

MARIA IGNEZ CASTRILLON

**ESTRUTURA E ULTRA-ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS
SALIVARES DE *Cimex hemipterus* (FABRICIUS, 1803)
(HEMIPTERA: CIMICIDAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Estrutural,
para obtenção do título de
Magister Scientiae.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007**

MARIA IGNEZ CASTRILLON

ESTRUTURA E ULTRA-ESTRUTURA DAS GLÂNDULAS
SALIVARES DE *Cimex hemipterus* (FABRICIUS, 1803)
(HEMIPTERA: CIMICIDAE)

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e Estrutural,
para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 30 de abril de 2007

Prof. Clóvis Andrade Neves
(Co-orientador)

Dra. Jacenir Reis dos Santos-Mallet
(Co-orientador)

Prof^a. Conceição A. dos Santos

Dra. Riviane Rodrigues da Hora

Prof. José Eduardo Serrão
(Orientador)

Dedico a minha companheira e amiga Adilene Alves e Silva, que nestes últimos dez anos de minha vida esteve tão presente e continua presente participando do meu cotidiano, resolvendo problemas corriqueiros que tanto nos toma o tempo, me fortalecendo nos momentos difíceis, me estimulando na superação dos obstáculos e me incentivando na busca e realização dos meus sonhos.

HOMENAGEM PÓSTUMA

Ao meu pai Alfredo Castrillon (*in memorian*), que me ensinou a ter fé em Deus e Tê-lo em primeiro lugar. Em sua fala sempre estava presente: Deus amor, Deus perdão e Deus sem preconceitos. Cada um é responsável pelos seus próprios atos. Foi nos dado o livre arbítrio. Quem me dera ter um terço de sua fé.

Também deixou ao seu legado o estudo como o segundo principal conhecimento da vida que se deve ter e buscar. O estudo é o único bem que podemos levar no retorno ao “Nosso Lar”.

Esta singela homenagem é uma forma de agradecer o berço que me foi dado. Berço este, estercado de valores que nos tempos de hoje não são tão estimados. País onde ser honesto sai no jornal, há necessidade de retomada de conceitos para podermos ser felizes.

Obrigada meu pai. Sei que mesmo distante e tão próximo, pois em sonhos tem me orientado, com certeza está feliz pela nova conquista.

Saudades.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre foi muito forte e presente na minha vida.

A minha mãe Maria de Lourdes Benevides Castrillon, aos meus irmãos Marise Castrillon Fazio, Denise Castrillon e Alfredo Castrillon Júnior, e ao cunhado Marcos Beletatti Fazio, pelo incentivo e apoio à realização deste sonho.

Aos pequenos e grandes na minha vida. Meus sobrinhos Ana Carolina Castrillon Fazio, Ângelo Castrillon Fazio, Nasla Castrillon Aschar e Tuine Castrillon Silva, pelos muitos momentos de felicidade que me proporcionaram. Sem vocês a minha vida seria vazia.

A minha companheira Adilene Alves e Silva que ao longo dos anos tem suportado o meu humor, mandos, desmandos e defeitos. E concomitante, o ganho de uma segunda família Juarez Alves da Silva (*in memorian*), Alcimene Alves e Silva e Akawan Alves Ballsanufe Silva.

Ao meu orientador professor José Eduardo Serrão pela paciência no ensino das técnicas e correções do manuscrito.

Aos co-orientadores professores Clóvis Andrade Neves, Teresa Cristina Monte Gonçalves e Jacenir Reis dos Santos-Mallet.

Aos Professores Adilson Ariza Zácara pelas orientações para a obtenção de cortes histológicos mais adequados, José Lino Neto pela obtenção das imagens dos negativos da microscopia eletrônica de transmissão, e aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, em especial, ao eloqüente e *ignezquecível* prof. Sérgio Luís Pinto da Matta.

A técnica do Núcleo de Microscopia e Microanálise Cláudia Alencar Vanetti que ao ouvir meus suspiros e resmungos, captou às escondidas o meu estado de desalento, e nesse momento me foi dado incentivos de inestimável valia.

Ao técnico do Laboratório de Biologia Celular José Luis Soares Monteiro que sempre se mostrou disposto a contribuir com os experimentos.

Aos colegas Cirlei Pereira Guss Matiello pela ajuda no manuseio do micrótomo, na coloração dos cortes e montagem das lâminas histológicas; Maria do Carmo Queiroz Fialho e Simone Patrícia Carneiro de Freitas pelo auxílio na montagem das fotomicrografias no PhotoShop; e Dihego de Oliveira Azevedo que me ensinou os passos dos experimentos, manuseio do ultra-micrótomo e outras orientações para a obtenção de bons resultados.

Em especial a amiga Claudivânia Miranda de Oliveira que sempre esteve disposta a atender aos meus pedidos de auxílio à microtomia, ultramicrotomia e fotografias dos negativos. E para não causar ciúmes, as amigas Danielle Ribeiro de Barros e Rejane Bezerra da Silva, que também não me faltaram. Amigas que em diversos momentos se mostraram ao meu lado e deixaram um latifúndio demarcado no meu coração.

Aos demais colegas dos Laboratórios, do Curso, da Universidade e da comunidade em geral, que me incentivaram nos momentos difíceis, me auxiliaram quer seja nos estudos, trabalhos escolares e experimentos, quer seja no convívio social necessário ao equilíbrio físico, químico, biológico e psicológico. Sem generalização, um adendo a Reggiani Gonçalves Vilela e Edson da Silva.

Aos amigos Maricília da Conceição Cardoso de Arruda, Christine Strussmann e Francisco de Arruda Machado pelo incentivo para cursar a pós-graduação e pelas cartas de recomendação.

A psicanalista Terezinha Curvo que aos meus olhos, um urubu que desbotou, virou águia e me ensinou a voar.

A médica Iracema M. Queiroz pelo acompanhamento médico, paciência e aconselhamentos.

Ao condutor da maca e a equipe de enfermagem que trata de queimaduras na área de internos e no ambulatório do Hospital Jardim Cuiabá, por me carregar, me assentar na cadeira de rodas e me ajudar em meio aos urros, gemidos, lágrimas e risos, a suportar os dolorosos curativos. Meus sinceros agradecimentos.

As minhas amigas que se fizeram presentes nos momentos difíceis: Alzira Maria Madalena Almeida Saldanha, Elianne Maria Ferreira Curvo e Mariza Costa de Alencar. Obrigada pelas visitas, carinhos, afagos, colo, livros, cadeira de rodas, pernoites no hospital e incentivo ao retorno às atividades do mestrado.

Ao amigo Luiz Carlos Chieregatto por providenciar o trancamento do semestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural.

A amiga Renata Pires Gonçalves por nos buscar em Belo Horizonte para retornar a Viçosa e pelo empréstimo do carro.

A fisioterapeuta Luciane José Khoury pelos exercícios nos pés que além de recuperar os movimentos, proporcionou uma “massagem” dolorida e hilariante.

Aos amigos e colegas da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT) e da Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso (SES/MT) que me apoiaram nesta empreitada.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), principalmente ao Departamento de Biologia Geral e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, pelo apoio logístico e pelos préstimos à execução das atividades.

Ao Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, nas pessoas de Teresa Cristina Monte Gonçalves e Jacenir Reis dos Santos-Mallet pelo envio dos exemplares estudados.

A UNEMAT pela concessão do afastamento para pós-graduação via Departamento de Ciências Biológicas - Cáceres/MT, e pelo incentivo financeiro.

Ao Governo do Estado de Mato Grosso pela concessão do afastamento para qualificação via Escola de Saúde Pública/SES/MT e Superintendência de Desenvolvimento de Recursos Humanos/SES/MT, e pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a obtenção deste título.

E os amigos?

Cada pessoa que passa na nossa vida tem seu valor.

Umas simplesmente passam... Outras deixam marcas...

Às vezes, perfumes, suaves ou entorpecentes...

Às vezes, feridas, profundas ou superficiais.

Muitas pessoas, nós gostamos de graça. Outras nos conquistam. Algumas são indiferentes.

Também temos aquelas pessoas que nos empurram nos buracos da vida, e tentam de todo modo nos deixar lá, nas profundezas. Pior para elas, pois a cada mão que nos puxa para baixo, estendem-se duas que nos puxam para cima, e quatro que nos carregam no colo.

Aprendemos a gostar das pessoas com seus defeitos e virtudes.

Isso nos faz crescer.

Um lembrete:

O poder nos embriaga.

O dinheiro nos corrompe.

A beleza nos envaidece.

O medo nos acautela.

O tempo nos amadurece.

E os amigos... Nos fortalecem.

Maria Ignêz Castrillon

BIOGRAFIA

Maria Ignêz Castrillon, filha de Alfredo Castrillon e Maria de Lourdes Benevides Castrillon, nascida em 14 de julho de 1966, na cidade de Cáceres, Mato Grosso.

Professora no Departamento de Ciências Biológicas da Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário Jane Vanini, Cáceres/MT desde 1993. Também Profissional de Nível Superior do Sistema Único de Saúde na Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso desde 2001, na cidade de Cuiabá/MT.

Graduada em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Universitário de Cuiabá, no ano de 1993. Especialista em Saúde Pública pelo Instituto Brasileiro de Pós-Graduação e Extensão/Faculdade Internacional de Curitiba, no ano de 2004.

Em março de 2005, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa.

Minha Vida em Versos

Família de imigrantes chega à Princesinha do Paraguai.
Espanhol trabalhador funda casas, armazéns e fazendas.
Estabelece a prole e poupa o cobre.
Riquezas que se vão e a frase recomenda:
Vô rico, filho nobre e neto pobre.

De avô que segue seus princípios, cria um filho crédulo.
De filho a pai dedicado, cuidadoso e benfazejo,
Sempre preocupado com o futuro dos seus,
Deixou o estudo como a maior riqueza,
E também ensinou acreditar em Deus.

Em Cáceres, cidade de grande apreço.
Portal do Pantanal, onde lindas criaturas ao nome fazem jus.
Profundos valores em esterco berço,
Nasce uma mato-grossense de *chapa e cruz* (*).

Filha independente. Orgulhosa de sua origem.
Com pensamentos além de seu tempo, incompreendida, fez e apareceu.
Lutou contra o preconceito e soube assumir seus atos,
Mas como adolescente, obscuros caminhos percorreu.

Em meio às drogas. Viciou.
E como tudo tem seu tempo e sua hora,
Aos 18 anos, outro caminho trilhou.

Um refúgio do meio em que se meteu,
E pondo fim em sua trágica história,
Na Escola Agrotécnica, as drogas esqueceu.
Barbacena foi sua vitória!
Aprendeu a viver, sofrer, perder e ganhar. Venceu.
Retorna a Mato Grosso. Mora em Cuiabá.

Não anda mais na contramão.
Cursa Biologia. E muitos amigos fez por lá.
Achou trabalho com canudo na mão.

É professora na UNEMAT. É a sua paixão.
Mas como todo amor causa dor,
Outra fonte de renda procurou,
E na Secretaria de Saúde também se efetivou.

Acredita no Mato Grosso.
Tem ao seu Estado profundo valor.
Mas com o tempo torna-se necessária a qualificação,
E em período de grande pesar,
Uma voz em sonhos aponta a solução,
Numa paixão há tempos recolhida.
“Ó Minas Gerais. Quem te conhece não esquece jamais.”
Que nesta frase é reconhecida.

Passou para pós-graduação.
E, aos 38 anos, Viçosa de porto faz.
E aqui registra sua passagem.

Hoje com o coração cheio de emoção,
É lembrada a hora da viagem,
Está próxima a partida.
Em meio a lágrimas e saudade,
Traz o vento o cheiro de despedida.

Maria Iñez Castrillon

(*) “*Pé-rachado* era um jeito pejorativo de qualificar os cuiabanos da zona rural. E *chapa e cruz* era para os nascidos em famílias nobres. Ora, Cuiabá nunca teve nobreza, sempre foi terra de mestiços”. Jeje de Oyá.
Disponível em: < www.diariodecuiaba.com.br/especial2.php?cod=5&mat=15214 >

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	1
MATERIAL E MÉTODOS	13
RESULTADOS	14
GLÂNDULAS SALIVARES PRINCIPAIS	15
GLÂNDULAS SALIVARES ACESSÓRIAS	31
DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

RESUMO

CASTRILLON, Maria Ignez, MSc. Universidade Federal de Viçosa, abril de 2007.

Estrutura e Ultra-estrutura das Glândulas Salivares de *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) (Hemiptera: Cimicidae). Orientador: José Eduardo Serrão. Co-orientadores: Clóvis Andrade Neves, Teresa Cristina Monte Gonçalves e Jacenir Reis dos Santos-Mallet.

Cimex hemipterus é inseto hematófago listado como hospedeiro experimental de *Trypanosoma cruzi* e suspeito de atuar como vetor da tripanossomíase americana em áreas de endemia chagásica. Este estudo analisou a estrutura das glândulas salivares de *C. hemipterus*. Adultos foram dissecados e as glândulas salivares foram analisadas em microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão. A porção secretora das glândulas salivares principais é unilobada, oval, translúcida, formada por um epitélio colunar simples envolto por fibras musculares. As células são altas, binucleadas, assentadas numa membrana basal, com núcleo de esférico a oval e de contorno irregular, nucléolo evidente e cromatina em grumos. O citoplasma contém retículo endoplasmático rugoso desenvolvido, vesículas elétron-lúcidas, lisossomos e depósito de glicogênio. A membrana plasmática apical apresenta microvilosidades, junções de adesão, desmossomos e dobras na região basal da célula secretora. No ducto das glândulas salivares principais, as células são baixas com núcleo achatado e cromatina condensada. A porção secretora das glândulas salivares acessórias é unilobada, vesicular, translúcida, formada por epitélio pavimentoso simples a cúbico simples sobre fibras musculares. As células são baixas, assentadas numa membrana basal, com núcleo achatado e de contorno irregular, nucléolo evidente e cromatina condensada de distribuição homogênea. O citoplasma contém retículo endoplasmático liso com aspecto tubular e vesicular, vacúolos de diferentes tamanhos contendo secreção pouco elétron-densa e abundantes mitocôndrias. A membrana plasmática basolateral de células adjacentes apresenta junções septadas. No lúmen da glândula salivar acessória há presença de figuras mielínicas. O ducto é formado por um epitélio pavimentoso simples semelhante ao ducto da glândula salivar principal, entretanto apresenta-se contorcido próximo à porção secretora. As estruturas observadas nas glândulas salivares de *C. hemipterus* corroboram com os estudos em glândulas salivares e em outros tipos de glândulas de insetos. As células secretoras das

glândulas salivares principais estão relacionadas principalmente a síntese protéica sugerida pela presença de retículo endoplasmático rugoso desenvolvido, bem como ao transporte de íons e água pela presença de invaginações na membrana plasmática basal e de microvilosidades no ápice celular atuando na maturação da secreção no lúmen glandular. Todavia as células secretoras das glândulas salivares acessórias estão relacionadas principalmente ao transporte de íons e água da hemolinfa para o lúmen glandular sugerida pela presença de mitocôndrias próximas a membrana plasmática basolateral, como também a síntese de lipídios ou lipoproteína sugerida pela presença de retículo endoplasmático liso bem desenvolvido e vacúolos elétricos no citoplasma, e figuras mielínicas no lúmen glandular. Ambas as substâncias podem atuar como veículo para a secreção produzida pelas glândulas salivares principais. Deste modo, no presente estudo pode-se concluir que as modificações apresentadas nas células das glândulas salivares de *C. hemipterus* levam a acreditar que estas glândulas exercem duas diferentes funções: 1) o transporte de íons e água da hemolinfa para o lúmen glandular e 2) a síntese e secreção de enzimas e outras substâncias salivares, sendo as glândulas salivares acessórias responsáveis pelo aumento do volume da água salivar secretada pelas glândulas salivares principais, porém não podemos descartar a hipótese da síntese de substâncias.

ABSTRACT

CASTRILLON, Maria Ignez, MSc. Universidade Federal de Viçosa, April, 2007.
Structure and Ultrastructure of the Salivary Glands of *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) (Hemiptera: Cimicidae). Adviser: José Eduardo Serrão. Co-advisers: Clóvis Andrade Neves, Teresa Cristina Monte Gonçalves and Jacenir Reis dos Santos-Mallet.

Cimex hemipterus is a hematophagous insect that can be an experimental host of the *Trypanosoma cruzi* and may play a role as vector of Chagas' disease. This work analyzed the structure of the salivary glands of *C. hemipterus*. Adults were dissected and the salivary glands were analyzed in light microscopy and transmission electron microscopy. The secretory portion of principal salivary glands has a single lobe, oval form, translucent, formed for a simple columnar epithelium lined by muscle cells. The gland cells are high, with two spherical nuclei, nucleolus and some condensed chromatin. The cell cytoplasm has a well developed rough endoplasmic reticule, electron lucent vesicles, lysosomes and glycogen deposits. The apical plasma membrane has microvilli, zonula adherens, desmosomes whereas the basal plasma membrane has some infoldings associated with mitochondria. The duct of the principal salivary glands has flattened cells with nucleus containing condensed chromatin. The secretory portion of the accessory salivary glands is a single vesicular lobe, translucent, formed for a single layer of cells that varies from flattened to cubical, onto muscle cells. The cytoplasm contains a well developed smooth endoplasmic reticule with lamellar and vesicular aspect, vacuoles of different sizes containing secretion electron lucent and abundant mitochondria. The basolateral plasma membrane of adjacent cells shows septate junctions. At the lumen of the accessory salivary gland there is a presence of myelin figures. The duct is formed for a flattened epithelium like the duct of the principal salivary gland. The structures observed at the salivary glands of *C. hemipterus* corroborate with the works in salivary glands and in other types of insect's glands. The secretory cells of the principal salivary glands are related mainly with the protein synthesis suggested for presence the rough endoplasmic reticule, as well as transport of ions and water for presence of invaginations at the basal plasma membrane and microvilli in the cell apex. However, the secretory cells of the accessory salivary glands are related mainly with the transport of ions and water from the haemolymph to glandular lumen

suggested for presence of mitochondria close to the basolateral plasma membrane, as well as the synthesis of lipids or lipoproteins suggested for presence of smooth endoplasmic reticulum and electron lucent vacuoles in the cytoplasm and myelin figures in the glandular lumen. Both the substances can act like a vehicle to the secretion produced by principal salivary glands. In conclusion, the modifications presented in the cells of the salivary glands of *C. hemipterus* suggest that these glands play two different functions: 1) the transport of ions and water from haemolymph to glandular lumen and 2) the synthesis and secretion of enzymes and other salivary substances, being the accessory salivary glands responsible for increase of the volume of the salivary water secreted for the principal salivary glands, however we can not reject the hypothesis of the synthesis of substances.

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Cimex hemipterus (Fabricius) (Hemiptera: Cimicidae) é um inseto hematófago de comprimento total do corpo de 4,0 a 6,5 mm, com corpo achatado dorso-ventralmente, forma oval e região mesotorácica látero-posterior proeminente (Marcondes, 2001) (Fig. 1).

Na biologia de cimiúdeos, duas adaptações são centrais: a hematofagia obrigatória e a inseminação traumática (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007). Em relação à primeira, ambos os sexos alimentam-se exclusivamente de sangue durante todos os estágios de vida (do 1º a 5º ínstar ninfal e ínstar adulto), e o tempo para o completo ingurgitamento varia de dez a vinte minutos no adulto e cerca de três a cinco minutos nas ninfas jovens (Forattini, 1990). A outra adaptação biológica dos cimiúdeos, a inseminação traumática ou extragenital ou tegumentar, é um comportamento aberrante de indivíduos machos que também ocorre em outros hemípteros (Forattini, 1990), sendo caracterizado por um mecanismo de cópula diferenciado onde as fêmeas não são inseminadas via abertura genital (Usinger, 1966). O tegumento na superfície ventral das fêmeas apresenta uma modificação entre o segmento V e VI caracterizada por uma dobra intersegmental chamada seio paragenital ou órgão de Ribaga. Durante a cópula, o macho insere o parâmero que perfura a parede abdominal e alcança o espermalégio, onde deposita o esperma.

Ryckman *et al.* (1981) reconheceram 91 espécies de cimiúdeos pertencentes a 23 gêneros, distribuídos em seis subfamílias. Destas subfamílias, somente em duas, Cacodminae e Cimicinae, são encontradas as três espécies que utilizam os humanos como seu hospedeiro natural. *Leptocimex boueti* (Cacodminae) é ectoparasita da espécie humana e de morcegos na África Ocidental (Usinger, 1966; Ryckman *et al.*, 1981; Forattini, 1990). O gênero *Cimex* (Cimicinae) inclui 21 espécies de percevejos de cama (Ryckman *et al.*, 1981), e dentre elas, apenas *C. hemipterus* e *Cimex lectularius* se alimentam de sangue humano. Estas duas espécies comuns no velho e novo mundo, também são parasitas naturais de aves e morcegos (Usinger, 1966; Ryckman *et al.*, 1981), mas estão preferencialmente associados à espécie humana e esta se indisponível, se alimentam de aves e mamíferos domésticos, de laboratórios e de zoológicos (Pipkin, 1969; Busvine, 1976; World Health Organization, 1982; Burnett *et al.*, 1986; Reinhardt e Siva-Jothy, 2007).



Figura 1 – Macho adulto de *Cimex hemipterus* (vista dorsal). Gentileza de JR Santos-Mallet e TC Monte Gonçalves do Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro. Foto: Anthony Guimarães. Sem escala.

Acredita-se que a associação de *C. lectularius* ao homem moderno ocorreu no Oriente Médio, onde algumas civilizações antigas forneceram a estes insetos, a oportunidade de infestarem as moradias humanas nas colonizações rurais. Posteriormente, com o fluxo migratório humano, estes percevejos de cama foram transportados para o Mediterrâneo e cresceram dentro das cidades (Usinger, 1966). A habitação de habitações humanas destes insetos culminou na sua dispersão pelo mundo associado ao avanço da civilização, tornaram-se cosmopolitas. Em consequência de ser carregado pelos humanos tende a predominar nos grandes centros urbanos (Forattini, 1990).

Cimex lectularius é mais comum em regiões de clima temperado principalmente na Europa e América do Norte, limitado até o Círculo Polar Ártico; é encontrado na Rússia, Ásia, África do Norte; tem distribuição irregular em regiões temperadas do sul e tropicais, como na África do Sul, Austrália, América Latina; e de distribuição limitada até o Círculo Polar Antártico (Usinger, 1966). No Brasil, são mais abundantes nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Pessoa e Martins, 1981; Nagem, 1985), porém podem predominar em cidades tropicais como Belo Horizonte, Minas Gerais, onde a prevalência é maior que a encontrada na Inglaterra e Dinamarca (Negromonte *et al.*, 1991).

A associação de *C. hemipterus* à espécie humana ocorreu, provavelmente, em alguma parte no Sudeste da Ásia, e a partir daí, foi transportado para os trópicos africanos e outras regiões tropicais (Usinger, 1966), tendendo a predominar em zonas rurais (Forattini, 1990). Estes insetos não foram capazes de infestar regiões de clima temperado e foram mais viáveis e prolíferos em regiões tropicais, colonizando facilmente muitas cidades tropicais (Busvine, 1976). Devido à adaptação aos climas tropical e subtropical, *C. hemipterus* é denominado de percevejo de cama tropical, indiano ou subtropical (Burton, 1963), e considerado tropicopolita por Usinger (1966).

O percevejo de cama tropical raramente ultrapassa a faixa intertropical global (Forattini, 1990). É encontrado nas áreas quentes da África, Ásia, América Central e do Sul (Usinger, 1966). Na América do Norte, tem registro na Flórida nos Estados Unidos da América (Hixson, 1943). É encontrado nas Filipinas (Costa Lima, 1940) e estende-se desde a Malásia, Sul da China, Birmânia até a África Central (Singh *et al.*, 1996). É bem difundido na Índia, Taiwan e Sudeste da Ásia (Walpole, 1988). Ocorre na África do Sul (Newberry *et al.*, 1987), e recentemente foi

introduzido no Reino Unido e na Austrália (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007). No Brasil, comparado com *C. lectularius*, *C. hemipterus* é a espécie mais comum (Costa Lima, 1940; Pipkin, 1969; Pessoa e Martins, 1981; Nagem, 1985).

Em áreas de simpatria de *C. lectularius* e *C. hemipterus* menos que 10% das habitações se apresentam infestadas por ambas as espécies (Newberry *et al.*, 1987; Newberry e Mchunu, 1989; Reinhardt e Siva-Jothy, 2007). Entretanto, esta co-habitação local resulta em exclusão reprodutiva mútua, pois o cruzamento de machos de *C. hemipterus* com fêmeas de *C. lectularius* é prejudicial a estas últimas, tem efeito sobre a fertilidade e reduz a longevidade (Walpole e Newberry, 1988; Newberry e Mchunu, 1989; Reinhardt e Siva-Jothy, 2007), produzindo ovos usualmente estéreis (Usinger, 1966; Newberry, 1988; Walpole, 1988), e o esperma de *C. hemipterus* é tóxico para *C. lectularius* (Davis, 1966; Busvine, 1976). O cruzamento oposto, isto é, machos de *C. lectularius* com fêmeas de *C. hemipterus* não tem efeito na fertilidade e longevidade das fêmeas de *C. hemipterus* (Newberry e Mchunu, 1989), mas origina ninfas que não se desenvolvem (Busvine, 1976). Nesta hibridação, emergem dos ovos postos por estas fêmeas ninfas moribundas que morrem no primeiro estágio ninfal (Newberry, 1988).

Uma possível explicação para a erradicação de populações de *C. lectularius* em áreas tropicais é a coexistência das duas espécies com conseqüente cruzamento interespecífico (Usinger, 1966; Newberry *et al.*, 1987; Walpole e Newberry, 1988), porém fatores ambientais não devem ser descartados, tais como a temperatura e a umidade também podem ser responsáveis pela distribuição restrita de *C. lectularius* e *C. hemipterus* (Walpole, 1988).

Percevejos de cama domiciliados durante o dia abrigam-se nas fendas e nos orifícios das paredes, das mobílias, do assoalho, do rodapé, no forro, sob carpetes fixos, atrás de quadros, nos estrados das camas, nas costuras dos colchões, dos travesseiros, das malas de viagem, dos cobertores, das cortinas, das barracas de acampamento e em outros escaninhos em residências, hotéis, motéis, restaurantes, ônibus, navios, aviões, caminhões de mudanças, etc; e à noite emergem de seus esconderijos em busca de repasto sangüíneo (Usinger, 1966; King *et al.*, 1989; Forattini, 1990; Boase, 2001; Ter Poorten e Prose, 2005; World Health Organization, 2006).

São encontrados facilmente em roupas sujas, cobertas e bagagens de locais infestados (World Health Organization, 1982), são reconhecidos pelo cheiro

de coentro (*Coriandrum sativum*) que deixam no cômodo e pelas manchas marrons avermelhadas de sangue e fezes nas mobílias e paredes (World Health Organization, 1982; King *et al.*, 1989; Marcondes, 2001; Thomas *et al.*, 2004; Ter Poorten e Prose, 2005). Este odor é emitido pela glândula de cheiro dos percevejos adultos quando perturbados, bem como pela abundância de excretas no local infestado (World Health Organization, 1982).

Nos países em desenvolvimento as infestações são altas com 56% das casas infestadas com *C. hemipterus* na Tanzânia (Temu *et al.*, 1999), e 65% em Hyderabad na Índia (Boase, 2001). No Brasil foi observado aumento dos dados de infestação na cidade de Belo Horizonte (Nagem, 1985; Ter Poorten e Prose, 2005). Embora as campanhas de controle dos vetores da febre amarela, dengue, malária e doença de Chagas tenham reduzido indiretamente as infestações de percevejos de cama, a negligência das autoridades governamentais em relação à saúde humana ou a resistência adquirida aos inseticidas aplicados favoreceram o seu aumento (Negromonte *et al.*, 1991).

Infestações prolongadas e intensas de percevejos de cama no ambiente humano podem causar nos indivíduos nervosismo, letargia, palidez, diarreia, náuseas, vômitos (Ter Poorten e Prose, 2005), ansiedade, insônia (Thomas *et al.*, 2004), angústia, estresse (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007), desconforto físico e psicológico (Harlan, 2006).

Crianças de casas infestadas podem ser reconhecidas pelas fezes pastosas, desatenção e falta de energia (World Health Organization, 1982), níveis elevados de percevejos de cama podem causar anemia em crianças e animais domésticos devido à intensa espoliação sangüínea (Forattini, 1990). Há relatos de casos de deficiência de ferro em crianças na Índia pela excessiva exposição a percevejos de cama (Temu *et al.*, 1999; Ter Poorten e Prose, 2005). Usinger (1966) informou que teve decréscimo de hemoglobina durante o período de sete anos alimentando percevejos de cama em si próprio e do mesmo modo permaneceu baixa até com a suplementação de ferro via oral e injetável, e somente ocorreu aumento após a descontinuidade da alimentação dos insetos. Entretanto, para Reinhardt e Siva-Jothy (2007), nenhuma evidência existe que picadas de percevejos de cama conduzem para uma anemia por deficiência de ferro.

Picadas de percevejos de cama provocam nos indivíduos sensíveis sintomas típicos como prurido e pápulas eritematosas (Usinger, 1966; World Health

Organization, 1982; Thomas *et al.*, 2004; Hwang *et al.*, 2005; Ter Poorten e Prose, 2005; Harlan, 2006). Podem também desenvolver outros sinais clínicos menos comuns, mas severos, tais como urticária gigante, erupção de bolhas transparentes e até hemorrágicas (Thomas *et al.*, 2004; Hwang *et al.*, 2005; Ter Poorten e Prose, 2005), edema e inflamação (World Health Organization, 1982). A maioria dos indivíduos é sensível às picadas destes insetos (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007), e dependendo desta sensibilidade podem também ocorrer reações de anafilaxia (Thomas *et al.*, 2004; Ter Poorten e Prose, 2005; Harlan, 2006; Reinhardt e Siva-Jothy, 2007) e, ocasionalmente, morte (Ryckman, 1979).

Percevejos de cama têm um papel insignificante na transmissão de doenças (World Health Organization, 1982), embora existam razões para serem vetores ideais de patógenos: 1) são hematófagos obrigatórios; 2) sugam sangue uma ou mais vezes em cada estágio imaturo e repetidamente durante a vida adulta; 3) uma colônia pode se alimentar de vários hospedeiros transitórios; e 4) podem ser infectados por um grande número de patógenos sob condições laboratoriais (Rychman *et al.*, 1981).

São suspeitos de transmitir uma variedade de agentes etiológicos tais como bactérias, vírus e protozoários causadores de 41 doenças humanas (Burton, 1963; Rychman *et al.*, 1981). Dentre as suposições de transmissão, patógenos de aproximadamente vinte destas doenças foram encontrados no corpo de *C. lectularius* e de *C. hemipterus* (Burton, 1963; Usinger, 1966; Ter Poorten e Prose, 2005). Nesta listagem, *C. lectularius* é suspeito de transmitir os agentes etiológicos causadores da filariose, mansoneliase, leishmaniose visceral, leishmaniose tegumentar, leishmaniose tegumentar americana, hanseníase, septicemia estafilocócica, antraz maligno, pneumonia tipo II, tularemia, peste bubônica, brucelose, febre paratifóide, tifo exantemático epidêmico, tifo murino, febre maculosa das montanhas rochosas, febre Q, febre recorrente, leptospirose e os vírus da poliomielite, febre amarela, varíola e coriomeningite linfocítica. Destas doenças apenas os patógenos da filariose (*Wuchereria bancrofti*), leishmaniose visceral (*Leishmania donovani*), leishmaniose tegumentar (*L. tropica*), febre recorrente (*Borrelia recurrentis*) e os vírus da febre amarela foram localizados no corpo de *C. hemipterus*. Entretanto, nenhuma evidência substancial de transmissão destes organismos para humanos por percevejos de cama foi registrada (Ter Poorten e Prose, 2005).

Adicionalmente, estudos de infecção baseado em testes com antígeno de superfície para hepatite B com *C. hemipterus* e *C. lectularius* mostraram infectabilidade e presença dos vírus da hepatite B nestes insetos por seis semanas (Ogston *et al.*, 1979), e sete semanas e meia (Jupp e McElligott, 1979), respectivamente, após alimentação com sangue infectado. Posteriormente, Jupp *et al.* (1983) afirmaram que não ocorre a multiplicação biológica do vírus nestes percevejos de cama, mas os indicou como possíveis vetores do vírus da hepatite B, podendo a transmissão para humanos ocorrer de forma inteiramente mecânica, seguindo três prováveis rotas: 1) a contaminação da pessoa devido ao esmagamento do percevejo infectado durante a alimentação; 2) a contaminação através das fezes infectadas, especialmente pela arranhadura do local da picada; e 3) a infecção pelas picadas devido à regurgitação ou à sucção interrompida.

Também se suspeitou que percevejos de cama pudessem transmitir os vírus da imunodeficiência humana (HIV), pelas mesmas rotas sugeridas para o vírus da hepatite B (Cook, 1985). Teoricamente, pode ocorrer a transmissão biológica de vírus, a qual requer replicação viral nos tecidos do artrópode (especialmente nas glândulas salivares), ou transmissão mecânica pela simples transferência do vírus ao hospedeiro através das peças bucais contaminadas (Webb *et al.*, 1989). Ensaio experimentais demonstraram que HIV sobrevivem por 1-4 horas em *C. lectularius* e por oito dias em *C. hemipterus* após repasto com sangue infectado (Lyons *et al.*, 1986; Webb *et al.*, 1989). Embora percevejos de cama pudessem transmitir HIV em baixos níveis, outros fatores combinados poderiam acentuar a susceptibilidade das pessoas como a exposição à repetidas picadas numa infestação, a imunossupressão devido à desnutrição e a ativação excessiva de linfócitos T4 por infecções recorrentes (Lyons *et al.*, 1986).

Investigações sobre a capacidade de cimicídeos serem portadores de partículas infecciosas são realizadas atualmente, mas nenhuma replicação viral e infectabilidade foram confirmadas (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007).

Outra doença a qual cimicídeos são suspeitos de transmissão é a tripanossomíase americana. *Cimex lectularius* e *C. hemipterus* foram listados como hospedeiros experimentais de *Trypanosoma cruzi* (Lent, 1939; Brumpt, 1949), pois são facilmente infectados por este protozoário e foram encontradas formas infectantes (tripomastigotas metacíclicas) para mamíferos no intestino posterior e nas fezes destes percevejos de cama (Pipkin, 1969; Sousa, 1999).

Infecções experimentais com *C. lectularius* foram realizadas por Dias (1934) e Jörg e Natula (1982), nas quais foram obtidas as infecções do inseto após refeição de sangue de roedores infectados por *T. cruzi* e constatada transmissão de tripanossomos para roedores não infectados. Entretanto, a forma dominante de infecção foi através da picada (Jörg e Natula, 1982), e posteriormente, reiterada a transmissão via regurgitação (Jörg, 1992). Também foi estudado o desenvolvimento experimental do protozoário no percevejo de cama através de análises histológicas do intestino médio e das glândulas salivares e foram observadas formas amastigotas e flageladas, sendo a maioria amastigotas (Jörg, 1992). Como também foram encontradas formas flageladas no trato digestivo com aparente desenvolvimento de formas amastigotas no proventrículo e tripomastigotas metacíclicas no reto (Storino e Jörg, 1994).

A infecção experimental de cimiúdeos com *T. cruzi* (Dias, 1934; Brumpt, 1949; Jörg e Natula, 1982; Forattini, 1990; Jörg, 1992), a descoberta de *C. lectularius* infectado naturalmente com *T. cruzi* (Jörg e Natula, 1982; Jörg, 1992; Rey, 1991), e a transmissão deste parasito para humanos atribuídos a estes percevejos em um caso na Argentina (Lausi, 1973; Jörg, 1992; Amato Neto, 2000), sugerem que percevejos de cama em condições naturais de elevada densidade e em áreas de endemia chagásica podem agir como vetor ou hospedeiro intermediário no ciclo do *T. cruzi* (Jörg e Natula, 1982; Forattini, 1990; Dias *et al.*, 2005). Contudo, é consenso que artrópodes cimiúdeos não representam um papel epidemiológico significativo (Rey, 1991; World Health Organization, 2006), mas a possível transmissão não é descartada (Jörg e Natula, 1982; Forattini, 1990; Amato Neto *et al.*, 2000; Dias *et al.*, 2005).

A possibilidade de transmissão mecânica de agentes infectantes durante a alimentação de *C. hemipterus* torna interessante a compreensão de aspectos estruturais e fisiológicos das glândulas salivares destes insetos.

Nos insetos picadores e sugadores como *C. hemipterus*, as peças bucais especializadas formam uma probóscide que sustenta um tubo alimentar e um ducto salivar (Busvine, 1966). A maioria dos insetos apresenta glândulas associadas ao tubo digestivo, sendo que a abertura comum do ducto salivar repousa em uma bolsa salivar na base da hipofaringe (Baptist, 1941) (Fig. 2).

A saliva dos insetos exerce funções de limpar e umedecer o aparato bucal quando não está sendo usado (Busvine, 1966), bem como meio de dissolução e

solubilização do alimento, meio de sustentação dos canais alimentar e salivar oriundos dos estiletes no ato da sucção pela formação de um canal curto por deposição de material de revestimento, lubrificante das peças bucais quitinosas, fonte primária de enzimas para digestão de açúcares e sangue, fonte de água durante a alimentação para liberação de ativadores salivares e para regulação dos fluídos corporais (Stark e James, 1996).

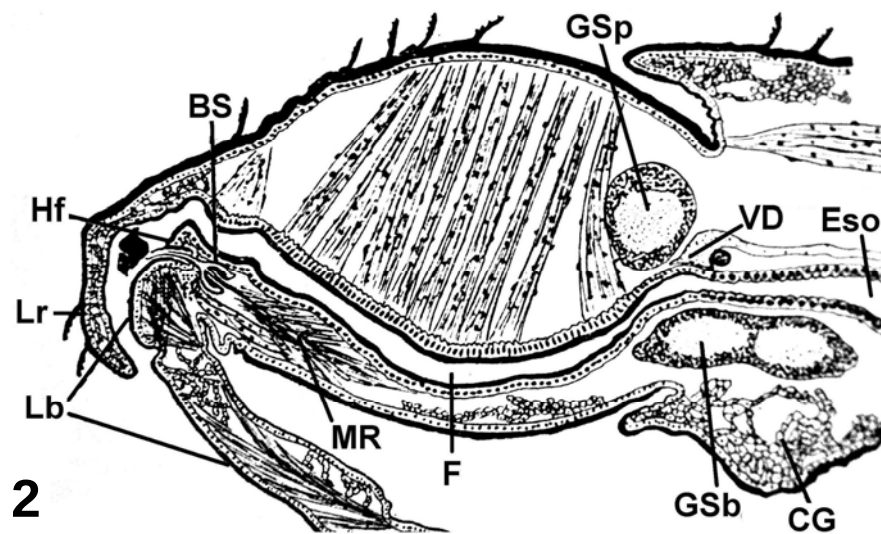


Figura 2 – Representação esquemática da anatomia interna da cabeça e de parte do protórax de *Cimex lectularius* em corte longitudinal mediano (Puri, 1924). Labium (Lb), labro (Lr), hipofaringe (Hf), bomba salivar (BS), músculo retrator da bomba salivar (MR), faringe (F), gânglio supraesofágico (GSp), gânglio subesofágico (GSb), terminação anterior do vaso dorsal (VD), corpo gorduroso (CG) e esôfago (Eso). Sem escala.

As células que compreendem as glândulas salivares dos insetos estão diferenciadas para exercerem três funções básicas: 1) produção e secreção de enzimas e outras substâncias presentes na saliva, 2) movimento de água da hemolinfa para o lúmen da glândula e 3) modificação do fluído que passa no ducto salivar pela reabsorção de íons e de água (Chapman, 1998).

As glândulas salivares dos insetos variam em sua estrutura e função (Stark e James, 1996). Em mosquitos existe dimorfismo sexual, as glândulas

salivares do macho têm aproximadamente 1/5 do tamanho das glândulas salivares da fêmea, um reflexo de que somente as fêmeas sugam sangue e os machos alimentam-se de açúcares. Em cupins, as glândulas salivares têm importante papel na trofalaxia (comportamento do operário de regurgitar o alimento e transferir para outro indivíduo), e nos soldados de algumas espécies são usadas como órgão de defesa (Quennedey, 1975).

Na maioria dos insetos as glândulas salivares são estruturalmente glândulas labiais e a função salivar é exercida pelas glândulas mandibulares e maxilares, entretanto nos Hemiptera, as glândulas salivares assumiram os papéis das glândulas mandibulares e maxilares (Baptist, 1941). São em número de duas, se localizam no tórax, uma a cada lado do esôfago, com uma organização estrutural variando de simples a complexamente ramificadas, contorcidas e podendo apresentar um reservatório na parte condutora. Nos Hemiptera, o sistema salivar está representado por uma glândula principal e uma acessória em cada lado do corpo, sendo que o ducto da glândula salivar acessória desemboca no ducto da glândula principal, e este por sua vez, mais adiante, na cabeça, junta com o seu par formando um ducto comum muito curto, que imediatamente passa a bomba salivar e abre em sua porção anterior (Baptist, 1941; Azevedo *et al.*, no prelo) (Fig. 3).

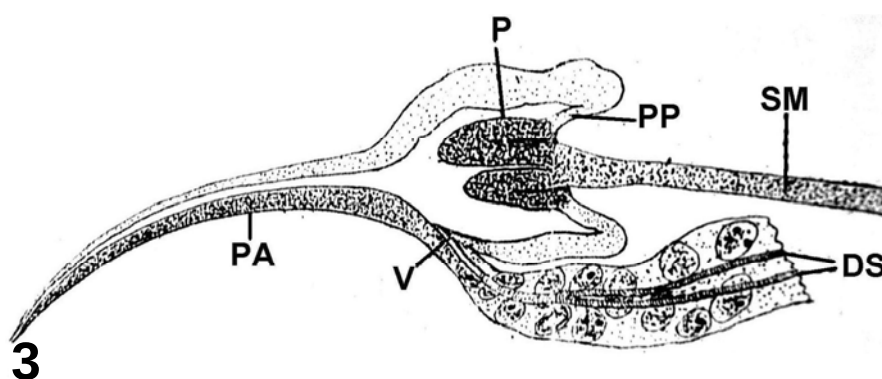
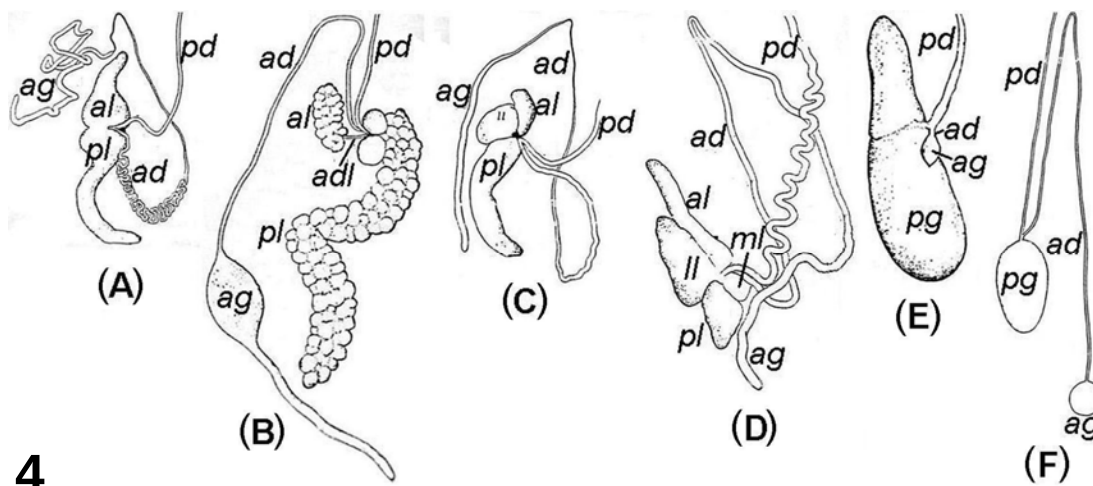


Figura 3 – Representação esquemática da bomba salivar de *Cimex lectularius* em corte longitudinal mediano (Puri, 1924). Porção anterior da bomba salivar (PA), borda posterior da abertura do canal salivar que age como uma válvula (V), ductos salivares (DS), pistão (P), parede posterior da bomba salivar (PP), haste de sustentação dos músculos retratores (SM). Sem escala.

Em Hemiptera as glândulas salivares principais variam morfológicamente, em regra são bilobadas compreendendo um lobo anterior e um posterior, os quais variam de tamanho, sendo o lobo anterior sempre menor que o posterior. Em algumas glândulas o lobo anterior é separado do posterior por um ducto lobar, e neste caso os lobos são subdivididos em numerosos lóbulos que podem diferir em tamanho e estrutura (Baptist, 1941) (Fig. 4). Em Pentatomorpha, apenas uma única família, a Pentatomidae, retém a característica de glândula bilobadas simples, nas outras famílias ocorre à multiplicação secundária destes lobos (Miles, 1972). Também podem ser encontradas glândulas principais trilobadas e quadrilobadas, sendo a primeira formada pelos lobos anterior, posterior e lateral, a segunda além destes possui o lobo medial (Baptist, 1941) (Fig. 4). Há também as glândulas salivares principais unilobadas que apresentam uma vaga constrição na região onde emerge o ducto glandular, bem como há as que não apresentam nenhum traço de divisão e o ducto emerge da extremidade anterior, divergindo dos outros Heteroptera onde o ducto parte da região entre os lobos glandulares (Fig. 4). Em *C. lectularius* e *Rhodnius prolixus* as glândulas salivares principais são unilobadas (Puri, 1924; Baptist, 1941; Usinger, 1966; Forattini, 1990).

Nos hemípteros geralmente as glândulas salivares acessórias são glândulas vesiculares de forma relativamente ovóide, entretanto algumas famílias apresentam estas glândulas como tubulares (Baptist, 1941) (Fig. 4). Neste caso, as glândulas têm a região secretora terminal semelhante ao ducto não sendo possível a distinção dentre ambos ou a parte terminal levemente mais espessa favorecendo a distinção da porção secretora terminal do ducto (Baptist, 1941; Chapman, 1998).

Usinger (1966) descreveu as características morfológicas das glândulas salivares de cimicídeos baseado na anatomia interna de *C. lectularius*. As glândulas salivares principais são piriformes e seus ductos estendem na cabeça e desembocam na bomba cibarial. As glândulas salivares acessórias são menores e arredondadas, e o seu longo ducto se estende na cabeça e retorna ao tórax para desembocar no hilo da glândula salivar principal. Assim, o sistema salivar é formado por um par de glândulas salivares principais e um par de glândulas salivares acessórias localizadas no tórax. As glândulas salivares principais de *C. lectularius* são unilobadas e o seu ducto emerge da extremidade anterior e as glândulas salivares acessórias são glândulas alveolares (Baptist, 1941).



4

Figura 4 – Representação esquemática de glândulas salivares de alguns Heteroptera (Baptist, 1941). (A) Bilobada simples em Pentatomidae. (B) Bilobada modificada (multilobulada) em Nepidae. (C) Trilobada em Lygaeidae. (D) Quadrilobada em Pyrrhocoridae. (E) Unilobada em *Rhodnius prolixus*. (F) Unilobada em *Cimex lectularius*. Glândula salivar acessória (ag), lobo anterior da glândula salivar principal (al), lobo posterior da glândula salivar principal (pl), ducto da glândula salivar principal (pd), ducto da glândula salivar acessória (ad), ducto do lobo anterior (adl), lobo lateral da glândula salivar principal (ll), lobo mediano da glândula salivar principal (ml), glândula salivar principal (pg). Sem escala.

Triatomíneos, vetores em potencial de tripanossomíase, são alvos de atenção de pesquisadores para estudos da anatomia, histologia e ultra-estrutura das glândulas salivares (Lacombe, 1999). Entretanto, vários fatores justificam da mesma forma pesquisas nessa área com percevejos de cama domiciliados, como as suspeitas de que eles possam atuar como transmissores da tripanossomíase americana em áreas de endemia e de que esta transmissão possa ocorrer através da picada via regurgitação como observada em experimentos com *C. lectularius*. Devido ao fato de *C. hemipterus* representar a espécie mais comum no território brasileiro e no intuito de fornecer subsídios a futuros estudos de infecção experimental de *C. hemipterus* com *T. cruzi*, este trabalho descreve a estrutura e ultra-estrutura das glândulas salivares principais e acessórias de *C. hemipterus* não infectado por *T. cruzi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *C. hemipterus* utilizados neste estudo foram obtidos de colônias estabelecidas no Setor de Morfologia, Ultra-estrutura e Bioquímica de Artrópodes e Parasitos do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro.

Os exemplares foram alimentados e transportados vivos ao Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, onde foram mantidos a 25° C até as análises.

Insetos adultos de *C. hemipterus*, seis machos e uma fêmea foram imobilizados a frio e dissecados em solução salina para insetos (0,7% KCl + 0,3% NaCl) com uso de microscópio estereoscópico. Para a remoção das glândulas salivares principais e acessórias foram feitos cortes nas laterais do protórax e removida cuidadosamente a cutícula. Posteriormente, a cabeça foi levemente puxada do restante do corpo e as glândulas salivares principais e acessórias foram expostas e isoladas.

Para as análises histológicas, as peças foram fixadas em solução de Zamboni (Stefanini *et al.*, 1967) por 4 horas em temperatura ambiente. A seguir as glândulas salivares foram desidratadas em série alcoólica de concentração crescente, embebidas e incluídas em historesina JB4. Secções com 3 µm de espessura foram coradas com hematoxilina e eosina, analisadas e fotografadas em microscópio de luz.

Para os estudos ultra-estruturais, as glândulas salivares foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M e em seguida, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão por 6 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, as peças foram lavadas no mesmo tampão e contrastadas *en bloc* com acetato de uranila a 1% por 16 horas. Após desidratação em série de acetona, as amostras foram embebidas e incluídas em resina Epon-Araldite. As secções ultrafinas foram contrastadas com acetato de uranila a 1% e citrato de chumbo segundo Reynolds (1963), analisados e fotografados em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss EM109 no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS

O sistema salivar de *Cimex hemipterus* é formado por um par de glândulas principais e um par de glândulas acessórias que se localizam em posição látero-dorsal no protórax (Fig. 5). As glândulas salivares principais apresentam uma porção distal dilatada com forma oval. As glândulas salivares acessórias são menores que as principais e a sua porção distal dilatada se apresenta de forma esférica, caracterizando glândulas vesiculares. Ambas as glândulas são unilobadas e exibem cor branca translúcida em solução fisiológica para insetos. Cada porção distal dilatada desemboca em um ducto salivar longo e fino (Fig. 5). Os ductos glandulares partem da extremidade anterior da glândula em direção a cabeça, entretanto o da glândula salivar acessória retorna e desemboca no hilo da glândula salivar principal.

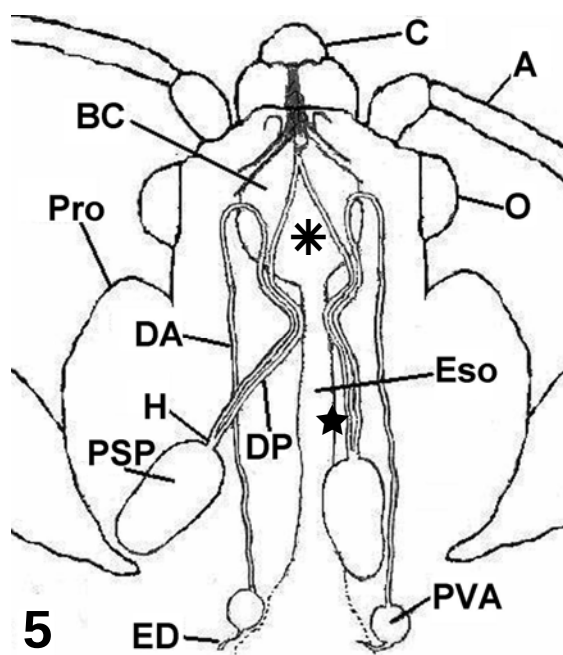


Figura 5 – Representação esquemática das glândulas salivares de *C. hemipterus* em vista dorsal (modificado de Puri, 1924). Clípeo (C), antena (A), olho (O), protórax (Pro), bomba cibarial (BC), esôfago (Eso), região proximal do ducto da glândula salivar principal (*), região distal do ducto da glândula salivar principal (★), hilo da glândula salivar principal (H), porção secretora da glândula salivar principal (PSP), ducto da glândula salivar acessória (DA), porção vesicular da glândula salivar acessória (PVA), extremidade distal da glândula salivar acessória (ED). Sem escala.

GLÂNDULAS SALIVARES PRINCIPAIS

As glândulas salivares principais de *C. hemipterus* apresentam uma porção mais dilatada, secretora, formada por epitélio colunar simples (Fig. 6), assentado sobre uma fina membrana basal, circundada por fibras musculares (Fig. 7 e 8). As fibras musculares são vistas dispostas em sentido longitudinal e circular à glândula em contato com a hemocele (Fig. 7 e 8).

As células secretoras são colunares, binucleadas e com a superfície apresentando borda estriada (Fig. 9). Os núcleos são esféricos a ovais, geralmente com um nucléolo evidente e de posição excêntrica. A cromatina se mostra descondensada ao redor do nucléolo e em grumos condensados distribuídos próximos ao envoltório nuclear (Fig. 8).

As células secretoras próximas à emergência do ducto glandular apresentam-se mais baixas (Fig. 10), enquanto que as células que formam o ducto da glândula são achatadas, com núcleo apresentando cromatina condensada (Fig. 11 e 12). Na região proximal do ducto, as células epiteliais que circundam o lúmen, apresentam-se similares às da região distal (Fig. 13). A cutícula no ducto é fina.

Na região basal do epitélio, as células secretoras estão assentadas na membrana basal e sobre fibras musculares dispostas longitudinalmente (Fig. 14 e 15). A membrana plasmática basal das células secretoras sofre invaginações e origina dobras para dentro do citoplasma, formando um labirinto basal (Fig. 14).

O citoplasma das células secretoras contém gotas de secreção elétron-lúcida, grânulos de secreção elétron-densos e retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido (Fig. 16, 17 e 18). O núcleo é oval com superfície irregular (Fig. 19). O nucléolo é evidente, e em torno deste, a cromatina apresenta heterogênea com áreas menos elétron-densas e áreas mais elétron-densas formando grumos de distribuição homogênea (Fig. 19). Como observado à microscopia de luz (Fig. 8), na periferia da membrana nuclear também apresenta cromatina em grumos (Fig. 20).

As células secretoras são altas com microvilosidades no ápice (Fig. 16), voltadas para o lúmen estreito (Fig. 21). Próximo a estas são observados aglomerados de pequenos grânulos elétron-densos característicos de depósitos de glicogênio, bem como vesículas elétron-densas de morfologia heterogênea (Fig. 21, 22 e 23). Junções aderentes, desmossomos e interdigitações são observados entre as

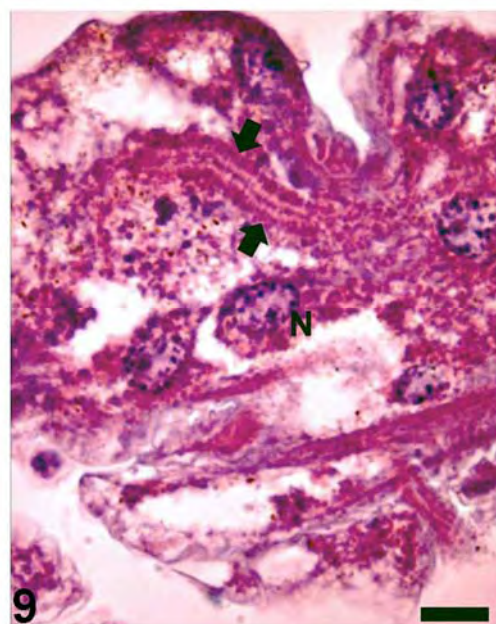
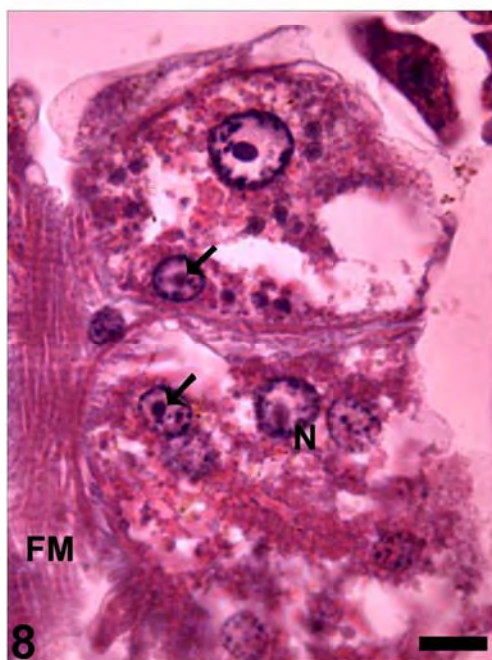
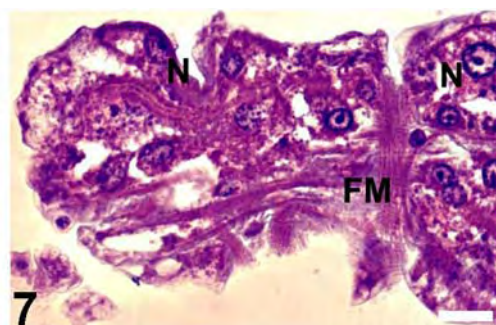
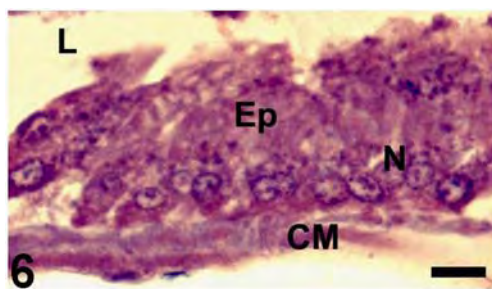
células adjacentes (Fig. 17, 20, 22 e 23). A base da célula secretora possui aproximadamente a metade da largura do ápice celular (Fig. 21).

A secreção no lúmen exibe uma composição heterogênea, com área central elétron-lúcida (Fig. 16) e próxima as microvilosidades é relativamente elétron-densa (Fig. 18, 20 e 23).

Figuras 6-9: Fotomicrografias de secções histológicas da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*. Coloração HE. Barra 10 µm.

Fig. 6: Epitélio glandular sobre a camada muscular e revestindo o lúmen. Camada muscular (CM), epitélio (Ep), núcleo (N), lúmen (L).

Fig. 7, 8 e 9: Glândula salivar principal em corte tangencial. **Fig. 7:** Disposição das fibras musculares. Fibra muscular (FM), núcleo (N). **Fig. 8:** Detalhe da célula secretora e da fibra muscular. Fibra muscular (FM), núcleo (N), nucléolo (seta). **Fig. 9:** Borda estriada na superfície apical das células secretoras. Núcleo (N), borda estriada(setas).



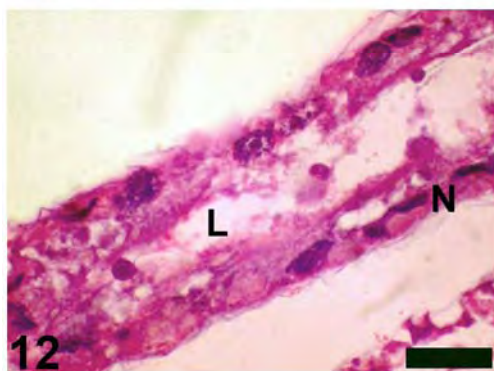
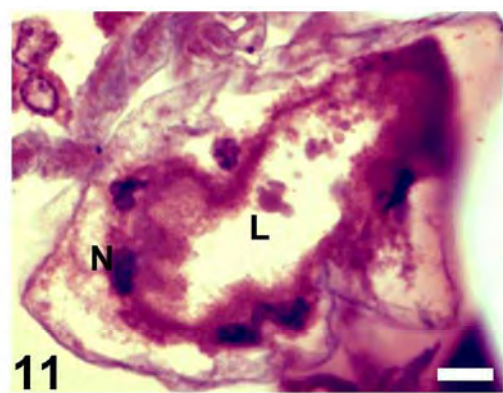
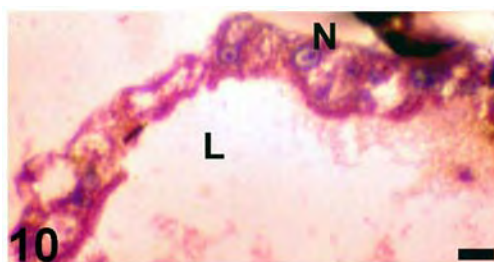
Figuras 10-13: Fotomicrografias de secções histológicas das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*. Coloração HE. Barra 10 µm.

Fig. 10: Epitélio glandular da porção secretora próxima ao ducto da glândula salivar principal em corte longitudinal. Núcleo (N), lúmen (L).

Fig. 11: Epitélio glandular na emergência do ducto da glândula salivar principal em corte transversal. Núcleo (N), lúmen (L).

Fig. 12: Epitélio glandular do ducto da glândula salivar principal em corte longitudinal. Núcleo (N), lúmen (L).

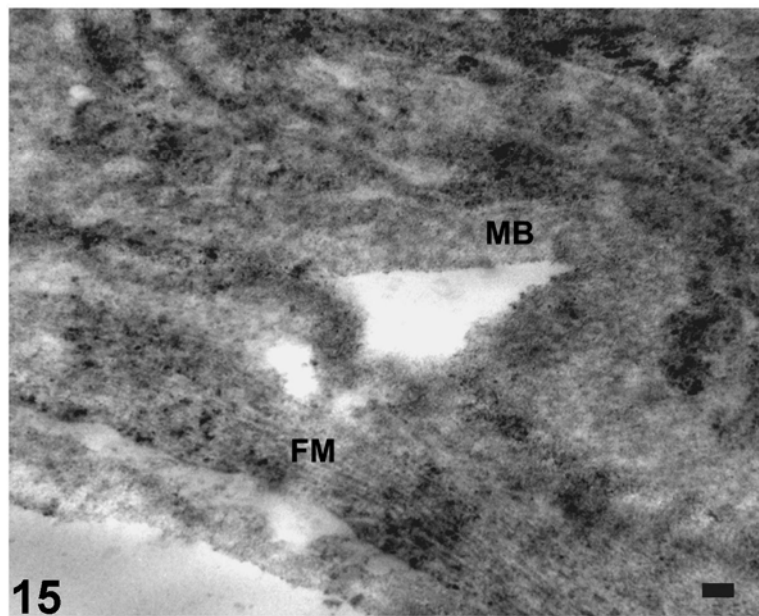
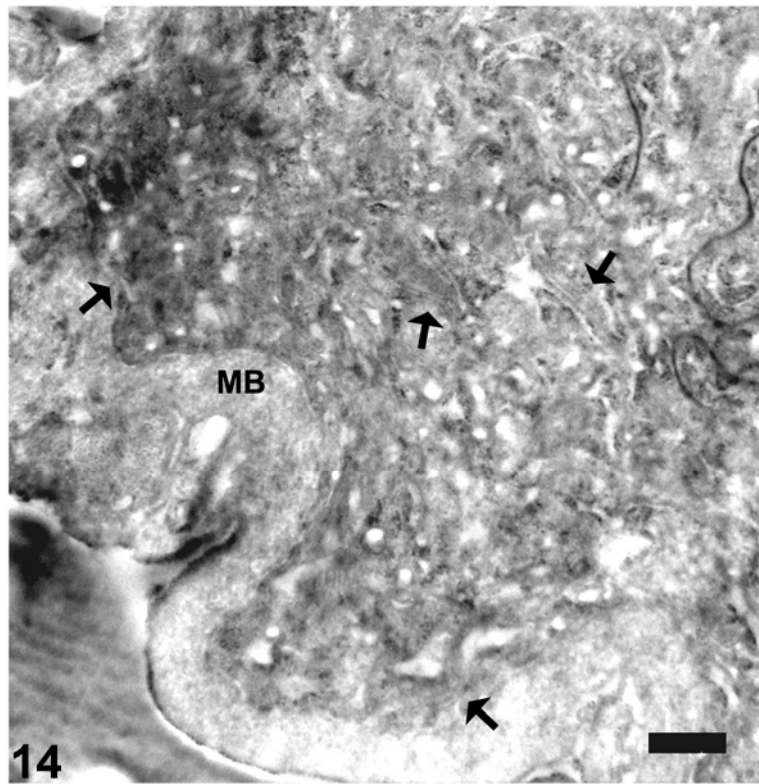
Fig. 13: Região proximal do ducto da glândula salivar principal em corte longitudinal. Epitélio (Ep), núcleo (seta), lúmen (L).



Figuras 14-15: Eletronmicrografias da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*.

Fig. 14: Região basal da célula secretora mostrando as invaginações da membrana plasmática basal formando o labirinto basal. Membrana basal (MB), dobra da membrana plasmática basal (seta). Barra 0,5 μm .

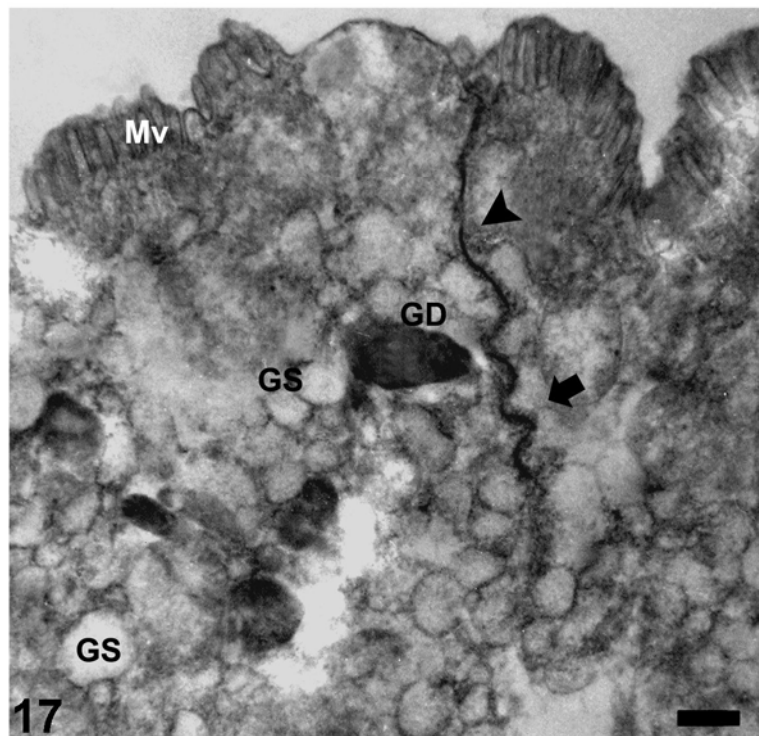
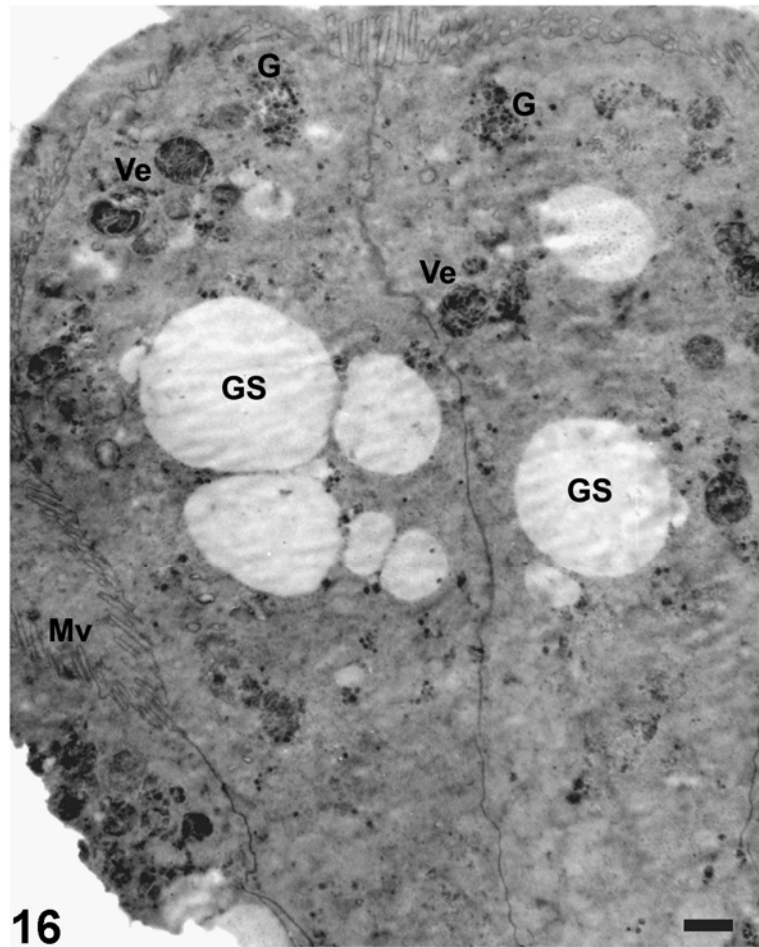
Fig. 15: Região basal da célula secretora mostrando a disposição das fibras musculares sob a membrana basal da célula secretora. Fibra muscular (FM), membrana basal (MB). Barra 0,1 μm .



Figuras 16-17: Eletronmicrografias da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*.

Fig. 16: Epitélio glandular. Gota de secreção (GS), vesícula (Ve), pequenos grânulos (G), microvilosidade (Mv). Barra 1,0 μm .

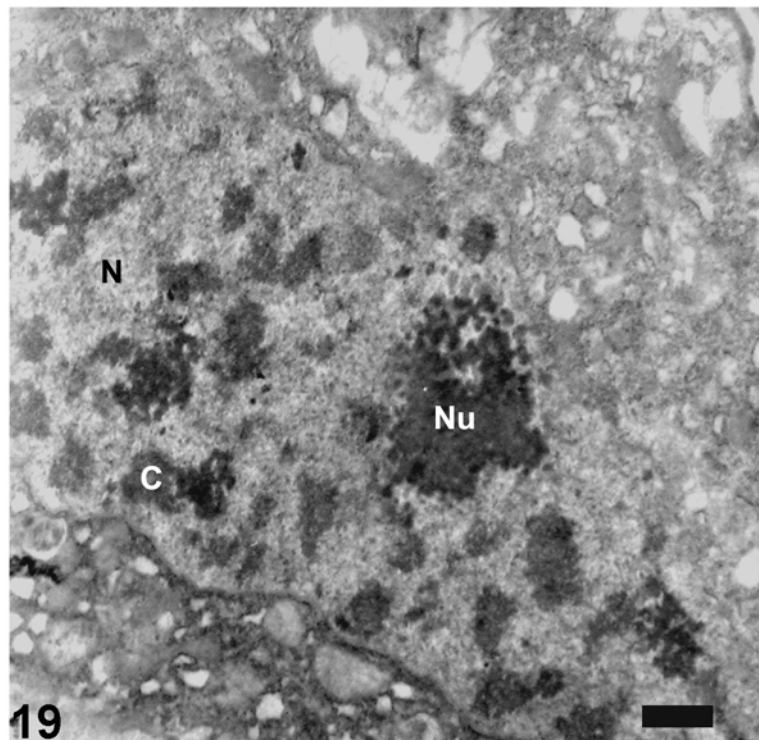
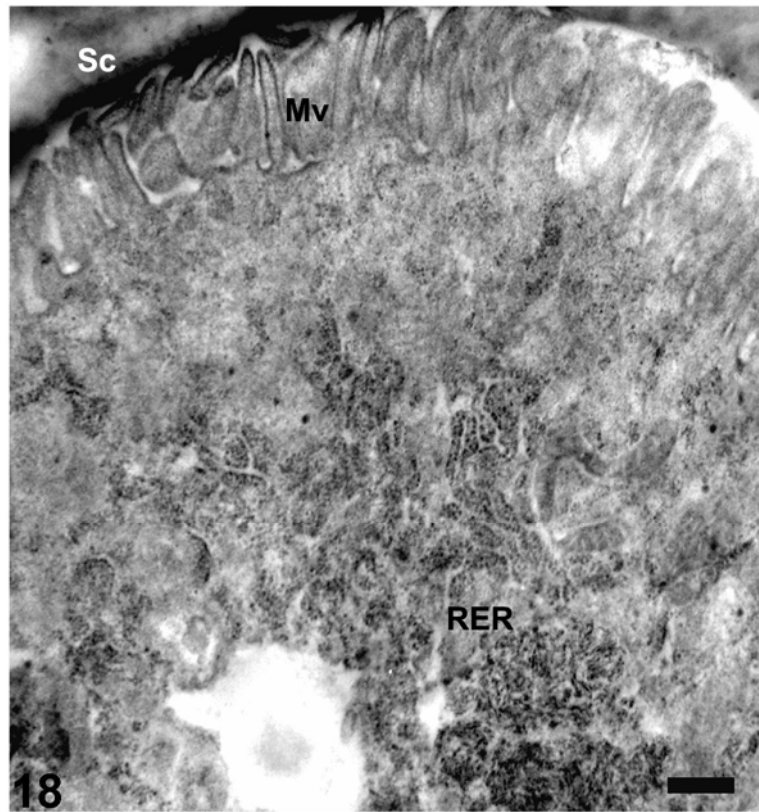
Fig. 17: Região médio-apical da célula secretora exibindo um citoplasma rico em gotas de secreção. Gota de secreção (GS), grânulo de secreção (GD), desmossoma (seta), junção aderente (cabeça de seta), microvilosidade (Mv). Barra 0,5 μm .



Figuras 18-19: Eletronmicrografias da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*.

Fig. 18: Região médio-apical da célula secretora. Retículo endoplasmático rugoso (RER), microvilosidade (Mv), secreção (Sc). Barra 0,5 μm .

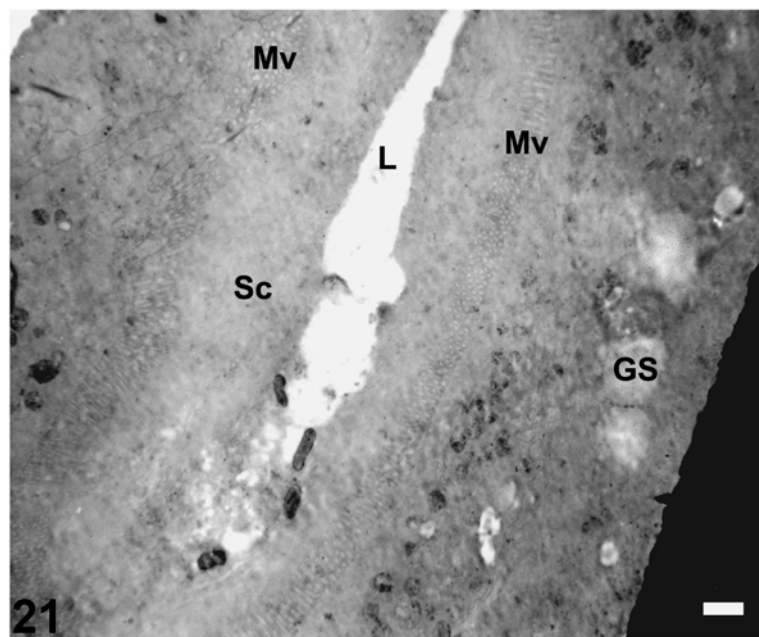
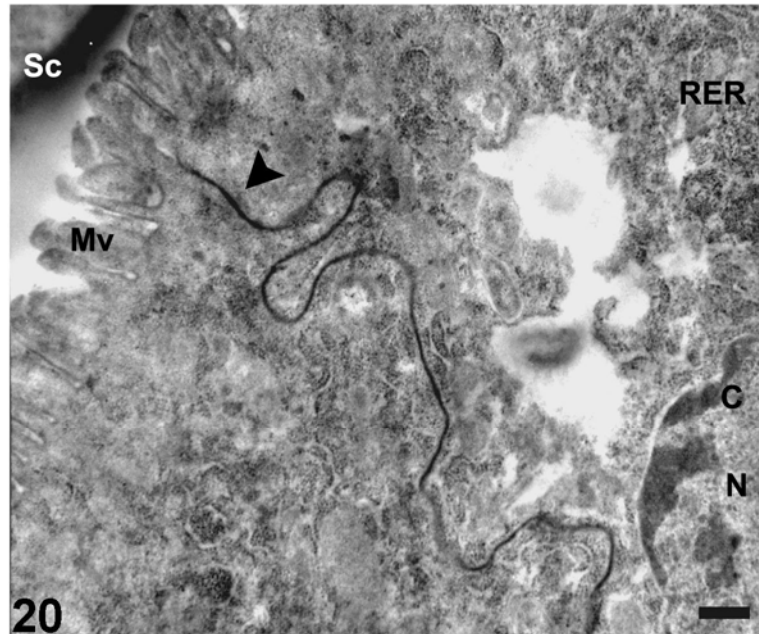
Fig. 19: Região mediana da célula secretora. Núcleo (N), nucléolo (Nu), cromatina condensada (C). Barra 2,0 μm .



Figuras 20-21: Eletronmicrografias da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*.

Fig. 20: Região médio-apical de células secretoras adjacentes. Núcleo (N), cromatina condensada (C), retículo endoplasmático rugoso (RER), junção aderente (cabeça de seta), microvilosidade (Mv), secreção (Sc). Barra 0,5 μm .

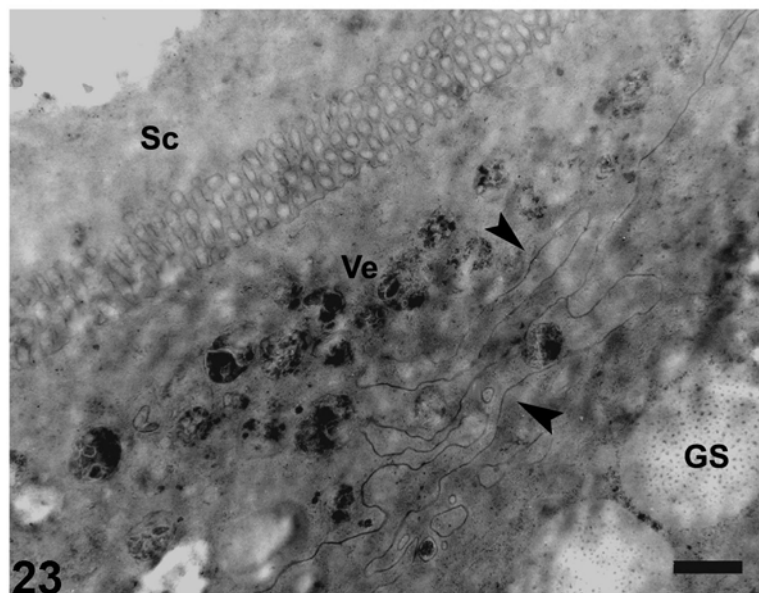
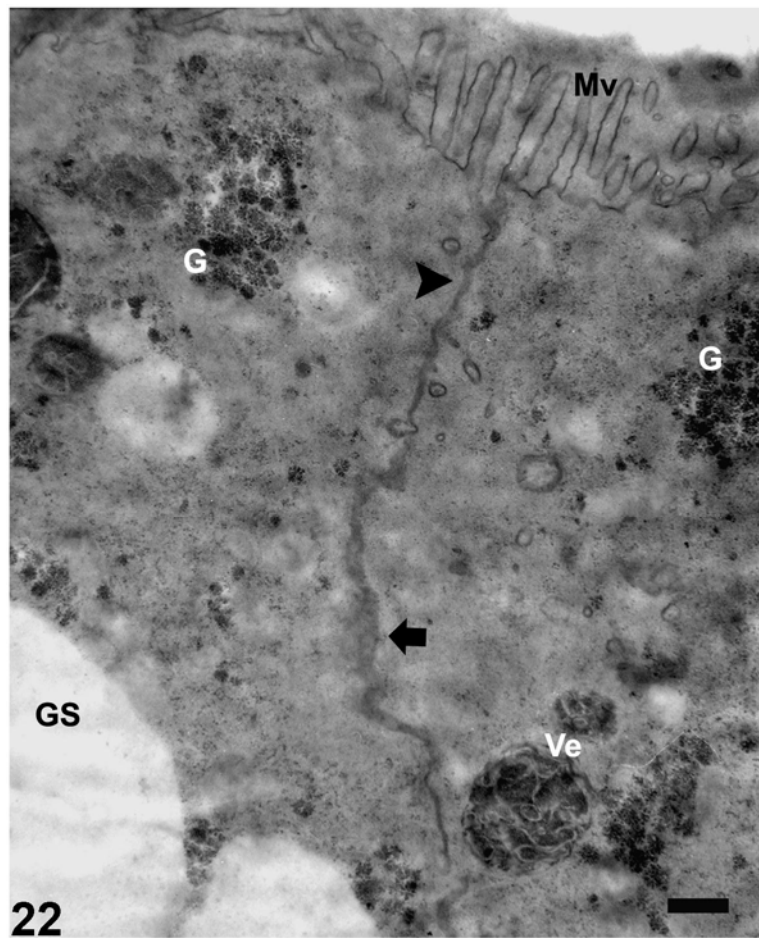
Fig. 21: Epitélio glandular revestindo o lúmen. Gotas de secreção (GS), microvilosidade (Mv), secreção (Sc), lúmen (L). Barra 2,0 μm .



Figuras 22-23: Eletronmicrografias da porção secretora das glândulas salivares principais de *Cimex hemipterus*.

Fig. 22: Detalhe da região apical da célula secretora. Gota de secreção (GS), vesícula (Ve), pequenos grânulos (G), desmossoma (seta), junção aderente (cabeça de seta), microvilosidade (Mv). Barra 0,5 μm .

Fig. 23: Região apical da célula secretora. Gota de secreção (GS), vesícula (Ve), interdigitação (cabeça de seta), microvilosidade (Mv), secreção (Sc). Barra 1,0 μm .



GLÂNDULAS SALIVARES ACESSÓRIAS

As glândulas salivares acessórias de *C. hemipterus* apresentam uma porção mais dilatada formada por epitélio variando de pavimentoso simples a cúbico simples, revestindo um lúmen amplo (Fig. 24 e 25). As células secretoras apresentam citoplasma de coloração acidófila, núcleo de forma oval e com cromatina condensada de distribuição homogênea (Fig. 25).

Na extremidade distal é observada uma região pequena formada por um conjunto celular que gradativamente aumenta em tamanho e exibe um lúmen pouco aparente (Fig. 26). Este conjunto celular abruptamente se distende ampliando o seu lúmen e termina na região posterior da porção vesicular (Fig. 27). O lúmen da extremidade distal apresenta secreção acidófila e homogênea, diferindo da secreção no lúmen da porção vesicular, a qual é bem diluída e heterogênea (Fig. 24 e 26).

O ducto glandular emerge de forma enovelada da região anterior da porção vesicular e é revestido por células achatadas que delimitam um lúmen estreito (Fig. 27). A cutícula é fina. As células do ducto apresentam citoplasma homogêneo de coloração acidófila e núcleo achatado (Fig. 28). Um pouco mais adiante, em porção mais próxima a região cefálica, o ducto mostra-se pouco enovelado (Fig. 29).

As células secretoras são baixas assentadas na membrana basal. O núcleo é achatado, de contorno irregular, com nucléolo evidente e cromatina de distribuição homogênea com dispersas áreas pouco elétron-densas (Fig. 30). As fibras musculares, por sua vez, repousam sob a membrana basal da célula secretora e envolvem externamente a glândula (Fig. 31).

O citoplasma da célula secretora apresenta-se vacuolado com mitocôndrias alongadas e agrupadas, como também dispersas próxima a membrana plasmática apical e basal (Fig. 32). Retículo endoplasmático liso bem desenvolvido com forma tubular e vesicular (Fig. 33) e áreas intercaladas com retículo endoplasmático rugoso (Fig. 34).

Na região apical são observados vacúolos de diferentes tamanhos contendo secreção pouco elétron-densa sendo eliminados no lúmen glandular, bem como figuras mielínicas (Fig. 30 e 34). As células adjacentes apresentam interdigitações com junções septadas, além de mitocôndrias próximas à membrana plasmática basolateral (Fig. 31 e 35).

Figuras 24-29: Fotomicrografias de secções histológicas das glândulas salivares acessórias de *Cimex hemipterus*. Coloração HE.

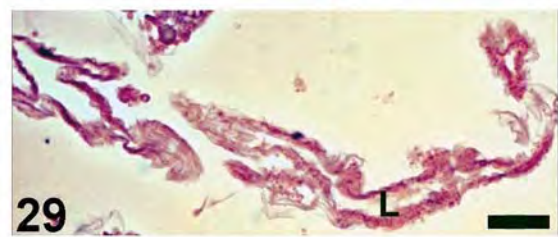
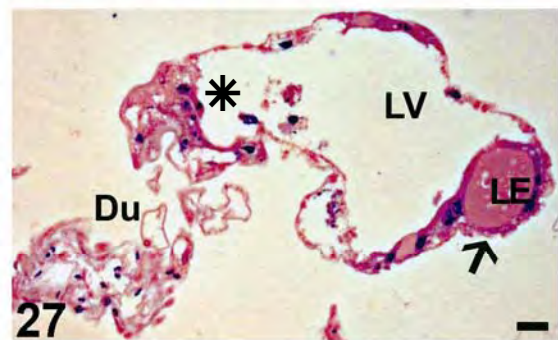
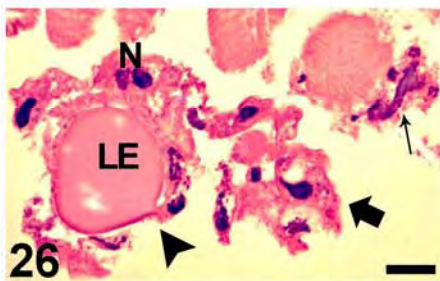
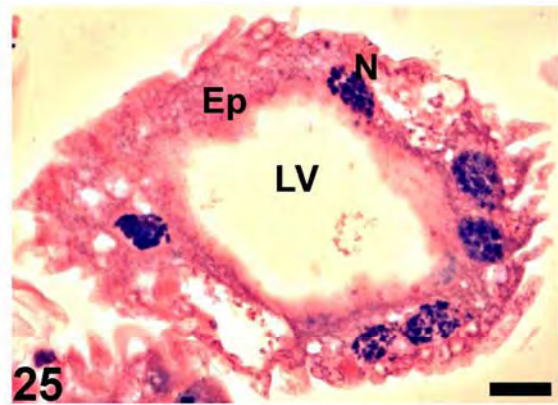
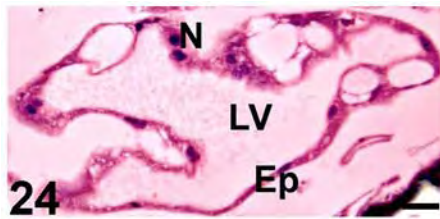
Fig. 24 e 25: Porção vesicular. Fig. 24: Região mediana. Barra 30 µm. Fig. 25: Região distal. Barra 10 µm. Epitélio (Ep), núcleo (N), lúmen (LV).

Fig. 26: Extremidade distal. O conjunto celular que forma a extremidade distal gradativamente aumenta de tamanho e exibe um lúmen em sua região mais próxima da porção vesicular. Conjunto celular distal (seta fina), conjunto celular mediano (seta grossa), conjunto celular proximal (cabeça de seta), lúmen (LE), núcleo (N). Barra 10 µm.

Fig. 27: Porção vesicular, extremidade distal e ducto. O conjunto celular que forma a extremidade distal termina na região posterior da porção vesicular e o ducto emerge de forma enovelada da região anterior da porção vesicular. Lúmen da porção vesicular (LV), terminação da extremidade distal (seta), lúmen da extremidade distal (LE), região anterior da porção vesicular (*), ducto (Du). Barra 10 µm.

Fig. 28: Detalhe do ducto emergindo de forma enovelada da região anterior da porção vesicular. Porção vesicular (PVA), ducto (Du), lúmen (L), núcleo (N). Barra 10 µm.

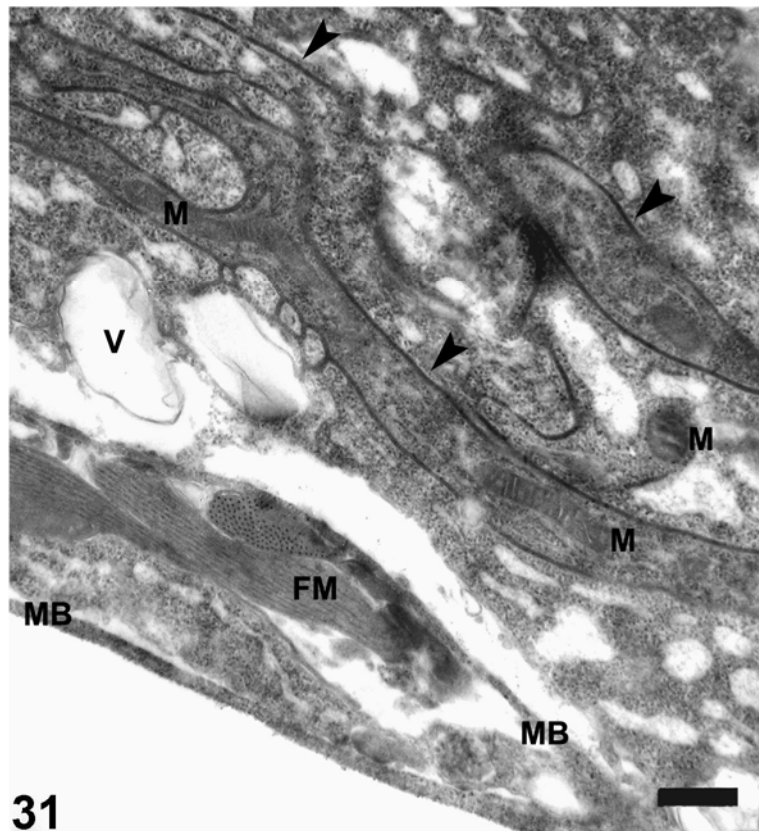
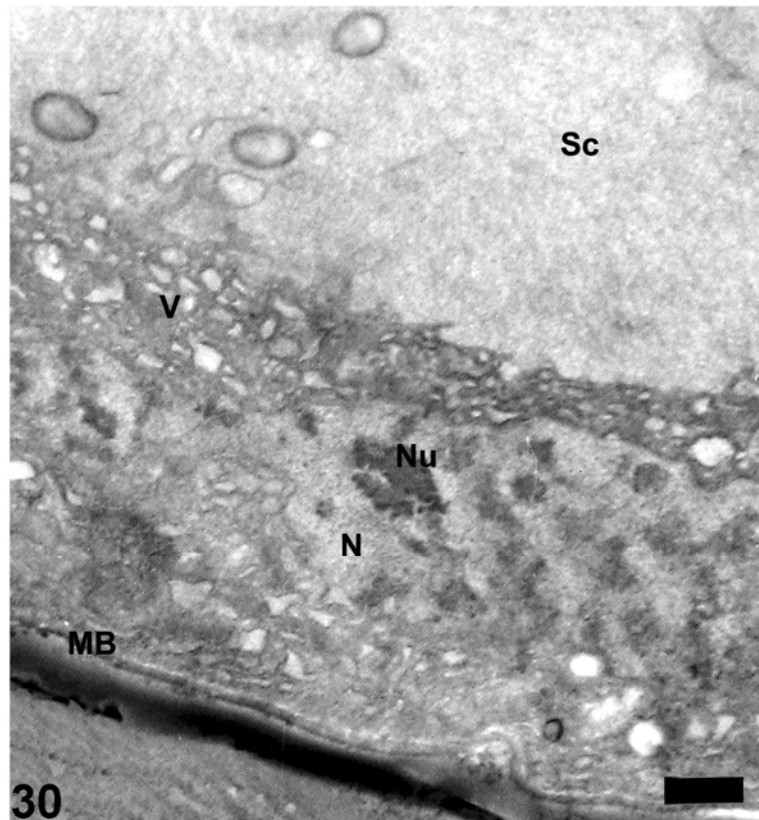
Fig. 29: Ducto proximal pouco enovelado em corte longitudinal. Lúmen (L). Barra 10 µm.



Figuras 30-31: Eletronmicrografias da porção vesicular das glândulas salivares acessórias de *Cimex hemipterus*.

Fig. 30: Célula secretora. Membrana basal (MB), núcleo (N), nucléolo (Nu), vacúolo (V), secreção (Sc). Barra 0,5 μm .

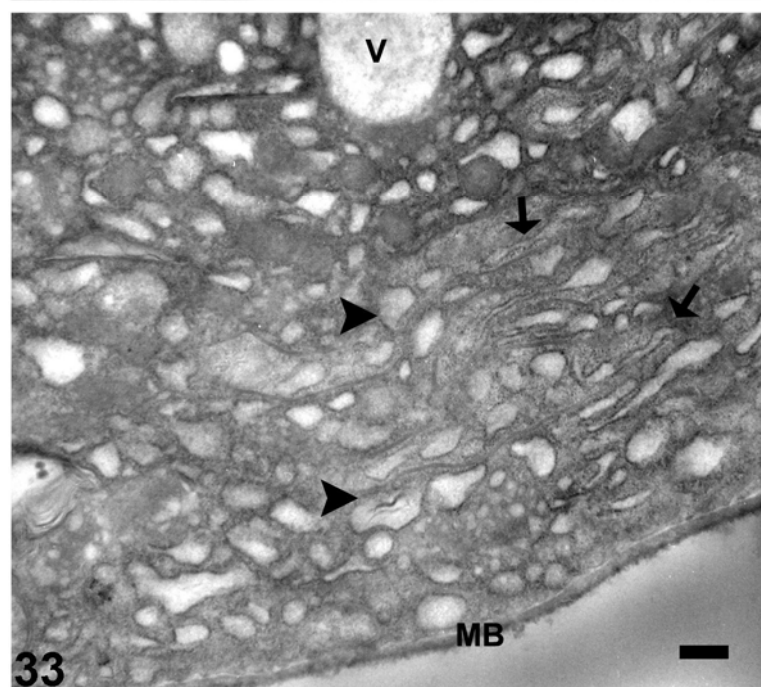
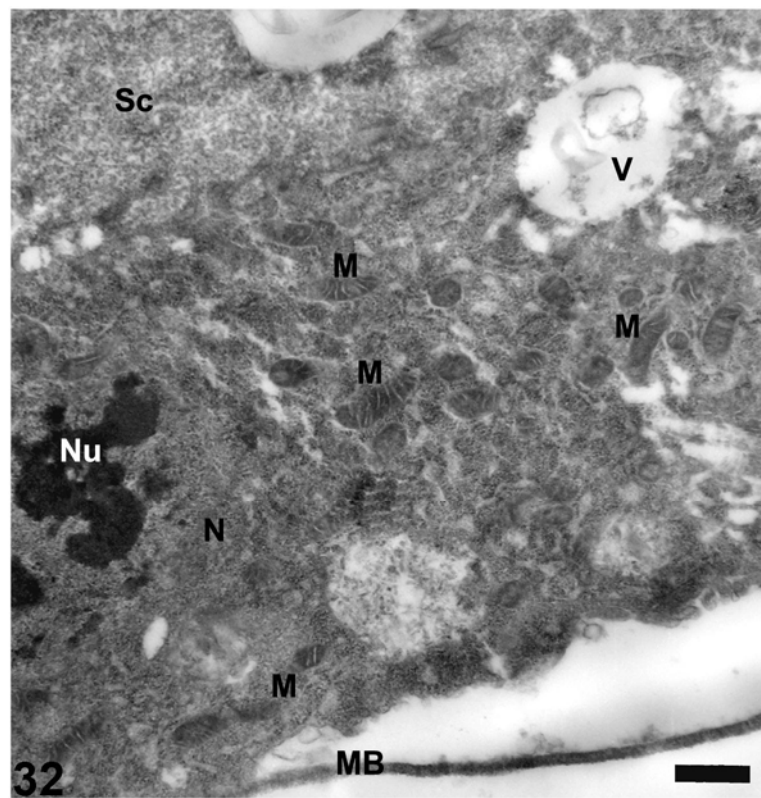
Fig. 31: Região basolateral da célula secretora. Membrana basal (MB), fibra muscular (FM), vacúolo (V), interdigitação (cabeça de seta), mitocôndria (M). Barra 2,0 μm .



Figuras 32-33: Eletronmicrografias da porção vesicular das glândulas salivares acessórias de *Cimex hemipterus*.

Fig. 32: Célula secretora mostrando o agrupamento mitocondrial no citoplasma. Membrana basal (MB), mitocôndria (M), núcleo (N), nucléolo (Nu), vacúolo (V), secreção (Sc). Barra 0,5: μm .

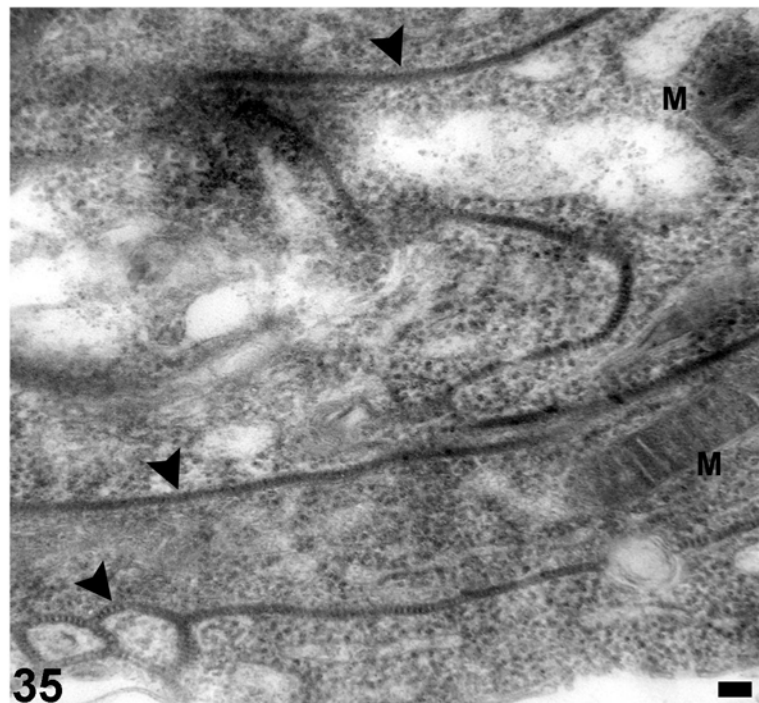
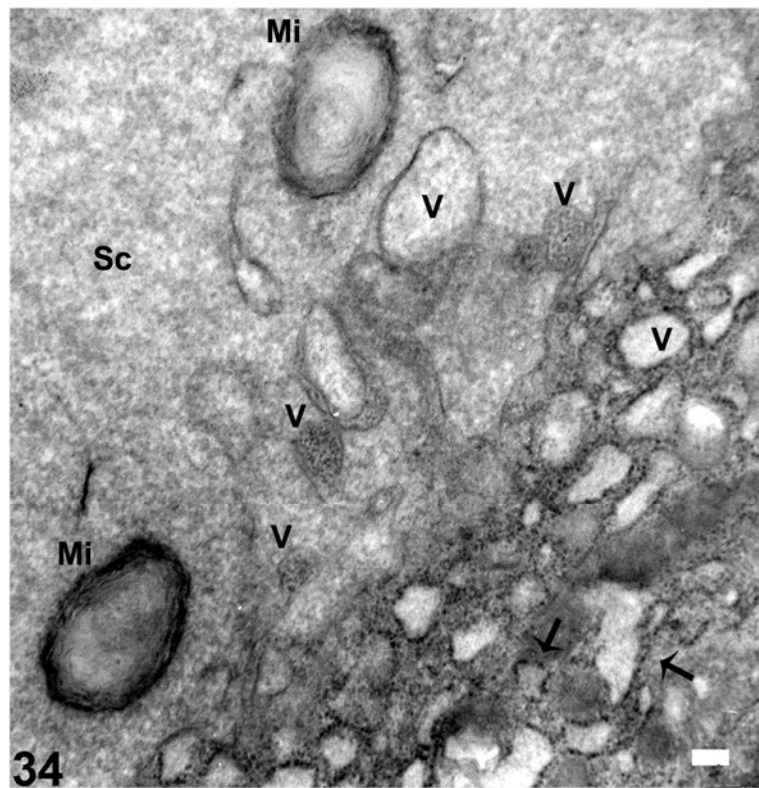
Fig. 33: Região basal da célula secretora mostrando a disposição do retículo endoplasmático tubular e vesicular no citoplasma. Membrana basal (MB), retículo endoplasmático tubular (seta), retículo endoplasmático vesicular (cabeça de seta), vacúolo (V). Barra 0,5 μm .



Figuras 34-35: Eletronmicrografias da porção vesicular das glândulas salivares acessórias de *Cimex hemipterus*.

Fig. 34: Detalhe da região apical da célula secretora mostrando liberação de vacúolos de diferentes tamanhos e elétrons densidades no lúmen glandular e figuras mielínicas. Cisternas de retículo endoplasmático rugoso (seta), vacúolo (V), figura mielínica (Mi), secreção (Sc). Barra 0,1 μm .

Fig. 35: Detalhe da região basolateral da célula secretora. Mitocôndria (M), interdigitações com junções septadas (cabeça de seta). Barra 0,1 μm .



DISCUSSÃO

O padrão anatômico do sistema salivar de *C. hemipterus* com um par de glândulas salivares principais e um par de glândulas salivares acessórias é similar a outros Heteroptera e semelhante às glândulas salivares de *C. lectularius* (Puri, 1924; Baptist, 1941; Usinger, 1966; Forattini, 1990) (Fig. 36). Entretanto, não foi observado o formato piriforme para a glândula salivar principal em *C. hemipterus*.

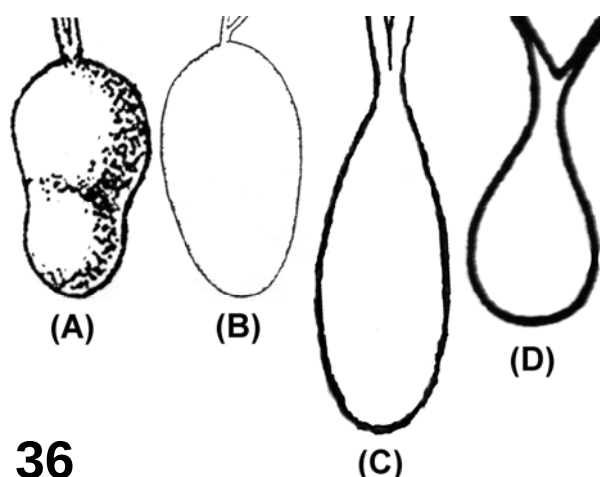


Figura 36 – Representação esquemática da glândula salivar principal de *C. lectularius*. (A) Puri, 1924. (B) Baptist, 1941. (C) Usinger, 1966. (D) Forattini, 1990. Sem escala.

Há variações na conformação das glândulas salivares principais de *C. lectularius*, as quais apresentam um pouco curtas (Baptist, 1941), relativamente mais longas (Usinger, 1966) e até mais dilatadas (Forattini, 1990) (Fig. 36). Estas diferenças podem ser em decorrência do estado de nutrição do inseto. Baptist (1941) expõe que para *Rhodnius*, *Triatoma* e *Cimex* não existem diferenças na aparência estrutural das células secretoras antes e imediatamente após a alimentação. Entretanto, em *Triatoma infestans* em jejum as glândulas salivares são repletas de secreção, com tecidos glandulares distendidos e células em repouso, sendo que em indivíduos após o término do repasto se encontram todos os tipos intermediários de células secretoras entre o começo da regeneração e a fase de plena secreção ou até em repouso (Barth, 1954). Aqui, o termo repouso designado por Barth (1954) é

utilizado para denominar a célula secretora que está em atividade para manutenção celular e em condições de secretar sem demora grande quantidade de líquido por ocasião da picada. Deste modo, dependendo das fases de secreção que se encontram as células secretoras, elas interferem no intumescimento e na conformação geral da glândula salivar, o que pode ser a explicação para as diferenças encontradas nestes esquemas (Fig. 36).

Anatomicamente, as glândulas salivares acessórias de *C. lectularius* apresentam uma extremidade distal afilada (Usinger, 1966; Forattini, 1990), entretanto esta extremidade é ausente nos esquemas de Puri (1924) e Baptist (1941) (Fig. 37). Em *C. hemipterus* pôde-se observar em cortes histológicos a extremidade distal como um agrupamento celular com lúmen pouco aparente, o qual aumenta em tamanho e desemboca na região posterior da porção vesicular. No predador *Brotochoris tabidus*, uma região similar foi observada no lobo posterior da glândula salivar principal (Azevedo *et al.*, no prelo). As funções das células nesta região da glândula permanecem desconhecidas, pois os resultados aqui obtidos não evidenciaram diferenças ultra-estruturais entre as células secretoras, apesar de terem sido observadas diferenças na aparência da secreção. Como a função das glândulas salivares acessórias é o aumento do volume da água salivar (Baptist, 1941; Miles, 1960; Miles, 1972; Miles e Slowiak, 1976), estas diferenças podem ser explicadas pela diluição da secreção na porção vesicular.

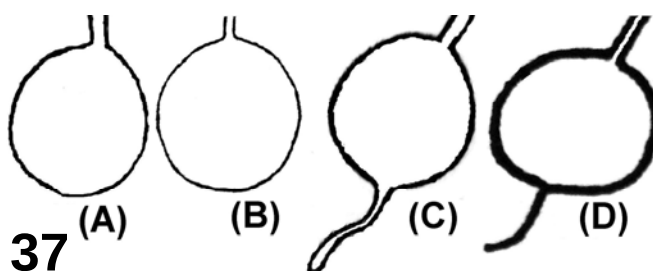


Figura 37 – Representação esquemática da glândula salivar acessória de *C. lectularius*. (A) Puri, 1924. (B) Baptist, 1941. (C) Usinger, 1966. (D) Forattini, 1990. Sem escala.

O branco translúcido verificado nas glândulas salivares principais de *C. hemipterus* difere da coloração amarela alaranjada, laranja tijolo ou marrom

avermelhada encontrada em *C. lectularius* (Puri, 1924; Valenzuela e Ribeiro, 1998), bem como branca leitosa ou um pouco amarelada, avermelhada ou até vermelho cereja em Reduviidae (Konig *et al.*, 1993; Lacombe, 1999; Reis *et al.*, 2003). A coloração da glândula é resultante da presença de secreção no lúmen (Lacombe, 1999), logo grande quantidade de secreção confere uma coloração leitosa e, ausência ou pouca quantidade desta conduz a translucidez. Entretanto, a cor laranja avermelhada em *C. lectularius* indica a presença de nitroforina, hemeproteína carreadora do óxido nítrico que tem ação vasodilatadora e anti-plaquetária no tecido do hospedeiro (Valenzuela e Ribeiro, 1998). E a cor vermelha cereja em *Rhodnius* é devido a pigmentos derivados de vestígios de hemoglobina sugada por ocasião da picada (Konig *et al.*, 1993). Assim, diferenças morfológicas, principalmente na cor, refletem provavelmente, diferenças no papel fisiológico das glândulas salivares em relação à constituição e formação da saliva (Reis *et al.*, 2003). As glândulas salivares principais têm a função de produzir proteínas (Baptist, 1941; Miles, 1960; Miles, 1972; Swart e Felgenhauer, 2003; Reis *et al.*, 2003; Swart *et al.*, 2006; Azevedo *et al.*, no prelo), porém o branco translúcido observado nas glândulas salivares principais de *C. hemipterus* pode ser explicado pela maior quantidade de água devido à absorção de substâncias da hemolinfa para o lúmen da glândula, sugerida pela presença de invaginações na membrana plasmática na região basal das células secretoras. Dobras na membrana plasmática aumentam a superfície de transporte de íons e passagem de água da hemocele através da célula modificando o fluido no lúmen glandular (Abdalla e Cruz-Landim, 2005). Deste modo o aumento do volume de água no lúmen transforma a secreção em um fluido mais aquoso resultando numa secreção transparente.

As glândulas salivares acessórias, por sua vez, também se apresentam transparentes, mas sua função é de contribuir no aumento do volume da água salivar (Baptist, 1941; Miles, 1960; Miles, 1972; Miles e Slowiak, 1976), consequentemente produz uma saliva aquosa, transparente e alcalina (Baptist, 1941; Lacombe, 1999; Swart e Felgenhauer, 2003), o que reflete em sua cor.

Em Heteroptera as glândulas salivares principais em regra são bilobadas (Baptist, 1941), entretanto Miles (1972) expõe que em Pentatomorpha, apenas Pentatomidae retém a condição bilobada simples e as outras famílias apresentam uma multiplicação secundária dos lobos. Insetos fitófagos requerem uma divisão de trabalho entre os vários lobos da glândula salivar principal para a produção de uma

saliva mais elaborada (Miles, 1972). Entretanto, nos Cimicomorpha hematófagos ocorreu perda da condição bilobada simples, sendo que em *Cimex* o lobo anterior da glândula salivar desapareceu completamente (Miles, 1972). Embora a condição unilobada guie a pensar como uma condição plesiomórfica, a perda da condição bilobada simples e o desaparecimento por completo do lobo anterior da glândula salivar principal foi sugerido por Baptist (1941), como uma condição que ocorreu em grupos hematófagos, possivelmente pela degeneração do lobo anterior. Esta redução secundária da estrutura é atribuída à redução no número de funções realizadas pela saliva comparada com a função salivar de outros Cimicomorpha, fitófagos e predadores (Miles, 1972).

A glândula salivar principal referida como lobos anterior e posterior por Baptist (1941) e como D1 e D2 em triatomíneos, tem a função, respectivamente, na produção de substância anticoagulantes e hemolíticas (Barth, 1954; Lacombe, 1999). Embora a glândula salivar principal seja unilobar em *Cimex*, é desconhecido se a perda do lobo anterior pode afetar a fisiologia salivar em cimicídeos (Miles, 1972). Porém a saliva de *C. lectularius* possui proteínas que exibem ações proteolíticas (Valenzuela *et al.*, 1996a), vasodilatadoras (Valenzuela *et al.*, 1995; Valenzuela e Ribeiro, 1998) e anticoagulantes (Valenzuela *et al.*, 1996b), que inibem a barreira hemostática no local da picada, permite a obtenção do sangue por suas peças bucais e mantêm a fluidez do sangue no seu próprio trato digestivo (Ciprandi *et al.*, 2003). Portanto, como em outros insetos hematófagos, *Cimex* desenvolveu recursos semelhantes para a alimentação sangüínea que afetam, progressivamente, a hemostasia, inflamação e imunidade do vertebrado auxiliando na sucção do sangue do hospedeiro (Ribeiro e Francischetti, 2003), por conseguinte não pode ser descartada a hipótese de ocorrência de diferenciação espacial na produção de proteínas na glândula unilobada de *C. hemipterus*.

O citoplasma das células secretoras da glândula salivar principal de *C. hemipterus* é rico em gotas de secreção, vesículas e grânulos de glicogênio. Este aspecto confere um aumento em espessura na região celular apical (Baptist, 1941). Segundo Barth (1954), a produção de secreção em *Triatoma infestans* conduz ao crescimento celular no sentido vertical, pois seu limite lateral pouco aumenta devido às células vizinhas (Fig. 38), e a célula atinge o dobro da altura inicial e somente o bordo apical participa desse aumento, o que resulta no arqueamento da célula para dentro da luz glandular. Em *C. hemipterus* observou-se que algumas células

secretoras apresentam a parte basal mais estreita e o bordo apical mais largo. Aqui, o acúmulo de gotas de secreção, vesículas e grânulos de glicogênio a partir da região mediano-apical resulta no aumento da espessura em direção a parte celular mais apical, a célula se projeta no lúmen glandular, conferindo à glândula um lúmen estreito.

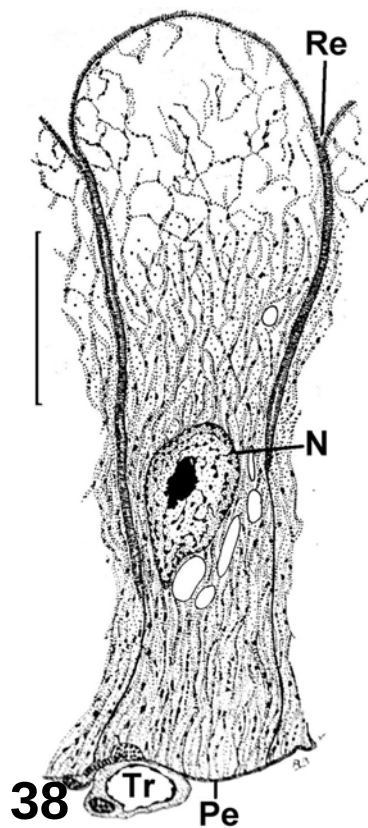


Figura 38 – Representação esquemática da célula secretora antes da expulsão das secreções em *Triatoma infestans* (Barth, 1954). Traquéia (Tr), peritônio (Pe), núcleo (N), reentrância entre duas células (Re). Barra 30 µm.

Células com a região basal menor que a região apical, de um modo geral não formaria uma estrutura com um lúmen central para liberação e armazenamento da secreção, ou seja, o fechamento do epitélio da glândula salivar principal de *C. hemipterus* em uma estrutura oval não seria possível. Este fato pode ser explicado pelas observações de Barth (1954) em glândulas salivares principais de *T. infestans*, nas quais apenas a região basal das células secretoras apresenta limitada pelas células vizinhas (Fig. 38), permitindo que a região mediano-apical participe do crescimento

celular, como também no epitélio glandular são encontradas células secretoras em diferentes estágios de secreção em *T. infestans* em jejum.

Vacúolos elétrons-lúcidos também foram encontrados nas células das glândulas salivares de *Culex quinquefasciatus* (Sais *et al.*, 2003). Presença de gotas elétron-lúcido no citoplasma da célula secretora da glândula salivar principal de *C. hemipterus* sugere constituição glicoprotéica (Sais *et al.*, 2003), lipídica ou lipoprotéica (Nunes e Camargo-Mathias, 2006). Entretanto gotas de secreção elétron-lúcidas que a microscopia eletrônica são esféricas e sem membrana limitante indicam, provavelmente de gotas lipídicas (Geneser, 2003; Alberts *et al.*, 2004).

O citoplasma contendo grânulos de secreção foi encontrado nas glândulas salivares de outros insetos (Baptist, 1941; Wayadande *et al.*, 1997; Just e Walz, 1994; Del Bene *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 2003; Nunes e Camargo-Mathias, 2006; Azevedo *et al.*, no prelo), bem como são freqüentes em outros tipos de glândulas (Abdalla e Cruz-Landim, 2004; 2005). A presença de retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido e grânulos de secreção elétron-densos indicam intensa síntese protéica e secreção de conteúdo protéico (Just e Walz, 1994; Del Bene *et al.*, 1999; Moreira-Ferro *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 2003; Sais *et al.*, 2003; Nunes e Camargo-Mathias, 2006), o que é suportado pela grande quantidade de proteínas na saliva de *C. lectularius* (Valenzuela *et al.*, 1996a, Valenzuela e Ribeiro, 1998).

As vesículas elétron-densas observadas no citoplasma mediano-apical das células secretoras das glândulas salivares principais de *C. hemipterus* provavelmente tratam de lisossomos secundários. Lisossomos podem ser definidos como vesículas mais ou menos arredondadas limitadas por membrana, com conteúdo elétron-denso e heterogeneidade na morfologia (Geneser, 2003; Alberts *et al.*, 2004). O alto conteúdo de enzimas hidrolíticas origina o aspecto denso e as morfologias diversas refletem as variações de quantidade e da natureza do material que estão digerindo (Alberts *et al.*, 2004). Deste modo conteúdo lisossômico de aspecto liso e homogêneo diz respeito a lisossomos primários e conteúdo de aspecto variável a lisossomos secundários. Entretanto, a identificação de lisossomos com base apenas no aspecto é incerta, são necessárias análises histoquímicas para determinação de algumas hidrolases ácidas.

Microvilosidades também foram relatadas nas células das glândulas salivares de *Circulifer tenellus* e *Dalbulus maidis* (Cicadellidae) (Wayadande *et al.*, 1997), *Grigiotermes bequaerti* (Termitidae) (Costa-Leonardo e Cruz-Landim, 1990),

Periplaneta americana (Blattidae) (Just e Walz, 1994), *Heliothrops haemorrhoidalis* (Thripidae) (Del Bene *et al.*, 1999), *Triatoma infestans* (Triatominae) (Reis *et al.*, 2003) e *Mahanarva fimbriolata* (Cercopidae) (Nunes e Camargo-Mathias, 2006). Nas glândulas salivares, as microvilosidades estão relacionadas com a reabsorção de água, eletrólitos e outros componentes da secreção exercendo um papel na maturação inicial da saliva (Nunes e Camargo-Mathias, 2006). As células glandulares são responsáveis pelo movimento de água para dentro do lúmen da glândula, pois bombas H^+ -ATPase presentes na membrana plasmática das microvilosidades trocam H^+ por Na^+ ou K^+ através do transporte acoplado antiporte H^+ -cátion, resultando em alta concentração iônica no lúmen e consequentemente, cria um gradiente osmótico através da célula (Chapman, 1998). A movimentação de prótons do lúmen para dentro da célula, em contrapartida, determina um potencial eletrôn-químico e um gradiente iônico que resulta no movimento de água e íons através da membrana basal (Gupta e Hall, 1983). Dobras na membrana plasmática sugerem absorção de água e íons da hemolinfa e a associação com glicogênio e mitocôndrias suprem a necessidade energética para a tarefa (Costa-Leonardo e Cruz-Landim, 1990).

A presença de microvilosidades na célula secretora e pequenas vesículas de secreção brotando através da membrana plasmática sugerem um transporte de componentes salivares para o lúmen pelo processo de secreção merócrino, e a liberação de grandes vesículas e gotas de secreção contendo porções do citoplasma indicam processo de secreção apócrino e favorecem a secreção de grande volume de componentes citoplasmáticos (Barth, 1954; Reis *et al.*, 2003). Partindo deste princípio, as células das glândulas salivares principais de *C. hemipterus* apresentam tanto secreção merócrina quanto apócrina, e deste modo podemos inferir que diferentes formas de liberação de produtos celulares podem indicar secreção de diferentes tipos de substâncias. Em triatomíneos, por exemplo, as glândulas salivares D1 e D2 têm a função, respectivamente, na produção de substância anticoagulantes e hemolíticas, entretanto as células secretoras da glândula D1 têm secreção apócrina e as da glândula D2 é do tipo merócrina, isto é, a liberação da secreção para o lúmen glandular resulta em perda de parte do epitélio na glândula D1, e na D2, a liberação é resultante do fluxo contínuo de gotículas de secreção (Barth, 1954; Lacombe, 1999).

Junções aderentes e desmossomos presentes na membrana plasmática de células adjacentes da glândula salivar principal de *C. hemipterus* demonstra uma forte adesão celular. No intestino de insetos, geralmente as junções aderentes se

localizam na região apical do epitélio, entretanto na presença de cutícula, estas junções se localizam em áreas mais basais (Lane *et al.*, 1996). Em *C. hemipterus* as junções aderentes se encontram na região apical da célula secretora. Junções aderentes e junções septadas foram encontradas nas membranas plasmáticas adjacentes de células acinares internas do ducto da glândula salivar de *Periplaneta americana* (Just e Walz, 1994). Em *Heliothrips haemorrhoidalis* foram encontradas junções septadas e junções comunicantes nas células secretoras principais (Del Bene *et al.*, 1999). Também foram encontradas junções septadas entre células adjacentes da glândula salivar de *Culex quinquefasciatus* (Sais *et al.*, 2003) e junções comunicantes em *Anopheles darlingi* (Moreira-Ferro *et al.*, 1999). Entretanto, Just e Walz (1994) observaram nos locais das junções septadas uma redução da distância entre as membranas plasmáticas de células adjacentes das glândulas salivares de *P. americana*, denominada de “*membrane kisses*”. Esta membrana foi interpretada como junção compacta. Segundo Alberts *et al.* (2004), junções compactas ocorrem em vertebrados e junções septadas em invertebrados. Porém, nos percevejos de cama aqui estudados não foram observadas junções compactas e septadas nas glândulas salivares principais, mas pode-se observar que a irregularidade do contorno celular e presença de interdigitações conferem uma disposição com áreas aparentemente mais espessas e elétron-densas, as quais foram denominadas de desmossomos. Em artrópodes, os desmossomos não são genuinamente como nos vertebrados, pois são ausentes filamentos intermediários e em insetos, a placa citoplasmática dos desmossomos está associada aos microtúbulos (Lane *et al.*, 1996).

No que diz respeito à estrutura das glândulas salivares acessórias de *C. hemipterus*, estas são similares à descrição de Baptist (1941) para *C. lectularius*, na qual a porção vesicular da glândula apresenta um epitélio simples achatado composto por células poligonais circundadas por uma membrana basal. *C. hemipterus* apresentou epitélio baixo como em triatomíneos (Lacombe, 1999) e células com citoplasma vacuolado e grânulos de secreção corroborando a descrição de Baptist (1941).

Células secretoras com citoplasma acidófilo contendo vacúolos que não se coram com as técnicas histológicas de rotina e que a microscopia eletrônica são elétrons-lúcidos, bem como presença de retículo endoplasmático liso desenvolvido e lúmen glandular contendo figuras mielínicas, indicam que o produto de secreção da glândula salivar acessória é de natureza lipídica (Han e Bordereau, 1982; Geneser,

2003; Alberts *et al.*, 2004). Entretanto produto de secreção elétron-lúcida sugere constituição glicoprotéica (Sais *et al.*, 2003), lipídica ou lipoprotéica (Nunes e Camargo-Mathias, 2006).

A detecção de lipídios na secreção das glândulas salivares acessórias foi empregada primeiramente por Barth (1954) em *T. infestans*, e estas exibiram uma secreção aquosa com poucas substâncias lipídicas. Em análises citoquímicas, as células das glândulas salivares acessórias apresentaram uma fraca marcação devido a perda de componentes lipídicos durante o processo de fixação e de desidratação ou devido as gotas lipídicas conter lipídios saturados como maior componente (Reis *et al.*, 2003). Barth (1954) considera a secreção das glândulas salivares acessórias um veículo para as substâncias secretadas nas glândulas salivares principais de *T. infestans*, e deste modo, a natureza oleosa e aquosa da secreção das glândulas salivares acessórias serve para emulsionar e diluir a secreção das glândulas salivares principais. A partir daí, a mistura origina uma saliva menos concentrada, o que pode estar ocorrendo no sistema salivar de *C. hemipterus*.

Mitocôndrias abundantes também foram observadas em células da glândula salivar acessória de Heteroptera (Baptist, 1941), *C. tenellus* e *D. maidis* (Wayadande *et al.*, 1997), *G. bequaerti* (Costa-Leonardo e Cruz-Landim, 1990), *H. haemorrhoidalis* (Del Bene *et al.*, 1999), *T. infestans* (Reis *et al.*, 2003), e *M. fimbriolata* (Nunes e Camargo-Mathias, 2006). Grande quantidade de mitocôndrias e retículo endoplasmático desenvolvido sugere que a célula é muito ativa metabolicamente (Wayadande *et al.*, 1997), porém mitocôndrias podem estar associadas na produção de secreção lipídica (Caetano *et al.*, 2002; Nunes e Camargo-Mathias, 2006) ou quando próximas do lúmen glandular podem indicar troca de íons entre o meio intra e extracelular (Costa-Leonardo e Cruz-Landim, 1990; Nunes e Camargo-Mathias, 2006). Longas mitocôndrias associadas à membrana plasmática nas interdigitações da porção basal da célula secretora como encontrado em *H. haemorrhoidalis* (Del Bene *et al.*, 1999), indicam que a célula é especializada na produção de secreção fluida pela difusão de componentes da hemolinfa através da lâmina basal. Esta disposição citoplasmática, ou seja, o aumento de superfície celular e a riqueza de mitocôndrias são similares àquela envolvida no transporte de água e íons (Costa-Leonardo e Cruz-Landim, 1990; Just e Walz, 1994). No caso da glândula salivar acessória de *C. hemipterus*, foram encontradas mitocôndrias próximas à membrana plasmática apical e basolateral, e aos vacúolos, indicando que estas

células apresentam intensa atividade no movimento de água e no metabolismo de lipídios. Ambas as substâncias estariam envolvidas na diluição das proteínas salivares e na lubrificação do aparelho bucal.

Junções septadas na região látero-apical previnem a entrada e/ou saída de substâncias do lúmen da glândula para a hemocele através do espaço intercelular (Abdalla e Cruz-Landim, 2004). Podemos aqui inferir que a presença de junções septadas na glândula salivar acessória de *C. hemipterus* pode impedir o transporte de moléculas através do espaço intercelular.

Tanto as glândulas salivares principais quanto as acessórias exibiram o epitélio glandular assentado em fibras musculares. De acordo com Reis *et al.* (2003), fibras musculares cobrindo epitélio das glândulas salivares auxiliam no processo de liberação da secreção.

As células dos ductos das glândulas salivares principais e acessórias são baixas e com o núcleo achatado, podendo indicar que a síntese de substâncias é apenas para manutenção do metabolismo celular e formação cuticular. Ao contrário das células glandulares com intensa síntese de produtos que necessitam de um núcleo volumoso com superfície relativamente extensa para suprir a necessidade de ácidos nucléicos e regular a regeneração celular depois da secreção e assim, restaurar a sua capacidade secretora (Barth, 1954). Este aspecto ocorre com as células secretoras das glândulas salivares principais de *C. hemipterus*, pois apresentam dois núcleos e superfície nuclear irregular.

A presença de uma fina cutícula revestindo células achatadas nos ductos das glândulas salivares principais e acessórias são características de regiões onde não ocorre absorção, embora tenha sido sugerido que estas células modificam o fluído que passa em seu lúmen pela remoção de cátions e de um pouco de água da secreção salivar (Chapman, 1998).

No presente estudo pode-se concluir que as glândulas salivares de *C. hemipterus* exercem duas diferentes funções: 1) o transporte de íons e água da hemolinfa para o lúmen glandular e, 2) a síntese e secreção de enzimas e outras substâncias salivares. Análises citoquímicas e histoquímicas são necessárias para quantificar a possível secreção protéica existente nas glândulas salivares acessórias de *C. hemipterus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdalla FC, Cruz-Landim C (2004). Occurrence, morphology and ultrastructure of the Dufour gland in *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini). **Revista Brasileira de Entomologia** 48 (1): 9-19.

Abdalla FC, Cruz-Landim C (2005). Ocorrência, morfologia e ultra-estrutura da glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Neotropical Entomology** 34 (1): 047-057.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2004). **Biologia Molecular da Célula**. 4ª ed. Porto Alegre, Artmed, 1464 pp.

Amato Neto V, Lopes MH, Umezawa ES, Ruocco RMSA, Dias JCP (2000). Outras formas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. **Revista de Patologia Tropical** 29 (Supl.): 115-129.

Azevedo DO, Serrão JE, Zanuncio JC, Zanuncio Jr. JS, Martins GF, Marques-Silva S, Sossai MF (no prelo). Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**.

Baptist BA (1941). The morphology and physiology of the salivary glands of Hemiptera-Heteroptera. **Quarterly Journal of Microscopical Science** 82: 91-139.

Barth R (1954). Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). IV. Parte: O complexo das glândulas salivares de *Triatoma infestans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 52 (3/4): 517-585.

Boase C (2001). Bedbugs back from the brink. **Pesticide Outlook** 12: 159-162.

Brumpt E (1949). *Precis de parasitologie*. **In:** Parasites animaux. Liste des secteurs naturels et expérimentaux du *Trypanosoma cruzi* (suite). 16^a ed., Paris, Masson et Cie., p 328.

Burnett JW, Calton GJ, Morgan RJ (1986). Bedbugs. **Cutis** 38 (1): 20.

Burton GJ (1963). Bedbugs in relation to transmission of human diseases. **Public Health Reports** 78: 513-524.

Busvine JR (1966). Insects and hygiene. The biology and control of insect pests of medical and domestic importance. **In:** Anatomy and physiology of insects. IV. Digestive system. London, Methuen & Co., Guanabara Koogan, p. 41-45.

Busvine JR (1976). **Insects, hygiene and history**. University of London, Atholone Press, 262 pp.

Caetano FH, Zara FJ, Gregório EA (2002). The origin of lipid droplets in the post-pharyngeal gland of *Dinoponera australis* (Formicidae: Ponerinae). **Cytologia** 67: 301-308.

Chapman RF (1998). The insects structure and function. **In:** Mouthparts and feeding. 4^a ed., Cambridge University Press., p. 12-37.

Ciprandi A, Horn F, Termignoni C (2003). Saliva de animais hematófagos: fonte de novos anticoagulantes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia** 25 (4): 250-262.

Cook LF (1985). Hepatitis B and AIDS in Africa. **The Medical Journal of Australia** 142: 661.

Costa Lima A (1940). Insetos do Brasil. Hemípteros. **In:** Superfamília Cimicoidea. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia 2: 242-260.

Costa-Leonardo AM, Cruz-Landim C (1990). Morphology of salivary gland acini in *Grigiotermes bequaerti* (Isoptera: Termitidae). **Entomologia Generalis** 16: 13-21.

Davis NT (1966). Reproductive Physiology. **In:** Usinger RL (org). Monograph of Cimicidae (Hemiptera, Heteroptera). Thomas Say Foundation, Entomological Society of America 7: 167-178.

Del Bene G, Cavallo V, Lupetti P, Dallai R (1999). Fine structure of the salivary glands of *Heliothrips haemorrhoidalis* (Bouché) (Thysanoptera: Thripidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology** 28: 301-308.

Dias E (1934). Estudos sobre o *Schizotrypanum cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 28 (1): 1-110.

Dias JCP, Schofield CJ, Machado EMM, Fernandes AJ (2005). Tick, ivermectin, and experimental Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 100 (8): 829-832.

Forattini OP (1990). The Cimicidae and their importance in public health (Hemiptera-Heteroptera: Cimicidae). **Revista de Saúde Pública** 24 (Supl): 1-37.

Geneser F (2003). **Histologia com bases biomoleculares**. 3^a ed. Buenos Aires, Argentina, Médica Panamericana, Co-edição Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 616p. Trad. Almeida JM, Paoli S, Giani TS.

Gupta BJ, Hall TA (1983). Ionic distribution in dopamine-stimulated NaCl fluid-secreting cockroach salivary glands. **American Physiological Society** 244: R176-R186.

Han S, Bordereau C (1982). Ultrastructure of the fat body on the reproductive pair in higher termites. **Journal of Morphology** 172: 313-322.

Harlan HJ (2006). Bed bugs 101: the basics of *Cimex lectularius*. **American Entomologist** 52 (2): 99-101.

Hixson H (1943). The tropical bedbug established in Florida. ***Florida Entomologist***. 26 (3): 47.

Hwang SW, Svoboda TJ, De Jong IJ, Cávasele KJ, Gogosis E (2005). Bed bug infestations in na urban enviroment. ***Emerging Infectious Diseases*** 11 (4): 533-538.

Jörg ME (1992). *Cimex lectularius*, L. (la chinche comum de cama) transmissor de *Trypanosoma cruzi*. ***Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*** 25 (4): 277-278.

Jörg ME, Natula ON (1982). *Cimex lectularius*, L. (la chinche comum de cama) transmissor de *Trypanosoma cruzi*. ***Prensa Médica Argentina*** 69 (13): 528-533.

Jupp PG, McElligott SE (1979). Transmission experiments with hepatitis B surface antigen and the common bedbug (*Cimex lectularius* L). ***South African Medical Journal*** 56: 54-57.

Jupp PG, McElligott SE, Lecatsas G (1983). The mechanical transmission of hepatitis B virus by the common bedbug (*Cimex lectularius* L.) in South Africa. ***South African Medical Journal*** 63 (3): 77-81.

Just F, Walz B (1994). Salivary glands of the cockroach *Periplaneta americana*: new data from light and electron microscopy. ***Journal of Morphology*** 220: 35-46.

King F, Dick I, Evans P (1989). ***Parasitology Today*** 5 (4): 100-102.

Konig B, Masuko TS, Rosenberg B (1993). Scanning electron-microscopy of the *Rhodnius neglectus* (Hemiptera) labial salivary-glands after starvation. ***Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*** 175 (5): 411-416. (abstract)

Lacombe D (1999). Anatomia e histologia das glândulas salivares nos triatomíneos. ***Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*** 94 (4): 557-564.

Lane NJ, Dallai R, Ashhurst DE (1996). Structural macromolecules of the cell membranes and the extracellular matrices of the insect midgut. **In:** Lehane MJ, Billingsley PF (org). Biology of the insect midgut. London, UK, Chapman & Hall, p. 115-150.

Lausi L (1973). Enfermedad de Chagas autóctona de Buenos Aires. **Dia Medico** 23: 1156-1162.

Lent H (1939). Sobre o hematofagismo da *Cherada apicicornis* e outros artropodos; sua importância na transmissão da doença de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 34 (4): 583-606.

Lyons SF, Jupp PG, Schoub BD (1986). Survival of HIV in the common bedbug. **The Lancet** 2: 45.

Marcondes CB (2001). Entomologia médica e veterinária. **In:** Hemípteros (Triatomíneos e Cimicídeos). São Paulo, Atheneu, p. 239-262.

Miles PW (1960). The salivary secretions of a plant-sucking bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dall.) (Heteroptera: Lygaeidae) – III Origins in the salivary glands. **Journal of Insect Physiology** 4: 271-282.

Miles PW (1972). The saliva of Hemiptera. **Advances in Insect Physiology** 9: 183–255.

Miles PW, Slowiak D (1976). Transport of whole protein molecules from blood to saliva of a plant-bug. **Experientia** 26: 611-612.

Moreira-Ferro CK, Marinotti O, Bijovsky AT (1999). Morphological and biochemical analyses of the salivary glands of the malaria vector, *Anopheles darlingi*. **Tissue & Cell** 31 (3): 264-273.

Nagem RL (1985). Ocorrência de *Cimex lectularius* L., 1758 (Hemiptera, Cimicidae) em algumas habitações humanas de Belo Horizonte e municípios vizinhos. **Revista Brasileira de Entomologia** 29 (2): 217-220.

Negromonte MRS, Linardi PM e Nagem RL (1991). *Cimex lectularius* L., 1758 (Hemiptera, Cimicidae): sensitivity to commercial insecticides in labs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 86: 491-492.

Newberry K (1988). Production of a hybrid between the bedbugs *Cimex hemipterus* and *Cimex lectularius*. **Medical and Veterinary Entomology** 2: 297-300.

Newberry K, Jansen J, Thibaud GR (1987). The occurrence of the bedbugs *Cimex hemipterus* and *Cimex lectularius* in northern Natal and KwaZulu, South Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 81: 431-433.

Newberry K, Mchunu ZM (1989). Changes in the relative frequency of occurrence of infestations of two sympatric species of bedbug in northern Natal and KwaZulu, South Africa. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 83: 262-264.

Nunes PH, Camargo-Mathias MI (2006). Ultrastructural study of the salivary glands of the sugarcane spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Euhemiptera: Cercopidae). **Micron** 37: 57-66.

Ogston CW, Wittenstein FS, London WT, Millman I. (1979). Persistence of hepatitis B surface antigen in the bedbug *Cimex hemipterus* Fabr. **Journal of Infectious Diseases** 140 (3): 411-414.

Pessoa SR, Martins AV (1981). Pessoa. Parasitologia Médica. **In:** Hemiptera - Triatomíneos e Cimicídeos. 10ª ed., 2ª reimp., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 661-781.

Pipkin AC (1969). Transmission of *Trypanosoma cruzi* by arthropod vectors: anterior versus posterior route infection. **In:** Potencial vectors of *T. cruzi* among the blood-sucking arthropods. International Review of Tropical Medicine 3: 6-9. (New York 1-47).

Puri IM (1924). Studies on the anatomy of *Cimex lectularius* L. **Parasitology** 16: 84-97.

Quennedey A (1975). Morphology of exocrine glands producing pheromones and defensive substance in subsocial and social insects. **In:** Noirot Ch, Howse PE, Masne GLE (org). Pheromones and defensive secretions in social insects. Université de Dijon, p. 1-21.

Reinhardt K, Siva-Jothy MT (2007). Biology of the bed bugs (Cimicidae). **Annual Review of Entomology** 52: 351-374.

Reis MM, Meirelles RMS, Maurilio J. Soares MJ (2003). Fine structure of the salivary glands of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Tissue & Cell** 35: 393-400.

Rey L (1991). Parasitologia. Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. **In:** Hemípteros: triatomíneos e percevejos. 2ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 687-695.

Reynolds ES (1963). The use of lead citrate at high pH as in electron-opaque stain in electron microscopy. **Journal of cell biology** 17: 208.

Ribeiro JMC, Francischetti IMB (2003). Role of Arthropod saliva in blood feeding: sialome and post-sialome perspectives. **Annual Review of Entomology** 48: 73-88.

Ryckman RE (1979). Host reactions to bug bites (Hemiptera, Homoptera): a literature review and annotated bibliography. Part I. **California Vector Views** 26 (1/2): 1-24.

Ryckman RE, Bentley DG, Archbold EF (1981). The Cimicidae of the Americas and Oceanic Islands, a checklist and bibliography. ***Bulletin of the Society for Vector Ecology*** 6: 93-142.

Sais TC, Moraes RM, Ribolla PE, Bianchi AG, Marinotti O, Bijovsky AT (2003). Morphological aspects of *Culex quinquefasciatus* salivary glands. ***Arthropod Structure & Development*** 32: 219-226.

Singh RN, Singh K, Prakash S, Mendki MJ, Rao KM (1996). Sensory organs on the body parts of the bed-bug *Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae) and the anatomy of its central nervous system. ***International Journal of Insect Morphology and Embryology*** 25 (1/2): 183-204.

Sousa MA (1999). Morphobiological characterization of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 and its distinction from other trypanosomes. ***Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*** 94 (Supl. I): 205-210.

Stark KR, James AA (1996). The salivary glands of disease vector. ***In***: Beaty BJ, Marquardt WC (org). The biology of disease vectors. University Press of Colorado, p. 333-348. (631pp.)

Stefanini M; De Martino C; Zamboni L (1967). Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. ***Nature*** 216: 173-174.

Storino R e Jörg ME (1994). Vias de infección y aspectos clinicos. ***In***: Storino R, Milei J (org). Enfermedad de Chagas. Buenos Aires, Bayma, p. 185-208.

Swart CC, Deaton LE, Felgenhauer BE (2006). The salivary gland and salivary enzymes of the giant waterbugs (Heteroptera; Belostomatidae). ***Comparative Biochemistry and Physiology*** 145 (Part A): 114-122.

Swart CC, Felgenhauer BE (2003). Structure and function of the mouthparts and salivary gland complex of the giant waterbug, *Belostoma lutarium* (Stål) (Hemiptera: Belostomatidae). ***Annals of the Entomological Society of America*** 96 (6): 870-882.

Temu EA, Minjas JN, Shiff CJ, Majala A (1999). Bed bug control by permethrin-impregnated bednets in Tanzania. ***Medical and Veterinary Entomology*** 13: 457-459.

Ter Poorten MC; Prose NS (2005). The return of the common bedbug. USA, ***Pediatric Dermatology, Clinical and Laboratory Investigations*** 22 (3): 183-187.

Thomas I, Kihiczak GG, Schwartz RA (2004). Bedbug bites: a review. ***International Journal of Dermatology*** 43: 430–433.

Usinger RL (1966). Monograph of Cimicidae (Hemiptera, Heteroptera). Thomas Say Foundation, ***Entomological Society of America*** 7: 583 pp.

Valenzuela JG, Chuffe OM, Ribeiro JMC (1996a). Apyrase salivary and anti-platelet activities from the glands of the bed bug *Cimex lectularius*. ***Insect Biochemistry and Molecular Biology*** 21 (6): 557-562.

Valenzuela JG, Guimarães JA, Ribeiro JMC (1996b). A novel inhibitor of factor X activation from the salivary glands of the bed bug *Cimex lectularius*. ***Experimental Parasitology*** 83: 184-190.

Valenzuela JG, Ribeiro JMC (1998). Purification and cloning of the salivary nitrophorin from the hemipteran *Cimex lectularius*. ***The Journal of Experimental Biology*** 201: 2659-2664.

Valenzuela JG, Walker FA, Ribeiro JMC (1995). A salivary nitrophorin (nitric-oxide-carrying hemoprotein) in the bedbug *Cimex lectularius*. ***Journal of experimental Biology*** 198 (7): 1519-1526. (abstract)

Walpole DE (1988). Cross-mating studies between two species of bedbugs (Hemiptera: Cimicidae) with a description of a marker of inter-specific mating. ***South African Journal of Science*** 84: 215-216.

Walpole DE, Newberry K (1988). A field study of mating between two species of bedbug in northern KwaZulu, South Africa. *Medical and Veterinary Entomology* 2: 293-296.

Wayadande AC, Baker GR, Fletcher J (1997). Comparative ultrastructure of the salivary glands of two phytopathogen vectors, the beet leafhopper, *C. tenellus* (Baker), and the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* Delong and Wolcott (Homoptera: Cicadellidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 26: 113–120.

Webb PA, Happ CM, Maupin GO, Johnson BJ, Ou CY e Monath TP (1989). Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to human immunodeficiency virus. *Journal of Infectious Diseases* 160 (6): 970–977.

World Health Organization (1982). **VI. Bed bugs.** WHO/VBC/82.857. Geneva, WHO, p. 1-9.

World Health Organization (2006). Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. **In:** Bed bugs. Geneva, WHO, p. 62-63.