

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

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

Bacterias aisladas de culídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos en Belém, Pará, Brasil

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

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.

INTRODUÇÃO

A ordem Diptera, que inclui as moscas e mosquitos, possui cerca de 150 mil espécies, e é a quarta maior da classe Insecta. Seus membros ocupam vários nichos em diferentes habitats aéreos, aquáticos e terrestres. A ordem Diptera possui diversas famílias de importância médica incluídas na subordem Nematocera (Culicidae, Ceratopogonidae, Simuliidae e Psychodidae). No Brasil estão descritas aproximadamente 20 mil espécies de dípteros em cerca de 100 famílias que foram indicadas no *Catalogue of the Neotropical Region*⁴² e, ainda não completado. A fauna de dípteros no Brasil ainda é pouco conhecida e acredita-se que é cerca de duas a três vezes maior da que está registrado⁸.

Reconhece-se mundialmente a existência de cerca de 3.600 espécies na família Culicidae. Acham-se

distribuídas por aproximadamente 40 gêneros, sendo a área neotropical a que detém o maior nível de endemismo, uma vez que 27% desses grupos são restritos a essa região biogeográfica. A fauna de culicídeos da Amazônia é pouco conhecida, o último trabalho sobre a distribuição dos mosquitos, abrangendo toda a Região Amazônica foi realizado em 1961⁹ e reuniu 218 espécies, com 152 no Estado do Pará⁵¹. Os mosquitos constituem um grupo grande, contendo muitos gêneros e espécies, mas do ponto de vista humano, os gêneros mais importantes são *Anopheles*, *Aedes* e *Culex*.

Há poucos trabalhos publicados no mundo sobre a relação entre bactérias e dípteros, e menos ainda sobre bactérias e culicídeos. Somente nos últimos dez anos pesquisas sobre essa relação começaram a aparecer e a ganhar importância no meio científico. Bactérias têm sido identificadas no trato digestivo de várias espécies de insetos, constituindo a microbiota intestinal⁴⁰. Estudos realizados com mosquitos criados em insetários no México²⁰ e no Brasil²⁴ evidenciaram a prevalência de bactérias Gram-negativas em seus intestinos. Algumas bactérias estão sendo utilizadas como controle biológico de insetos adultos e larvas em plantações^{13,49,50}, outras estão sendo testadas como alternativa no controle de populações de mosquitos que causam epidemias^{43,30,14,3}. Algumas outras pesquisas estão avaliando a associação entre as bactérias com

* Parte da dissertação ao curso de "Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias da Amazônia", Universidade Federal do Pará, Brasil.

Correspondência / Correspondence / Correspondencia

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

vetores mecânicos, com possibilidade de transmissão por diversos insetos^{31,41,11,37,44}. Em estudo realizado em 2007³¹, foram isoladas de tabanídeos mais de 20 espécies de bactérias, sobretudo aquelas pertencentes aos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Serratia*.

Populações de mosquitos que causam epidemias^{43,30,14,3}. Algumas outras pesquisas estão avaliando a associação entre as bactérias com vetores mecânicos, com possibilidade de transmissão por diversos insetos^{31,41,11,37,44}. Em estudo realizado em 2007³¹, foram isoladas de tabanídeos mais de 20 espécies de bactérias, sobretudo aquelas pertencentes aos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Serratia*.

O processo de organização das cidades contribui com a distribuição das espécies de dípteros. Ambientes mais habitados selecionam as espécies com o maior poder de adaptação a estes locais, enquanto que nos lugares onde há maior arborização e menor influência humana, selecionará outras espécies de dípteros. E assim, os dípteros são separados em nichos dentro de uma mesma cidade. Os agentes que esses dípteros transportam também são muito variados e se tratando de bactérias, pouco se pode afirmar sobre o seu papel nesta problemática. Há poucas linhas de pesquisas sobre esta temática no Brasil e há necessidade de serem criadas outras, para o avanço do conhecimento. O objetivo principal é avaliar a diversidade entomológica e bacteriológica associada a áreas urbanas distintas na Cidade de Belém.

METODOLOGIA

ÁREA DE ESTUDO

Na Cidade de Belém foram selecionados sete pontos de coleta, com características distintas em termos de urbanização. Outro ponto foi selecionado em uma área próxima às margens do estuário do rio Pará, localizada no Distrito Administrativo de Outeiro, em Belém.

Centro de Belém

Área do centro urbano de Belém, caracterizado por possuir muitas casas e edifícios, poucas áreas de solo descoberto, muitas áreas cimentadas e asfaltadas, vegetação restrita aos quintais e ornamentação florística da cidade. Os pontos de coleta selecionados localizam-se nos bairros da Cremação e Nazaré.

Pericentro de Belém

Área de Belém caracterizada por muitas casas e poucos edifícios, com áreas de solo descoberto, com pouco cimento e asfalto. Mais vegetação nos quintais e menos vegetação ornamental. Os pontos de coleta selecionados localizam-se nos bairros do Curió-Utinga e Jurunas.

Periferia de Belém

Área com poucas casas e sem edifícios, casas afastadas por terrenos vazios. Solo sem cimento e asfalto, muita vegetação nos terrenos desabitados e nos quintais, trecho de florestas ainda encontrados. Os pontos de coleta selecionados localizam-se nos bairros do Tapanã, Terra Firme e Icoaraci.

Áreas de Estuário

As várzeas do estuário do rio Pará constituem um ecossistema distinto, com características bióticas e abióticas próprias. As espécies de insetos hematófagos e suas relações com as bactérias também devem apresentar aspectos especiais com este ecossistema. Foram realizadas coletas no estuário do rio Pará em Outeiro.

COLETA DE CULICÍDEOS

Os insetos foram coletados no período de maio de 2007 a abril de 2008, sempre das 17 h até às 22 h ou até às 6 h do outro dia. As coletas foram realizadas com técnica apropriada para minimizar a contaminação das armadilhas e dos recipientes para a coleta dos culicídeos.

Foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo CDC⁴⁷, que são usualmente utilizadas para amostragens de insetos hematófagos (principalmente culicídeos, flebotomíneos e ceratopogonídeos). Atraem os insetos a uma pequena fonte de luz de tungstênio. Quando estes pequenos insetos se aproximam da luz, são sugados para o interior da armadilha por um pequeno ventilador que funciona acionado por uma corrente de 12 V. Os insetos coletados por este método permanecem vivos até que sejam retirados.

IDENTIFICAÇÃO DOS CULICÍDEOS

Os culicídeos, imediatamente depois de coletados foram levados ao Departamento de Arbovirologia do Instituto Evandro Chagas (IEC), Belém, Pará e, com a participação de especialistas, foram identificados utilizando-se chaves de identificação de três artigos clássicos em taxonomia de Culicidae: Forantini¹⁹, Gorham et al²¹ e Faran e Finthicum¹⁷.

IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

Após a identificação dos mosquitos, estes foram submetidos imediatamente aos tratamentos para a pesquisa de bactérias.

De acordo com o número coletado de exemplares de mosquitos de cada espécie, foram separados em grupos (*pools*). Foram estudados um total de 41 *pools* com três exemplares e seis *pools* com dois exemplares, totalizando 129 culicídeos. Houve a necessidade de utilizar, em alguns casos, *pools* com dois exemplares por causa da insuficiência de exemplares coletados de uma determinada espécie.

Para a formação dos *pools* os mosquitos foram separados asépticamente (próximo ao bico de Bunsen) utilizando-se cabine de segurança biológica. Em nenhuma etapa da pesquisa houve manipulação direta com os exemplares de culicídeos, já que os mesmos estavam acondicionados individualmente em tubos de ensaio, o que facilitou a sua identificação e diminuiu as fontes de contaminação.

Após a definição e identificação dos grupos, foram triturados com solução fisiológica estéril. Em seguida se retirou uma alíquota que foi inoculada em dois meios de cultura, o Tryptic Soy Broth (TSB) e o Tioglicolato de sódio, por 24 h a 37°C.

Uma alíquota do material contido nos tubos de TSB e Tioglicolato onde foi verificado crescimento (turvação) foi semeada nos seguintes meios de cultura: ágar sangue, ágar sangue em 5 a 10% de CO₂, ágar Chapman e ágar MacConkey, e posterior incubação a 37°C por 24 h.

As colônias crescidas em ágar sangue e ágar Chapman foram submetidas a bacterioscopia pelo método de Gram e posterior identificação dos cocos e bacilos Gram positivos²⁸. Três a cinco colônias do ágar MacConkey foram semeadas no meio de triagem TSI (tríplice açúcar e ferro) e posterior identificação bioquímica dos bacilos negativos pelo método de Gram^{15,25}.

Para a caracterização bioquímica foi utilizado também o sistema ID 32 E, API 20 E, API 50 CH, API Staph, API Corine e API 20 Strep, através do aparelho Mini API da Bio – Mériex, França. O controle de qualidade dos kits para as determinações bioquímicas foi realizado, utilizando as seguintes amostras padrões: *E. coli* ATCC-25922, *P. aeruginosa* ATCC-27853 e *S. Aureus* ATCC-25923.

RESULTADOS

Foi coletado um total de 296 culicídeos hematófagos durante todo o período da pesquisa, mas nem todos os exemplares foram utilizados para o estudo bacteriológico, somente 129, que foram divididos em 41 (pools) de três exemplares da mesma espécie e três pools contendo dois exemplares. A maioria dos culicídeos coletados foi identificada em nível de espécie: *Culex* (*Culex*) *coronator*, *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *triannulatus*, *Coquillettidia* (*Rhynchoaenia*) *venezuelensis*, *Mansonia* (*Mansonia*) *titillans*, *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus*, *Mansonia* (*Mansonia*) *titillans*, *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*, *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *aquasalis* e *Psorophora* (*Janthinosoma*) *ferox*. Outros, no entanto, foram identificados somente em nível de gênero: *Culex* (*Culex*) spp., *Phoniomyia* spp. e *Culex* (*Melanoconion*) spp.

De todos os culicídeos coletados somente *Psorophora* (*Janthinosoma*) *ferox* e *Phoniomyia* spp. não apresentaram crescimento de bactérias nos meios selecionados para a identificação. Exemplares de *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *aquasalis* foram coletados no ponto de coleta do Outeiro e no ponto de Nazaré, no entanto, somente houve crescimento bacteriano nos exemplares do ponto de coleta de Nazaré.

A espécie *C. quinquefasciatus* foi a mais coletada (85 exemplares), o que representou 28,7% do total de culicídeos capturados (Figura 1). Foram coletados 42 exemplares de *A. aquasalis* e 40 exemplares de *A. aegypti*, o que representou 14,1% e 13,5% do total de mosquitos, respectivamente. O ponto de coleta da Terra Firme apresentou a maior quantidade de espécies de culicídeos; foi possível a identificação até o nível de espécie de *Coquillettidia venezuelensis*, *Ochlerotatus serratus* e *Psorophora ferox*. Foram identificadas até o subgênero *Culex* (*Culex*) spp. e *Trichoprosopon* (*Trichoprosopon*) spp., e até o gênero *Phoniomyia* spp. O ponto de coleta do Curió-Utinga também apresentou grande quantidade de culicídeos, foram identificadas quatro até o nível de espécie e um até o subgênero. No bairro da Cremação, foi coletada somente a espécie *Culex quinquefasciatus*.

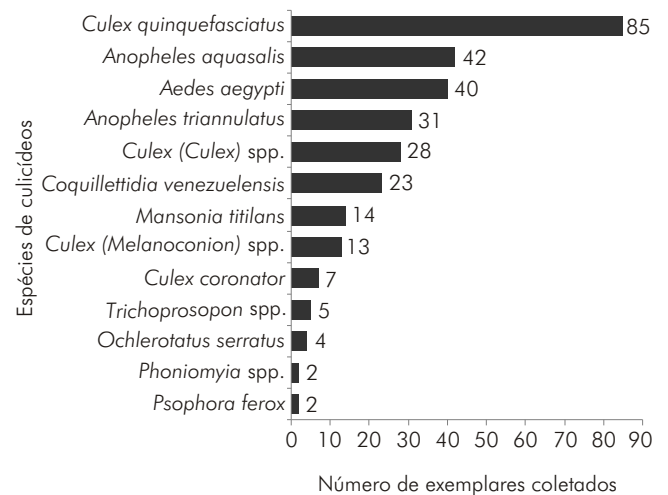


Figura 1 – Espécies de Culicídeos com respectivos números de exemplares coletados

Nos culicídeos coletados foram identificadas 17 espécies de bactérias e outras sete que foram identificadas somente em nível de gênero. Dentre as bactérias identificadas houve um predomínio das espécies *Gemella haemolysans*, *Enterobacter cloacae* e *Enterococcus faecalis* (Figura 2), o que representou 14,5%, 12,3% e 8,9% do total de bactérias identificadas, respectivamente. O gênero *Staphylococcus* (negativo para teste da coagulase) foi identificado em 10% das amostras analisadas. A figura 3 ilustra o número de espécies de bactérias em cada ponto de coleta dos culicídeos. *Culex quinquefasciatus*, *Coquillettidia venezuelensis* e *A. aegypti* foram os culicídeos três que apresentaram o maior número de espécies de bactérias. Não houve crescimento bacteriano nos meios de cultura com exemplares de *Psorophora ferox* e *Phoniomyia* spp.

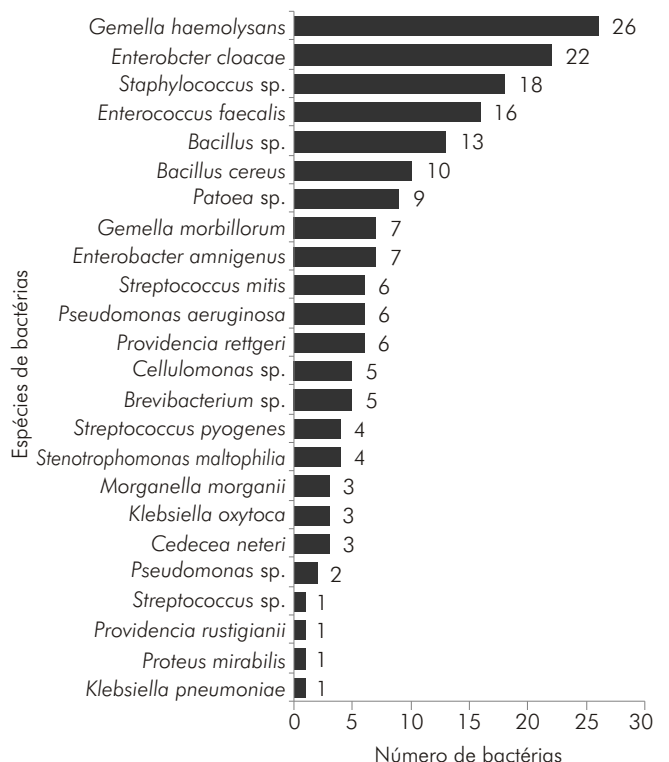


Figura 2 – Número de ocorrências das espécies de bactérias nas amostras

Tabela 1 – Frequência das bactérias identificadas nos culicídeos coletados nos pontos de coleta da Cidade de Belém

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

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos relacionando as bactérias isoladas com as espécies de culicídeos. Mostra também a frequência das bactérias em cada espécie de culicídeo nos pontos onde foram coletados. Observou-se que *E. cloacae* foi encontrada em seis espécies (no mínimo) de Culicidae; *G. haemolysans* e *Staphylococcus* sp. foram encontradas em quatro espécies (no mínimo); *B. cereus* e *Phaenocarpa* sp. em três espécies; as demais espécies de bactérias foram encontradas em duas ou somente uma espécie de Culicidae. *E. cloacae* também foi a espécie de bactéria que ocorreu em maior número de pontos de coleta (cinco bairros); *G. haemolysans*, *Phaenocarpa* sp. e *Staphylococcus* sp. ocorreram em três bairros; e as demais em dois ou somente um bairro. Observou-se ainda que algumas espécies de bactérias apresentaram uma elevada frequência em determinada espécie de culicídeo: *G. haemolysans* em *C. (C.) quinquefasciatus* (7,82% do total de cepas isoladas e identificadas); *Staphylococcus* sp. e, *Culex (Culex) spp.* 6,7%; *E. faecalis* em *C. (C.) quinquefasciatus* (6,14%); *B. Cereus* em *Culex (Culex) spp.* (5,59%); *G. haemolysans* em *A. (N.) aquasalis* (5,02%); *Bacillus* sp. em *Coquillettidia (R.) venezuelensis* (4,47%); as demais apresentaram taxas abaixo de 4%.

Na figura 3 ilustra-se o número de espécies de bactérias em cada ponto de coleta dos culicídeos. Os pontos de coleta do Curió-Utinga e da Terra-Firme apresentaram um maior número de espécies de bactérias. As mais frequentes nesses pontos foram, respectivamente: *Bacillus cereus* (5,59% do total de cepas identificadas) e *Gemella haemolysans* (7,82% do total de cepas identificadas). Por outro lado, os pontos de coleta do Outeiro e de Icoaraci apresentaram apenas duas espécies de bactérias, com predomínio de *Pantoea* sp. (2,23% do total de cepas identificadas) em Outeiro e de *Enterobacter cloacae* (1,67% do total de cepas identificadas) em Icoaraci.

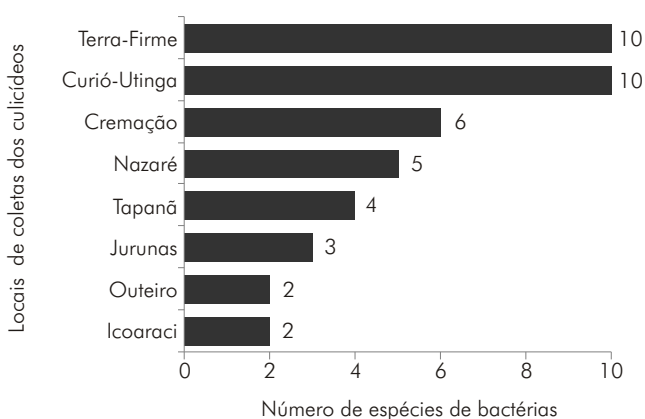


Figura 3 – Número de espécies de bactérias identificadas nos culicídeos em cada ponto de coleta

A figura 4 ilustra o número de espécies de bactérias encontradas em cada espécie de culicídeo. *Culex quinquefasciatus*, *Coquillettidia venezuelensis* e *A. aegypti* foram os culicídeos que apresentaram o maior número de espécies de bactérias. Não houve crescimento bacteriano nos meios de cultura com exemplares de *Psorophora ferox* e *Phoniomyia* spp.

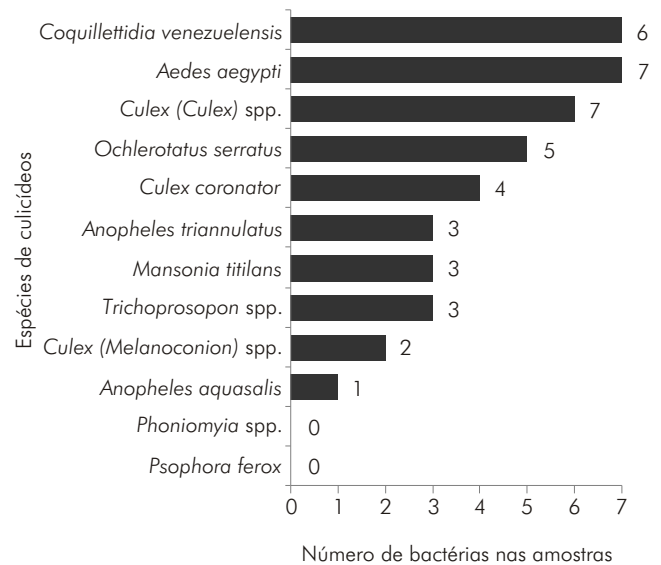


Figura 4 – Número de espécies de bactérias nas espécies de culicídeos

DISCUSSÃO

Os culicídeos estão amplamente associados às atividades antrópicas, que disponibilizam sítios de oviposição artificiais e permitem a manutenção de suas populações. Os centros urbanos configuram-se como favorecedores da dispersão e aumento da densidade dos mosquitos, já que o espaço social organizado influencia a interação entre o vetor, o agente infeccioso e o homem. Dentre as espécies de culicídeos coletados, *C. quinquefasciatus* e *A. aegypti* foram as espécies que apresentam maior poder de domicialização.

C. quinquefasciatus foi coletado em cinco dos oito pontos de coletas definidos, confirmando que é uma espécie que apresenta grande poder de dispersão. Em um estudo realizado em 1991⁴⁵, fêmeas inicialmente marcadas, foram posteriormente recapturadas a 1 km do ponto de soltura. Este fator é essencial para qualificar o potencial de dispersão desta espécie. O que pode ser confirmado pelas bactérias identificadas nas suas amostras, pois a espécie *Enterobacter amnigenus* foi isolada de amostras de bairros distantes como Cremação e Icoaraci; *Pantoea* sp. foram isoladas de amostras da Cremação e Outeiro. São pontos distantes e com características ambientais distintas, mas que apresentam os mesmos vetores e microbiota bacteriana.

Dentre os culicídeos, a espécie *C. quinquefasciatus* foi a mais abundante (85 exemplares), apresentou oito diferentes amostras de bactérias, sendo que a mais comum foi a espécie *Enterococcus faecalis* (13 ocorrências). As fêmeas adultas dessa espécie possuem tendência à alimentação com sangue humano¹⁰, permitindo o seu desenvolvimento em ambiente urbanizado. Além de ser provocadora de incômodo para as comunidades que vivem próximas aos seus criadouros⁴⁸. *C. quinquefasciatus* é vetor de vários agentes patogênicos ao homem¹⁹, o que o caracteriza como sendo de elevada importância em saúde pública, justificando o seu controle em áreas de infestação.

A. aquasalis é um mosquito ora encarado como antropofílico, ora como zoofílico ou eclético. É um importante vetor litorâneo da malária em diversas localidades do Brasil e Américas, vem apresentando comportamento alimentar bastante variável¹⁸. Foram coletados 42 exemplares durante duas coletas no bairro de Nazaré. Somente foi encontrada a bactéria *Gemella haemolysans* nas suas amostras.

A espécie *A. aegypti* foi a terceira mais coletada (40 exemplares) durante o período do estudo. Foi encontrada nos bairros do Jurunas, Tapanã e no Distrito Administrativo de Icoaraci. Apresentou em suas amostras seis diferentes espécies de bactérias, entre elas, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. O mosquito *Aedes aegypti* é hoje provavelmente o mais grave problema de saúde no Brasil, dada sua ocorrência em todos os Estados do País e o fato de que ele transmite os vírus causadores de três doenças humanas graves: a dengue, a dengue hemorrágica e a febre amarela⁶.

Coquillettidia venezuelensis foi coletada nos bairros de Curió-Utinga e Terra-Firme, apresentou grande variedade de amostras bacterianas (oito no total), mas tem seu potencial de transmissão desses agentes diminuído, por causa do seu habitat, que requer áreas florestadas. Segundo guimarães²³, trabalhando em áreas da Serra do Mar do Estado de São Paulo, observaram que as espécies de *Coquillettidia* necessitam de alguns fatores para seu ciclo de vida, como a presença de plantas aquáticas para seu desenvolvimento e índice de precipitação pluviométrico elevado. O trabalho de Guimarães²³ confirma os resultados deste estudo, pois os bairros onde *Coquillettidia* foi coletada apresentam as características ideais para o seu ciclo de vida. Apesar de possuírem uma grande variedade de bactérias, estas só podem causar problemas às populações que vivem sob as condições ideais para o desenvolvimento do mosquito.

Entre as bactérias, a *Gemella haemolysans* foi a mais frequente com 14,51% do total de cepas identificadas. Esteve presente nas amostras de *A. aegypti*, *A. aquasalis*, *Trichoproson* spp. e *O. serratus*. Essa bactéria pode ser encontrada normalmente na cavidade oral provocando gengivites ou oportunamente causando meningites, bronquites e pneumonia^{34,16}. As bactérias do gênero *Gemella* foram o principal achado de Moreira³⁸, quando as isolaram de formigas em hospitais do Rio de Janeiro.

A espécie *Enterobacter cloacae* ocorreu 22 vezes em seis amostras de culicídeos, o que representou 12,28% do total de cepas identificadas. Somente na amostra do ponto de coleta do bairro do Jurunas a bactéria não foi encontrada. Normalmente encontra-se distribuída na água, esgoto, solo, vegetais e faz parte da microbiota entérica comensal. Acredita-se que não causa diarreia e também está associada a uma variedade de infecções oportunistas que afetam as vias urinárias, o trato respiratório, as feridas cutâneas e septicemia²⁸. Essa espécie também foi encontrada em estudo desenvolvido com baratas em Goiânia⁴⁴. Gouveia et al²² encontraram uma prevalência

significativa de *E. cloacae* em populações distintas de *Lutzomyia* corroborando com o encontrado no estudo presente com Culicidae.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* coagulase negativa encontram-se amplamente distribuídas no meio ambiente e fazem parte da microbiota nasal, mas também podem ser encontradas na cavidade bucal³³. Todas as amostras de estafilococos dos culicídeos apresentaram teste negativo para coagulase, excluindo a possibilidade de *Staphylococcus aureus*, que é uma das espécies mais importantes do gênero, por estar envolvida em diversas patologias que vão desde infecção alimentar³³ até septicemias¹⁶. Os resultados de um estudo recente desenvolvido por Costa¹¹ revelaram que as bactérias do gênero *Staphylococcus*, negativas ao teste da coagulase, foram o principal achado da pesquisa bacteriológica em formigas provenientes de hospitais de Minas Gerais, evidenciando a sua capacidade de serem transportadas por vetores mecânicos.

Enterococcus faecalis foi isolada de *C. quinquefasciatus* dos pontos de coleta da Cremação e Jurunas, e também de *A. aegypti* do ponto de coleta do Jurunas. Representou 8,93% do total de colônias de bactérias isoladas, sendo mais frequente nas amostras de *C. quinquefasciatus* do ponto de coleta da Cremação (6,14%). Os enterococos são cocos Gram-positivos que geralmente se dispõem aos pares e em cadeias curtas, podem ser encontrados no solo, em alimentos, na água, em animais, pássaros e insetos. O principal reservatório humano dos enterococos é o trato gastrointestinal, porém ele pode ser encontrado, com menos frequência, em cavidade oral, vesícula biliar, vagina e uretra masculina⁵³. Nos últimos anos, vários estudos foram realizados porque os enterococos tornaram-se importantes agentes de doenças humanas devido principalmente a sua resistência a agentes antimicrobianos³⁸.

O *Bacillus cereus* e *Bacillus* sp. representaram, respectivamente, 5,59% e 7,26% do total de cepas de bactérias identificadas. *B. cereus* foi isolado de *C. coronator*, *C. (Culex)* spp. e de *A. triannulatus* capturados no ponto de coleta do Curió-Utinga. Enquanto que *Bacillus* sp. foi isolado de *A. triannulatus* do ponto de coleta de Nazaré e de *C. venezuelensis* do ponto de coleta do Curió-Utinga. O *B. cereus* é uma bactéria Gram-positiva, tem o solo como seu reservatório natural. Entretanto, devido à resistência de seus esporos, esta bactéria pode ser isolada de uma grande variedade de pontos, estando amplamente distribuída na natureza. De acordo com Mendes et al³⁵ a sua principal implicação está na contaminação alimentar, podendo provocar deterioração dos alimentos em estoque e diarreia quando estes são consumidos³⁹. Já o *Bacillus* sp. está mais associado a contaminação de leite. De acordo com Vittoril et al⁵², nem mesmo os processos térmicos de beneficiamento do leite são capazes de destruir tais bactérias.

Pantoea sp. foi isolada de *C. venezuelensis*, *T. (Trichoproson)* spp. e *C. quinquefasciatus*, coletados

nos pontos de coleta da Terra-Firme, Cremação e Outeiro. A sua frequência foi de 5,02% do total de cepas identificadas. *Pantoea* sp. são bacilos curtos Gram-negativos, normalmente são isoladas de superfícies de plantas, sementes, do solo e da água. São patógenos oportunistas e por isso podem estar presentes em feridas, sangue e urina humana²⁶.

Gemella morbillorum foi isolada de *C. (Culex)* spp. e de *Coquillettidia venezuelensis* coletados no ponto de coleta da Terra-Firme, apresentou uma frequência de 3,91% do total de cepas identificadas. Trata-se de uma bactéria comensal da orofaringe, vias aéreas superiores e aparelhos urogenital e gastrointestinal, raramente causa infecções em humanos. No entanto, um crescente número de processos infecciosos em diferentes localizações tem sido referido. Abscessos cerebrais provocados por esta bactéria são extremamente raros, encontrando-se apenas quatro casos previamente descritos na literatura²⁹.

Pseudomonas aeruginosa foi isolada de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus* do ponto de coleta do Tapanã, com uma frequência de 3,35%. Trata-se de uma bactéria Gram-negativa extremamente versátil, que pode ser encontrada em diversos ambientes, principalmente solo e água, ou ainda associada a plantas e animais, podendo causar infecções oportunistas. Em seres humanos, *P. aeruginosa* causa infecções em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes de AIDS e câncer, vítimas de queimaduras, e portadores de fibrose cística¹. *P. aeruginosa* também é comumente encontrada em infecções hospitalares, sendo capaz de se aderir a diversos materiais, contaminando cateteres, ventiladores, próteses e lentes de contato. Por causa da alta resistência a antibióticos e do grande arsenal de fatores de virulência desta bactéria, as infecções causadas por ela são de difícil controle⁴.

Providencia rettgeri e *Providencia rustigianii* juntas apresentaram uma frequência de 3,91% do total de cepas identificadas. Foram isoladas, respectivamente, de *C. quinquefasciatus* capturados nos pontos de coleta da Cremação e Jurunas, e de *A. aegypti* que foram coletados no ponto de coleta do Tapanã. O gênero *Providencia* atualmente é composto de cinco espécies: *P. alcalifaciens*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, *P. rustigianii* e *P. heimbachae*, das quais as quatro primeiras são reconhecidas como patógenos humanos. Estas espécies são comumente associadas com infecções do trato urinário na comunidade sadia e em pacientes com cateter. Podem causar infecções oportunistas variadas em pacientes hospitalizados, com queimaduras, lesões cutâneas, ferimentos cirúrgicos e septicemia².

O gênero *Streptococcus* compreende muitas espécies de cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, comensais e patogênicos que colonizam a pele e membranas mucosas dos tratos respiratório, genitourinário e canal alimentar de humanos e outros mamíferos³². Neste trabalho, foram isolados e identificados até a categoria de espécie o *Streptococcus mitis* e *Streptococcus pyogenes*, em uma terceira cepa

não foi possível chegar até a espécie. O *Streptococcus mitis* foi isolado de *Ochlerotatus serratus* coletados no ponto de coleta da Terra-Firme, apresentou uma frequência de 3,35% do total de cepas identificadas. Trata-se de uma espécie predominante nas membranas mucosas e língua do homem³². O *S. pyogenes* apresentou uma frequência de 2,23% e foi isolado de *C. venezuelensis* capturados no ponto de coleta da Terra-Firme. Essa espécie é também conhecida como estreptococo beta-hemolítico do Grupo A (SBGA). É a principal representante dos estreptococos beta-hemolíticos, tem mostrado, ao longo do tempo, alto poder de adaptação ao hospedeiro humano, atuando como importante agente etiológico de uma série de manifestações clínicas, entre as quais predomina a orofaringite³², assim como sequelas não supurativas, representadas pela febre reumática e a glomerulonefrite.

Stenotrophomonas maltophilia foi isolada em dois momentos: de *Culex* spp. coletados no ponto de coleta do Curió-Utinga e de *Ochlerotatus serratus* coletados no ponto de coleta da Terra-Firme. Apresentou uma frequência de 2,24% do total de cepas isoladas e identificadas. Trata-se de uma bactéria na forma de bacilo Gram-negativo que pode ser encontrada em uma grande variedade de ambientes e regiões geográficas, ocupando nichos ecológicos distintos e fontes múltiplas de água. Outras fontes de isolamento incluem o solo, detritos, leite cru, peixe congelado, ovos e carcaça de animais⁴⁶. No ambiente hospitalar, essa espécie já foi isolada de água de torneira, pias, respiradores, cateteres de sucção, monitores de pressão arterial, equipamento de diálise e ocasionalmente, das mãos de profissionais de saúde¹². Atualmente *S. maltophilia* é considerada um patógeno emergente, pois está ocupando um papel importante no cenário das infecções hospitalares, sendo responsável por elevada morbiletalidade por causa da sua resistência intrínseca a maioria dos antibióticos disponíveis¹².

Morganella morganii foi isolada de *O. serratus* e *C. coronator* que foram coletados nos pontos de coleta da Terra-Firme e Curió-Utinga, respectivamente. Apresentou menos de 2% de frequência do total de cepas isoladas. Trata-se de um bacilo Gram-negativo, que pode ocorrer naturalmente no solo e fezes de animais e do homem. Estudos recentes de Kara José et al²⁷, colocaram *M. morganii* como um importante contaminante de soluções oftálmicas, podendo provocar inflamações oculares.

As espécies de *Klebsiella oxytoca* e *Klebsiella pneumoniae* foram isoladas de *C. venezuelensis* e *A. aegypti*, respectivamente. Ambas tiveram menos de 2% de frequência nos culicídeos analisados, mas são importantes por estarem envolvidas em infecções graves e por serem resistentes a vários antibióticos. A *K. pneumoniae* é um bacilo Gram-negativo da família Enterobacteriaceae, podendo ser encontrada em trato respiratório alto e trato gastrointestinal e urinário, causando pneumonia lobar, infecção urinária e septicemia. Vários foram os estudos que testaram a

sensibilidade das cepas de *K. pneumoniae* frente aos antibióticos. Menezes et al³⁶ constatou que o fármaco Meropenem é uma boa escolha para tratar as infecções provocadas por essa bactéria. Já a *K. oxytoca* é mais oportunista, pode agravar casos e provocar bacteremia após a realização de procedimentos invasivos⁷.

Cedecea neteri apresentou menos de 2% do total de cepas identificadas, foram isoladas de *Mansonia titillans* do ponto de coleta do Curió-Utinga e de *Culex quinquefasciatus* do ponto de coleta da Cremação. As enterobactérias do gênero *Cedecea* são caracterizadas como bacilos curtos, possuem reações bioquímicas semelhantes às do gênero *Serratia*. Descritas em 1981, possuem importância patogênica ainda não bem definida, o gênero *Cedecea* abrange as espécies *C. davisae*, *C. neteri* e *C. lapagei*, e duas espécies ainda não nomeadas. Em humanos é isolada em cerca de 50% dos casos de infecção no trato respiratório. Há poucos relatos de bacteriemia em humanos causada por *C. neteri*, sendo o gênero *Cedecea* um agente oportunista raro³⁹.

Proteus mirabilis representou menos de 1% do total de cepas identificadas, foi isolado de *A. aegypti* capturados no ponto de coleta do Tapanã. Apesar de ter sido pouco isolado neste estudo, *P. mirabilis* é uma das espécies mais importantes clinicamente, sendo responsável por 10% de infecções do trato urinário não-complicadas além de ser o quinto patógeno responsável por infecções urinárias hospitalares. Pode ainda causar infecções de ferida e sepse em pacientes hospitalizados.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam uma relação importante entre culicídeos e bactérias, o que possibilita

a manutenção de um reservatório natural de bactérias que colonizam o homem e animais, extremamente diversificado e dinâmico em termos de dispersão, além do mais, revelam a importância de estudos ecológicos e epidemiológicos envolvendo bactérias e seus vetores.

Nos últimos dez anos houve um aumento na produção científica da temática entre insetos e bactérias. Os trabalhos realizados ainda são pontuais, mas esses esforços são importantes para avanço do conhecimento e consolidação de uma linha de pesquisa emergente.

O presente trabalho é o primeiro desenvolvido na América do Sul que trata do transporte de bactérias em insetos da família Culicidae, por isso serve de base para o aprofundamento das pesquisas sobre as relações destes dois grupos de seres vivos de importância médica e veterinária.

AGRADECIMENTOS

À Nazaré Segura e Hamilton Monteiro da Seção de Arbovirologia do IEC, pela contribuição técnica na identificação dos culicídeos.

Ao José Caetano e Maria Odete da Seção de Bacteriologia do IEC, pelo apoio e suporte na identificação das bactérias.

À Rosimeire Trindade e Smith Santos do Museu Paraense Emílio Goeldi, pela contribuição na realização das coletas dos culicídeos.

Ao Museu Paraense Emílio Goeldi e IEC, pela infraestrutura e apoio técnico para elaboração das diversas etapas desta pesquisa.



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.

Bactérias isoladas de culicídeos (Diptera: Nematocera) hematófagos em 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 culicídeos ha sido poco abordada. Para avanzar en el conocimiento sobre este tema, se propuso aislar e identificar las bacterias que son transportadas por los culicídeos hematófagos en Belém, Pará. La captura de los culicídeos 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 culicídeos, 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 culicídeos. 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 culicídeos.

Palavras chave: Bactérias; Culicidae; Transporte Biológico; Ecosistema Amazônico.



REFERÊNCIAS

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Cerqueira NL. Distribuição geográfica dos mosquitos da Amazônia (Diptera: Culicidae: Culicinae). *Rev Bras Entomol.* 1961;10:111-68.
- 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.
- 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_arttext&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.
- 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, Hazelriqq 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=S0103-8478200700010004&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.

- 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