

Cocos gram-positivos anaeróbios estritos da cavidade oral e do trato intestinal de primatas Calitriquídeos (*Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*) mantidos em cativeiro

Ana Cristina Azevedo Moreira*

Maria Auxiliadora Roque de Carvalho**

Eduardo Osório Cisalpino**

Carlos Américo Damasceno**

Auxiliadora Coronado Negrette***

Resumo

Este trabalho descreve a recuperação e a identificação de cocos gram-positivos anaeróbios estritos da cavidade oral e em espécimes fecais de sagüis Calitriquídeos, mantidos em cativeiro no Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas/UFMG. Foram coletados espécimes fecais e orais de oito animais, cultivados em ágar sangue com neomicina e em caldo tioglicolato suplementado. As cepas isoladas foram identificadas segundo as suas características morfocoloniais, morfotintoriais, respiratórias e testes bioquímicos. Foram recuperados cocos gram-positivos anaeróbios em espécimes orais e fecais, observando-se maior recuperação na cavidade oral. De espécimes orais foram isolados *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Streptococcus parvulus*, e *Streptococcus sp.* aerotolerante. Nos espécimes fecais, foram isolados *Peptostreptococcus sp.*, *Peptostreptococcus productus* e *Streptococcus parvulus*. Os resultados obtidos representam contribuição original para o conhecimento da microbiota oral e intestinal de Calitriquídeos, tendo significado para a Microbiologia comparada, por estar o grupo microbiano em estudo entre os anaeróbios mais freqüentes em infecções humanas.

Palavras-chave: Calitriquídeos. Cocos gram-positivos anaeróbios estritos. Isolamento. *Streptococcus*. *Peptostreptococcus*.

INTRODUÇÃO

Os vertebrados sadios, incluindo o homem, abrigam uma vasta coleção de diferentes tipos microbianos que colonizam a superfície corporal e cavidades abertas do hospedeiro logo após o nascimento. Segue-se, então, uma sucessão biológica que resulta em comunidades ca-

racterísticas para diferentes sítios corporais. Pele, cavidade oral, tratos respiratório, gastrointestinal e gênito-urinário são colonizados por microrganismos bem adaptados a esses ecossistemas e constituem coletivamente a microflora residente de um animal (TANNOCK, 1988; MIDTVEDT, 1990). Essa microbiota é descrita com diversos termos como: autóctones,

* Professora de Microbiologia. Instituto de Ciências da Saúde. UFBA; Departamento de Ciências da Vida. UNEB.
Departamento de Biointeração
Instituto de Ciências da Saúde
Universidade Federal da Bahia
Av. Reitor Miguel Calmon, s/n Vale do Canela
40110-100 Salvador Bahia Brasil
E-mail: crisazev@ufba.br

** Professor de Microbiologia. Pesquisador. Departamento de Microbiologia. Instituto de Ciências Biológicas. UFMG.

*** Mestre em Microbiologia. Departamento de Microbiologia. Instituto de Ciências Biológicas. UFMG.

alóctones, xenóctones, indígenas, residentes e outros (RUSCH, 1989).

Em vários nichos ecológicos, os anaeróbios estritos predominam numericamente. Na pele, eles excedem os anaeróbios facultativos na razão de 10:1. No cólon, que tem um potencial redox negativo, predominam sobre os facultativos na razão de 1000:1 (SAVAGE, 1977; TANNOCK, 1988).

A cavidade oral do homem possui uma microbiota bastante complexa constituída por bactérias, leveduras, protozoários e alguns vírus (LOESCHE, 1997; MARSH; MARTIN, 1999). Segundo esses autores, na microbiota oral predominam as bactérias anaeróbias ou anaeróbias facultativas, dos gêneros *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Micrococcus*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* e *Leptotriquia*.

Estudos realizados demonstram que, em diferentes espécies animais, a microbiota residente não é a mesma, devido a diferenças fisiológicas e anatômicas existentes entre elas.

No cólon, a concentração bacteriana é de 10^{10} a 10^{11} bactérias, e os microrganismos predominantes pertencem aos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Eubacterium*. Cocos gram-positivos anaeróbios, *Clostridium*, enterococos e várias espécies de enterobactérias também são comuns (SAVAGE, 1977; SIMON; GORBACH, 1984; TANNOCK, 1988).

Cocos gram-positivos anaeróbios estritos foram descritos em 1893 por Veillon, que os isolou de processos patológicos e do trato urinário. A partir de então, vêm sendo isolados de superfícies mucosas sadias ou em infecções mistas (ROSEBURY, 1962).

A maioria dos trabalhos sobre cocos anaeróbios se refere ao seu isolamento em espécimes clínicos ou à sua taxonomia, em contínua mudança. Mas, as pesquisas relacionadas com a sua ocorrência em outras espécies animais e com o seu papel ecológico são relativamente escasas. A literatura disponível sugere que cocos gram-positivos anaeróbios são membros numericamente importantes da microbiota residente do homem e de animais, podendo ser isolados

dos tratos intestinal, respiratório, gênito-urinário, cavidade oral e pele (EDELSTEIN, 1990; WATT; JACK, 1977). Sutter (1984) relatou a ocorrência de cocos gram-positivos anaeróbios na língua, na saliva, na placa e no sulco gengival do homem sadio. Smith e colaboradores (1986), verificando a ocorrência desses microrganismos na boca de pessoas sadias, encontraram pequena quantidade de cocos anaeróbios.

Há relatos sobre a ocorrência de cocos anaeróbios na flora fecal de aves domésticas e silvestres, macacos, suínos, cães, gatos, camundongos, cobaias, coelhos e cavalos (MITSUOKA, 1982). Em relação aos primatas não humanos, os relatos são escassos. Brown e colaboradores (1973), estudando a microbiota do *Saguinus oedipus*, isolaram espécies de *Peptostreptococcus*. Siegrist e Kornman (1982) recuperaram estes microrganismos da placa supragengival de *Macaca fascicularis*, e Benno, Sanada e Mitsuoka (1985) isolaram, nas fezes deste primata, cocos gram-positivos anaeróbios estritos.

Dentre os anaeróbios isolados em laboratórios clínicos, 10% a 40% são cocos gram-positivos anaeróbios estritos e estão associados com vários tipos de infecções. Embora possam ser isolados em cultura pura, na maioria das vezes agem sinergisticamente junto com outras bactérias em infecções mistas. Foram associados com processos infecciosos dos tratos respiratório e gênito-urinário, cavidade oral, ossos e articulações (ROSENBLATT, 1985; EDELSTEIN, 1990; WATT, 1991).

Na cavidade oral, cocos anaeróbios são encontrados em quantidades elevadas em pacientes com infecções endodônticas ou com a doença periodontal. Espécies de *Peptostreptococcus*, como o *P. micros*, podem estar relacionadas com estas doenças (YASSUI, 1989). Segundo Hardie (1991), espécies de *Peptostreptococcus* e *Streptococcus* foram isoladas em abscesso agudo dentoalveolar. Rocha e colaboradores (1998), estudando os agentes etiológicos de lesões periapicais, isolaram *Peptostreptococcus* em 90% dos pacientes com estas lesões. Gaetti-Jardim e colaboradores (1996) também isolaram *Peptostreptococcus sp.* em infecções de canais radiculares. Cultivando anaeróbios de bolsas periodontais,

Moncada e colaboradores (1988) isolaram *Peptostreptococcus*. Kamma e colaboradores (2000), avaliando a microbiota de lesões periodontais, isolaram *Streptococcus intermedius* e *Peptostreptococcus micros*. Lujan (1992) referiu caso de abscesso cerebral em lactente causado por *B. fragilis*, *B. melaninogenicus* e *Peptostreptococcus*.

Os fatores de virulência dos cocos gram-positivos anaeróbios não são tão estudados quanto os de Clostrídios e bacilos anaeróbios gram-negativos. Nesses microrganismos, foi detectada a presença de hialuronidase, colagenase e cápsula (ROSENBLATT, 1985; BROOK, 1987). Os cocos anaeróbios normalmente não estão associados com infecções características ou específicas, podendo ter patogenicidade limitada.

Os cocos gram-positivos anaeróbios estritos formam um grupo heterogêneo, definido pela sua morfologia e pela sua incapacidade de crescer na presença do oxigênio. A maioria dos isolados clínicos pertencem ao gênero *Peptostreptococcus*. A natureza mista das infecções das quais são isolados, dificuldades na identificação laboratorial e esquemas de identificação inadequados dificultam o estudo desses microrganismos (MURDOCH, 1998).

Nas últimas décadas, foi crescente o interesse na utilização de primatas não humanos Calitriquídeos como modelos animais. São símios valiosos, empregados em investigações que, direta ou indiretamente, visam ao bem-estar do homem. Desde que observadas normas criteriosas de manejo desses animais, a sua criação em cativeiro é justificada. A necessidade de um modelo experimental adequado motivou a criação de Calitriquídeos no centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas/UFMG.

O gênero *Callythrix* é dividido em dois grupos: *Argentata* e *Jacchus*. Do grupo *Jacchus* fazem parte as espécies *Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus* (MITTERMEYER et al., 1988).

São vulgarmente conhecidos como micos ou sagüis, a depender da região. No meio silvestre, alimentam-se de frutas, sementes, insetos e exsudatos de plantas. Vêm sendo estuda-

dos não só pela Primatologia, como por outros ramos da Biologia, incluindo, recentemente, pesquisas microbiológicas.

Considerando a importância clínica dos cocos gram-positivos anaeróbios, a falta de informações sobre a participação desse grupo na microbiota dos Calitriquídeos e a importância dessas informações para a Microbiologia comparada, servindo com base para futuros estudos de virulência e das doenças de interesse humano, foi desenvolvido este trabalho, com os objetivos de: isolar cocos gram-positivos anaeróbios estritos na cavidade oral e no trato intestinal de Calitriquídeos (*Callithrix penicillata* e *C. jacchus*) e identificar bioquimicamente, em nível de gênero e/ou de espécie, os microrganismos recuperados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse estudo foram utilizados 8 primatas neotropicais do gênero *Callitrix*, espécies *Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus*, mantidos em cativeiro no Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas/UFMG. A colônia desses animais era constituída por adultos jovens, de ambos os sexos, alimentados com pão molhado no leite, mistura de gelatina Royal e ração para cães Bonzo, acrescida de vitaminas C e E e bananas (PEREIRA et al., 1986).

Foram coletados nos animais espécimes orais (mucosa e placa dentária) e fecais. Antes da coleta, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Cetramida ou Brietal Sódico, na proporção de 15 mg/kg de peso do animal.

Após estimulação retal com um *swab* estéril, foram coletadas fezes, recém-emitidas. Para a coleta da placa dentária foi utilizada uma cureta periodontal em dentes incisivos e molares superiores e inferiores, sendo transportada em tubo com 2 ml de Solução de Ringer PRAS contendo pérolas de vidro. O material da mucosa oral foi coletado com um *swab* esterilizado, por fricção, e transportado sob fluxo de CO₂ em tubo contendo 2 ml de Solução de Ringer PRAS, com pérolas de vidro (HOLDEMAN; CATO; MOORE, 1977; SUTTER et al., 1980).

Para a contagem e o isolamento dos cocos gram-positivos anaeróbios, utilizou-se o meio de ágar sangue para anaeróbios, suplementado com hemina (5µg/ml), menadiona (10µg/ml) e acrescido de neomicina na proporção de 100µg/ml (meio CDC modificado segundo LENNETTE et al., 1985). Esse meio seletivo inibe o crescimento de bacilos entéricos facultativos, permitindo a recuperação de cocos gram-positivos anaeróbios, além de outros gêneros como *Clostridium*, *Bacteroides* e *Fusobacterium*.

Os espécimes, transportados para o Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios do Instituto de Ciências Biológicas/UFMG, foram homogeneizados em agitador tipo Vortex por 60 segundos. Para cada espécime foram feitas diluições decimais em Solução de Ringer PRAS, visando ao estudo quantitativo. Alíquotas de 0,1 ml das diluições foram então semeadas em duplicata em ágar sangue com neomicina e espalhadas com o auxílio de bastões de vidro em "L" esterilizados. As placas foram inoculadas em condições de anaerobiose, utilizando-se jarras de anaerobiose, pelo método de remoção mecânica do oxigênio e adição de mistura gasosa (10% de O₂ e 90% de N₂), a 37°C por 72 horas. Após incubação, foi feita a contagem das colônias, escolhendo-se a diluição apropriada. Cada colônia foi repicada para placa de ágar sangue suplementado e incubada por 48 horas em anaerobiose para a obtenção de cultura pura. Findo o período de incubação, foi feito o teste respiratório e foram observadas as características coloniais, tintoriais e morfocelulares das cepas isoladas através da coloração de Gram. Os cocos gram-positivos foram então preliminarmente caracterizados de acordo com a morfologia

colonial e celular, reação ao Gram e teste respiratório (anaeróbios estritos). Após novo repique, os isolados foram submetidos a testes bioquímicos e posterior identificação. A identificação foi feita de acordo com Holdeman, Cato e Moore (1977), Lombard (1977), Rosenblatt (1985), L. V. Moore e colaboradores. (1986), Edelstein (1990), Murdoch e Mitchelmore (1991), com adaptações.

As provas utilizadas para a identificação foram: produção de catalase, efeito do Tween-80 sobre o crescimento, sensibilidade ao metronidazol, produção de indol, produção de H₂S, hidrólise da esculina, redução do nitrato a nitrito, hidrólise da gelatina, produção de urease e fermentação de carboidratos (xilose, lactose, sacarose, manose, frutose, salicina, celobiose, galactose, glicose, maltose e tralose).

RESULTADOS

Foram examinadas para esse estudo 1.801 colônias, crescidas em anaerobiose no meio seletivo utilizado, recuperadas de espécimes orais e fecais de oito animais.

O meio de ágar sangue com neomicina permitiu o isolamento de outros grupos bacterianos além dos cocos gram-positivos anaeróbios nos três espécimes estudados.

Os Quadros 1, 2 e 3 mostram ainda a maior recuperação de cocos gram-positivos anaeróbios na cavidade oral do que das fezes. Nos espécimes orais (mucosa e placa dentária), o número de cocos gram-positivos facultativos foi maior do que o de cocos gram-positivos anaeróbios.

Animal	Diluição utilizada	Nº de colônias	Anaeróbios estritos				Anaeróbios facultativos	
			BGP ¹	BGN ²	CGP ³	Total	CGP ³	Outros
02	10 ⁻⁸	112	06	102	00*	108	00	04
04	10 ⁻⁶	30	00	00	00	00	30	00
09	10 ⁻⁷	95	05	42	05	52	00	43
14	10 ⁻⁷	50	03	37	00	40	00	10
16	10 ⁻⁷	141	01	137	00*	138	00	03
19	10 ⁻⁷	111	01	86	05	92	13	06
23 macho	10 ⁻⁷	69	15	41	00	56	00	13
23 fêmea	10 ⁻⁶	21	02	16	00	18	00	03
Total		629	33	461	10	504	43	02

QUADRO 1 – Microrganismos isolados de espécimes fecais de Calitriquídeos mantidos em cativeiro

1 - Bastonetes gram-positivos

2 - Bastonetes gram-negativos

3 - Cocos gram-positivos

* Nos animais 02 e 16 os cocos anaeróbios só cresceram em caldo tioglicolato.

Animais 02 e 16 = *Callithrix jacchus*

Animais 04, 09, 14, 19, 23m e 23f = *Callithrix penicillatta*

Animal	Diluição utilizada	Nº de colônias	Anaeróbios estritos				Anaeróbios facultativos		
			BGN ¹	BFGN ²	BGP ³	CGP ⁴	Total	CGP ⁴	Outros
02	10 ⁻⁵	138	03	25	08	01	37	73	28
04	10 ⁻⁵	55	00	07	06	06	19	30	06
16	10 ⁻⁵	144	24	35	00	01	60	38	46
19	10 ⁻⁵	135	29	22	06	03	60	56	19
23 macho	10 ⁻⁵	69	01	01	01	07	10	21	38
23 fêmea	10 ⁻⁵	52	01	01	01	06	09	12	31
Total		593	58	91	22	24	195	230	168

QUADRO 2 – Microrganismos isolados da mucosa oral de Calitriquídeos mantidos em cativeiro

1 - Bastonetes gram-negativos

2 - Bastonetes fusiformes gram-negativos

3 - Bastonetes gram-positivos

4 - Cocos gram-positivos

Nos animais 09 e 16, a contagem e o isolamento foram prejudicados pelo crescimento excessivo de colônias.

Animal	Diluição utilizada	Nº de colônias	Anaeróbios estritos				Anaeróbios facultativos		
			BGN ¹	BFGN ²	BGP ³	CGP ⁴	Total	CGP ⁴	Outros
02	10 ⁻⁵	144	03	08	00	00	11	92	41
04	10 ⁻⁵	90	05	37	01	01	44	27	19
16	10 ⁻⁵	67	05	21	01	01	28	17	22
19	10 ⁻⁵	153	26	37	09	01	73	16	64
23 macho	10 ⁻⁵	61	01	02	00	09	12	12	37
23 fêmea	10 ⁻⁵	64	00	03	01	03	07	08	19
Total		579	40	108	12	15	175	172	232

QUADRO 3 – Microrganismos isolados da placa dentária de Calitriquídeos

1 - Bastonetes gram-negativos

2 - Bastonetes fusiformes gram-negativos

3 - Bastonetes gram-positivos

4 - Cocos gram-positivos

Nos animais 9 e 16, a contagem e o isolamento foram prejudicados pelo crescimento excessivo de colônias.

Os Quadros 4 e 5 referem-se aos principais gêneros e espécies de cocos gram-positivos anaeróbios isolados dos espécimes estudados. Nem todas as cepas puderam ser identificadas, pois algumas morreram provavelmente por serem extremamente sensíveis ao oxigênio. Nos animais 2 e 9, a recuperação de cocos anaeróbios foi obtida no caldo tioglicolato.

Nº do animal	Gênero ou espécie	Nº de cepas identificadas
02	<i>Streptococcus parvulus</i>	01
09	<i>Peptostreptococcus productus</i>	04
	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	01
16	<i>Streptococcus parvulus</i>	01
19	<i>Streptococcus parvulus</i>	04
	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	01

QUADRO 4 – Cocos gram-positivos anaeróbios recuperados de espécimes fecais de Calitriquídeos

Animais 02 e 16 = *Callithrix jacchus*

Animais 09 e 19 = *Callithrix penicillata*

Nº do animal	Gênero ou espécie	Nº de cepas identificadas
02	<i>Streptococcus intermedius</i>	01
16	<i>Streptococcus sp.</i>	01
19	<i>Streptococcus sp.</i>	01
23 fêmea	<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	01
	<i>Streptococcus intermedius</i>	01
23 macho	<i>Streptococcus parvulus</i>	02
	<i>Streptococcus intermedius</i>	01
	<i>Streptococcus sp.</i>	01

QUADRO 5 – Cocos gram-positivos anaeróbios recuperados da cavidade oral de Calitriquídeos

Animais 2 e 16 = *Callithrix jacchus*

Animais 19, 23m, 23f = *Callithrix penicillata*

DISCUSSÃO

Meios de cultura seletivos são essenciais para a recuperação de bactérias específicas em materiais contendo misturas complexas de microrganismos como espécimes fecais, orais ou alguns espécimes clínicos. O meio de cultura utilizado, ágar sangue com neomicina, permi-

tiu a recuperação de cocos gram-positivos anaeróbios de espécimes orais e fecais de Calitriquídeos. Além desse grupo, foram recuperados grupos morfológicamente sugestivos dos gêneros *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, conforme pode ser observado nos Quadros 1, 2 e 3. Esses resultados confirmam que o ágar sangue com neomicina pode ser uma opção de meio seletivo para o isolamento desses grupos de microrganismos.

Nos espécimes fecais dos Calitriquídeos, os cocos gram-positivos ocorreram em proporções elevadas (5×10^7 UFC/g de fezes) em dois animais (25%); em 25%, só foram recuperados cocos anaeróbios em caldo tioglicolato em amostras fecais não diluídas e, em 50% dos animais, não houve o isolamento de cocos gram-positivos anaeróbios. Como o volume de fezes coletadas era pequeno, devido à dificuldade no manejo do animal, o tamanho do inóculo pode ter influenciado no isolamento dos cocos anaeróbios em alguns animais, já que o tamanho do inóculo é um fator metodológico significativo no cultivo de anaeróbios estritos devido à suscetibilidade dessas bactérias ao oxigênio.

O tipo de dieta pode exercer influência sobre a microbiota intestinal do homem e de animais. Attebery, Sutter e Finegold (1972), investigando o efeito de uma dieta quimicamente definida, rica em carboidratos sobre a flora fecal humana, verificaram o desaparecimento de cocos gram-positivos anaeróbios, os quais são usualmente proteolíticos. Como os animais utilizados neste estudo eram criados em cativeiro, alimentados com dieta diferente daquela de seu *habitat* normal, a dieta pode ter influenciado nos resultados obtidos.

Existem relatos na literatura em que o número de cocos gram-positivos anaeróbios isolados de espécimes fecais não foi o esperado. Examinando a ocorrência de cocos anaeróbios nas fezes de 50 pessoas, Thomas e Hare (1954) encontraram-nos em apenas cinco pessoas. Robinson (1977) e W. E. C. Moore e colaboradores (1987) também não encontraram um número elevado de *Peptostreptococcus* em fezes de suínos. A extrema suscetibilidade de algumas cepas de cocos gram-positivos anaeróbios ao oxigênio também pode explicar a ausência do seu isolamento.

Devido a dificuldades metodológicas na coleta de placa em Calitriquídeos, pois estes apresentaram pouca quantidade de placa, uma avaliação semiquantitativa foi feita nos espécimes orais, sendo utilizadas para o estudo diluições menores nestes espécimes. Observou-se também a perda de algumas cepas de cocos entre o cultivo primário e a identificação bioquímica, possivelmente por serem estas cepas extremamente sensíveis ao oxigênio. Das cepas identificadas por testes bioquímicos, a maioria era aerotolerante.

Os resultados expressos nos Quadros 2 e 3 demonstram que, nos espécimes orais, o número de cocos gram-positivos facultativos excedeu o de cocos anaeróbios estritos. Esses dados estão de acordo com a literatura em relação à cavidade oral de humanos (MARSH; MARTIN, 1999; FINEGOLD, 1990).

Cocos gram-positivos anaeróbios foram recuperados de espécimes orais de todos os Calitriquídeos estudados, com exceção dos animais 09 e 14, havendo maior recuperação na mucosa oral do que na placa dentária (Quadros 2 e 3).

Apesar de vários autores relatarem a presença de cocos gram-positivos na cavidade oral de humanos, os estudos são escassos em primatas não humanos. Brown e colaboradores (1973) isolaram cocos anaeróbios em *Saguinus aedipus* e Siegrist e Kornman (1982) em *Macaca fascicularis*. Não encontramos dados sobre o isolamento deste grupo bacteriano em Calitriquídeos.

Bastonetes gram-negativos fusiformes foram bastante isolados em espécimes orais, posteriormente identificados como pertencentes ao gênero *Fusobacterium*. O meio de ágar sangue com neomicina foi eficiente na recuperação deste grupo e poderá ser utilizado para o isolamento de espécimes orais.

A taxonomia dos cocos gram-positivos anaeróbios está em constante mudança. O mesmo microrganismo tem sido registrado com diferentes denominações. Algumas cepas isoladas não se enquadram nos esquemas publicados para a identificação. Apenas provas de fermentação

de carboidratos podem ser insuficientes, pois a maioria dos cocos anaeróbios são proteolíticos. Outras técnicas podem ser utilizadas como a cromatografia gasosa, perfil enzimático, sondas de DNA e PCR, porém um método prático, seguro e unificado ainda não está disponível (HARPOLD; WASILAUSKAS, 1987; TAYLOR; JACKMAN; PHILLIPS, 1991; MURDOCH, 1998).

A utilização de um grande número de provas bioquímicas, além das provas de fermentação de carboidratos, permitiu a identificação da maioria das cepas isoladas dos Calitriquídeos que se mantiveram viáveis.

Nos espécimes fecais de *C. penicillata* foram identificadas quatro cepas de *Peptostreptococcus productus*. Holdeman e colaboradores (1976), Benno, Sannada e Mitsuoka (1985), Edenharder e colaboradores (1989) relatam o seu isolamento em fezes de humanos e animais. Em Calitriquídeos, não foram encontrados relatos do seu isolamento.

Em *C. jacchus* (dois animais) e *C. penicillata* (um animal) foram identificadas seis cepas de *Streptococcus parvullus*. Essa espécie pertencia ao gênero *Peptostreptococcus* e foi transferida para o gênero *Streptococcus* (CATO, 1983). Não existem relatos sobre o seu isolamento em Calitriquídeos. Nas espécies fecais, duas cepas de *Peptostreptococcus* não foram identificadas em nível de espécie, salientando-se a necessidade de provas adicionais para identificá-las; elas podem ser novas espécies dentro desse grupo tão heterogêneo que são os cocos gram-positivos anaeróbios.

Em espécimes orais de cinco Calitriquídeos, foram identificados bioquimicamente *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus sp.*, *Peptostreptococcus prevotii* e *Streptococcus parvulus*. Quatro das cepas de cocos gram-positivos anaeróbios não puderam ser identificados bioquimicamente, pois não cresciam nos meios para provas bioquímicas. Salienta-se, portanto, a

necessidade de maiores informações sobre as exigências nutricionais dos cocos gram-positivos anaeróbios. Não pode ser descartada a hipótese de serem espécies não descritas. Com exceção do *Streptococcus parvulus*, que foi recuperado em espécimes orais e fecais dos Calitriquídeos, as espécies de cocos anaeróbios não foram as mesmas nos dois espécimes, refletindo as peculiaridades de cada ecossistema.

CONCLUSÃO

Utilizando-se a metodologia descrita, a avaliação bacteriológica de espécimes orais e intestinais de Calitriquídeos (*Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*) permitiu concluir que:

1) Os cocos gram-positivos anaeróbios ocorrem na cavidade oral e no trato intestinal de Calitriquídeos.

2) Cocos gram-positivos anaeróbios aerotolerantes são comuns na cavidade oral desses animais.

3) A perda de cepas isoladas no cultivo primário em espécimes orais sugere a presença de microrganismos muito sensíveis ao oxigênio.

4) Os gêneros *Streptococcus* e *Peptostreptococcus* ocorrem no trato intestinal e na cavidade oral desses sagüis.

5) A recuperação de cocos gram-positivos anaeróbios de espécimes orais e intestinais, não identificados em nível de espécie pela metodologia utilizada, mostra a necessidade de outros recursos taxonômicos, mas pode sugerir a presença de microrganismos ainda não descritos.

6) Os dados obtidos nesta pesquisa têm significado importante para a Microbiologia comparada, além de contribuir como dado básico, tendo em vista serem poucos ou inexistentes os relatos sobre o isolamento de cocos gram-positivos anaeróbios em Calitriquídeos.

Anaerobic gram positive cocci from the oral cavity and intestinal tract of marmosets (*Callithrix penicillata* and *Callithrix jacchus*) kept in captivity

Abstract

The present work describes the recovery and identification of anaerobic Gram positive cocci of the oral cavity and fecal specimens of Marmosets bred in captivity in the Central Bioterium of the ICB/UFMG. Fecal and oral specimens were collected from 8 animals, cultivated in blood agar medium with neomycine and Thioglicolate supplemented broth. The isolated strains were identified according to microscopic appearance, colonial morphology, respiratory characteristics and biochemical tests. Anaerobic Gram positive cocci were recovered from oral and fecal specimens of marmosets; a greater recovery was obtained from the oral cavity. *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus parvulus*, *Peptostreptococcus prevotii* and *Streptococcus* sp. were isolated from fecal specimens. Within the fecal specimens, *Peptostreptococcus* sp., *Peptostreptococcus productus* and *Streptococcus parvulus* were isolated. Those findings represent an original contribution to the knowledge of the marmosets' oral intestinal microflora, especially to the Comparative Microbiology, by considering that that group is among the most frequent anaerobic microbes related to human infections.

Keywords: Marmosets. Anaerobic Gram positive cocci. Isolation. *Streptococcus*. *Peptostreptococcus*.

REFERÊNCIAS

- ATTEBERY, H. R.; SUTTER, V. L.; FINEGOLD, S. M. Effect of a partially chemically defined diet on normal human fecal flora. *Am. J. Clin. Nutr.*, n.25, p.1391-1398, 1972.
- BENNO, Y.; SANADA, K.; MITSUOKA, T. The intestinal microflora of infants: fecal flora of infants with vitamin K deficiency. *Microbiol. Immunol.*, n.3, p.243-250, 1985.
- BROOK, I. Bacteremia and seeding of capsulate *Bacteroides* spp. and anaerobic cocci. *J. Med. Microbiol.*, n.1, p.61-67, 1987.
- BROWN, L. R. et al. Oral microbial profile of marmoset. *J. Dent. Res.*, n.4, p.815-822, 1973.
- CATO, E. P. Transfer to *Peptostreptococcus parvulus* to the genus *Streptococcus*: *Streptococcus parvulus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, n.33, p.82-84, 1983.
- EDELSTEIN, M. A. Anaerobic cocci. In: BARON, E. J.; FINEGOLD, S. M. **Diagnostic microbiology**. 8.ed. St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1990. p.549-557.
- EDENHARDER, R. et al. Characterization of NAD-dependent 3 alpha and 3 beta hidroxyesteroid dehydrogenase from *Peptostreptococcus productus*. *Biochim. Biophys. Acta*, n.2, p.230-238, 1989.
- FINEGOLD, S. Anaerobes: problems and controversies in bacteriology, infections and susceptibility testing. *Rev. Infec. Dis.*, v.12, n.2, p.223-229, 1990.
- GAETTI-JARDIM JR. et al. Bacterias anaeróbicas isoladas de tratamento endodôntico. *Rev. Odont. UNESP*, v.2, p.299-307, 1996.
- HARDIE, J. M. Dental and oral infection. In: DRASAR, B. S.; DUERDEN, B. I. **Anaerobes in human disease**. London: Edward Arnold, 1991. p.245-267.
- HARPOLD, D. J.; WASILAUSKAS, B. L. Rapid identification of obligately anaerobic Gram positive cocci using high performance liquid chromatography. *J. Clin. Microbiol.*, n.6, p.996-1001, 1987.
- HOLDEMAN, L. V.; CATO, E. P.; MOORE, W. E. C. **Anaerobic laboratory manual**. 4.ed. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University, 1977. 152 p.
- HOLDEMAN, L. V. et al. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.31, n.3, p.359-375, 1976.
- KAMMA, J. J. et al. Profile of subgingival microbiota in children with mixed dentition. *Oral Microbiol. Immunol.*, v.15, n.2, p.103-111, 2000.
- LENNETTE, E. H. et al. **Manual of clinical microbiology**. 4thed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. 1149p.
- LOESCHE, W. J. Ecology of the oral flora. In: NISENGARD, R. J.; NEWMAN, M. G. (Org.). **Microbiologia oral e imunologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 395p.

- LOMBARD, G. L. **Characteristics of anaerobic bacteria**. Atlanta: U.S.A. Center for Disease Control, 1997. 108p.
- LUJAN, H. Absceso cerebral por *B. melaninogenicus*, *B. fragilis* y *Peptostreptococcus sp.* en un lactante. **Arch. Argent. Pediat.**, v.90, n.1, p.45-48, 1992.
- MARSH, P.; MARTIN, M. V. **Oral microbiology**. 4th ed. London: British Library, 1999. 192p.
- MIDTVEDT, T. Ecosystems: development functions and consequences of disturbances with especial reference to the oral cavity. **J. Clin. Periodontol.**, v.17, p.474-478, 1990.
- MITSUOKA, T. Recent trends in research on intestinal flora. **Bifidobacteria microflora**, v.1, n.1, p.3-4, 1982.
- MITTERMEYER, R. A. et al. **Ecology and behavior of neotropical primates**. Washington: Word Wildlife Foundation, 1988.
- MONCADA, O. et al. Aspectos microbiológicos de muestras de pacientes con bolsas paradontais. **Rev. Cuba Estomatol.**, v.25, n.3, p.65-72, 1988.
- MOORE, L. V. et al. *Peptostreptococcus*. In: **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v.2. cap.12, p.1082-1092.
- MOORE, W. E. C. et al. Effect of high-fiber and high-oil diets on the fecal flora of swine. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.53, n.7, p.1638-1644, 1987.
- MURDOCH, D. A. Gram positive anaerobic cocci. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, n.1, p.81-120, 1998.
- MURDOCH, D. A.; MITCHELMORE, I. J. The laboratory identification of Gram-positive anaerobic cocci. **J. Med. Microbiol.**, v.34, p.295-308, 1991.
- PEREIRA, L. H. et al. Gelatin as a while for food and vitamin administration to marmosets. **Lab. Anim. Sci.**, v.36, n.2, p.189-190, 1986.
- ROBINSON, I. M. et al. Characterization of predominant bacteria from the colon of normal and dysenteric pigs. **App. Environ. Microbiol.**, v.48, p.964-969. 1977.
- ROCHA, M. N. P. et al. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. **Rev. Odont. Univ. São Paulo**, v.12, n.3, p.212-223, 1998.
- ROSENBLATT, J. E. Anaerobic cocci. In: LENNETTE, E. **Manual of clinical microbiology**. 4th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. 1149p.
- ROSEBURY, T. **Microorganisms indigenous to man**. New York: McGraw-Hill, 1962, 435p.
- RUSCH, V. The concept of symbiosis: a survey of terminology used in description of associations of dissimilarly named organisms. **Microecology and Therapy**, v.19, p.33-59, 1989.
- SAVAGE, D. C. Microbiol ecology of the gastrointestinal tract. **Ann. Rev. Microbiol.**, v. 31, p.107-133, 1977.
- SMITH, G. L. et al. Survival of Gram positive anaerobic cocci on swabs and their isolation from the mouth and vagina. **J. Clin. Pathol.**, v.39, n.1, p.93-98, 1986.
- SIEGRIST, B.; KORNMAN, K. S. The effect of supragingival plaque control on the composition of the subgingival microbial flora in ligature: induced periodontitis in the monkey. **J. Odont. Res.**, p.936-941, 1982.
- SIMON, G. L.; GORBACH, S. L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, v.86, p.174-196, 1984.
- SUTTER, V. L. et al. **Wadsworth anaerobic bacteriology manual**. St. Louis: C.V. Mosby, 1980. 131p.
- SUTTER, V. Anaerobes as normal oral flora. **Rev. Infect. Dis.**, v.6, n.1, p.62-66, 1984.
- TANNOCK, G. W. The normal microflora: new concepts in health promotion. **Microbiology**, v.5, n.1, p.4-8, 1988.
- TAYLOR, E. A.; JACKMAN, P. J. H.; PHILLIPS, I. The differentiation of aracharolytic anaerobic Gram positive cocci by protein electrophoresis. **J. Med. Microbiol.**, v.34, p.339-348, 1991.
- THOMAS, C. G.; HARE, R. The classification of anaerobic cocci and their isolation in normal human beings and pathological processes. **J. Clin. Pathol.**, v.7, p.300-304, 1954.
- WATT, B.; JACK, E. What are anaerobic cocci? **J. Med. Microbiol.**, v.10, p.461-468, 1977.
- WATT, B. Anaerobic cocci. In: DUERDEN, B. I.; DRASAR, B. S. **Anaerobes in human disease**. London: Edward Arnold, 1991. p.100-107.
- YASSUI, S. Development and clinical application of DNA probe specific for *Peptostreptococcus micros*. **Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.**, v.36, n.4, p.49-62, 1989.