

WEBB, P. A.; HAPP, C. M.; MAUPIN, G. O. Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.*, v. 160, p. 970- 7. 1989.

VALENZUELA, J. G.; CHUFFE, O. M.; RIBEIRO, J. M. C. Apyrase and anti-platelet activities from the salivary glands of the bed bug *Cimex lectularius*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, v. 22, n. 6, p. 557- 62. 1996 a.

VALENZUELA, J. G.; GUIMARAES, J. A.; RIBEIRO, J. M. C. A novel inhibitor of factor X activation from the salivary glands of the bed bug *Cimex lectularius*. *Exp. Parasitol.*, v. 83, p. 184- 90, 1996 b.

VALENZUELA, J. G.; RIBEIRO, J. M. C. Purification and cloning of the salivary nitrophorin from the hemipteran *Cimex lectularius*. *J. Exp. Biol.*, v. 201, p. 2659- 64. 1998.

VALENZUELA, J. G.; WALKER, F. A.; RIBEIRO, J. M. C. A salivary nitrophorin (nitric-oxide-carrying hemeprotein) in the bedbug *Cimex lectularius*. *J. Exp. Biol.*, v. 198, p. 1519- 26. 1995.

VENKATACHALAM, P. S.; BELAVADY, B. Loss of haemoglobin iron due to excessive biting by bed bugs. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 56, n. 3, p. 218- 21. 1962.

WATTAL, B. L.; KALRA, N. L. New methods for the maintenance of a laboratory colony of bed-bug *Cimex hemipterus* Fabricius, with observations on its biology. *Indian J. Malariol.*, v. 15, n. 2, p. 157- 71. 1961.

SIMOV, N.; IVANOVA, T.; SCHUNGER, I. Bat-parasitic *Cimex* species (Hemiptera: Cimicidae) on the Balkan Peninsula, with zoogeographical remarks on *Cimex lectularius* Linnaeus. *Zootaxa*, v. 1190, p. 59- 68. 2006.

SMITH, J. J. B. Effect of diet viscosity on the operation of the pharyngeal pump in the blood-feeding bug *Rhodnius prolixus*. *J. Exp. Biol.*, v. 82, p. 93- 104. 1979.

SNODGRASS, R. E. The feeding apparatus of biting and sucking insects affecting man and animals. *Smiths. Misc. Pub.*, v.104, n.7, p. 1-112. 1944.

SOUZA-ARAÚJO, H. C. S. Infecção espontânea e experimental de hematófagos (Ixodídeos, Triatomíneos, Culicíneos, Hirudíneos, Pediculódeos e Cimicídeos) em leprosos. Possibilidade de serem eles vetores ou transmissores da lepra. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 33, p. 447- 84. 1943.

STOSCHECK, C. M. Quantitation of protein. In: MURRAY, P. D. *Methods in Enzymology*. Academic Press, 1990. v. 182, cap. 6. p. 50- 67.

USINGER, R. L. *Monograph of Cimicidae*. Baltimore, The Thomas Say Foundation, 1966. v. 7, 585 p.

VALENZUELA, J. G.; CHARLAB, R.; GALPERIN, M. Y.; RIBEIRO, J. M. C. Purification, cloning and expression of an apyrase from the bed bug *Cimex lectularius*. *J. Biol. Chem.*, v. 273, n. 46, p.30583- 90. 1998.

RYCKMAN, R. E.; BENTLEY, D. G.; ARCHBOLD, E. F. The cimicidae fo the Americas and oceanic islands, a checklist and bibliography. *Bull. Soc. Vector Ecol.*, v. 6, p. 93- 142. 1981.

RIVNAY, E. Studies in tropisms of the bed bug *Cimex lectularius* L. *Parasitol.*, v. 24, n. 1, p. 121- 36. 1932.

RYAN, N.; PETERS, B.; MILLER, P. A survey of bedbugs in short- stay lodges. *Public Health Bulletin*, v. 5, n. 11- 12, p. 215- 17. 2004.

SANT' ANNA, M. R. V.; DIOTAIUTI, L.; GONTIJO, A. F.; GONTIJO, N. F.; PEREIRA, M. H. Feeding behaviour of morphologically similar *Rhodnius* species: influence of mechanical characteristics and salivary function. *J. Insect Physiol.*, v. 47, p. 1459- 65. 2001.

SCHOFIELD, C. J. Biosystematics of the triatominae. In: Biosystematics of Haematophagous Insects (Service, M.W., Ed). Systematics Association Special Vol. 37, Claredon Press, Oxford, 284–312. 1988.

SILVERMAN, A. L.; LI HUA QU; BLOW, J.; ZITRON, I. M.; GORDON, S. T.; WALKER, E. D. Assesment of hepatitis B virus DNA and hepatitis C virus RNA in the commom bedbug (*Cimex lectularius* L.) and kissing bug (*Rhodnius prolixus*). *Am J. Gastroenterol.*, v. 96, p. 2194- 8. 2001.

PINTO, C. Artrópodes parasitos e transmissores de doenças. Rio de Janeiro, Pimenta de Melo & Cia, 1930. 295p.

POORTEN, M. C. T.; NEIL, M. D.; PROSE, M. D. N. S. The return of the common bedbug. *Pediatric Dermatol.*, v. 22, n. 3, p. 183- 7. 2005.

REEVES, W. K.; DURDEN, L. A.; WRENN, W. Ectoparasitic chiggers (Acari: Trombiculidae, Leeuwenhoekiiidae), lice (Phthiraptera) and Hemiptera (Cimicidae and Reduviidae) from South Carolina, U.S.A. *Zootaxa*, v. 647. p. 1- 20. 2004.

REINHARDT, K.; SIVA-JOTHY, M. T. Biology of the bed bugs (Cimicidae). *Annu. Rev. Entomol.*, v. 52, p. 351-74. 2006.

RIBEIRO, J. M. C. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infect. Agents Dis.*, v. 4, n. 3, p. 143- 52. 1995.

RIBEIRO, J. M. C. Blood-feeding in mosquitoes: probing time and salivary gland anti-haemostatic activities in representatives of three genera (*Aedes*, *Anopheles*, *Culex*). *Med. Vet. Entomol.*, v. 14, p. 142- 148. 2000.

RIBEIRO, J. M.; SCHNEIDER, M.; ISAIAS, T.; JURBERG, J.; GALVAO, C.; GUIMARAES, J. A. Role of salivary antihemostatic components in blood feeding by triatomine bugs (Heteroptera). *J. Med. Entomol.*, v. 35, n. 4, p. 599- 610. 1998.

MOREIRA, J. A.; MAGALHÃES, O. Thypus exantematicos em Minas Geraes. *Bras. Med.*, v. 34, p. 599- 601. 1933.

NAGEM, R. L. Ocorrência de *Cimex lectularius* L., 1758 (Hemiptera, Cimicidae) em algumas habitações humanas de Belo Horizonte e municípios vizinhos. *Rev. Bras. Entomol.*, v. 29, n. 2, p. 217- 20. 1985.

NEGROMONTE, M. R. S.; LINARDI, P. M.; NAGEM, R. L. Prevalência de *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae) em uma comunidade de Belo Horizonte, MG. *Rev. Bras. Entomol.*, v. 35, n. 4, p. 715- 20. 1991.

NEWBERRY, K.; JANSEN, J. The common bedbug *Cimex lectularius* in African huts. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 80, p. 653-8. 1987.

NEWBERRY, K. The tropical bedbug *Cimex hemipterus* near the southernmost extent of its range. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 84, p. 745-7. 1990.

OGSTON, C. W.; WITTENSTEIN, F. S.; LONDON, W. T.; MILLMAN, I. Persistence of hepatitis B surface antigen in the bedbug *Cimex hemipterus* (Fabr). *J. Infect Dis.*, v. 40, p. 411- 4. 1979.

PEREIRA, M. H.; GONTIJO, N. F.; GUARNERI, A. A.; SANT' ANNA, M. R. V.; DIOTAIUTI, L. Competitive displacement in triatominae: the *Triatoma infestans* success. *Trends Parasitol.*, v. 22, n. 11, p. 516- 20. 2006.

JUPP, P. G.; McELLIGOTT, S. E.; LECATSAS, G. The mechanical transmission of hepatitis B virus by the common bedbug (*Cimex lectularius* L.) in South Africa. *S. Afr. Med. J.*, v. 63, p. 77-81. 1983.

KING, F.; DICK, I.; EVANS, P. Bed bugs in Britain. *Parasitol. Today.*, v. 5, n. 4, p. 100 - 102. 1989.

LAVOIEPIERRE, M. M. J.; DICKERSON, G.; GORDON, R. M. Studies on the methods of feeding of blood-sucking arthropods. I: The manner in which triatomine bugs obtain their blood-meal, as observed in the tissues of the living rodent, with some remarks on the effects of the bite on human volunteers. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 53, p. 235- 50. 1959.

LEVERKUS, M; JOCHIM, R. C.; SCHAD, S.; BROCHER, E. B.; ANDERSON, J. F.; VALENZUELA, J. G.; TRAUTMANN, A. Bullous allergic hypersensitivity to bed bug bites mediated by IgE against salivary nitrophenol. *J. Invest. Dermatol.*, v. 126, p. 91- 6. 2006.

MAYANS, M.V., HALL, A. J.; INSKIP, H. M.; LINDSAY, S. W.; CHOTARD, J.; MENDY, M.; WHITTLE, H. C. Do bedbugs transmit hepatitis B? *Lancet*, v. 343, n. 26, p.761- 3. 1994.

MONTEIRO, J. L. Tentativa de transmissão experimental do "Typho exantemático" de São Paulo por percevejos (*Cimex lectularius*). *Mem. Inst. Butantan*, v. 9, p. 3- 23. 1935.

reactions of the mammalian host; together with some observations of the feeding of *Chrysops* and *Cimex*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 42, p. 334- 56. 1948.

GUARNERI, A. A.; DIOTAIUTI, L.; GONTIJO, N. F.; GONTIJO, A. F.; PEREIRA, M. H. Blood- feeding performance of nymphs and adults of *Triatoma brasiliensis* on human hosts. *Acta Trop.*, v. 87, p. 361- 70. 2003.

GUARNERI, A. A.; DIOTAIUTI, L.; GONTIJO, N. F.; GONTIJO, A. F.; PEREIRA, M. H. Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. *J. Insect Physiol.*, v. 46, n. 7, p. 1121- 7. 2000.

HWANG, S. W.; SVOBODA, T. J.; DE JONG, I. J.; KABASELE, K. L.; GOGOSIS, E. Bed bug infestations in an urban environment. *Emerging Infect Dis.*, v. 11, n. 4, p. 532- 6. 2005.

JOHNSON, C. G. The ecology of the bed-bug, *Cimex lectularius* L., in Britain. *J. Hyg.*, v. 41, n. 4, p. 345- 61. 1942.

JOHNSON, C. G. The relative values of man, mouse, and domestic fowl as experimental hosts for the bed-bug, *Cimex lectularius* L. *Proc. Zool. Soc.*, London, v. 107, n. 1, p. 107-26. 1937.

DOGGETT, S. L.; GEARY, M. J.; CROWE, W. J.; WILSON, P.; RUSSELL, R. C. Has the tropical bed bug, *Cimex hemipterus* (Hemiptera: Cimicidae), invaded Australia? *Environ. health*, v. 3, n. 4, p. 80- 2. 2003.

DOGGETT, S. L.; GEARY, M. J.; RUSSELL, R. C. The resurgence of bed bugs in Australia: with notes on their ecology and control. *Environ. health*, v. 4, n. 2. p. 30-38, 2004.

FLETCHER, C. L.; ARDERN-JONES, M. R.; HAY, R. J. Widespread bullous eruption due to multiple bed bug bites. *Clin. Exp. Dermatol.*, v. 27, p. 74- 5. 2002.

FORATTINI, O. P. Os cimicídeos e sua importância em saúde pública (Hemiptera-Heteroptera, Cimicidae). *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v. 24 (supl.), p. 1- 37. 1990.

FREITAS, J. L. P.; MUNHOZ, M.; ABDALA, J. J.; MARTINS, S. Inquérito preliminar sobre moléstia de chagas no município de Franca, Estado de São Paulo – Brasil. *Rev. Med.*, São Paulo, v. 30, p. 181- 7. 1946.

FRIEND, W. G.; SMITH, J. J. B. Feeding in *Rhodnius prolixus*: mouthpart activity and salivation, and their correlation with changes of electrical resistance. *J. Insect Physiol.*, v. 17, p. 233- 43. 1971.

GORDON, R. M.; CREWE, W. The mechanics by which mosquitoes and tsetse-flies obtain their blood-meal, the histology of the lesions produced and the subsequent

Referências Bibliográficas

ARAÚJO, R. N.; TANAKA, A. S.; SANTOS, A.; GONTIJO, N. F.; LEHANE, M. J.; PEREIRA, M. H. Influence of the intestinal thrombin inhibitor in the blood intake of the *Triatoma brasiliensis* assessed by RNA interference. In XXXV REUNIÃO ANUAL DA SBBq, Águas de Lindóia, SP. 2006.

BOASE, C. J. Bed bugs - reclaiming our cities. *Biologist.*, v. 51, n. 1, p. 1- 4. 2004.

BRUMPT, E. Précis de Parasitologie. Paris, Masson & Cie, 1949. 2138 p.

BURTON, G. J. Bedbugs in relation to transmission of human diseases. *Public Health Rep.*, v. 78, n. 6, p. 513- 24. 1963.

COSTA LIMA, A. Hemiptera. In: ___ *Insetos do Brasil*. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional. v. 2, p. 242- 59. 1940.

CRISSEY, J. T. Bedbugs. An old problem with a new dimension. *Int J. Dermatol.*, v. 20, p. 411- 4. 1981.

DICKERSON, G.; LAVOPIERRE, M. M. J. Studies on the methods of feeding of blood-sucking arthropods. II.- The method of feeding adopted by the bed-bug (*Cimex lectularius*) when obtaining a blood-meal from the mammalian host. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, v. 53, p. 347- 57. 1959.

7 – Conclusões

- O ganho de peso e o tempo total de contato de *C. lectularius* são maiores nas fêmeas do que nos machos, embora apresentem valores semelhantes de taxa de ingestão total.
- *Cimex lectularius* apresentou uma melhor performance alimentar do que *C. hemipterus*, tanto em pombo quanto em camundongo, mostrando maiores taxas de ingestão efetiva e total, e maior porcentagem de insetos que dobraram de peso.
- *Cimex hemipterus* apresenta maior dificuldade em obter repastos sangüíneos em pombo do que em camundongo.
- O tratamento dos pombos com anticoagulante melhora a performance alimentar de *C. hemipterus*, aumentando a taxa de ingestão total e a porcentagem de insetos que dobraram de peso.
- A mudança de fonte alimentar (camundongo, pombo ou alimentador artificial) interfere na taxa de ingestão efetiva de *C. lectularius*.
- *Cimex lectularius* apresenta maior atividade anticoagulante e quantidade de hemeproteínas por par de glândulas salivares do que *C. hemipterus*.

alimentados com dieta artificial apresentou maior taxa de ingestão efetiva do que com camundongo. Este achado pode ser explicado pelo fato de na dieta artificial não estarem presentes substâncias hemostáticas.

Quando se comparou o comportamento alimentar de *C. lectularius* alimentados no ventre e no dorso de camundongos, a maioria dos parâmetros foram semelhantes. O número de interrupções e o tempo não ingestivo (principalmente devido as interrupções e não ao tempo de sondagem cumulativo) foram maiores nos insetos alimentados no dorso. Embora estas diferenças não tenham refletido na taxa de ingestão total, demonstram provavelmente uma maior dificuldade de manter o fluxo de sangue durante o processo de alimentação nesta região e não a uma dificuldade em encontrar um vaso sanguíneo.

A partir das comparações das duas espécies em diferentes fontes alimentares conclui-se que *C. lectularius* apresenta uma melhor performance alimentar do que *C. hemipterus*. Este fato pode estar relacionado às diferenças quantitativas observadas entre os homogenatos de glândulas salivares das duas espécies, que na primeira apresentou tanto um maior prolongamento do tempo de recalcificação do plasma quanto maior concentração de hemeproteínas por par de glândula salivar. Desta forma, isso pode refletir em uma maior capacidade de *C. lectularius* em interferir na prevenção de atividades hemostáticas do hospedeiro vertebrado o que promoveria uma maior eficiência desta espécie em relação a *C. hemipterus* na obtenção do repasto sanguíneo.

C. hemipterus copulariam com fêmeas de *C. lectularius* diminuindo a capacidade reprodutiva e a sobrevivência destas (NEWBERRY et al., 1987).

Quando comparada aos triatomíneos, o valor da razão **PI/ TI** de *C. lectularius* e de *C. hemipterus* (~3 e ~4, em camundongo respectivamente) é baixo. Este valor é mais baixo do que o observado em ninfas de quinto estágio de *T. pseudomaculata* (~7) e de *T. brasiliensis* (~5), sendo maior apenas quando comparado com *T. infestans* (~2) neste mesmo hospedeiro (PEREIRA et al., 2006). Desta forma, como esta razão **PI/ TI** está relacionada à performance alimentar dos insetos, observa-se que as duas espécies estudadas neste trabalho apresentaram valores próximos ao obtido por *T. infestans* que é considerada uma espécie mais eficiente na obtenção do repasto sangüíneo quando comparada a *T. pseudomaculata* e *T. brasiliensis*.

No alimentador artificial, foram testadas diferentes dietas artificiais para estas duas espécies de *Cimex* (solução artificial com ATP, hemácias hemolisadas de carneiro, plasma humano e sangue citratado humano). No entanto, nestes experimentos (exceto com sangue humano para *C. lectularius*), ou os insetos não se alimentaram ou não dobraram de peso. Este fato ocorreu principalmente com *C. hemipterus*, o que impossibilitou a obtenção de dados com esta espécie em alimentador artificial. Quando se utilizou sangue humano como dieta para *C. lectularius*, obteve-se um ganho de peso significativo. A opção de utilizar o sangue humano diluído em salina (3:1) foi para minimizar o efeito da deposição das hemácias em cima da membrana que poderia interferir nos parâmetros da alimentação. Mesmo com esta dieta, observou-se um número de interrupções maior do que o obtido com pombo ou camundongo. Possivelmente, pode ter faltado algum estímulo encontrado nos hospedeiros vivos (odor e/ou vibração) que motivou menos os insetos a se alimentarem da dieta artificial. Apesar disto, *C. lectularius*

tratado com anticoagulante sistêmico. Isto sugere que a maior performance alimentar de *C. lectularius* em pombo pode ser relacionada também com a maior atividade anticoagulante encontrada no homogenato de glândula salivar desta espécie.

Smith (1979) mostrou que o aumento da viscosidade da dieta causa uma redução da frequência e do volume funcional da bomba cibarial de *R. prolixus* em alimentador artificial. Portanto, o menor tamanho do repasto observado em *C. hemipterus* alimentados em pombos não tratados, poderia ser explicado pela incapacidade do inseto de evitar o processo de coagulação do sangue durante a hematofagia, com o conseqüente aumento da viscosidade. Explicação semelhante foi sugerida por Araújo et al. (2006) para a diminuição do tamanho do repasto de *T. brasiliensis* após o silenciamento (RNAi) da brasiliensina (anticoagulante intestinal) ou pela ingestão prévia de uma solução de trombina

O uso da razão entre o peso inicial e a taxa de ingestão total (**PI/ TIT**) proposto por Pereira et al. (2006) para comparar a performance alimentar entre espécies ou estádios de triatomíneos não foi necessário, pois os adultos de *C. lectularius* e de *C. hemipterus* utilizados nos experimentos apresentaram peso inicial semelhante (~2,5 mg). A diferença na performance alimentar entre estas duas espécies poderia explicar porque nas infestações excepcionalmente altas observadas na África do Sul o número de indivíduos coletados de *C. lectularius* (>3000) foi maior do que de *C. hemipterus* (1203) (NEWBERRY, 1990). Entretanto, nesta mesma região, onde as duas espécies podem ser encontradas em infestações mistas, *C. hemipterus* parece prevalecer. Uma explicação apontada pelos autores para a possível vantagem competitiva do *C. hemipterus* em relação ao *C. lectularius* seria conseqüência de uma interferência direta entre as espécies, onde machos de

total. As análises destes resultados mostraram que o volume funcional da bomba cibarial (medido pelo **QLC**) foi semelhante entre as duas espécies em cada um destes hospedeiros. A maior taxa de ingestão em *C. lectularius* foi devida a uma maior frequência de contração da bomba cibarial nos dois hospedeiros e a um menor tempo não ingestivo (tempo de sondagem + tempo das interrupções) verificado em camundongo.

Em estudo comparando espécies próximas de *Rhodnius*, Sant'Anna et al. (2001) sugerem que a frequência de contração da bomba cibarial e o tempo não ingestivo obtidos em hospedeiros vivos são influenciados pela atividade farmacológica da saliva do inseto. Ribeiro et al. (1998) encontraram uma correlação das atividades anti - agregação plaquetária e vasodilatadora, mas não a anticoagulante, com a performance alimentar de triatomíneos em ratos. Grande parte da atividade biológica descrita na saliva de *C. lectularius* está relacionada à presença de uma nitroforina (hemeproteína) que atua como carreadora de óxido nítrico (NO) (VALENZUELA et al., 1995). O NO liberado na pele do hospedeiro possui várias atividades, entre elas, a vasodilatadora e a anti-agregante de plaquetas. *C. lectularius* apresentou duas vezes mais hemeproteína do que *C. hemipterus*. Este fato poderia explicar a maior frequência da bomba cibarial e o menor tempo não ingestivo observado em *C. lectularius*, que refletiria a sua maior capacidade de interferir na homeostasia em camundongos.

Entretanto, a maior diferença na comparação entre as duas espécies foi observada em pombo. Neste hospedeiro, *C. hemipterus* apresentou o ganho de peso e a taxa de ingestão total aproximadamente duas vezes menor do que *C. lectularius*. Interessante que tanto o ganho de peso quanto a taxa de ingestão total foram significativamente maiores quando *C. hemipterus* alimentou-se em pombo

alimentares disponíveis que irá influenciar na dinâmica populacional e na capacidade vetorial dos triatomíneos (PEREIRA et al., 2006).

Nos cimicídeos, o tamanho do repasto sangüíneo das fêmeas é maior do que dos machos (JOHNSON, 1937), e esta diferença entre os sexos estaria relacionada a maior demanda de nutrientes para a produção de ovos do que de esperma (WATTAL; KALRA, 1961). No presente trabalho, observou-se que fêmeas de *C. lectularius* ingeriram pelo menos duas vezes mais sangue do que os machos após o repasto em camundongo. Como ambos os sexos apresentaram taxas de ingestão semelhantes (efetiva e total), a diferença observada no tempo de contato com o hospedeiro seria uma consequência direta do tamanho do repasto. Interessantemente, não foram observadas diferenças no tamanho da bomba cibarial (**QLC**) de machos e fêmeas, como ocorre em *T. brasiliensis* (GUARNERI et al., 2003).

Além dos morcegos e do homem, *Cimex lectularius* e *C. hemipterus* já foram relatadas parasitando aves e animais domésticos (USINGER, 1966). A influência da associação com diferentes hospedeiros na biologia dos cimicídeos é pouco conhecida. *Cimex lectularius* desenvolve-se mais rápido de ninfa de primeiro estágio a adulto com o sangue de galinha seguido de pombo, morcego, coelho e humano. Já o tamanho da postura é maior com coelho, galinha, humano e pombo, sendo que o número de ovos neste último caso é aproximadamente 1/3 do obtido com insetos alimentados em coelho (USINGER, 1966).

Neste estudo, observou-se que *Cimex lectularius* apresentou uma melhor performance alimentar que *C. hemipterus* nos dois hospedeiros testados (pombo e camundongo). Esta melhor performance foi evidenciada tanto pela maior porcentagem de insetos que dobraram de peso quanto pela maior taxa de ingestão

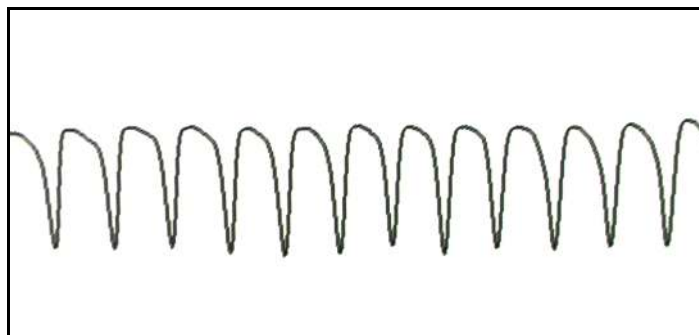


Figura 15: Sinais elétricos produzidos pela bomba cibarial de *Cimex lectularius* durante a fase de ingurgitamento em camundongo. Este registro corresponde a um tempo de 2,56 segundos.

Parâmetros como ganho de peso e número de picadas obtidos pela observação direta de *C. lectularius* alimentando sobre camundongo sedado foram semelhantes aos obtidos nos experimentos de **MBC**, mostrando que as condições em que o inseto é submetido para o registro dos sinais elétricos não interferiram nestes parâmetros. Como relatado por Guarneri et al. (2000) em experimentos de **MBC** com triatomíneos, também observamos que alguns insetos se recusaram ou demoraram a iniciar a alimentação. Provavelmente a perturbação causada pela manipulação, a presença de feromônio de alarme e/ou ruídos durante a preparação dos experimentos poderiam explicar a inibição observada em alguns insetos para iniciar o repasto sanguíneo.

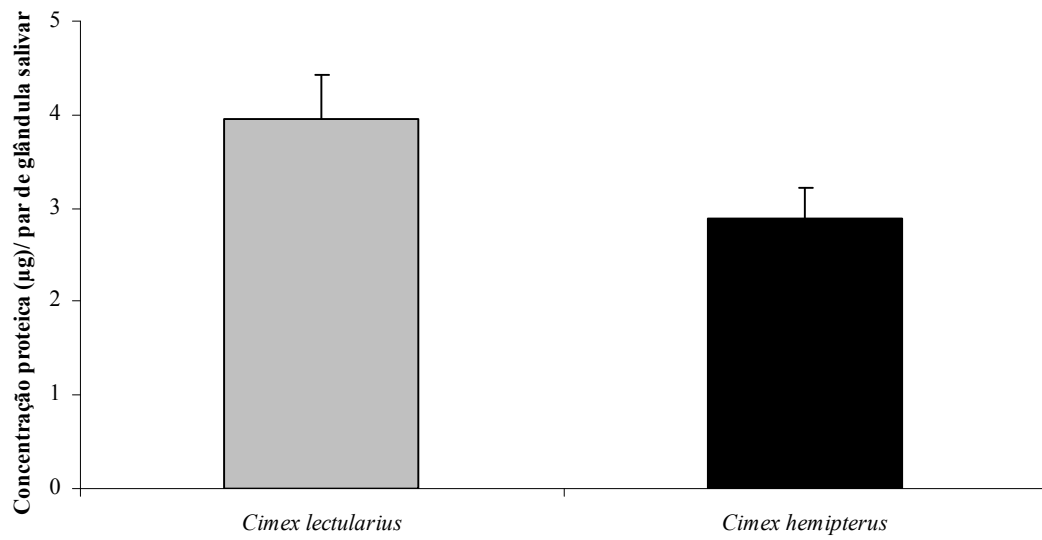
O **MBC** tem sido utilizado para comparar o comportamento alimentar de estádios diferentes e espécies de triatomíneos durante o repasto em diferentes fontes alimentares (GUARNERI et al., 2000, 2003; SANT' ANNA et al., 2001). Estes estudos mostraram que características do inseto, como morfologia do aparato bucal e atividades farmacológicas da saliva, bem como a fisiologia do hospedeiro, interferem na performance alimentar. E é esta capacidade de explorar os recursos

6 - Discussão

O encontro de casas infestadas por *C. lectularius* na região metropolitana de Belo Horizonte condiz com as observações de Nagem (1985) e Negromonte et al. (1991). É lamentável constatar que mais de 20 anos após as capturas realizadas por Nagem (1985), ainda é possível encontrar habitações com altas infestações de percevejos (> 50 exemplares em um único sofá ou colchão) no bairro Vila Maria (antigo bairro Gorduras) e em Betim. Esse fato aparentemente demonstra a pouca importância dada pelas autoridades da área de saúde a infestação por cimiúdeos.

No presente trabalho, demonstramos a viabilidade de utilizar a técnica de monitoramento da bomba cibarial (**MBC**) no estudo do comportamento alimentar de cimiúdeos. Esta técnica foi descrita por Friend e Smith (1971) e posteriormente modificada por Guarneri et al. (2000; 2003) no estudo de triatomíneos. Como ocorre nos triatomíneos, os cimiúdeos possuem sua bomba cibarial associada a uma musculatura desenvolvida que ocupa grande parte da cabeça do inseto (SNODGRASS, 1944). Além disso, durante a alimentação os insetos permanecem praticamente imóveis. Estas características facilitam a separação dos sinais elétricos produzidos pela bomba do restante da musculatura do inseto durante a alimentação (**FIG. 15**). A análise da atividade elétrica durante o processo de alimentação dos cimiúdeos permitiu identificar eventos como picada, sondagem inicial, atividade da bomba cibarial e a retirada das peças bucais da pele do hospedeiro. Estas informações associadas ao ganho de peso do inseto permitiram calcular todos os parâmetros do comportamento alimentar que utilizamos no presente estudo.

a)



b)

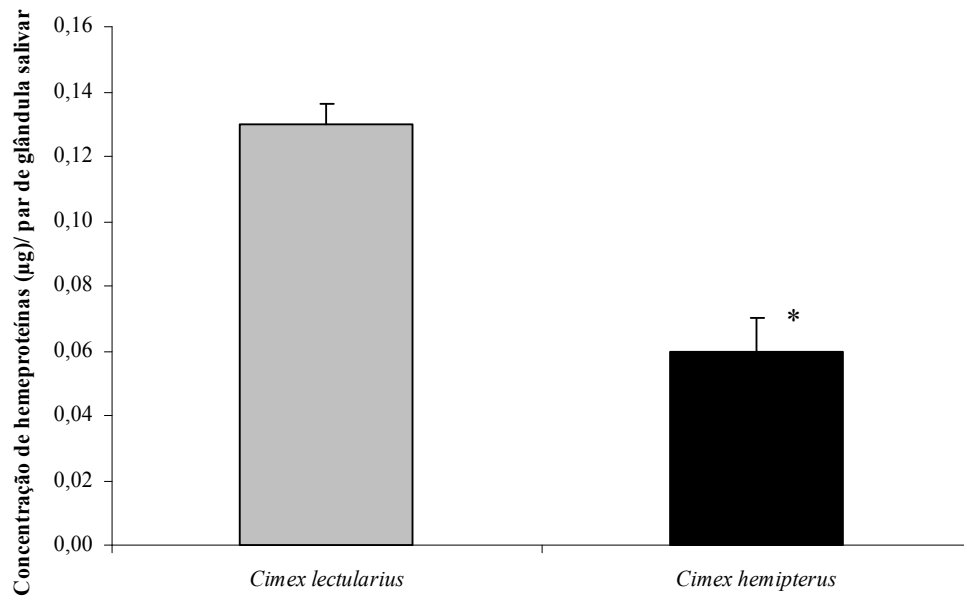


Figura 14: Estimativa do conteúdo de proteínas totais (a) e hemeproteínas (b) (média e erro padrão) do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*. *diferença significativa ao nível de 5%.

5.9 - Estimativa do conteúdo de proteínas salivares totais e de hemeproteínas do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*

A curva espectral típica do homogenato de glândula salivar de *C. lectularius* está mostrada na **FIG. 13**. Observou-se que a concentração de proteínas totais tendeu a um maior valor em *C. lectularius* ($4,0 \pm 1,3 \mu\text{g/par}$ de glândula salivar) comparado a *C. hemipterus* ($2,9 \pm 1,0 \mu\text{g/par}$ de glândula salivar) ($p= 0,07$ teste t). Em relação às hemeproteínas, *C. lectularius* apresentou aproximadamente o dobro da quantidade por par de glândula salivar do que *C. hemipterus* ($p< 0,05$ teste t) (**FIG. 14**).

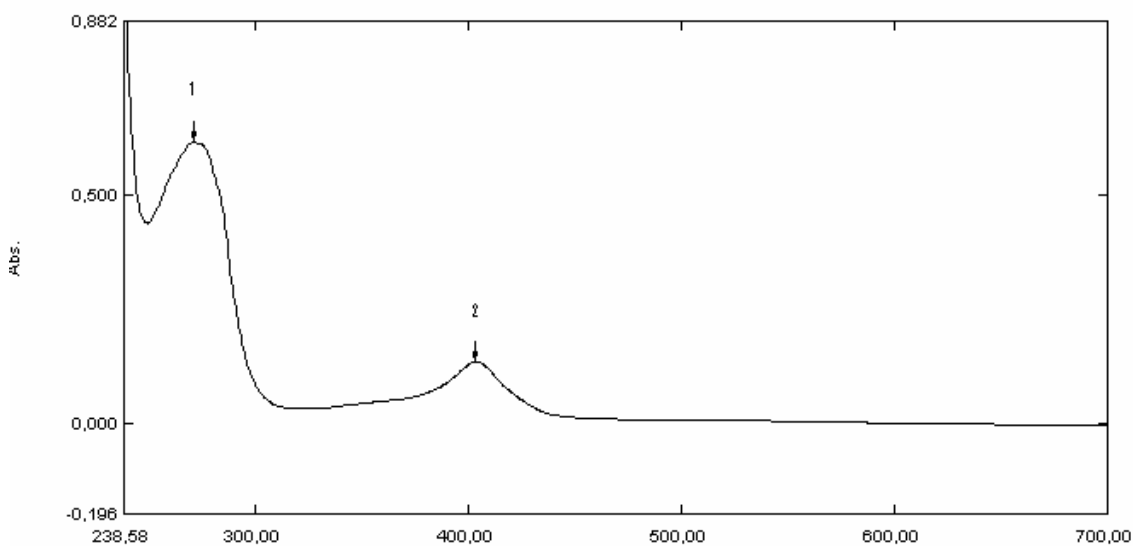


Figura 13: Curva espectral típica do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius*. Região do pico 1: proteínas totais (leitura a 280 e 260 nm) e região do pico 2: hemeproteínas (404 nm).

5. 8 - Comparação da atividade anticoagulante do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*

Ao avaliar a atividade anticoagulante presente na glândula salivar destas duas espécies, notou-se um prolongamento cerca de 3 vezes menor do tempo de recalcificação do plasma com o homogenato de *C. hemipterus* do que com o de *C. lectularius* ($p < 0,05$ teste t) (FIG. 12).

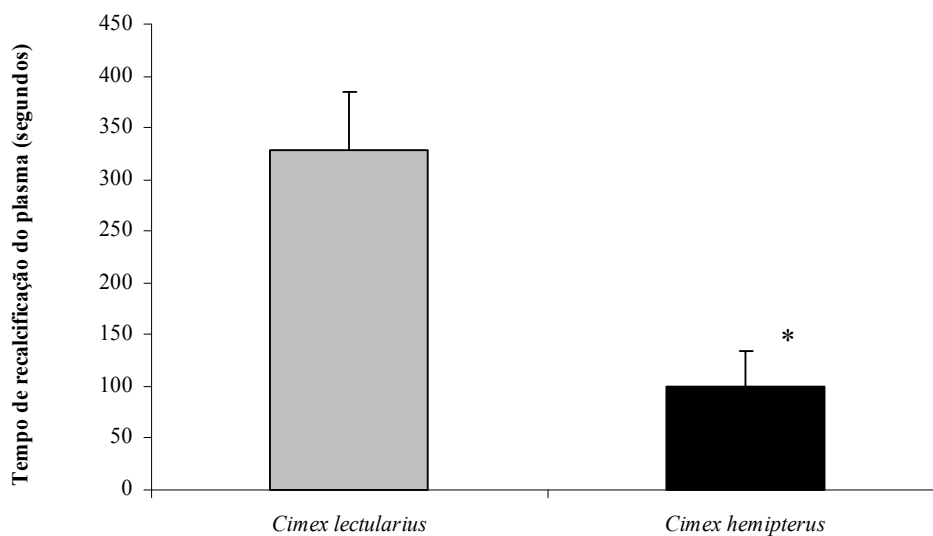


Figura 12: Tempo de recalcificação do plasma humano citratado (média e erro padrão) na presença de homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*. *diferença significativa ao nível de 5%.

repasto, conseguindo mantê-la próxima a 7 Hz até aproximadamente 95% do tempo total do repasto. Por outro lado, *C. hemipterus*, além de apresentar uma frequência média menor (cerca de 4 Hz) só conseguiu mantê-la até aproximadamente a 70% do tempo total de repasto.

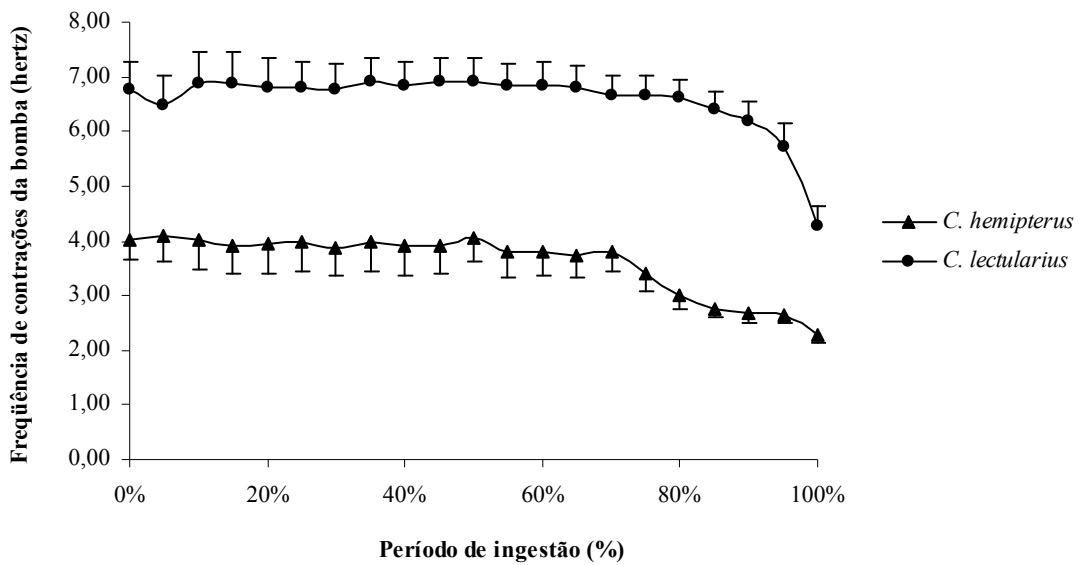


Figura 11: Frequência média de contração da bomba cibarial (média e erro padrão) durante o tempo de ingestão de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* alimentados em pombo.

5. 7 - Comparação da performance alimentar de machos de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* em pombo

Quanto à alimentação em pombo, apenas 20% dos adultos machos de *C. hemipterus* dobraram seu peso inicial o que representa uma proporção menor da observada em *C. lectularius* (83%) ($p < 0,05$, teste Qui- quadrado). Neste caso, foram analisados apenas os experimentos em que *C. hemipterus* não conseguiu dobrar seu peso inicial. Ao compararmos as duas espécies após alimentação em pombo, o ganho de peso foi maior em *C. lectularius* ($4,1 \pm 1,0$ mg) do que em *C. hemipterus* ($1,7 \pm 0,6$ mg) ($p < 0,05$, teste t), representando um aumento do peso inicial de 1,6 para *C. lectularius* e de apenas 0,5 para *C. hemipterus* (**FIG. 5**).

O número médio de picadas e de interrupções observados nos experimentos com *C. lectularius* em pombo foi semelhante ao com *C. hemipterus* ($p > 0,05$, teste t) (**FIG. 6**).

A mediana dos tempos de sondagem cumulativo, não ingestivo e de contato total ($p > 0,05$, Mann - Whitney), bem como a quantidade de líquido ingerida por bombada ($p > 0,05$, teste t) foram semelhantes entre as duas espécies (**FIG. 7 B e D; TAB. 1**).

As taxas de ingestão efetiva e total obtidas com *C. lectularius* ($1,3 \pm 0,5$ e $1,0 \pm 0,4$ mg/ min) foram aproximadamente o dobro das obtidas com *C. hemipterus* ($0,6 \pm 0,5$ e $0,4 \pm 0,4$ mg/ min) ($p < 0,05$ teste t).

A frequência de contração da bomba cibarial foi maior em *C. lectularius* ($6,6 \pm 1,1$ contr/s) do que em *C. hemipterus* ($3,7 \pm 1,3$ contr/s) ($p < 0,05$ teste t) (**FIG. 9**).

Quando se comparou a frequência da bomba nas duas espécies em função do tempo (**FIG. 11**), *C. lectularius* apresentou valores maiores durante todo o

5. 6 - Comparação da performance alimentar de machos de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* em camundongo

A proporção de *C. lectularius* que dobrou o seu peso inicial foi significativamente maior (93%) do que em *C. hemipterus* (56%) ($p < 0,05$, teste Qui-quadrado). O ganho de peso foi semelhante nas duas espécies ($p > 0,05$, teste t) (**TAB. 1**), o que representa um aumento do peso em relação ao peso inicial de 1,3 para *C. hemipterus* e 1,5 para *C. lectularius* (**FIG. 5**).

O número médio de picadas e de interrupções da alimentação foram maiores em *C. hemipterus* quando comparados a *C. lectularius* (**FIG. 6**) ($p < 0,05$, teste t).

Os tempos de sondagem cumulativo e não ingestivo obtidos nos experimentos com *C. lectularius* (mediana de 29,4 e 54,6s) foram menores do que os com *C. hemipterus* (mediana de 81,6 e 111,6s) (**FIG. 7 A e C**) ($p < 0,05$, Mann - Whitney). Já o tempo de contato total com o camundongo, foi semelhante entre as espécies ($p > 0,05$, Mann - Whitney) (**TAB. 1**).

As taxas de ingestão efetiva e total obtidas pelas duas espécies em camundongo foram maiores em *C. lectularius* ($1,2 \pm 0,5$ e $0,9 \pm 0,4$ mg/ min) do que em *C. hemipterus* ($0,9 \pm 0,4$ e $0,6 \pm 0,3$ mg/ min) ($p < 0,01$, teste t).

A frequência de contração da bomba cibarial observada em *C. lectularius* foi maior ($5,2 \pm 1,3$ contr/s) do que em *C. hemipterus* ($4,2 \pm 0,9$ contr/s) ($p < 0,05$, teste t) (**FIG. 9**). Contudo a quantidade de líquido ingerida por bombada foi semelhante entre as duas espécies (**TAB. 1**) ($p < 0,05$, teste t).

A taxa de ingestão total foi maior em insetos alimentados em pombo tratado ($0,7 \pm 0,2$ mg/ min) quando comparado ao não tratado ($0,4 \pm 0,4$ mg/ min) ($p < 0,05$, teste t). Já a quantidade de líquido ingerida por bombada, embora não tenha sido estatisticamente diferente, tendeu a ser maior nos experimentos com pombo tratado ($2,9 \pm 0,7$ nL) do que em pombo não tratado ($2,3 \pm 1,3$ nL) ($p = 0,07$ teste t).

A frequência média da bomba cibarial não foi diferente entre os grupos ($p > 0,05$ teste t) (**FIG. 9**). A análise da frequência em função do tempo, mostrou que ela se manteve próxima a 4 Hz até aproximadamente 60% do tempo total do repasto em ambos os grupos. A partir deste ponto, observou-se uma redução gradual da frequência apenas nos insetos alimentados em pombo controle (**FIG. 10**).

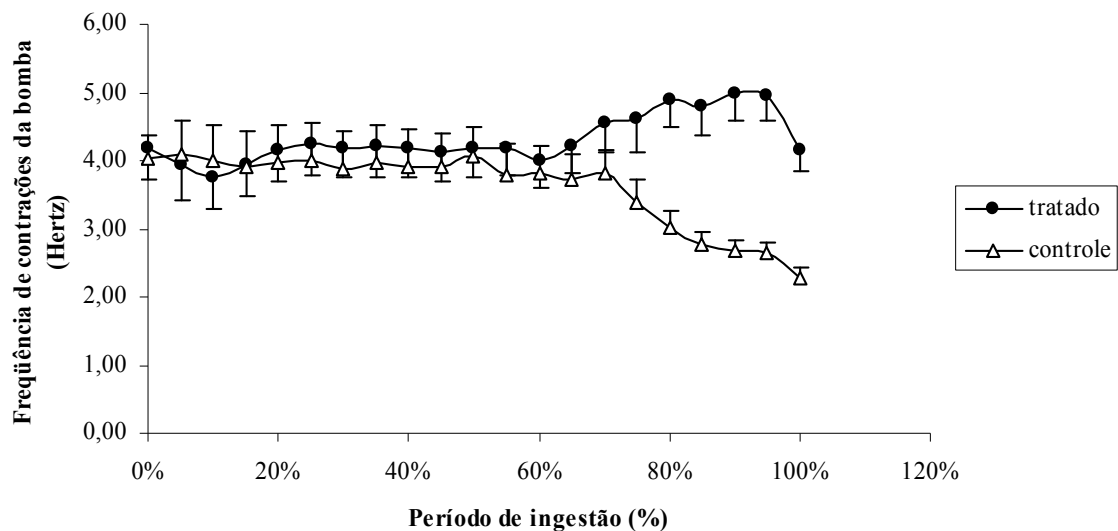


Figura 10: Frequência de contração da bomba cibarial (média e erro padrão) durante o tempo de ingestão de *Cimex hemipterus* alimentados em pombos tratados e não tratados com Marevan.

Os tempos de sondagem cumulativo, não ingestivo e de contato total com o hospedeiro ($p > 0,05$, Mann - Whitney) bem como, a frequência de contrações da bomba cibarial ($p > 0,05$, teste t) foram semelhantes nestes dois hospedeiros (**FIG. 7 e TAB.1**).

A quantidade de líquido ingerida por bombada e a taxa de ingestão efetiva foi maior em camundongo ($3,6 \pm 1,2$ nL e $0,9 \pm 0,4$ mg/ min) do que em pombo ($2,3 \pm 1,3$ nL e $0,6 \pm 0,5$ mg/ min) ($p < 0,05$, teste t). Já a taxa de ingestão total, embora não tenha apresentado diferença estatística, tendeu a ser maior em camundongo ($0,6 \pm 0,3$ mg/ min) do que em pombo ($0,4 \pm 0,4$ mg/ min) ($p = 0,07$ teste t).

5. 5 - Comparação da performance alimentar de machos de *Cimex hemipterus* em pombo não tratado (controle) e tratado com Marevan®

O ganho de peso foi maior em pombo tratado ($3,7 \pm 0,8$ mg) do que em pombo não tratado ($1,7 \pm 0,6$ mg) ($p < 0,05$ teste t), o que correspondeu a um aumento de peso em relação ao peso inicial do inseto de 1,8 e 0,5, respectivamente (**FIG. 5**). No entanto, o número médio de picadas e de interrupções dos insetos alimentados em pombo tratado e não tratado foi semelhante ($p > 0,05$, teste t) (**FIG. 6**)

Os tempos de sondagem cumulativo, não ingestivo e de contato total com o hospedeiro ($p > 0,05$, Mann - Whitney) bem como a taxa de ingestão efetiva ($p > 0,05$, teste t) não apresentaram diferença significativa entre os insetos alimentados em pombo tratado e controle (**TAB. 1**).

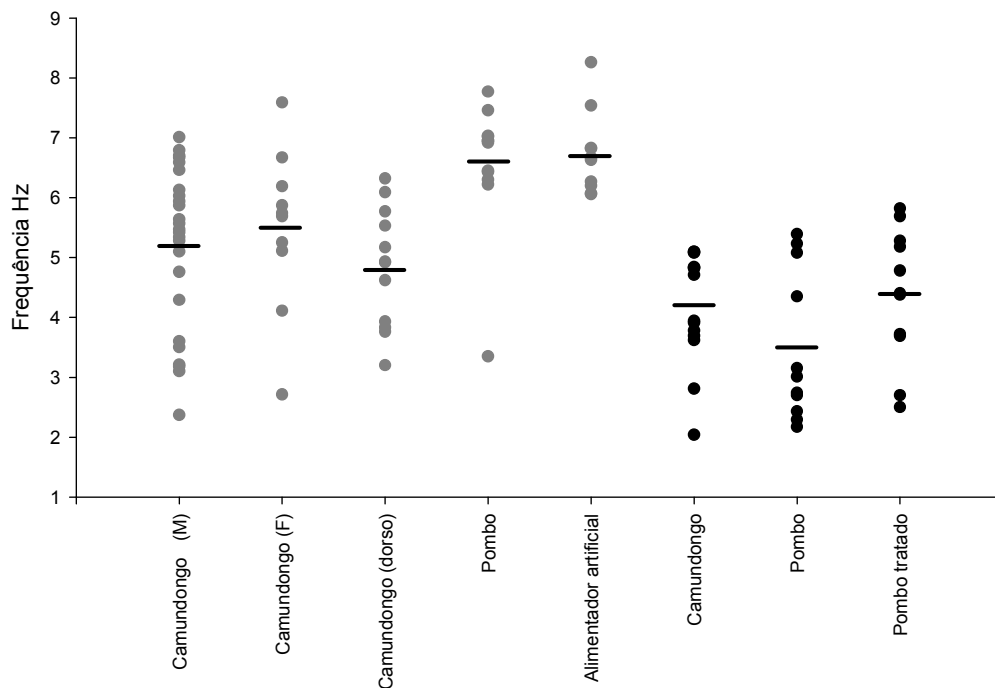


Figura 9: Freqüência de contração da bomba cibarial de *Cimex lectularius* (M: machos, F: fêmeas e pontos cinzas) e *Cimex hemipterus* (M e pontos pretos) alimentados em camundongo, pombo ou alimentador artificial. Cada ponto representa um inseto.

5. 4 - Comparação da performance alimentar de machos de *Cimex hemipterus* em camundongo e pombo

Na comparação da performance alimentar de *C. hemipterus*, observou-se que o ganho de peso e o número de picadas foi maior nos insetos alimentados em camundongo ($3,4 \pm 0,6$ mg e $2,9 \pm 0,4$) quando comparado com pombo ($1,7 \pm 0,6$ mg e $1,5 \pm 0,3$) ($p < 0,05$, teste t). Contudo, o número de interrupções foi semelhante entre os dois hospedeiros testados ($p > 0,05$, teste t) (**FIG. 6 b**).

5. 3 - Comparação da performance alimentar de machos de *Cimex lectularius* em camundongo, pombo e alimentador artificial

O ganho de peso e o número de picadas de *C. lectularius* nas três fontes alimentares foram semelhantes ($p > 0,05$ ANOVA) (**TAB. 1** e **FIG. 6 a**). Entretanto, o número de interrupções entre as fontes estudadas foi diferente entre camundongo ($1,7 \pm 0,3$) e as outras duas fontes ($3,9 \pm 0,8$ em alimentador artificial e $0,9 \pm 0,6$ em pombo) ($p < 0,05$ Tukey).

O tempo total de contato e o tempo de sondagem cumulativo também foram diferentes entre as fontes alimentares, sendo maiores nos insetos alimentados em camundongo (mediana de 265,2 e 29,4s, respectivamente) do que em alimentador artificial (mediana de 207,6 e 8,4s, respectivamente) ($p < 0,05$ Dunn's teste). No entanto, o tempo não ingestivo foi semelhante nos experimentos com as três fontes alimentares ($p > 0,05$ Kruskal - Wallis) (**TAB. 1**).

A taxa de ingestão efetiva foi diferente entre as fontes estudadas, sendo maior em alimentador ($1,8 \pm 0,4$ mg/ min) do que em camundongo ($1,2 \pm 0,5$ mg/ min) ($p < 0,05$ Tukey). Contudo, a taxa de ingestão total obtida nas três fontes foi semelhante ($p > 0,05$ ANOVA).

Tanto a quantidade de líquido ingerida por bombada quanto a frequência da bomba cibarial apresentaram diferenças entre as três fontes alimentares ($p < 0,05$ ANOVA). A diferença na quantidade de líquido foi observada entre a dieta artificial ($4,4 \pm 1,0$ nL) e o pombo ($3,2 \pm 1,0$ nL). Já a frequência foi maior no alimentador e pombo ($6,7 \pm 0,7$; $6,6 \pm 1,1$ contr./s, respectivamente) quando comparada com a obtida em camundongo ($5,3 \pm 1,3$ contr./s) ($p < 0,0001$ Tukey) (**FIG. 9**).

5. 2 - Influência do sítio de alimentação em camundongo (dorso ou ventre) na performance alimentar de machos de *Cimex lectularius*

O número de picadas foi semelhante entre os insetos que se alimentaram no ventre e dorso de camundongo ($p > 0,05$ teste t). No entanto, o número de interrupções durante o repasto foi maior nos insetos alimentados no dorso ($1,9 \pm 0,5$) do que no ventre ($0,3 \pm 0,2$) ($p < 0,05$ teste t) (**FIG. 6**).

O tempo não ingestivo foi maior no dorso do que no ventre (mediana de 96 e 54,6s, respectivamente) ($p < 0,05$ Mann - Whitney) (**FIG. 8**).

Os demais parâmetros (tempo de sondagem cumulativo, tempo de contato total, frequência de bombadas, quantidade de líquido ingerido por bombada e taxa de ingestão efetiva e taxa de ingestão total) foram semelhantes entre os insetos que se alimentaram no dorso e no ventre de camundongo (**TAB. 1**).

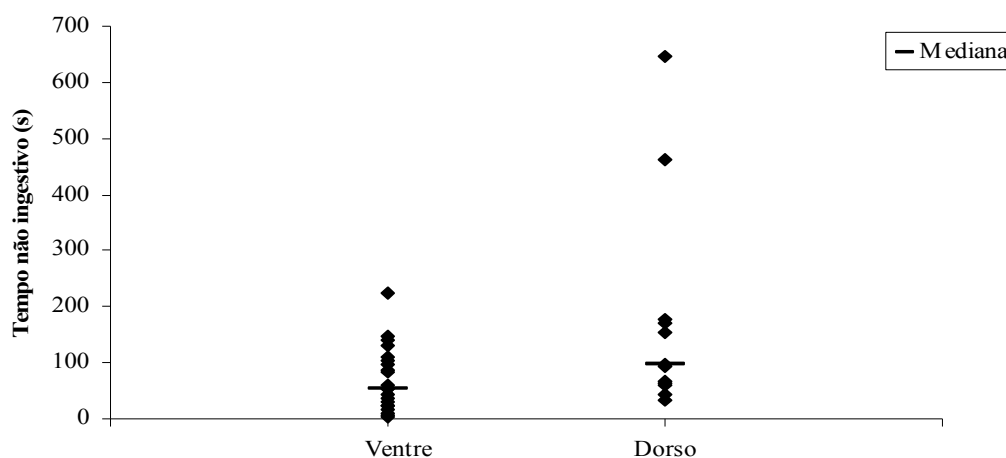


Figura 8: Tempo não ingestivo (segundos) de *Cimex lectularius* alimentados em dorso ou ventre de camundongo (cada ponto representa um inseto).

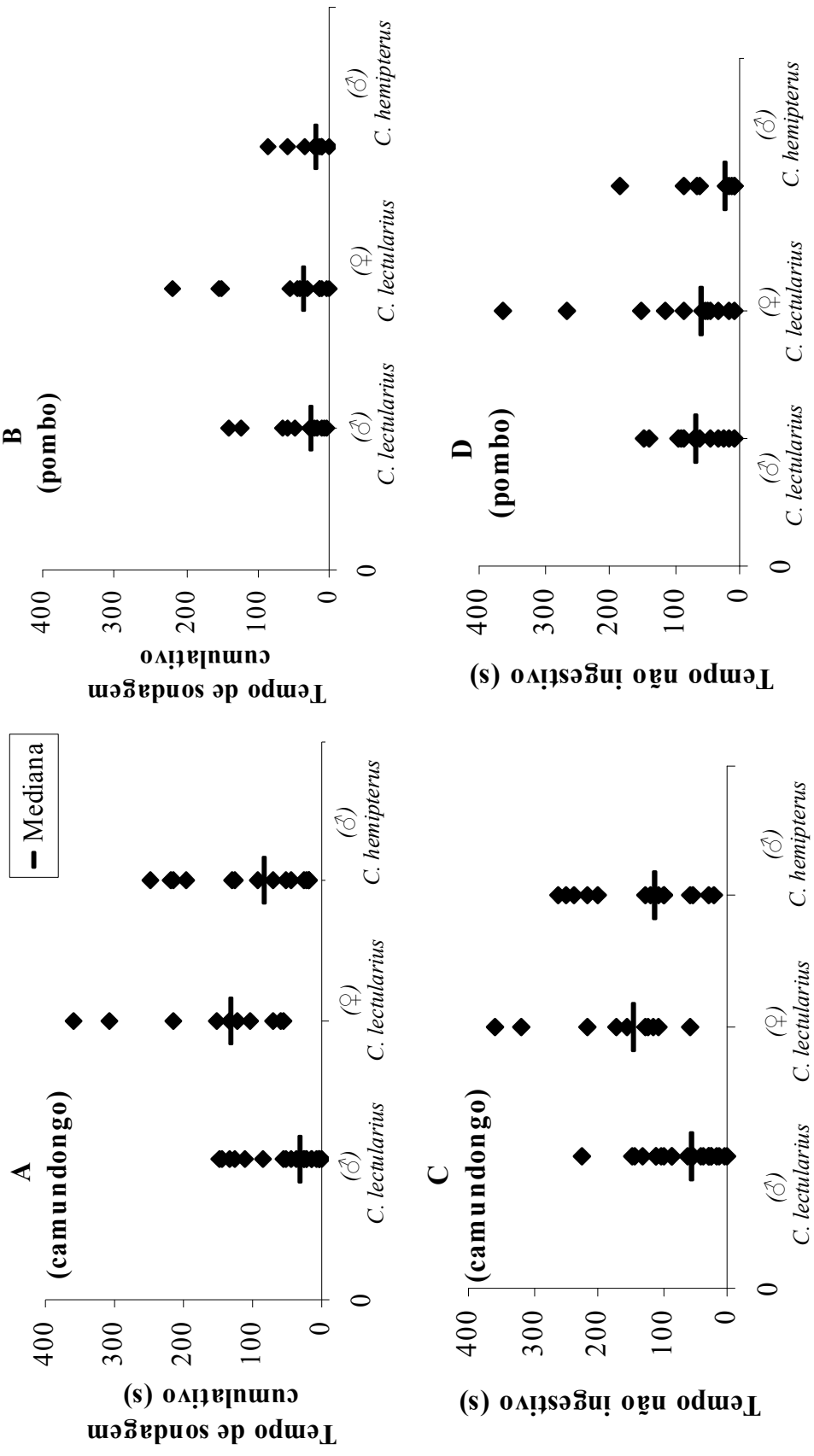


Figura 7: Tempo de sondagem cumulativo em segundos (A e B) e tempo não ingestivo em segundos (C e D) de *Cimex lectularius* (♂ e ♀) e *Cimex hemipterus* (♂) alimentados em camundongo e pombo. Cada ponto representa um inseto.

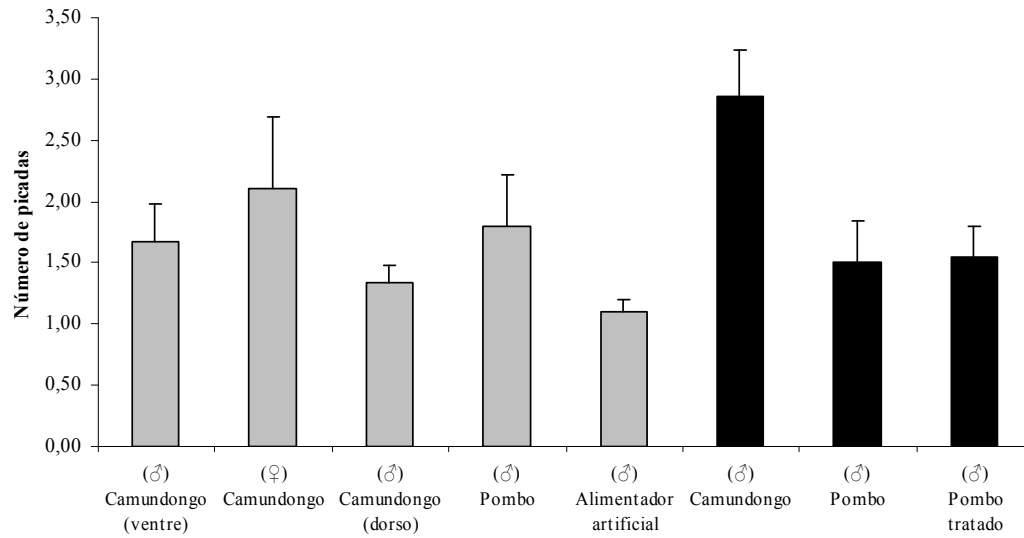
TABELA 1

Resultados obtidos por meio do monitoramento eletrônico da bomba cibarial de *Cimex lectularius* e *C. hemipterus* (média \pm d.p.)

Parâmetros Avaliados	<i>Cimex lectularius</i>					<i>Cimex hemipterus</i>			
	Sexo alimentar (n)	♂ Camundongo Ventre (24)	♀ Camundongo (10)	♂ Camundongo Dorso (12)	♂ Pombo (12)	♂ Alimentador artificial (10)	♂ Camundongo (14)	♂ Pombo (12)	♂ Pombo Tratado (11)
Peso inicial (mg)		2,5 \pm 0,4	2,8 \pm 0,5	2,3 \pm 0,4	2,6 \pm 0,8	2,0 \pm 0,4	2,6 \pm 0,5	3,2 \pm 0,4	2,1 \pm 0,4
Ganho de peso (mg)		3,8 \pm 0,9	9,2 \pm 1,3	3,5 \pm 0,8	4,1 \pm 1,0	3,6 \pm 1,0	3,4 \pm 0,6	1,7 \pm 0,6	3,7 \pm 0,8
Taxa de ingestão total (mg/ min)		0,9 \pm 0,4	0,9 \pm 0,4	0,7 \pm 0,3	1,0 \pm 0,4	1,2 \pm 0,3	0,6 \pm 0,3	0,4 \pm 0,4	0,7 \pm 0,2
Tempo de sondagem cumulativo (s)		48,6 \pm 48 (29,4)**	157,2 \pm 104 (127,8)	64,8 \pm 71,4 (39)	45,6 \pm 45 (25,2)	12,6 \pm 13,8 (8,4)	105,6 \pm 82,8 (81,6)	61,2 \pm 71,4 (35,4)	25,8 \pm 25,2 (18)
Tempo não ingestivo (s)		69,6 \pm 55,2 (54,6)	174,6 \pm 96 (141)	172,2 \pm 189 (96)	67,2 \pm 46,2 (65,4)	65,4 \pm 41,4 (58,2)	133,8 \pm 83,4 (111,6)	103,8 \pm 108 (55,2)	46,2 \pm 52,8 (20,4)
Tempo de contato total (min)		5,0 \pm 2,9 (4,4)	11,4 \pm 3,6 (11,7)	6,6 \pm 3,7 (5,5)	5,0 \pm 2,8 (4,3)	3,2 \pm 0,8 (3,5)	7,0 \pm 3,5 (6,4)	6,7 \pm 4,3 (6,9)	5,6 \pm 2,0 (5,5)
Quantidade de líquido ingerida (nL)		3,8 \pm 0,9	3,8 \pm 1,2	3,5 \pm 1,0	3,2 \pm 1,0	4,4 \pm 1,0	3,6 \pm 1,2	2,3 \pm 1,3	2,9 \pm 0,7
Frequência (contrações/ segundo)		5,3 \pm 1,3	5,5 \pm 1,4	4,8 \pm 1,0	6,6 \pm 1,1	6,7 \pm 0,7	4,2 \pm 0,9	3,7 \pm 1,3	4,4 \pm 1,1

** mediana

a)



b)

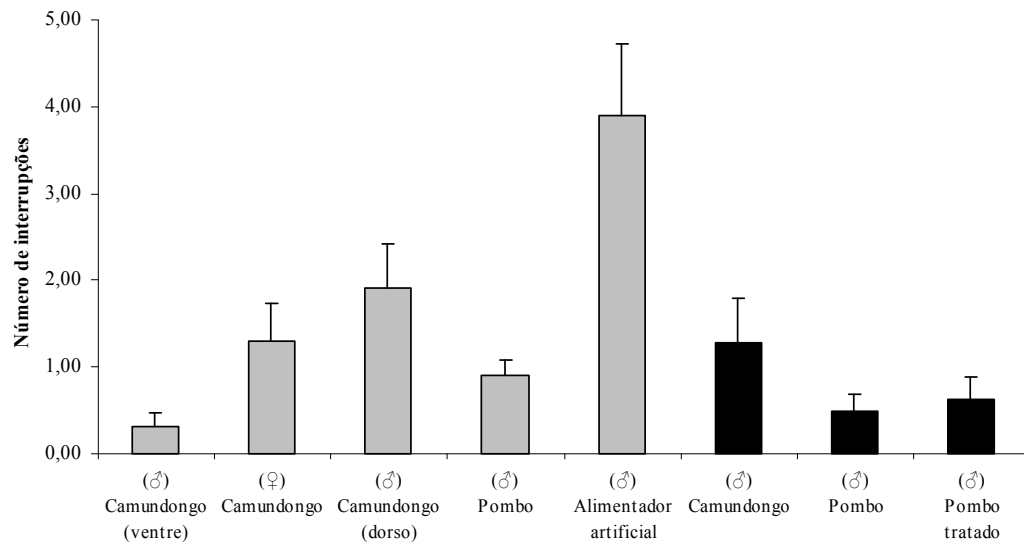


Figura 6: Número (média \pm e.p.) de picadas (a) e de interrupções (b) de *Cimex lectularius* (barras cinzas) e *Cimex hemipterus* (barras pretas) alimentados em camundongo, pombo ou alimentador artificial.

semelhantes entre os sexos em *C. lectularius* (TAB. 1) ($p > 0,05$, teste t). Como a maioria dos parâmetros avaliados na comparação entre os sexos de *C. lectularius* foram semelhantes, dentre estes, as taxas de ingestão efetiva e total, as demais comparações foram realizadas utilizando apenas machos das duas espécies estudadas.

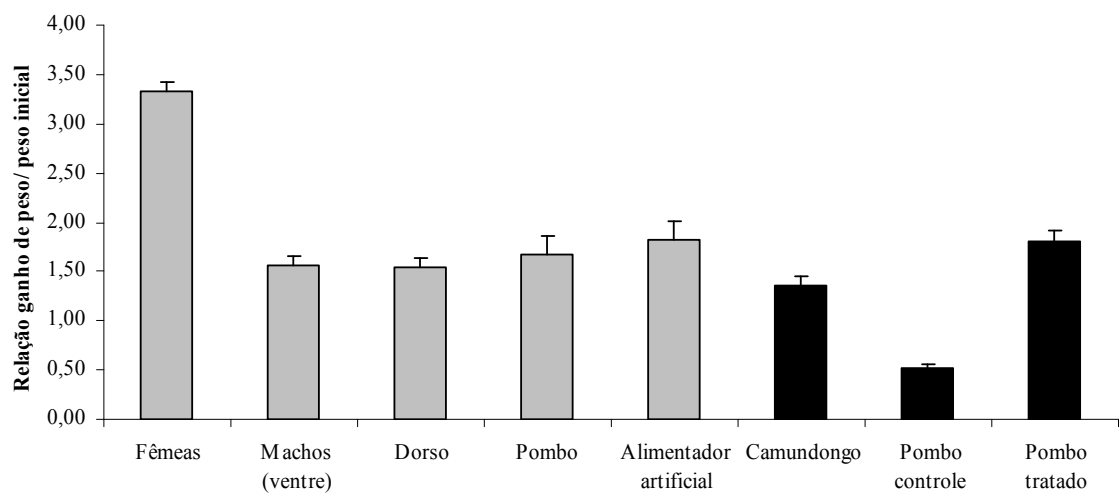


Figura 5: Relação entre o ganho de peso (mg)/ peso inicial (mg) de *Cimex lectularius* (barras cinzas) e de *Cimex hemipterus* (barras pretas) alimentados em camundongo, pombo e/ ou alimentador artificial.

5 - Resultados

5.1 - Comparação da performance alimentar de machos e fêmeas de *Cimex lectularius* alimentados em camundongo

O ganho de peso médio obtido com insetos colocados para se alimentarem diretamente sobre camundongos sedados ($8,2 \pm 2,7$ mg e $4,1 \pm 0,9$ mg para fêmeas e machos, respectivamente) ($n=10$) foi semelhante ao dos experimentos de monitoramento eletrônico da bomba cibarial ($9,2 \pm 1,3$ mg e $3,8 \pm 0,9$ mg, respectivamente) ($p > 0,05$, teste t). O número médio de picadas observadas nas fêmeas que se alimentaram diretamente sobre o camundongo ($2,4 \pm 1,7$) e no experimento de monitoramento da bomba cibarial ($2,1 \pm 0,6$) também foi semelhante ($p > 0,05$, teste t).

A partir da análise comparativa dos experimentos de monitoramento da bomba cibarial, nota-se que o ganho de peso e o número de interrupções foi maior nas fêmeas ($9,2 \pm 1,3$ mg e $1,3 \pm 0,4$) do que nos machos ($3,9 \pm 0,9$ mg e $0,3 \pm 0,2$) ($p < 0,05$, teste t). Contudo, o número médio de picadas em ambos os sexos foi semelhante ($p > 0,05$, teste t) (**FIGs. 5 e 6**).

Os tempos de sondagem cumulativo, não ingestivo e de contato total com o hospedeiro foram maiores em fêmeas (mediana de 127,8s, 141,0s e 11,7min, respectivamente) do que em machos (mediana de 29,4s, 54,6s e 4,4min, respectivamente) (**TAB. 1 e FIG. 7**) ($p < 0,05$, Mann - Whitney).

A taxa de ingestão, a quantidade de líquido ingerida por contração e a frequência de contrações da bomba cibarial apresentaram valores médios

4. 8 - Análise estatística

A análise dos dados foi realizada utilizando o Programa Systat 8.0 for Windows. Primeiramente, realizou-se o teste Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade das variáveis. No geral, os dados relacionados aos tempos (de contato total, de sondagem cumulativo e não ingestivo) apresentaram distribuição não normal. Para analisá-los foram realizados testes não paramétricos de Mann-Whitney para duas variáveis, e Kruskal-Wallis para mais de duas, sendo o teste de Dunn's utilizado para a análise posterior. Para o restante das variáveis (ganho de peso, taxa de ingestão total, quantidade de líquido ingerida, frequência da bomba, comparação da atividade salivar sobre o tempo de recalcificação do plasma e da estimativa de proteínas totais e hemoproteínas), foram realizados testes paramétricos como o teste T de Student, para duas variáveis e ANOVA, para mais de duas. Em seguida, para comparações múltiplas das médias, foi realizado Teste de Tukey. Para a análise de proporções foi realizado o teste do Qui- quadrado. Adotou-se o nível de significância de 5% (95% IC) para todas as análises realizadas.

4. 7 - Estimativa de proteínas totais e hemeproteínas

Conjuntos de 5 pares de glândulas salivares foram obtidos por dissecação de adultos (machos) de *C. hemipterus* e *C. lectularius*. Os insetos utilizados estavam em jejum (8 a 10 dias) após a primeira refeição sangüínea como adultos. Após a coleta das glândulas, estas foram transferidas para tubos de microcentrifuga contendo 30 µl de tampão fosfato - salina (PBS) (pH 7.3). Antes dos ensaios, as glândulas foram sonicadas e centrifugadas a 14000 g por 4 minutos. O sobrenadante foi transferido para um outro tubo e completou-se o volume para 70 µl de PBS. Posteriormente, retirou-se 35 µl das amostras e adicionou-se mais 35 µl de PBS (volume final de 70 µl) em uma cubeta de quartzo sendo realizada a leitura (700 nm – 250 nm) das amostras em um espectrofotômetro (SHIMADZU, UV- 1650 PC). O conteúdo de proteínas totais foi determinado de acordo com Stoscheck (1990), por meio da seguinte fórmula: concentração protéica (mg/ ml) = 1,55 A₂₈₀ – 0,76 A₂₆₀ (A: absorbância). A absorbância a 404 nm foi utilizada para estimar a concentração de hemeproteínas dos homogenatos de glândulas salivares tendo a hemoglobina como padrão (Kit de hemoglobina Labtest) (VALENZUELA et al., 1995).

absorver o sangramento até que ele cessasse. Antes do tratamento da ave, o tempo de sangramento foi de 90 e 120 segundos, respectivamente. Após 24 horas da aplicação da primeira dose de Marevan®, este tempo aumentou para 180 segundos nos dois pombos tratados. Os experimentos foram realizados uma hora após a medição do segundo tempo de sangramento e a administração de uma segunda dose do anticoagulante.

4. 6 - Ensaio do tempo de recalcificação de plasma citratado

Conjuntos de três pares de glândulas salivares de adultos (machos) de *C. hemipterus* e *C. lectularius* (8 a 10 dias de jejum) foram obtidos pela dissecação dos insetos com o auxílio de microscópio estereoscópico. As glândulas coletadas foram armazenadas em tubos de microcentrífuga contendo 30 µl de tampão HEPES/ NaCl pH 7,5 (20mM HEPES; 100 mM NaCl). As amostras foram mantidas a -20⁰ C até o seu uso. Posteriormente, as amostras foram sonicadas e centrifugadas a 12200 g durante 3 minutos e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo mantido em banho de gelo até o seu uso. Para o ensaio, foi utilizada a metodologia proposta por Ribeiro (2000), na qual 30 µl de HEPES/ NaCl (com ou sem as amostras) e 30 µl de plasma humano citratado (0,38% de citrato de sódio) foram distribuídos em poços de placa de ELISA e incubados a 37⁰ C por 5 minutos. Depois da incubação, a coagulação foi disparada pela adição de 30 µl de CaCl₂ 25 mM pré-aquecido. A reação foi realizada a 37°C e o aumento na turbidez foi monitorado a 655 nm a cada 10 segundos no próprio leitor de placa (Microplate Reader Benchmark/ Bio – Rad).

cumulativo [**TP** (min)] foi definido como sendo o tempo gasto a partir da inserção das peças bucais do inseto na pele do hospedeiro até o início da fase de ingurgitamento. Quando o inseto parava o processo de sondagem inicial e reiniciava um novo em outros pontos da pele do hospedeiro, os tempos foram somados. O tempo não ingestivo [**TNI** (min)] foi definido como o tempo em que os insetos, apesar de manterem as peças bucais na pele do hospedeiro, não estavam ingurgitando, sendo caracterizado pelo somatório do tempo de sondagem cumulativo com os tempos de interrupções durante o processo de alimentação. A quantidade de líquido ingerido por contração da bomba cibarial [**QLC** (nl/ contrações)] foi calculada pela razão entre o ganho de peso e o número de contrações da bomba cibarial durante a alimentação considerando-se a densidade (ρ) do sangue e das dietas artificiais como um mg/ μ L. A frequência da bomba cibarial [**F** (contrações/ s)] representou a razão entre o número de contrações da bomba cibarial durante o processo de alimentação e o tempo em que a bomba cibarial estava efetivamente funcionando. Estas variáveis relacionam-se de acordo com a seguinte fórmula de Pereira et al. (2006):

4. 5 - Tratamento do pombo com Marevan®

Para interferir com a coagulação, dois pombos foram tratados com Varfarina sódica (Marevan®) por via oral (3,8 mg) em duas doses com intervalo de 24 horas. Antes e após o tratamento, pulsionou-se o púlvilo da pata da ave com uma agulha para pulsão digital e, com o uso de um papel de filtro foi medido o tempo de sangramento: a cada 30 segundos um papel de filtro era levado até a ferida para

tela de náilon para auxiliar na imobilização. Nos experimentos utilizando pombos, estes foram imobilizados em suporte de madeira apropriado e os insetos foram colocados em contato com os animais em pontos restritos da região peitoral previamente depenada.

Os insetos foram pesados (balança analítica HR- 60/ AND, $d= 0,1\text{mg}$) imediatamente antes e após os experimentos, obtendo-se o ganho de peso [**GP** (mg)]. Foi permitido ao inseto alimentar-se até que o mesmo retirasse espontaneamente as peças bucais do hospedeiro. Considerou-se o início da fase de ingurgitamento o momento em que foram observados 10 picos regulares correspondentes a contrações da bomba cibarial visualizadas no registro eletrônico. Exceto nos ensaios de *C. hemipterus* em pombo, em que foram analisados apenas os experimentos que os insetos não dobraram seu peso inicial, incluiu-se na análise todos os insetos que pelo menos dobraram seu peso inicial. Cuidados necessários foram tomados para reduzir o estresse dos insetos provocado pela luz, odores fortes, barulho, vibrações e manuseamento antes de iniciarem os experimentos.

A técnica de monitoramento permite a identificação de vários momentos do processo alimentar - como o momento da picada, o início da fase de ingurgitamento, as interrupções das bombadas mesmo quando as peças bucais não são retiradas do hospedeiro e a retirada das peças bucais do inseto da pele do hospedeiro - e a obtenção de vários parâmetros da alimentação definidos de acordo com Pereira et al. (2006). O tempo de contato total com o hospedeiro [**TCT** (min)] foi definido como o tempo em que o inseto permaneceu com as peças bucais na pele do hospedeiro. A taxa de ingestão total [**TIT** (mg/ min)] foi calculada pela razão entre o **GP** (mg) pelo **TCT** (min) e a efetiva [**TIE** (mg/ min)], razão entre o **GP** (mg) e o tempo de contato em que a bomba cibarial estava efetivamente funcionando. O tempo de sondagem

colocado em contato com a fonte alimentar utilizada (camundongo, pombo ou alimentador artificial) e recoberto com gel.

Os sinais elétricos produzidos durante o processo alimentar do inseto foram filtrados rejeitando-se os sinais com frequência superior a 17 Hz, amplificados 210 vezes e digitalizados por uma placa de aquisição de dados (ADC100[®]-Pico Technology Limited, UK) conectada a um computador AMD/ 586. Os resultados foram armazenados em um software (Data acquisition system, COLTEC/ UFMG, 1998) para posterior análise (**FIG. 4**) (GUARNERI et al., 2000).

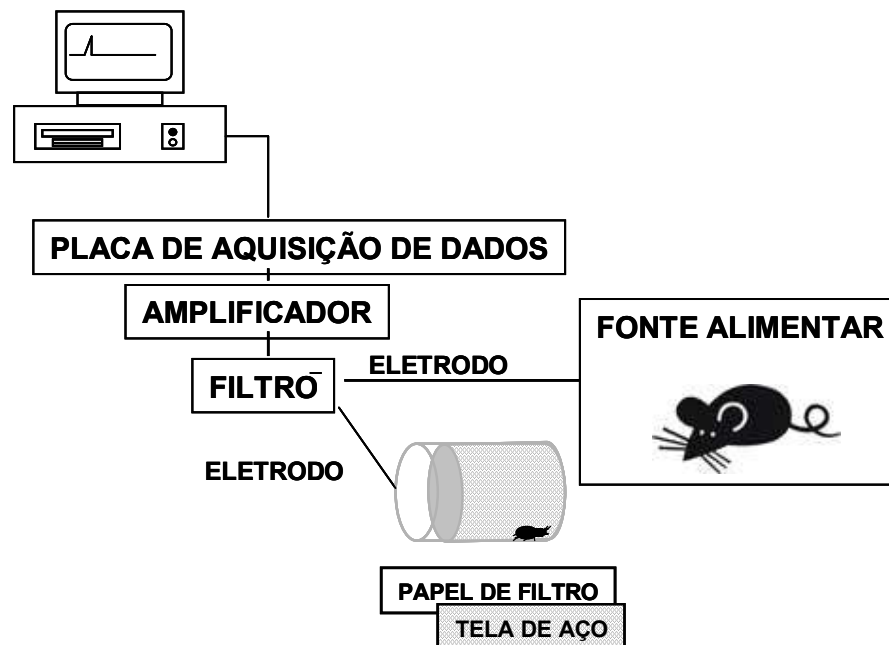


Figura 4: Representação esquemática da técnica de monitoramento da bomba ciliar.

Os cimicídeos foram colocados para alimentarem-se na região abdominal de camundongos “hairless” previamente sedados com diazepam (0,5 mg) administrado pela via intraperitoneal. Após a sedação, os camundongos foram envolvidos por uma

Em alimentador artificial, machos de *C. lectularius* foram alimentados por meio de uma membrana de látex. A dieta artificial constituiu-se de uma solução de sangue humano citratado em salina 0,9% na proporção 3:1, sendo a temperatura da dieta mantida a 37° C com o auxílio de um banho circulador (PolyScience®, 9105).

4. 4 - Estudo do comportamento alimentar de *Cimex*

4. 4 . 1 – Observação direta

Machos e fêmeas de *C. lectularius* foram colocados diretamente sobre o dorso de camundongos “hairless” sedados previamente com diazepam, obtendo-se o ganho de peso (de machos e fêmeas) e o número de picadas (de fêmeas) nesta situação experimental em que os insetos são menos manipulados.

4. 4 . 2 - Monitoramento eletrônico da bomba cibarial

Baseado na técnica descrita por Friend e Smith (1971) e aperfeiçoada por Guaneri et al. (2000; 2003), o comportamento alimentar foi analisado por meio de um sistema de monitoramento da atividade elétrica da bomba cibarial dos insetos.

Adultos de *C. hemipterus* e *C. lectularius* foram colocados individualmente no interior de um cilindro de poliestireno (0,7mm de diâmetro e 1,0mm de comprimento) revestido internamente com uma tela de aço ligada a um eletrodo de platina. Sobre a tela foi aplicada uma fina camada de gel eletrolítico (Resisgraf-Gel®) para facilitar a passagem do sinal elétrico entre a tela e as pernas dos insetos. Outro eletrodo foi



Figura 3: *Cimex lectularius* (ovos, ninfas e adultos) da colônia formada a partir dos insetos coletados na região Metropolitana de Belo Horizonte agregados sobre um pedaço de papel de filtro.

4. 3 - Fontes alimentares

Foram utilizados camundongos “hairless” (linhagem HRS/ J) de 30 a 40 dias de vida, com peso médio de 20g, criados no biotério do Departamento de Parasitologia, ICB/ UFMG, onde foram mantidos em gaiolas com ração padrão e água ad libitum como alimento. Os pombos adultos foram gentilmente fornecidos pelo Sr. Afonso da Costa Viana da sua criação particular. Os hospedeiros utilizados nos experimentos (pombos e camundongos) não tiveram contato prévio com os cimicídeos.

4. 2 - Manutenção da colônia

A manutenção da colônia de *C. hemipterus* no Setor de Morfologia e Ultraestrutura de Artrópodes Vetores está sendo feita em estufa BOD, à temperatura de 28°C e umidade relativa de 80%, com fotoperíodo de 12 horas. Durante a realização dos experimentos os insetos foram mantidos no insetário do LFIH do Departamento de Parasitologia, ICB/ UFMG sob condições semi- controladas de temperatura ($28 \pm 2.0^\circ\text{C}$) e umidade ($65 \pm 5.0\%$). A colônia de *C. lectularius* também foi mantida sob estas mesmas condições de temperatura e umidade.

Os exemplares de *C. lectularius* foram criados em frascos de acrílico cilíndricos, com diâmetro de base de 4 cm e altura de 6 cm, forrados com papel de filtro e contendo uma cartolina dobrada em sanfona para aumentar a superfície interna (**FIG. 3**) . Os insetos foram alimentados semanalmente em camundongos “hairless” sedados previamente com 0,5 mg de diazepam (Dienpax[®]) administrado pela via intraperitoneal.

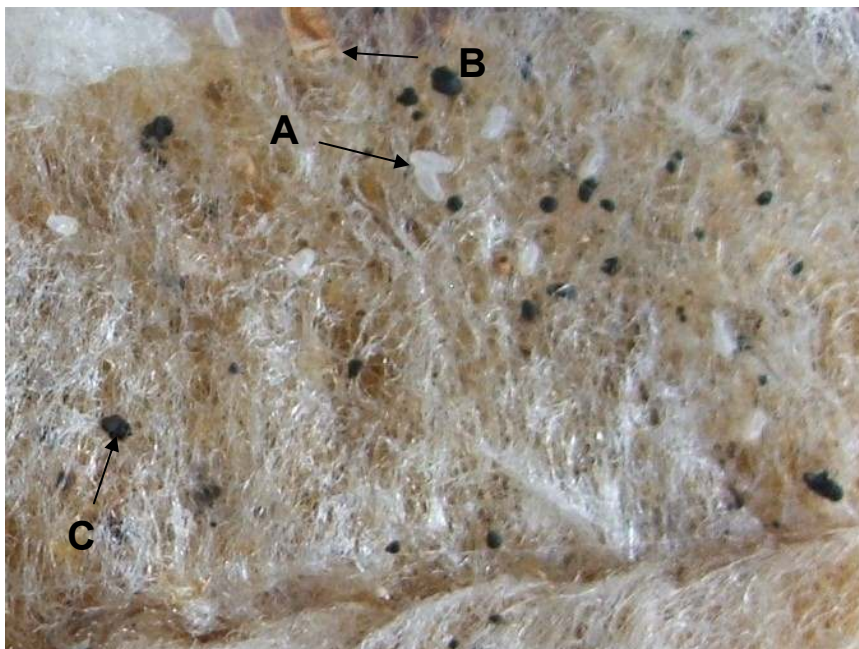


Figura 2: Espuma de colchão coletado em uma residência do bairro Jardim Teresópolis (Betim) sendo mostrados ovos (**A**), exúvias (**B**) e fezes (**C**) de *C. lectularius* (ovo mede ~1mm)

Os experimentos foram realizados com adultos machos de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* possuindo aproximadamente 10 dias de jejum. Devido à disponibilidade de apenas machos de *C. hemipterus*, foram utilizadas somente fêmeas de *C. lectularius* para a comparação entre os sexos desta espécie no hospedeiro camundongo. Com a exceção do experimento de comparação do local do repasto no camundongo (superfície ventral ou dorsal), em todos os experimentos realizados no camundongo, os insetos foram colocados para se alimentarem na superfície ventral do abdômen. Em pombo, os insetos foram colocados para se alimentarem em parte da superfície peitoral previamente depenada.

4 - Materiais e Métodos

4.1 – Insetos

Foram utilizados espécimes machos adultos de *Cimex hemipterus* criados no Setor de Morfologia e Ultra-estrutura de Artrópodes do Departamento de Entomologia do Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ / Rio de Janeiro . A colônia foi iniciada em 2005 a partir de espécimes coletados no Bairro Jacarezinho, RJ.

Para a obtenção de espécimes de *Cimex lectularius*, foram realizadas coletas em duas residências da região metropolitana de Belo Horizonte, uma no bairro Vila Maria de Belo Horizonte (BH) e a outra, no bairro Jardim Teresópolis de Betim. Na coleta realizada em BH, os insetos estavam presentes em um sofá da sala de visitas onde foram encontrados inúmeros percevejos de todos os estádios evolutivos (ovos, ninfas I a V e adultos). No Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos (LFIH), os espécimes foram identificados como pertencentes à espécie *C. lectularius* de acordo com Usinger (1966). Na segunda coleta, realizada no Município de Betim (MG), foi recolhido um colchão do dormitório onde se verificou a presença de percevejos. No laboratório, vistoriou-se o colchão para a procura dos insetos. Foram encontrados também todos os estádios evolutivos, com 50 adultos (machos e fêmeas) e 25 ninfas (I a V), pertencentes à espécie *C. lectularius* (**FIG. 2**). A partir dos espécimes coletados, estabeleceu-se a colônia no insetário do LFIH do Departamento de Parasitologia ICB/ UFMG.

3 - Objetivos

3.1 - Objetivo Geral

Estudar comparativamente a performance alimentar de *Cimex hemipterus* e *Cimex lectularius* em diferentes fontes alimentares (camundongo, pombo e alimentador artificial) bem como, a atividade anticoagulante e a concentração protéica e de hemeproteínas da glândula salivar destes ectoparasitos.

3.2 - Objetivos Específicos

- Estabelecer uma colônia de *Cimex lectularius*;
- Padronizar a metodologia de registro dos sinais elétricos da bomba cibarial para *Cimex*;
- Comparar a performance alimentar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* ao se alimentarem em diferentes fontes alimentares (camundongo, pombo ou alimentador artificial);
- Avaliar comparativamente a performance alimentar de *Cimex hemipterus* em pombos tratados ou não com anticoagulante sistêmico;
- Avaliar a influência do sítio de repasto (superfície ventral ou dorsal) em camundongo na performance alimentar de *Cimex lectularius*;
- Comparar a atividade de homogenatos de glândulas salivares de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* sobre o tempo de recalcificação do plasma humano;
- Estimar a concentração protéica e de hemeproteínas de homogenatos de glândulas salivares das duas espécies.

2 - Justificativa

Os cimicídeos são ectoparasitos temporários de aves e mamíferos, sendo que algumas espécies estão intimamente associadas ao homem. A principal importância destes insetos se deve a reação imunológica desencadeada pela deposição de saliva na derme do hospedeiro, prejudicando o repouso noturno, sobretudo nas altas infestações. Entretanto, por não ter sido comprovada a sua capacidade de transmitir patógenos em condições naturais, pouca importância tem sido dada aos cimicídeos pelos pesquisadores e pelos profissionais da área de saúde. Este desinteresse explica a escassa literatura disponível sobre a biologia destes ectoparasitos, sobretudo em relação a *C. hemipterus*.

Com o ressurgimento de infestações nos países desenvolvidos, em decorrência principalmente do incremento do turismo internacional, tem aumentado o número de trabalhos sobre os cimicídeos principalmente relacionados a novos focos, às reações cutâneas desencadeadas pelas picadas e ao controle químico.

Neste cenário, o estudo comparativo do comportamento alimentar em diferentes hospedeiros e de componentes bioativos da saliva de *C. lectularius* e de *C. hemipterus*, aumentará o conhecimento sobre a biologia destes cimicídeos, sobretudo a respeito da interação destes ectoparasitos com os hospedeiros vertebrados. Além disto, como a hematofagia surgiu independentemente nos cimicídeos e nos triatomíneos (SCHOFIELD, 1988), a comparação do comportamento alimentar entre estes hemípteros pode revelar diferentes estratégias para a obtenção do repasto sangüíneo.

1. 4 - Componentes da saliva

Ao introduzir as peças bucais para a obtenção de sangue no hospedeiro vertebrado, os artrópodes hematófagos desencadeiam uma série de reações. Dentre elas, está o mecanismo hemostático do hospedeiro que é representado pela agregação plaquetária, pela vasoconstrição e pela coagulação sangüínea que são ativados para evitar a perda de sangue. Desta forma, tal mecanismo constitui uma barreira à alimentação sangüínea do artrópode. Para contrapor a este mecanismo, um artrópode hematófago libera saliva, que contém diversos componentes que atuam inibindo as reações adversas do hospedeiro (RIBEIRO, 1995).

No caso dos cimicídeos, componentes da saliva de *C. lectularius* têm sido isolados e caracterizados. Dentre estes, pode-se destacar a enzima apirase que tem importante papel na prevenção da agregação plaquetária ao clivar a adenosina trifosfato (ATP) e adenosina difosfato (ADP) até adenosina monofosfato (AMP) já que, o ADP é um importante indutor da agregação plaquetária (VALENZUELA et al., 1996 a). Como anticoagulante, *C. lectularius* possui um inibidor de ativação do fator X da cascata de coagulação, sendo que a inibição da ativação do fator X a Xa ocorre no complexo tenase (FVIII, FIX a, FX, fosfolipídeos e cálcio) e não diretamente sobre o fator Xa ativado (VALENZUELA et al., 1996 b).

Além desses fatores, *C. lectularius* contém na saliva uma proteína chamada nitroforina (hemeproteína) que estoca e transporta óxido nítrico a partir da glândula salivar para a pele do hospedeiro, o qual possui ação vasodilatadora e atividade anti-plaquetária (VALENZUELA; RIBEIRO, 1998).

(DICKERSON; LAVOPIERRE, 1959). Devido a este fato, Gordon e Crewe (1948) através de observações histológicas, concluíram que *Cimex* era um telmatófago, utilizando as numerosas hemorragias resultantes da movimentação das peças bucais para se alimentar. No entanto, Dickerson e Lavoipierre (1959) baseando-se em observações diretas por meio da técnica de microscopia intravital, descrita por Lavoipierre et al. (1959), demonstraram que *Cimex* se alimenta diretamente em vasos sanguíneos, isto é, é solenófago.

Após esses movimentos de sondagem, inicia-se a fase de ingurgitamento que é caracterizada pelo funcionamento da bomba cibarial a qual exerce uma pressão negativa sobre o vaso sanguíneo, propulsionando o sangue até o tubo digestivo do inseto. A bomba cibarial é formada por músculos dorsais e laterais e conecta-se anteriormente ao canal alimentar e posteriormente ao curto esôfago (SNODGRASS, 1944).

Cimex lectularius possui um par de glândulas salivares principais, ovais e de coloração amarelada, e com aproximadamente 280 µm de comprimento. Estas glândulas se localizam no tórax juntamente com as duas glândulas acessórias e os seus ductos salivares se estendem até a cabeça, sendo que a saída de saliva é propiciada pela bomba salivar (SNODGRASS, 1944).

disso, somente as maxilas penetram na luz do vaso sangüíneo (**FIG. 1**) (DICKERSON; LAVOPIERRE, 1959).

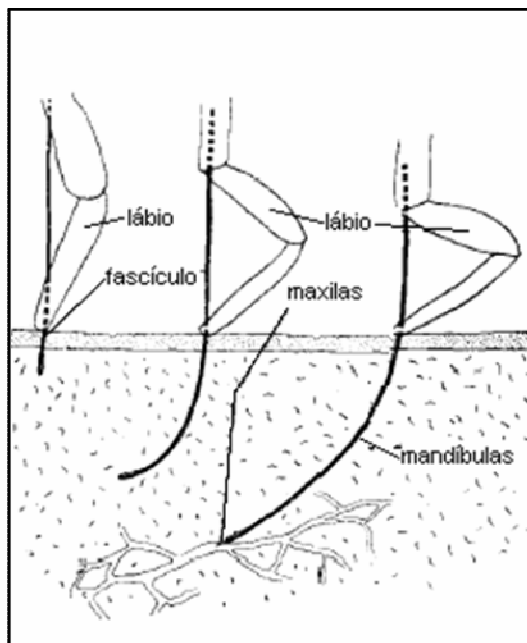


Figura 1: Esquema dos movimentos do fascículo de *Cimex lectularius* na pele do hospedeiro (DICKERSON; LAVOPIERRE, 1959).

O CO₂, a temperatura e outras substâncias como os caimônios estão envolvidas na localização do hospedeiro por *C. lectularius* (Marx, 1955 apud REINHARDT; SIVA – JOTHY, 2006). Esta espécie é capaz de detectar uma diferença de 1°C a 2°C na temperatura por meio de termorreceptores presentes em sensilas antenais (RIVNAY, 1932).

O processo de alimentação de *C. lectularius* se inicia com a penetração do fascículo na pele do hospedeiro. A partir daí, o fascículo, que é flexível, realiza movimentos de sondagem em várias direções, sendo que tais movimentos cessam quando um vaso sangüíneo apropriado é encontrado. Durante estes movimentos ativos do fascículo, formam-se pequenas hemorragias no tecido do hospedeiro

mecanicamente através das peças bucais contaminadas. Porém, a possibilidade de transmissão mecânica deste vírus por insetos, em geral, parece improvável.

Os cimicídeos têm sido suspeitos de transmitir 41 agentes etiológicos de doenças humanas, incluindo bactérias (18 spp), rickettsias (9 spp), vírus (4 spp), protozoários (6 spp) e helmintos (4 spp). Apesar das implicações experimentais da infecção destes insetos pelos vários destes agentes mencionados, ainda não existem evidências convincentes de que espécies de *Cimex* possam agir como vetores no estado natural (BURTON, 1963).

Em hospedeiros vertebrados menores, como morcegos e aves domésticas, a resposta às picadas dos percevejos pode variar de um estado anérgico a reações de hipersensibilidade severas, podendo causar a morte do hospedeiro. Nestes hospedeiros, o desconforto causado pelos cimicídeos pode desencadear mudanças fisiológicas, diminuição do sucesso reprodutivo, bem como favorecer infecções secundárias (REINHARDT; SIVA- JOTHY, 2006).

1. 3 - Comportamento alimentar

Os percevejos, como os triatomíneos, apresentam um aparelho bucal picador-sugador adaptado para se alimentar de líquidos. O rosto é formado pelo fascículo, que envolve um par de mandíbulas e um de maxilas, e estas últimas se juntam formando os sulcos do canal alimentar e salivar. Tanto os cimicídeos quanto os triatomíneos alimentam-se de sangue diretamente dos vasos. Entretanto, o movimento das mandíbulas de *Cimex* difere daquele apresentado pelos triatomíneos, já que, nestes, elas atuam como ancoragem do aparato bucal na epiderme do hospedeiro e naqueles, penetram profundamente na derme. Apesar

foi confirmado que a espoliação causada por cimicídeos possa provocar anemia em humanos.

Além destes danos, a possibilidade dos percevejos atuarem como vetores de doenças humanas devido a seu hábito hematofágico obrigatório e sua íntima associação com o homem tem sido investigada (FORATTINI, 1990).

Ogston et al. (1979) estudando *C. hemipterus*, detectaram o antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HbsAg) nas fezes dos insetos por até seis semanas após se alimentarem em indivíduos infectados. Mais tarde, utilizando técnicas de biologia molecular, Silverman et al. (2001) comprovaram este mesmo resultado. Jupp et al. (1983) encontraram o HbsAg nas fezes de *C. lectularius* por até 42 dias após repasto infectante. Apesar disso, não foi verificada multiplicação viral em nenhum dos dois casos e a infecção do homem só poderia acontecer mecanicamente. Mayans et al. (1994) excluíram os percevejos como vetores do vírus da hepatite B (HBV) entre crianças no Gâmbia, demonstrando que apesar dos resultados experimentais que corroboram a permanência do vírus no inseto, não se sabe o real papel deste inseto como transmissor.

Além do vírus da hepatite B, foram obtidas infecções experimentais de *C. hemipterus* e *C. lectularius* com *Trypanosoma cruzi* (Brumpt 1912; 1913 apud BRUMPT, 1949). Freitas et al. (1946) encontraram exemplares de *C. lectularius* infectados aparentemente por *T. cruzi* e ressaltaram o possível papel dos cimicídeos na transmissão da doença de Chagas, especialmente em localidades com elevada densidade populacional de cimicídeos.

Webb et al. (1989) observaram a permanência do vírus da imunodeficiência humana (HIV) em *C. hemipterus* por até oito dias após terem sido alimentados, por via oral, em sangue com viremia elevada. Neste caso, a transmissão poderia ocorrer

durante o sono e, dependendo do nível de infestação, insônia, estresse, anemia e reações alérgicas (FORATTINI, 1990).

A reação do hospedeiro que se segue à picada depende do seu status imunológico e do tempo de exposição às picadas de *Cimex* (CRISSEY, 1981). Os locais mais freqüentemente acometidos são face, cabeça, pescoço e extremidades inferiores e superiores. Em indivíduos que não têm hipersensibilidade imediata aos componentes da saliva do inseto, algum tempo após a picada podem aparecer pápulas, vesículas ou bolhas no sítio da picada. Freqüentemente, observam-se pontos múltiplos arranjados em filas ou grupos, tipo de lesões caracteristicamente provocadas por estes insetos (FLETCHER et al., 2002). Em indivíduos com hipersensibilidade imediata aos antígenos de *Cimex*, observa-se a formação de pústulas, podendo apresentar ainda, urticária generalizada. Algumas reações sistêmicas podem ocorrer, como asma e anafilaxia, o que sugere a presença de uma hipersensibilidade mediada por IgE do tipo I. Leverkus et al. (2006) ao tratarem um paciente que apresentava múltiplas lesões na pele, identificaram que a reação no individuo foi decorrente de uma hipersensibilidade mediada por IgE contra um componente da saliva de *C. lectularius* que foi identificado como sendo uma nitroforina (hemeproteína) salivar. Porém, tais reações de hipersensibilidade raramente ocorrem com a picada de *Cimex* (CRISSEY, 1981; FLETCHER et al., 2002; LEVERKUS et al., 2006).

Venkatachalam e Belavady (1962) em estudo realizado com recém-nascidos e crianças no Gâmbia, onde a infestação por percevejos era elevada, assinalaram que a perda de sangue pelas picadas de insetos durante um período de tempo estendido, associada a uma nutrição deficiente, poderia ser uma das causas da anemia ferropriva observada nas mesmas. Apesar desta possível associação, não

isoladamente nos abrigos e os ovos são aderidos ao substrato mediante o uso de um cimento. A taxa de desenvolvimento de ovo a adulto é também influenciada pela temperatura, sendo que, a 27° C este período dura cerca de 30 dias (FORATTINI, 1990; JOHNSON, 1942).

No geral, a diferenciação taxonômica entre adultos de *C. lectularius* e *C. hemipterus* se faz pelo pronoto. Na primeira espécie, o pronoto apresenta a margem dilatada e é duas vezes e meia mais largo do que longo. Já *C. hemipterus*, apresenta as margens do pronoto não dilatadas e este não é mais do que duas vezes mais largo do que longo. Além disso, é possível diferenciar as espécies pelas cerdas que apresentam no pronoto e no último segmento abdominal. Em *C. hemipterus*, a cerda apresenta o ápice denteado e em *C. lectularius*, a cerda é denteada lateralmente (USINGER, 1966).

1. 2 - Importância em saúde pública

A origem da associação dos percevejos com o homem ainda é bastante controversa, mas, alguns autores sugerem que tenha se iniciado quando os nossos antepassados coabitaram com os morcegos e andorinhas em cavernas. Desta forma, com a falta destes hospedeiros primários, teria se iniciado a associação e posteriormente, ocorrido à transferência passiva e subsequente adaptação dos insetos aos abrigos humanos (USINGER, 1966).

A importância destes hemípteros em saúde pública advém do hábito hematofágico noturno exercido sobre o hospedeiro, o que pode causar desconforto

1.1 - Aspectos da biologia

Os cimicídeos são insetos cujo corpo tem formato oval, achatado no sentido dorsoventral. Os adultos medem cerca de 3 a 6 mm de comprimento quando não alimentados. Os percevejos procuram abrigos em fendas e rachaduras de paredes, do mobiliário, papel de parede ou mesmo, em colchões e travesseiros. Normalmente, apresentam cinco estádios ninfais, mas em algumas exceções podem apresentar quatro estádios (*Haemosiphon*, *Caminicimex* e *Ornithocoris*, sub-família Haemosiphoninae). As ninfas diferem dos adultos em tamanho e pela ausência do 1° par de asas em forma de escama. Uma das características marcantes dos cimicídeos é o hematofagismo obrigatório em todos os estádios evolutivos e em ambos os sexos (machos e fêmeas). Podem ficar longos períodos sem se alimentarem, sendo que a uma temperatura de 22° C e umidade relativa de 40%, fêmeas de *C. lectularius* sobrevivem até 130,6 dias. No entanto, os insetos necessitam de sangue para desencadear a muda para o estágio seguinte e no caso de adultos, para a produção de ovos pelas fêmeas e de esperma pelos machos. A alimentação ocorre normalmente durante a noite, embora possam realizá-la durante o dia quando as condições são favoráveis. O repasto dura cerca de 5 a 20 minutos, dependendo do estágio do inseto. Os percevejos abandonam os seus hospedeiros imediatamente após o término do repasto, retornando aos seus abrigos onde permanecem até uma próxima refeição. O intervalo entre alimentações é bastante variável sendo que a uma temperatura ambiente de 18° C a 20° C, adultos de *C. lectularius* se alimentam em intervalos semanais e a 23° C e 90% de umidade relativa, esse intervalo é reduzido para três dias (JOHNSON, 1942). A fêmea coloca cerca de 200 ovos durante a sua vida sendo que, a oviposição é realizada

Diante disso, observa-se que o quadro atual de infestação por *Cimex* é bastante diferente do passado, visto que, neste, as infestações eram geralmente associadas a condições de habitação e de higiene precárias que favoreciam a instalação e permanência dos insetos no intradomicílio. No entanto, hoje se sabe que não há relação entre a sua presença e estas condições, já que há relatos de países desenvolvidos onde *Cimex* tem sido considerado como umas das principais pragas urbanas (FORATTINI, 1990; RYAN et al., 2004).

No Brasil existem poucos relatos sobre a presença de cimicídeos em habitações humanas (MOREIRA; MAGALHÃES, 1933; MONTEIRO, 1935; SOUZA-ARAÚJO, 1943). Pinto (1930) relatou a presença de *C. hemipterus* no Rio de Janeiro e *C. lectularius* em São Paulo. Segundo Costa Lima (1940), *C. hemipterus* é a espécie encontrada com mais frequência no Brasil, inclusive nos centros mais populosos, enquanto *C. lectularius* parece ser encontrada com maior abundância em São Paulo e estados do Sul, devido provavelmente à intensa imigração européia nesta região naquela época.

Nagem (1985) detectou a presença de *C. lectularius* em 11 dos 14 municípios que compunham a região metropolitana de Belo Horizonte sendo que, tal observação foi indiferente quanto ao nível socioeconômico das habitações visitadas. Segundo Negromonte et al. (1991) em trabalho realizado em 1987 em uma comunidade do bairro Gorduras (Vila Maria) de Belo Horizonte (MG), a prevalência deste percevejo nas habitações pesquisadas foi de 7,16%. No entanto, a inexistência de outros trabalhos sobre a prevalência de cimicídeos no Brasil, impediu comparações entre diferentes regiões do país.

na face, pescoço e extremidades, com causa desconhecida. Posteriormente, foi descoberto que a etiologia de tais lesões cutâneas fôra decorrente das picadas de *C. lectularius* devido a deposição de saliva na derme do hospedeiro.

Em estudo realizado em Toronto (Canadá), Hwang et al. (2005) observaram o aparecimento de novas infestações por *C. lectularius* em ambiente urbano em diferentes tipos de moradia (apartamentos, casas familiares, quartos individuais, abrigos).

Ryan et al. (2004) relataram um aumento no número de infestações por estes insetos em acomodações para curta hospedagem de viajantes estrangeiros na cidade de Sidney (Austrália). Inclusive, o turismo na Austrália tem sido afetado com o aumento dos cimicídeos, uma vez que estes insetos também têm sido detectados em hotéis, motéis e outros tipos de alojamento, além de moradias privadas. Com isso, houve uma perda econômica significativa, tanto devido aos gastos com o tratamento dos locais infestados quanto com a perda da locação dos imóveis (DOGGETT et al., 2004).

As razões para a ressurgência de percevejos ainda são desconhecidas. Alguns autores têm sugerido que tal fato seja decorrente do aumento do turismo internacional que teria favorecido a dispersão passiva dos insetos. Na Austrália, Doggett et al. (2003) especularam que a forma de introdução de *C. hemipterus* no país teria sido por meio de viajantes estrangeiros que transportariam os insetos em suas bagagens e vestimentas. Além do turismo internacional, possivelmente o uso indiscriminado de inseticidas no controle de pragas domésticas poderia ter promovido o aparecimento de resistência nos cimicídeos e com isso, contribuído para o reaparecimento das infestações (CRISSEY, 1981; HWANG et al., 2005).

programas de controle de vetores de diversas doenças como malária, febre amarela e doença de Chagas - aliado à melhoria nas condições habitacionais e de higiene, houve uma drástica redução nos níveis de infestação por este hemíptero. No entanto, este declínio foi mais acentuado nos países da zona temperada, sendo que, nas áreas tropicais e subtropicais, a infestação permaneceu elevada (BOASE, 2004; CRISSEY, 1981; HWANG et al., 2005).

Assim, as infestações por cimicídeos permaneceram incomuns nos países desenvolvidos, principalmente na Europa e América do Norte, até a década de 80 (BOASE, 2004). Contudo, a partir de 1995 tem sido relatada a presença de infestações no Reino Unido, Estados Unidos e em menor extensão, em outros países, apesar de não se dispor de dados publicados que possam esclarecer a real magnitude do problema (BOASE, 2004; CRISSEY, 1981; HWANG et al., 2005; NEGROMONTE et al., 1991). Doggett et al. (2004) relataram que as companhias de controle de pragas da Austrália têm registrado um aumento exponencial nas infestações por *Cimex* de até 400 % quando comparados o período de 2001 a 2004, com 1997 a 2000.

Neste contexto, vários trabalhos têm mostrado a ressurgência de *Cimex*, sobretudo nos países da zona temperada. King et al. (1989) trataram uma residência em Islington (Londres, Reino Unido) na qual foram encontrados inúmeros espécimes de *C. lectularius* em todos os cômodos. Fletcher et al. (2002) e Leverkus et al., (2006), relataram dois casos de pacientes provenientes da Espanha e dos Estados Unidos, respectivamente, que, após viagem a Londres, retornaram com múltiplas lesões na pele diagnosticadas como decorrentes de picadas por *Cimex*.

Poorten et al. (2005) relataram um caso de uma criança proveniente do estado de Virginia (Estados Unidos) com múltiplas pápulas eritematosas e máculas

1- Introdução

Os percevejos de cama pertencem à ordem Hemiptera, família Cimicidae, compreendendo 92 espécies reconhecidas dentro de 23 gêneros pertencentes a seis subfamílias – Primicimicinae, Cimicinae, Cacodminae, Afrocimicinae, Latrocimicinae e Haematosiphoninae. A maioria das espécies está associada a morcegos, podendo parasitar aves e outros mamíferos. Apenas três espécies são comumente associadas ao homem: *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758, *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) e *Leptocimex boueti* Brumpt, 1910. Porém, outras espécies como *Cimex adjunctus* Barber, 1939, que primariamente parasita morcegos, podem atacar o homem na ausência do seu hospedeiro primário (REEVES et al., 2004; RYCKMAN et al., 1981; SIMOV et al., 2006; USINGER, 1966).

Cimex lectularius, o percevejo de cama comum, é cosmopolita e parece ter tido origem no Oriente Médio. Distribui-se predominantemente pelas regiões temperadas e alcança as tropicais por meio de dispersão passiva. Entre os seus hospedeiros, além do homem, encontram-se galinhas, morcegos e outros animais domésticos (USINGER, 1966).

Cimex hemipterus, o percevejo de cama tropical, tem distribuição geográfica restrita à faixa tropical e admite-se que tenha tido origem na região meridional do continente Asiático. Seus hospedeiros incluem morcegos, o homem, aves e animais silvestres (USINGER, 1966). Já *L. boueti* tem associação com morcegos e com o homem restrita à África ocidental (USINGER, 1966).

A infestação por cimicídeos era bastante comum nas habitações, hotéis, alojamentos, pousadas, entre outros, atingindo altos níveis até a década de 40, em diversas partes do mundo. A partir do advento do DDT e BHC, - utilizados nos

Abstract

Cimex lectularius and *Cimex hemipterus* are the main species of cimicidae associated with humans. In the present study, the electrical signal of the cibarial pump while feeding in different sources, the anticoagulant activity and the amount of proteins (total and hemeproteins) of the salivary gland homogenate from these two species were comparatively evaluated. The weight gain and the total contact time from *C. lectularius* fed in mice were higher in females than in males, although the ingestion rate was similar in both sexes. Comparing both species, *C. lectularius* presented better feeding performance in live hosts (pigeon and mice) than *C. hemipterus*. This last species had more difficulty to obtaining blood from pigeon than from mice. The treatment of the pigeon with an anticoagulant increased the total ingestion rate and the percentage of *C. hemipterus* that doubled the weigh. The effective ingestion rate from *C. lectularius* was higher in an artificial feeder than in mice. The differences found on the feeding performance between the two species could be related to the higher anticoagulant activity and concentration of hemeproteins present in the salivary gland of *C. Lectularius* in comparison to *C. hemipterus*.

Resumo

Cimex lectularius e *Cimex hemipterus* são as principais espécies de cimicídeos associadas ao homem. Neste estudo, avaliou-se comparativamente nestas duas espécies de cimicídeos, o sinal elétrico produzido pela bomba cibarial durante a alimentação do cimicídeo em diferentes fontes alimentares bem como a atividade anticoagulante e a quantidade de proteínas (totais e de hemeproteínas) do homogenato de glândula salivar. O ganho de peso e o tempo total de contato de *C. lectularius* alimentados em camundongo foram maiores nas fêmeas do que nos machos, embora a taxa de ingestão total tenha sido semelhante em ambos os sexos. Na comparação entre as duas espécies, *C. lectularius* apresentou uma melhor performance alimentar nos hospedeiros vivos (pombo e camundongo) do que *C. hemipterus*. Esta última espécie apresentou uma maior dificuldade em obter repasto sangüíneo em pombo do que em camundongo. O tratamento do pombo com anticoagulante aumentou a taxa de ingestão total e a porcentagem de *C. hemipterus* que dobraram de peso. Já a taxa de ingestão efetiva obtida por *C. lectularius* foi maior em um alimentador artificial do que em camundongo. As diferenças encontradas na performance alimentar entre as duas espécies podem estar relacionadas a uma maior atividade anticoagulante e a uma maior concentração de hemeproteínas presentes na glândula salivar de *C. lectularius* em comparação com *C. hemipterus*.

5. 6 - Comparação da performance alimentar de machos de <i>Cimex lectularius</i> e <i>Cimex hemipterus</i> em camundongo	36
5. 7 - Comparação da performance alimentar de machos de <i>Cimex lectularius</i> e <i>Cimex hemipterus</i> em pombo	37
5. 8 - Comparação da atividade anticoagulante do homogenato de glândula salivar de <i>Cimex lectularius</i> e <i>Cimex hemipterus</i>	39
5. 9 - Estimativa do conteúdo de proteínas salivares totais e de hemeproteínas do homogenato de glândula salivar de <i>Cimex lectularius</i> e <i>Cimex hemipterus</i>	40
6 - Discussão	42
7 – Conclusões	49
Referências bibliográficas	50

4. 5 – Tratamento do pombo com Marevan®	22
4. 6 – Ensaio do tempo de recalcificação de plasma citratado	23
4. 7 – Estimativa de proteínas totais e hemeproteínas	24
4. 8 – Análise estatística	25
5 – Resultados	26
5. 1 - Comparação da performance alimentar de machos e fêmeas de <i>Cimex lectularius</i> alimentados em camundongo	26
5. 2 - Influência do sítio de alimentação em camundongo (dorso ou ventre) na performance alimentar de machos de <i>Cimex lectularius</i>	31
5. 3 - Comparação da performance alimentar de machos de <i>Cimex lectularius</i> em camundongo, pombo e alimentador artificial	32
5. 4 - Comparação da performance alimentar de machos de <i>Cimex hemipterus</i> em camundongo e pombo	33
5. 5 - Comparação da performance alimentar de machos de <i>Cimex hemipterus</i> em pombo não tratado (controle) e tratado com Marevan®	34

Sumário

1 - Introdução	1
1.1 - Aspectos da biologia	5
1.2 - Importância em saúde pública	6
1.3 - Comportamento alimentar	9
1.4 - Componentes da saliva	12
2- Justificativa	13
3- Objetivos	14
3.1 - Objetivo Geral	14
3.2 - Objetivos Específicos	14
4- Materiais e Métodos	15
4.1 - Insetos	15
4.2 - Manutenção da colônia	17
4.3 – Fontes alimentares	18
4.4 - Estudo do comportamento alimentar de <i>Cimex</i>	19
4.4.1 – Observação direta	19
4.4.2 – Monitoramento eletrônico da bomba cibarial	19

Figura 12: Tempo de recalcificação do plasma humano citratado (média e erro padrão) na presença de homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*. *diferença significativa ao nível de 5%. 39

Figura 13: Curva espectral típica do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius*. Região do pico 1: proteínas totais (leitura a 280 e 260 nm) e região do pico 2: hemeproteínas (404 nm). 40

Figura 14: Estimativa do conteúdo de proteínas totais (a) e hemeproteínas (b) (média e erro padrão) do homogenato de glândula salivar de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus*. *diferença significativa ao nível de 5%. 41

Figura 15: Sinais elétricos produzidos pela bomba cibarial de *Cimex lectularius* durante a fase de ingurgitamento em camundongo. Este registro corresponde a um tempo de 2,56 segundos. 43

alimentados em camundongo, pombo ou alimentador artificial. 28

Tabela 1: Resultados obtidos por meio do monitoramento eletrônico da bomba cibarial de *Cimex lectularius* e *C. hemipterus* (média \pm d. p.) 29

Figura 7: Tempo de sondagem cumulativo em segundos (**A** e **B**) e tempo não ingestivo em segundos (**C** e **D**) de *Cimex lectularius* (σ e ρ) e *Cimex hemipterus* (σ) alimentados em camundongo e pombo. Cada ponto representa um inseto. 30

Figura 8: Tempo não ingestivo (segundos) de *Cimex lectularius* alimentados em dorso ou ventre de camundongo (cada ponto representa um inseto). 31

Figura 9: Freqüência de contração da bomba cibarial de *Cimex lectularius* (M: machos, F: fêmeas e pontos cinzas) e *Cimex hemipterus* (M e pontos pretos) alimentados em camundongo, pombo ou alimentador artificial. Cada ponto representa um inseto. 33

Figura 10: Freqüência de contração da bomba cibarial (média e erro padrão) durante o tempo de ingestão de *Cimex hemipterus* alimentados em pombos tratados e não tratados com Marevan. 35

Figura 11: Freqüência média de contração da bomba cibarial (média e erro padrão) durante o tempo de ingestão de *Cimex lectularius* e *Cimex hemipterus* alimentados em pombo. 38

Lista de tabelas e figuras

- Figura 1:** Esquema dos movimentos do fascículo de *Cimex lectularius* na pele do hospedeiro (DICKERSON; LAVOPIERRE, 1959). 10
- Figura 2:** Espuma de colchão coletado em uma residência do bairro Jardim Teresópolis (Betim) sendo mostrados ovos (**A**), exúvias (**B**) e fezes (**C**) de *C. lectularius* (ovo mede ~1mm) 16
- Figura 3:** *Cimex lectularius* (ovos, ninfas e adultos) da colônia formada a partir dos insetos coletados na região Metropolitana de Belo Horizonte agregados sobre um pedaço de papel de filtro. 18
- Figura 4: **Representação esquemática da técnica de monitoramento da bomba cibarial.** 20
- Figura 5:** Relação entre o ganho de peso (mg)/ peso inicial (mg) de *Cimex lectularius* (barras cinzas) e de *Cimex hemipterus* (barras pretas) alimentados em camundongo, pombo e/ ou alimentador artificial. 27
- Figura 6:** Número (média \pm e.p.) de picadas (**a**) e de interrupções (**b**) de *Cimex lectularius* (barras cinzas) e *Cimex hemipterus* (barras pretas)

Fernanda Silva Costa

Estudo comparativo do comportamento alimentar em diferentes hospedeiros e de componentes bioativos da saliva de *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758 e *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803) (Hemiptera, Cimicidae)

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

Área de concentração: Entomologia

Orientador: Prof. Dr. Marcos H. Pereira

Co-orientadora: Dr^a. Teresa Cristina
Monte Gonçalves - FIOCRUZ/ RJ

Belo Horizonte
Instituto de Ciências biológicas da UFMG
2007

Fernanda Silva Costa

Estudo comparativo do comportamento alimentar
em diferentes hospedeiros e de componentes
bioativos da saliva de *Cimex lectularius* Linnaeus,
1758 e *Cimex hemipterus* (Fabricius, 1803)
(Hemiptera, Cimicidae)

Belo Horizonte
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG
2007
