

## PUBLIC HEALTH

## Disseminação de Bactérias Patogênicas por Formigas (Hymenoptera: Formicidae) em Dois Hospitais do Nordeste do Brasil

RENATO FONTANA<sup>1</sup>, RITA M DA C WETLER<sup>1</sup>, RENATA S S AQUINO<sup>1</sup>, JOÃO L ANDRIOLI<sup>1</sup>, GUILHERME R G QUEIROZ<sup>1</sup>, SÔNIA L FERREIRA<sup>2</sup>, IVAN C DO NASCIMENTO<sup>3,4</sup>, JACQUES H C DELABIE<sup>3,5</sup>

<sup>1</sup>Depto de Ciências Biológicas, <sup>2</sup>Depto de Ciências da Saúde. Univ Estadual de Santa Cruz (UESC), 45662-000 Ilhéus, BA, Brasil; rfontana@uesc.br; soniamift@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Lab de Mirmecologia, Convênio CEPLAC/UESC, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), CEPLAC, 45600-000 Itabuna, BA, Brasil;

<sup>4</sup>Depto de Ciências Biológicas, Univ Estadual do Sudoeste da Bahia, Avenida José Moreira Sobrinho, Jequiezinho, 45200-000 Jequié, BA, Brasil; icardoso@hotmail.com;

<sup>5</sup>Depto de Ciências Agrárias e Ambientais, Univ Estadual de Santa Cruz, 45650-000 Ilhéus, BA, Brasil; delabie@cepec.gov.br; jacques.delabie@gmail.com

Edited by Álvaro Eiras – UFMG

*Neotropical Entomology* 39(4):000-000 (2010)

## Pathogenic Bacteria Dissemination by Ants (Hymenoptera: Formicidae) in Two Hospitals in Northeast Brazil

**ABSTRACT** - Nosocomial infections bring a high risk to the health of hospital patients and employees. Ants are common organisms in Brazilian hospitals, where they can act as dispersers of opportunistic microorganisms in places they forage. The occurrence of multi-resistant bacteria carried by ants was analyzed in two public hospitals (HA and HB) in southeastern Bahia, Brazil. In these two hospitals 132 workers belonging to three ant species were collected. The bacteria associated to these ants were identified and their susceptibility to antibiotics was evaluated. More than half (57.3%) of ants collected in HA were associated with some kind of bacteria, with 26.7% of them being opportunist bacteria, while 84,2% of the ants from HB presented associated bacteria growth, with 61.4% of them being opportunist bacteria. Twenty four species of bacteria were isolated. The Gram-positive bacilli of the genus *Bacillus* were the most frequent, followed by the Gram-positive cocci, Gram-negative bacilli (family Enterobacteriaceae) and Gram-negative non-fermenters bacilli. The profile of sensitivity of the bacterial isolates to drugs pointed out the existence of multi-resistant isolates carried by ants. For the first time, are reported cases of the same bacterial resistant isolates taken from homospesific ant workers that point out the importance of ants to bacteria dissemination and proliferation in a hospital. Our results suggest that the risk of contamination presented by these ants is similar to the one of any other mechanical vector of bacterial dissemination. **(reduzido para < 250 palavras)**

**KEY WORDS:** Nosocomial infection, public health, urban ant

O êxodo contínuo da população mundial rural e o conseqüente crescimento acelerado dos conglomerados urbanos provocam frequência, a redução da qualidade sanitária das cidades, acompanhada da proliferação de vetores de inúmeras doenças. O papel de alguns desses vetores já é bem conhecido, como o dos ratos na propagação de zoonoses como a leptospirose e hantavirose, piolhos de *Rickettsia* spp., pulgas na transmissão de doenças como a peste bubônica e o tifo murino, e mosquitos na transmissão de inúmeras doenças de importância à saúde pública no Brasil, como a malária e a dengue.

A qualidade no atendimento nos hospitais dos centros urbanos sofre também com o problema do aumento de vetores. Diferentes autores vêm alertando sobre o papel específico de insetos no transporte de microrganismos

associados a ambientes hospitalares e infecções nosocomiais (Fotadar *et al* 1991, Daniel *et al* 1994, Peçanha 2000, Fontana *et al* 2001). Entre os insetos, o papel das formigas nos hospitais vem sendo cada vez mais discutido (Fowler *et al* 1993, Bueno & Fowler 1994, Delabie *et al* 2002, Moreira *et al* 2005). Estima-se que existem 21.000 espécies de formigas no planeta, sendo que aproximadamente 12.500 já foram descritas, 3.000 no Brasil. Das espécies brasileiras, menos de duas dezenas podem ser consideradas pragas urbanas (Bueno & Campos-Farinha 1999). Na Bahia, há uma mirmecofauna especializada que vive nas habitações, da qual a maior parte das espécies é exótica (Delabie 1993, Delabie *et al* 1995). Apesar de causar incômodos, a ocorrência de formigas em residências é raramente considerada perigosa à saúde. Contudo, esses insetos podem se tornar perigosos

para a saúde pública, atuando como vetores de agentes patogênicos, quando a infestação ocorre em hospitais (Beatson 1972, Eicheler 1978, Ipinza-Regala *et al* 1981, Fowler *et al* 1993).

Nos hospitais, as formigas podem estar associadas a vários tipos de incômodos como rejeição psicológica, irritações e lesões na pele, podendo, ainda, falsear resultados laboratoriais por passarem de uma placa de Petri a outra, resultando em diagnósticos equivocados. No entanto, um dos principais problemas de riscos à saúde é a possibilidade de as formigas veicularem microrganismos patogênicos (Eicheler 1990). Os resultados das pesquisas brasileiras sobre bactérias associadas às formigas, publicados até o momento, foram obtidos de coletas em estabelecimentos localizados em estados do Sudeste do país, ou seja, em São Paulo (Fowler *et al* 1993, Peçanha 2000, Cintra *et al* 2004, Pereira & Ueno 2008), Rio de Janeiro (Moreira *et al* 2005) e Minas Gerais (Rodvalho *et al* 2007).

O objetivo do presente estudo foi o de identificar as espécies de bactérias associadas às formigas encontradas em dois hospitais públicos do Sudeste da Bahia, assim como identificar a susceptibilidade das mesmas a diversos antibióticos, e estudar outros aspectos da ecologia da associação entre bactérias, formigas e o homem, uma vez que não existem dados sobre esses assuntos no Nordeste do Brasil.

## Material e Métodos

Foram realizadas nove séries de coletas de formigas em um hospital público da cidade de Itabuna (HA) e seis séries de coletas em um hospital público da cidade de Ilhéus (HB), ambas localizados no Sudeste da Bahia, entre os anos de 2002 e 2003. Os setores coletados no HA foram: Pronto Socorro, Ambulatório da Quimioterapia, Laboratório de Análises Clínicas, Refeitório do Pronto Socorro, Setor de Hemodiálise (Sala de Enfermagem), Sala de Endoscopia, Apartamentos, Setor dos Leitos (Leitos 102 e 201) e no Almoxarifado. No HB os locais foram: Enfermaria de Oncologia, Leito hospitalar, Ambulatório, Posto de Enfermagem (Mesa de Distribuição de Medicamentos), UTI, Enfermaria Masculina e no Ambulatório de Quimioterapia.

As coletas foram realizadas durante o dia, e os locais de coleta foram escolhidos aleatoriamente. Deu-se preferência aos locais onde era possível observar formigas em atividade no ambiente. Quando não era possível achá-las, as coletas eram feitas com o auxílio de isca (recipiente com mel esterilizado), visando atrair as formigas. Nesse procedimento, foram coletadas apenas operárias que estavam indo de encontro à isca, e não as que estavam voltando do local onde a isca foi colocada.

As formigas foram retiradas do local onde se encontravam com o auxílio de uma folha de papel esterilizada e logo em seguida coletadas com o auxílio de uma pinça de ponta fina esterilizada. As operárias coletadas foram imediatamente individualizadas em tubos de ensaio contendo caldo Müeller-Hinton (MH) (HiMedia Laboratories®). A seguir, foi feita coleta com o auxílio de um *swab* (zaragatoa) estéril, no mesmo local onde as formigas foram coletadas. As zaragatoas foram colocadas individualmente em tubo com caldo MH.

Os tubos foram devidamente identificados e levados ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

Os tubos contendo as formigas e as zaragatoas foram incubados a 35°C por 24h e 48h. Após a incubação, uma alíquota de cada tubo contendo a formiga foi retirada e submetida ao plaqueamento por esgotamento nos meios de cultura de ágar-sangue 5%, ágar-manitol e ágar MacConkey (HiMedia Laboratories®); as placas foram incubadas a 35°C durante 24h ou 48h. As colônias isoladas de microrganismos foram pré-caracterizadas pela observação de sua morfologia e, microscopicamente, pelo estudo da forma, arranjo e reação tintorial das células bacterianas à coloração de Gram. As formigas contidas nos tubos foram transferidas para recipientes de vidro com álcool etílico 70%, rotulados com os dados referentes à coleta, e enviadas ao Laboratório de Mirmecologia CEPEC/CEPLAC, onde foram identificadas e posteriormente depositadas.

As bactérias isoladas foram submetidas às seguintes provas visando sua identificação: cocos Gram-positivos foram submetidos à prova de catalase; entre eles, os que obtiveram resultado positivo e se apresentaram em cachos no exame microscópico foram submetidos à prova de coagulase em tubo (Silva 1999) e em lâmina (Staph Test da PROBAC®). Considerou-se *Staphylococcus aureus* as cepas de cocos Gram positivos, catalase e coagulase positivas. As cepas coagulase negativas ou duvidosas foram consideradas todas em um mesmo grupo: os *Staphylococcus* coagulase negativo (ECoN). Foi observado o tipo de hemólise em ágar-sangue para os cocos Gram-positivos catalase negativo, que foram submetidos à prova da optoquina, bacitracina (Newprov®) e NaCl a 6,5%, para a identificação presumtiva das espécies de estreptococos.

Os bacilos Gram-negativos foram semeados em tubos com ágar TSI (HiMedia Laboratories®). As bactérias fermentadoras de açúcares (enterobactérias) foram submetidas às seguintes provas bioquímicas: produção de gás a partir da fermentação da glicose; fermentação de glicose, sacarose e lactose; produção de H<sub>2</sub>S; capacidade de crescer em ágar Citrato de Simmons (HiMedia Laboratories®); capacidade de desaminação da fenilalanina; produção de indol; motilidade em meio SIM (HiMedia Laboratories®); desaminação do triptofano; teste da urease; descarboxilação da lisina, ornitina e arginina; capacidade de utilizar o malonato como única fonte de carbono, e ao teste de Voges Proskauer e Vermelho de Metila (Koneman *et al* 2001).

As bactérias não fermentadoras de açúcares foram identificadas pelos seguintes testes: crescimento em ágar MacConkey (HiMedia Laboratories®); prova da oxidase e pelo sistema Bactray I, II e III (DIFCO®).

O preparo dos meios e reagentes, bem como a interpretação dos resultados, seguem Koneman *et al* (2001). A determinação dos gêneros e espécies dos bacilos Gram-negativos não-fermentadores foi realizada segundo as normas previstas no sistema Bactray (DIFCO®).

Cepas de bactérias oportunistas isoladas, tanto de formigas, como do ambiente, foram submetidas ao antibiograma para verificação do perfil de susceptibilidade aos antibacterianos testados. O teste de sensibilidade às drogas (antibiograma) foi realizado pela técnica de difusão em placa, de acordo

com Bauer *et al* (1966) e National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000), utilizando-se agar Müeller-Hinton (HiMedia Laboratories®) e discos de antibióticos (Newprov®) para cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos. Realizou-se a ressuspensão das bactérias em caldo Müeller-Hinton, o qual foi incubado durante 30 min a 120 min a 35°C até a obtenção de turvação equivalente a 0,5 da escala MacFarland. A semeadura em placa de Müeller-Hinton foi realizada com o auxílio de uma zaragatoa umedecida no caldo contendo a bactéria em suspensão, espalhando-a por toda a extensão da placa. Os discos de antibióticos foram colocados sobre a superfície do agar MH utilizando-se pinça estéril. Para as cepas de *S. aureus* e ECoN, os discos dos antibióticos clindamicina e eritromicina foram colocados a 1,5 cm um do outro, para identificar o fenômeno de resistência induzida (Schreckenberger *et al* 2004). As placas foram incubadas a 35°C por 24h. Os halos foram medidos com régua milimetrada e a interpretação dos resultados foi feita de acordo com as indicações do fabricante, definindo para a cepa a categoria resistente, intermediária ou sensível, como estabelecido pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000).

A análise de similaridade foi realizada comparando os microrganismos isolados das formigas e os isolados do ambiente do HA e HB, utilizando-se o programa Paleontological Statistical (Past), versão 1.43 (Copyright Hammer and Harper 1999-2006, disponível em <http://folk.uio.no/ohammer/past>. Acesso em 02.06.2008).

A fim de estimar a diversidade bacteriana em ambos os hospitais, foram elaboradas as curvas de riqueza acumulada do número de espécies de bactérias e de cepas bacterianas identificadas em função do esforço de amostragem (número de indivíduos de formigas coletadas). Os dados de coleta, organizados sob a forma de matrizes, foram analisados com auxílio do programa EstimateS (Colwell 1997). Com o auxílio desse programa, utilizando uma randomização de 500 vezes, também foram obtidos os valores estimados da diversidade de bactérias e cepas para cada hospital, usando o estimador de diversidade Jackknife2.

## Resultados

Foram coletadas 132 formigas nos dois hospitais estudados: 75 formigas do HA e 57 do HB, sendo

identificadas *Tapinoma melanocephalum* (Fabricius) (n = 64), *Paratrechina longicornis* (Latreille) (37), *Pheidole megacephala* (Fabricius) (21) e *Solenopsis globularia* (Smith) (10) (Tabela 1). Entre as formigas coletadas no HA, 57,3% dos indivíduos apresentaram algum tipo de crescimento bacteriano e 26,7% apresentaram o crescimento de bactérias oportunistas patogênicas. No HB, 84,2% das formigas coletadas apresentaram algum tipo de crescimento bacteriano e 61,4% apresentaram crescimento de bactérias oportunistas patogênicas (Tabelas 1 e 2). *Pheidole megacephala* foi a espécie que apresentou a maior contaminação por bactérias (100%) no HA e a segunda maior no HB. Foi também a formiga que apresentou a maior contaminação por bactérias patogênicas nos dois hospitais (Tabelas 1 e 2). *Paratrechina longicornis* apresentou o maior índice de contaminação por bactérias e o segundo maior por bactérias oportunistas patogênicas do HB e, em 16 exemplares dessa formiga, foram encontradas duas espécies diferentes de bactérias (Tabelas 2 e 3). Em quatro operárias de *T. melanocephalum* foram encontradas duas espécies de bactérias; dos 21 indivíduos de *Ph. megacephala*, sete estavam contaminados com duas espécies de bactérias, enquanto 16 das 37 operárias de *P. longicornis* apresentavam-se infectados por duas espécies de bactérias (Tabelas 1 e 3).

Das cepas de estafilococos resistentes a clindamicina e a eritromicina isoladas das formigas, uma cepa de ECoN, isolada do HA, e duas cepas de *S. aureus*, isoladas do HB, apresentaram, em placa, o fenômeno de resistência induzida a clindamicina (forma D+). No HB, duas cepas de *P. putida* isoladas de dois indivíduos da espécie *P. longicornis*, ambas coletadas na Enfermaria Masculina, apresentaram o mesmo perfil de resistência aos antibióticos testados (Tabela 2). O mesmo foi observado para duas cepas de *P. stutzeri* isoladas de duas operárias de *P. longicornis*, uma coletada na Enfermaria Masculina e outra coletada no Posto de Enfermagem (mesa de distribuição de medicamentos) (Tabela 2).

A análise de similaridade comparou os microrganismos isolados das formigas e os isolados do ambiente do HA e HB (Tabela 4). O índice de similaridade entre todas as bactérias isoladas nos hospitais foi maior no Refeitório do Pronto Socorro, seguido pelo Ambulatório da Quimioterapia e pela UTI. Nesses casos, os índices de similaridade encontrados entre as espécies de bactérias isoladas das formigas e do ambiente foram superiores a 0,50 (Tabela 4). Quando analisado o índice de similaridade entre

Tabela 1 Contaminação por bactérias nas espécies de formigas coletadas nos hospitais de Itabuna e Ilhéus (Hospital A [HA] e Hospital B [HB]), BA, 2002-2003.

Espécies de formigas	Indivíduos coletados		Cultura			
			Presença de bactérias		Presença de bactérias oportunistas	
	HA	HB	HA	HB	HA	HB
<i>Tapinoma melanocephalum</i>	50	14	22	10	10	7
<i>Solenopsis globularia</i>	10	0	8	0	1	0
<i>Paratrechina longicornis</i>	6	31	4	28	1	20
<i>Pheidole megacephala</i>	9	12	9	10	8	8
Total	75	57	43	48	20	35

Tabela 2 Bactérias isoladas das quatro espécies de formigas coletadas dos hospitais de Itabuna e Ilhéus (HA e HB), BA. \* ECoN- *Staphylococcus* Coagulase Negativo. Setores coletados no Hospital A: 1 - Pronto Socorro; 2 - Ambulatório de Quimioterapia; 3 - Laboratório de Análises Clínicas; 4 - Refeitório do Pronto Socorro; 5 - Setor de Hemodiálise (Sala de enfermagem); 6 - Sala de Endoscopia; 7 - Apartamentos; 8 - Setor dos Leitos (Leitos 102 e 201); 9 - Almoxarifado. No Hospital B, os setores foram: 1 - Enfermaria de Oncologia, Setor dos Leitos (Leito 136); 2 - Posto de Enfermagem (Mesa de Distribuição de Medicamentos); 3 - UTI, 4 - Enfermaria Masculina; 5 - Ambulatório de Quimioterapia; 6 - Ambulatório.

Espécies de formigas	Espécies de bactérias	Local da coleta
<i>Tapinoma melanocephalum</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A(2,7)
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	B(3)
	<i>Bacillus</i> spp.	A(1,2,4,7,8), B(3,6)
	<i>Burkholderia cepacia</i>	A(7)
	ECoN*	A(1,2,4,5,8), B(2,3,6)
	<i>Escherichia coli</i>	B(6)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A(8)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	B(3)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	B(3)
	<i>Streptococcus viridans</i>	A(5)
	<i>Streptococcus viridans</i>	A(8)
<i>Solenopsis globularia</i>	<i>Bacillus</i> spp.	A(3)
	ECoN*	A(3), B(3)
<i>Paratrechina longicornis</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	B(4)
	<i>Alcaligenes sylosidans</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.	A(2,6), B(2,4,5)
	<i>Burkholderia cepacia</i>	B(4)
	<i>Citrobacter diversus</i>	B(5)
	<i>Comomonas acidoverans</i>	B(2)
	ECoN*	A(6), B(5,6)
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	B(2)
	<i>Escherichia coli</i>	BA(2)
	<i>Proteus mirabilis</i>	B(4)
	<i>Providencia alcalifaciens</i>	B(4)
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	B(5)
	<i>Pseudomonas putida</i>	B(2,4,4)
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	B(2,4)
	<i>Serratia marcescens</i>	B(4)
<i>Staphylococcus aureus</i>	B(5)	
<i>Stenotrophomonas altophilia</i>	B(4)	
<i>Pheidole megacephala</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	A(2,9), B(1,6)
	<i>Bacillus</i> spp.	B(1,6,9)
	ECoN*	A(1,9)
	<i>Escherichia coli</i>	A(1), B(1)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B(1)
	<i>Serratia liquefaciens</i>	B(6)
	<i>Shigella sonnei</i>	B(1)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	A(9), B(1)

Tabela 3 Formicidae para os quais foram isoladas duas espécies de bactérias nos hospitais de Itabuna (Hospital A [HA]) e Ilhéus (Hospital B [HB]), BA. 2002-2003. \* ECoN- *Staphylococcus* Coagulase Negativo. Setores coletados no Hospital A: 1 - Pronto Socorro; 2 - Ambulatório da Quimioterapia; 3 - Laboratório de Análises Clínicas; 4 - Refeitório do Pronto Socorro; 5 - Setor de Hemodiálise (Sala de enfermagem); 6 - Sala de Endoscopia; 7 - Chão dos Apartamentos; 8 - Setor dos Leitos (apartamentos 102 e 201); 9 - Almojarifado. Setores coletados no Hospital B: 1 - Enfermaria de Oncologia, Setor dos Leitos (quarto 136); 2 - Posto de Enfermagem (mesa de distribuição de medicamentos); 3 - UTI, 4 - Enfermaria Masculina; 5 - Ambulatório da Quimioterapia; 6 - Ambulatório.

Espécies de formigas	Espécies de bactérias	Local da coleta
<i>Tapinoma melanocephalum</i>	<i>Bacillus</i> spp.+ ECoN	A(1)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Escherichia coli</i>	B(6)
	ECoN + <i>Acinetobacter baumannii</i>	A(2)
<i>Paratrechina longicornis</i>	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Alcaligenes faecalis</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Alcaligenes xyloisidans</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Burkholderia cepacia</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Comomonas acidoverans</i>	B(2)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Escherichia coli</i>	B(2)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Proteus mirabilis</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Providencia alcalifaciens</i>	B(5)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Pseudomonas putida</i>	B(2), B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Pseudomonas stutzeri</i>	B(2), B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Serratia marcescens</i>	B(4)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Staphylococcus aureus</i>	B(5)
<i>Pheidole megacephala</i>	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	B(4)
	ECoN + <i>Comomonas diversus</i>	B(5)
	ECoN + <i>Acinetobacter baumannii</i>	A(7)
	<i>Bacillus</i> spp.+ <i>Staphylococcus aureus</i>	A(7)

Tabela 4 Análise de similaridade entre as bactérias isoladas das formigas e do ambiente onde foram realizadas as coletas nos Hospitais de Itabuna (Hospital A [HA]) e Ilhéus (Hospital B [HB]), Bahia, Brasil. 2002-2003.  $Z_{total}$ : Índice de similaridade entre todas as bactérias isoladas;  $Z_{oportu}$ : Índice de similaridade entre as bactérias patogênicas oportunistas isoladas das formigas e do ambiente.

Local da coleta	$Z_{total}$	$Z_{oportu}$
Hospital A		
Ambulatório da Quimioterapia	0,66	0,50
Laboratório de Análises Clínicas	0,25	0,0
Refeitório do Pronto Socorro	1,0	1,0
Setor de Hemodiálise (Sala de Enfermagem)	0,50	0,50
Sala de Endoscopia	0,50	0,0
Chão dos Apartamentos	0,33	0,0
Setor dos Leitos (102 e 201)	0,20	0,0
Almojarifado	0,25	0,0
Hospital B		
Enfermaria de Oncologia	0,28	0,16
Posto de Enfermagem (mesa de distribuição de medicamentos)	0,20	0,11
UTI	0,60	0,50
Enfermaria Masculina	0,16	0,09
Ambulatório da Quimioterapia	0,11	0,0
Ambulatório	0,50	0,40

as bactérias patogênicas oportunistas isoladas das formigas e do ambiente, os maiores valores foram observados no Ambulatório de Quimioterapia, no Setor de Hemodiálise (Sala de enfermagem) e na UTI (Tabela 4).

A variação no número de espécies de bactérias e no número de cepas bacterianas encontradas em função do esforço de amostragem estão respectivamente ilustradas nas Figs 1 e 2. No Hospital A, a amostragem da diversidade de bactérias está próxima da exaustividade (oito espécies amostradas para 12 calculadas através do estimador Jackknife 2), enquanto o Hospital B é muito mais heterogêneo do ponto vista dessa diversidade, sendo os ambientes desse hospital muito mais contaminados (Fig 1) (21 espécies amostradas para uma estimativa de 40,6 espécies através de Jackknife 2). Os valores de bactérias patogênicas identificadas e estimadas ocorrendo nos dois hospitais se aproximam desses valores (respectivamente, sete e 10,9 para o Hospital A, e 20 e 30,9 para o Hospital B) enquanto o número de cepas bacterianas identificadas e estimadas fica sensivelmente acima desses valores (respectivamente, 21 e 62,2 para o Hospital A, e 36 e 100,3 para o Hospital B).

## Discussão

A diversidade de formigas nos hospitais brasileiros é sempre alta, podendo variar de quatro (Moreira *et al* 2005) a 23 espécies (Delabie *et al* 2002). As espécies coletadas no presente estudo foram as mesmas relatadas como predominantes em hospitais de Ilhéus e Itabuna (Delabie *et al* 2002); porém, a mirmecofauna ativa durante a noite não foi amostrada.

O problema da ocorrência de formigas em ambientes hospitalares parece não ter atraído a atenção das autoridades sanitárias brasileiras até o momento. As evidências

disponíveis (Bueno & Campos-Farinha 1999, Peçanha 2000, Cintra *et al* 2004) e as razões dessa afirmação são que: 1) há uma diversidade impressionante de formigas nos hospitais brasileiros; 2) algumas dessas espécies são extremamente abundantes nesse tipo de ambiente; 3) algumas espécies teriam certa “afinidade” por instrumentos cirúrgicos e material estéril (Eicheler 1990); e 4) as mesmas são vetores potencialmente de uma grande quantidade de microrganismos oportunistas e/ou patogênicos ao ser humano, assim como apontado neste trabalho. O mesmo tem sido observado em outras localidades, chegando a 98,4% de formigas contaminadas (Peçanha 2000, Pereira & Ueno 2008). A probabilidade de um único indivíduo de formiga ser portador de microrganismo oportunista e/ou patogênico é provavelmente bastante baixa; no entanto, os índices encontrados no presente estudo (Tabelas 1, 2 e 3) mostram que a frequência de ocorrência de formigas nos hospitais multiplica essa probabilidade, corroborando os resultados apresentados por outros autores (Fowler *et al* 1993, 1995, Peçanha 2000, Moreira *et al* 2005, Pereira & Ueno 2008). O tipo de atividade desenvolvida por esses insetos e a frequência com que são encontrados dentro dos hospitais, fazem das formigas excelentes candidatos a vetores patogênicos intra-hospitalares, uma vez que até 30% da população adulta de uma colônia pode simultaneamente exercer atividades externas ao ninho, percorrendo longas distâncias, indo e voltando à colônia. É a primeira vez que estão sendo relatadas ocorrências de dois isolados da mesma cepa bacteriana amostrados de operárias da mesma espécie (sendo uma vez em locais diferentes do mesmo hospital). Apesar de merecer estudos mais aprofundados, esse resultado corrobora a suspeita que determinadas bactérias colonizam e se multiplicam no corpo de formigas vetor ou dos congêneres no próprio formigueiro, promovendo sua dispersão.

Traços anatômicos peculiares do exoesqueleto das formigas, como por exemplo: a ocorrência ou não de

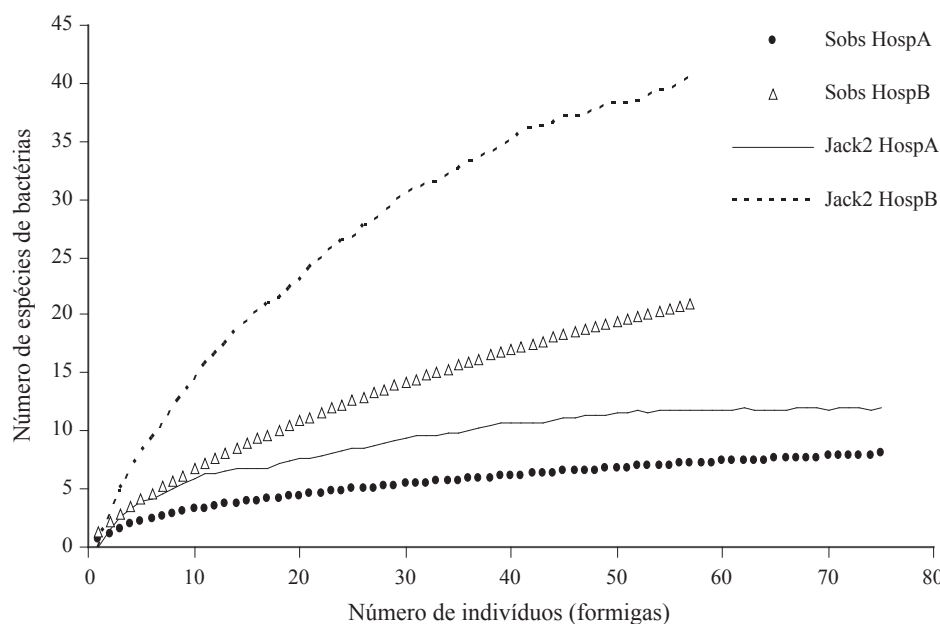


Fig 1 Diversidade de bactérias observadas e estimadas em função do esforço de amostragem. Sobs: número de observações, Jack2: estimador Jackknife 2. Formicidae coletados em hospitais de Itabuna e Ilhéus (HospA e HospB), 2002-2003.

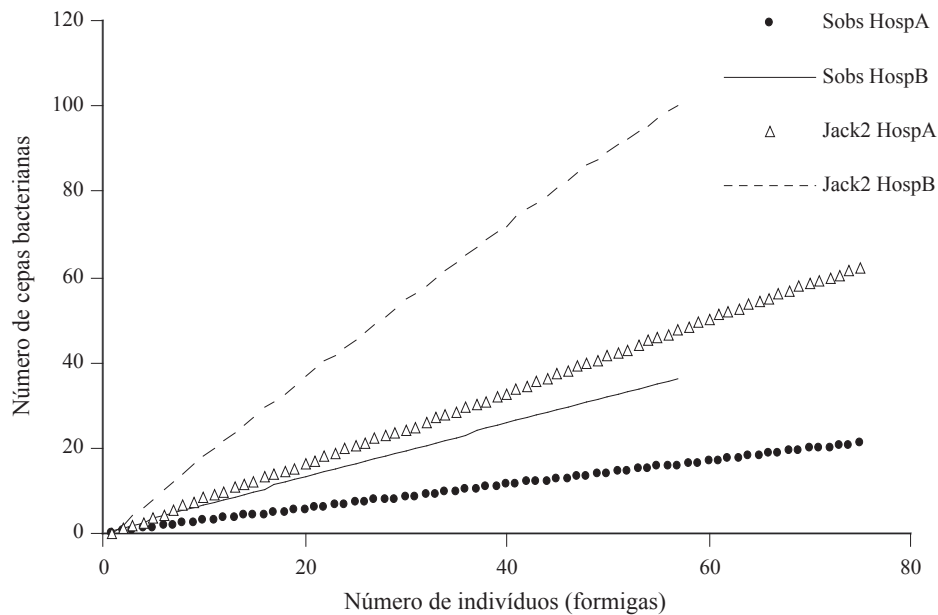


Fig 2 Variação do número de cepas bacterianas carregadas por formigas, observadas e estimadas em função do esforço de amostragem. Sobs: número de observações, Jack2: estimador Jackknife 2. Formicidae coletados em hospitais de Itabuna e Ilhéus (HospA e HospB), 2002-2003.

pelos no corpo, seu comprimento, a escultura da cutícula, o número, a qualidade e a distribuição das glândulas exócrinas, entre outros, poderiam explicar a adesão e a sobrevivência dos microrganismos em seu corpo. Outro fator a ser considerado seria a duração média da vida de uma operária, principalmente quando está forrageando, isto é, quando está em atividade fora da colônia. Fica difícil concluir no momento, mas é importante esclarecer que, para uma bactéria iniciar um ciclo de contaminação, ela necessita de dois elementos fundamentais: 1) aderir à superfície (pelos e esculturas contribuem, por exemplo, para aumentar a superfície do corpo); 2) encontrar condições adequadas para se multiplicar e colonizar, ou seja: nutrientes, umidade, temperatura, etc. A não ser a literatura relacionando a atividade antibiótica dos produtos da glândula metapleurar nos Formicidae (Hölldobler & Wilson 1990), não existem estudos relacionando a complexidade da morfologia externa das formigas com o índice de contaminação apresentado por elas, e não há estudos que permitem inferir sobre a localização da parte do exoesqueleto desses insetos onde as bactérias ou as colônias de bactérias encontram condições de aderirem ou se desenvolverem. Assim, inexistem resultados conclusivos que permitam explicar a maior diversidade de bactérias associadas a *Pheidole megacephala* e *Paratrechina longicornis* encontrada neste estudo.

Entre as 24 espécies de bactérias isoladas das formigas coletadas nos hospitais, os principais grupos de bactérias patogênicas foram os cocos Gram-positivos e os bacilos Gram-negativos. Por exemplo, os ECoN são bactérias que colonizam a pele, fossas nasais e orofaringe dos humanos, sendo consideradas bactérias oportunistas de grande importância dentro de hospitais, principalmente pela sua capacidade de colonizar cateteres e sondas (Deighton & Beverley 1990, Stratton 2000, Arciola *et al* 2001).

*Staphylococcus aureus* pode ser encontrado como parte da flora normal ou transitória do homem, sendo considerado um dos principais patógenos relacionados com infecções nosocomiais (Jensen *et al* 1999, Almeida *et al* 2007).

Os bacilos Gram-negativos (família Enterobacteriaceae) são também conhecidos como bacilos entéricos. Fazem parte da flora humana normal, assim como da de diversos animais, e são patógenos oportunistas de importância dentro e fora de hospitais, responsáveis por inúmeras doenças (Rodrigues 1997, Wiener *et al* 1999). Septicemias nosocomiais provocadas por esses microrganismos ocorrem frequentemente em pacientes entubados e submetidos a aspiração (Branger *et al* 1998). Entre os bacilos Gram-negativos não fermentadores isolados, *P. aeruginosa* é, de longe, o patógeno mais comum desse grupo de microrganismos (Debois *et al* 1975), comumente encontrado no ambiente, principalmente em lugares úmidos, assim como as outras espécies descritas anteriormente. As demais espécies desse grupo vêm recebendo especial atenção dos microbiologistas clínicos devido ao grande número de infecções hospitalares e alto grau de resistência aos antibióticos, atribuído às mesmas (Debois *et al* 1975, Bouvet & Grimont 1987, Rossello *et al* 1991, Melamed *et al* 2003).

Não se tem conhecimento de estudos detalhados sobre a flora microbiana de formigas. Contudo, acredita-se que a flora microbiana coloniza normalmente a superfície de seu corpo, assim como de muitos animais. Em seres humanos, os microrganismos que fazem parte da flora normal podem ser transitórios, mudando conforme o ambiente em que vivem. Nos insetos, é provável que haja uma flora característica normal, assim como uma flora transitória, que se modificam em função do ambiente onde o organismo vive. Como as formigas urbanas estão compartilhando o mesmo ambiente que os seres humanos,

sua microbiota natural pode ter sido alterada por pressão seletiva, ocasionada pelos microrganismos associados aos humanos (por exemplo: *S. aureus*, ECoN, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., bacilos entéricos), assim como, pelos microrganismos presentes no ambiente (ex.: *Bacillus* ssp. e bacilos não-fermentadores).

Qualquer que seja o hospital considerado, a diversidade de cepas bacterianas foi tão grande que sua quantificação (tanto a observada quanto a estimada) surgiu praticamente como uma simples correlação linear do esforço amostral. As estimativas apresentadas foram bem aquém da realidade, e os valores apresentados, no caso das cepas bacterianas, devem ser entendidos como uma estimativa muito baixa do potencial de contaminação real. Esses resultados apontam também para a grande diferença que existe na biota de microrganismos dos hospitais A e B.

É difícil dizer se parte dos microrganismos isolados é passível de prejudicar formigas ou seres humanos sadios. Contudo, uma vez que uma flora microbiana, rica em microrganismos oportunistas e/ou patogênicos, está ocorrendo junto a esses insetos dentro de hospitais, é certo que as formigas podem disseminar rapidamente essa microbiota por todo o ambiente hospitalar (Fowler et al 1995, Delabie et al 2002, Moreira et al 2005). Essas bactérias, a priori inofensivas para a pessoa sadia, podem causar infecções graves em pacientes internados, uma vez que os mesmos possuem o sistema imunológico frequentemente debilitado. O problema se agrava quando os microrganismos são multi-resistentes aos antibióticos, como foi o caso de muitas das cepas bacterianas identificadas neste estudo. Cepas de estafilococos resistentes a clindamicina e eritromicina isoladas das formigas apresentaram, em placa, o fenômeno de resistência induzida a clindamicina (forma D+).

A observação da contaminação bacteriana por formigas nos dois hospitais mostrou ser possível a comparação entre ambientes hospitalares distintos, de regiões diferentes, com trajetória ou finalidade não obrigatoriamente similar. As diferenças apontadas entre hospitais devem motivar maior empenho por parte dos responsáveis institucionais na busca de soluções para diminuir o problema de organismos disseminadores exógenos (como é o caso das formigas), assim como da biota multi-resistente nas instituições que dirigem. O interesse maior das instituições de saúde pública é o de procurar o bem-estar de pacientes, o qual pode ser alcançado, parcialmente, pela diminuição das doenças nosocomiais.

Além do problema das bactérias multi-resistentes já evocado, o controle de formigas no ambiente hospitalar no Brasil é também uma tarefa difícil. No entanto, esforços estão sendo feitos (Bueno & Fowler 1994, Bueno & Bueno 2007). Apesar de muitos avanços terem sido alcançados nos últimos anos para o controle de formigas urbanas em geral, o conhecimento de sua biologia em ambientes não naturais ainda é insuficiente, principalmente quando são focalizadas as interações entre a espécie humana, a microbiota e a mirmecofauna. Novos estudos terão que ser realizados visando melhorar o conhecimento sobre a flora microbiana das formigas, assim sobre o comportamento dos microrganismos dentro dos ambientes colonizados e seus vetores.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a: UESC/PROPP (002201100228), projetos CNPq e PRONEX-CNPq/FAPESB (158-03). JHCD é bolsista de produtividade do CNPq.

## Referências

- Almeida M Y, Bedendo J, Cavasin E D, Tognim M C B (2007) Prevalência e perfil de sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de casos clínicos de infecções hospitalares. Rev Elet Enf 9: 489-495.
- Arciola C R, Baldassarri L, Montanaro L (2001) Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of Staphylococcal strains from catheter-associated infections. J Clin Microbiol 39: 2151-2156.
- Bauer A W, Kerby W M M, Sherris J C, Turck M (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Pathol 45: 493-496.
- Beatson S H (1972) Pharaoh's ants as pathogens vectors in hospitals. Lancet 1: 425-427.
- Bert F, Maubec E, Bruneau B, Berry P, Lambert-Zechovsky N (1998) Multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with contaminated tap water in a neurosurgery intensive care unit. J Hosp Infect 39: 53-62.
- Bouvet P J M, Grimont P A D (1987) Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. Ann Inst Pasteur/Microbiol 138: 569-578.
- Branger C, Lesimple A L, Bruneau B, Berry P, Lambert-Zechovsky N (1998) Long-term investigation of the clonal dissemination *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase in a university hospital. J Med Microbiol 47: 201-209.
- Bueno O C, Bueno F C (2007) Controle de formigas em áreas urbanas, p.67-77. In Pinto A S, Rossi M M, Salmeron E (orgs) Manejo de pragas urbanas. São Paulo, **Editora, n. total pags.**
- Bueno O C, Campos-Farinha A E C (1999) As formigas domésticas, p.135-180. In Mariconi F A M, (coord) Insetos e outros invasores de residências. Piracicaba, FEALQ, **n. total pags.**
- Bueno O C, Fowler H G (1994) Exotic ants and native ant fauna of Brazilian hospitals p.191-197. In Williams D F (org) Exotic ants: biology impact and control of introduced species. Boulder-Colorado, Westview Press, **n. total pags.**
- Cintra P, Bueno F C, Montelli A C, Sadatsune T, Bueno O C (2004) Monitoramento multipontual e controle da infestação de formigas no Hospital das Clínicas da FMB-UNESP. Infectologia 168: 28-34.
- Colwell R K (1997) EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 7.5.2 User's guide and applications published. (<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>). Consultado em maio de 2008.
- Daniel M, Srámová H, Zálabsbá E (1994) *Lucilia sericata* (Diptera:



- Calliphoridae) causing hospital-acquired myiasis of a traumatic wound. *J Hosp Infect* 28: 149-152.
- Debois J, Degreef H, Vandepitte J, Spaepen J (1975) *Pseudomonas putrefaciens* as a cause of infection in humans. *J Clin Path* 28: 993-996.
- Deighton M A, Beverley B (1990) Adherence measured by microtiter assay as a virulence marker for *Staphylococcus epidermidis* infections. *J Clin Microbiol* 28: 2442-2447.
- Delabie J H C (1993) Formigas exóticas na Bahia. **Bahia, Análise e Dados (abreviar)** 3: 19-22.
- Delabie J H, Fontana R, Brito T A, Ferreira S L (2002) Infecção hospitalar e formigas no Brasil: o caso de um hospital do Sudeste da Bahia. *Biológico* 64: 41-42.
- Delabie J H C, Nascimento I C, Pacheco P, Casimiro A C (1995) Community structure of house-infesting ants (Hymenoptera: Formicidae) in southern Bahia, Brazil. *Fla Entomol* 78: 264-270.
- Eicheler W (1978) Die Verbreitung der Pharaoameise in Europa. *Memor Zool* 31-40.
- Eicheler W (1990) Health aspects and control of *Monomorium pharaonis*, p.671-675. In Vander Meer R K, Jaffe K, Cedeño A (eds) *Applied myrmecology: a world perspective*. Boulder (Co), Westview Press, **n. total pags.**
- Fontana R, Delabie J H, Brito T A, Ferreira S L (2001) Infecção hospitalar e formigas no Brasil, com um exemplo de propagação bacteriana por formigas num hospital do Sudeste da Bahia. *Anais do XV Encontro de Mirmecologia, IAPAR, Londrina*, p.117-121.
- Fotadar R, Banerjee U, Verma A K (1991) Cockroaches (*Blattella germanica*) as carrier of microorganisms of medical importance in hospital. *Epidemiol Infect* 107: 181-187.
- Fowler H G, Anaruma Filho F, Bueno O C (1995) Formigas em hospitais. *Ciênc Hoje* 19: 12-13.
- Fowler H G, Bueno O C, Sadatsune T, Montelli A C (1993) Ants as potential vectors of pathogens in Brazil hospitals in the State of São Paulo, Brazil. *Insect Sci Appl* 14: 367-370.
- Hölldobler B, Wilson E O (1990) *The ants*. Cambridge, Harvard University Press, 732p.
- Ipinza-Regala J, Figueroa J G, Osório J (1981) *Iridomyrmex humilis*, "formiga argentina", como vector de infecciones intrahospitalar. I-Estudio bacteriológico. *Folia Entomol Mex* 50: 81-96.
- Jensen A G, Wachmann C G, Povisen K B, Espersen F, Scheibel J, Skinhoj P, Moller N F (1999) Risk factors for hospital-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Arch Intern Med* 159: 1437-1444.
- Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn W C (2001) *Diagnóstico microbiológico*. 5ª edição, São Paulo, Medsi Ed. Méica e Científica Ltda, 420p.
- Melamed R, Greenberg D, Porat N, Karplus M, Zmora E, Golant A, Yagupsky P, Dagan R (2003) Successful control of an *Acinetobacter baumannii* out break in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 53: 31-38.
- Moreira D D O, Morais V, Vieira-da-Mota O, Campos-Farinha A E C, Tonhasca Jr A (2005) Ants as carriers of antibiotic-resistant bacteria in hospitals. *Neotrop Entomol* 34: 999-1006.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000) *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests*. Seventh edition. NCCLS document M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
- Peçanha M P (2000) *Formigas como vetor de propagação bacteriana no conjunto hospitalar de Sorocaba-SP*. Tese de doutorado, Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro, 110p.
- Pereira R S, Ueno M (2008) Formigas como veiculadoras de microrganismos em ambiente hospitalar. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 492-495.
- Rodvalho C M, Santos A L, Marcolino M T, Bonetti A M, Brandeburgo M A M (2007) Urban ants and transportation of nosocomial bacteria. *Neotrop Entomol* 36: 454-458.
- Rodrigues E A C (1997) Histórico das infecções hospitalares, p.3-27. In Rodrigues E A C, Mendonça J S, Amarante J M B, Alves Filho M B, Grinbaum R S, Richtmann R. *Infecções hospitalares: prevenção e controle*, São Paulo, Ed. Sarvier, 220p.
- Rossello R, Garcia-Valdes E, Lalucat J, Ursing J (1991) Genotypic and phenotypic diversity of *Pseudomonas stutzeri*. *System Appl Microbiol* 14: 150-157.
- Schreckenberger P C, Ilendo E, Ristow K L (2004) Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative Staphylococci in a community and a tertiary care hospital. *J Clin Microbiol* 42: 2777-2779.
- Silva C H P M (1999) *Bacteriologia: um texto ilustrado*. Teresópolis, Eventos, 531p.
- Stratton C W (2000) Nuances in antimicrobial susceptibility testing for resistant Gram-positive organisms. *Antimicrob Infect Dis Newsl* 18: 57-64.
- Wiener J, Quinn J P, Bradford P A, Goering R V, Nathan C, Bush K, Weinstein R A (1999) Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a nursing homes. *JAMA* 281: 517-565.

Received 12/IX/08. Accepted 14/IV/10.