

Formigas como veiculadoras de microrganismos em ambiente hospitalar

Ants as carriers of microorganisms in hospital environments

Rogério dos Santos Pereira¹ e Mariko Ueno²

RESUMO

Existe preocupação sobre as reais possibilidades de agravos à saúde pública que possam ser causados pela veiculação de agentes patogênicos através de formigas urbanas. O presente trabalho teve por objetivo isolar e identificar os microrganismos associados às formigas em ambiente hospitalar. Foram coletadas 125 formigas, da mesma espécie, em diferentes unidades de um Hospital Universitário. Cada formiga foi coletada com *swab* embebido em solução fisiológica e transferida para um tubo com caldo *Brain Heart Infusion* e incubados 35°C por 24 horas. A partir de cada tubo, com crescimento, foram realizadas inoculações, em meios específicos, para isolamento dos microrganismos. As formigas apresentaram alta capacidade de veiculação de grupos de microrganismos, sendo que 63,5% das cepas eram bacilos Gram positivos produtores de esporos, 6,3% eram bacilos Gram negativos, cocos Gram positivos corresponderam a 23,1% das cepas, 6,7% eram fungos filamentosos e 0,5% eram leveduras. Desta forma, pode-se inferir que as formigas podem ser um dos responsáveis pela disseminação de microrganismos em ambientes hospitalares.

Palavras-chaves: Formigas. Vetores. Microrganismos. Hospital.

ABSTRACT

Concern exists regarding the real possibility of public health threats caused by pathogenic agents that are carried by urban ants. The present study had the objective of isolating and identifying the microorganisms that are associated with ants in hospital environments. One hundred and twenty-five ants of the same species were collected from different units of a university hospital. Each ant was collected using a swab soaked with physiological solution and was transferred to a tube containing brain heart infusion broth and incubated at 35°C for 24 hours. From each tube, with growth, inoculations were made into specific culturing media, to isolate any microorganisms. The ants presented a high capacity for carrying microorganism groups: spore-producing Gram-positive bacilli 63.5%, Gram-negative bacilli 6.3%, Gram-positive cocci 23.1%, filamentous fungi 6.7% and yeast 0.5%. Thus, it can be inferred that ants may be one of the agents responsible for disseminating microorganisms in hospital environments.

Key-words: Ants. Vectors. Microorganisms. Hospital.

Formigas são insetos sociais que adaptam-se com facilidade aos ambientes urbanos, instalando-se em residências e ambientes hospitalares, sua presença pode determinar a disseminação de microrganismos através da veiculação mecânica. Sendo assim, existe preocupação sobre as reais possibilidades de agravos à saúde pública que possam ser causados pela veiculação de agentes patogênicos através de formigas urbanas.

Entre os insetos sociais, as formigas fazem numerosas relações parasitárias e mutualísticas e desenvolvem várias interações com animais, vegetais, fungos e bactérias³.

A dispersão das formigas é baseada em condições climáticas, apresentando sua instalação em ambientes quentes e úmidos, locais com grande variação climática os leva a colonizar o ambiente civilizado¹⁸. Cerca de 50 espécies estão adaptadas ao ambiente urbano, e cerca de 20 a 30 espécies podem ser

consideradas como praga por causar conflito com os interesses do homem⁴.

Os fatores que influenciam a presença de formigas nos hospitais devem-se à estrutura arquitetônica, proximidade a residências, bem como interferências climáticas, oscilações térmicas que estimulam a migração desses insetos para aparelhos eletrônicos em busca de estabilidade térmica² e/ou embalagens de medicamentos que oferecem condições ideais para formações de ninhos, além de alimentos que podem funcionar como atrativo extra²².

Em levantamento realizado em um hospital na região sudeste do Brasil, revelou-se a presença de 10 espécies de formigas, sendo a mais abundante *Monomorium floricola*²². Lise cols¹³ encontraram 7 espécies de formigas em hospital em Santa Catarina.

Levantamentos realizados em doze hospitais do Estado de São Paulo revelam infestação por formigas, apresentando maior índice

1. Departamento de Biologia, Universidade de Taubaté, Taubaté, SP. 2. Instituto Básico de Biociências, Universidade de Taubaté, Taubaté, SP.

Endereço para correspondência: Dra. Mariko Ueno. Instituto Básico de Biociências/UNITAU. Rua Tiradentes 500, Campus Bom Conselho, 12030-180 Taubaté, SP.

Tel 55 12 3629-7909

e-mail: mariueno@unitau.br

Recebido para publicação em 03/12/2007

Aceito em 27/08/2008

nos berçários e nas unidades de terapia intensiva (UTI) e 16,5% das formigas coletadas apresentavam bactérias patogênicas^{4,5}.

As formigas possuem capacidade de se deslocarem rapidamente e normalmente percorrem extensas áreas, o que sugere, que, além de constituírem vetores de microrganismos em ambientes intra-hospitalares, podem agir também como importantes vias de dispersão de resistência a drogas nestes ambientes¹⁷. Tornando-se de alta periculosidade, a presença de formigas em ambientes hospitalares, constitui riscos em potencial na veiculação de microrganismos patogênicos que podem causar infecções hospitalares^{2,4}.

Entre os artrópodes que podem ser colonizados por cepas bacterianas hospitalares, quando em infestação em ambiente nosocomial, são as moscas, baratas e formigas⁹. Estes organismos transportam microrganismos de um lugar a outro, podendo promover infecções cruzadas^{10,15}.

Sramova e cols²⁰ descreveram os artrópodes como importantes vetores de microrganismo, destacando que de um total de 116 cepas isoladas, 88% constituem bacilos Gram negativos: *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Citrobacter* spp, *Proteus* spp, *Serratia* spp, *Pseudomonas* spp e *Acinetobacter* spp e 12% constituem cocos Gram positivos tendo como representantes *Staphylococcus* coagulase negativos.

Segundo Boursaux-Eude e Gross³ algumas espécies de formigas, veiculam, em ambiente hospitalar, agentes patogênicos como: *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella ozaenae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus epidermidis* e *Yersinia pestis*, podendo aumentar o risco de infecção hospitalar.

Dois terços de enterobactérias isoladas a partir de artrópode apresentam resistência a pelo menos 3 grupos de antibióticos, mesmo entre cepas pouco frequentes como *Morganella* spp e *Hafnia* spp. Esta multi-resistência também é observada entre o grupo dos Gram positivos²⁰.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a presença bactérias e fungos, associadas às formigas, em quatro setores de um hospital universitário.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material. A coleta das formigas foi realizada no Hospital Universitário da Universidade de Taubaté, no período de fevereiro a julho de 2005. *Swabs* umedecidos em solução fisiológica foram utilizados para coletar as formigas, individualmente, em uma mesma trilha. Foram coletados 125 formigas, sendo 25 no Hemonúcleo, 40 na Clínica Médica, 30 na Ortopedia e 30 na Lavanderia, setores nos quais a frequência de trilhas de formigas, no piso e/ou parede, era alta em relação à outras unidades do hospital universitário.

Isolamento dos microrganismos e identificação de microrganismos. Cada formiga foi mergulhada em tubo de ensaio contendo caldo *Brain Heart Infusion* e incubada a 35°C por 24 horas. A partir dos tubos que apresentaram crescimento

foram realizadas sementeiras por esgotamento, em diferentes meios de cultura. Placas contendo ágar MacConkey foram incubadas a 35°C por 24 horas; placas contendo ágar Sabouraud dextrose com clorafenicol, a 35°C por 2 a 7 dias, posteriormente a temperatura ambiente por 10 dias; placas contendo ágar sangue foram repicadas em duplicata e divididas em série 1 (os componentes da primeira réplica) e série 2 (os componentes da segunda réplica). As placas da série 1 foram incubadas a 35°C por 24 horas. As placas da série 2 foram incubadas a 35°C em atmosfera de 5% de CO₂ por 48 horas.

De acordo com as características morfológicas, seguiu-se a identificação específica. Bastonetes Gram negativos foram submetidos à série bioquímica para identificação. Cocos Gram positivos foram submetidos à prova da catalase e foram semeados em ágar nutriente, com 8% de cloreto de sódio e provas bioquímicas segundo Kloos e Bannerman¹¹.

As leveduras foram identificadas segundo Sindrim e Moreira¹⁹. Os fungos filamentosos foram repicados em placas contendo ágar Sabouraud e incubados à temperatura ambiente por 10 dias, para a obtenção da colônia gigante. A identificação procedeu-se com a observação de verso e reverso das colônias em especial sua pigmentação. Para cada colônia foi feito um microcultivo e incubado à temperatura ambiente por 10 dias. Após este período as lâminulas foram retiradas e colocadas sobre outra lâmina estéril com uma gota do corante azul de metileno, e sua morfologia foi observada em microscopia de luz. A identificação baseou-se na chave de Famílias Eumycota, segundo Lacaz e cols¹².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras coletadas, 123 (98,4%) apresentaram crescimento. Este resultado mostra a possibilidade de veiculação mecânica e/ou biológica de microrganismos, igualmente aos estudos anteriores descrito por Bueno e Campos-Farinha⁴; Boursaux-Eude e Gross³; Zarzuela e cols²² e Bueno e Campos-Farinha⁵. Este fato associado às características biológicas das formigas pode defini-las como potenciais veiculadoras de microrganismos e sua infestação em ambiente hospitalar como um risco à saúde pública², bem como em residências, estabelecimentos de alimentação⁶, indústrias e laboratórios¹⁰.

Foram isoladas 208 cepas sendo: bacilos Gram positivos esporulados 63,5%, bacilos Gram negativos 6,3%, cocos Gram positivos 23,1%, fungos filamentosos 6,7% e leveduras 0,5% (Tabela 1).

Tabela 1 - Frequência absoluta dos microrganismos isolados a partir de formigas.

Microrganismos isolados	Frequência absoluta
Bacilos Gram positivos	132
Bacilos Gram negativos	13
Cocos Gram positivos	48
Leveduras	1
Fungos filamentosos	14
Total	208

Segundo Tresoldi e cols²¹ a frequência de microrganismos isolados em infecção hospitalar foi 56,5% de bacilos Gram negativos, 20,9% de cocos Gram positivos e 9% de leveduras, a possibilidade de veiculação de microrganismos e a sua presença no ambiente nosocomial pode agir de forma a manter ou aumentar tais estatísticas.

Dentre os cocos Gram positivos 19 (59,2%) cepas foram identificadas como *Staphylococcus* coagulase-negativos (SCN). Micrococos ou estomatococos, juntos representaram um total de 29 (40,2%) cepas.

É crescente a importância dos SCN, atualmente, representa um dos grupos mais isolados em infecções hospitalares¹⁴. *Staphylococcus epidermidis* é reconhecido como o principal agente etiológico de bacteremias, infecções pós-operatórias, infecções do trato urinário.

Foram identificadas 13 espécies de enterobactérias (Tabela 2). As enterobactérias são comuns entre os insetos e são transmitidas de um indivíduo para outro de modo horizontal, mas podem ser adquiridas no ambiente, demonstrando assim capacidade de veiculação e manutenção do microrganismo no ambiente.

Tabela 2 - Frequência absoluta de isolamento das espécies da família Enterobacteriaceae.

Espécies isoladas e identificadas	Frequência absoluta
<i>Hafnia alvei</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1
<i>Serratia liquefaciens</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	4
Total	13

Fowler e Bueno¹⁰ indicaram alta frequência acumulada, de microrganismos, isolados de formigas dos gêneros: *Klebsiella*, *Serratia* e *Enterobacter*, semelhante aos dados encontrados nesta pesquisa. Estudos na Índia indicam a disseminação tanto de organismos da família Enterobacteriaceae bem como da família Pseudomonadaceae⁶.

Os bacilos Gram positivos representaram 63,5% dos isolados. A capacidade de formar endosporos, permite a instalação destas espécies em locais de grande instabilidade ambiental. A alta capacidade de adaptação permite entender a relação com as formigas como sendo uma simples sobreposição de nicho, mas como observados no homem, podem estar presentes na microbiota normal deste inseto, neste caso as formigas estão agindo tal qual o homem¹ como veiculadores biológicos deste grupo de organismos ou apenas transportando na forma de endosporos ou células vegetativas, mas em condição limitada.

A versatilidade torna-os, se não organismos invasivos com alto fator de virulência conquistada por questões ecológicas, oportunistas sendo fator de alta relevância a grande incidência do número de isolados, pois podem estar associados ao grande poder de disseminação promovida pelas formigas, podendo contribuir com o aumento nas infecções hospitalares^{2 10}.

Apenas uma cepa de levedura foi isolada identificada como *Candida tropicalis*. Embora o número de isolados seja pequeno para uma inferência biológica, é relevante entender que estes organismos estão amplamente distribuídos no ambiente, por apresentarem ampla capacidade de exploração e colonização de substratos orgânicos vivos ou em decomposição. Sua veiculação em ambiente hospitalar torna-se um risco à saúde pública¹⁸, dada a grande concentração de imunodeprimidos¹.

Foram identificadas 14 espécies fungos filamentosos, conforme apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 - Frequência absoluta dos fungos isolados de formigas.

Grupos	Espécies isolados	Frequência absoluta
Dermatófitos	<i>Epidermopogon floccosum</i>	1
	<i>Trichophyton verrucosum</i>	1
	<i>Trichophyton rubrum</i>	1
Dematiáceos	<i>Cladosporium carrioni</i>	2
	<i>Aureobasidium pullulans</i>	1
	<i>Wangiella dermatitidis</i>	1
	<i>Conidiobolus coronatus</i>	1
	<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	1
Hyphomycetes	<i>Aspergillus niger</i>	1
	<i>Aspergillus flavus</i>	1
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2
	<i>Monilia sitophita</i>	1
Total		14

É possível associar as formigas aos fungos devido ao ambiente explorado por estes insetos, que coincide com as condições físico-químicas propícias para a proliferação destes microrganismos¹⁸. Estas condições são, muitas vezes, criadas pelas formigas de forma a conseguir benefícios desta associação, oferecendo situação propícia para a proliferação de fungos de modo geral, devido a semelhança da biologia destes microrganismos⁸.

A constatação destas associações, tal qual com bactérias, pode ser considerada de grande problema para a sociedade tendo em vista a grande capacidade de adaptação das formigas ao ambiente urbano^{5 22}, pois ela potencializa a capacidade de dispersão dos fungos, tanto de forma mecânica transportando seus propágulos, contraídos de ambientes contaminados, para locais e/ou objetos não contaminados quanto de forma biológica, atuando como reservatórios de fungos patogênicos ao homem, onde os fungos instalados em sua cutícula disseminam por todo o ambiente.

Estudos da contaminação, por fungos, de ambientes hospitalares na Grécia, demonstram que 70,5% dos isolados são do gênero *Aspergillus*, tendo maior prevalência de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*¹⁶. No Brasil, existe uma prevalência maior, por características adaptativas, da espécie *Trichophyton rubrum*⁷.

Concluiu-se que os resultados obtidos demonstram a grande capacidade das formigas em manter associações com bactérias: cocos Gram positivos, bacilos Gram negativos e bacilos Gram positivos, da mesma forma e mesmo tempo conseguem manter associadas a fungos leveduriformes e filamentosos. Bem como estes microrganismos podem apresentar multi-resistências a uma variedade de antibióticos sendo um fator de risco nas infecções hospitalares, quando em infestações nestes ambientes.

REFERÊNCIAS

1. Ayliffe GAJ, Lowbury EJJ, Geddes AM, Williams JD. **Controle de infecção hospitalar**. 3ª edição, Editora Revinter, 1998.
2. Beaston SH. *Pharaob's* ants as pathogens vectors in hospitals. *The Lancet* 19:425-427, 1972.
3. Boursaux-Eude C, Gross R. New insights symbiotic associations between ants and bacteria. *Research in Microbiology* 519:513-519, 2000.
4. Bueno OC, Campos-Farina AEC. **Formigas Urbanas: comportamento das espécies que invadem as cidades brasileiras**. *Vetores & Pragas* 2:13-16, 1998.
5. Bueno OC, Campos-Farina AEC. **Formigas Urbanas: estratégias de controle**. *Vetores & Pragas* 2:5-7, 1999.
6. Chadee DD, Maitre AL. Ants: potencial mechanical vectors of hospital infections in Trinidad. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 84: 297, 1990.
7. Costa M, Passos SX, Souza HKL, Miranda ATB, Lemos AA, Junior JGOJ, Silva MRR. Epidemiologia e etiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 35: 19-22, 2002.
8. Currie CR, Scott JA, Summerbell RC, Malloch D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature* 398: 701-704, 1999.
9. Fernandes AT. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. Editora Atheneu, São Paulo, 2000.
10. Fowler HG, Bueno OC. **Formigas nos hospitais**. *Ciência Hoje* 19: 12-14, 1995.
11. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR (ed) *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition, American Society Microbiology, Washington, p. 264-82, 1999.
12. Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. **Guia para identificação de actinomicetos e algas de interesse médico**. Editora Sarvier, 1998.
13. Lise F, Garcia FRM, Lutinski JA. **Association of ants (Hymenoptera: Formicidae) with bacteria in hospitals in the State of Santa Catarina**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 39: 523-526, 2006.
14. Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS. Multiplex PCR Protocol for the Diagnosis of Staphylococcal Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 3332-3338, 2001.
15. Nogueiras M, Marinsalta N, Roussel M, Notario R. Importance of hand germ contamination in health-care workers as possible carriers of nosocomial infections. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 43: 45-48, 2001.
16. Panagopoulou P, Filioti J, Petrikkos G, Giakouppi P, Anatoliotaki M, Farmaki E, Kanta A, Postolakou H, Avlami A, Samonis G, Roilides E. Environmental surveillance of filamentous fungi in three tertiary care hospitals in Greece. *Journal of Hospital Infection* 52: 912-185, 2002.
17. Peçanha MP, Campos-Farina AEC, Bueno OC, Leite CQE, Sumi DV, Castilho MAA, Silva FM, Carrocci AM. **Formigas como vetor de propagação de resistência bacteriana em hospitais Universitários**. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 42: 84-86, 2000.
18. Silva EJE, Loeck AE. **Ocorrência de formigas domiciliares (Hymenoptera Formicidae) em Pelotas, RS**. *Revista Brasileira de Agrociências* 5: 220-224, 1999.
19. Sindrim JJC, Moreira JLB. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica**. Editora Guanabara Koogan, p. 287, 1999.
20. Sramova H, Daniel M, Absolomova V, Dedicova D, Jedlickova Z, Lhotova H, Petras P, Subertova, V. Epidemiological role of arthropods detectable in health facilities. *Journal of Hospital Infection* 20: 281-292, 1992.
21. Tresoldi AT, Branchini MLM, Filho DCM, Padoveze MC, Dantas SPE, Reginato L, Nowakowski AV, Oliveira UM, Trabasso P. Relative frequency of nosocomial microorganisms at UNICAMP University Hospital from 1987 to 1994. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 39: 6-13, 1997.
22. Zarzuela MFM, Ribeiro MCC, Campos-Farina FAEC. **Distribuição de formigas urbanas em um hospital da região sudeste do Brasil**. *Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo)* 69: 85-87, 2002.