

Eliana Alcantra

Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)
prof.eliana.alcantra@unincor.edu.br

Tainara Ferreira Monteiro

Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)
tainaramonteiro2703@hotmail.com

Alexandre Tourino Mendonça

Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)
alexandretourino@gmail.com

Aurivan Soares de Freitas

Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)
aurivan.soares@hotmail.com

Aline Ferreira Souza de Carvalho

Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)
aline.carvalho@unincor.edu.br

IDENTIFICAÇÃO DE FORMIGAS ASSOCIADAS À *Staphylococcus* spp. EM DIFERENTES AMBIENTES

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar formigas associadas à *Staphylococcus* spp. em hospital, área comercial e ambiente domiciliar. Dez formigas foram coletadas em cada ambiente em Três Corações-MG. A condução da pesquisa compreendeu o período de abril a junho de 2018. As formigas foram coletadas assepticamente com pinças estéreis e transferidas individualmente para tubos de ensaio contendo o meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI). Em seguida foram transportadas para laboratório e colocados na Estufa Incubadora à 37°C e observados após 18 horas de incubação, sendo retirados após 24 horas e transferidos para a geladeira, onde ficaram por dois dias. Após, foi preparado o meio Manitol Salt Agar e foi distribuído nas placas de Petri. Logo, com o auxílio de pipetas individuais retirou-se 500 µL de BHI de cada tubo e espalhou em cada placa. As placas foram levadas para a Estufa por 48 horas. As formigas foram transferidas para tubos contendo álcool 70% e levadas ao Laboratório de Entomologia da UninCor para identificação. A identificação foi realizada com auxílio de microscópio estereoscópio e chaves de identificação específicas para formiga. Foram identificadas seis subfamílias e treze gêneros de formigas associadas à *Staphylococcus* spp. nos ambientes estudados. O gênero mais encontrado nos três ambientes foi *Tapinoma* spp. da subfamília Dolichoderinae. As espécies identificadas são comuns no ambiente hospitalar e urbano e normalmente estão relacionadas a problemas estruturais e/ ou de higiene. Conclui-se que as formigas apresentam presença de microbactérias nos ambientes pesquisados.

Palavras-chave: Bactérias. Formicida. *Tapinoma* spp.

IDENTIFICATION OF ANTS ASSOCIATED WITH *Staphylococcus* spp. IN DIFFERENT ENVIRONMENTS

ABSTRACT

This study aimed to evaluate ants associated with *Staphylococcus* spp. in hospital, commercial area and home environment. Ten ants were collected in each environment in Três Corações-MG. The conduction of the research comprised the period from April to June 2018. The ants were collected aseptically with sterile tweezers and transferred individually to test tubes containing the Brain Heart Infusion Broth (BHI) medium, then transported to the laboratory and placed in the Greenhouse Incubator at 37°C and observed after 18 hours of incubation, being removed after 24 hours and transferred to the refrigerator, where they stayed for two days. After, the Mannitol Salt Agar medium was prepared and distributed in Petri dishes. Then, with the aid of individual pipettes 500 µL of BHI was withdrawn from each tube and spread on each plate. The plates were taken to the greenhouse for 48

hours. Through the research it was identified that six subfamilies and thirteen genera of ants associated with *Staphylococcus* spp. in the studied environments. The species identified are common in the hospital and urban environment and are usually related to structural and / or hygiene problems. The genus most found in the three environments was *Tapinoma* spp. of the subfamily Dolichoderinae spp. It was concluded that the ants present microbacteria in the studied environments.

Keywords: Formicidae; Bacteria; *Tapinoma* spp.

Recebido em: 26/09/2018 - Aprovado em: 07/11/2018 - Disponibilizado em: 30/12/2018

1. INTRODUÇÃO

As formigas são insetos pertencentes à ordem *Hymenoptera*, sendo que todas as espécies se agrupam em uma única família chamada de família Formicidae. Atualmente, cerca de 12.500 espécies de formigas já foram descritas, mas estima-se a existência de cerca de 21 mil espécies, e, dessas, menos de 20 espécies podem ser classificadas como pragas urbanas no Brasil (FONTANA, 2010). Este inseto atua na estabilidade do ambiente, nas condições do solo, na polinização das plantas e na dispersão de sementes. Porém, quando o ambiente é alterado, principalmente pela atividade humana, podem se tornar pragas incontroláveis (BUENO et al., 2005).

As áreas urbanas estão em constantes transformações desde o período da industrialização, em consequência da atividade humana, são áreas de alta popularidade que oferecem grandes fontes de alimentos e abrigo para animais artrópodes, incluindo as formigas (ROBINSON, 1996).

De acordo com Schuller (2004), no Brasil, pesquisas sobre formigas urbanas são recentes e iniciaram-se na década de 1980. Desde então, levantamentos têm confirmado sua presença em

área urbana, principalmente em hospitais, ao atuar como vetor mecânico de patógenos, além de também interferirem na higidez dos alimentos em ambiente hospitalar, comercial de alimentos e domiciliar.

Entre os artrópodes, os insetos sociais, especialmente as formigas (andarilhas), são os mais adaptados a vários ambientes, dentre os quais, domiciliares, silvestres e hospitalares. Em geral, são atraídas por alimentos ou medicamentos, especialmente os adoçados. São dotadas de grande mobilidade, chegando a percorrer três centímetros por segundo. Dessa forma, circulam por vários locais do hospital, transportando microrganismos patogênicos, que constituem um perigo potencial à saúde pública, podendo estar associados ao problema de infecção hospitalar (TANAKA et al, 2007).

As formigas realizam simbiose com bactérias, sendo consideradas vetores mecânicos de várias espécies desses microrganismos. Tal fato foi inicialmente demonstrado por Beatson (1972), e mais tarde por Edwards e Backer (1981), na Inglaterra. Relatado também em 1981, no Chile; e em 1990 na Alemanha e Trinidad (COSTA et al., 2006).

Pesquero et al. (2008), encontraram diversos tipos de microrganismos em formigas,

dados que demonstram que as formigas veiculam microrganismos em suas pernas. Segundo esse autor, foram identificadas em ambientes hospitalares brasileiros cerca de 14 espécies de formigas com presença dos microrganismos: *Acinetobacter baumannii*, *Bacillus* spp., *Burkholderia cepacia*, *Candida* spp., *Citrobacter* spp., *Comamonas terrigena*, *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN), *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*. Incluindo cepas multirresistentes de: *Acinetobacter* spp., *Gemella* spp., *Klebsiella* spp. e *Streptococcus* spp. (PESQUERO, et al., 2008).

De acordo com Castro (2010), entre os microrganismos que podem ser transportados por formicídeos, destaca-se o *Staphylococcus*, que é uma das bactérias que geralmente realiza simbiose com esses insetos, sendo um importante patógeno do homem. Também já foram encontrados gêneros de outras bactérias carreadas por estes artrópodes, como, por exemplo, *Serratia*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Escherichia* e *Enterococcus*.

O gênero *Staphylococcus* tem pelo menos mais de 30 espécies. As espécies de maior importância clínica são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidemidis* e *Staphylococcus saprophyticus*. O *Staphylococcus* é um importante patógeno em seres humanos. Quase todos os indivíduos apresentam algum tipo de infecção por essa espécie durante sua vida, cuja gravidade vai desde uma intoxicação alimentar ou infecção cutânea de pouca importância até

infecções graves potencialmente fatais (PELCZAR, 1996; MIYABE, 2007).

O *Staphylococcus aureus* é coagulase positivo, o que o diferencia das outras espécies. Os *Staphylococcus* coagulase negativos são membros da microbiota humana normal e, algumas vezes, causam infecções quase sempre associadas a dispositivos e aparelhos implantados, sobretudo em pacientes muito jovens, idosos e imunocomprometidos. Cerca de 75% dessas infecções causadas por *Staphylococcus* coagulase negativo são devido a espécies; as infecções causadas por *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* e por outras espécies são menos comuns.

As infecções hospitalares constituem um dos maiores problemas em hospitais públicos e privados em todo o mundo. Este assunto tem despertado grande interesse no meio científico devido à elevação das taxas de mortalidade de pacientes hospitalizados e a sua ocorrência depende das condições sanitárias e da presença de vetores dos microrganismos patogênicos (PESQUERO, 2008).

Com isso, a identificação das espécies de formigas associadas às bactérias pode ser de grande relevância para os profissionais da área, podendo contribuir para a prevenção e controle em ambiente hospitalar e de alimentação. A partir dessa análise, o profissional poderá traçar estratégias de controle eficazes, para erradicar esses animais do ambiente em questão.

Neste contexto, objetivou-se com a execução deste estudo identificar formigas associadas à *Staphylococcus* spp. em hospital, área comercial e residência domiciliar em Três

Corações-MG e verificar a presença desse microrganismo nos devidos ambientes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de abril a junho de 2018 com o levantamento de formigas e análise da presença de bactérias. Para isso, foram coletadas dez formigas em três ambientes diferentes, sendo estes:

- Ambiente I: setores de lavanderia, cozinha e corredor de um hospital;
- Ambiente II: corredor de guloseimas, cereais/açúcares e entrada de um supermercado.
- Ambiente III: chão e pia de cozinha de um domicílio na cidade de Três Corações-MG.

Previamente a captura dos exemplares de formigas, preparou-se o meio Brain Heart Infusion Broth (BHI). Para isso, adicionou-se 46g de BHI para 200mL, aquecendo-o para dissolução do meio e, em seguida, transferiu o meio para tubos de ensaio identificados e mantidos em autoclave por 15 minutos à 120°C.

As formigas foram capturadas assepticamente com pinças estéreis e transferidas individualmente para os tubos de ensaio contendo BHI para transporte até o Laboratório de Microbiologia da Universidade Vale do Rio Verde. Para isso, os tubos foram colocados em uma caixa de isopor com gelo e em grades para não ocorrer à troca de ambientes.

Ao chegar no Laboratório os tubos contendo as formigas foram colocadas na Estufa Incubadora à 37°C e observados após 18 horas

para analisar a turbidez, a qual indica a presença de algum microrganismo no meio. Após 24 horas, foram transferidos para a geladeira onde ficaram por dois dias. Em seguida, foi realizado o meio Manitol Salt Agar, o qual é específico para a proliferação de bactérias *Staphylococcus* spp. Para o preparo deste meio, adicionou-se 196,3g de Manitol para 500 mL de água, aquecendo-se a água para a diluição do meio. Foram levados à autoclave por 20 minutos à 120°C. Depois de retirados, foram distribuídos em trinta placas de Petri identificadas até cobrir o fundo, esperando ficarem consistentes.

Após isso, foram utilizadas pipetas individuais esterilizadas para a retirada de 500 µL de BHI de cada tubo e pipetadas à placa de Petri correspondente identificada anteriormente, espalhando com a alça de Drigasliki. Após a realização da pipetagem de todos os tubos para suas devidas placas, as mesmas foram para a Estufa Incubadora por 48 horas. Após o término da pipetagem, as formigas foram retiradas e transferidas para o tubo contendo álcool 70%, mantendo-as conservadas para posterior identificação das mesmas. Após 48 horas, as placas foram retiradas e registradas se houve presença da bactéria ou não e levadas à geladeira. No dia seguinte, foram quantificadas as placas contaminadas.

A presença da bactéria se deu pela coloração do Manitol Salt Agar, o qual é seletivo e quanto mais claro, maior a presença da bactéria *Staphylococcus* spp. Após esse processo, foi feita a identificação das formigas coletadas, realizada no Laboratório de Biologia e Entomologia – Unincor no período de junho a julho, sendo

utilizada chave dicotômica para as principais subfamílias e gêneros de formigas.

Com o auxílio de um microscópio estereoscópio as formigas foram identificadas individualmente, sendo enumeradas e separadas por ambiente.

odos os ambientes, sendo o ambiente I (hospital) e II (área comercial), os que tiveram ocorrência da bactéria em 90% das amostras. Já no ambiente III (residência domiciliar) a porcentagem de bactérias encontradas foi de 80% (Tabela 1).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos resultados obtidos verificou que a bactéria *Staphylococcus* spp. foi encontrada em

Tabela 1 – Famílias, subfamílias, gêneros e números de formigas associadas à *Staphylococcus* spp. em ambiente hospitalar, comercial e domiciliar em Três Corações/MG.

Ambiente	Família	Subfamília	Gênero	Número	<i>Staphylococcus</i>
Hospitalar	Formicidae	Myrmicinae	<i>Oligomyrmex</i>	1	Presença
		Myrmicinae	<i>Ochetomyrmex</i>	3	Presença
		Dolichoderinae	<i>Tapinoma</i>	3	Ausência
		Ponerinae	<i>Odontomachus</i>	1	Presença
		Ponerinae	<i>Anochetus</i>	2	Presença
		Ponerinae	<i>Odontomachus</i>	1	Ausência
		Myrmicinae	<i>Crematogaster</i>	1	Presença
Comercial	Formicidae	Ectatomminae	<i>Ectatomma</i>	1	Presença
		Formicinae	<i>Paratrechina</i>	1	Presença
		Ecitoninae	<i>Nomamyrmex</i>	1	Presença
		Ponerinae	<i>Hypoponera</i>	1	Presença
		Dolichoderinae	<i>Tapinoma</i>	1	Presença
		Formicinae	<i>Camponotus</i>	1	Presença
		Dolichoderinae	<i>Tapinoma</i>	3	Ausência
Domiciliar	Formicidae	Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	4	Ausência
		Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	1	Presença
		Formicinae	<i>Camponotus</i>	2	Presença

A contaminação por *Staphylococcus aureus* pode ocorrer por manipuladores de alimentos que alojam essa bactéria no nariz, na garganta ou na superfície das mãos (HO et al., 2015).

Em hospitais, bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. constituem-se como o principal micro-organismo causador de infecção de feridas cirúrgicas e o mais comum agente de infecção hospitalar. Pelo fato de muitas cepas serem resistentes à maioria dos antibióticos disponíveis, sua ocorrência é de preocupação mundial (FONTANA et al., 2010).

Foram encontradas seis subfamílias e treze gêneros de formigas vetores de *Staphylococcus* spp. nos ambientes estudados (Tabela 1).

O gênero *Tapinona* spp. foi observado nos três ambientes apresentando contaminação pela bactéria, enquanto o *Camponotus* foi identificado nos ambientes domiciliar e comercial com presença da bactéria e *Odontomachus* foi observado nos ambientes hospitalar e comercial, com ausência de bactéria no ambiente comercial (Tabela 1). Assim, evidenciou-se a veiculação de bactéria *Staphylococcus* spp. por formigas nos ambientes hospitalar, comercial e domiciliar, onde este inseto atua como vetor mecânico deste patógeno e interfere na higidez dos ambientes pesquisados.

As formigas podem atuar tanto como vetores de bactérias endossimbiontes, quanto como bactérias patogênicas. Essa transmissão está associada a variadas situações, como por exemplo, alimentos estocados e lixo (caseiro, hospitalar e em geral) em ambientes de grande circulação (FONTANA et al., 2010).

Garcia; Lise (2013) afirmaram que a presença de formigas em hospitais deve receber importante atenção, uma vez que estas podem transportar diversas espécies bacterianas, incluindo cepas multirresistentes. Sendo assim, formigas em ambientes hospitalares devem ser evitadas sendo de grande responsabilidade das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e toda equipe multidisciplinar para o controle efetivo das infecções hospitalares. Em trabalho realizado no Hospital Universitário de Taubaté-SP por Pereira; Ueno (2013), 98,4% das formigas capturadas apresentaram associação com micro-organismos, fato este que demonstra a importância destes insetos como veiculadores mecânicos de bactérias patogênicas. Neste mesmo estudo foram obtidos isolados de *Staphylococcus* coagulase negativa e de enterobactérias.

Para Garcia; Lise (2013), a diversidade de formigas registradas no Brasil com potencial para atuar como vetor mecânico de micro-organismos patogênicos no ambiente hospitalar é significativamente maior do que em países europeus, sendo a espécie *Monomorium pharaonis* a mais encontrada em hospitais europeus.

As espécies de formigas *Tapinoma melanocephalum*, *Paratrechina longicornis*, *Monomorium pharaonis*, *Pheidole megacephala* e *Odontomachus* sp. são comuns no ambiente hospitalar e urbano e normalmente estão associadas a problemas estruturais e/ ou de higiene (GARCIA; LISE, 2013). Fato que também foi observado no ambiente hospitalar do presente trabalho com a presença das formigas do gênero *Tapinona* spp. e *Odontomachus* spp.

Em pesquisa feita por Pesquero et al (2008), no Hospital Municipal de Morrinhos-GO, nove espécies de formigas foram identificadas, sendo *Pheidole* spp. a mais frequente com 92%. As outras espécies de formigas encontradas foram: *Cardiocondyla* spp. (3,5%); *Brachymyrmex* spp. (2,1%); *Dorymyrmex pyramicus* (2,0%) e *Paratrechina fulva* (0,2%). No presente trabalho, *Brachymyrmex* spp. também foi encontrada no ambiente domiciliar.

Portanto, através da pesquisa constatou-se que o gênero que foi mais encontrado nos três ambientes foi *Tapinoma* spp. da subfamília Dolichoderinae spp. De acordo com Baccaro (2006), a subfamília *Dolichoderinae* spp. é uma das principais subfamílias de formigas no mundo. Os biomas brasileiros apresentam riqueza expressiva de espécies e de grupos taxonômicos, principalmente em zonas de transição.

A espécie do gênero *Tapinoma* spp. são formigas generalistas, patrulheiras de solo e da vegetação, possui um recrutamento massivo. Segundo Baccaro (2006), esta espécie é conhecida como “formiga fantasma”, de origem supostamente asiática, nidificam no solo, com ou sem cobertura vegetal, em árvores e em troncos em decomposição, forrageiam na vegetação e no folhígio de florestas, algumas espécies podem alimentar de soluções açucaradas produzidas por homópteros.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que as formigas estão associadas à microrganismos patogênicos,

incluindo a bactéria *Staphylococcus* spp. em ambiente hospitalar, comercial e residencial.

REFERÊNCIAS

- BACCARO, F. B. 2006. **Chave para as principais subfamílias e gêneros de formigas (Hymenoptera: formicidae)** Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA. Programa de Pesquisa em Biodiversidade – PPBIO Faculdades Cathedral. Manaus, Amazonas.
- BUENO, F. C.; GODOY, M.; LEITE, C. C.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; HEBLING, M. J.; BACCI JR, M.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. Toxicity of *Cedrela fissilis* to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and its symbiotic fungus. **Sociobiology**, v. 45, 2005.
- CASTRO, O. R.; VILLAFANE-FERRER, L. M.; ÁLVAREZ-RIVERA, E.; ARCO, M. M.; RAMBAUT-DONADO C. L.; VITOLA-HEINS, G. V. *Staphylococcus aureus* metilino resistente en niños escolares de Cartagena. **Revista Salud Publica**. 2010.
- COSTA, S. B. et.al. Formigas como vetores mecânicos de microorganismos no Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** (online), v.39, n.6, 2006.
- FONTANA R. et al. Disseminação das bactérias patogênicas por formigas em dois hospitais do nordeste do Brasil. **Neotropical Entomological** vol.39, n.4, pp.655-663. 2010.
- GARCIA, F. R. M.; LISE, F. Ants associated with pathogenic microorganisms in brazilian hospitals: attention to a silent vector. *Acta Scientiarum. Health Sciences*. v. 35, n. 1, p. 9-14, 2013.
- HO, J.; BOOST, M.; O'DONOGHUE, M. Sustainable reduction of nasal colonization and hand contamination with *Staphylococcus aureus* in food handlers, 2002-2011. **Epidemiology and Infection**, v.143, n.8, p.1751-1760, 2015.
- MIYABE, M.. **Efeito fotodinâmico antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus* spp.** isoladas de pacientes submetidos a

antibioticoterapia prolongada [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2007.

PELCZAR Jr, J. M. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. 2.ed. São Paulo. Makron books, 1996.

PEREIRA, R. S.; UENO, M. Formigas como veiculadoras de microrganismos em ambiente hospitalar. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 41, n. 5, p. 492-495. 2008.

PESQUERO, M. A. et.al. Formigas em ambiente hospitalar e seu potencial como transmissoras de bactérias. **Neotropical Entomology** (online), v.37, n.4, 2008.

ROBINSON, W. H. Urban Entomology. **Blacksburg**: Chapman & Hall; 1996.

SCHULLER, L. **Microorganismos patogênicos veiculados por formigas "andarilhas" em unidades de alimentação**. 2004. Dissertação. (Mestrado em Saúde Pública) Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

TANAKA, I. T.; VIGGIANI, A. M. F. S.; PERSON, O. C. Bactérias veiculadas por formigas em ambiente hospitalar. **Arquivos médicos do ABC**, São Paulo, v.32, n.2, 2007

Eliana Alcantra

Doutora em Entomologia. Docente nos cursos de Agronomia e Mestrado Profissional em Sustentabilidade em Recursos Hídricos na Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR), Três Corações, Minas Gerais.

Tainara Ferreira Monteiro

Graduanda em Agronomia na Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR), Três Corações, Minas Gerais.

Alexandre Tourino Mendonça

Doutor em Ciências dos Alimentos. Docente nos cursos de Agronomia e Mestrado Profissional em Sustentabilidade em Recursos Hídricos na Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR), Três Corações, Minas Gerais.

Aurivan Soares de Freitas

Doutor em Fitopatologia. Docente nos cursos de Agronomia e Mestrado Profissional em Sustentabilidade em Recursos Hídricos na Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR), Três Corações, Minas Gerais.

Aline Ferreira Souza de Carvalho

Doutora em Ciências Veterinárias. Docente no curso de Medicina Veterinária da Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR), Três Corações, Minas Gerais.
