerem estudos realizados com *Klebsiella* spp. em um exemplar de Habu de Taiwan (*Protobothrops mucrosquamatus*) recém-nascida (15, 16).

Os resultados obtidos por meio do isolamento bacteriano corroboram com estudos anteriores, que identificaram as bactérias *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Enterococcus* e *Salmonella*, e levantaram a hipótese de se tratar de microrganismos oportunistas que se proliferaram no processo de imunossupressão do hospedeiro ocasionado por fatores como trauma, alojamento e/ou dieta inadequada (17, 18).

Um estudo realizado por Lin e Tsai em 2023 revelou que as bactérias *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia* spp., e *Salmonella* spp. encontradas no presente estudo são potencialmente patogênicas para humanos. Mordidas causadas por serpentes podem causar danos além do envenenamento para humanos, como a infecção e sepse (7).

Dentre os antibacterianos analisados, a ampicilina e a cefotaxima apresentaram 40,7% de sensibilidade, com resistência de 59,3% e 55,6%, respectivamente. A ceftriaxona e a cefoxitina tiveram 48,1% de sensibilidade, enquanto a resistência variou entre 40,7% e 51,9%, com

sensibilidade intermediária de até 11,1%. O cefepime mostrou 55,6% de sensibilidade, 22,2% de resistência e igual percentual de sensibilidade intermediária. O aztreonam obteve 63% de sensibilidade, com 29,6% de resistência. A ciprofloxacina apresentou 66,7% de sensibilidade, enquanto 25,9% das bactérias foram resistentes. Os melhores resultados foram obtidos com gentamicina (81,5%), piperacilina (85,2%) e meropenem (85,2%), sendo esses últimos os antibióticos mais eficazes contra os microrganismos testados (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado de amostras que são sensíveis, resistentes ou possuem sensibilidade intermediárias aos antibióticos

| | Amoxicilina/ Ac. Clavulânico | Ampicilina | Aztreonam | Cefoxitina | Cefepime | Cefotaxima | Ceftriaxona | Ciprofloxacina | Gentamicina | Meropenem | Piperacilina/ Tazobactam | Sulfametoxazo/ Trimetoprim |
|-------------------------------|---------------------------------|------------|-----------|------------|----------|------------|-------------|----------------|-------------|-----------|-----------------------------|-------------------------------|
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S | R |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | R |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Citrobacter freundii</i> | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R |
| <i>Citrobacter freundii</i> | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R |
| <i>Citrobacter freundii</i> | R | R | I | R | S | R | R | S | S | S | S | R |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | S | S | R | S | R | I | I | S | S | R | S |
| <i>Citrobacter freundii</i> | S | S | S | S | R | R | R | R | S | I | R | R |
| <i>Enterococcus aerogenes</i> | R | R | I | R | I | R | R | S | S | S | S | R |
| <i>Enterococcus spp</i> | R | R | R | R | I | R | R | S | R | S | S | R |
| <i>Escherichia coli</i> | S | S | S | S | I | R | I | R | S | S | S | R |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | R | R | R | S | R | R | I | R | S | R | R | S |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | R | S | S | R | S | I | S | S | S | S | S | S |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | S | S | R | R | I | R | R | S | R | S | R | S |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | S | S | R | S | I | R | R | S | S | R | S | S |
| <i>Klebsiella spp</i> | S | R | S | R | I | R | R | R | S | I | S | R |
| <i>Salmonella paratyphi</i> | S | R | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S |
| <i>Salmonella paratyphi</i> | R | R | S | R | S | R | R | S | S | S | S | R |
| <i>Salmonella spp</i> | R | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | R |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | S | R | R | S | R | R | S | S | S | S | S | R |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | R | R | S | R | S | S | S | I | S | S | S | S |
| <i>Serratia spp</i> | R | R | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S |
| <i>Serratia spp</i> | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |

Legenda: S: Sensibilidade ao fármaco; R: Resistência ao fármaco; I: Sensibilidade intermediária ao fármaco. **Fonte:** Elaboração dos autores

Citrobacter spp., é uma bactéria gram-negativa, conhecida por sua crescente resistência a múltiplos antibióticos. Uma proporção significativa de isolados de *Citrobacter freundii* são multirresistentes, com algumas cepas resistentes a três ou mais classes de antibióticos (20, 21). Foi a mais prevalente na cavidade oral das serpentes envolvidas neste estudo. Exibe alta resistência a antibióticos como amoxicilina e sulfonamidas, com taxas de resistência frequentemente superiores a 80% (22, 23). A resistência a antibióticos como ceftriaxona e gentamicina é moderada (20) e o imipenem apresenta a maior atividade antibacteriana (24).

Klebsiella spp., particularmente *Klebsiella pneumoniae*, são patógenos significativos na medicina veterinária que frequentemente apresentam resistência a múltiplas drogas, como aminoglicosídeos, cefalosporina, penicilina e fluoroquinolonas (25, 26, 27). Em estudo, a

fosfomicina demonstrou alta eficácia contra *Klebsiella pneumoniae*, sugerindo-a como uma opção potencial para o tratamento (25), bem como amoxicilina/ácido clavulânico, que foram eficazes contra *Klebsiella* spp. isoladas de perus, indicando seu uso potencial em casos específicos (28).

Em estudos anteriores *Serratia* spp., apresentou variabilidade nos padrões de resistência antimicrobiana, em um estudo sobre mastite bovina no Iraque, *Serratia* demonstrou resistência completa a ampicilina, imipenem e tetraciclina e sensibilidade parcial a gentamicina (29). Na Austrália, mostrou resistência a fluoroquinolonas, cefalosporinas e aminoglicosídeos (30). Devido a variabilidade na suscetibilidade a antibióticos entre as cepas de *Serratia* spp. A infecção por esse agente exige terapia antibiótica personalizada, com base nos testes de suscetibilidade.

Salmonella spp. é um gênero bacteriano amplamente reconhecido por sua capacidade de causar infecções gastrointestinais. Em répteis, pode ser encontrada de maneira assintomática, o que os torna reservatórios silenciosos e potenciais fontes de transmissão para seres humanos e outros animais. Estudos com répteis de estimação demonstraram em Portugal, 41% encontrados portando *Salmonella* spp. (31), na Malásia 38% (32) e na Romênia, 43,28% carregavam *Salmonella* spp. (33). Cepas de *Salmonella* isoladas de répteis apresentam resistência a múltiplos antibióticos entre eles a gentamicina e trimetoprima-sulfametoxa (33, 34). Na China, cepas provenientes de cobras comestíveis foram sensíveis à tetraciclina e amicacina (35).

Enterococcus spp. são frequentemente isolados da flora oral de serpentes e de feridas causadas por picadas de serpentes. Essas bactérias geralmente são suscetíveis à ampicilina e à doxiciclina (36, 37) bem como aminoglicosídeos, como a gentamicina, que também são eficazes contra bactérias Gram-positivas (36).

Dada a grande variação na sensibilidade aos antibióticos entre as diferentes cepas bacterianas e entre espécies animais, é fundamental a realização de tratamentos direcionados e individualizados sempre que possível. A utilização de antibiogramas, que permitem determinar o perfil de resistência das bactérias, deve ser uma prática padrão na medicina veterinária, a fim de selecionar os antimicrobianos mais eficazes para cada caso específico, aumentando não apenas as chances de sucesso terapêutico, mas também contribuindo para a prevenção da disseminação de bactérias multirresistentes, evitando o uso indiscriminado e inadequado de antibióticos e garantindo a saúde pública e animal a longo prazo.

CONCLUSÕES

As técnicas utilizadas neste estudo permitiram mapear os microrganismos presentes na cavidade oral de serpentes mantidas sob cuidados humanos, sendo a bactéria *Citrobacter freundii* a mais prevalente. Além disso, os métodos utilizados possibilitaram comprovar que os antimicrobianos Meropenem e Piperacilina demonstraram maiores índices de efetividade aos microrganismos.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros e a todos os seus colaboradores pelo suporte fornecido, bem como à Universidade de Sorocaba pelo incentivo à pesquisa e disponibilização dos laboratórios para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

1. D'Cruze N, Khan S, Carder G, Megson D, Coulthard E, Norrey J, et al. A global review of animal–visitor interactions in modern zoos and aquariums and their implications for wild animal welfare. *Animals (Basel)*. 2019;9(6):332. doi: 10.3390/ani9060332.
2. Brando S, Herrelko ES. Wild animals in the city: considering and connecting with animals in zoos and aquariums. In: Bovenkerk B, Keulartz J, editors. *Animals in our midst: the challenge of co-existing with animals in the Anthropocene*. Cham: Springer; 2021. Chap. 19, p. 341-60. (The International Library of Environmental Agricultural and Food Ethics, v. 33). doi: 10.1007/978-3-030-63523-7_19.
3. Duque FG, Ferreira CS, Laste VJ, Silva BL, Campacci MS, Pacheco BF. Zoológico e aquários: sua importância contemporânea. *Rev Bras Educ Ambient*. 2021;16(5):8-26. doi: 10.34024/revbea.2021.v16.11711.
4. Hu X, Yang L, Zhang Y, Yang M, Li J, Fan Y, et al. Fecal and oral microbiome analysis of snakes from China reveals a novel natural emerging disease reservoir. *Front Microbiol*. 2024;14:1339188. doi: 10.3389/fmicb.2023.1339188.
5. Jacobson ER. Antibiotic therapy for reptiles. In: Bonagura JD, editor. *Current Veterinary Therapy XIII. Small Animal Practice*. Philadelphia: Saunders; 2000. p. 1168-9.
6. Blaylock RS. Normal oral bacterial flora from some southern African snakes. *Onderstepoort J Vet Res*. 2001;68(3):175-82.
7. Lin W-H, Tsai T-S. Comparisons of the oral microbiota from seven species of wild venomous snakes in Taiwan using the high-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene. *Biology (Basel)*. 2023;12(9):1206. doi: 10.3390/biology12091206.
8. Hedley J, Whitehead ML, Munns C, Pellett S, Abou-Zahr T, Calvo Carrasco D, et al. Antibiotic stewardship for reptiles. *J Small Anim Pract*. 2021;62(10):829-39. doi: 10.1111/jsap.13402.
9. Ghosh T, Biswas M, Roy P, Guin C. Short review of different microflora from the oral cavity of snakes. *Uttar Pradesh J Zool*. 2017;37(1-2):30-4. doi: 10.3390/biology12091206.
10. Zancolli G, Mahsberg D, Sickel W, Keller A. Reptiles as reservoirs of bacterial infections: real threat or methodological bias? *Microb Ecol*. 2015;70(3):579-84. doi: 10.1007/s00248-015-0618-3.
11. Ferreira RS Jr, Siqueira AK, Campagner MV, Salerno T, Soares TCS, Lucheis SB, et al. Comparison of wildlife and captivity rattlesnakes (***Crotalus durissus terrificus***) microbiota. *Pesq Vet Bras*. 2009;29(12):999-1003. doi: 10.1590/S0100-736X2009001200008.
12. Maugeri G, Lychko I, Sobral R, Roque ACA. Identification and antibiotic-susceptibility profiling of infectious bacterial agents: a review of current and future trends. *Biotechnol J*. 2018;14:e1700750. doi: 10.1002/biot.201700750.

13. Cristina RT, Kocsis R, Dégi J, Muselin F, Dumitrescu E, Tirziu E, et al. Pathology and prevalence of antibiotic-resistant bacteria: a study of 398 pet reptiles. *Animals (Basel)*. 2022;12(10):1279. doi: 10.3390/ani12101279.
14. Dipineto L, Russo TP, Calabria M, De Rosa L, Capasso M, Menna LF, et al. Oral flora of **Python regius** kept as pets. *Lett Appl Microbiol*. 2014;8(5):462-5. doi: 10.1111/lam.12214.
15. Liu H, Zhao Z, Xue Y, Ding K, Xue Q. Fatal cases of **Citrobacter freundii** septicemia and encephalitis in sheep. *J Vet Diagn Invest*. 2018;30(2):245-48. doi: 10.1177/1040638717731090.
16. Su H-Y, Hussain B, Hsu B-M, Lee K-H, Mao Y-C, Chiang L-C, et al. Bacterial community analysis identifies **Klebsiella pneumoniae** as a native symbiotic bacterium in the newborn **Protothrips mucroscuamatus**. *BMC Microbiol*. 2023;23(1):213. doi: 10.1186/s12866-023-02936-4.
17. Hedley J. Anatomy and disorders of the oral cavity of reptiles and amphibians. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2016;19(3):689-706. doi: 10.1016/j.cvex.2016.04.002.
18. Chinnadurai SK, Devoe RS. Selected infectious diseases of reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2009;12(3):583-96. doi: 10.1016/j.cvex.2009.06.008.
19. Dai Y. Toxicity study of sulfonamides antibiotics. *Front Sustain Dev*. 2024;4(6):109-12. doi: 10.54691/957gfp28.
20. Liu L, Chen D, Liu L, Lan R, Hao S, Jin W, et al. Genetic diversity, multidrug resistance, and virulence of **Citrobacter freundii** from diarrheal patients and healthy individuals. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;10(8):233. doi: 10.3389/fcimb.2018.00233.
21. Liu L, Lan R, Liu L, Wang Y, Zhang Y, Wang Y, et al. Antimicrobial resistance and cytotoxicity of **Citrobacter spp.** in Maanshan Anhui Province, China. *Front Microbiol*. 2017;20(8):1357. doi: 10.3389/fmicb.2017.01357.
22. Hayder T, Aljanaby A. Antibiotics susceptibility patterns of **Citrobacter freundii** isolated from patients with urinary tract infection in Al-Najaf governorate – Iraq. *Int J Res Pharm Sci*. 2019;10(2):1481-8. doi: 10.26452/ijrps.v10i2.722.
23. Rahman A, Shamsuzzaman S, Dola N. Antimicrobial susceptibility pattern and virulence genes detection in **Citrobacter freundii** isolated from patients of a tertiary care hospital, Bangladesh. *Int Arab J Antimicrob Agents*. 2022;12(2):1-7. doi: 10.3823/865.
24. Liu L, Qin L, Hao S, Lan R, Xu B, Guo Y, et al. Lineage, antimicrobial resistance and virulence of **Citrobacter spp.** *Pathogens*. 2020;9(3):195. doi: 10.3390/pathogens9030195.
25. Makavchik SA, Borisova M. Antibiotic resistance of **Klebsiella pneumoniae** and practical significance for veterinary medicine. *Leg Reg Vet Med*. 2023;1:26-30. doi: 10.52419/issn2782-6252.2023.1.26.
26. Harada K, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Sato T, Usui M, et al. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in **Klebsiella spp.** isolates from companion animals in Japan: clonal dissemination of multidrug-resistant extended-spectrum

- β -lactamase-producing **Klebsiella pneumoniae**. Front Microbiol. 2016;7:1021. doi: 10.3389/fmicb.2016.01021.
27. Sebola D, Oguttu J, Kock M, Qekwana D. Antimicrobial resistance patterns of **Acinetobacter baumannii** and **Klebsiella pneumoniae** isolated from dogs presented at a veterinary academic hospital in South Africa. Vet World. 2023;16(9):1880-8. doi: 10.14202/vetworld.2023.1880-1888.
28. Kowalczyk J, Czokajło I, Gańko M, Śmiałek M, Koncicki A. Identification and antimicrobial resistance in **Klebsiella spp.** isolates from turkeys in Poland between 2019 and 2022. Animals (Basel). 2022;12(22):3157. doi: 10.3390/ani12223157.
29. Abdullah A, Nadhom B, Al-Ammiri H. Isolation and identification of **Serratia marcescens** from bovine mastitis infections in Iraq and their susceptibility to antibiotics. J Entomol Zool Stud. 2017;5(2):489-92. doi: 10.13140/RG.2.2.25863.83362.
30. Allen JL, Doidge NP, Bushell RN, Browning GF, Marends MS. Healthcare-associated infections caused by chlorhexidine-tolerant **Serratia marcescens** carrying a promiscuous IncHI2 multi-drug resistance plasmid in a veterinary hospital. PLoS One. 2022;17(3):e0264848. doi: 10.1371/journal.pone.0264848.
31. Cota J, Carvalho A, Dias I, Reisinho A, Bernardo F, Oliveira M. **Salmonella** spp. in pet reptiles in Portugal: prevalence and chlorhexidine gluconate antimicrobial efficacy. Antibiotics (Basel). 2021;10(3):324. doi: 10.3390/antibiotics10030324.
32. Abatcha M, Zakaria Z, Kaur D, Thong K. Prevalence and antimicrobial susceptibility of **Salmonella** spp. isolated from snakes in Peninsular Malaysia. J Vet Adv. 2013;3:306-12.
33. Dégi J, Herman V, Radulov I, Morariu F, Florea T, Imre K. Surveys on pet-reptile-associated multi-drug-resistant **Salmonella** spp. in the Timișoara Metropolitan Region—Western Romania. Antibiotics (Basel). 2023;12(7):1203. doi: 10.3390/antibiotics12071203.
34. Marín C, Lorenzo-Rebenaque L, Laso O, Villora-Gonzalez J, Vega S. Pet reptiles: a potential source of transmission of multidrug-resistant **Salmonella**. Front Vet Sci. 2021;7:613718. doi: 10.3389/fvets.2020.613718.
35. Xia Y, Li H, Shen Y. Antimicrobial drug resistance in **Salmonella enteritidis** isolated from edible snakes with pneumonia and its pathogenicity in chickens. Front Vet Sci. 2020;7:463. doi: 10.3389/fvets.2020.00463.
36. Tang P, Divers S, Sanchez S. Antimicrobial susceptibility patterns for aerobic bacteria isolated from reptilian samples submitted to a veterinary diagnostic laboratory: 129 cases (2005-2016). J Am Vet Med Assoc. 2020;257(3):305-12. doi: 10.2460/javma.257.3.305.
37. Mao Y-C, Liu P-Y, Hung D-Z, Lai W-C, Huang S-T, Hung Y-M, et al. Bacteriology of **Naja atra** snakebite wound and its implications for antibiotic therapy. Am J Trop Med Hyg. 2016;94(5):1129-35. doi: 10.4269/ajtmh.15-0667.

Recebido em: 24-03-2025

Aceito em: 11-08-2025