

EXPLORANDO O POTENCIAL DAS BACTÉRIAS WOLBACHIA NO BIOCONTROLE DE VETORES E DOENÇAS

Luiz Marcelo Oliveira Teixeira¹, Ana Cristina Vieira Paes Leme Dutra^{2,A}

¹Discente da Faculdade de Biomedicina - Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Teresópolis, RJ, Brasil.

²Docente da Faculdade de Biomedicina - Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Teresópolis, RJ, Brasil.

ABSTRACT

Introdução: A bactéria endossimbiótica *Wolbachia* tem sido amplamente estudada por seu potencial revolucionário no controle de doenças transmitidas por mosquitos, como dengue, zika e chikungunya. Ela pode infectar diversas espécies de insetos, incluindo o mosquito *Aedes aegypti*, vetor importante dessas doenças. Uma das características notáveis da *Wolbachia* é sua capacidade de modular a resposta imunológica de seus hospedeiros e reduzir sua capacidade vetorial, o que pode ter implicações significativas na interação entre os mosquitos e os patógenos que transmitem. A presença de *Wolbachia* em mosquitos pode induzir respostas imunes que protegem contra diversos patógenos, destacando seu potencial no controle de doenças vetoriais. **Metodologia:** Este trabalho é uma revisão que busca elucidar os mistérios deste tão curioso simbiote, apresentando suas características e habilidades que podem se tornar ferramentas úteis no biocontrole de vetores e doenças. **Resultados e Discussão:** A compreensão da interação entre a *Wolbachia* e seus hospedeiros pode abrir novos caminhos no desenvolvimento de estratégias inovadoras para o controle de doenças transmitidas por vetores, oferecendo esperanças na redução da carga dessas enfermidades que afetam milhões de pessoas em todo o mundo. **Conclusão:** As características da *Wolbachia* contribuem para uma prática eficaz de controle biológico capaz de interromper a transmissão de doenças transmitidas por vetores.

Palavras-chave: Controle Biológico, *Wolbachia*, Incompatibilidade Citoplasmática

ABSTRACT

Introduction: *Wolbachia*, an endosymbiotic bacterium, has been the subject of intensive studies due to its revolutionary potential in controlling mosquito-borne diseases such as dengue, Zika, and chikungunya. This bacterium possesses the unique ability to infect a wide variety of insects, including the *Aedes aegypti* mosquito, a crucial vector of these diseases. One of the remarkable features of *Wolbachia* is its capacity to modulate the immune response of its hosts and reduce their vector competence, which can have significant implications for the interaction between mosquitoes and the pathogens they transmit. Studies have revealed that the presence of *Wolbachia* in mosquitoes can induce immune responses that protect against viruses, bacteria, and parasites,

^AAutor correspondente: Ana Cristina Vieira Paes Leme Dutra – E-mail: E-mail: acvpleme@gmail.com - ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5598-7879>

making it a promising tool in vector-borne disease control. **Methodology:** This work is a review that seeks to elucidate the mysteries of this intriguing symbiont, presenting its characteristics and abilities that can become useful tools in vector and disease biocontrol. **Results and Discussion:** Understanding the interaction between Wolbachia and its hosts may open new avenues in the development of innovative strategies for vector-borne disease control, offering hope for reducing the burden of these illnesses that affect millions of people worldwide. **Conclusion:** Characteristics of Wolbachia contribute to an effective biological control practice capable of interrupting the transmission of vector-borne diseases.

Key-words: Biological Control, Wolbachia, Cytoplasmic Incompatibility

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por vetores constituem uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo e continuam sendo um grande desafio para a saúde pública. Vetores são organismos capazes de transmitir agentes infecciosos entre humanos ou de animais para humanos, geralmente por meio da alimentação hematófaga: ao ingerirem microrganismos patogênicos presentes no sangue de um hospedeiro infectado, podem inoculá-los em outro indivíduo durante uma alimentação subsequente ^{1,2}. Diversos organismos atuam nesse processo, sendo os mosquitos os mais conhecidos, mas também incluem carrapatos, moscas, flebotomíneos, pulgas, triatomíneos e até certos caracóis aquáticos de água doce. No Brasil, exemplos relevantes de doenças transmitidas por vetores incluem dengue, malária, doença de Chagas, leishmaniose, febre amarela, vírus

Oropouche, Mayaro, filariose, febre do Oeste do Nilo, encefalites, entre outras ^{1,2}.

As patologias transmitidas por vetores representam uma parcela significativa das enfermidades infecciosas globalmente, correspondendo a mais de 17% dos casos registrados. Estima-se que essas patologias sejam responsáveis por mais de um milhão de mortes por ano. Entre elas, destaca-se a malária, com aproximadamente 600 mil óbitos anuais, enquanto a dengue, endêmica em mais de 100 países, expõe cerca de 2,5 bilhões de pessoas ao risco de infecção ^{1,2,3}.

No Brasil, essas doenças também têm um impacto significativo. Até a Semana Epidemiológica 52 de 2022, foram registrados 1.450.270 casos prováveis de dengue, 174.517 casos prováveis de *Chikungunya* e 9.204 casos prováveis de Zika. Esses números ressaltam a gravidade e a relevância do controle dessas doenças no país ^{3,4,5}.

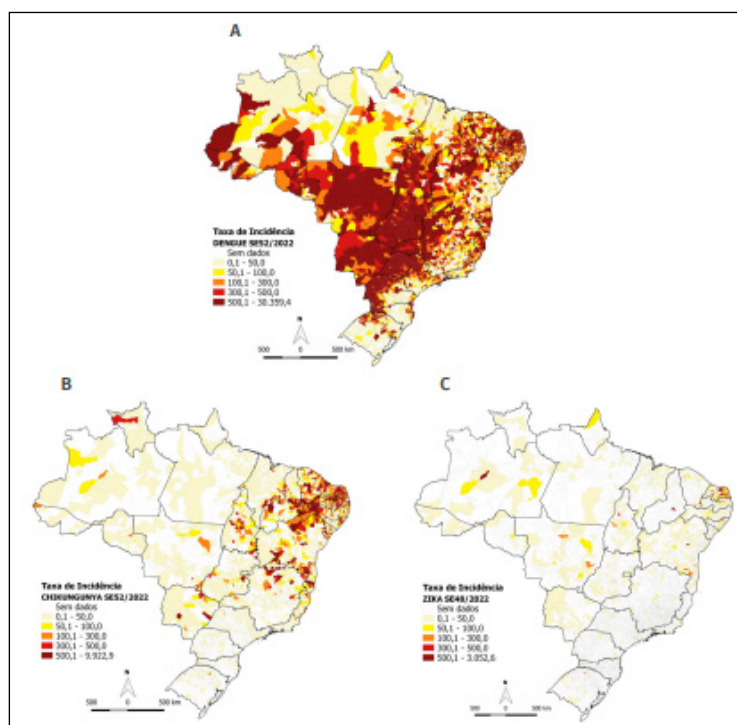


Figura 1: Taxa de incidência de Dengue, chikungunya e Zika, por município, Brasil, SE 1 a 52/2022.

Fonte: Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022 ⁵.

Reprodução permitida para fins não comerciais.

Devido à ampla disseminação das doenças vetoriais e à escassez de vacinas, tratamentos eficazes e acesso adequado aos serviços de saúde, o controle dos vetores continua sendo a principal estratégia de enfrentamento. Atualmente, a prevenção envolve ações conjuntas entre instituições especializadas e sociedade civil, que buscam eliminar criadouros e manejar populações por meios químicos, físicos e biológicos. Contudo, essas medidas têm se mostrado insuficientes diante do aumento das epidemias, da resistência a inseticidas e dos impactos ambientais associados, o que reforça a necessidade de alternativas mais eficazes. Nesse contexto, o controle biológico se destaca como estratégia sustentável e já consolidada em programas agrícolas e entomopatogênicos no Brasil ^{4,6-8}.

A busca por alternativas de biocontrole no enfrentamento de doenças transmitidas por vetores tornou-se inevitável. Nesse contexto, a bactéria endossimbiótica *Wolbachia* tem ganhado destaque pelo seu potencial biomédico e de controle biológico. Identificada há cerca de um século nas linhagens germinativas do mosquito *Culex pipiens*, apresentando uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo artrópodes e alguns nematódeos, e pode

estar presente em cerca de 66% das espécies de insetos ^{9,10}. Trata-se de uma bactéria gram-negativa da ordem Rickettsiales, frequentemente localizada nos tecidos reprodutivos do hospedeiro, com transmissão vertical por herança citoplasmática e possibilidade de disseminação horizontal por contato direto, relação predador-presa ou compartilhamento de alimento ¹⁰. Sua capacidade de estabelecer relações mutualistas obrigatórias (em nematódeos) ou facultativas (em artrópodes), aliada à manipulação da reprodução, imunidade, desenvolvimento e fisiologia dos hospedeiros, torna a *Wolbachia* uma candidata promissora para o controle biológico ¹¹.

Entre as interações mais relevantes da *Wolbachia* com seus hospedeiros estão aquelas que reduzem a capacidade vetorial e favorecem a manutenção da bactéria na população. Destacam-se a incompatibilidade citoplasmática, que garante a reprodução preferencial de indivíduos infectados; a redução da expectativa de vida, que limita o período de incubação dos patógenos; e os efeitos antipatogênicos, que bloqueiam a propagação de patógenos. Além dessas, há muitas outras manipulações que podem ser exploradas, como feminização, morte embrionária ou tardia de machos, especiação, resistência, entre outras ¹⁰⁻¹³.

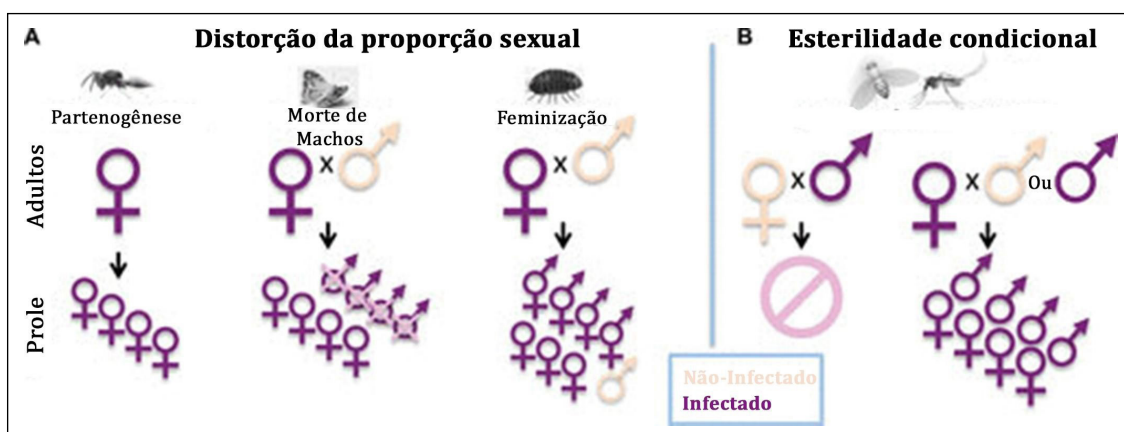


Figura 2: Fenótipos induzidos pela *Wolbachia*.

Alguns efeitos reprodutivos induzidos pela *Wolbachia* em artrópodes. (A) Partenogênese, morte de machos e feminização levam à distorção da proporção sexual. (B) Incompatibilidade citoplasmática: fêmeas não infectadas não produzem descendentes viáveis com machos infectados (à esquerda). Fêmeas infectadas têm vantagem seletiva, pois conseguem cruzar com machos não infectados ou infectados com uma cepa compatível (à direita).

Adaptado e traduzido de: Landmann F. The *Wolbachia* Endosymbionts. Microbiol Spectr. 2019;7(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0018-2019> 10. Reproduzido com permissão da American Society for Microbiology.

Essa abordagem possibilita o controle de doenças vetoriais de relevância para a saúde pública por meio de uma estratégia inovadora, capaz de complementar ou substituir métodos já utilizados. Diante desse novo cenário, é fundamental analisar o Método *Wolbachia* de forma crítica, identificando seus benefícios, limitações e lacunas, para avaliar suas aplicações e potencial como ferramenta de biocontrole.

METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma revisão narrativa, com abordagem analítica e descritiva. A seleção dos artigos foi

realizada nas bases de dados PubMed e SciELO, utilizando os descritores “*Wolbachia*”, “Controle Biológico”, “Incompatibilidade Citoplasmática” e “Arboviroses”. A busca contemplou publicações entre 2008 e 2023, mas referências clássicas anteriores a esse período foram mantidas por sua relevância histórica para o tema. Inicialmente, foram identificados cerca de 133 artigos. Após leitura exploratória, foram excluídos trabalhos duplicados, com amostras pouco representativas, metodologias mal descritas ou que não abordavam diretamente a relação entre *Wolbachia* e o controle vetorial. Ao final, 96 artigos em português e inglês foram incluídos e analisados quanto às abordagens metodológicas, principais resultados e conclusões, com o objetivo de identificar benefícios,

limitações e lacunas atuais no uso da *Wolbachia* como ferramenta de controle de vetores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Descrição da *Wolbachia*

A *Wolbachia pipientis*, provavelmente a única espécie de seu gênero, é considerada o endossimbionte mais abundante do planeta ^{9, 14}. Mesmo entre a grande variedade de simbiontes observados em invertebrados, a *Wolbachia* se destaca devido à sua relação intrínseca com o hospedeiro, que não apenas proporciona vantagens adaptativas, mas também se destaca por sua incrível capacidade de afetar a reprodução do hospedeiro por meio de diversas expressões, sendo a incompatibilidade citoplasmática (IC) a mais proeminente delas ^{10, 15}.

Com base em análises moleculares do rDNA 16S e outros sequenciamentos, é possível observar a presença de grupos com divergência de apenas 2-3% do DNA ribossomal. Portanto, as cepas de *Wolbachia* são divididas atualmente em oito supergrupos (A-H) ¹⁶. Os supergrupos A e B englobam o maior número de cepas e estão presentes em muitos artrópodes. Os supergrupos C e D são comumente encontrados em nematóides. O supergrupo F é encontrado com frequência em artrópodes e nematóides. Por fim, os supergrupos E, G e H infectam, respectivamente, colêmbolos, aracnídeos e isópteros ^{11, 16, 17}.

Esta grande diversidade de hospedeiros, contrastada com a baixa diversidade genética, demonstra a significativa importância dos métodos de transmissão horizontal no desenvolvimento do simbionte ^{11, 18, 19}.

A relação simbiótica entre a *Wolbachia* e seus hospedeiros representa um dos fenômenos mais intrigantes e complexos da microbiologia. A *Wolbachia* desempenha um papel ativo na biologia de seus hospedeiros, influenciando uma série de fenótipos que não apenas conferem vantagens adaptativas ao hospedeiro, mas também buscam garantir a transmissão vertical da bactéria.

Entre as diversas manipulações impostas aos hospedeiros pela *Wolbachia*, destacam-se duas que têm sido particularmente exploradas no contexto do controle biológico: a incompatibilidade citoplasmática e os efeitos antipatogênicos ^{10, 11, 20}. Além dessas, outras formas de manipulação incluem a partenogênese, que envolve o crescimento e desenvolvimento de embriões sem fertilização pelos machos ^{21, 22}; a feminização, que permite a transformação de machos genéticos em fêmeas, inicialmente observada em isópodes devido à hipertrofia da glândula androgênica ^{11, 23}; e a eliminação de machos, um fenômeno raramente observado, ocorrendo principalmente na fase embrionária, embora também tenha sido registrado em fases larvais mais avançadas ^{11, 24, 25}.

É importante notar que algumas cepas de *Wolbachia* podem induzir mais de um fenótipo, como é o caso da wMel, que é capaz de expressar tanto a incompatibilidade citoplasmática quanto o efeito anti-patogênico. Além disso, a mesma cepa pode induzir diferentes ações em diferentes hospedeiros ^{26, 27}.

A ampla disseminação da *Wolbachia* é atribuída principalmente à incompatibilidade citoplasmática (IC), um mecanismo que induz esterilidade condicional e favorece sua transmissão pela linhagem materna. Essa transmissão vertical depende do tropismo da bactéria pelos tecidos germinativos, especialmente os ovários, como demonstrado em estudos com moscas *Drosophila* e *Anastrepha sp.* ^{12, 28, 29}. Acredita-se que essa afinidade esteja relacionada à intensa atividade mitótica nessas células, o que facilita sua incorporação e manutenção no citoplasma. As *Wolbachias* são observadas já nas células-tronco germinativas e são distribuídas às células-filhas durante a divisão celular, o que contribui para sua perpetuação, embora os detalhes desse processo ainda não sejam totalmente compreendidos ³⁰⁻³⁴.

A incompatibilidade citoplasmática pode ser manifestada em duas formas: Unilateral e Bilateral. Na primeira, as fêmeas infectadas possuem a vantagem de poder se reproduzir tanto com machos infectados quanto com os não infectados. No entanto, nos casos de cruzamento entre machos infectados e fêmeas não infectadas, não ocorre a produção de prole viável. Por outro lado, a interação bilateral ocorre quando tanto o macho quanto a fêmea estão infectados com diferentes cepas da bactéria, resultando na incompatibilidade durante o cruzamento entre esses hospedeiros ³³⁻³⁶.

Os mecanismos que desencadeiam essa esterilidade condicional ainda não foram completamente esclarecidos. No entanto, é sabido que isso ocorre através de um fator de recuperação, um sinal secretado pelo óvulo infectado que viabiliza o espermatozoide infectado.

Embora a presença da *Wolbachia* seja abundante durante a gametogênese, ela se torna ausente durante a maturação dos espermatozoides, indicando que deixa nesses gametas um fator que compromete sua viabilidade ³⁷. Estudos mostram que, na incompatibilidade citoplasmática (IC), há falhas na condensação da cromatina paterna, o que provoca segregação inadequada dos cromossomos na primeira mitose embrionária, resultando em embriões inviáveis, haplóides ou aneuploides. A formação de pontes cromossômicas sugere replicação parcial do DNA, e análises posteriores confirmaram a presença anormal do fator PCNA (Antígeno nuclear de célula proliferante) na cromatina paterna, associada a defeitos prévios na deposição de histonas durante a remodelação do espermatozoide em pronúcleo funcional ^{38, 39}.

No entanto, na presença do óvulo, o fator de recuperação secretado leva a um "resgate" do espermatozoide, que reverte os danos cromossômicos e permite o desenvolvimento embrionário normal, superando a IC.

Dois estudos recentes esclareceram os mecanismos de esterilidade e resgate da incompatibilidade citoplasmática ao identificar um par de genes presente em cepas de *Wolbachia* que induzem esse fenômeno. Os genes *cifA* e *cifB* (na cepa wMel) e seus ortólogos *cidA* e *cidB* (na cepa wPip) conseguem reproduzir a IC quando expressos transgenicamente em machos não infectados ^{39, 40}.

Esses genes foram identificados por meio da comparação do genoma central de cepas indutoras de IC (wMel, wRi, wPip e wRec), excluindo cepas mutualísticas e não indutoras, como wBm ⁴⁰.

A confirmação funcional ocorreu em cruzamentos de machos transgênicos expressando ambos os genes com fêmeas não infectadas, resultando em esterilidade. A presença isolada de *cidA* não causa IC, é a ação conjunta com *cidB* que leva à interrupção do desenvolvimento de cerca de 60% dos embriões ainda nas fases iniciais ³⁹.

Diversos ensaios avaliaram a possibilidade de hospedeiros carregarem múltiplas cepas de *Wolbachia*, mas os resultados são pouco promissores. Modelagens populacionais testaram diferentes

cenários, incluindo populações livres, apenas selvagens, com uma única cepa e combinações entre cepas. Apenas os cenários com no máximo uma cepa mostrou-se estável. A presença de múltiplas cepas circulantes cria um amplo campo de incompatibilidade citoplasmática (IC), e com a prole inviável, a população tende a diminuir. Além disso, a coexistência de duas cepas no mesmo hospedeiro leva a uma competição entre elas, diminuindo a expressão de cada cepa ⁴¹.

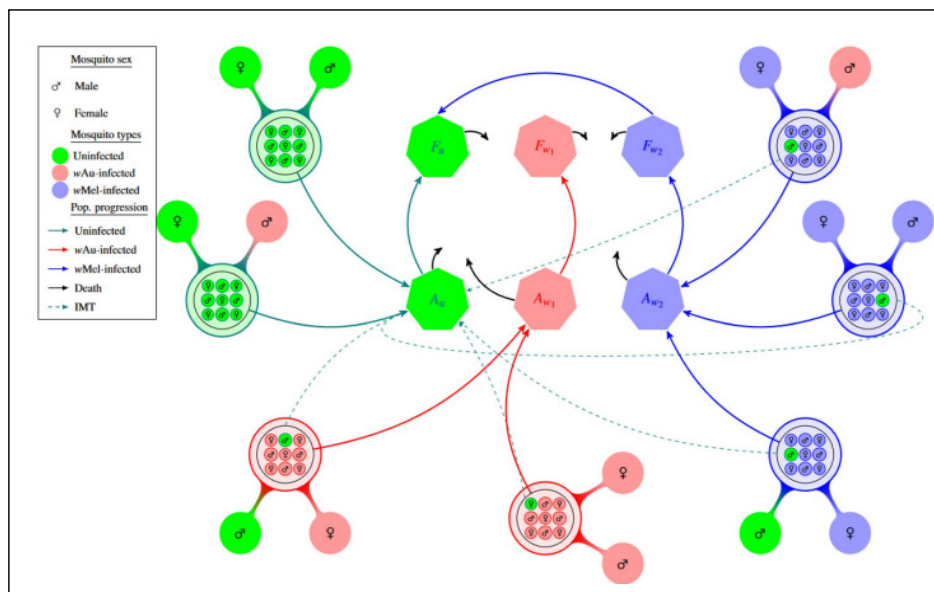


Figura 3: Esquema da dinâmica entre populações de mosquitos não infectados (u) e mosquitos infectados com *Wolbachia* das cepas w1 (wAu) e w2 (wMel).

As cores verde, vermelho e azul representam, respectivamente, as populações de mosquitos não infectados, mosquitos infectados com *Wolbachia* do tipo Wau e mosquitos infectados com *Wolbachia* do tipo wMel. As linhas (contínuas e tracejadas) representam a progressão da população, onde as linhas tracejadas indicam a transmissão materna imperfeita (TMI). As setas pretas representam as mortes. A indução de incompatibilidade citoplasmática (IC), que inibe a produção de descendentes, foi ajustada quando necessário. A → Mosquitos Aquáticos (ovos, larvas e pupas) e F → Mosquitos Adultos.

Fonte: Ogunlade ST, Adekunle AI, McBryde ES, Meehan MT. Modelling the ecological dynamics of mosquito populations with multiple co-circulating *Wolbachia* strains ⁴¹. Reproduzido sob licença CC BY-NC

Proteção contra patógenos

Um dos efeitos mais promissores induzidos pela *Wolbachia* é sua atividade antipatogênica, protegendo seus hospedeiros contra vírus, bactérias e parasitas por meio de mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, mas associados à modulação imune e competição metabólica ²⁶.

Devido à sua ampla distribuição em todos os tecidos do hospedeiro e suas características avirulentas, poderia-se supor que a *Wolbachia* é capaz de interagir com as moléculas secretadas na resposta imune humoral. Embora alguns estudos indiquem ausência de alterações significativas na expressão de proteínas antimicrobianas (AMP) em insetos infectados, outros mostram indução de genes imunes, como observado em *Drosophila melanogaster* e em culturas celulares in vitro de células Schneider 2 ^{42,43,45}.

A melanização, um mecanismo de defesa comum em invertebrados contra patógenos ⁴⁶, teve amplificação relatada em mosquitos *Aedes aegypti* transinfectados com a cepa wMelPop, bem como em moscas *Drosophila melanogaster* e *D. simulans* naturalmente infectadas com as cepas wMel e wMelPop, sugerindo um reforço da resposta imunológica ^{47,48}.

A ação antipatogênica da *Wolbachia* varia conforme o hospedeiro, refletindo adaptações sutis às condições ambientais e às necessidades metabólicas que asseguram sua transmissão vertical ^{26,49-51}. O exemplo mais notável ocorre no *Aedes aegypti*, vetor de arboviroses como dengue e chikungunya, onde a introdução experimental da cepa wMel, originalmente de *D. melanogaster*, não apenas mantém fenótipos conhecidos, como a incompatibilidade citoplasmática, mas também induz fortes efeitos antipatogênicos não observados em seu hospedeiro natural ^{13,26,50}.

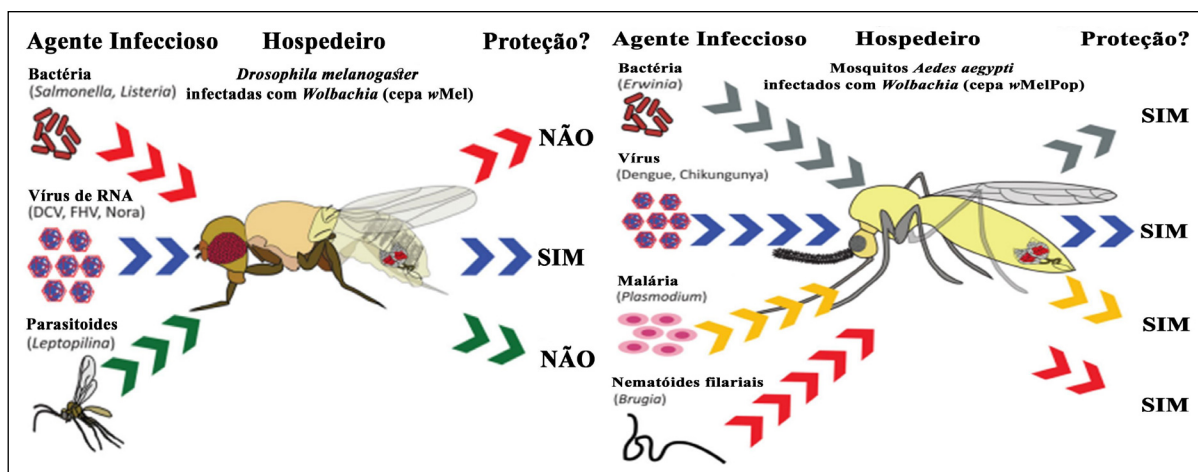


Figura 4: Influência da *Wolbachia* na inibição/redução da capacidade de infecção e transmissão em *D. melanogaster* e *A. aegypti*.

Adaptado e traduzido de: Eleftherianos I, Atri J, Accetta J, Castillo JC. Endosymbiotic bacteria in insects: guardians of the immune system? ²⁶. Reproduzido sob licença CC BY-NC

Moscas *D. melanogaster* e a *D. simulans* infectadas pelas cepas wAu, wRi, wNo, wHa, e wMelCS não apresentaram proteção contra infecções bacterianas (ex.: *Salmonella* e *Listeria*) ^{45,52}. No entanto, cepas como wMelCS e wMelPop conferiram maior resistência a vírus de RNA (como o Vírus C de *Drosophila*, o Vírus Flock House e o Cricket Paralysis Virus), aumentando a sobrevivência e reduzindo a carga viral ^{52,53}.

Em contrapartida, quando introduzida no *A. aegypti*, a cepa wMel e suas variantes exibiram forte efeito protetor contra arboviroses (dengue, zika e chikungunya), reduzindo significativamente a disseminação viral, inclusive do sorotipo DENV-2 ^{13,54,55}.

Também foi observada supressão da carga viral contra o CHIKV (Vírus da Chikungunya), com a presença de apenas 17% de mosquitos positivos para *Wolbachia* infectados com o CHIKV após 14 dias pós exposição ¹³. Apesar de poucas investigações sobre o método no controle do Vírus da Zika, ele também se mostra viável, havendo redução significativa da carga viral nos mosquitos infectados ^{56,57}.

Sua eficácia contra o *Plasmodium sp.* ainda há de ser melhor testada, mas evidências atuais do efeito antipatogênico da cepa wMelPop-CLA contra o *Plasmodium gallinaceum* resultou em uma diminuição de 74% para 42% da presença de pelo menos um oocisto nos mosquitos testados. Com estudos complementares apontando no poder das cepas wMelPop e wAlbB na redução dos oocistos de *Plasmodium falciparum* no mosquito *Anopheles gambiae*, assim como as cepas wPip(SI) e wPip(Mc) naturais do *Culex pipiens* ^{13,58,59}.

Além da regulação dos genes responsáveis pela resposta humoral, o sucesso do parasita em proteger o hospedeiro, principalmente no que se refere às arboviroses, parece estar relacionado ao colesterol intracelular. A *Wolbachia* não aparenta conter nenhum gene responsável pela síntese de lipopolissacarídeos ⁶⁰. Similarmente a outras bactérias gram-

negativas, o simbionte tende a incorporar colesterol em sua membrana. Consequentemente, por meio de uma competição de recursos, este metabólito essencial para a replicação de muitas arboviroses se encontra esterificado na presença da *Wolbachia*, prevenindo assim que os vírus acessem e utilizem o colesterol ⁶¹.

Modulação da expectativa de vida

A redução da expectativa de vida do hospedeiro é outra estratégia relevante associada ao Método *Wolbachia*. A transmissão de muitos patógenos depende do período de incubação extrínseco (PIE), tempo necessário para que o agente infeccioso complete seu desenvolvimento no vetor antes de ser transmitido ⁶².

No caso da dengue, por exemplo, o PIE é de aproximadamente 15 dias, enquanto a vida média do *Aedes aegypti* em campo gira em torno de 30 dias ⁶³. Para *Plasmodium spp.*, esse período pode chegar a 21 dias ⁶⁴. Embora haja variações do PIE conforme fatores genéticos e carga infecciosa, com estudos anteriores revelando que, em certas linhagens virais, é possível detectar partículas virais nas glândulas salivares dos vetores até 4 dias após o contato com um hospedeiro infectado durante o repasto sanguíneo ⁶⁴⁻⁶⁸.

Portanto, apenas os vetores que sobrevivem por tempo suficiente após a infecção se tornam capazes de transmitir o agente patogênico. Nesse contexto, uma estratégia que visa encurtar a longevidade, como na expressão da cepa wMelPop, oferece uma forma de bloqueio indireto da transmissão. Estudos com a cepa demonstram uma redução de até 50% no tempo de vida dos insetos infectados ^{13,69}.

Parasitismo obrigatório

Dentre os fenótipos mais notáveis induzidos pelo

endossimbionte, estão aqueles que levam à dependência funcional do hospedeiro, caracterizando um caso de parasitismo obrigatório. Em muitos casos, isso ocorre por suprimento de funções metabólicas, como síntese de vitaminas (biotina, riboflavina) ou participação em vias como a biossíntese de heme ^{70,71}.

Em artrópodes, há exemplos curiosos de coevolução. Em *Muscidifurax uniraptor*, vespa parasitoide partenogenética, a infecção induz reprodução assexuada. Quando a bactéria é removida, surgem machos estéreis e as fêmeas, após longos períodos de coevolução com o simbiote, passam a apresentar espermateca funcionalmente comprometida ⁷². Em *Asobara tabida*, a bactéria é necessária para a ovogênese e evita a apoptose dos ovócitos assegurando o desenvolvimento ovariano adequado ⁷³.

As relações de maior relevância médica, porém, ocorrem em nematóides filariais. Nesses hospedeiros, *Wolbachia* é indispensável para fertilidade, desenvolvimento e sobrevivência, o que torna o simbiote um alvo terapêutico promissor ^{74,75}.

As filariose englobam um grupo de doenças complexas que podem persistir no organismo de um paciente por muitos anos.

Um dos principais desafios do tratamento, além da longa duração (17 anos para a oncocercose e 5 anos para a filariose linfática), é a resposta inflamatória do hospedeiro desencadeada pela morte de vermes adultos ou larvas nos tecidos parasitados ^{75,76,77}.

O tratamento antibiótico anti-*Wolbachia* (ex.: tetraciclina) reduz a viabilidade dos vermes adultos de forma menos inflamatória, bloqueia a embriogênese e elimina microfilárias ⁷⁸⁻⁸¹.

Além desta relação apontada pelo tratamento, a *Wolbachia* parece ter um papel na patologia da filariose ao interagir com o sistema imune do hospedeiro vertebrado de seu próprio hospedeiro. Suas proteínas de superfície (Wsp, WspA, WspB) são capazes de ativar monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas, promovendo um perfil inflamatório exacerbado ⁷⁶. De fato, a *Wolbachia* pode desencadear uma resposta imunológica no hospedeiro ativando as respostas inatas e adaptativas, como demonstrado nos ensaios com modelos de infecção por filariose em humanos e roedores ⁸². Ademais, a indução do recrutamento de neutrófilos pode inibir a degranulação de eosinófilos, processo essencial para a eliminação das filárias, contribuindo assim para a manutenção da infecção crônica ⁸³.

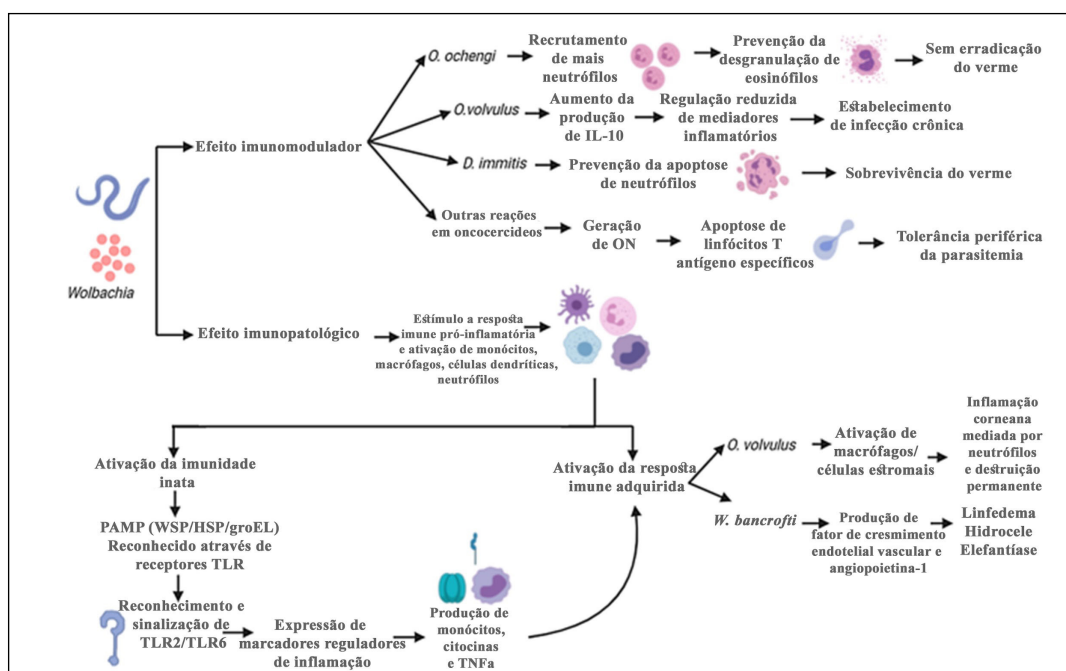


Figura 5: Papel da *Wolbachia* nas infecções por nematóides oncocercídeos.

Adaptado de: Manoj RRS, Latrofa MS, Epis S, Otranto D. *Wolbachia*: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors ⁷⁴.

Reproduzido sob licença CC BY-NC

Aplicabilidade do método

A eficácia do Método *Wolbachia* tem sido amplamente testada em campo, com destaque para os esforços do World Mosquito Program e seus colaboradores. No Brasil, na cidade do Rio de Janeiro, aproximadamente 67 milhões de mosquitos infectados pela cepa *wMel* foram liberados em diversos locais da cidade entre agosto de 2017 e dezembro de 2019. O ensaio demonstrou que, mesmo em regiões com baixa prevalência de mosquitos infectados,

houve efeito protetor. Em áreas com mais de 60% de infestação por *wMel*, observou-se redução de até 76% nos casos de dengue e chikungunya ⁸⁴.

Resultados similares foram obtidos na cidade de Niterói/RJ, de onde as ações da liberação dos Mosquitos *wMel* em 4 áreas diferentes nos anos de 2015-2016, mostram que até o início de 2020 houve uma redução de cerca de 70% dos casos de dengue, 60% de Chikungunya e 40% de Zika, com prevalência de mosquitos infectados variando entre 33% e 90% nas regiões monitoradas ⁸⁵.

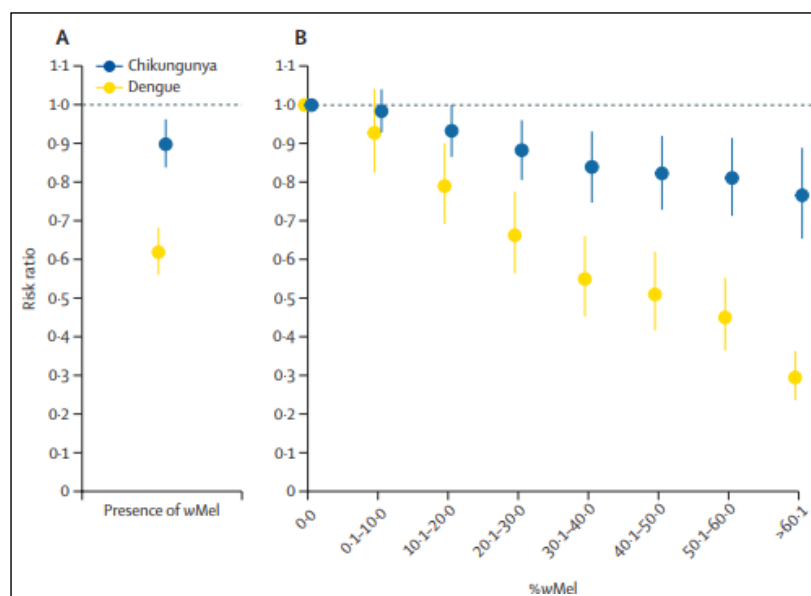


Figura 6: Incidência relativa de dengue e Chikungunya nas áreas de intervenção no Rio de Janeiro.

(A) Incidência relativa estimada global de dengue e chikungunya em unidades de espaço-tempo em que o wMel foi registrado em comparação com aquelas em que o wMel não foi registrado. (B) Incidência relativa de dengue e Chikungunya em unidades de espaço-tempo em função da proporção de mosquitos *Aedes aegypti* infectados com wMel. Unidades de espaço-tempo na área de estudo onde nenhum wMel foi detectado servem como referência. As barras de erro mostram um intervalo de confiança de 95%. Fonte: Ribeiro Dos Santos G, Durovni B, Saraceni V, Souza Riback TI, Pinto SB, Anders KL, et al. Estimating the effect of the wMel release programme on the incidence of dengue and chikungunya in Rio de Janeiro, Brazil: a spatiotemporal modelling study⁸⁴. Reproduzido sob licença CC BY-NC

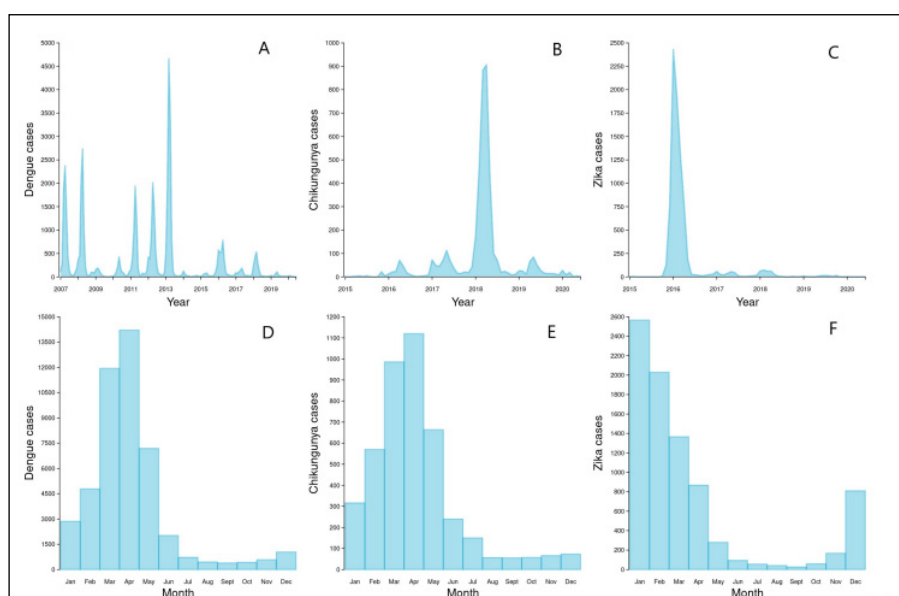


Figura 7: Séries temporais e sazonalidade de dengue, chikungunya e Zika em Niterói.

Notificações mensais de casos de dengue (A), chikungunya (B) e Zika (C) em Niterói de janeiro de 2007 (dengue) ou janeiro de 2015 (chikungunya/Zika) até junho de 2020, e notificações de casos de dengue (D), chikungunya (E) e Zika (F) agregadas por mês do calendário ao longo do mesmo período. Fonte: Pinto SB, Riback TIS, Sylvestre G, Costa G, Peixoto J, Dias FBS, et al. Effectiveness of Wolbachia-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study⁸⁵. Reproduzido sob licença CC BY-NC

Resultados igualmente satisfatórios foram obtidos na cidade de Yogyakarta, na Indonésia, com um estudo prévio realizado nas comunidades submetidas ao método. Houve uma redução de 77% na incidência de Dengue e uma diminuição de 86% nas

hospitalizações. No entanto, ensaios subsequentes apontaram para um efeito protetor muito maior, sendo que dos 385 casos de dengue ocorridos na região apenas 17% contemplavam áreas tratadas pelo método ^{86,87}.

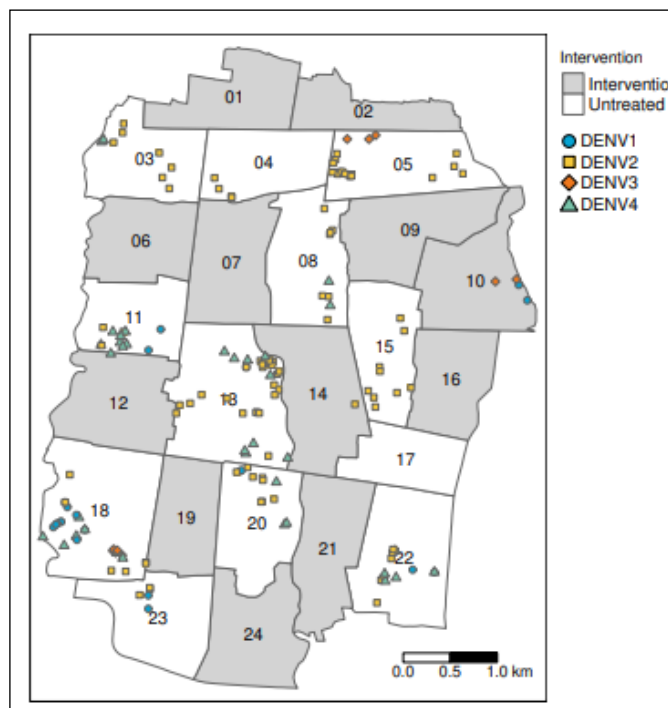


Figura 8: Localizações residenciais dos 160 casos de dengue sorotipados inscritos envolvidos em pares homotípicos com residências dentro de 300 metros e início da doença dentro de 30 dias, incluindo pares que cruzam os limites dos agrupamentos, na cidade de Yogyakarta

Fonte: Dufault SM, Tanamas SK, Indriani C, Utarini A, Ahmad RA, Jewell NP, et al. Disruption of spatiotemporal clustering in dengue cases by wMel *Wolbachia* in Yogyakarta, Indonesia ⁸⁷. Reproduzido sob licença CC BY-NC

A estabilidade da infecção também foi confirmada na Austrália, nas regiões de Yorkeys Knob e Gordonvale.. Foram registradas infecções positivas em todas as 303 amostras coletadas em janeiro e em todas as 498 amostras coletadas em abril/maio, após mais de dois anos da liberação dos mosquitos ⁸⁸. Além da observação de um genoma curiosamente estável, havendo pouca ou quase nenhuma alteração no genoma da cepa wMel em campo ⁸⁹.

Esses resultados fortalecem a evidência de que o método é seguro e estável, sem registros de infecção por *Wolbachia* em humanos, mamíferos, aves, répteis ou peixes ⁹⁰. Embora inicialmente houvesse preocupação com seu potencial patogênico, testes em embriões de galinhas e ratos mostraram que a bactéria não se desenvolve nesses organismos ⁹¹.

Um dos questionamentos mais comuns se refere à possibilidade de transmissão da bactéria a humanos durante o repasto sanguíneo. Ensaios conduzidos por Popovici et al. demonstraram que, mesmo quando *Wolbachia* está presente na saliva do mosquito, a bactéria não é capaz de atravessar os ductos salivares de forma eficiente ou infectar o hospedeiro ⁹⁰. Também foram descartadas rotas de transmissão por predação de

mosquitos ou por dispersão ambiental.

Ainda assim, estudos recentes levantam hipóteses sobre possíveis mecanismos de transmissão horizontal, especialmente entre diferentes supergrupos de *Wolbachia*. Evidências pontuais indicam a presença da bactéria em répteis, cães e até em plantas, sugerindo que a morte de hospedeiros primários (como nematóides ou ectoparasitas) pode, ocasionalmente, viabilizar essa transferência ⁹²⁻⁹⁶.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Wolbachia* é uma bactéria endossimbiótica notável por sua capacidade de manipular fenótipos reprodutivos e fisiológicos de diversos hospedeiros, assegurando sua transmissão vertical. Com o avanço das pesquisas, esses simbiossiontes têm se consolidado como ferramentas promissoras no controle epidemiológico, especialmente na supressão da transmissão de doenças por vetores artrópodes.

Entre os mecanismos mais relevantes estão a incompatibilidade citoplasmática (IC), os efeitos antipatogênicos e a modulação

da expectativa de vida do hospedeiro, os quais podem ser empregados de forma isolada ou combinada a outras estratégias já utilizadas no manejo vetorial. Tais características posicionam a *Wolbachia* como uma alternativa viável a métodos tradicionais, como a técnica do inseto estéril, com potencial para reduzir efeitos colaterais ambientais.

Apesar do seu potencial, a aplicação da *Wolbachia* ainda enfrenta desafios importantes. Entre eles, destacam-se a necessidade de adaptação das cepas a diferentes condições ecológicas (incluindo variações de temperatura, microbiota local, dinâmica populacional dos vetores e alta diversidade genética dos insetos) e a eficácia limitada em hospedeiros não convencionais, como os carrapatos, para os quais ainda faltam estudos mais robustos. Também merecem atenção os riscos de disseminações horizontais não planejadas, a escassez de pesquisas longitudinais que avaliem os impactos sustentáveis em campo e a dependência de infraestrutura adequada, monitoramento contínuo e apoio da população para implementação do método.

Assim, o aprofundamento do conhecimento sobre as interações entre simbiote, hospedeiro e patógeno é essencial para o desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes, seguras e ecologicamente responsáveis.

REFERÊNCIAS

1. Vetores | Observatório de Clima e Saúde [Internet]. climaesaude.icict.fiocruz.br. Disponível em: <https://climaesaude.icict.fiocruz.br/tema/vetores-0#:~:text=Em%20nosso%20pa>
2. Doenças transmitidas por vetores | RETS - Rede Internacional de Educação de Técnicos em Saúde [Internet]. www.rets.epsjv.fiocruz.br. 2022. Disponível em: <https://www.rets.epsjv.fiocruz.br/doencas-transmitidas-por-vetores#:~:text=As%20doen>
3. Simmons CP, Farrar JJ, van Vinh Chau N, Wills B. Dengue. N Engl J Med. 2012 Apr 12;366(15):1423–32. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1110265>
4. World Health Organization. (2009). Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control : new edition. World Health Organization.
5. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022,. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente | Ministério da Saúde; 2023.
6. Dutra HLC. Aspectos biológicos da infecção pelas cepas wMel e wMelpop de *Wolbachia* sobre populações naturais de *Aedes aegypti* do Rio de Janeiro [Tese de Mestrado]. Belo Horizonte: Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz; 2014. 116 p.
7. Smith HS. On Some Phases of Insect Control by the Biological Method1. J Econ Entomol. 1919;12(4):288–92. <https://doi.org/10.1093/jee/12.4.288>
8. Mascarin GM, Pauli G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos (Fungal biopesticides, in portuguese) [Internet]. 2010. p. 26. Available from: https://www.researchgate.net/publication/274374886_Bioprodutos_a_base_de_fungos_entomopatogênicos_Fungal_biopesticides_in_portuguese
9. Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH. How Many Species Are Infected with *Wolbachia*? a Statistical Analysis of Current Data. FEMS Microbiol Lett. 2008 Apr;281(2):215–20. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01110.x>
10. Landmann F. The *Wolbachia* Endosymbionts. Microbiol Spectr. 2019;7(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0018-2019>
11. Werren JH, Baldo L, Clark ME. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. Nat Rev Microbiol. 2008;6(10):741–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1969>
12. Ribeiro RM. *Wolbachia* e incompatibilidade citoplasmática em *Anastrepha* sp.1 aff. *fraterculus* [Tese de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva; 2009. 51. p.
13. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, et al. A *Wolbachia* Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium. Cell. 2009 Dec;139(7):1268–78.
14. Zug R, Hammerstein P. Still a Host of Hosts for *Wolbachia*: Analysis of Recent Data Suggests That 40% of Terrestrial Arthropod Species Are Infected. PLoS ONE. 2012;7(6):e38544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038544>
15. Oliveira CD de, Moreira LA. Tópicos Avançados em Entomologia Molecular Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular [Internet]. 2012. Available from: https://www.inctem.bioqmed.ufrj.br/images/documentos/biblioteca/Capitulo_19_Uso_de_Wolbachia_no_Control_Biologico.pdf
16. Casiraghi M, Bordeinstein SR, Baldo L, Lo N, Beninati T, Wernegreen JJ, et al. Phylogeny of *Wolbachia pipientis* based on *gltA*, *groEL* and *ftsZ* gene sequences: clustering of arthropod and nematode symbionts in the F supergroup, and evidence for further diversity in the *Wolbachia* tree. Microbiology. 2005;151(12):4015–22. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28313-0>
17. Baldo L, Werren JH. Revisiting *Wolbachia* supergroup typing based on WSP: spurious lineages and discordance with MLST. Curr Microbiol. 2007;55(1):81–7.
18. Scholz M, Albanese D, Tuohy K, Donati C, Segata N, Rota-Stabelli O. Large scale genome reconstructions illuminate *Wolbachia* evolution. Nat Commun. 2020;11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19016-0>
19. Mavingui P, Moro CV, Tran-Van V, Wisniewski-Dyé F, Raquin V, Minard G, et al. Whole-Genome Sequence of *Wolbachia* Strain wAlbB, an Endosymbiont of Tiger Mosquito Vector *Aedes albopictus*. J Bacteriol. 2012;194(7):1840–0. <https://doi.org/10.1128/JB.00036-12>
20. Zchori-Fein E, Perlman SJ, Kelly SE, Katzir N, Hunter MS. Characterization of a “Bacteroidetes” symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of “*Candidatus Cardinium hertigii*.” Int J Syst Evol Microbiol. 2004;54(3):961–8. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02957-0>
21. Pannebakker BA, Pijnacker LP, Zwaan BJ, Beukeboom LW. Cytology of *Wolbachia*-induced parthenogenesis in *Leptopilina*

- clavipes (Hymenoptera: Figitidae). *Genome*. 2004;47(2):299–303. <https://doi.org/10.1139/g03-137>
22. Stouthamer R, Kazmer DJ. Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity*. 1994;73(3):317–27. <https://doi.org/10.1038/hdy.1994.139>
23. Vandekerckhove TT, Watteyne S, Bonne W, Vanacker D, Devaere S, Rumes B et al. Evolutionary trends in feminization and intersexuality in woodlice (Crustacea, Isopoda) infected with *Wolbachia pipientis* (alpha-Proteobacteria). *Belg J Zool*. 2003;133(1):61-69.
24. Kageyama D, Traut W. Opposite sex-specific effects of *Wolbachia* and interference with the sex determination of its host *Ostrinia scapularis*. *Proc Biol Sci*. 2004; 271, 251–258. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2604>
25. Charlat S, Reuter M, Dyson EA, Hornett EA, Duploux A, Davies N, et al. Male-Killing Bacteria Trigger a Cycle of Increasing Male Fatigue and Female Promiscuity. *Curr Biol*. 2007;17(3):273–7. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.11.068>
26. Eleftherianos I, Atri J, Accetta J, Castillo JC. Endosymbiotic bacteria in insects: guardians of the immune system? *Front Physiol*. 2013;4:46. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00046>
27. Sasaki T, Ishikawa H. Transinfection of *Wolbachia* in the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*, by embryonic microinjection. *Heredity*. 2000; 85, 130–135. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2000.00734.x>
28. Selivon D, Perondini ALP, Ribeiro A de F, Marino CL, Lima MMA, Coscrato VE. *Wolbachia* endosymbiont in a species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). *Invertebr Reprod Dev*. 2002 ; 42(2-3): 121-127.
29. Hadfield SJ, Axton JM. Germ cells colonized by endosymbiotic bacteria. *Nature*. 1999 Dec;402(6761):482–2. <https://doi.org/10.1038/45002>
30. Frydman HM, Li JM, Robson DN, Wieschaus E. Somatic stem cell niche tropism in *Wolbachia*. *Nature*. 2006; 441:509–512. <https://doi.org/10.1038/nature04756>
31. Serbus LR, Sullivan W. A cellular basis for *Wolbachia* recruitment to the host germline. *PLoS Pathog*. 2007 Dec 14;3(12):e190. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030190>
32. Ferree PM, Frydman HM, Li JM, Cao J, Wieschaus E, Sullivan W. *Wolbachia* utilizes host microtubules and Dynein for anterior localization in the *Drosophila* oocyte. *PLoS Pathog*. 2005 Oct 14;1(2):e14. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0010014>
33. Werren JH. Biology of *Wolbachia*. *Annu Rev Entomol*. 1997;42:587-609. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.587>
34. Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu Rev Genet*. 2008;42:683-707. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130354>
35. Bordenstein SR, Werren JH. Bidirectional incompatibility among divergent *Wolbachia* and incompatibility level differences among closely related *Wolbachia* in *Nasonia*. *Heredity* (Edinb). 2007 Sep;99(3):278-87. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800994>
36. Yen JH, Barr AR. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*. 1971 Aug 27;232(5313):657-8. <https://doi.org/10.1038/232657a0>
37. Clark ME, Veneti Z, Bourtzis K, Karr TL. The distribution and proliferation of the intracellular bacteria *Wolbachia* during spermatogenesis in *Drosophila*. *Mech Dev*. 2002 Feb;111(1-2):3-15. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(01\)00594-9](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(01)00594-9)
38. Callaini G, Dallai R, Riparbelli MG. *Wolbachia*-induced delay of paternal chromatin condensation does not prevent maternal chromosomes from entering anaphase in incompatible crosses of *Drosophila simulans*. *J Cell Sci*. 1997 Jan;110 (Pt 2):271-80. <https://doi.org/10.1242/jcs.110.2.271>
39. Beckmann JF, Ronau JA, Hochstrasser M. A *Wolbachia* deubiquitylating enzyme induces cytoplasmic incompatibility. *Nat Microbiol*. 2017 Mar 1;2:17007. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.7>
40. LePage DP, Metcalf JA, Bordenstein SR, On J, Perlmutter JI, Shropshire JD. Prophage WO genes recapitulate and enhance *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility. *Nature*. 2017 Mar 9;543(7644):243-247. <https://doi.org/10.1038/nature21391>
41. Ogunlade ST, Adekunle AI, McBryde ES, Meehan MT. Modelling the ecological dynamics of mosquito populations with multiple co-circulating *Wolbachia* strains. *Sci Rep*. 2022 Dec 2;12(1):20826. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25242-x>
42. Bourtzis K, Pettigrew MM, O'Neill SL. *Wolbachia* neither induces nor suppresses transcripts encoding antimicrobial peptides. *Insect Mol Biol*. 2000 Dec;9(6):635-9. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2583.2000.00224.x>
43. Zheng Y, Wang JL, Liu C, Wang CP, Walker T, Wang YF. Differentially expressed profiles in the larval testes of *Wolbachia* infected and uninfected *Drosophila*. *BMC Genomics*. 2011 Dec 6;12:595. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-595>
44. Xi Z, Gavotte L, Xie Y, Dobson SL. Genome-wide analysis of the interaction between the endosymbiotic bacterium *Wolbachia* and its *Drosophila* host. *BMC Genomics*. 2008 Jan 2;9:1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-1>
45. Wong ZS, Hedges LM, Brownlie JC, Johnson KN. *Wolbachia*-mediated antibacterial protection and immune gene regulation in *Drosophila*. *PLoS One*. 2011;6(9):e25430. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025430>
46. Cerenius L, Söderhäll K. The phenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunol Rev*. 2004 Apr;198:116-26. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x>
47. Thomas P, Kenny N, Eyles D, Moreira LA, O'Neill SL, Asgari S. Infection with the wMel and wMelPop strains of *Wolbachia* leads to higher levels of melanization in the hemolymph of *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans* and *Aedes aegypti*. *Dev Comp Immunol*. 2011 Mar;35(3):360-5. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.11.007>
48. Rancès E, Ye YH, Woolfit M, McGraw EA, O'Neill SL. The relative importance of innate immune priming in *Wolbachia*-mediated dengue interference. *PLoS Pathog*. 2012 Feb;8(2):e1002548. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002548>
49. Sullivan W. *Wolbachia*, bottled water, and the dark side of symbiosis. Kellogg D, editor. *Mol Biol Cell*. 2017 Sep;28(18):2343–

2346. <https://doi.org/10.1091/mbc.e17-02-0132>

50. Fraser JE, De Bruyne JT, Iturbe-Ormaetxe I, Stepnell J, Burns RL, Flores HA, O'Neill SL. Novel *Wolbachia*-transinfected *Aedes aegypti* mosquitoes possess diverse fitness and vector competence phenotypes. *PLoS Pathog.* 2017 Dec 7;13(12):e1006751. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006751>

51. Alexandrov ID, Alexandrova MV, Goryacheva II, Rochina NV, Shaikevich EV, Zakharov IA. Removing endosymbiotic *Wolbachia* **specifically** decreases lifespan of females and competitiveness in a laboratory strain of *Drosophila melanogaster*. *Russ J Genet.* 2007 Oct;43(10):1147–1152. <https://doi.org/10.1134/S1022795407100080>

52. Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN. *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science.* 2008 Oct 31;322(5902):702. <https://doi.org/10.1126/science.1162418>

53. Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* 2008 Dec 23;6(12):e2. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000002>

54. Walker T, Johnson PH, Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu FD, McMeniman CJ et al. The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature.* 2011 Aug 24;476(7361):450-453. <https://doi.org/10.1038/nature10355>

55. Bian G, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi Z. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathog.* 2010 Apr 1;6(4):e1000833. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000833>

56. Dutra HL, Rocha MN, Dias FB, Mansur SB, Caragata EP, Moreira LA. *Wolbachia* Blocks Currently Circulating Zika Virus Isolates in Brazilian *Aedes aegypti* Mosquitoes. *Cell Host Microbe.* 2016 Jun 8;19(6):771-4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.021>

57. Caragata EP, Dutra HL, O'Neill SL, Moreira LA. Zika control through the bacterium *Wolbachia pipiensis*. *Future Microbiol.* 2016 Dec;11:1499-1502. <https://doi.org/10.2217/fmb-2016-0177>

58. Zélé F, Nicot A, Duron O, Rivero A. Infection with *Wolbachia* protects mosquitoes against *Plasmodium*-induced mortality in a natural system. *J Evol Biol.* 2012 Jul;25(7):1243-52. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02519.x>

59. Hughes GL, Koga R, Xue P, Fukatsu T, Rasgon JL. *Wolbachia* infections are virulent and inhibit the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae*. *PLoS Pathog.* 2011 May;7(5):e1002043. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002043>

60. Lin M, Rikihisa Y. *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. *Infect Immun.* 2003 Sep;71(9):5324-31. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.9.5324-5331.2003>

61. Geoghegan V, Stainton K, Rainey SM, Ant TH, Dowle AA, Larson T, et al. Perturbed cholesterol and vesicular trafficking associated with dengue blocking in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* cells. *Nat Commun.* 2017 Sep 13;8(1):526. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00610-8>

62. Bellan SE. The importance of age dependent mortality and the extrinsic incubation period in models of mosquito-borne disease transmission and control. *PLoS One.* 2010 Apr 13;5(4):e10165. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010165>

63. Bäck AT, Lundkvist A. Dengue viruses - an overview. *Infect Ecol Epidemiol.* 2013 Aug 30;3. <https://doi.org/10.3402/iee.v3i0.19839>

64. Enayati A, Hemingway J. Malaria management: past, present, and future. *Annu Rev Entomol.* 2010;55:569-91. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085423>

65. Brownstein JS, Hett E, O'Neill SL. The potential of virulent *Wolbachia* to modulate disease transmission by insects. *J Invertebr Pathol.* 2003 Sep;84(1):24-9. [https://doi.org/10.1016/s0022-2011\(03\)00082-x](https://doi.org/10.1016/s0022-2011(03)00082-x)

66. Rasgon JL, Styer LM, Scott TW. *Wolbachia*-induced mortality as a mechanism to modulate pathogen transmission by vector arthropods. *J Med Entomol.* 2003 Mar;40(2):125-32. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.2.125>

67. Sinkins SP, O'Neill SL. *Wolbachia* as a vehicle to modify insect populations. In: Handler A, James AA, eds. *Insect transgenesis: methods and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2000. p. 271-287. <https://doi.org/10.1201/9781420039399>

68. Salazar MI, Richardson JH, Sánchez-Vargas I, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. *BMC Microbiol.* 2007 Jan 30;7:9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-9>

69. McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AW, Sidhu M, Wang YF, O'Neill SL. Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*. *Science.* 2009 Jan 2;323(5910):141-4. <https://doi.org/10.1126/science.1165326>

70. Lefoulon E, Clark T, Guerrero R, Cañizales I, Cardenas-Callirgos JM, Junker K et al. Diminutive, degraded but dissimilar: *Wolbachia* genomes from filarial nematodes do not conform to a single paradigm. *Microb Genom.* 2020 Dec;6(12):mgen000487. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000487>

71. Strübing U, Lucius R, Hoerauf A, Pfarr KM. Mitochondrial genes for heme-dependent respiratory chain complexes are up-regulated after depletion of *Wolbachia* from filarial nematodes. *International Journal for Parasitology.* 2010 Aug;40(10):1193–202. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.03.004>

72. Gottlieb Y, Zchori-Fein E. Irreversible thelytokous reproduction in *Muscidifurax uniraptor*. *Entomologia Experimentalis et Applicata.* 2001 Sep;100(3):271–8. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00874.x>

73. Dedeine F, Boulétreau M, Vavre F. *Wolbachia* requirement for oogenesis: occurrence within the genus *Asobara* (Hymenoptera, Braconidae) and evidence for intraspecific variation in *A. tabida*. *Heredity.* 2005 Aug 24;95(5):394–400. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800739>

74. Manoj RRS, Latrofa MS, Epis S, Otranto D. *Wolbachia*: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors. *Parasit Vectors.* 2021 May 7;14(1):245. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04742-1>

75. Casiraghi M, Bain O, Guerrero R, Martin C, Pocacqua V,

- Gardner SL, et al. Mapping the presence of *Wolbachia pipientis* on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution. *Int J Parasitol*. 2004 Feb;34(2):191-203. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.10.004>
76. Genchi C, H. Kramer L, Sassera D, Bandi C. *Wolbachia* and Its Implications for the Immunopathology of Filariasis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2012 Mar;12(1):53-6. <https://doi.org/10.2174/187153012799279108>
77. Taylor MJ, Hoerauf A, Bockarie M. Lymphatic filariasis and onchocerciasis. *Lancet*. 2010 Oct 2;376(9747):1175-85. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60586-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60586-7)
78. Slatko BE, Taylor MJ, Foster JM. The *Wolbachia* endosymbiont as an anti-filarial nematode target. *Symbiosis*. 2010 Jun;51(1):55–65. <https://doi.org/10.1007/s13199-010-0067-1>
79. Walker M, Specht S, Churcher TS, Hoerauf A, Taylor MJ, Basáñez MG. Therapeutic efficacy and macrofilaricidal activity of doxycycline for the treatment of river blindness. *Clin Infect Dis*. 2015;60(8):1199-1207. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu1152>
80. Foster JM, Hoerauf A, Slatko BE, Taylor MJ. The molecular biology, immunology and chemotherapy of *Wolbachia* bacterial endosymbionts of filarial nematodes. In: Kennedy M, Harnett W, editors. *Parasitic Nematodes: Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*. Wallingford, UK: CAB; 2011.
81. Landmann F, Voronin D, Sullivan W, Taylor MJ. Anti-filarial activity of antibiotic therapy is due to extensive apoptosis after *Wolbachia* depletion from filarial nematodes. *PLoS Pathog*. 2011 Nov;7(11):e1002351. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002351>
82. Bouchery T, Lefoulon E, Karadjian G, Nieguitsila A, Martin C. The symbiotic role of *Wolbachia* in Onchocercidae and its impact on filariasis. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Feb;19(2):131-40. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12069>
- Turner JD, Langley RS, Johnston KL, Gentil K, Ford L, Wu B, et al. *Wolbachia* lipoprotein stimulates innate and adaptive immunity through Toll-like receptors 2 and 6 to induce disease manifestations of filariasis. *J Biol Chem*. 2009;284(33):22364-22378. <https://doi.org/10.1074/jbc.m901528200>
- Ribeiro Dos Santos G, Durovni B, Saraceni V, Souza Riback TI, Pinto SB, Anders KL, et al. Estimating the effect of the wMel release programme on the incidence of dengue and chikungunya in Rio de Janeiro, Brazil: a spatiotemporal modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2022 Nov;22(11):1587-1595. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(22\)00436-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(22)00436-4)
83. Pinto SB, Riback TIS, Sylvestre G, Costa G, Peixoto J, Dias FBS, et al. Effectiveness of *Wolbachia*-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021 Jul 12;15(7):e0009556. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009556>
84. Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, et al. Efficacy of *Wolbachia*-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue. *N Engl J Med*. 2021 Jun 10;384(23):2177-2186. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2030243>
85. Dufault SM, Tanamas SK, Indriani C, Utarini A, Ahmad RA, Jewell NP, et al. Disruption of spatiotemporal clustering in dengue cases by wMel *Wolbachia* in Yogyakarta, Indonesia. *Sci Rep*. 2022;12(1):9890. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13749-2>
86. Hoffmann AA, Iturbe-Ormaetxe I, Callahan AG, Phillips BL, Billington K, Axford JK, et al. Stability of the wMel *Wolbachia* Infection following invasion into *Aedes aegypti* populations. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(9):e3115. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003115>
87. Dainty KR, Hawkey J, Judd LM, Pacidônio EC, Duyvestyn JM, Gonçalves DS, et al. wMel *Wolbachia* genome remains stable after 7 years in Australian *Aedes aegypti* field populations. *Microb Genom*. 2021;7(9):000641. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000641>
88. Popovici J, Moreira LA, Poinson A, Iturbe-Ormaetxe I, McNaughton D, O'Neill SL. Assessing key safety concerns of a *Wolbachia*-based strategy to control dengue transmission by *Aedes* mosquitoes. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105(8):957-964. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762010000800002>
89. Hertig M. The Rickettsia, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp.n.) and Associated Inclusions of the Mosquito, *Culex pipiens*. *Parasitology*. 1936 Oct;28(4):453–86.
90. Werren J, O'Neill SL. The evolution of heritable symbionts. In O'Neill SL, Hoffman AA, Werren JH, editors, *Influential Passengers: Inherited Microorganisms and Arthropod Reproduction*. 1 ed. New York USA: Oxford University Press. 1997. p. 1 - 41
91. Mascarenhas RO. Endossimbionte *Wolbachia* em moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* (Tephritidae) e em vespas parasitoides (Braconidae) associadas [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências; 2007. <https://doi.org/10.11606/D.41.2007.tde-30082007-143156>
92. Manoj RRS, Latrofa MS, Mendoza-Roldan JA, Otranto D. Molecular detection of *Wolbachia* endosymbiont in reptiles and their ectoparasites. *Parasitol Res*. 2021;120(9):3255-3261. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07237-1>
93. Simón F, Kramer LH, Román A, et al. Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Res Commun*. 2007;31(2):161-171. <https://doi.org/10.1007/s11259-006-3387-0>
94. Li SJ, Ahmed MZ, Lv N, Shi PQ, Wang XM, Huang JL, et al. Plant-mediated horizontal transmission of *Wolbachia* between whiteflies. *ISME J*. 2017;11(4):1019-1028. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.164>