

Análise da atividade antimicrobiana do extrato da glândula metapleural de *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775) (FORMICIDAE: PARAPONERINAE)

Analysis of the antimicrobial activity of the extract of the metapleural gland of *Paraponera clavata* (FABRICIUS,1775) (FORMICIDAE:PARAPONERINAE)

Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto de la glándula metapleural de *Paraponera clavata* (FABRICIUS, 1775) (FORMICIDAE: PARAPONERINAE)

Recebido: 18/11/2021 | Revisado: 29/11/2021 | Aceito: 08/12/2021 | Publicado: 17/12/2021

Letícia da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1514-255X>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: lsleticiasilva@hotmail.com

Luciana Rocha Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6264-7876>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: lucianapaula_99@hotmail.com

Kellyane Karen Ferreira Aguiar Cesar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4635-2410>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: kellyanekaren@outlook.com

Emyle Vitória Oliveira de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6511-8577>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: vitoriaosousa@gmail.com

Francisléia Falcão França Santos Siqueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7021-3640>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: leiafalcao7@gmail.com

Irani dos Prazeres Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8385-8605>
Universidade Estadual do Maranhão
E-mail: hirani-@hotmail.com

Daniel Limeira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9377-9516>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: limeira84@hotmail.com

Ana Suely Rocha Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9021-3776>
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Brasil
E-mail: suelypaula_10@hotmail.com

Slanna Larissa Olimpio Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9644-3767>
Instituto Federal do Piauí, Brasil
E-mail: slanna12larissa@gmail.com

Amy Karoline Rodrigues Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9482-6679>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: karol_rodrigues.b@hotmail.com

Wenderson Costa da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6031-9775>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: wendersoncosta09@hotmail.com

Lázaro Renato dos Santos Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8607-0007>
Instituto Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: lazaro_11511@hotmail.com

Luiza Carla Barbosa Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0173-413X>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: luzamartinsuema@hotmail.com

Vinícius Albano Araújo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9387-7378>

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

E-mail: vialbano@gmail.com

Francisco Laurindo da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6837-4509>

Universidade Estadual do Maranhão, Brasil

E-mail: flspb@yahoo.com.br

Resumo

A resistência de micro-organismos patogênicos aos medicamentos convencionais constitui um sério problema de Saúde Pública. A problemática da resistência tem gerado a necessidade do conhecimento de substâncias bioativas que possam atuar como alternativas no tratamento de infecções provocadas por fungos e bactérias. O efeito antimicrobiano da secreção da glândula metapleuraral já foi demonstrado em algumas espécies de formigas. O presente estudo teve como objetivo analisar o efeito antimicrobiano do extrato da glândula metapleuraral da formiga *Paraponera clavata* frente as cepas ATCC de bactérias patogênicas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e do fungo *Candida albicans*. Realizou-se a coleta de operárias de formigas, sendo estas mantidas em ninhos artificiais. As glândulas metapleurarais foram extraídas e maceradas em hexano, seguido das etapas de evaporação do solvente. Os testes de suscetibilidade foram realizadas pela metodologia da difusão em ágar com a formação de poços, sendo formados poços na segunda camada e adicionados 40µl da amostra do extrato da glândula metapleuraral. Diferentes concentrações do extrato metapleuraral foram testadas frente aos micro-organismos. Verificou-se que o extrato da glândula metapleuraral de *P. clavata* não inibiu as bactérias e o fungo utilizados na pesquisa. Contudo, destaca-se a importância da realização de testes com outros micro-organismos, tendo em vista que o potencial da glândula metapleuraral de outras espécies de formigas ter sido comprovado em estudos anteriores e da relevância da descoberta de compostos bioativos alternativos.

Palavras-chave: Glândula metapleuraral; Micro-organismos; Suscetibilidade.

Abstract

The resistance of pathogenic microorganisms to conventional drugs constitutes a serious Public Health problem. The problem of resistance has generated the need for knowledge of bioactive substances that can act as alternatives in the treatment of infections caused by fungi and bacteria. The antimicrobial effect of metapleuraral gland secretion has already been demonstrated in some species of ants. Therefore, the present study aimed to verify the antimicrobial effect of the extract of the metapleuraral gland of the ant *Paraponera clavata* against ATCC strains of pathogenic bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and the fungus *Candida albicans*. of ants, which are kept in artificial nests. The metapleuraral glands were extracted and macerated in hexane, followed by solvent evaporation steps. Susceptibility tests were performed using the agar diffusion methodology in wells, with wells being formed in the second layer and 40µl of the metapleuraral gland extract sample were added. Different concentrations of the metapleuraral extract were tested against microorganisms. It was found that the extract from the metapleuraral gland of *P. clavata* did not inhibit the bacteria and fungus used in the research. However, the importance of carrying out tests with other microorganisms is highlighted, considering that the potential of the metapleuraral gland of other ant species has been proven in previous studies and the relevance of the discovery of alternative bioactive compounds.

Keywords: Metapleuraral gland; Microorganisms; Susceptibility.

Resumen

La resistencia de los microorganismos patógenos a los fármacos convencionales constituye un grave problema de Salud Pública. El problema de las resistencias ha generado la necesidad de conocer sustancias bioactivas que puedan actuar como alternativas en el tratamiento de infecciones causadas por hongos y bacterias. El efecto antimicrobiano de la secreción de la glândula metapleuraral ya se ha demostrado en algunas especies de hormigas. Por tanto, el presente estudio tuvo como objetivo verificar el efecto antimicrobiano del extracto de la glândula metapleuraral de la hormiga *Paraponera clavata* contra cepas ATCC de bacterias patógenas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y el hongo *Candida albicans*. De hormigas, que se mantienen en nidos artificiales. Las glândulas metapleurarales se extrajeron y maceraron en hexano, seguido de etapas de evaporación del disolvente. Se realizaron pruebas de susceptibilidad mediante la metodología de difusión en agar en pozos, formándose pozos en la segunda capa y se adicionaron 40 µl de la muestra de extracto de glândula metapleuraral, se ensayaron diferentes concentraciones del extracto metapleuraral frente a microorganismos. Se encontró que el extracto de la glândula metapleuraral de *P. clavata* no inhibió las bacterias y hongos utilizados en la investigación. Sin embargo, se destaca la importancia de realizar ensayos con otros microorganismos, considerando que el potencial de la glândula metapleuraral de otras especies de hormigas ha sido probado en estudios previos y la relevancia del descubrimiento de compuestos bioactivos alternativos.

Palabras clave: Glândula metapleuraral; Microorganismos; Suscetibilidad.

1. Introdução

O crescente desenvolvimento de resistência de micro-organismos aos antibióticos convencionais tem trazido uma grande preocupação de saúde pública. A presença da resistência de micro-organismos, principalmente entre patógenos clinicamente perigosos, tem levado a um aumento na necessidade de novos fármacos e novas classes de antibióticos, tanto para infecções adquiridas em hospitais quanto na comunidade (Silva & Aquino, 2018)

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno existente desde que o homem fez uso de antibióticos, sendo que em paralelo ao desenvolvimento dos medicamentos, as bactérias desenvolviam defesas contra tais substâncias (Rang et al., 2001).

A resistência bacteriana é considerada um fenômeno natural que ocorre através do contato dos micro-organismos com os antibióticos, onde pode ser verificada que a rápida evolução dessa resistência acontece na proporção da utilização dos medicamentos. Um processo de seleção e de adaptação acelerou o desenvolvimento de resistência microbiana aos principais antibióticos, que são transmitidas vertical e horizontalmente (Santana et al., 2016).

Infecções causadas pelas bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* são particularmente problemáticas devido à resistência intrínseca que elas desenvolvem para múltiplas classes de antibióticos e sua habilidade em adquirir resistência adaptável durante um curso terapêutico (Kollef, 2005).

As infecções provocadas por fungos também ocupam destaque no contexto da saúde pública. Os fungos do gênero *Candida* são colonizadores da microbiota normal do corpo humano, porém, podem provocar danos elevados no contexto infeccioso. As manifestações clínicas oriundas de infecções causadas por fungos do gênero *Candida* incluem infecções de pele e mucosas, ou mesmo infecções sistêmicas, caracterizada pela disseminação da levedura pelo organismo. (Deorukhkar & Roushani, 2018 Nakamura, et al., 2013).

Grande parte das infecções fúngicas apresentam tratamentos com drogas sintéticas, no entanto, estudos epidemiológicos demonstram a tendência dessas leveduras a adquirirem resistência a antifúngicos normalmente utilizados para o tratamento da infecção (Canuto & Rodero, 2002).

De acordo com Padilha et al. (2010) devido à essa resistência, é de fundamental importância a pesquisa por novos agentes antimicrobianos para suprir a necessidade do desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes. Nessa perspectiva, tem ocorrido um crescente interesse em avaliar a atividade antimicrobiana da secreção da glândula metapleural de formigas, sendo que tal estrutura pode apresentar uma atividade de controle de micro-organismos.

A glândula metapleural é considerada exclusiva para Formicidae, por esse fato, são consideradas uma das principais sinapomorfias da família (Hölldobler & Wilson, 1990). Os produtos dessa glândula têm características ácidas, expresso como porções de ácido carboxílico ou fenol (Yek & Mueller 2011; Vander Meer 2012). Cada glândula consiste de um grupo de células que secretam seu produto dentro de uma câmara coletora, seguindo diretamente para o reservatório (Bacarro et al 2015; Hölldobler & Wilson, 1990).

O potencial da glândula metapleural de diferentes espécies de formigas já foi testado para o controle de espécies de fungos e bactérias (Guarda & Lutinski, 2020). Em *Acromyrmex octospinosus*, Bot et al (2002) verificaram variações no padrão de sensibilidade dos fungos *Metarhizium anisopilae* e *Beauveria bassiana*. Alguns antibióticos produzidos por *Atta sexdens* foram descritos para esta glândula, como ácido fenilacético (Maschwutz et al., 1970) e indolacético (Schildknecht & Koob, 1971).

Guarda e Lutinski (2020) destacam a necessidade do conhecimento da atividade antimicrobiana da maioria das secreções glandulares de formigas, bem como para a maioria dos táxons. O presente artigo busca verificar a atividade antimicrobiana da glândula metapleural da formiga *Paraponera clavata* sob os micro-organismos patogênicos *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Estafilococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*, que apresentam importância clínica, em função aos processos de resistência aos antimicrobianos.

2. Metodologia

O estudo trata-se de uma pesquisa experimental, pois apresenta condições de realização das análises controladas e possui valores numéricos que complementam os dados qualitativos obtidos (Schneider, 2017; Pereira, et al., 2018).

2.1 Coleta do material biológico

Operárias de *P. clavata* foram coletadas na Área de Proteção Ambiental Inhamum (APA), localizada entre as coordenadas 04° 53' 30" de latitude S e 43 24' 53" de longitude W, à margem esquerda da BR 136, pertence à região Leste Maranhense.

Os espécimes foram coletados e transferidos para o Laboratório de Mirmecologia/LAMIR, do Centro de Estudos Superiores de Caxias/CESC da Universidade Estadual do Maranhão/UEMA.

Ninhos artificiais foram confeccionados a partir de caixas plásticas, contendo substrato dos ninhos originais. Os ninhos foram mantidos em temperatura ($27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luminosidade controlada, sendo que a dieta alimentar foi baseada em mel, sardinha e outros carboidratos.

2.2 Obtenção dos extratos

Operárias de *P. clavata* foram crioanestesiadas, dissecadas e as glândulas metapleurais extraídas. Os extratos foram obtidos através da maceração das glândulas em hexano (100 pares de glândulas - 1 ml de hexano), logo após, o material foi filtrado e posto em evaporador rotativo a 40°C para retirada de todo o solvente. Em seguida, foi realizada a aplicação dos extratos preparados nas placas previamente prontas seguindo metodologia proposta por Hoenigsberger et al. (2020).

2.3 Amostras dos micro-organismos

Para a realização da pesquisa foram utilizadas cepas ATCC (American Type Culture Collection) adquiridas comercialmente, sendo elas *Candida albicans* (ATCC 76485), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1705, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 7853. As amostras do fungo foram reativadas e cultivadas em Ágar Saboraud Dextrose, e as amostras de bactérias reativadas e cultivadas em Ágar Tryptic Soy. Tais procedimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Imunologia das Doenças Infecciosas (LAMIDI) do CESC UEMA, onde foram realizados os testes de susceptibilidade aos extratos vegetais.

2.4 Preparo dos meios de cultura

As placas para os testes de suscetibilidade foram constituídas de duas camadas, sendo a primeira camada formada por ágar-ágar, e a segunda camada composta de Ágar Muller-Hinton. Para a formação da primeira camada, foi utilizado 10,6 gramas do ágar diluído em 300 ml de água destilada, dissolução recomendada pelo fabricante. Logo após, a mistura foi agitada e levada ao bico de Bunsen para a dissolução total. Alíquotas de 15 ml foram adicionadas a tubos de ensaio e levadas a autoclave à temperatura de 120°C pelo período de 15 minutos. Após a esterilização, o meio foi entornado nas placas devidamente esterilizadas, sendo posto em repouso para solidificação. Na segunda camada, composta de ágar Muller-Hinton, 3,6 g de soluto foi diluído em 300 ml de água destilada. Alíquotas de 13 ml desse meio foram postas em tubos de ensaio e esterilizadas na autoclave à temperatura de 120°C por 15 minutos.

2.5 Preparo e inoculação de cepas

Por meio de uma alça de platina esterilizada foi realizada a inoculação dos micro-organismos recentemente repicados em tubos de ensaio com 1 ml de solução fisiológica a 0,9%, a turbidez da inoculação foi obtida com base na escala 0,5 de Mac Farland (MF).

2.6 Preparação das placas para a realização dos testes

Para a preparação das placas para a realização do teste com extratos brutos, 1 ml da suspensão microbiana foi adicionada aos 13 ml de ágar Muller-Hinton, mantido à temperatura de 45 °C no banho-maria. A segunda parte foi entornada sobre a primeira e poços foram confeccionados na segunda camada, mediante a utilização de ponteiras plásticas esterilizadas de 4,0 mm de diâmetros.

2.7 Atividade antimicrobiana do extrato glandular pelo método de difusão em ágar

Os ensaios foram realizados em triplicatas com a utilização de cepas ATCC: *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. A determinação da atividade antifúngica do extrato glandular foi realizada pela técnica da difusão em ágar em poços, segundo Groove & Randall (1955).

Para as bactérias utilizadas na pesquisa, foi utilizado o antibiótico clorafenicol como controle positivo, para o fungo utilizado na pesquisa usou-se o antifúngico fluconazol como controle positivo, seguindo a padronização do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2019). Para o controle negativo, foi utilizado inóculo de solução fisiológica esterilizada. A concentração do fluconazol como padrão de controle foi de 64 µg/ml, sendo a concentração de clorafenicol de 30 µg/ml. (Höfling, et al.,2010) diluídos em DMSO.

Nos poços formados na segunda camada foram adicionados 40 µL dos extratos testados, seguindo metodologia semelhante à de Alves et al., (2008). As placas foram incubadas a temperatura de 36 °C em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) por um período de 48 h. Após período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, que ocorreu através da verificação da existência de halos de inibição microbiana, sendo medidos os halos dos controles positivo e negativo em milímetros, com auxílio de uma régua milimetrada, como o teste foi realizado em triplicata para cada espécie de micro-organismo.

2.8 Análises da atividade antimicrobiana sob as diferentes concentrações do extrato glandular

A determinação da atividade antimicrobiana de extratos em diluição seriada foi realizada segundo a metodologia modificada conforme recomendada pelo CLSI, 2019 com as mesmas cepas da levedura e das bactérias utilizadas nos testes de difusão em ágar.

Foram realizados testes com diferentes concentrações do extrato da glândula metapleural. Sendo testado a susceptibilidade dos micro-organismos sob extratos formados por 15, 30, 60,90, 120 e 150 glândulas em placas formadas por ágar-ágar.

2.9 Análises Estatísticas

As análises foram realizadas por meio dos programas estatísticos Bioestat 5.3 e R 4.0.3 (Ayres, et al., 2007). Os dados serão obtidos em relação aos valores dos halos de inibição nos controles positivo e negativo em mensuração à presença ou ausência de halos inibição sob os micro-organismos utilizados.

3. Resultados e Discussão

Para a realização do estudo, foram utilizados extratos com diferentes concentrações de glândulas metapleurais e cepa ATCC das bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e da levedura *C. albicans*. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que não houve inibição dos micro-organismos patogênicos sob as diferentes concentrações do extrato glandular metapleural de *P.clavata*. A variação nos valores dos controles para as espécies de bactérias utilizadas no estudo pode estar relacionada à concentração do antibiótico associada ao mecanismo de resposta de cada espécie (Tabela 1).

Tabela 1. Valores dos halos de inibição do controle positivo para as bactérias (clorafenicol) e para fungos (fluconazol) frente às diferentes concentrações do extrato metapleural. Caxias-Ma, 2021.

| Espécies de micro-organismos | Controle | Controle | Concentrações de glândulas | | | | | |
|-------------------------------|------------|--------------|----------------------------|----|----|----|-----|-----|
| | Fluconazol | Clorafenicol | 15 | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 |
| <i>Candida albicans</i> | 12,00 mm | | - | - | - | - | - | - |
| <i>Escherchia coli</i> | | 18,00 mm | - | - | - | - | - | - |
| <i>Estafilococcus aureus</i> | | 15,00 mm | - | - | - | - | - | - |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | 20,00 mm | - | - | - | - | - | - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | 17,00 mm | - | - | - | - | - | - |

Fonte: Autores

Estudos desenvolvidos com formigas cortadeiras investigaram a natureza química da composição da secreção metapleural. As atividades antimicrobianas verificadas no referido estudo foram atribuídas à presença de ácido fenilacético, ácido indolacético e lactonas (Nascimento et al. 1996; Bot et al. 2002 .) Bot et al. (1996) confirmou que ácido fenilacético é o principal componente da glândula metapleural de formigas, ao passo que está ausente na formiga *Acromyrmex octospinosus*. A composição ácida da secreção metapleural está relacionada com a inibição de crescimento bacteriano, fato que pode ser explicado pelo aspecto de muitas espécies de bactérias serem inibidas em baixos níveis de pH.

A ação antibiótica da glândula metapleural tem sido destaca por diversos estudos. O estudo de Yek & Mueller (2011) sugerem que os produtos da glândula metapleural reduzem o pH no jardim de fungos, contribuindo assim para a inibição de micro-organismos patogênicos. Polsen et al. (2002) aponta para a existência de produtos com função antibiótica na secreção metapleural.

A natureza ácida da secreção metapleural foi verificada em diferentes espécies de formigas. A espécie *Atta sexdens* tem secreções com um pH de 2,5, *Myrmica laevinodis* e *M. rubra* possuem secreções da glândula metapleural com um pH de 3,0-3,5 (*Crematogaster scutellaris*, *C. inflata* , *C. difformis* com um pH de 3-4 (Maschwitz, 1974) e *Myrmecia gulosa* com um pH de 3,5 (Mackintosh et al ., 1995). No entanto, o referido estudo aponta para a existência de uma espécie de formiga que não possui secreção formada por ácidos, a formiga *Aenictus fergusonii*.

A variação no padrão de acidez de espécies de formigas, bem como a comprovação da existência de uma espécie que não possui secreção metapleural ácida, pode ser relacionada à não inibição dos micro-organismos utilizados na presente pesquisa, sendo que estudos relacionam a natureza ácida da composição metapleural aos resultados de susceptibilidade de fungos e bactérias.

Bot et al. (2002) verificaram a variação de resposta inibitória dos fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Escovopsis* frente ao tratamento com a secreção da glândula metapleural. No estudo de Mendonça et al. (2009), testes com a glândula metapleural de formigas do gênero *Atta* demonstraram diferenças no padrão de susceptibilidade das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e do fungo *Candida albicans*.

No estudo de Junqueira e Diehl. (2014), bioensaios foram realizados com o objetivo de testar a susceptibilidade do fungo *Beauveria bassiana* frente a secreção da glândula metapleural de formigas do gênero *Atta*, verificando assim que a secreção metapleural das formigas em estudo não apresentaram atividade fungicida sob a cepa do fungo. Tal resultado corrobora com os dados obtidos no presente estudo, visto que a glândula metapleural de *P. clavata* não ter apresentado inibição do fungo *C. albicans*.

Penick et al. (2018) testaram a ação antimicrobiana do extrato da glândula metapleural de 20 espécies de formigas sob a bactéria *Staphylococcus epidermidis*. Os testes foram realizados em cultura líquida, e como resultado pôde-se verificar que somente as espécies *Monomorium mínimo*, *Solenopsis invicta* e *Solenopsis molesta* demonstraram inibição frente ao micro-organismo testado. Neste sentido, cabe destacar que 40% das espécies utilizadas no estudo não apresentaram inibição sob a bactéria *S. epidermidis*, podendo assim estabelecer uma relação com os resultados obtidos diante da pesquisa realizada com a espécie *P. clavata*, visto esta não ter apresentado inibição diante dos testes realizados.

O estudo de Guarda e Lutinski (2020), realizou um levantamento sobre os métodos de extração das glândulas exócrinas de formigas, destacando uma variedade de solventes utilizados, tais como etanol, metanol, hexano e cloreto de sódio diclorometano. Os autores destacam a variação de resultados obtidos a partir da modificação do solvente em testes. A técnica de extração da glândula em solvente permite a obtenção de maiores quantidades de secreções, permitindo a extração de alcalóides e proteínas (Liu et al., 2017).

O presente estudo utilizou o solvente hexano na extração da glândula metapleural da espécie em pesquisa, os resultados de não inibição dos micro-organismos pode assim estar relacionado ao solvente utilizado nos testes, sendo necessária a verificação de novos testes com solventes diferenciados e que já tenham demonstrado eficiência na inibição de fungos e bactérias em associação com extratos glandulares.

Diante dos dados expostos na Tabela 1, o extrato glandular metapleural da espécie *P. clavata* não apresentou inibição dos micro-organismos utilizados nos testes. Tais resultados possuem relevância no campo científico, visto que possibilitou o conhecimento da atividade microbiana da glândula metapleural de uma espécie de formiga primitiva, que necessita de maiores investigações sob a química de sua secreção glandular metapleural. Guarda e & Lutinski (2020) apontam para a necessidade de estudos caracterização química da maioria das secreções glandulares de formigas, bem como para a maioria dos táxons, sendo que a grande maioria dos estudos apresentarem como foco linhagens de formigas com biologia especializadas.

4. Conclusão

De acordo com os dados encontrados neste estudo, até o presente momento, constatou-se que o extrato da glândula metapleural da formiga *P. clavata* não apresentou efeito antimicrobiano frente aos micro-organismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*. Diante do resultado, destaca-se a importância da realização de testes com outros micro-organismos, tendo em vista que o potencial da glândula metapleural de outras espécies de formigas ter sido comprovado em estudos anteriores e da relevância da descoberta de compostos bioativos alternativos.

Assim, sugere-se que o extrato da glândula metapleural de *P. clavata* seja testado em outras espécies de fungos e bactérias, bem como a utilização de solvente etanólico e metanólico nos novos testes.

Agradecimentos

À Universidade Estadual do Maranhão – CESC-UEMA.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão- FAPEMA

Ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia das Doenças Infecciosas – LAMIDI (CESC-UEMA).

Ao Laboratório de Mirmecologia – LAMIR (CESC-UEMA).

Aos discentes que colaboram nas coletas da pesquisa.

Referências

- Alves, E. G., Vinholis, A. H. C., Casemiro, L. A., Furtado, N. A. J. C., Silva, M. L. A., Cunha, W. R., & Martins, C. H. G. (2008). Estudo comparativo de técnicas de triagem para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de vegetais espécies e substâncias puras. *Química Nova*, 31 (5), 1224-1229. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000500052>
- Bacarro, F. B.; Feitosa, R. M.; Fernandez, F.; Fernandes, I. O.; Izzo, T. J.; Souza, J. L. P. & Solar, R. (2015). *Guia para os gêneros de formigas do Brasil*. Manaus: Editora INPA, 388p.
- Bot, A. N. M.; Obermayer, M. L.; Hölldobler, B.; Boomsma, J. J.(2002) Functional morphology of the metapleural gland in the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus*. *Insectes Sociaux*, v. 48, p. 63-66.
- Canuto, M. M., & Rodero, F. G. (2002). Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. *The Lancet infectious diseases*, 2(9), 550-563.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2019) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-first informational supplement. *NCCLS document M100-521*, 34(1)
- Colombo, A. L., & Guimarães, T. (2003). Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina*
- Deorukhkar, S. C., & Roushani, S. (2018). Identification of *Candida* species: conventional methods in the era of molecular diagnosis. *Ann Microbiol Farmacognosia*, 20(1), 45-47.
- Nascimento, Rrd, S Choeters, E., M Organ, Ed, B Illen, J., & Tradling, S (1996). Chemistry of metapleural gland secreções de três formigas attine, *Atta sexdens rubropilosa*, *Atta cephalotes* e *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Chem. Ecol.* 22: 987–1000.
- Grove, D. C., & Randall, W. A. (1955). *Assay methods of antibiotics: A laboratory manual*. (2a ed.). Medical Encyclopedia Inc.
- Guarda, C; Latinski, J. A. (2020) Glandular Secretions of Ants (Hymenoptera: Formicidae): A Review on Extraction, Chemical Characterization and Antibiotic Potential. *Sociobiology*.
- Höfling, J. F., Anibal, P. C., Obando-Pereda, G. A., Peixoto, I. A. T., Furletti, V. F., Foglio, M. A., & Gonçalves, R. B. (2010). Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*, 70(4), 1065-1068.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (1992) *The ants*. Cambridge: Belknap Press of Harvard Immunol, 1(1), 1002.
- Hoenigsberger, M. et al.(2020) Forte atividade antimicrobiana e baixa atividade inseticida do conteúdo mandibular do reservatório da glândula em "formigas explosivas" de Bornéu, *Colobopsis explodens*. Laciny & Zettel, 2018 (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. News* 30: 201-212.
- Junqueira, L. K.; Diehl, E.; (2014) The Metapleural Secretion of *Acromyrmex laticeps* (Forel) does not have Fungicide Effect on the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *EntomoBrasilis*, 3. 207-210.
- Kollef, M. H. (2001) Gram-negative bacterial resistance: evolving patterns and treatment. *Koogan*.
- Liu, H. W., Lu, Y. Y., Wang, W. K. & Chen, L. (2017). A imersão em solvente de corpo inteiro dá veneno representativo perfil de alcalóide de *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) operárias. *Florida Entomologist*, 100: 522-527. 10.1653 / 024.100.030
- Ackintosh, M, Já; Rimple, T., Je, J Ones ; Mk, K Aruso , Ph, B Eattie , Aj & V Eal , Da. (1995): Antimicrobial mode of acção de secreções da glândula metapleural de *Myrmecia gulosa* (formiga touro australiana). - Canadian Journal of Microbiology 41: 136-144.
- Maschwitz, U.; Koob, K.; Schildknecht, H. (1970) Ein Beitrag zur Funktion der Metathoracaldrüse der Ameisen. *Journal of Insect Physiology*, 16, 387–404.
- Mendonça, A. L.; Silva, C. E.; Mesquita, E. L. T.; Campos, R. S.; Do Nascimento, R. R.; Ximenes, E. P. A.; (2009) Atividades antimicrobianas de componentes da glândula metapleural de formigas cortadeiras do gênero *Atta*. *Antonie van Leeuwenhoek* (2009) 95: 295–303 10.1007 / s10482-009-9312-0.
- Nakamura, H. M., Caldeira, S. M., Avila, M. A. G. (2013) Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. *Rev Northeast Brazil against clinical isolates of Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Entomologia*.
- Padilha, I. Q. M. et al. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. From paradigms. *Clin. Infect. Dis.* v. 15, n. 40, (Suppl 2), p. 85-88, 2005
- Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. (2001) *Farmacologia*. (4a ed.), Guanabara

Santana, P., Andreza, R., Leite, V., Sousa, P., Alves, A., Tintino, S., Oliveira, C., Figueredo, F., Rocha, G., Rocha, M A., Pereira, B., Costa, R., Rodrigues, F, Leandro, L., & Aquino, P. (2016). Efeito antibacteriano e antifúngico de extratos etanólico, hexânico e metanólico a partir de folhas de *kalanchoe pinnata* (Lam.) pers (Malva Corama) contra cepas multi-resistentes a drogas. *Biota Amazônia* (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), 6(1), 64-69. [http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.6\(1\),64-69](http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.6(1),64-69).

Silva, M., & Aquino, S. (2018). Antimicrobial resistance: a review of the challenges in the search for new treatment alternatives. *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, 8(4), 472-482. <https://doi.org/10.17058/reci.v8i4.11580>

Schildknecht, H.; & Koob, K. (1990) Myrmicaen, the first insect herbicide. *Angewandte Chemie International edition*, 10, 124-125, 1971. *SOBECC*, 18(3), 49-58. *Tropical*, 36(5), 599-607. University Press, 732p. 1990.

Vander Meer, R. V. (2012) Ant Interactions with Soil Organisms and Associated Semiochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, 38: 728-745.

Yek, S. H.; & Mueller, U. G. (2011) The metapleural gland of ants. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 86, 774-791.