
CIENCIA Y TECNOLOGIA HOY

SCIENCE AND TECHNOLOGY TODAY

CIÊNCIA E TECNOLOGIA HOJE

O SISTEMA IMUNE DOS INSETOS E O CONTROLE DE ALGUMAS

DOENÇAS PARASITÁRIAS HUMANAS

HÉRCULES MENEZES e JOSÉ M. ÁLVAREZ MOSIG

RESUMO

As doenças parasitárias humanas, transmitidas por insetos, acometem cerca de 500 milhões de pessoas residentes principalmente em países de baixo poder econômico. O controle destas doenças é de difícil execução, devido principalmente a fatores sociais e políticos, aliados à capacidade que estes organismos apresentam em desenvolver resistência aos inseticidas empregados no seu combate.

Alguns avanços recentes na área de Imunologia de Insetos tem aberto possibilidades alternativas para o controle epidemiológico destas doenças.

O sistema imune dos insetos, assim como o de outros organismos, tem a capacidade de reconhecer parasitos que os infectam e desencadear uma série de reações que detem a infecção.

Estas reações compreendem a mobilização de células circulantes (hemócitos) contra o parasito. Estas células tem a capacidade de fagocitá-los e desencadear a produção de diversos fatores humorais, que neutralizam a infecção.

Alguns resultados promissores, obtidos no estudos do sistema imune de insetos transmissores de malária, doença do sono e dengue, exemplificam esta nova estratégia sanitária.

PALAVRAS CHAVES / Sistema imune de insetos / Controle epidemiológico / Insetos vetores /

No presente momento, de toda a população mundial, cerca de 500 milhões de pessoas encontram-se acometidas de doenças parasitárias que lhes foram transmitidas por insetos. Uma parcela destes homens, mulheres e principalmente crianças, deverá morrer, enquanto outra

parcela poderá apresentar sequelas, como cegueira, problemas cardíacos, neurológicos ou hepáticos.

Algumas dessas enfermidades (Tabela I), como a doença de Chagas, que originalmente tinham o inseto barbeiro (triatomíneos) como seu principal transmissor,

tem recebido uma atenção especial das autoridades sanitárias e hoje em dia o crescente número de novos casos observados, decorrem ainda de contaminações através de transfusões sanguíneas em bancos de sangue sem controle adequados.

Outras doenças transmi-

das por insetos, embora tenham suas frequências decaídas em algumas regiões, podem ocasionalmente apresentar novos focos, inclusive onde já se supunha que o problema estivesse em vias de solução. É o caso da dengue, que nestes últimos anos tem resurgido assusta-

Hércules Menezes é Professor de Imunobiologia e de Evolução do Sistema Imune no Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (campus de Rio Claro) desde 1991. Lic. em Biologia na USP (1975). Estágio em Biologia Celular na Universidade de Stockolm (1976) e em Imunologia Celular no Instituto Pasteur de Pa-

ris (1979). MSc. em Biologia Geral na USP (1982). Dr. em Ciências Biológicas na USP (1985). Bolsista do CNPq (85-87). Pesquisador Científico no Instituto Butantan (87-91). Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP, CP-199, CEP: 13506-900, Brasil. e-mail: hermes@life.ibrc.unesp.br

José Maria Alvarez Mosig é Professor de Imunologia no Departamento de Imunologia da Universidade de São Paulo (São Paulo) desde 1990. Faculdade de Medicina de Sevilha (1974). Doutor pela Universidade Autônoma de Madrid (1979). Pós-Doutorado no NIH de Bethesda, Maryland (79-82).

Pesquisador Científico no Instituto Butantan (São Paulo) (85-90).

Endereço para correspondência: Dr. Hércules Menezes, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, SP, CP-199, CEP: 13506-900, Brasil. Email: hermes@life.ibrc.unesp.br

SUMMARY

Parasitic diseases in humans, transmitted by insects, affect about 500 million people living mainly in countries of low economic power. The control of these diseases is difficult to carry out, mainly due to social and political problems, enhanced by the capacity of these organisms to develop resistance to insecticides used to for their destruction.

Some recent advances in the area of insect immunology have open the possibility for a better epidemiological control of these diseases.

The immune system of these insects, as well as that of other organisms, have the ability to recognize the infecting parasites and liberate a series of reactions which stop the infection. These reactions involve the circulating cells (hemocytes) against the parasite. These cells have the ability of phagocytize and liberate the production of various humoral factors, neutralizing the infection.

Some promising results, obtained by the study of the immune system of malaria-transmitting insects, the sleeping disease, and dengue, are an example of this new sanitary strategy.

RESUMEN

Las enfermedades parasitarias en humanos, transmitidas por insectos, afectan a cerca de 500 millones de personas residentes principalmente en países con bajo poder económico. El control de estas enfermedades es de difícil implementación, debido principalmente a problemas sociales y políticos, aunado a la capacidad que estos organismos presentan en desarrollar una resistencia a los insecticidas empleados para combatirlos.

Algunos avances recientes en el área de la inmunología de insectos dejan abiertas las posibilidades alternas para un control epidemiológico de estas enfermedades.

El sistema inmunológico de estos insectos, así como de otros organismos, tiene la capacidad de reconocer parásitos que los infectan y desencadenar una serie de reacciones que detienen la infección. Estas reacciones comprenden la movilización de células circulantes (hemocitos) contra el parásito. Estas células tienen la capacidad de fagocitarlos y desencadenar una producción de diversos factores humorales, que neutralizan la infección.

Algunos resultados promisorios, obtenidos en los estudios del sistema inmune de los insectos transmisores de malaria, enfermedad del sueño y dengue, son un ejemplo de esta nueva estrategia sanitaria.

doramente em diversas partes do mundo. Um outro exemplo é o da malária. Vinte e cinco anos atrás, as autoridades sanitárias brasileiras supunham que dentro de alguns anos esta doença estaria erradicada, ou pelo menos sensivelmente reduzida. No entanto, ela se alastrou por toda a região Amazônica e, em certas localidades como Ariquemes, atingiu 90% da população.

Uma doença que está sendo considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma das mais sérias doenças parasitárias é a oncocercose. Ela é causada por um minúsculo verme denominado *Oncocerca*, que é transmitido de um indivíduo parasitado para outro sadio, através da picada de um tipo de inseto de nome *Simulium*. Esta enfermidade é responsável por cerca de 300 mil casos de cegueira no mundo. No Brasil ela vem contribuindo para a dizimação dos índios Yanomani. Paradoxalmente, as populações afetadas pela oncocercose são as

que mais necessitam da visão para sobreviver. O que resta a um índio Yanomani cego?

Quando um inseto hematófago suga um indivíduo, pode ingerir parasitos que estejam no sangue da vítima. O inseto assim contaminado, ao se alimentar em outro indivíduo, poderá transmitir-lhe o parasito. Esta transmissão pode ser feita através de aparelho sugador (picada) ou, em outros casos, pelas fezes contaminadas do inseto.

Por isso, mesmo que haja apenas uma pessoa acometida por uma destas doenças, a presença de insetos transmissores colocará em risco os demais membros da comunidade.

As doenças parasitárias são extremamente complexas e o seu controle é dificultado pelos motivos que se seguem:

1) O tratamento quimioterápico em algumas doenças é dispendioso. Em outras, as doses que seriam eficazes para matar o parasito são excessivamente tóxicas para

um indivíduo, que já se encontra debilitado pela doença. Mesmo quando devidamente tratado, o paciente geralmente retorna ao local de origem, onde poderá se recontaminar.

2) Na maioria dos casos, as tentativas de elaborar vacinas eficazes, têm sido infrutíferas, apesar dos grandes esforços direcionados a esta área de pesquisa.

3) É difícil estabelecer condições sanitárias adequadas nas populações expostas, pois 95% delas residem em países não desenvolvidos, onde as alterações sócio-econômicas necessárias, dependem de drásticas reformulações políticas.

4) A erradicação dos insetos transmissores de doenças é, na maioria dos casos inviável, dada a alta adaptabilidade destes organismos às doses de inseticidas empregadas no seu combate.

Por estes motivos, o combate às doenças parasitárias deve ser realizado em várias frentes simultaneamente, sendo necessário melhorar as

condições sanitárias das populações, controlar o número de insetos transmissores e investir na pesquisa de vacinas e quimioterápicos de baixa toxicidade ao homem.

Dentro desta situação complexa, o estudo das relações entre os parasitos e os insetos transmissores abriu, recentemente, perspectivas promissoras, principalmente em relação à malária, doença do sono e dengue. Foi observado que dentre os insetos de uma espécie transmissora, alguns deles, embora se infectando com o parasito, não o transmitiam. Estes insetos "refratários" têm sido motivo de estudos, cogitando-se inclusive em utilizá-los para quebrar o ciclo do parasito, estabelecendo-se uma barreira biológica contra os mesmos. Se pudessemos fazer os insetos refratários substituírem os transmissores, não seria necessário utilizar as doses maciças de inseticidas empregadas hoje em dia.

Pensamos sempre no homem como a grande vítima

do parasito, mas, do ponto de vista biológico, o inseto também é parasitado. Surge então a pergunta: será o inseto um mero transportador passivo, ou é capaz de reconhecer a presença do parasito como um corpo estranho e defender-se dele por meio de um sistema imune?

O sistema imune é composto de órgãos, de uma série de células circulantes e aderentes, e de moléculas diluídas nos fluidos do corpo. A interação destes componentes permite, ao organismo, reconhecer substâncias estranhas que sejam introduzidas nele. Será também discriminado, qualquer componente do organismo que apresente um funcionamento irregular. Esses componentes podem ser células transformadas (tumores), moléculas alteradas provenientes de células ou de seus detritos e estruturas contendo parasitos. Uma vez efetuado o reconhecimento, desencadeiam-se estratégias peculiares, que tenderão a eliminar ou inativar o agente estranho (antígeno).

A imunologia é um ramo relativamente novo dentro das Ciências Biológicas. Embora a técnica de vacinação já fosse utilizada em regiões da Ásia há vários séculos, somente em 1798 a sua eficiência foi oficialmente aceita na Inglaterra com os trabalhos de Jenner. A partir desta época, o estudo da imunidade passou a utilizar uma metodologia científica.

Nas três últimas décadas do Século XIX, uma série de estudos realizados, principalmente por Richet, Koch, von Behring, Landsteiner e Ehrlich serviram de base para a formulação da "Teoria Humoral da Imunidade". Por esta teoria, no sangue dos animais existem anticorpos, capazes de reconhecer e inativar microrganismos ou outras substâncias estranhas. Uma parcela das experiências neste campo foi realizada com insetos, inclusive pelo próprio Pasteur,

que iniciou seus estudos de vacinação utilizando larvas de borboletas (lagartas).

Em 1883 Metchnikov, trabalhando inicialmente com larvas de estrela do mar e com o microcrustáceo *Daphnia*, formulou a "Teoria Celular da Imunidade", que enfatizava o papel de um tipo especial de célula (fagócito ou macrófago), que migra em direção à substância estranha, procurando digeri-la.

Logo no início do Século XX ficou estabelecido que as duas teorias poderiam ser sintetizadas em uma só e que todos os animais apresentavam este sistema de proteção. Mas, devido a suas amplas possibilidades de aplicação na medicina, os estudos de imunologia passaram a concentrar-se nos mamíferos.

Entretanto, assim como os organismos vivos se originaram de espécies ancestrais, o sistema imune, como os demais sistemas do nosso corpo, evoluíram de sistemas ancestrais. Dessa forma, muitas estruturas do homem apresentam uma correspondência com estruturas de organismos mais simples, refletindo assim as etapas de sua evolução. As ciências comparadas podem fornecer-nos um melhor conhecimento sobre "quem somos" com base no que "já fomos".

Nos insetos o sistema imune é constituído por um grupo especial de células denominadas hemócitos (Barracco e Menezes, 1985) e por várias substâncias ou fatores humorais (Gupta, 1991). Nestes organismos o sangue (hemolinfa) não é transportado através de veias ou capilares fechados, mas banha todos os órgãos internos. O fluxo da hemolinfa decorre da pulsação de um grande vaso sanguíneo aberto, localizado dorsalmente na cavidade interna do corpo. Este "coração" bombeia a hemolinfa da região posterior do corpo para a região da cabeça (Figura 1).

Os hemócitos circulam pelo fluxo de hemolinfa e,

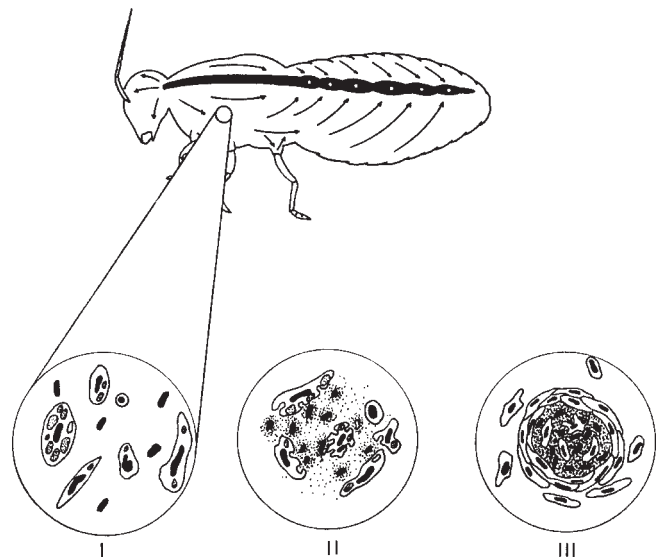


Fig. 1. Esquema do Sistema Circulatório Aberto de um inseto (os outros órgãos e estruturas internas não foram representados), onde observa-se o Vaso Dorsal (em negrito) e o fluxo da hemolinfa (setas). As contrações peristálticas do vaso dorsal fazem a hemolinfa entrar por orifícios (ostíolos incurrentes) da região posterior do vaso de onde ela passa para a região anterior e se escoa pela cavidade interna do inseto.

Este fluxo de hemolinfa é incrementado pelo próprio movimento do inseto.

Alguns tipos de hemócitos e bactérias (destaque I). Ao entrar em contato com as bactérias (destaque II), alguns hemócitos liberam o seu conteúdo de heteroaglutininas (anticorpos). De uma maneira geral, as bactérias são fagocitadas. Os hemócitos que produzem anticorpos também podem fagocitar bactérias. Quando não é possível bloquear a proliferação das bactérias por fagocitose ou por meio dos anticorpos, formam-se nódulos (destaque III) que bloqueiam a proliferação das bactérias.

em certas situações, movem-se entre os tecidos e órgãos. Eles são capazes de ingerir e digerir partículas estranhas e microrganismos (fagocitose). Quando um agente infectante, seja ele bactéria, fungo, protozoário ou um minúsculo verme, penetra no inseto, alguns hemócitos aderem à sua superfície na tentativa de destruí-lo. Isto pode não acontecer quando o agente agressor foi relativamente grande ou por apresentar características bioquímicas que dificultem sua digestão. Neste caso, alguns hemócitos se auto-destroem ou são destruídos por outros hemócitos e seu rompimento descarrega na hemolinfa fatores que atraem mais hemócitos para a região. Desta maneira o agente infectante é circundado e imobilizado

por estas células que acabam formando uma série de camadas ao seu redor. O nódulo assim formado compreende, além do agente infectante, vários hemócitos mortos ao seu redor, circundados por camadas de hemócitos vivos (Fig. 1).

A defesa efetuada através de substâncias diluídas na hemolinfa compreende a imunologia humoral, e é realizada pelas heteroaglutininas (uma lectina) e uma série de compostos antimicrobianos, muitos deles induzidos em resposta à agressão (Boman, *et al.*, 1991).

As heteroaglutininas constituem um grupo de proteínas associadas a açúcares que têm a capacidade de aderir ao agente estranho. Elas são consideradas por alguns pesquisadores como

sendo os anticorpos dos insetos, apesar de estruturalmente serem bem distintos das imunoglobulinas dos vertebrados.

Além das heteroaglutininas, vamos encontrar dissolvidos na hemolinfa, uma série de fatores capazes de paralisar ou mesmo destruir bactérias e fungos. Estes fatores antimicrobianos foram primeiramente estudados na mariposa *Hyalophora cecropia* e por isso denominados de cecropinas. Outros fatores foram posteriormente evidenciados em outros insetos, como as sarcotoxinas em *Sarcophaga peregrina*, as dipterocinas em *Phormia terranova*, etc.

Ao esmagarmos ou ferirmos algum inseto, a hemolinfa extravazada adquire uma coloração marrom escura ou preta. Este fenômeno é decorrente da formação de um pigmento denominado melanina. Não sabemos qual a função deste pigmento no animal ferido, mas o importante é que durante a sua formação, uma série de substâncias antimicrobianas são produzidas (Iwanaga, 1993). Algumas destas substâncias, como as quinonas têm um papel importante na destruição de microrganismos.

Além da capacidade antimicrobiana conferida pela melanização da hemolinfa na região do ferimento, para evitar que este líquido se extravase, dependendo do inseto em questão, a hemolinfa pode se coagular. O coágulo, de composição diferente do que ocorre nos vertebrados, produz um emaranhado de fibras por onde alguns hemócitos podem circular e fagocitar microrganismos (Iwanaga, 1993). Os hemócitos acabam se acumulando na região do ferimento, formando uma parede e iniciando assim a reconstituição da cutícula (pele) rompida.

Nos primeiros estudos sobre a imunidade, Pasteur verificou que, numa população de insetos, ocorrem indivíduos mais, e outros menos

TABELA I
DOENÇAS PARASITÁRIAS HUMANAS COM SEUS RESPECTIVOS PARASITOS, RESERVATÓRIOS, INSETOS VETORES E AS VIAS DE TRANSMISSÃO.

Doença	Parasito	Reservatóri	Inseto Vektor	Via de transmissão
Calazar	<i>Leishmania donovani</i>	homem, raposa e cão	(mosquito palha) <i>Lutzomya longipalpis</i>	picada
Dengue	vírus	homem e certos macacos	(pernilongo) <i>Aedes aegypti</i>	picada
Doença de Chagas	<i>Trypanosoma cruzi</i>	homem e outros mamíferos	(barbeiro) Triatomíneos	fezes
Doença do sono	<i>Trypanosoma brucei</i>	homem e mamíferos ungulados	(mosca hematófaga) <i>Glossina sp</i>	picada
Elefantíase	<i>Wulchereria bancrofti</i>	homem	(pernilongo) <i>Culex fatigans</i>	picada
Encefalite	vírus	homem e certos animais não identificados	(pernilongo) <i>Aedes albopictus</i> e <i>A. leucocelaenus</i>	picada
Febre amarela	vírus	homem e certos macacos	(pernilongo) <i>Aedes aegypti</i>	picada
Febre recorrente	<i>Borrelia recurrentis</i>	homem	(piolho) <i>Pediculus humanus</i> e <i>P. capitis</i>	esmagamento
Febre das trincheiras	<i>Rickettsia quintana</i>	homem	(piolho) <i>Pediculus humanus</i>	picada e fezes
Leishmaniose tegumentar americana	<i>Leishmania braziliensis</i> <i>L. mexicana</i>	homem, preguiça, roedores e cão	(mosquito palha) <i>Lutzomya sp</i>	picada
Malária	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>P. malaria</i> <i>P. vivax</i>	homem	(pernilongo) <i>Anopheles (Nyssorhynchus) sp</i> e <i>A. (kerteszia) sp</i>	picada
Mansonelose	<i>Mansonella ozzardi</i>	homem	(borrachudo) <i>Simulium amazonium</i>	picada
Oncocercose	<i>Onchocerca volvulus</i>	homem	(borrachudo) <i>Simulium minusculum</i>	picada
Peste negra ou peste bubônica	<i>Yersinia pestis</i>	homem e rato	(pulga) <i>Xenopsylla cheopsis</i>	picada
Tifo exantemático	<i>Rickettsia prowazeki</i>	homem	(piolho) <i>Pediculus humanus</i>	fezes e esmagamento
Tifo esporádico	<i>Rickettsia typhi</i>	homem e rato	(pulga) <i>Xenopsylla cheopsis</i>	fezes

resistentes a um determinado microrganismo. Estes distintos graus de resistência podem ser transmitidos através de sucessivas gerações. Nesta época ele trabalhava com uma doença que vinha dizendo as criações de bicho-da-seda na França. Pasteur conseguiu debelar a infecção usando, para as novas criações de bicho-da-seda apenas os ovos provenientes de insetos resistentes à doença.

Recentemente, um grupo de pesquisadores liderados por Frank H. Collins do

NIH de Bethesda nos Estados Unidos conseguiu esclarecer os mecanismos pelos quais alguns mosquitos *Anopheles* eliminam de seu organismo o parasito da malária (Collins, *et al.*, 1986).

Ao sugar o sangue de um indivíduo com malária, o *Anopheles* ingere parasitos (*Plasmodium*), que se multiplicam e completam uma etapa de seu ciclo de vida no "papo" destes mosquitos. Entretanto, alguns mosquitos são capazes de reconhecer o parasito e desencadear con-

tra ele uma reação imune, com a formação de um nódulo ao seu redor, o que resulta na morte do parasito. Cruzando-se entre si os mosquitos refratários aos parasitos, conseguiu-se desenvolver uma linhagem de *Anopheles* que não mais transmitem o protozoário causador da malária.

A doença do sono ocorre em várias regiões da África e é causada pelo *Trypanosoma brucei*, um protozoário aparentado do *T. cruzi*. O seu vetor é a mosca hemató-

faga tsé-tsé. A mosca suga o sangue de um homem infectado ou de algum animal reservatório e ingere o parasito. Este desenvolve-se e prolifera no estômago da mosca, que na ocasião de novas picadas pode inoculá-lo em outras vítimas. Os pesquisadores Ian Maudlin e Susan Welburn, da Universidade de Bristol na Inglaterra isolaram moscas que haviam sido alimentadas com sangue contaminado, mas não transmitiram o parasito. Através de cruzamentos em laboratório, obtiveram uma linhagem de moscas em que o parasito não se desenvolvia. Nos estudos subsequentes, foi constatado que estas moscas refratárias além de possuírem heteroaglutininas que poderiam impedir o desenvolvimento do parasito não apresentam o tipo especial de heteroaglutinina que o parasito utiliza como estímulo para a sua proliferação (Maudlin e Welburn, 1988).

O mais curioso é que as moscas refratárias, na realidade, produzem a heteroaglutinina estimuladora mas ela desaparece da circulação porque adere a um outro parasito, semelhante a uma pequena bactéria, denominado *Rickettsia* que concomitantemente infecta estas moscas.

Por serem extremamente pequenas estas rickettsias podem passar de geração a geração através dos ovos infectados da mosca.

A dengue, que em 1995 acometeu cerca de 120.000 brasileiros, é causada por um vírus, transmitido por espécies do pernilongo *Aedes*, como o *A. aegypti* e *A. albopictus*. Este inseto, quando suga o sangue de um enfermo, adquire o vírus que se dissemina em seus órgãos, inclusive a glândula salivar. Quando o *Aedes*, agora contaminado, alimentar-se em outra pessoa, transmitirá alguns vírus para o novo hospedeiro, onde estes se proliferarão acometendo-o com a doença.

A equipe de K.E. Olson, da Universidade do Estado de Colorado, nos EUA, conseguiu, através de técnicas de engenharia genética, transferir uma determinada parte do material genético do vírus da dengue para um outro vírus de nome sindbis, que infecta o mosquito, mas não causa doença ao homem. Este vírus sindbis, agora “transformado geneticamente”, faz com que o *Aedes* estabeleça uma “imunidade intracelular” ao vírus da dengue, formando assim um *Aedes* refratário à den-

gue. Estes trabalhos com transferência de material genético entre vírus, trazem perspectivas também para o controle da febre amarela, pois o vírus causador desta doença também é transmitido por espécies de *Aedes* (Olson, *et al.*, 1996).

Estes são apenas alguns exemplos que ilustram o intrincado e admirável relacionamento parasito-hospedeiro nos insetos transmissores de doenças. Diversos outros exemplos de estudos nesta área de Imunologia de Insetos como a relação barbeiro-*Tripanosoma cruzi*, borrachudo-oncócercas, etc. que não foram citados aqui mas que, vem sendo acumulados ultimamente, salientam a importância de se ampliar os conhecimentos nesta área da Biologia.

Não só estes insetos mas outros artrópodos como o carrapato e mesmo moluscos tem também um papel de transmissores de outras doenças parasitárias. Pesquisadores de diferentes laboratórios no mundo estão hoje em dia, pesquisando sobre estas relações parasito-vetores, focalizando o sistema imune destes organismos, na perspectiva de encontrarem saídas alternativas para este problema mundial.

REFERÊNCIAS

- Barracco, M.A. e Menezes, H. (1985): Mecanismos celulares de defesa em insetos. *Ciência e Cultura*, 37: 237-250.
- Boman, H.G.; Faye, I. e Gudmundsson G.H. (1991): Cell-free immunity in *Cecropia*. A model system for antibacterial proteins. *Eur. J. Biochem.* 201: 23-31.
- Collins, F.H.; Sakai, R.K.; Vernick, K.D.; Paskewitz, S.; Seeley, D.C.; Miller, L.H.; Collins, W.E.; Campbell, C.C. e Gwadz R.W. (1986): Genetic Selection of a *Plasmodium* -Refractory Strain of the Malaria Vector *Anopheles gambiae*. *Science*, 234: 607-610.
- Gupta, A.P. (1991): *Immunology of Insects and Other Arthropods*. C R C Press, Boca Raton.
- Iwanaga, S. (1993): Primitive coagulation systems and their message to modern biology. *Thromb Haemost*, 70: 48-55.
- Maudlin, I. e Welburn, S.C. (1988): Tsetse Immunity and the transmission of Trypanosomiasis. *Parasitology Today*, 4: 109-111.
- Olson, K.E.; Higgs, S.; Gaines, P.J.; Powers, A.M.; Davis, B.S.; Kamrud, K.I.; Carlson, J.O.; Blair, C.D. e Beaty, B.J. (1996): Genetically Engineered Resistance to Dengue-2 Virus Transmission in mosquitoes. *Science*, 272: 884-886.