

# Bacterias aisladas de culícidos (Diptera: Nematocera) hematófagos en Belém, Pará, Brasil\*

Bactérias isoladas de culicídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos em Belém, Pará, Brasil

Isolated bacteria from hematophagous Culicidae (Diptera: Nematocera) in Belém, Pará State, Brazil

Willy Cristiano Luz Alves  
 Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Edvaldo Carlos Brito Loureiro  
 Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua, Pará, Brasil

Inocência de Sousa Gorayeb  
 Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brasil

## RESUMEN

Las bacterias son abundantes en la naturaleza, participan de la flora y de la fauna animal, y algunas causan enfermedades. Tienen su distribución ampliada, cuando son transportadas por un vector. Los Diptera de la familia Culicidae, son vectores de epidemias de gran interés para la salud pública, sin embargo, la asociación entre las bacterias y los culícidos ha sido poco abordada. Para avanzar en el conocimiento sobre este tema, se propuso aislar e identificar las bacterias que son transportadas por los culícidos hematófagos en Belém, Pará. La captura de los culícidos se realizó con una trampa de luz de tipo CDC, en ocho puntos de colecta en el área metropolitana de Belém, que presentan distintas características ambientales. Fueron recogidas 296 muestras de culícidos, algunos de los cuales fueron identificados a nivel de especie (9) y otros para subgénero (4). De estas muestras se identificaron 17 especies de bacterias, otras siete fueron identificadas sólo a nivel de género. *Culex quinquefasciatus* y *Anopheles aquasalis* que fueron los más abundantes entre los culícidos. Las especies de bacterias *Gemella haemolysans* y *Enterobacter cloacae* fueron las más abundantes en las muestras. Los puntos de colectas se ubicaron en los barrios de Terra-Firme y Curió-Utinga, que fueron los que presentaron la mayor diversidad de especies de culícidos.

**Palabras clave:** Bactérias; Culicidae; Transporte Biológico; Ecosistema Amazônico.

## INTRODUCCIÓN

El orden Diptera, que incluye las moscas y mosquitos, posee cerca de 150 mil especies, y es la cuarta más grande de la clase Insecta. Sus miembros ocupan varios nichos en diferentes hábitat aéreos, acuáticos y terrestres. El orden Diptera posee diversas familias de importancia médica incluidas en el suborden Nematocera (Culicidae, Ceratopogonidae, Simuliidae y Psychodidae). En Brasil estás descritas aproximadamente 20 mil especies de dípteros en cerca de 100 familias que han sido indicadas en el *Catalogue of the Neotropical Region*<sup>42</sup>, aun no completado. La fauna de dípteros en Brasil todavía es poco conocida, y se cree que sea cerca de dos a tres veces más grande de lo que está registrado<sup>8</sup>.

Se reconoce mundialmente la existencia de cerca de 3.600 especies en la familia Culicidae. Están distribuidas en aproximadamente 40 géneros, siendo el área neotropical la que detenta un mayor nivel de endemismo, una vez que 27% des esos grupos están restringidos a esa región biogeográfica. La fauna de culícidos de la Amazonía es poco conocida, el último trabajo sobre la distribución de mosquitos, abarcando toda la Región Amazónica fue realizado en 1961<sup>9</sup> y reúne a 218 especies, con 152 en el Estado de Pará<sup>51</sup>. Los mosquitos constituyen un grupo grande, que contiene muchos géneros y especies, pero, desde el punto de vista humano, los géneros más importantes son los *Anopheles*, *Aedes* y *Culex*.

Hay pocos trabajos publicados en el mundo sobre la relación entre bacterias y dípteros, y menos aún, sobre bacterias y culícidos. Apenas en los últimos diez años empezaron a aparecer investigaciones sobre esa relación, y a ganar importancia en el medio científico. Han sido identificadas bacterias en el tracto digestivo de varias especies de insectos, constituyendo la microbiota intestinal<sup>40</sup>. Estudios realizados con mosquitos criados en insectarios en México<sup>20</sup> y en Brasil<sup>24</sup> evidenciaron la prevalencia de bacterias Gram negativas en sus intestinos. Algunas bacterias están siendo utilizadas como control

\* Parte de la disertación al curso de "Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias da Amazônia", Universidade Federal do Pará, Brasil.

### Correspondencia / Correspondência / Correspondence

Willy Cristiano Luz Alves  
 Rua Waterloo Prudente nº 96, Setor: Jardim Umuarama  
 CEP: 68552-210 Redenção-Pará-Brasil  
 E-mail: willycristiano@gmail.com

### Traducido por / Traduzido por / Translated by:

Rocio Tamara (resumen) y Lota Moncada (artículo)

biológico de insectos adultos y larvas en plantaciones<sup>13,49,5,50</sup>, otras están siendo probadas como alternativa en el control de poblaciones de mosquitos que causan epidemias<sup>43,30,14,3</sup>. Algunas otras investigaciones están evaluando la asociación entre las bacterias con vectores mecánicos, con posibilidad de transmisión por diversos insectos<sup>31,41,11,37,44</sup>. En estudio realizado en 2007<sup>31</sup>, fueron aisladas de tabánidos, más de 20 especies de bacterias, sobre todo pertenecientes a los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Serratia*.

Poblaciones de mosquitos que causan epidemias<sup>43,30,14,3</sup>. Algunas otras investigaciones están evaluando la asociación entre las bacterias con vectores mecánicos, con posibilidad de transmisión por diversos insectos<sup>31,41,11,37,44</sup>. En estudio realizado en 2007<sup>31</sup>, se aislaron de tabánidos, más de 20 especies de bacterias, sobre todo las pertenecientes a los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Serratia*.

El proceso de organización de las ciudades contribuye a la distribución de las especies de dípteros. Ambientes más habitados seleccionan las especies con mayor poder de adaptación a estos locales, mientras que los lugares en donde hay más arbolado y menos influencia humana, seleccionarán otras especies de dípteros. Y así, los dípteros son separados en nichos dentro de una misma ciudad. Los agentes que esos dípteros transportan también son muy variados y tratándose de bacterias, poco se puede afirmar sobre su papel en esta problemática. Hay pocas líneas de investigación sobre esta temática en Brasil y es necesario que sean creadas otras, en pro del avance del conocimiento. El objetivo principal es evaluar la diversidad entomológica y bacteriológica asociada a áreas urbanas distintas en la Ciudad de Belém.

## METODOLOGÍA

### ÁREA DE ESTUDIO

En la Ciudad de Belém se seleccionaron siete puntos de colecta, con características distintas en términos de urbanización. Otro punto fue seleccionado en un área próxima al margen del estuario del río Pará, localizado en el Distrito Administrativo de Outeiro, en Belém.

### Centro de Belém

Área del centro urbano de Belém, que se caracteriza por tener muchas casas y edificios, pocas áreas de suelo descubierto, muchas áreas cementadas y asfaltadas, vegetación restringida a los patios y a la ornamentación florística de la ciudad. Los puntos de colecta seleccionados se localizan en los barrios de Cremação y Nazaré.

### Pericentro de Belém

Área de Belém caracterizada por muchas casas y pocos edificios, con áreas de suelo al descubierto, con poco cemento y asfalto. Más vegetación en los patios y menos vegetación ornamental. Los locales de colecta seleccionados se localizan en los barrios de Curió-Utinga y Jurunas.

### Periferia de Belém

Área con pocas casas y sin edificios, casas alejadas entre sí por predios vacíos. Suelo sin cemento ni asfalto,

mucha vegetación en los terrenos deshabitados y en los patios, además, hay trechos de selva. Los puntos de colecta seleccionados se localizan en los barrios de Tapanã, Terra Firme e Icoaraci.

## Áreas de Estuario

Las varzeas del estuario del río Pará constituyen un ecosistema distinto, con características bióticas y abióticas propias. Las especies de insectos hematófagos y sus relaciones con las bacterias, también deben presentar aspectos especiales. Se realizaron colectas en el estuario del río Pará en Outeiro.

## COLECTA DE CULÍCIDOS

Los insectos fueron colectados en el período de mayo de 2007 a abril de 2008, siempre entre las 17 h y las 22 h o hasta las 6 h del día siguiente. Las colectas se realizaron con técnica apropiada para minimizar la contaminación de las trampas y los recipientes para la colecta de los culicidos.

Fueron utilizadas trampas luminosas del tipo CDC<sup>47</sup>, que son usualmente utilizadas para muestreo de insectos hematófagos (principalmente culicidos, flebotomíneos y ceratopogónidos). Atraen los insectos a una pequeña fuente de luz de tungsteno. Cuando estos pequeños insectos se aproximan de la luz, son aspirados para el interior de la trampa por un pequeño ventilador que funciona accionado por una corriente de 12 V. Los insectos colectados por este método permanecen vivos hasta que son retirados.

## IDENTIFICACIÓN DE LOS CULÍCIDOS

Los culicidos, son llevados, inmediatamente después de colectados, al Departamento de Arbovirología del Instituto Evandro Chagas (IEC), Belém, Pará y, con la participación de especialistas, fueron identificados utilizándose para tal claves de identificación de tres artículos clásicos en taxonomía de Culicidae: Forantini<sup>19</sup>, Gorham et al<sup>21</sup> y Faran y Finthicum<sup>17</sup>.

## IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

Luego de su identificación, los mosquitos fueron sometidos a los tratamientos para la investigación de bacterias.

De acuerdo al número de ejemplares de mosquitos colectados de cada especie, fueron separados en grupos (*pools*). Se estudiaron un total de 41 *pools* con tres ejemplares y seis *pools* con dos ejemplares, totalizando 129 culicidos. Hubo necesidad de utilizar, en algunos casos, *pools* con dos ejemplares por causa de la insuficiencia de ejemplares colectados de una determinada especie.

Para la formación de los *pools* los mosquitos fueron separados asépticamente (próximo a un pico de Bunsen) utilizando cabina de seguridad biológica. En ninguna etapa de la investigación hubo manipulación directa de los ejemplares de culicidos, ya que éstos estaban acondicionados individualmente en tubos de ensayo, lo que facilitó la identificación y disminuyó las fuentes de

contaminación.

Después de la definición e identificación de los grupos, fueron triturados en solución fisiológica estéril. En seguida se retiró una alícuota que fue inoculada en dos medios de cultivo, el Tryptic Soy Broth (TSB) y el Tioglicolato de sodio, por 24 h a 37° C.

Una alícuota del material contenido en los tubos de TSB y Tioglicolato en donde se verificó crecimiento (enturbiamiento), fue sembrada en los siguientes medios de cultivo: agar sangre, agar sangre en 5 a 10% de CO<sub>2</sub>, agar Chapman y agar MacConkey, y posterior incubación a 37° C por 24 h.

Las colonias crecidas en agar sangre y agar Chapman fueron sometidas a bacterioscopía por el método de Gram y posterior identificación de los cocos y bacilos Gram positivos<sup>28</sup>. Tres a cinco colonias de agar MacConkey fueron sembradas en medio de selección TSI (triple azúcar e hierro) y posterior identificación bioquímica de los bacilos negativos por el método de Gram<sup>15,25</sup>.

Para la caracterización bioquímica se utilizó también el sistema ID 32 E, API 20 E, API 50 CH, API Staph, API Corine y API 20 Strep, a través del aparato Mini API da Bio – Mérieux, Francia. El control de calidad de los kits para las determinaciones bioquímicas se realizó, utilizando las siguientes muestras estándar: *E. coli* ATCC-25922, *P. aeruginosa* ATCC-27853 y *S. Aureus* ATCC-25923.

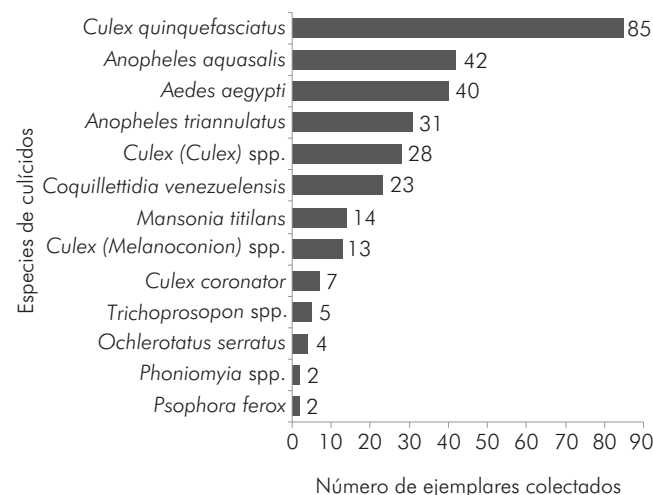
## RESULTADOS

Fueron colectados 296 culicidos hematófagos durante todo el período de la investigación, pero no todos los ejemplares se usaron para el estudio bacteriológico, solamente 129, que fueron divididos en 41 (pools) de tres ejemplares de la misma especie, y tres pools conteniendo dos ejemplares. La mayoría de los culicidos colectados fue identificada a nivel de especie: *Culex (Culex) coronator*, *Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus*, *Coquillettidia (Rhynchoaenia) venezuelensis*, *Mansonia (Mansonia) titillans*, *Culex (Culex) quinquefasciatus*, *Mansonia (Mansonia) titillans*, *Aedes (Stegomyia) aegypti*, *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis* y *Psorophora (Janthinosoma) ferox*. Otros, sin embargo, fueron identificados solamente a nivel de género: *Culex (Culex) spp.*, *Phoniomyia spp.* y *Culex (Melanoconion) spp.*

De todos los culicidos colectados tan sólo *Psorophora (Janthinosoma) ferox* y *Phoniomyia spp.* no presentaron crecimiento de bacterias en los medios seleccionados para la identificación. Ejemplares de *Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis* fueron colectados en el punto de colecta de Outeiro y en el punto de Nazaré, sin embargo, solamente hubo crecimiento bacteriano en los ejemplares del local de colecta de Nazaré.

La especie *C. quinquefasciatus* fue la más colectada (85 ejemplares), lo que representó un 28,7% del total de culicidos capturados (Figura 1). Se colectaron 42 ejemplares de *A. aquasalis* y 40 ejemplares de *A. aegypti*, lo que representó un 14,1% y un 13,5% del total de mosquitos, respectivamente. El punto de colecta de Tierra

Firme presentó la mayor cantidad de especies de culicidos; fue posible la identificación hasta el nivel de especie de *Coquillettidia venezuelensis*, *Ochlerotatus serratus* y *Psorophora ferox*. Fueron identificadas hasta el subgénero *Culex (Culex) spp.* y *Trichoprosopon (Trichoprosopon) spp.*, y hasta el género *Phoniomyia spp.* El local de colecta de Curió-Utinga también presentó gran cantidad de culicidos, fueron identificados cuatro hasta el nivel de especie y uno



**Figura 1** – Especies de culicidos con el respectivo número de ejemplares colectados

hasta el subgénero. En el barrio de Cremação se colectó solamente la especie *Culex quinquefasciatus*.

En los culicidos colectados se identificaron 17 especies de bacterias y otras siete que fueron identificadas solamente a nivel de género. Entre las bacterias identificadas hubo un predominio de las especies *Gemella haemolysans*, *Enterobacter cloacae* y *Enterococcus faecalis* (Figura 2), lo que representó un 14,5%, 12,3% y 8,9% del total de bacterias identificadas, respectivamente. El género *Staphylococcus* (negativo para ensayo de coagulasa) fue identificado en un 10% de las muestras analizadas. La figura 3 ilustra el número de especies de bacterias en cada punto de colecta de los culicidos. *Culex quinquefasciatus*, *Coquillettidia venezuelensis* y *A. aegypti* fueron los tres culicidos que presentaron el más grande número de especies bacterias. No hubo crecimiento bacteriano en los medios de cultivo con ejemplares de *Psorophora ferox* y *Phoniomyia spp.*

La tabla 1 presenta los resultados obtenidos relacionando las bacterias aisladas a las especies de culicidos. Muestra también la frecuencia de las bacterias en cada especie de culicídeo en los puntos en donde fueron colectados. Se observó que *E. cloacae* fue encontrada en seis especies (como mínimo) de Culicidae; *G. haemolysans* y *Staphylococcus sp.* Se encontraron en cuatro especies (mínimo); *B. cereus* y *Phatoes sp.* en tres especies; las demás especies de bacterias fueron encontradas en dos o solamente en una especie de Culicidae. La *E. cloacae* también fue la especie de bacteria que surgió en más puntos de colecta (cinco barrios); *G. haemolysans*, *Phantoea sp.* y *Staphylococcus sp.*

ocurrieron en tres barrios; y las demás en dos o solamente en un barrio. Se observó además que algunas especies de bacterias presentaron una elevada frecuencia en determinada especie de culicídeo: *G. haemolysans* en *C. (C.) quinquefasciatus* (un 7,82% del total de cepas aisladas e identificadas); *Staphylococcus* sp. y *Culex (Culex)* spp. 6,7%; *E. faecalis* en *C. (C.) quinquefasciatus* (6,14%); *B. Cereus* en *Culex (Culex)* spp. (5,59%); *G. haemolysans* en

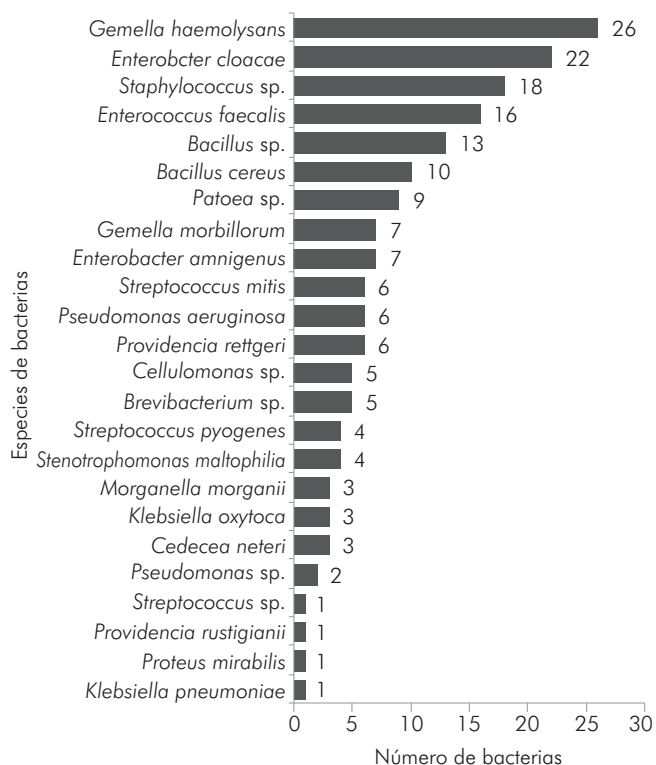


Figura 2 – Número de ocurrencias de las especies de bacterias en las muestras

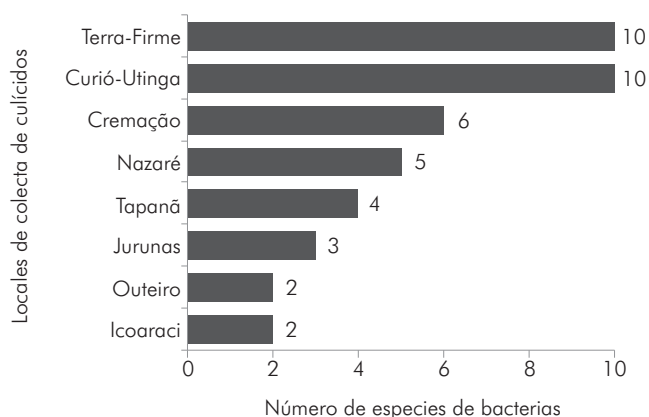


Figura 3 – Número de especies de bacterias identificadas en los culicidos en cada punto de colecta

*A. (N.) aquasalis* (5,02%); *Bacillus* sp. en *Coquillettidia (R.) venezuelensis* (4,47%); las demás presentaron tasas por debajo del 4%.

En la figura 3 se ilustra el número de especies de bacterias en cada punto de colecta de los culicidos. Los puntos de colecta del Curió-Utinga y de Terra-Firme presentaron un número más grande de especies de

bacterias. Las más frecuentes en esos puntos fueron, respectivamente: *Bacillus cereus* (5,59% del total de cepas identificadas) y *Gemella haemolysans* (7,82% del total de cepas identificadas). Por otro lado, los puntos de colecta de Outeiro y de Icoaraci presentaron apenas dos especies de bacterias, con predominio de *Patoea* sp. (2,23% del total de cepas identificadas) en Outeiro y de *Enterobacter cloacae* (1,67% del total de cepas identificadas) en Icoaraci.

La figura 4 ilustra el número de especies de bacterias encontradas en cada especie de culicídeo. *Culex quinquefasciatus*, *Coquillettidia venezuelensis* y *A. aegypti*

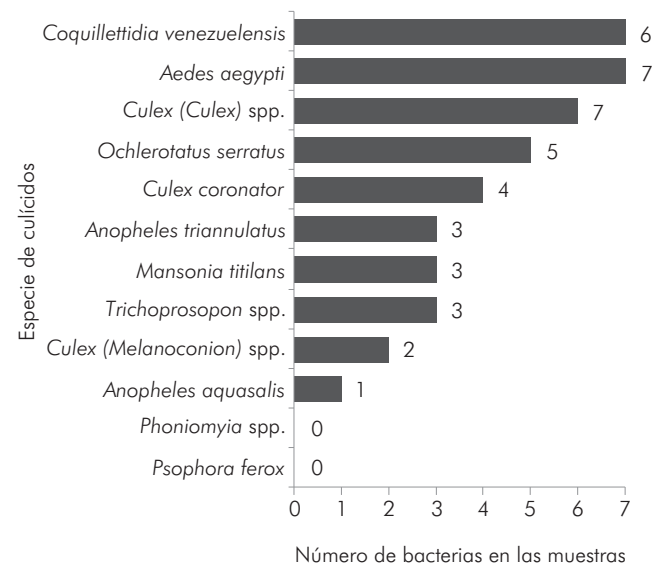


Figura 4 – Número de especies de bacterias en las especies de culicidos

fueron los culicidos que presentaron el mayor número de especies de bacterias. No hubo crecimiento bacteriano en los medios de cultivo con ejemplares de *Psorophora ferox* y *Phoniomyia* spp.

### DISCUSIÓN

Los culicidos están ampliamente asociados a las actividades antrópicas, que ofrecen sitios de oviposición artificiales y permiten la mantención de sus poblaciones. Los centros urbanos se configuran como favorecedores de la dispersión y el aumento de la densidad de los mosquitos, ya que el espacio social organizado influencia la interacción entre el vector, el agente infeccioso y el hombre. Entre las especies de culicidos colectados, *C. quinquefasciatus* y *A. aegypti* las especies que presentaron más poder de domicialización.

*C. quinquefasciatus* se colectó en cinco de los ocho puntos de colecta definidos, confirmando que es una especie que presenta gran poder de dispersión. En un estudio realizado en 1991<sup>45</sup>, hembras, inicialmente marcadas, fueron posteriormente recapturadas a 1 Km. del punto de soltura. Este factor es esencial para calificar el potencial de dispersión de esta especie. Lo que puede ser confirmado por las bacterias identificadas en sus muestras,

**Tabla 1** – Frecuencia de las bacterias identificadas en los culicidos colectados en los puntos de colecta de la Ciudad de Belém

Especies de bacterias	Especies de culicidos	Punto de colecta	f (%) de bacterias
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Culex (Culex) spp.</i> <i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar e Knab <i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus s.l.</i> (Neiva e Pinto)	Curió-Utinga	5,59
<i>Bacillus sp.</i>	<i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus s.l.</i> (Neiva e Pinto) <i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald)	Nazaré Curió-Utinga	2,79 4,47
<i>Cedecea neteri</i>	<i>Mansonia (Mansonia) titillans</i> (Walker) <i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say	Curió-Utinga Cremação	1,25 0,56
<i>Cellulomonas sp.</i>	<i>Culex (Culex) spp.</i> <i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar e Knab	Curió-Utinga	2,79
<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say <i>Culex (Melanoconion) spp.</i>	Cremação Icoaraci Nazaré	0,56 1,67 1,67
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mansonia (Mansonia) titillans</i> (Walker) <i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar e Knab <i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald) <i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say <i>Culex (Melanoconion) spp.</i> <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Curió-Utinga Terra-Firme Cremação Nazaré Icoaraci	2,23 1,12 3,91 3,35 1,67
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Cremação Jurunas	6,14 2,79
<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald) <i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) spp.</i> <i>Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis</i> Curry <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Terra-Firme Nazaré Jurunas	7,82 5,02 1,67
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Culex (Culex) spp.</i> <i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald)	Terra-Firme	3,91
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald)	Curió-Utinga	1,67
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Tapanã	0,56
<i>Morganella morganii</i>	<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald) <i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar e Knab	Terra-Firme Curió-Utinga	1,12 0,56
<i>Pantoea sp.</i>	<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald) <i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) spp.</i> <i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say	Terra-Firme Cremação Outeiro	2,23 0,56 2,23
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Tapanã	0,56
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say	Cremação Jurunas	1,12 2,23
<i>Providencia rustigianii</i>	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus)	Tapanã	0,56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus) <i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say	Tapanã	3,35
<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Trichoprosopon (Trichoprosopon) spp.</i>	Terra-Firme	1,12
<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Culex (Culex) spp.</i> <i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald) <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald) <i>Anopheles (Nyssorhynchus) triannulatus s.l.</i> (Neiva e Pinto)	Terra-Firme Curió-Utinga Nazaré	6,70 1,12 2,23
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Culex (Culex) spp.</i> <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald)	Curió-Utinga Terra-Firme	1,12 1,12
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) serratus</i> (Theobald)	Terra-Firme	3,35
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Coquillettidia (Rhynchotaenia) venezuelensis</i> (Theobald)	Terra-Firme	2,23
<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Say	Outeiro	0,56

ya que la especie *Enterobacter amnigenus* fue aislada de muestras de barrios distantes como Cremação e Icoaraci;

la posibilidad de *Staphylococcus aureus*, que es una de las especies más importantes del género, por estar involucrada en diversas patologías que van desde infección alimentaria<sup>33</sup> hasta septicemias<sup>16</sup>. Los resultados de un estudio reciente desarrollado por Costa<sup>11</sup> revelaron que las bacterias del género *Staphylococcus*, negativas al ensayo de coagulasa, fueron el principal hallazgo de la investigación bacteriológica en hormigas provenientes de hospitales de Minas Gerais, evidenciando su capacidad de ser transportadas por vectores mecánicos.

*Enterococcus faecalis* fue aislada de *C. quinquefasciatus* de los locales de colecta de Cremação y Jurunas, y también de *A. aegypti* del punto de colecta de Jurunas. Representó un 8,93% del total de colonias de bacterias aisladas, siendo más frecuente en las muestras de *C. quinquefasciatus* del punto de colecta de Cremação (6,14%). Los enterococos son cocos Gram positivos que generalmente se disponen en pares y en cadenas cortas, pueden ser hallados en el suelo, en alimentos, en el agua, en animales, pájaros e insectos. El principal reservorio humano de los enterococos es el tracto gastrointestinal, pero, también puede ser encontrado, con menos frecuencia, en cavidad oral, vesícula biliar, vagina y uretra masculina<sup>53</sup>. En los últimos años, varios estudios han sido realizados porque los enterococos se tornaron importantes agentes de enfermedades humanas, debido principalmente a su resistencia a agentes antimicrobianos<sup>38</sup>.

El *Bacillus cereus* y *Bacillus* sp. representaron respectivamente 5,59% y 7,26% del total de cepas de bacterias identificadas. *B. cereus* fue aislado de *C. coronator*, *C. (Culex)* spp. y de *A. triannulatus* capturados en el punto de colecta de Curió-Utinga. Mientras que *Bacillus* sp. fue aislado de *A. triannulatus* del punto de colecta de Nazaré y de *C. venezuelensis* del punto de colecta de Curió-Utinga. El *B. cereus* es una bacteria Gram positiva, tiene como reservorio natural el suelo. Sin embargo, debido a la resistencia de sus esporas, esta bacteria puede ser aislada de una gran variedad de puntos, estando ampliamente distribuida en la naturaleza. De acuerdo con Mendes et al<sup>35</sup> su principal implicación está en la contaminación alimentaria, que puede provocar deterioro de los alimentos almacenados y diarrea cuando éstos son consumidos<sup>39</sup>. Ya el *Bacillus* sp. está más asociado a contaminación de leche. De acuerdo con Vittoril et al<sup>52</sup>, ni siquiera los procesos térmicos del beneficio de la leche son capaces de destruir tales bacterias.

*Pantoea* sp. fue aislada de *C. venezuelensis*, *T. (Trichoprosopon)* spp. y *C. quinquefasciatus*, colectados en los locales de Terra-Firme, Cremação y Outeiro. Su frecuencia fue de un 5,02% del total de cepas identificadas. Las *Pantoea* sp. son bacilos cortos Gram negativos, normalmente aislados de superficies de plantas, de semillas, del suelo y del agua. Son patógenos oportunistas y por eso pueden estar presentes en heridas, sangre y orina humana<sup>26</sup>.

*Gemella morbillorum* fue aislada de *C. (Culex)* spp. y de *Coquillettidia venezuelensis* colectados en el local de

colecta de Terra-Firme, presentó una frecuencia de 3,91% del total de cepas identificadas. Se trata de una bacteria comensal de la orofaringe, vías aéreas superiores y aparatos urogenital y gastrointestinal, raramente causa infecciones en humanos. Sin embargo, ha sido referido un creciente número de procesos infecciosos en diferentes localizaciones. Abscesos cerebrales provocados por esta bacteria son extremadamente raros, se han encontrado apenas cuatro casos previamente descritos en la literatura<sup>29</sup>.

*Pseudomonas aeruginosa* fue aislada de *A. aegypti* y *C. quinquefasciatus* del punto de colecta de Tapanã, con una frecuencia de 3,35%. Se trata de una bacteria Gram negativa extremadamente versátil, que puede ser encontrada en diversos ambientes, principalmente suelo y agua, o aún, asociada a plantas y animales, pudiendo causar infecciones oportunistas. En seres humanos, *P. aeruginosa* causa infecciones en individuos inmunocomprometidos, como pacientes de SIDA y cáncer, víctimas de quemaduras y portadores de fibrosis quística<sup>1</sup>. La *P. aeruginosa* también es frecuentemente encontrada en infecciones hospitalarias, siendo capaz de adherir a diversos materiales, contaminando catéteres, ventiladores, prótesis y lentes de contacto. Por causa de la alta resistencia a antibióticos y del gran arsenal de factores de virulencia de esta bacteria, las infecciones causadas por ella son de difícil control<sup>4</sup>.

*Providencia rettgeri* y *Providencia rustigianii* juntas presentaron una frecuencia de 3,91% del total de cepas identificadas. Fueron aisladas, respectivamente, de *C. quinquefasciatus* capturados en los puntos de colecta de Cremação y Jurunas, y de *A. aegypti* que fueron colectados en el local de colecta de Tapanã. El género *Providencia* actualmente está compuesto de cinco especies: *P. alcalifaciens*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, *P. rustigianii* y *P. heimbachae*, de las cuales, las cuatro primeras son reconocidas como patógenos humanos. Estas especies son corrientemente asociadas a infecciones del tracto urinario en la comunidad sana y en pacientes con catéter. Pueden causar infecciones oportunistas variadas en pacientes hospitalizados, con quemaduras, lesiones cutáneas, heridas quirúrgicas y septicemia<sup>2</sup>.

El género *Streptococcus* comprende muchas especies de cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, comensales y patogénicos que colonizan la piel y membranas mucosas de los tractos respiratorio, genitourinario y canal alimentar de humanos y otros mamíferos<sup>32</sup>. En este trabajo, fueron aislados e identificados hasta la categoría de especie el *Streptococcus mitis* y *Streptococcus pyogenes*, en una tercera cepa no fue posible llegar hasta la especie. El *Streptococcus mitis* fue aislado de *Ochlerotatus serratus* colectados en el punto de colecta de Terra-Firme, presentó una frecuencia de 3,35% del total de cepas identificadas. Se trata de una especie predominante en las membranas mucosas y lengua del hombre<sup>32</sup>. El *S. pyogenes* presentó una frecuencia de 2,23% y fue aislado de *C. venezuelensis* capturados en el punto de colecta de Terra-Firme. Esa especie también es conocida como estreptococo beta-hemolítico del Grupo A (SBGA). Es la principal

representante de los estreptococos beta-hemolíticos, ha demostrado, a lo largo del tiempo, alto poder de adaptación al hospedero humano, actuando como importante agente etiológico de una serie de manifestaciones clínicas, entre las cuales predomina la orofaringitis<sup>32</sup>, bien como secuelas no supurativas, representadas por la fiebre reumática y la glomerulonefritis.

La *Stenotrophomonas maltophilia* fue aislada en dos momentos: de *Culex* spp. colectados en el local de Curió-Utinga y de *Ochlerotatus serratus* colectados en el punto de colecta de Terra-Firme. Presentó una frecuencia de 2,24% del total de cepas aisladas e identificadas. Se trata de una bacteria en la forma de bacilo Gram negativo que puede ser encontrada en una gran variedad de ambientes y regiones geográficas, ocupando nichos ecológicos distintos y fuentes múltiples de agua. Otras fuentes de aislamiento incluyen el suelo, detritos, leche cruda, pescado congelado, huevos y carcasa de animales<sup>46</sup>. En el ambiente hospitalario, esa especie ya ha sido aislada de agua corriente, piletas, respiradores, catéteres de succión, monitores de presión arterial, equipamiento de diálisis y ocasionalmente, de las manos de profesionales de salud<sup>12</sup>. Actualmente la *S. maltophilia* se considera un patógeno emergente, pues está ocupando un papel importante en el escenario de las infecciones hospitalarias, siendo responsable por elevada morbilidad y letalidad, por causa de su intrínseca resistencia a la mayoría de los antibióticos disponibles<sup>12</sup>.

La *Morganella morganii* fue aislada de *O. serratus* y *C. coronator* que fueron colectados en los puntos de colecta de Terra-Firme y Curió-Utinga, respectivamente. Presentó menos de 2% de frecuencia del total de cepas aisladas. Se trata de un bacilo Gram negativo, que puede ocurrir naturalmente en el suelo y heces de animales y del hombre. Estudios recientes de Kara José et al<sup>27</sup>, colocaron *M. morganii* como un importante contaminante de soluciones oftálmicas, y puede provocar inflamaciones oculares.

Las especies de *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae* fueron aisladas de *C. venezuelensis* y *A. aegypti*, respectivamente. Ambas tuvieron menos de 2% de frecuencia en los culicidos analizados, pero son importantes por estar involucradas en infecciones graves y por ser resistentes a varios antibióticos. La *K. pneumoniae* es un bacilo Gram negativo de la familia Enterobacteriaceae, pudiendo ser encontrada en tracto respiratorio alto y tracto gastrointestinal y urinario, causando neumonía lobar, infección urinaria y septicemia. Varios fueron los estudios que hicieron pruebas de la sensibilidad de las cepas de *K. pneumoniae* a los antibióticos. Menezes et al<sup>36</sup> constató que el fármaco Meropenem es una buena elección para tratar las infecciones provocadas por esa bacteria. Ya la *K. oxytoca* es más oportunista, puede agravar casos y provocar bacteriemia luego de la realización de procedimientos invasivos<sup>7</sup>.

La *Cedecea neteri* presentó menos de un 2% del total de cepas identificadas, fueron aisladas de *Mansonia titillans* del punto de colecta de Curió-Utinga y de *Culex*

*quinquefasciatus* del punto de colecta de Cremação. Las enterobacterias del género *Cedecea* se caracterizan como bacilos cortos, poseen reacciones bioquímicas semejantes a las del género *Serratia*. Descritas en 1981, tienen importancia patogénica todavía no bien definida, el género *Cedecea* abarca las especies *C. davisae*, *C. neteri* y *C. lapagei*, y dos especies todavía no nombradas. En humanos, es aislada en cerca de 50% de los casos de infección en el tracto respiratorio. Hay pocos relatos de bacteriemia en humanos causada por *C. neteri*, siendo el género *Cedecea* un agente oportunista raro<sup>39</sup>.

*Proteus mirabilis* representó menos del 1% del total de cepas identificadas, fue aislado de *A. aegypti* capturados en el punto de colecta de Tapanã. A pesar de haber sido poco aislado en este estudio, *P. mirabilis* es una de las especies más importantes clínicamente, siendo responsable por 10% de infecciones del tracto urinario no complicadas, además de ser el quinto patógeno responsable por infecciones urinarias hospitalarias. Puede causar infecciones de heridas y sepsis en pacientes hospitalizados.

## CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio evidencian una relación importante entre culicidos y bacterias, lo que posibilita la manutención de un reservorio natural de bacterias que colonizan el hombre y animales, extremadamente diversificado y dinámico en términos de dispersión, además, revelan la importancia de estudios ecológicos y epidemiológicos involucrando bacterias y sus vectores.

En los últimos diez años hubo un aumento en la producción científica de la temática entre insectos y bacterias. Los trabajos realizados son puntuales, pero esos esfuerzos son importantes para el avance del conocimiento y la consolidación de una línea de investigación emergente.

El presente trabajo es el primero desarrollado en América del Sur que trata del transporte de bacterias en insectos de la familia Culicidae, por eso sirve de base para la profundización de las investigaciones sobre las relaciones de estos dos grupos de seres vivos de importancia médica y veterinaria.

## AGRADECIMIENTOS

A Nazaré Segura y Hamilton Monteiro de la Sección de Arbovirología del IEC, por su contribución técnica en la identificación de los culicidos.

A José Caetano y Maria Odete de la Sección de Bacteriología del IEC, por el apoyo y soporte en la identificación de las bacterias.

A Rosimeire Trindade y Smith Santos del Museo Paraense Emílio Goeldi, por la contribución en la realización de las colectas de los culicidos.

Al Museo Paraense Emílio Goeldi e IEC, por la infraestructura y apoyo técnico para la elaboración de las diversas etapas de esta investigación.

## REFERENCIAS

- 1 Ali NJ, Kessel D, Miller RF. Bronchopulmonary infection with *Pseudomonas aeruginosa* in patients infected with human immunodeficiency virus. *Genitourin Med.* 1995 Apr;71(2):73-7.
- 2 Almeida MTG, Bertelli ECP, Rossit ARB, Bertollo EMG, Martinez MB. Infecções hospitalares por *Stenotrophomonas maltophilia*: aspectos clínico-epidemiológicos, microbiológicos e de resistência antimicrobiana. *Arq Cienc Saude [Internet].* 2005 jul-set [citado 2009 jan 13];12(3):141-5. Disponível em: [http://www.cienciasdasaude.famerp.br/racs\\_ol/vol-12-3/04%20-%20ID129.pdf](http://www.cienciasdasaude.famerp.br/racs_ol/vol-12-3/04%20-%20ID129.pdf).



## Bactérias isoladas de culicídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos em Belém, Pará, Brasil

### RESUMO

As bactérias estão abundantemente distribuídas na natureza, participam da microbiota humana e animal, e algumas causam doenças. Têm a sua distribuição ampliada quando são veiculadas por algum vetor. Os dípteros da família Culicidae são vetores em epidemias de grande interesse para a saúde pública; no entanto, a associação entre bactérias e culicídeos foi pouco abordada. Para avançar conhecimento sobre esta temática, foi proposto isolar e identificar bactérias que estão sendo transportadas em culicídeos hematófagos em Belém, Pará. As coletas dos culicídeos foram realizadas com armadilha luminosa do tipo CDC, em oito pontos de coleta da área metropolitana de Belém, que apresentam características ambientais distintas. Foram coletados 296 exemplares de culicídeos, sendo que nove foram identificados até o nível de espécie e quatro até o subgênero. Destas amostras foi possível identificar 17 espécies de bactérias, outras sete somente foram identificadas até o gênero. *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles aquasalis* foram os mais abundantes entre os culicídeos. As espécies de bactérias *Gemella haemolysans* e *Enterobacter cloacae* foram as mais abundantes nas amostras. Os pontos de coleta localizados nos bairros da Terra Firme e Curió Utinga foram os que apresentaram maior diversidade de espécies de culicídeos.

**Palavras-chave:** Bactérias; Culicidae; Transporte Biológico; Ecossistema Amazônico.



## Isolated bacteria from hematophagous Culicidae (Diptera: Nematocera) in Belém, Pará State, Brazil

### ABSTRACT

Bacteria are largely distributed in nature, especially when carried by a vector. They comprise large portions of the human and animal microbiota, and some cause diseases. The diptera of the family Culicidae are directly involved in the vectoring of epidemics of great interest for public health. However, the association between bacteria and Culicidae has been scarcely studied. In order to deepen the knowledge on this subject, we isolated and identified bacteria which have been transported in hematophagous Culicidae in the City of Belém, Pará State. The collection of 296 mosquitoes was carried out using a CDC light trap in eight collection localities, which presented different environmental characteristics within the metropolitan area of Belém. Some were identified to the species level (9) and others to the subgenus (4). It was possible to identify 17 species of bacteria; seven bacteria could only be identified up to their genus. *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles aquasalis* were the most frequent Culicidae. The most frequent species of bacteria found in the samples were *Gemella haemolysans* and *Enterobacter cloacae*. The collection localities in the Terra-Firme and Curió-Utinga districts presented the largest diversity of species of Culicidae.

**Keywords:** Bacteria; Culicidae; Biological Transport; Amazonian Ecosystem.



- 3 Alves LFA, Alves SB, Lopes J, Lopes RB. Avaliação de estirpes e de uma nova formulação granulada de *Bacillus sphaericus* Neide para o controle de mosquitos. *Neotrop Entomol.* 2006 jul-ago;35(4): 493-9.
- 4 Arruda EAG. Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1998 set-out; 31(5):503-4.
- 5 Bobrowski VL, Fiuza LM, Pasquali G, Bodanese-Zanettini MH. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Cienc Rural [Internet].* 2003 set-out [citado 2009 fev 20];33(5):843-50. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782003000500008&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782003000500008&lng=en&nrm=iso&tlng=pt).
- 6 Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiol Serv Saude [Internet].* 2007 dez [citado 2009 fev 20];16(4):279-93. Disponível em: [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1679-49742007000400006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1679-49742007000400006&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt).
- 7 Campos GMR, Herani Filho B, Pereira CAP, Machado AMO, Baretta MCC. Bacteremia após a colangiopancreatografia retrógrada endoscópica, com e sem procedimento terapêutico: frequência, fatores associados e significado clínico. *Rev Assoc Med Bras [Internet].* 1997 out-dez [citado 2009 jan 21];43(4):326-34. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-42301997000400009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-42301997000400009&script=sci_arttext).
- 8 Carvalho CJB, Couri MS, Toma R, Rafael JA, Harada AY, Bonatto SR, et al. Principais coleções brasileiras de Diptera: histórico e situação atual. In: Costa C, Vanin SA, Lobo JM, Melic A. *Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática (PrIBES)*. Zaragoza: Sociedade Entomológica Aragonesa; 2002. Vol. 2, p. 37-52.
- 9 Cerqueira NL. Distribuição geográfica dos mosquitos da Amazônia (Diptera: Culicidae: Culicinae). *Rev Bras Entomol.* 1961;10:111-68.
- 10 Consoli RAGB, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1994. 225 p.
- 11 Costa SB, Pelli A, Carvalho G, Oliveira AG, Silva PR, Teixeira MM, et al. Formigas como vetores mecânicos de microorganismos no Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 nov-dez;39(6):527-9.
- 12 Denton M, Kerr KG. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev.* 1998 Jan;11(1):57-80.
- 13 Dequech STB, Fiuza LM, Silva RFP, Zumba ARC. Histopatologia de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae) infectadas por *Bacillus thuringiensis aizawai* e com ovos de *Campoletis flavicincta* (Hym., Ichneumonidae). *Cienc Rural.* 2007 jan-fev;37(1): 273-6.
- 14 Dimopoulos G, Richman A, Müller HM, Kafatos FC. Molecular immune responses of the mosquito *Anopheles gambiae* to bacteria and malaria parasites. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Oct;94(21):11508-13.
- 15 Edwards PR, Ewing WH. *Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed. New York: Elsevier Science Publishing; 1986. 362 p.
- 16 Eisenhut M, Jones C, Hughes D, Herrington S, Kokai G. Acute renal failure associated with *Gemella*

- haemolysans* pneumonia. *Pediatr Nephrol*. 2004 Apr; 19(4):448-50.
- 17 Faran ME, Linthicum KJ. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). *Mosq Syst*. 1981;13:1-81.
  - 18 Flores-Mendoza C, Cunha RA, Rocha DS, Lourenço-de-Oliveira R. Determinação das fontes alimentares de *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, pelo teste de precipitina. *Rev Saude Publica*. 1996 abr;30(2):129-34.
  - 19 Forattini OP. *Culicidologia médica: identificação, biologia, epidemiologia*. São Paulo: EDUSP; 2002. Vol. 2, 860 p.
  - 20 Gonzalez-Ceron L, Santillan F, Rodriguez MH, Mendez D, Hernandez-Avila JE. Bacteria in midguts of field-collected *Anopheles albimanus* block *Plasmodium vivax* sporogonic development. *J Med Entomol*. 2003 May;40(3):371-4.
  - 21 Gorham JR, Stojanovich CJ, Scott HG. *Clave ilustrada para los mosquitos anofelinos de Sudamerica Oriental*. Atlanta: Public Health Service; 1967. 64 p.
  - 22 Gouveia C, Asensi MD, Zahner V, Rangel EF, Oliveira SMP. Study on the bacterial midgut microbiota associated to different Brazilian populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Neotrop Entomol*. 2008 Sep-Oct;37(5):597-601.
  - 23 Guimarães AE, Gentile C, Lopes CM, Mello RP. Ecology of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. II - Habitat distribution. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2000 Jan-Feb [citado 2009 mar 6];95(1):17-28. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762000000100002script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762000000100002script=sci_arttext).
  - 24 Gusmão DS, Santos AV, Marini DC, Russo ES, Peixoto AMD, Bacci Júnior M, et al. First isolation of microorganisms from the gut diverticulum of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): new perspectives for an insect-bacteria association. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Dec;102(8):919-24.
  - 25 Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Stanley JT, Williams ST. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. 787 p.
  - 26 Hörner R, Liscano MGH, Maraschin MM, Salla A, Meneghetti B, Dal Forno NL, et al. Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital Universitário de Santa Maria. *J Bras Patol Med Lab*. 2005 dez;41(6):391-5.
  - 27 Kara José AC, Castelo Branco B, Ohkawara LE, Yu MCZ, Lima ALH. Uso ocular de água boricada: condições de manuseio e ocorrência de contaminação. *Arq Bras Oftalmol*. 2007 mar-abr;70(2):201-7.
  - 28 Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC. *Diagnóstico microbiológico*. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI; 2001. 1465 p.
  - 29 Lopes A, Providencia R, Pais RP, Frade MJ, Chaddad Neto F, Oliveira E. Cerebellar abscess by *Gemella morbillorum* in a patient with inter-atrial communication. *Arq Neuropsiquiatr*. 2007 Dec;65(4 A):1022-5.
  - 30 Luz C, Sebba GJ, Silva NR, Silva HHG, Monerat R. Prospecção de bactérias entomopatogênicas em solos de cerrado para controle biológico de mosquitos. *Inf Epidemiol Sus*. [Internet]. 2001 [citado 2009 out 17];10 Suppl 1:49-50. Disponível em: [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_artext&pid=S0104-16732001000500015&lng=pt&nrm=iso](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_artext&pid=S0104-16732001000500015&lng=pt&nrm=iso).
  - 31 Luz-Alves WC, Gorayeb IS, Silva JCL, Loureiro ECB. Bactérias transportadas em mutucas (Diptera: Tabanidae) no nordeste do Pará, Brasil. *Bol Mus Para Emilio Goeldi Cienc Nat*. 2007 abr-jul;2(3): 11-20.
  - 32 Maciel A, Aca IS, Lopes ACS, Malagueño E, Sekiguchi T, Andrade GP. Portadores assintomáticos de infecções por *Streptococcus pyogenes* em duas escolas públicas na cidade do Recife, Pernambuco. *Rev Bras Saude Mater Infant*. 2003 jun;3(2):175-80.
  - 33 Martins CAP, Koga-Ito CY, Jorge AOC. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral cavity. *Braz J Microbiol*. 2002 Jul-Set;33(3):236-40.
  - 34 May T, Amiel C, Lion C, Weber M, Gerard A, Canton P. Meningitis due to *Gemella haemolysans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1993 Aug;12(8):644-5.
  - 35 Mendes RA, Azeredo RMC, Coelho AIM, Oliveira SS, Coelho MSL. Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição. *Rev Nutr*. 2004 abr-jun;17(2):255-61.
  - 36 Menezes EA, Nascimento KM, Soares KP, Amorim LN, Lima Neto JG, Cunha FA. Avaliação da atividade *in vitro* do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de betalactamases de espectro expandido isoladas na cidade de Fortaleza, Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007 mai-jun;40(3):349-50.
  - 37 Moreira DDO, Morais V, Vieira-da-Motta O, Campos-Farinha AEC, Tonhasca Junior A. Ants as carriers of antibiotic-resistant bacteria in hospitals. *Neotrop Entomol*. 2005 Nov-Dec;34(6):999-1006.
  - 38 Moreira M, Medeiros ACC, Pignatari SB, Wey SB, Cardo DM. Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. *Rev Ass Med Bras*. 1998;44(4): 263-8.
  - 39 Murray PR, Pfaller MA, Kobayashi GS, Rosenthal KS.

Microbiologia médica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. 766 p.

- 40 Oliveira SMP, Morais BA, Gonçalves CA, Giordano-Dias CM, Vilela ML, Brazil RP, et al. Microbiota do trato digestivo de fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) provenientes de colônia alimentadas com sangue e com sangue e sacarose. Cad Saude Publica [Internet]. 2001 [citado 2009 mar 15];17(1):229-32. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2001000100024&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000100024&lng=en&nrm=iso&tlng=pt).
- 41 Oliveira VC, D'Almeida JM, Abalem IV, Mandarino JR, Solari CA. Enterobactérias associadas a adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1754) (Diptera: Calliphoridae) no Jardim Zoológico, Rio de Janeiro. Arq Bras Med Vet Zootec. 2006 ago;58(4):556-61.
- 42 Papavero N, editor. A catalogue of Diptera of the Americas South of United States. São Paulo: USP; 1967.
- 43 Polanczyk RA, Garcia MO, Alves SB. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. Rev Saude Publica. 2003;37(6):813-6.
- 44 Prado MA, Pimenta FC, Hayashid M, Souza PR, Pereira MS, Gir E. Enterobactérias isoladas de baratas (*Periplaneta americana*) capturadas em um hospital brasileiro. Rev Panam Salud Publica. 2002 fev;11(2):93-8.
- 45 Reisen WK, Milby MM, Meyer RP, Pfutner AR, Spoehel J, Hazelriqg JE, Webb JP Jr. Mark-release-recapture studies with *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in southern California. J Med Entomol. 1991 May;28(3):357-71.
- 46 Segabinazi SD. Presença de bactérias da família *Enterobacteriaceae* nas superfícies externa e interna de *Alphitobius diaperinus* (panzer) oriundos de granjas avícolas dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina [dissertação]. Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria; 2004. 105 p.
- 47 Sudia WD, Chamberlain RW. Battery operated light trap and improved model. Mosq News. 1962;22(2):126-9.
- 48 Taipés-Lagos CB, Natal D. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. Rev Saude Publica. 2003;37(3):275-9.
- 49 Teixeira MLF, Franco AA. Susceptibilidade de larvas de *Ceratomyia arcuata* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae) a *Beauveria bassiana* (Bals.). Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Bacillus thuringiensis* Berliner. Cienc Rural [Internet]. 2007 jan-fev [citado 2009 jun 3];37(1):19-25. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782007000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=pt).
- 50 Valicente FH, Barreto MR, Vasconcelos MJV, Figueiredo JEF, Paiva E. Identificação através de PCR dos genes *CryI* de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner eficientes contra a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). An Soc Entomol Bras [Internet]. 2000 mar [citado jun 19];29(1):147-53. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-80592000000100018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-80592000000100018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt).
- 51 Vieira PCB. Métodos de coletas de mosquitos (Diptera: Culicidae) alternativos ao de atração humana direta [dissertação]. Belém: Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-graduação em Zoologia; 2007. 71 p.
- 52 Vittoril J, Schocken-Iturrino RP, Poiatti ML, Pigatto CP, Chioda TP, Ribeiro CAM. Qualidade microbiológica de leite UHT caprino: pesquisa de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Clostridium*. Cienc Rural. 2008 mai-jun;38(3): 761-5.
- 53 Xavier CAC, Oporto CFO, Silva MP, Silveira IA, Abrantes MR. Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade do Natal/RN. Rev Bras Anal Clin. 2007;39(3):165-8.

Recebido em / Received / Recibido en: 31/7/2009  
Aceito em / Accepted / Aceito en: 25/9/2009