



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Wolbachia como alternativa no controle biológico de insetos vetores: com ênfase nas famílias *Culicidae* e *Psychodidae* (Diptera)

Por

Amanda Andrade do Rosário

Salvador, BA

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Wolbachia como alternativa no controle biológico de insetos vetores: com ênfase nas famílias *Culicidae* e *Psychodidae* (Diptera)

Por

Amanda Andrade do Rosário

TCC apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Salvador, BA

2019

Data da Defesa: 28/06/2019

Banca Examinadora:

Bárbara Maria Paraná da Silva Souza

Universidade Federal da Bahia

Freddy Ruben Bravo Quijano

Universidade Estadual de Feira de Santana

Eduardo Oyana Lins Fonseca

SENAI - Cimatec

RESUMO

Os chamados vetores, na maioria das vezes hematófagos, são capazes de transmitir patógenos entre humanos, ou entre humanos e animais. Entre os principais insetos vetores de doenças estão os do gênero *Anopheles* (malária), *Aedes* (dengue, zika e chikungunya), e *Lutzomyia* (leishmaniose). Devido às condições climáticas nos trópicos e o aumento da mobilidade humana, a população destes insetos tem aumentado, e desta forma se distribuído ao longo do globo. Tal expansão tem elevado o número de casos de doenças, bem como a atenção da comunidade científica em busca de diferentes possibilidades de controle. Entre os métodos de controle mais implantados estão: mecânico, químico, de manipulação genética, proteção pessoal e de ações educativas. *Wolbachia pipientis* é uma bactéria pleomórfica intracelular obrigatória encontrada nos tecidos reprodutivos de 65% dos artrópodes, sendo recentemente identificada em espécimes vetores da Leishmaniose visceral no Brasil, a *Lutzomyia*. Tal bactéria é capaz de causar alterações no seu hospedeiro, reduzindo significativamente a longevidade dos vetores infectados e com isso diminuindo a possibilidade de transmissão de alguns vírus e parasitos, como acontece com o *Aedes aegypti*. A leishmaniose visceral, uma doença zoonótica causada pela *Leishmania infantum*, é considerada um importante problema de saúde pública no mundo, sendo transmitida através da picada de fêmeas de insetos flebotomíneos, *Lutzomyia longipalpis*. O objetivo desta revisão é identificar as formas de controle vetorial que vem sendo exploradas pelos pesquisadores e explanar a possibilidade de uso da bactéria *Wolbachia* que pode gerar novas estratégias de controle de doenças causadas por *Lutzomyia longipalpis*.

Palavras-chaves: Controle Biológico; Vetor; Leishmaniose.

ABSTRACT

The so-called vectors, most often hematophages, are capable of transmitting pathogens between humans, or between humans and animals. Among the main insect vectors are *Anopheles* (malaria), *Aedes* (dengue, zika and chikungunya), and *Lutzomyia* (leishmaniasis). Due to the climatic conditions in the tropics and the increase of human mobility, the population of these insects has increased, and this way is distributed throughout the globe. Such expansion has increased the number of cases of diseases, as well as the attention of the scientific community in search of different possibilities of control. Among the most implanted control methods are: mechanical, chemical, genetic manipulation, personal protection and educational actions. *Wolbachia pipientis* is an obligate intracellular pleomorphic bacterium found in the reproductive tissues of 65% of arthropods, and has recently been identified in vector specimens of visceral leishmaniasis in Brazil, *Lutzomyia*. Such a bacterium is capable of causing changes in its host, significantly reducing the longevity of infected vectors and thereby reducing the possibility of transmission of some viruses and parasites, as with *Aedes aegypti*. Visceral leishmaniasis, a zoonotic disease caused by *Leishmania infantum*, is considered a major public health problem in the world, being transmitted through the bite of female phlebotomine insects, *Lutzomyia longipalpis*. The objective of this review is to identify the forms of vector control that have been explored by the researchers and to explain the possibility of using *Wolbachia* bacteria that can generate new strategies to control diseases caused by *Lutzomyia longipalpis*.

Keywords: Biological Control; Vector; Leishmaniasis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, e pela sabedoria de escolher uma profissão tão bonita. A UFBA por estes quatro anos de graduação e aprendizado, em especial a minha segunda casa neste período, o Instituto de Biologia e o Hospital de Medicina Veterinária e Zootecnia. Sem esquecer de agradecer a todos os professores que contribuíram de forma direta na construção do meu conhecimento e na minha paixão pela profissão.

Ao Laboratório de Biologia Celular e Molecular (LBCM), em nome das orientadoras Bárbara Paraná, Sabrina Lambert e Rosa Uzêda pelas viagens de campo, brincadeiras e também puxões de orelha. A todos os estagiários que estiveram dividindo laboratório comigo: Natália, Charmila, Jamile, Gustavo, Ival, Alexandre, Caio e Larissa um muito obrigada por cada riso, xícara de café e festas temáticas. A presença de vocês tornou boa parte do trabalho muito mais leve e prazeroso. Ainda em relação a equipe do LBCM, não poderia deixar de citar o professor Artur Dias Lima, que sempre nos acompanhou nas coletas do campo e triagem em laboratório, nos ensinando um pouco sobre o mundo da entomologia e parasitologia.

A minha família, um agradecer especial pelo carinho, incentivo e compreensão dos momentos ausentes por conta do estudo. A minha mãe Sueli, meus avós Nilda e Idelberg, a minha madrinha Raíssa, todos prim@s e ti@s e afilhado, por todo cuidado, desde uma comida quentinha na mesa, a uma palavra de força para me auxiliar a continuar.

Mas claro, todos esses anos não teriam sido os mesmo sem as noites perdidas de estudo, as risadas de desespero, o choro, as brincadeiras e as amizades que aqui construí. Lucy, Saulo, Mainara, Lorena, Alessandra e Maurício gratidão por cada segundo compartilhado, é muito bom saber que tenho amigos que amam o que fazem e se dedicam para serem os melhores. Eu me inspiro demais em vocês!

Por último, mas não menos importante agradecer a Sabrina e Karine que desde a época da escola estão sempre próximas a mim e torcendo pelo meu sucesso. Ao meu querido companheiro de todas as horas, Steve, por tornar toda esta agonia chamada graduação, um pouco mais leve.

Hoje cheguei onde estou com o apoio e incentivo de todos vocês. Gratidão!

“Conseguimos realizar nossos propósitos, economizando os minutos.”

Charles Darwin

SUMÁRIO

Índice de figuras	pag. 10
Índice de tabelas	pag. 12
1. Introdução	pag. 13
2. Metodologia	pag. 14
3. Revisão	pag. 15
3.1. Vetores	pag. 15
3.2. Controle de vetores	pag. 19
3.2.1. Controle mecânico	pag. 21
3.2.2. Controle químico	pag. 22
3.2.3. Controle molecular	pag. 23
3.2.3.1. CRISP/Cas9	pag. 23
3.2.4. Técnica de insetos estéreis (<i>Sterile Insect Technique</i> - SIT)	pag. 24
3.2.5. Liberação de insetos carregando um gene letal dominante (<i>Release of Insect carrying Dominant Lethal gene</i> - RIDL)	pag. 26
3.2.6. Controle biológico	pag. 28
3.3. <i>Wolbachia</i> : um breve histórico	pag. 29
3.4. Alterações causadas no hospedeiro pela presença de <i>Wolbachia</i>	pag. 31
3.5. Transmissão de <i>Wolbachia</i>	pag. 34
3.6. <i>Wolbachia</i> como controle biológico	pag. 34
3.7. <i>Wolbachia</i> como controle biológico para leishmaniose visceral	pag. 38
3.8. <i>Wolbachia</i> em flebotomíneos no mundo	pag. 41
4. Considerações finais	pag. 44

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** - Ciclo de vida de mosquitos da família Culicidae. A fêmea põe os ovos sobre a água, estes transformam-se em larvas que depois passam a pupas de onde eclodem os mosquitos adultos. _____ 16
- Figura 2** - Representação dos mosquitos do gênero *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*. Fonte: Chainsaw jornal. _____ 17
- Figura 3**: Flebotomíneo fêmea. Foto: Carlos García-Donas. _____ 18
- Figura 4**: Técnica de Insetos Estéreis (SIT) - A técnica consiste na criação em massa de mosquitos, seguida pela separação de sexo, irradiação dos machos e liberação destes para acasalar com fêmeas selvagens, resultando numa prole nula. Fonte: WILKE et al., 2009b. _____ 25
- Figura 5**: Representação esquemática da técnica de RIDL (Release of Insect carrying Dominant Lethal gene) utilizada para produção da linhagem OX513A de *Aedes aegypti*, onde a produção da proteína tTA desencadeia uma cascata de eventos que leva a morte dos indivíduos transgênicos (ALPHEY; ANDREASEN 2002). _____ 27
- Figura 6**: Ação combinada da proteína tTA com a tetraciclina permite o desenvolvimento da larva até a fase adulta do inseto (ALPHEY; ANDREASEN 2002). _____ 27
- Figura 7**: Filogenia de *Wolbachia*. a) Filogenia de *Wolbachia* dentro do grupo Rickettsia. (b) Filogenia não enraizada, demonstrando a relação de *Wolbachia* com os grupos de nematódeos e artrópodes. Em verde é demonstrado os supergrupos que tem relação mutualística, em azul os supergrupos com relação de parasitismo e em amarelo, os supergrupos que ainda apresentam uma relação desconhecida entre a bactéria e seu hospedeiro (WERREN et al., 2008). _____ 30
- Figura 8**: Árvore filogenética não enraizada de *Wolbachia* baseada em genes codificadores de proteínas (gltA, ftsZ e groEL). Valores de sustentação por bootstrap são apresentados na parte superior dos ramos e probabilidade bayesianas na parte inferior (ROS et al., 2009). _____ 30

Figura 9: Alterações causadas pela presença de <i>Wolbachia</i> nos hospedeiros (WERREN et al., 2008)	31
Figura 10: Esquema demonstrando a Incompatibilidade Citoplasmática Unidirecional em insetos infectados com <i>Wolbachia</i> ..	33
Figura 11: Esquema demonstrando a Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional em insetos infectados com <i>Wolbachia</i>	33
Figura 12: Imagem de divulgação do Projeto Eliminar Dengue com Coordenação da Fiocruz, demonstrando o processo de inserção de mosquitos infectados por <i>Wolbachia</i> no meio ambiente e o estabelecimento do mesmo.	36
Figura 13: Mapa de distribuição global de ocorrência de casos de Leishmaniose Visceral (LV). Fonte: Organização Mundial da Saúde (2015, tradução da autora).	38
Figura 14: Casos de Leishmaniose Visceral em países das Américas entre 2001 e 2017. Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: reportados pelo Programa Nacional de Leishmanioses.	39
Figura 15: Estratificação dos casos de Leishmaniose Visceral no Brasil do triênio 2015-2017. Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: reportados pelo Programa Nacional de Leishmanioses..	40

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1:** Métodos de controle dos mosquitos vetores esquematizados em classificações. Adaptado de Wermelinger; Ferreira (2013)._____20
- Tabela 2:** Interferência de diferentes cepas de *Wolbachia* em insetos vetores e seus respectivos patógenos (JOHNSON, 2015)._____37
- Tabela 3:** Distribuição de *Wolbachia* em vetores flebotomíneos em diferentes países.____42

1. INTRODUÇÃO

Os insetos são animais especializados e facilmente adaptáveis às mais variadas condições de vida. Pertencem ao filo dos artrópodes, compreendendo mais de um milhão de espécies já descritas, sendo assim o grupo de animais mais abundantes do globo terrestre (ALVES, 1998). Estas espécies possuem grande importância epidemiológica, pois atuam como vetores de transmissão de doenças ao homem. Entre os principais insetos vetores de doenças estão os do gênero *Anopheles* (malária), *Aedes* (dengue, zika e chikungunya), e *Lutzomyia* (leishmaniose).

O aumento populacional desses vetores como resultado do desmatamento, monoculturas, criação intensiva de animais, condições inadequadas de escoamento de águas e de remoção de dejetos e lixos, precárias condições de moradia, alimentação, vestuário e higiene, tem contribuído para o crescimento dessas enfermidades (FINKLER, 2012). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2017) os patógenos que são transmitidos por vetores têm causado grande impacto na mortalidade e morbidade humana (ADAMS; KAPAN, 2009), sendo responsável por 17% de todas as doenças infecciosas.

A principal forma de controle para a maioria destes patógenos baseia-se no manejo de vetores. Contudo, o controle a partir da eliminação de vetores ainda é um ponto importante a ser discutido, uma vez que muitos agentes de campo não possuem capacitação adequada, no que se refere à facilidade de identificação dos vetores e de aplicação de medidas antivetoriais (TAUIL et al., 2006).

Além disso, a utilização continuada de inseticidas, principal tipo de controle empregado atualmente, acaba por selecionar vetores resistentes, reduzindo assim a sua capacidade de eliminá-los do ambiente. Outro empecilho bem comum é a negação da população a entrada de agentes comunitário de saúde em suas residências para aplicação de larvicidas e/ou inseticidas. As alegações para a dificuldade da entrada nos domicílios vão desde número elevado de usuários para acompanhamento, o número de horas insuficiente para tal atividade, até uma inadequação do horário destinado às visitas domiciliares (COSTA et al., 2013).

Assim, controles alternativos vêm sendo buscados, entre os quais está a possibilidade da utilização da bactéria Gram negativa e endossimbionte, *Wolbachia* sp., em insetos vetores de doenças. *Wolbachia* está presente em cerca de 40% de todas as

espécies conhecidas de artrópodes terrestres (ZUG; HAMMERSTEIN, 2012), 52% dos artrópodes aquáticos e em 37% de nematódeos filariais (FERRI et al., 2011; SAZAMA et al., 2017), sendo considerada, em uma metanálise realizada em 2008, como o gênero de bactérias intracelulares mais abundante do globo (HILGENBOECKER; HAMMERSTEIN, 2008).

Wolbachia de artrópodes exibe uma associação mais parasitária com seu hospedeiro (PFARR; HOERAUF, 2005), sendo observado em *Aedes aegypti* e *Anopheles sp*, inibição da transmissão do vírus da dengue e do parasita *Plasmodium gallinaceum*, respectivamente. Além de ser capaz de causar alterações em seu hospedeiro como feminização, morte dos machos, incompatibilidade citoplasmática, e redução significativa da longevidade dos vetores infectados (MOREIRA et al., 2009; BIAN et al., 2010; HOFFMANN et al., 2010; BIAN et al., 2013; DUTRA et al., 2016; PAN et al., 2018).

Desta forma, o presente trabalho visa fornecer, ao meio acadêmico, uma revisão bibliográfica sobre *Wolbachia* e sua possibilidade como uso de controle biológico de insetos vetores.

2. METODOLOGIA

A pesquisa bibliográfica pode ser entendida como um processo que envolve as seguintes etapas: escolha do tema, levantamento bibliográfico, formulação do problema, elaboração do plano provisório de assunto, busca de fontes, leitura do material, tomada de apontamentos, confecção de fichas, construção lógica do trabalho e redação do texto final (GIL, 2006).

O levantamento de dados com base nas literaturas científicas existentes foi realizado no período de janeiro a abril de 2019. Não se foi definido um período específico de busca, visto que se pretendeu alcançar uma maior gama de trabalhos publicados acerca do tema proposto nesta revisão.

Neste contexto, foi realizada uma busca sistemática onde os dados foram coletados em páginas governamentais e de cunho científico. A busca ocorreu em sites como Scopus, *Scientific Electronic Library Online* (Scielo) e Pubmed utilizando sempre descritores como “*Wolbachia*”, “Controle Biológico”, *Wolbachia* em insetos”, “*Wolbachia* em nematódeos”, “*Wolbachia Culex*”, “*Wolbachia Aedes*”, “*Wolbachia Anopheles*”, “*Wolbachia Lutzomyia*”, “*Wolbachia Phlebotomus*”, “Filogenia *Wolbachia*” (Descritores em português e inglês); os

mesmos foram cruzados de modo a permitir uma busca mais precisa e específica sobre o referido tema, foi utilizado o operador booleano “AND”.

A escolha dos artigos pesquisados foi baseada na leitura do título e do resumo do trabalho, focando em aspectos que fossem de fato interessantes para esta revisão. Sites governamentais como o do Ministério da Saúde (<http://portalsaude.saude.gov.br>) e do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (<https://www.cdc.gov>) também foram consultados, assim como o do Google Acadêmico também foi fonte de busca de literatura cinza como teses, dissertações, relatório e monografias.

O método de amostragem não probabilística, denominada bola de neve que utiliza cadeias de referência foi aplicado dentro dos artigos selecionados inicialmente na busca. Tal método apresenta uma certa limitação se o objetivo da pesquisa estiver associado a probabilidade, pois não poderá ser alcançado pela bola de neve. Segundo Bernard (2005), é um método útil para: estudar populações difíceis de serem acessadas ou estudadas, ou mesmo quando não há precisão sobre sua quantidade.

A pesquisa foi desenvolvida com os seguintes passos: identificação do problema e questões norteadoras; definição do tema a ser explorado; pesquisa dos documentos científicos nas bases de dados; identificação dos documentos mais adequados; leitura dos escritos científicos; e finalização da pesquisa de revisão. Os conteúdos selecionados na busca encontram-se no presente trabalho no formato de citação, imagens e esquemas.

3. REVISÃO

3.1. VETORES

Os Dipteros são insetos responsáveis pela transmissão vetorial de doenças causada por patógenos e parasitas ao homem, apresentando assim importância médica (SUESDEK, 2019). Entre os dípteros, o que pertencem a família Culicidae, também conhecida como pernilongos, muriçocas ou carapanãs e os pertencentes a família Psychodidae, dos flebotomíneos, se destacam como vetores biológicos por incluírem um grande número de insetos de importância médica.

Os espécimes destas famílias são insetos holometabólicos (endopterygota ou holometabola), com metamorfoses completas, apresentando assim formas imaturas, ovo, larva com quatro estádios larvares, e pupa, as quais não se assemelham ao inseto adulto (**Figura 1**).

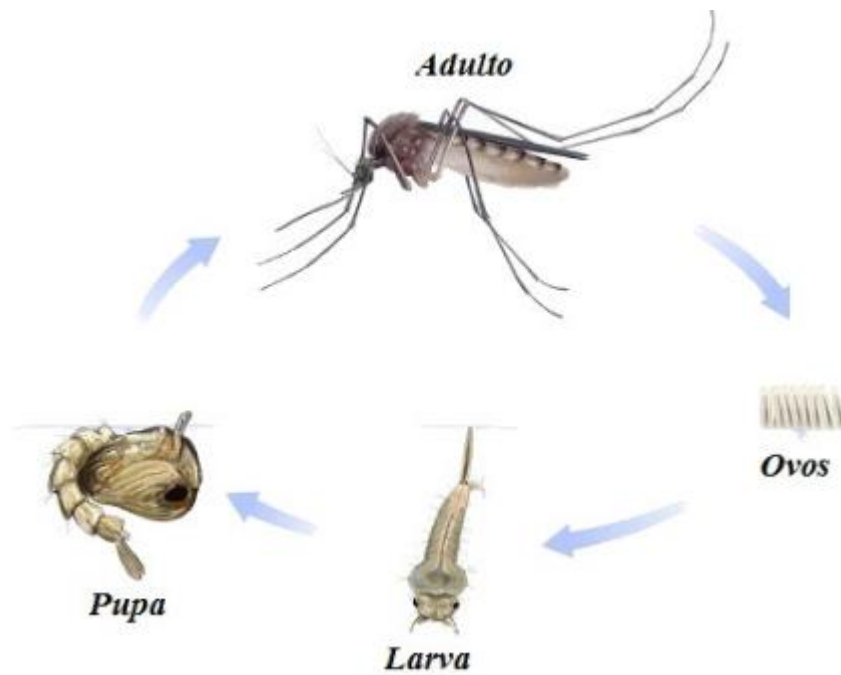


Figura 1 - Ciclo de vida de mosquitos da família Culicidae. A fêmea põe os ovos sobre a água, estes transformam-se em larvas que depois passam a pupas de onde eclodem os mosquitos adultos. Fonte: Brasil Escola.

O ciclo de vida dos mosquitos se passa em dois meios separados; os adultos vivem no meio aéreo, e as formas imaturas evoluem na água, constituindo assim uma fase aquática (ALMEIDA, 2011; FOSTER; WALKER, 2002).

De maneira geral as larvas se alimentam de fitoplâncton ou zooplâncton, enquanto que as pupas não se alimentam. Quando adultos, estes obtêm açúcar de seivas vegetais e néctar, sendo que as fêmeas em períodos específicos se alimentam preferencialmente de sangue de animais vertebrados, o que condiciona seu papel como mosquitos vetores (FOSTER; WALKER, 2002). Uma proteína contida na hemoglobina e o soro, fornecem aminoácidos que permitem a síntese da vitalogenia. Após a hematofagia, as fêmeas ficam um período em repouso para que ocorra a digestão, e também a maturação dos ovos (ALMEIDA, 2011; FOSTER; WALKER, 2002).

Os culicídeos podem apresentar atividades diurnas, noturnas ou crepusculares as quais tem importância fundamental na identificação das espécies, e na dinâmica de transmissão de doenças, no caso dos vetores (SAUNDERS, 2002). As espécies do gênero *Aedes* apresentam atividade diurna, sendo essa geralmente maior nos períodos de crepúsculos, tanto matutino quanto vespertino (GENTILE et al, 2009). Outros mosquitos são mais ativos durante a noite, como é o caso de alguns vetores do gênero *Culex* (CLEMENTS, 1999).

A escolha do local de ovoposição está relacionada a características físicas (exposição à luz solar, temperatura, agitação da água), características químicas como o teor de gases dissolvidos, pH, salinidade, teor de matéria orgânica, as quais são medidas por meio de quimiorreceptores tarsais e também por características biológicas como microrganismos que servem de fonte alimentar, vegetação, mas também a ausência de predadores. (ALMEIDA, 2011).

Dentre os culicídeos causadores de doenças de importância, destacam-se os gêneros *Anopheles* (malária), *Culex* (filariose), e *Aedes* (transmissor da dengue, chikungunya e zika) – **Figura 2**. Já entre os psicodídeos temos o gênero *Lutzomyia* (leishmanioses).

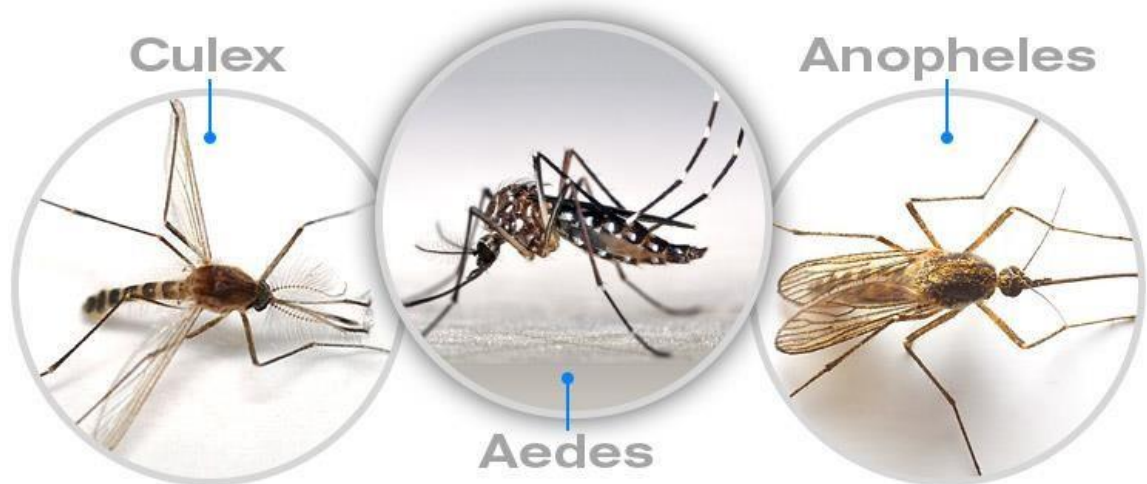


Figura 2: Representação dos mosquitos do gênero *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*. Fonte: Chainsaw jornal.

As doenças transmitidas por vetores como Chikungunya, Dengue, Febre Amarela, Zika, Leishmaniose, Filaríase Linfática e Febre do Nilo Ocidental, respondem por cerca de 17% do ônus global das doenças transmissíveis e atingem mais de 700.000 vidas a cada ano (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2017).

Aedes aegypti é o culicídeo responsável pela transmissão de algumas patogenicias, tais como Dengue, Zika e Chikungunya. Está presente em regiões tropicais e subtropicais, e tem crescido em expansão para centros urbanos devido ao aumento paralelo do tráfego humano. Até o dia 02 de fevereiro do presente ano, o Ministério de Saúde registrou um

aumento de 149% de casos prováveis de dengue no país, passando de 21.992 para 54.777 (MINISTÉRIO DE SAÚDE, 2019).

Para os casos de Zika, até o mês de Abril de 2019 foram notificados 630 casos em todo país, apresentando assim uma redução de 18% em relação ao mesmo período em 2018 quando tiveram 776 casos registrados. Apresentam também redução de 51% os casos de Chikungunya notificados até o presente momento, tendo 4.149 casos registrados (MINISTÉRIO DE SAÚDE, 2019).

Não apenas os culicídeos tem importância médica dentre os Dípteros. Conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outras denominações comuns (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), os flebotomíneos pertencem à família Psychodidae e apresentam grande importância epidemiológica para o homem. As fêmeas são hematófagas – devido a necessidade de maturação dos ovos – e muitas espécies são transmissoras dos protozoários flagelados do gênero *Leishmania*, causadores das leishmanioses. Em 2017, foram 4.103 casos de Leishmaniose Visceral reportados a Organização Mundial de Saúde.

São insetos que apresentam ciclo de vida holometábolo, compreendido pelas fases de ovo, quatro estádios larvários, pupa e adultos. São pequenos medindo entre 2 – 3 mm de largura (LUCIENTES et al., 2005), sendo facilmente diagnosticados pela implantação da cabeça inferior ao tórax formando um ângulo de 90°, além do corpo com coloração que varia de bege a marrom, recoberta por finas cerdas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014) –

Figura 3.



Figura 3: Flebotomíneo fêmea. Foto: Carlos García-Donas.

Na natureza são encontrados em regiões que apresentem acúmulo de matéria orgânica e alta umidade relativa do ar, com temperaturas entre 17 e 30°C (LUCIENTES et al., 2005). Apresentando hábito crepuscular e noturno, momento em que adentram os domicílios em busca de reservatórios de sangue, como os humanos, para se alimentar (SHERLOCK; PESSOA, 1964). Deslocam-se média de 100 a 200 metros do local onde eclodiram, podendo chegar a 3 km, o que auxilia na dispersão da transmissão das leishmanioses (LUCIENTES et al., 2005).

3.2. CONTROLE DE VETORES

Para que doenças transmitidas por vetores ocorram, três componentes são essenciais: um agente (ou patógeno), um hospedeiro (ou vetor) e ambiente de transmissão (EPSTEIN, 2001), sendo este último essencial para a sobrevivência, reprodução, distribuição e transmissão de patógenos. Portanto, mudanças climáticas podem afetar as doenças infecciosas por agir sobre os patógenos, vetores, hospedeiros e seu ambiente de vida (EPSTEIN, 2001; WU et al., 2014).

No passado, as doenças vetoriais eram fundamentalmente rurais. Mas, na análise das perspectivas atuais de controle das doenças vetoriais no Brasil, é importante considerar três aspectos: a urbanização da população, a transformação do caráter eminentemente rural dessas doenças em concomitante transmissão urbana ou peri-urbana e os aspectos climáticos (TOL; DOWLATABADI, 2001; LAFFERTY, 2009; RODÓ et al., 2013).

O rápido crescimento populacional dos últimos 30 a 40 anos fez com que 80% da população atual viva em grandes centros urbanos. Mas, não apenas em áreas urbanas estão concentrados os habitantes, muitos ainda vivem em condições precárias de habitação e saneamento, que quando associada as condições climáticas, favorecem assim o aparecimento ou re-emergência de algumas doenças que começam então a ser transmitidas em áreas urbanas e peri-urbanas (TAUIL, 2006; RODÓ et al., 2013).

No censo demográfico brasileiro feito para a presente década, levantado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), é demonstrado o número de pessoas que vivem sobre assentamentos irregulares existentes no País como favelas, invasões, grotas, baixadas, comunidades, vilas, ressacas, mocambos, palafitas, entre outros. São cerca de 11,4 milhões de habitantes em moradias desse tipo.

Como apontado pela Organização Mundial de Saúde, o número de casos registrados de doenças transmitidas por insetos vetores é elevado, tornando um desafio para a saúde pública do país. Devido à dificuldade de formulação de vacinas para estas doenças causadas por mosquitos vetores, diferentes métodos de controle têm sido considerados e sofrido modificações, afim de reduzir não apenas a incidência da doença como a população de vetores (TAUIL, 2006; WERMELINGER; FERREIRA, 2013) - **Tabela 1**.

Tabela 1: Métodos de controle dos mosquitos vetores esquematizados em classificações. Adaptado de Wermelinger; Ferreira (2013).

Classificações	Métodos de controle												
	Armadilha	Biológico	Cultural ou educacional	Feromônios	Físico	Legal (legislativo)	Manejo ambiental	Manipulação genética	Mecânico	Proteção pessoal	Químico	Saneamento	Outros*
Metcalf; Flint, 1951		X	X		X	X			X		X		
Little, 1957		X	X		X	X			X		X		
Ross, 1965		X	X		X				X		X		X ¹
Busvine, 1966		X			X				X		X		X ²
Gama, 1966		X							X		X		X ³
Leclercq, 1969		X							X		X		
James; Harwood, 1969		X					X	X		X	X		
Who, 1982		X					X	X			X		
Who, 1983		X					X	X			X		
Who, 1988		X									X		X ⁴
Challet, 1991		X				X	X				X		
Olkowski et al., 1991		X	X		X		X		X		X		
Who, 1995		X					X			X	X		
Robinson, 1996											X	X	X ⁵
Funasa, 2001		X	X			X			X		X		
Walker, 2002		X					X				X		
Emden; Service, 2004	X	X	X	X	X		X	X			X		X ^{**}
Brasil, 2009		X				X	X		X		X		
Pakistan, 2010							X			X	X		
Vanlerberghe et al., 2010					X						X		
Marcondes, 2011	X ⁷	X					X	X		X	X		X ⁶
India, 2012		X	X			X	X			X	X		

WHO, 2012	X		X	X	X	
Jacups et al., 2013						X
Juri et al., 2013						X
Tsunoda et al., 2013		X				X
Puggioli et al., 2016				X	X	
Kittayapong, 2018	X			X	X	
Häcker; Schetelig, 2018			X	X		
Sibanda et al., 2018			X			X
Gunathilaka et al., 2019	X			X	X	X

* Outras diferentes estratégias de controle; ¹ Quarentena; ² Medidas de controle preventivas: higiene, manejo de residências, informações técnicas; ³ Redução contato homem mosquito; ⁴ Petróleo, mosquiteiros, armadilhas, atraentes e outros; ⁵ Eliminação ativa, controles ativo e passivo; ** Condições letais ambientais; ⁶ Vacinação artrópodes, zooprofilaxia; ⁷ Armadilhas com feromônios; ⁸ As redes mosquiteiros pré-tratadas com inseticida.

Desde o início do século vinte o controle de vetores e pragas vem sendo feito através da utilização em larga escala de químicos, com os inseticidas de compostos arsênicos, seguindo-se dos compostos organoclorados, organofosfatos, carbamatos e piretróides (FLINKER, 2012). Contudo, como demonstrado na tabela acima, diferentes controles vêm sendo estudados e aplicados. No presente estudo será abordada a utilização do controle mecânico, químico, o controle molecular, além do controle alternativo a partir da utilização de microrganismos.

3.2.1. CONTROLE MECÂNICO

O controle mecânico, é um método onde a população participa ativamente através de um trabalho manual, utilizando sempre de estratégias que evitem o contato do homem com o vetor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Tal método tem uma significância na redução de criadouros naturais dos vetores, a partir da eliminação de água parada em recipientes naturais e artificiais, evitando o desenvolvimento do mosquito. Entre os métodos do controle mecânico podemos citar a queima de folhas secas para afastar os mosquitos, a colocação de uma barreira natural (como tela em janelas e portas), a limpeza de quintais evitando o acúmulo de matéria orgânica, além do uso de repelentes.

Apesar deste ser um método importante devido a participação social por meio do uso de ferramentas mecânicas e que apresenta eficácia na redução de ambientes susceptíveis ao desenvolvimento de larvas, é preciso expor outro ponto: trata-se de um método que depende do envolvimento de vários setores da sociedade, demanda recursos

humanos, envolve processos educativos com resultados a médio e longo prazos e necessita de ações recorrentes para garantir sua sustentabilidade (ZARA et al., 2016).

3.2.2. CONTROLE QUÍMICO

Após o controle mecânico, o químico é o segundo mais utilizado no controle de vetores, sendo formado pelo uso de compostos orgânicos e/ou inorgânicos (GUBLER, 1998). Para o controle de insetos vetores de doenças são utilizados produtos formulados de acordo com a fase e os hábitos do vetor. Os inseticidas podem ser classificados como larvicidas, cujo alvo são as fases larvárias, ou adulticidas, direcionados a controlar os insetos adultos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

O controle químico ocorre a partir da utilização de inseticidas e carros fumacê, que têm sido comumente utilizados em muitos países para combater vetores. Contudo, o uso continuado tem levado a resistência desses insetos, isto porque com o uso dos químicos há morte dos mosquitos susceptíveis, fazendo com que a próxima geração seja formada em sua maioria por indivíduos resistentes aos produtos em uso, levando a ineficácia do método de controle e elevando novamente a população de vetores (MULAMBA et al., 2014; BELLINATO et al., 2016; ARSLAN et al., 2016). Um exemplo são os mosquitos *Aedes aegypti* no qual insetos adultos já apresentam resistência a inseticidas organoclorados (DDT) e também aos organofosforado, iniciando resistência aos piretóides (TAUIL et al., 2006). Anofelídeos, mosquitos transmissores da malária, também já apresentam resistência aos chamados organoclorados (RÉGIS et al., 2000).

Um novo composto químico vem ganhando vez no mercado, o piriproxifeno (PPF), larvicida que explora os recursos de postura e ovos dos mosquitos. As fêmeas de *Aedes* sp. costumam ovopositar em diferentes criadouros, e desta forma a ideia da utilização deste larvicida é que a fêmea seja atraída para ovopositar em um local onde tenha o pó do PPF, e à medida que pousar em outros criadouros, dissemine o larvicida pelo ambiente, auxiliando desta forma na dispersão do mesmo, ampliando sua área de cobertura. O PPF é absorvido pelo contato tarsal, e afeta o ciclo gonotrófico do inseto, comprometendo assim a produção de ovos e reduzindo a eclosão dos mesmos (HARRIS et al., 2013). Pode ainda afetar a inibição da metamorfose evitando o surgimento de adultos a partir de pupas (YAPABANDARA et al., 2011).

Em seu trabalho, Abad-Franch (2015) testou em residências de Manaus a eficácia na disseminação de PPF por mosquitos Culicídeos (*Aedes* sp. e *Culex* sp.) e comprovou que 85% dos criadouros sentinelas foram visitados por mosquitos em postura, corroborando com os resultados que a equipe havia chegado em experimento no laboratório, reduzindo drasticamente a população de mosquitos *Aedes*.

Medidas de controle vetoriais não têm obtido muito sucesso, principalmente pelo fato da rápida seleção de linhagens resistentes aos químicos, mas também a existência de uma variedade de complexos de espécies, as quais parecem estar sofrendo processos de especiação (BESANSY; COLLINS, 1992; SHEARMAN, 2002).

A resistência aos inseticidas tem influenciado no aumento do número de casos de doenças, além da reemergência de outras. Devido a tal problemática, uma busca por outros meios de controle tem sido considerada, a exemplo do controle genético ou molecular, através do uso de mosquitos geneticamente modificados (MOREIRA et al., 2000; ALPHEY, 2002).

3.2.3. CONTROLE MOLECULAR

Nas últimas décadas o crescimento da biotecnologia permitiu avanços nos estudos genéticos da utilização de mosquitos transgênicos como forma de controle de doenças, e diferentes abordagens já são possíveis e tem apresentado sucesso na redução populacional destes vetores (WILKE et al., 2009a; 2009b).

3.2.3.1. CRISP/Cas9

Repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente espaçadas (CRISP) é uma técnica de edição de genes, que trazem novas alternativas para a engenharia genética e terapias gênicas, mas também tem ganhado olhares para possibilidade do uso no controle de vetores com a utilização da classe II CRISP, a chamada Cas9 (HALL et al., 2015).

Para a CRISP/Cas9 atuar ela precisa de uma endonuclease e de um RNA guia. Após a ligação do RNA guia com a endonuclease CAS9 ocorre um reconhecimento da região alvo através do pareamento de bases complementares (JINEK et al., 2012), a qual irá se ligar a uma região específica do DNA, clivando a dupla fita, ativando assim o sistema de reparo que começará a adicionar ou remover pares de bases para a reconstrução da região

da dupla fita degenerada. Com estas adições/remoções, são geradas mutações de tal modo que acabam por desativar o gene de interesse (WRIGHT et al., 2016).

Utilizando a técnica de CRISP/Cas 9, Hall et al. (2015) conseguiu fazer com que o gene *Nix* em *A. aegypti* fosse desligado (nocauteado) resultando em machos feminizados. Além disto, neste mesmo estudo as fêmeas que foram nocauteadas com o *Nix* apresentaram indução na transformação de fêmeas em machos inofensivos. Outro trabalho que demonstra a utilização dessa técnica foi publicado por Hammond et al. (2016) onde os autores conseguem manipular a proporção sexual da prole, atingindo 90% de machos, reduzindo então o número de fêmeas e consequentemente a transmissão de patógenos.

Em relação a malária, a utilização da técnica não está focada em reduzir o tempo de vida ou causar a feminização nos vetores, mas sim gerar um fenótipo resistente aos parasitas que possivelmente possam infectar estes vetores, evitando assim a sua transmissão no momento da picada ou repasto (GANTZ et al., 2015).

3.2.4. TÉCNICA DE INSETOS ESTÉREIS (*Sterile Insect Technique* - SIT)

Em 1955, Knipling et al. propuseram uma técnica para o controle de mosquitos, a qual envolve a emissão de radiação gama sobre machos, de forma a torna-los estéreis e/ou causar mutação no espermatozoide, evitando assim a fecundação com fêmeas selvagens, reduzindo a população e atuando diretamente na taxa de natalidade de novos indivíduos da prole (BUSHLAND et al., 1955) – **Figura 4.**

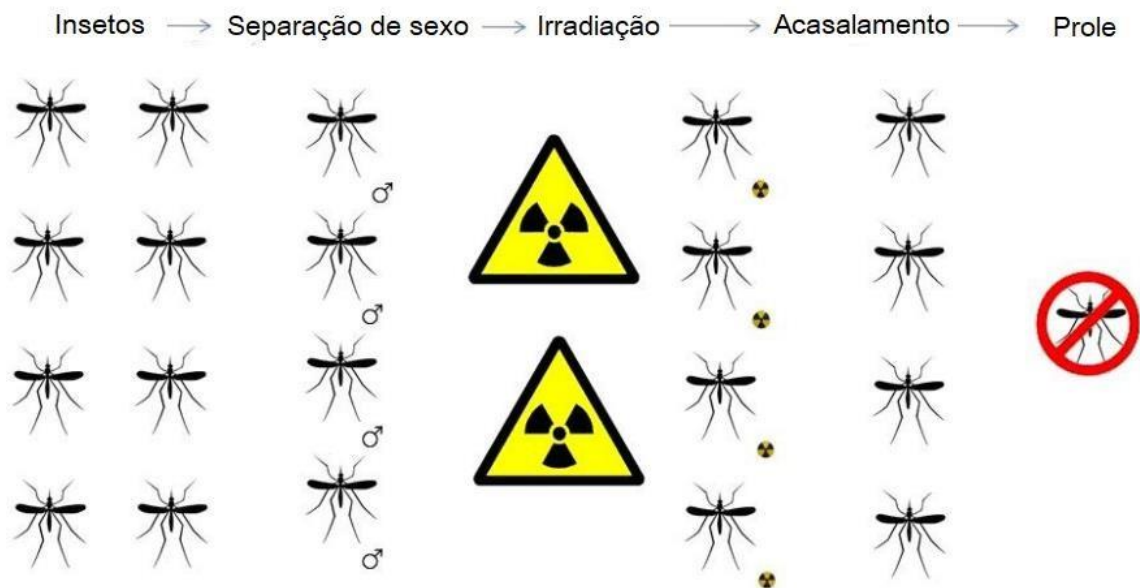


Figura 4: Técnica de Insetos Estéreis (SIT) - A técnica consiste na criação em massa de mosquitos, seguida pela separação de sexo, irradiação dos machos e liberação destes para acasalar com fêmeas selvagens, resultando numa prole nula. Fonte: WILKE et al., 2009b.

A liberação destes insetos estéreis não pode ocorrer de maneira desordenada, é necessário “que a radiação gama não reduza nem a longevidade e nem o vigor sexual dos machos e que os insetos irradiados não causem dano nem transmitam nenhum agente patogênico ao homem, aos animais ou as plantas” (BORJA et al., 2002). Além das precauções para liberação de insetos através da SIT, é preciso uma criação em massa destes vetores estéreis para que, quando liberados na natureza possam acasalar com fêmeas selvagens, reduzindo a população natural de machos não estéreis (BOURTZIS et al., 2014).

A técnica SIT teve grande sucesso com pragas veterinárias e agrícolas. Um exemplo disso é a liberação de aproximadamente 20 toneladas por semana de moscas da fruta inférteis na região do Mediterrâneo, da qual se tem comprovada redução tanto econômica, no que diz respeito ao custo com o controle destas pragas, quanto redução populacional das mesmas (WILKE et al., 2009b).

Contudo, entre as décadas de 60 e 70, apesar da técnica ter sido considerada a solução para a erradicação dos vetores, ela ainda é pouco explorada no controle de mosquitos vetores, pois sabe-se que os machos estéreis perdem capacidade de acasalamento, quando comparados com machos selvagens, sendo assim, menos competitivos (ALPHEY, 2002). Outro contratempo diz respeito a possível liberação de

indivíduos irradiados ainda férteis, o que aumentaria o número de mosquitos no ambiente (WILKE et al., 2009b).

3.2.5. LIBERAÇÃO DE INSETOS CARREGANDO UM GENE LETAL DOMINANTE (*Release of Insect carrying Dominant Lethal gene* - RIDL)

A liberação de insetos carregando um gene letal dominante (do inglês – *Release of Insect carrying Dominant Lethal gene*) RIDL, surge com a ideia de reduzir custos e aumentar a eficiência da SIT a partir da introdução de um gene dominante letal que poderia estar sob o controle de um promotor específico da fêmea, como o do gene da vitelogenina, e por consequência reduzir o tamanho populacional (WILKE et al., 2009b).

A técnica RIDL pode reduzir a expressão de um gene associado a uma musculatura na asa do inseto, impedindo o voo e conseqüentemente a cópula (BARGIELOWSKI et al., 2012), ou de um gene que induz a morte de um dos estádios de vida, impedindo o desenvolvimento completo do inseto. Na criação de linhagem de animais transgênicos com o uso da RIDL, a diminuição populacional ocorre no estágio de vida do inseto em que se tem a transmissão do patógeno, impedindo a mesma (BARGIELOWSKI et al., 2011).

Um exemplo prático e conhecido da RIDL foi o uso desta para produzir uma linhagem transgênica do *A. aegypti*, o OX513A, onde o gene inserido é proveniente do material genético de *Drosophila melanogaster*, produzindo uma proteína não tóxica ou alergênica (tTA) e um marcador fluorescente (DsRed2), com a função de identificar os indivíduos geneticamente modificados. A proteína ativadora transcricional (tTA) é colocada sob um promotor a ser escolhido. Quando expressa, a proteína tTA liga-se a uma sequência de DNA específico – tetO – dirigindo a expressão de um promotor mínimo adjacente, o que acarreta a expressão do gene efetor (ALPHEY, 2002) – **Figura 5**.

A ideia central da Oxitec, empresa responsável pela criação desta linhagem, é que os mosquitos geneticamente modificados (linhagem OX513A) expressem a proteína chamada tTA (transcricional) e que a presença desta proteína que é tóxica as larvas impeçam o desenvolvimento da mesma (EMBRAPA, 2017). A ação discriminada da tTA ainda não é bem explicada na literatura.

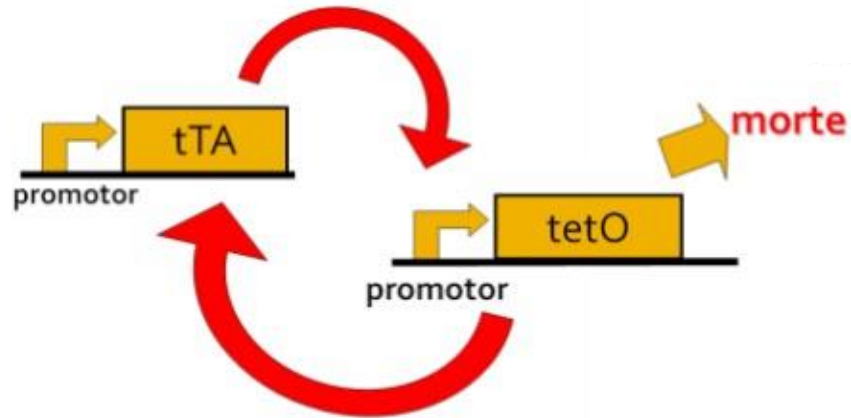


Figura 5: Representação esquemática da técnica de RIDL (*Release of Insect carrying Dominant Lethal gene*) utilizada para produção da linhagem OX513A de *Aedes aegypti*, onde a produção da proteína tTA desencadeia uma cascata de eventos que leva a morte dos indivíduos transgênicos (ALPHEY; ANDREASEN 2002).

Este método é desenvolvido de modo que os mosquitos da linhagem OX513A modificados geneticamente possam sobreviver à idade adulta somente na presença da tetraciclina, um antibiótico muito usado na medicina e na agricultura industrial, atuando como um interruptor químico no desenvolvimento destes insetos (WALLACE, 2014) -

Figura 6.

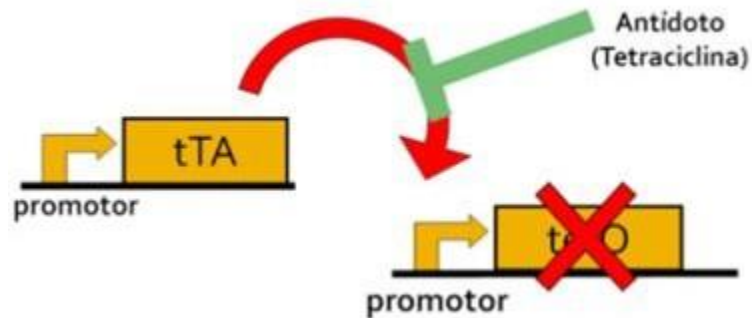


Figura 6: Ação combinada da proteína tTA com a tetraciclina permite o desenvolvimento da larva até a fase adulta do inseto (ALPHEY; ANDREASEN 2002).

Liberações de *A. aegypti* OX513A levaram a supressão de 80% da população de mosquitos nas Ilhas Cayman (HARRIS et al., 2011). Em Juazeiro, interior da Bahia, pode ser observado uma redução de 95% do vetor *A. aegypti* com lançamentos ocorrendo constantemente três vezes na semana. Desta forma, machos morreram antes de atingir a idade adulta, reduzindo a população (CARVALHO et al., 2015).

Apesar de demonstrar uma positividade nos resultados encontrados pela Oxitec, em seu livro “Mosquitos Geneticamente Modificados: Preocupações Atuais”, Wallace (2014) afirma que existem alguns pontos que geram preocupações na utilização deste método:

“A ineficácia é uma questão preocupante nas áreas onde o mosquito da dengue é endêmico, porque em alguns casos uma eliminação parcial ou temporária poderia piorar o problema da dengue; além de que em repetidas ocasiões a Oxitec referiu-se a seus mosquitos transgênicos como estéreis, mas esta esterilidade é parcial e condicional. Os mosquitos transgênicos chegam a se reproduzir, mas a maioria morre em uma etapa larvária. O número de crias que sobrevivem à idade adulta é um dos muitos fatores que afetam a eficácia e segurança deste método; sem esquecer que a Oxitec não seguiu adequadamente o procedimento para a notificação transfronteiras dos carregamentos internacionais de ovos de mosquitos geneticamente modificados; portanto as avaliações de risco não foram publicadas antes dos testes de introdução de mosquitos no meio ambiente, não se cumprindo com as normas requeridas”.

3.2.6. CONTROLE BIOLÓGICO

O Ministério da saúde (2014) define controle biológico como aquele onde se tem o uso de parasitas, patógenos ou predadores naturais para o controle de populações do vetor. Como exemplos temos o uso da espécie de peixe *Gambusia affinis* que comem larvas de mosquitos, da bactéria *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) até então estudada como sendo supressora de glândulas em crustáceos isópodes *Armadillidium vulgare* (VANDEKERCKHOVE et al., 2003) e da utilização da bactéria *Wolbachia pipientes* para a redução do tempo de vida de insetos vetores (KAGEYAMA et al., 2002; NEGRI et al., 2006; NARITA et al., 2007).

A técnica de insetos incompatíveis (*Incompatible insect technique* - IIT) proposta por Boller; Bush (1974), é um tipo de controle biológico que ocorre pela utilização de uma bactéria denominada *Wolbachia* para induzir a esterilidade em populações de campo. O primeiro e bem sucedido teste piloto foi realizado para controlar o vetor da filariose, o *Culex pipiens* e posteriormente testada contra pragas agrícolas em mosca-das-frutas do Mediterrâneo, resultando em uma significativa diminuição nos níveis de infestação (BOLLER; BUSH 1974; ZABALOU et al., 2009).

Trabalhos mais recentes (ZHANG et al., 2015) trazem associação de duas técnicas combinadas, onde inicialmente ocorre a liberação dos machos estéreis (SIT), e à medida em que ocorre a substituição populacional desses machos são liberadas as fêmeas infectadas por *Wolbachia*. Desta forma, a utilização da *Alpha proteobacterium Wolbachia* como controle biológico, torna-se uma alternativa viável e que tem ganhado espaço na ciência, pelas aplicações como controle biológico e principalmente por ser o gênero mais abundante de bactérias intracelulares (HILGENBOECKER et al., 2008).

3.3. WOLBACHIA, UM BREVE HISTÓRICO

Descrita inicialmente em tecido reprodutivo de *Culex pipiens* por Hertig & Wolbach em 1924, *Wolbachia pipientis* é uma bactéria Gram-negativa intracelular obrigatória pertencente à ordem Rickettsia. Membros desta ordem, são encontrados em artrópodes, mamíferos e nematódeos (FEEN; BLAXTER, 2006).

Segundo Hilgenboecker et al. (2008) aproximadamente 65% dos insetos possuem *Wolbachia* infectando-os. Trabalho publicado por Werren et al. (2008), mostra uma filogenia de *Wolbachia*, baseada no gene 16S com 8 supergrupos (A-H), os quais se mostram monofiléticos quando comparado com outros gêneros dentro de *Rickettsia*. É comum encontrar no supergrupo C e D *Wolbachia* presente em nematódeos, enquanto no supergrupo A e B, em insetos (**Figura 7**).

Posteriormente estudando aranhas, Ros et al. (2009), utilizando os genes *gltA*, *FtsZ*, e *groEL*, encontraram novas cepas e desta forma a filogenia ficou dividida em 11 supergrupos (A-K), encontrando assim uma árvore polifilética (**Figura 8**). O supergrupo K, surge a partir de *Wolbachia* presente exclusivamente em ácaros de aranhas. O supergrupo I está relacionado com pulgas e o J com nematódeos.

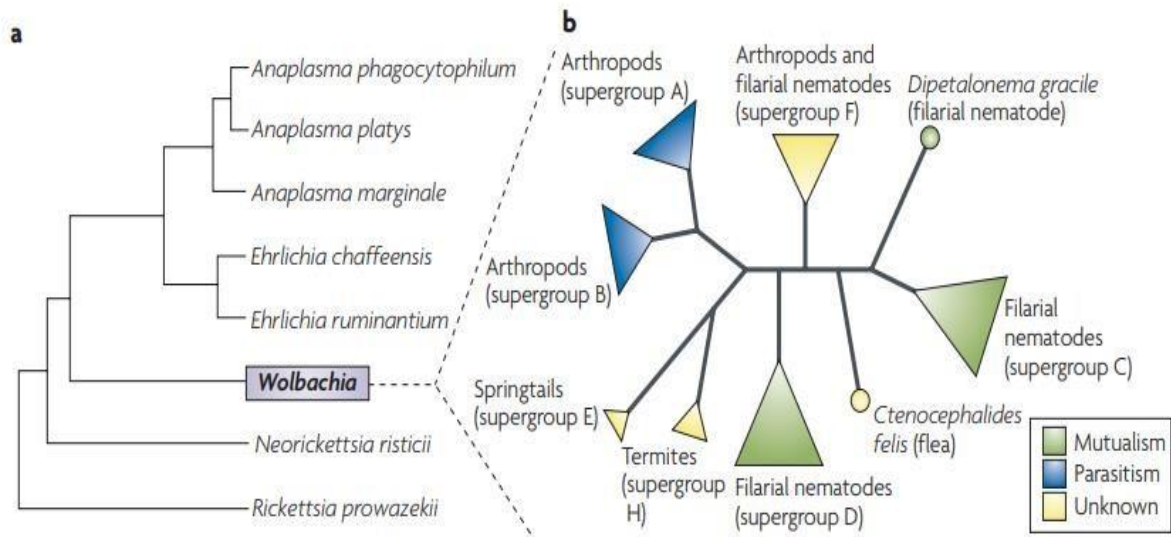


Figura 7: Filogenia de *Wolbachia*. a) Filogenia de *Wolbachia* dentro do grupo *Rickettsia*. (b) Filogenia não enraizada, demonstrando a relação de *Wolbachia* com os grupos de nematódeos e artrópodes. Em verde é demonstrado os supergrupos que tem relação mutualística, em azul os supergrupos com relação de parasitismo e em amarelo, os supergrupos que ainda apresentam uma relação desconhecida entre a bactéria e seu hospedeiro (WERREN et al., 2008).

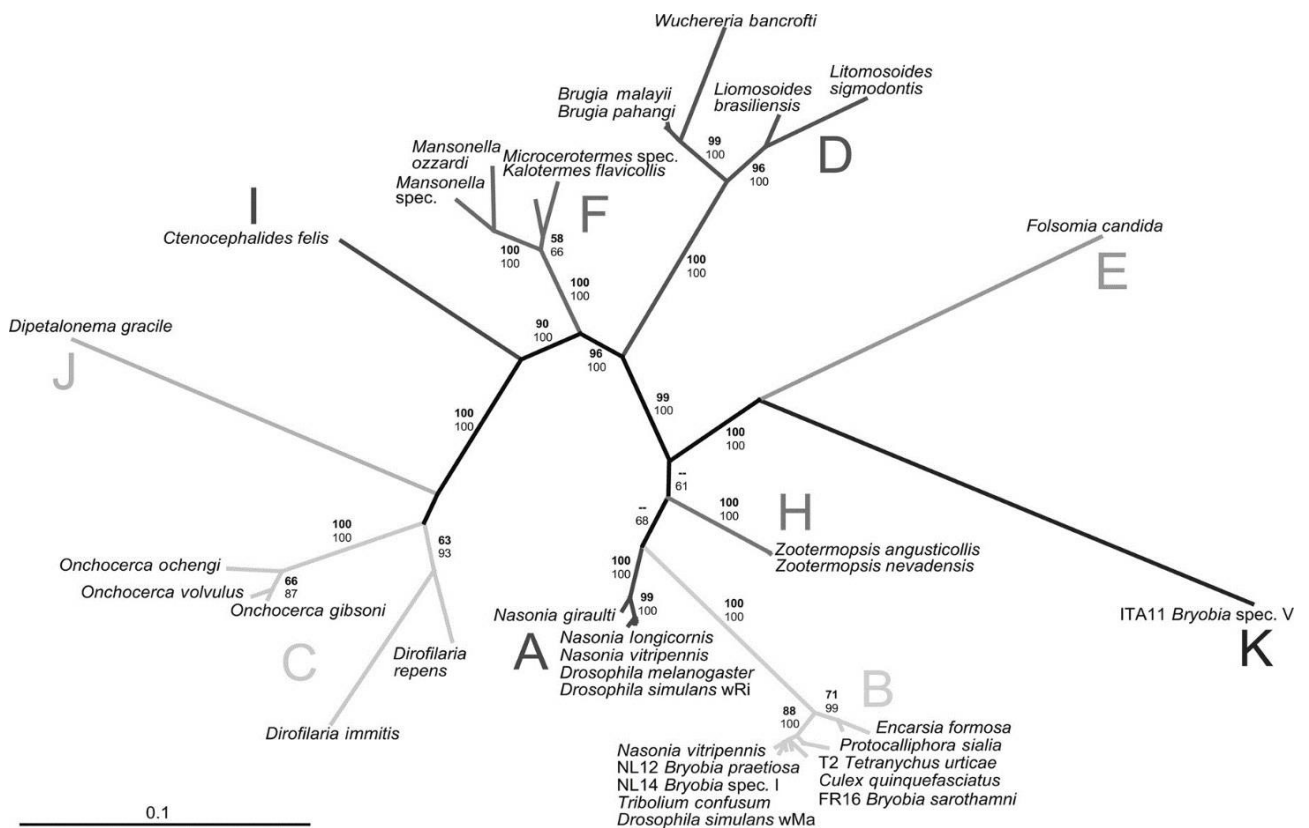


Figura 8: Árvore filogenética não enraizada de *Wolbachia* baseada em genes codificadores de proteínas (*gltA*, *ftsZ* e *groEL*). Valores de sustentação por *bootstrap* são apresentados na parte superior dos ramos e probabilidade bayesianas na parte inferior (ROS et al., 2009).

3.4. ALTERAÇÕES CAUSADAS NO HOSPEDEIRO PELA PRESENÇA DE *WOLBACHIA*

A *Wolbachia* quando presente infectando os invertebrados, pode causar uma série de alterações em seu hospedeiro (**Figura 9**), dentre elas a feminização, partenogênese, morte dos machos e incompatibilidade citoplasmática (IC).

A feminização age nas glândulas androgênicas, suprimindo-as e desta maneira transformando os machos genéticos em fêmeas. Outro processo é a partenogênese, termo este que se refere a um tipo de reprodução onde o crescimento e desenvolvimento do embrião, ocorre sem a fertilização pelo macho. Em seu trabalho, Werren et al. (1997), encontraram cepas de *Wolbachia* associadas a vespas parasitas, onde a presença da bactéria favorecia o nascimento de fêmeas, e após a eliminação dessas com uso de antibióticos, machos começaram a nascer nas proles, sugerindo que de fato a bactéria interfere na determinação do sexo (LEGNER et al., 1985; STOUTHAMER et al., 1991; ZCHORI-FREIN et al., 1992). A indução de uma prole só de fêmeas, é vista de forma positiva para a *Wolbachia*, pois confere a bactéria aptidão na sua expansão. Porém, estudos de partenogênese em outros organismos causados pelas *Wolbachia*, ainda são desconhecidos.

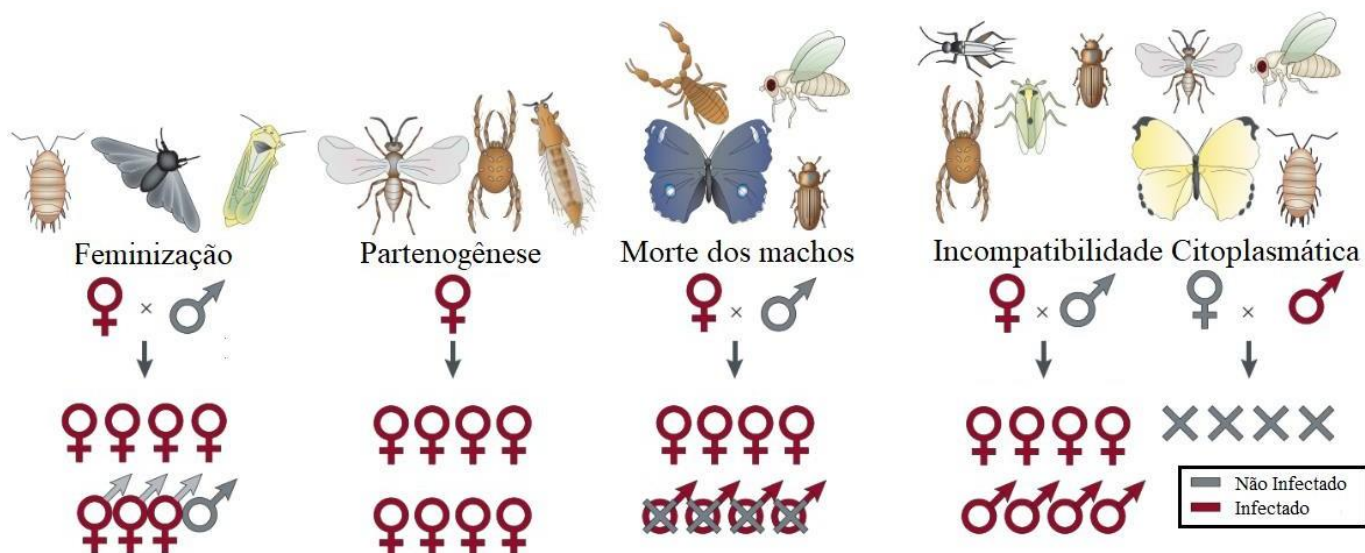


Figura 9: Alterações causadas pela presença de *Wolbachia* nos hospedeiros (WERREN et al., 2008).

Analisados os mecanismos genéticos que possam estar associados na ocorrência da partenogênese, Stouthamer et al. (1994) demonstraram que o processo de meiose ocorre naturalmente, contudo se nota a não segregação dos cromossomos, levando a uma diploidia. O que não se sabe ainda, é de que maneira a *Wolbachia* interfere na duplicação destes cromossomos.

Outra alteração é a morte dos machos, esta é evidenciada, até o presente momento, em quatro ordens de artrópodes: Coleoptera (FIALHO et al., 2000), Diptera (DYER et al., 2004), Lepidoptera (JIGGINS et al., 2001) e Pseudoscorpiones (ZEH et al., 2005). A indução da *Wolbachia* nesse caso, ocorre ainda na embriogênese, atuando diretamente sobre a determinação de sexo. Acredita-se que a interação desta bactéria com o hospedeiro deva ser capaz de matar os machos ou interferir diretamente na determinação do sexo, impedido a viabilidade desses machos em formação (CHARLAT et al., 2003). Esta característica traz vantagem às fêmeas, pois com a morte, tem-se uma maior disponibilidade de fonte de alimento para elas, tornando-as mais abundantes na população, garantindo vantagem na transmissão da bactéria, já que esta é feita maternalmente (WERREN et al., 2008).

A incompatibilidade citoplasmática (IC) é a alteração até então mais descrita em insetos, inicialmente descoberta em um estudo por Yen; Barr (1971). Este tipo de alteração ocorre com a modificação do espermatozoide no momento da espermatogênese. A presença de determinada cepa de *Wolbachia* causa alterações genéticas neste espermatozoide de forma que o mesmo se torna incompatível para fertilização do ovo (YEN; BARR, 1971). A IC pode acontecer de forma uni ou bidirecional. Sendo ela unidirecional (**Figura 10**), ocorrerá quando espermatozoides de machos infectados se encontrem com ovos de fêmeas não infectadas, tornando a prole inviável, ou quando fêmeas infectadas cruzarem com machos não infectados, gerando uma prole totalmente infectada, justificada pela transmissão materna da bactéria (WERREN et al., 2008).

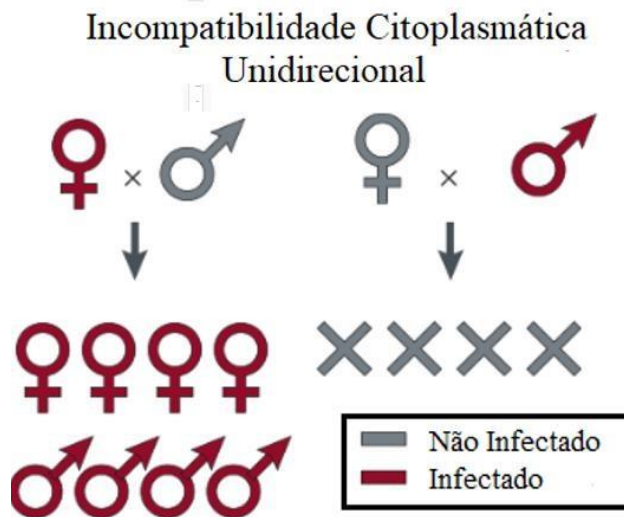


Figura 10: Esquema demonstrando a Incompatibilidade Citoplasmática Unidirecional em insetos infectados com *Wolbachia*.

Numa IC bidirecional (**Figura 11**), tanto fêmeas quanto machos estão infectados por *Wolbachia*, mas por diferentes cepas e essa diferença inviabiliza a fecundação. Acredita-se que as múltiplas infecções aumentem as chances da IC acontecer, o que é comprovado por estudos com *Aedes albopictus*, *Drosophila simulans* e *Nasonia vitripennis* os quais demonstram que machos que tem dupla infecção não conseguem ter compatibilidade com nenhuma fêmea infectada (CLANCY et al., 1996; PERROT-MINNOT et al. 1966; SINKINS et al., 1995).

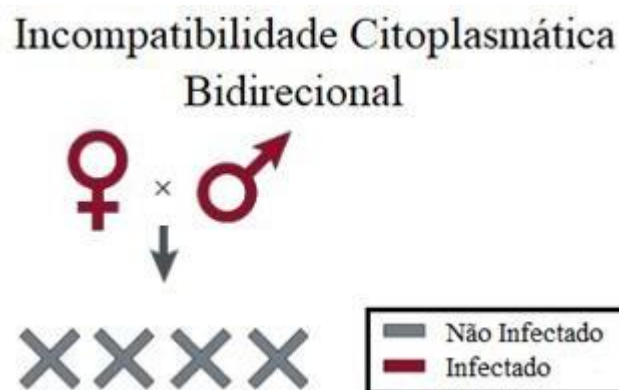


Figura 11: Esquema demonstrando a Incompatibilidade Citoplasmática Bidirecional em insetos infectados com *Wolbachia*.

Apesar de não ser o foco da revisão, é de conhecimento a presença de *Wolbachia* também em nematódeos, nos quais a bactéria é responsável por uma relação de

mutualismo que tem chamado atenção de pesquisadores na busca da utilização da mesma para auxiliar na eliminação de nematódeos (BOUCHERY et al., 2013).

3.5. TRANSMISSÃO DE *WOLBACHIA*

Apesar da herança materna ser comum entre os parasitas, eles podem utilizar da transmissão horizontal, permitindo a infecção de novas populações (NODA et al., 2001). Esta transmissão horizontal pode ocorrer devido ao hábito alimentar das larvas de alguns insetos, como é demonstrado no caso de flebotomíneos, insetos vetores da Leishmaniose Visceral (LV) no Brasil que se alimentam de resto de outros insetos (RANGEL; LAINSON 2003).

Entretanto, para que essa transmissão horizontal se estabeleça, ela precisa passar por uma seleção do sistema imune do hospedeiro (VALLET-GELY, 2008). Inicialmente, a bactéria precisa resistir ao sistema imune, competir com a microbiota, se instalar nas células germinativas para que assim, possa ser transmitida verticalmente (HUGHES; RASGON, 2014).

Faria et al. (2009) apontam em seu trabalho que este tipo de transmissão pode estar associada a um aumento da biodiversidade de insetos devido a um possível isolamento reprodutivo, levando a especiação. Ao analisar a filogenia de *Wolbachia* com a de seus hospedeiros, é possível admitir que ocorre uma coevolução entre esses grupos, pois cepas muito próximas, encontram-se em hospedeiros filogeneticamente distante, e novamente a transmissão horizontal entra como uma possível justificativa da ocorrência deste resultado.

Para considerar que a transmissão horizontal de fato ocorre é necessário avaliar a possibilidade de contatos ecológicos que promovam a transmissão dos endossimbiontes (VAVRE, 1999; VALLET-GELY, 2008), como por exemplo o tipo de alimentação das larvas e a viabilidade da bactéria de sobreviver fora do seu hospedeiro. Rasgon e colaboradores (2006) demonstram que *Wolbachia* é capaz de sobreviver até uma semana fora do seu hospedeiro ou de células germinativas.

3.6. *WOLBACHIA* COMO CONTROLE BIOLÓGICO

Em 1952, realizando cruzamentos com *Culex pipiens*, observou-se uma incompatibilidade em determinados cruzamentos, onde havia o nascimento de poucos ou nenhum indivíduo (GHELELOVITCH, 1952). Alguns anos à frente, a estratégia de utilização da *Wolbachia* como controle biológico foi primeiramente citada como medida contra vetores da filariose, onde mosquitos infectados com *Wolbachia* foram liberados em populações selvagens, demonstrando a habilidade destes insetos em eliminar a população existente (LAVEN, 1967). Somente 20 anos após as observações de Ghelelovitch é que se fez conexão entre incompatibilidade citoplasmática e a presença de *Wolbachia* (YEN; BARR, 1971).

Burt (2014) admite existir duas formas de uso da *Wolbachia* como controle de doenças, uma forma sustentável e uma forma auto-limitante. As que são auto-limitantes, ocorre com o uso de machos infectados com *Wolbachia*, denominada de técnica de insetos incompatíveis (IIT). A liberação desses machos estéreis, leva a uma supressão populacional. Seu uso iniciou-se na década de 1960, em Burma (Mianmar) e na Índia, como forma de controle de *C. quinquefasciatus*, vetor da filariose linfática (LAVEN, 1967).

Nos últimos anos, a estratégia do IIT vem produzindo resultados animadores no controle de *C. quinquefasciatus* (ATYAME et al., 2011), *C. pipiens* (CHEN et al., 2013), no continente asiático, além do controle de *A. albopictus* nos Estados Unidos (www.mosquitomate.com) e na China (www.wolbachia.cn).

As formas autossustentáveis estão relacionadas com a incompatibilidade citoplasmática que muitas cepas causam, onde os machos infectados não conseguem gerar prole com as fêmeas não infectadas. Desta forma, pode-se pensar que se houver uma liberação em massa de insetos infectados com cepas de *Wolbachia* que levem a incompatibilidade citoplasmática, esta bactéria então irá se espalhar pelas proles subsequentes, mantendo-se na população (RASGON et al., 2003; MCMENIMAN et al., 2009).

Um exemplo é o programa da Fiocruz intitulado *Eliminar a Dengue: Nosso Desafio* (www.eliminatedengue.com), que propõe a liberação de *Aedes aegypti* com a bactéria *Wolbachia* promovendo uma substituição gradual da população de mosquitos (**Figura 12**).

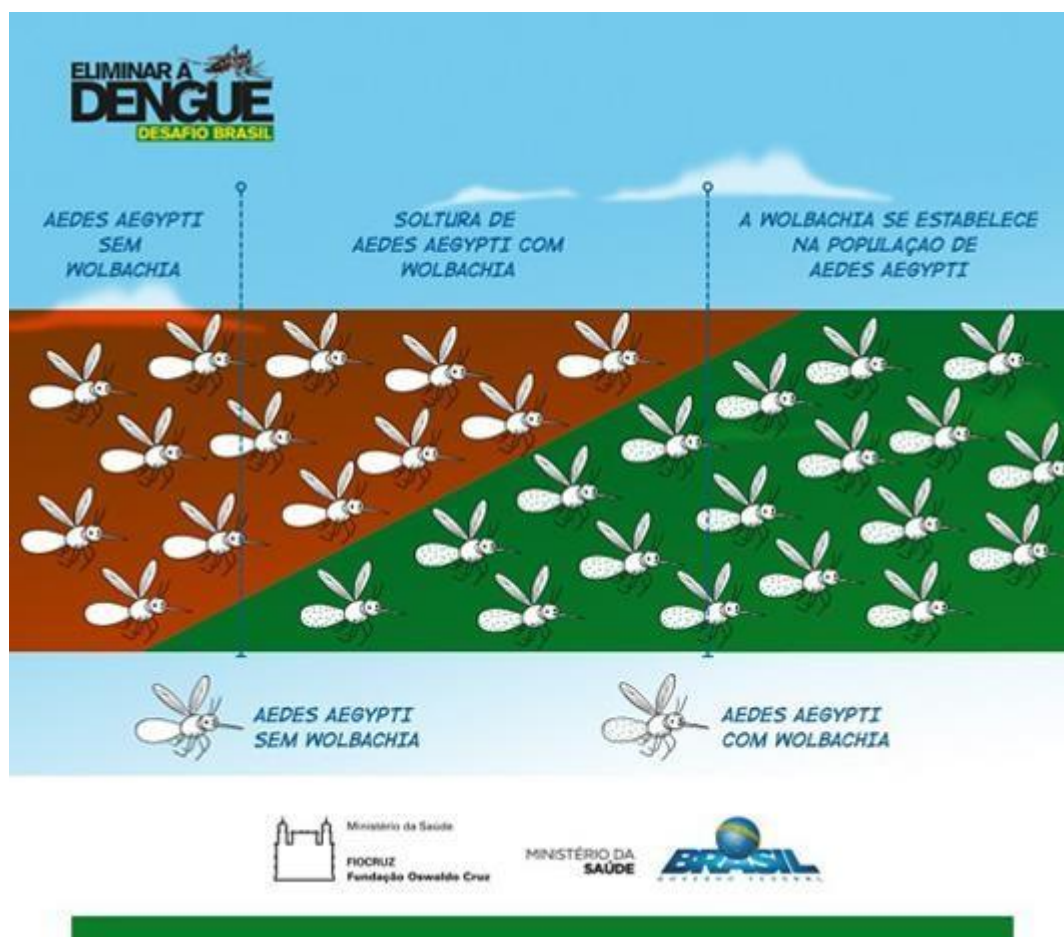


Figura 12: Imagem de divulgação do Projeto Eliminar Dengue com Coordenação da Fiocruz, demonstrando o processo de inserção de mosquitos infectados por *Wolbachia* no meio ambiente e o estabelecimento do mesmo.

Em *Drosophila* alguns estudos demonstraram que as infecções por *Wolbachia* podem proteger contra vírus de RNA (HEDGES et al., 2008 , TEIXEIRA et al., 2008), onde cepas wMel e wMelPop atrasaram a mortalidade em moscas quando foram infectadas com uma variedade de vírus patogênicos. Já em *A. aegypti* os mosquitos portadores de uma determinada cepa de *Wolbachia*, a wMelPop, tem uma redução de 50% no tempo de vida das fêmeas adultas em comparação com os mosquitos não infectados (MOREIRA et al., 2009) na Austrália.

Em mosquitos *Anopheles stephensi*, a presença das cepas wAlbB micro injetadas levou a incompatibilidade citoplasmática e também a uma resistência do vetor por *Plasmodium falciparum*, patógeno causador da malária (BIAN et al., 2013). Outras cepas de *Wolbachia* vem sendo usadas na literatura, com o objetivo de estudar a interferência do patógeno e a relação deste com a endossimbionte (**Tabela 2**).

Tabela 2: Interferência de diferentes cepas de *Wolbachia* em insetos vetores e seus respectivos patógenos (JOHNSON, 2015).

Hospedeiro	Associação	Cepa	Patógeno	Efeito IP	Referência	
<i>Culex quinquefasciatus</i>	Natural	wPip	WNV	Carga viral e transmissão reduzidas	(GLASER, 2010)	
<i>Culex pipiens</i>	Natural	wPip	WNV	Sem efeito	(MICIELI, 2014)	
<i>Culex tarsalis</i>	Transiente	wAlbB	WNV	Infecção aumentada	(DODSON, 2014)	
<i>Aedes albopictus</i>	Natural	wAlbA e wAlbB	DENV	Sem efeito	(LU, 2012)	
			CHIKV	Sem efeito	(MOUSSON, 2010)	
	Transinfecção estável	wMel	DENV	Transmissão reduzida	(BLAGROVE, 2012)	
			CHIKV	Transmissão reduzida	(BLAGROVE, 2013)	
<i>Aedes polynesiensis</i>	Transinfecção estável	wAlbB	DENV	Carga viral reduzida. Transmissão reduzida (comparação com infecção natural por wPolA)	(BIAN, 2013)	
			DENV	Infecção, carga viral e transmissão reduzidas	(MOREIRA, 2009)	
			CHIKV	Infecção e carga viral reduzidas	(MOREIRA, 2009)	
	Transinfecção estável	wMelPop	WNV	Infecção, carga viral e transmissão reduzidas	(HUSSAIN, 2013)	
			YFV	Infecção e carga viral reduzidas	(VAN DEN HURK, 2012)	
			DENV	Taxa de infecção, disseminação carga viral e transmissão reduzidas	(WALKER, 2011a)	
			CHIKV	Infecção, disseminação e carga viral reduzidas	(ALIOTA, 2016)	
	<i>Aedes aegypti</i>	Transinfecção estável	wMel	WNV	Transmissão reduzida	(HUSSAIN, 2013)
				YFV	Carga viral reduzida	(VAN DEN HURK, 2012)
				ZIKV	Infecção, disseminação e carga viral reduzidas	(ALIOTA, 2016) (DUTRA, 2016)
WNV				Infecção, disseminação carga viral e transmissão reduzidas	(JOUBERT, 2017)	
Transiente		wAlbB	DENV	Infecção, disseminação carga viral e transmissão reduzidas	(BIAN, 2010)	
<i>Anopheles gambiae</i>	Transiente	wAlbB	<i>P. berghei</i>	Infecção aumentada	(HUGHES, 2012)	
<i>Anopheles coluzzii</i>	Natural	wAnga	<i>P. falciparum</i>	Correlação negativa entre presença de <i>Wolbachia</i> e <i>Plasmodium</i>	(SHAW, 2016)	

WNV – vírus do nilo ocidental; DENV – dengue; CHIKV – chikungunya; YFV – febre amarela.

3.7. *WOLBACHIA* COMO CONTROLE BIOLÓGICO PARA LEISHMANIOSE VISCERAL

Em relação a outras enfermidades (como Dengue, Zika, Chikungunya e Malária) já se encontram trabalhos no Brasil com associação da bactéria *Wolbachia*, contudo sobre a leishmaniose, os trabalhos ainda são escassos, sendo representados por Ono et al (2001), Monteiro et al (2016) e Rocha et al (2017).

A leishmaniose visceral é uma zoonose que não acomete apenas cães e humanos, mas também outros mamíferos (SILVA; WINCK, 2018), sendo integrada ao grupo de doenças negligenciadas e destacando-se principalmente pela sua distribuição nas regiões tropicais, atingindo cerca de 88 países (**Figura 13**).

No Brasil, duas espécies de flebotomíneos, até o momento, estão relacionadas com a transmissão da doença: *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. A primeira espécie é considerada a principal transmissora da *L. (L.) chagasi* no Brasil e, *L. cruzi* foi identificada como vetor no Estado de Mato Grosso do Sul (GALLATI et al., 1997).

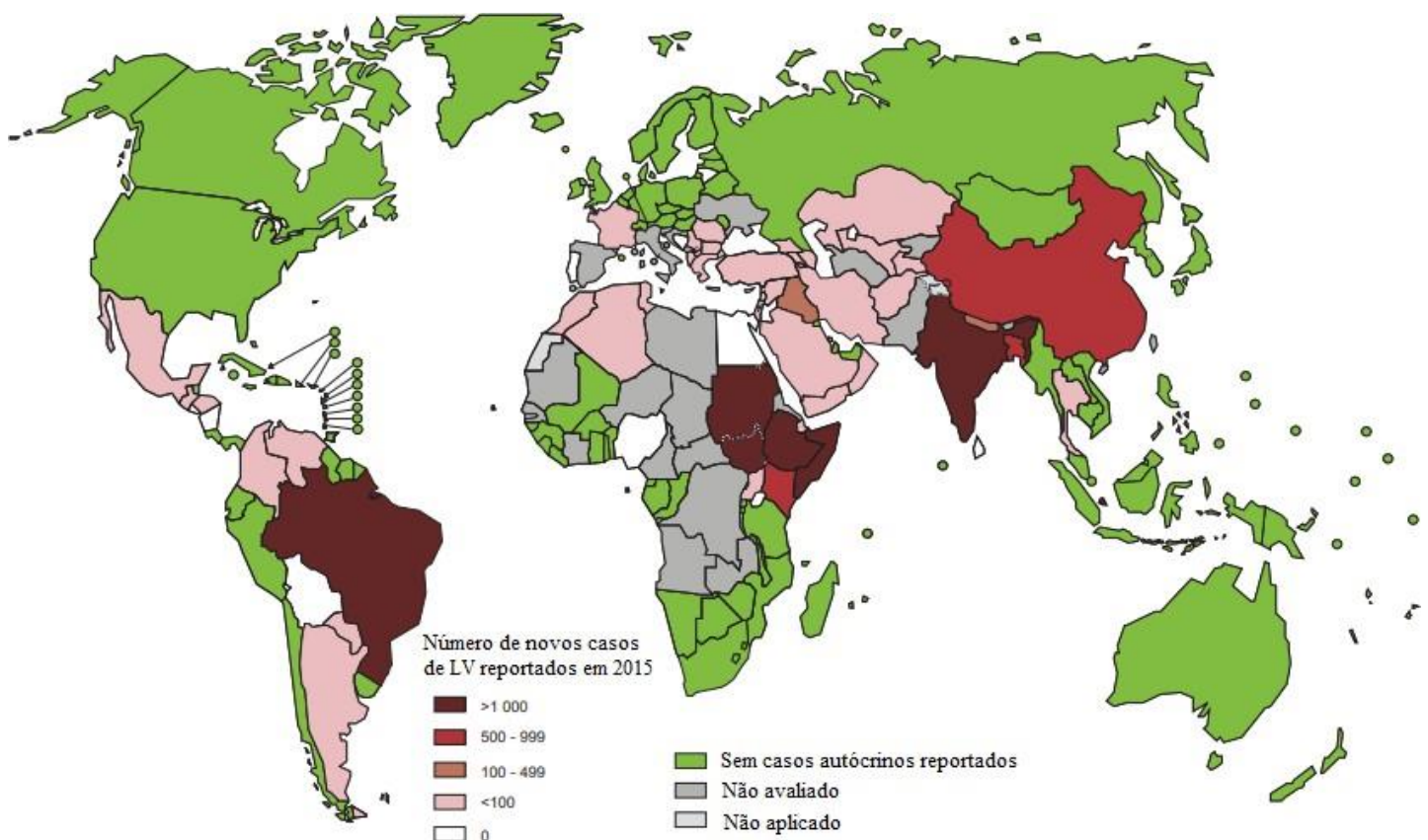


Figura 13: Mapa de distribuição global de ocorrência de casos de Leishmaniose Visceral (LV). Fonte: Organização Mundial da Saúde (2015, tradução da autora).

Entre os países americanos, o Brasil apresenta o maior índice de ocorrência da enfermidade (**Figura 14**), considerada na década de 80 como uma epidemiologia rural, presente em 17 estados brasileiros, com 93% dos casos localizados da região Nordeste do país (**Figura 15**). Segundo levantamento feito no ano de 2016 pela Secretaria de Vigilância em Saúde de São Paulo, 22 estados brasileiros encontram-se com ocorrência de Leishmaniose Visceral (LV), apresentando expansão para as Regiões centro-oeste e sul do país.

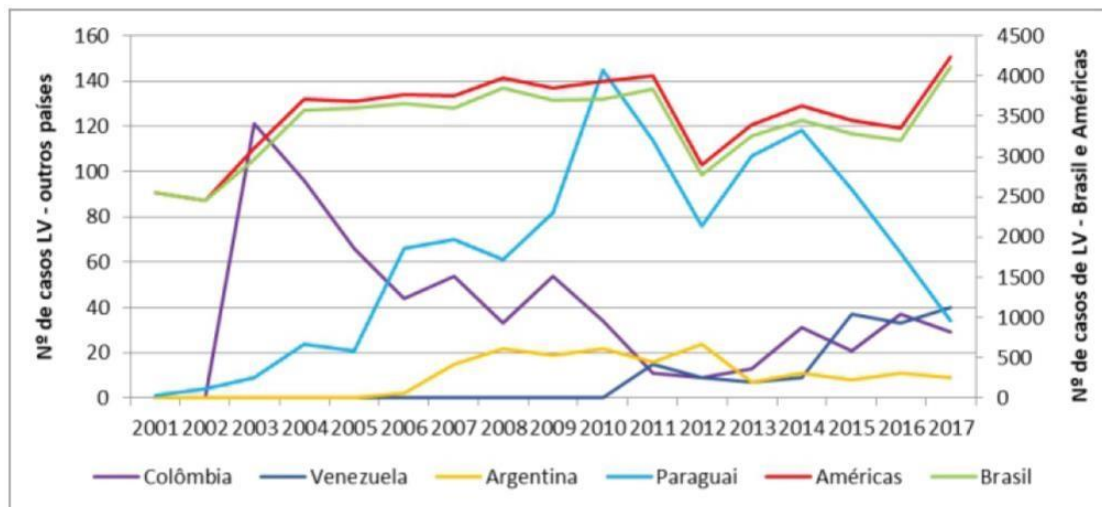


Figura 14: Casos de Leishmaniose Visceral em países das Américas entre 2001 e 2017. Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: reportados pelo Programa Nacional de Leishmanioses.

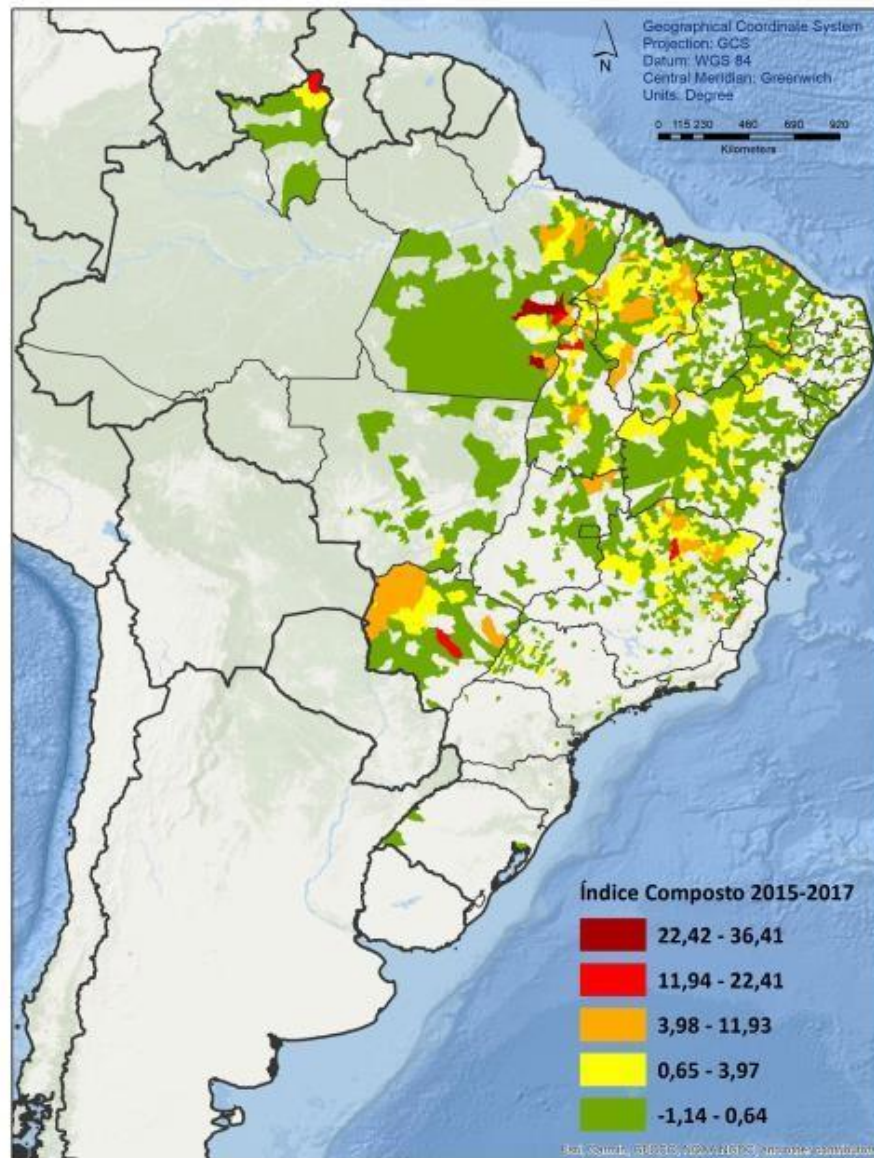


Figura 15: Estratificação dos casos de Leishmaniose Visceral no Brasil do triênio 2015-2017. Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: reportados pelo Programa Nacional de Leishmanioses.

Atualmente não há vacina para humanos, então a prevenção e o controle da leishmaniose são baseados no diagnóstico precoce, na administração eficaz de medicamentos, no controle vetorial e na educação em saúde (GAVGANI et al., 2002).

Segundo o Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013), o diagnóstico em cães é feito através de exames parasitológico ou sorológico não tendo um tratamento, sendo então recomendado a eutanásia dos animais positivos já que este é reservatório do parasito. Ainda de acordo com o Manual, a utilização de drogas induz um recuo temporário dos sinais clínicos, não prevenindo a ocorrência de

recidivas, além de ter efeito limitado na infectividade de flebotomíneos e levar ao risco de selecionar parasitos resistentes às drogas utilizadas para o tratamento humano.

Contudo, o estudo do controle da Leishmaniose tem mudado o foco – que era basicamente a eutanásia dos cães – para um controle voltado para os vetores. A aplicação de uma metodologia alternativa através da utilização da *Wolbachia*, pode contribuir de forma positiva no controle de população de insetos vetores, e assim reduzir a transmissão da leishmaniose.

Estudo feito por Rocha et al. (2017) demonstrou a presença desta bactéria em *Lutzomyia longipalpis* coletados no estado da Bahia. Este estudo nos permitiu abrir o leque acerca da possibilidade de atuação desta bactéria na capacidade vetorial de insetos flebotomíneos. Além destes, os resultados encontrados na literatura para a interferência de *Wolbachia* em outros insetos vetores, tem se mostrado positivos e eficazes na redução da transmissão de doenças como a dengue, por exemplo.

3.8. WOLBACHIA EM FLEBOTOMÍNEOS NO MUNDO

Além da infecção por *Wolbachia* em *Lu. longipalpis* descrita por Rocha et al. (2017), outras espécies de flebotomíneos infectados pelo protozoário *Leishmania* sp., responsáveis pelo repasto da Leishmaniose cutânea, mucocutânea, cutânea difusa e visceral (FONSECA, 2013) no Brasil, vem sendo estudados em diferentes localidades, demonstrando a possibilidade do uso da bactéria como controle biológico (**Tabela 3**).

Tabela 3: Distribuição de *Wolbachia* em vetores flebotomíneos em diferentes países.

Local	Espécie infectada	Autores
Arábia Saudita	<i>Phlebotomus papatasi</i>	Cui et al., 1999
Brasil	<i>Lutzomyia longipalpis</i>	Da Rocha et al., 2017
	<i>Lutzomyia intermedia</i>	Monteiro et al., 2016
	<i>Lutzomyia whitmani</i>	Ono et al., 2001
Colômbia	<i>Lutzomyia cayennensis</i>	Vivero et al., 2017
	<i>Lutzomyia evansi</i>	
	<i>Lutzomyia dubitans</i>	Ono et al., 2001
Egito	<i>Phlebotomus papatasi</i>	Cui et al., 1999
Índia	<i>Phlebotomus papatasi</i>	Ono et al., 2001
Israel	<i>Phlebotomus papatasi</i>	Cui et al., 1999
		Ono et al., 2001
Itália	<i>Phlebotomus perniciosus</i>	Benlarbi et al., 2003
		Ono et al., 2001
Irã	<i>Phlebotomus papatasi</i>	Bordbar et al., 2014
		Benlarbi et al., 2003
		Karimian et al., 2018
		Parvizi et al., 2003
	<i>Phlebotomus kandelakii</i>	Parvizi et al., 2013
	<i>Phlebotomus tobbi</i>	
	<i>Phlebotomus perfiliewi transcaucasicus</i>	
	<i>Phlebotomus major</i>	
	<i>Phlebotomus simici</i>	
	<i>Phlebotomus brevis</i>	
<i>Phlebotomus halepensis</i>	Parvizi et al., 2013	
<i>Phlebotomus longidoctus</i>		
<i>Phlebotomus balcanicus</i>		
	<i>Phlebotomus keshishiani</i>	

	<i>Phlebotomus mongolensis</i>	Bordbar et al., 2014
	<i>Phlebotomus perfiliewi</i>	
	<i>Phlebotomus caucasicus</i>	
	<i>Phlebotomus sergenti</i>	Karimian et al., 2018
Panamá	<i>Lutzomyia vespertilionis</i>	Azpurua et al, 2010
	<i>Lutzomyia trapidoi</i>	
Califórnia	<i>Lutzomyia stewarti</i>	Hughes et al., 2014
França	<i>Phlebotomus perniciosus</i>	Matsumoto et al., 2008
		Benlarbi et al., 2003
	<i>Sergentomyia minuta</i>	Matsumoto et al., 2008
México	<i>Lutzomyia cruciata</i>	Mikery-Pachecho et al., 2012

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos publicados até o presente momento, apresentam um panorama acerca do cenário das possibilidades de controle de insetos vetores, bem como de estratégias alternativas a serem aplicadas, as quais tem sua importância, principalmente pelo fato de que outros métodos já apresentam seleção de vetores resistentes.

Demonstrado esse cenário, a *Wolbachia* é uma possibilidade de controle biológico para a Leishmaniose Visceral, contudo é um assunto que ainda necessita de mais estudos para compreender de que forma a biologia do vetor e a interação do mesmo com a bactéria pode ser benéfica na redução da transmissão deste patógeno. O fato de já existirem trabalhos que demonstram a eficácia da mesma em outros vetores, anima as pesquisas no sentido de ser mais uma possibilidade, apesar de ainda não tão bem compreendida.

É importante ressaltar que a utilização da *Wolbachia* em flebotomíneos não tira o mérito ou inviabiliza que outros métodos concomitantemente ocorram no intuito de reduzir a população destes insetos. A Organização Mundial da Saúde (2008) por exemplo, traz um novo termo chamado de Manejo Integrado de Vetores (MIV) e o define como “o processo de tomada de decisões racional para o uso otimizado dos recursos para o controle de vetores”, o qual visa aumentar a eficácia dos métodos de controle para um resultado final efetivo na eliminação destes vetores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-FRANCH, Fernando et al. Mosquito-Disseminated Pyriproxyfen Yields High Breeding-Site Coverage and Boosts Juvenile Mosquito Mortality at the Neighborhood Scale. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 4, p.1-17, 7 abr. 2015. Public Library of Science (PLoS).
- ADAMS, Ben; KAPAN, Durrell D. Man Bites Mosquito: Understanding the Contribution of Human Movement to Vector-Borne Disease Dynamics. **Plos One**, [s.l.], v. 4, n. 8, p.1-10, 26 ago. 2009. Public Library of Science (PLoS).
- AGROPECUÁRIA, Empresa Brasileira de Pesquisa. **Mosquito modificado geneticamente é nova arma de combate ao Aedes**. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/30525791/mosquito-modificado-geneticamente-e-nova-arma-de-combate-ao-aedes>>. Acesso em: 17 mar. 2019.
- ALMEIDA, António Paulo Gouveia de. OS MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) E A SUA IMPORTÂNCIA MÉDICA EM PORTUGAL Desafios para o Século XXI. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa, p.961-974, out. 2010.
- ALPHEY, Luke. Re-engineering the sterile insect technique. **Insect Biochemistry And Molecular Biology**, [s.l.], v. 32, n. 10, p.1243-1247, out. 2002. Elsevier BV.
- ALPHEY, Luke; ANDREASEN, Morten. Dominant lethality and insect population control. **Molecular And Biochemical Parasitology**, [s.l.], v. 121, n. 2, p.173-178, maio 2002. Elsevier BV.
- ALVES, Sérgio Batista. 1998. Patologia e controle microbiano: Vantagens e desvantagens, p.21-37. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, **FEALQ**, 1163p.
- ARSLAN, Ali et al. Spatial distribution and insecticide susceptibility status of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in dengue affected urban areas of Rawalpindi, Pakistan. **Journal Of Vector Borne Diseases**, Paquistão, v. 53, n. , p.136-146, jun. 2016.
- ATYAME, Célestine M. et al. Cytoplasmic Incompatibility as a Means of Controlling *Culex pipiens quinquefasciatus* Mosquito in the Islands of the South-Western Indian Ocean. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 5, n. 12, p.1-10, 20 dez. 2011. Public Library of Science (PLoS).

- BARGIELOWSKI, Irka et al. Comparison of Life History Characteristics of the Genetically Modified OX513A Line and a Wild Type Strain of *Aedes aegypti*. **Plos One**, [s.l.], v. 6, n. 6, p.1-7, 17 jun. 2011. Public Library of Science (PLoS).
- BARGIELOWSKI, Irka et al. Flight Performance and Teneral Energy Reserves of Two Genetically-Modified and One Wild-Type Strain of the Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti*. **Vector-borne And Zoonotic Diseases**, [s.l.], v. 12, n. 12, p.1053-1058, dez. 2012. Mary Ann Liebert Inc.
- BELLINATO, Diogo Fernandes et al. Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* Populations. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2016, p.1-12, 2016. Hindawi Limited.
- BERNARD, H. R. Research methods in anthropology: qualitative and quantitative approaches. **Lanham, MD: AltaMira Press, 2005.**
- BESANSKY, N.j.; COLLINS, F.h.. The mosquito genome: Organization, evolution and manipulation. **Parasitology Today**, [s.l.], v. 8, n. 6, p.186-192, jun. 1992.
- BIAN, Guowu et al. Replacing a Native *Wolbachia* with a Novel Strain Results in an Increase in Endosymbiont Load and Resistance to Dengue Virus in a Mosquito Vector. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.1-7, 6 jun. 2013. Public Library of Science (PLoS).
- BIAN, Guowu et al. The Endosymbiotic Bacterium *Wolbachia* Induces Resistance to Dengue Virus in *Aedes aegypti*. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.1-10, 1 abr. 2010. Public Library of Science (PLoS).
- BOLLER, E. F.; BUSH, G. L.. EVIDENCE FOR GENETIC VARIATION IN POPULATIONS OF THE EUROPEAN CHERRY FRUIT FLY, *RHAGOLETIS CERASI* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) BASED ON PHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND HYBRIDIZATION EXPERIMENTS. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, [s.l.], v. 17, n. 2, p.279-293, jun. 1974. Wiley.
- BORJA, Gonzalo E. Moya. Erradicação ou manejo integrado das mííases neotropicais das Américas? **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 23, n. 3, p.131-138, set. 2003. FapUNIFESP (SciELO).
- BOUCHERY, T. et al. The symbiotic role of *Wolbachia* in Onchocercidae and its impact on

- filariasis. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.131-140, fev. 2013. Elsevier BV.
- BOURTZIS, Kostas et al. Harnessing mosquito–Wolbachia symbiosis for vector and disease control. *Acta Tropica*, [s.l.], v. 132, p.150-163, abr. 2014. Elsevier BV.
- BURT, Austin. Heritable strategies for controlling insect vectors of disease. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 369, n. 1645, p.20130432-20130432, 12 maio 2014. The Royal Society.
- BUSHLAND, R. C.; LINDQUIST, A. W.; KNIPLING, E. F.. Eradication of Screw-Worms through Release of Sterilized Males. **Science**, [s.l.], v. 122, n. 3163, p.287-288, 12 ago. 1955. American Association for the Advancement of Science (AAAS).
- CARVALHO, Danilo O. et al. Suppression of a Field Population of *Aedes aegypti* in Brazil by Sustained Release of Transgenic Male Mosquitoes. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 7, p.1-15, 2 jul. 2015. Public Library of Science (PLoS).
- CHARLAT, Sylvain; HURST, Gregory D.d.; MERÇOT, Hervé. Evolutionary consequences of Wolbachia infections. **Trends In Genetics**, [s.l.], v. 19, n. 4, p.217-223, abr. 2003. Elsevier BV
- CHEN, Lin; ZHU, Changliang; ZHANG, Donghui. Naturally Occurring Incompatibilities between Different *Culex pipiens pallens* Populations as the Basis of Potential Mosquito Control Measures. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-11, 31 jan. 2013. Public Library of Science (PLoS).
- CLANCY, David J.; HOFFMANN, Ary A.. Environmental effects on cytoplasmic incompatibility and bacterial load in Wolbachia-infected *Drosophila simulans*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, [s.l.], v. 86, n. 1, p.13-24, jan. 1998. Wiley.
- CLEMENTS, Alan Neville. **The biology of mosquitoes**. 2. ed. London: Cabi Publishing, 1999. 740 p.
- COSTA, Simone de Melo et al. Agente Comunitário de Saúde: elemento nuclear das ações em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 18, n. 7, p.2147-2156, jul. 2013. FapUNIFESP (SciELO).
- DUTRA, Heverton Leandro Carneiro. **Uso da cepa wMel de Wolbachia como forma alternativa de controle do vírus Zika**. 2017. 147 f. Tese (Doutorado) - Curso de

- Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2017.
- DYER, Kelly A.; JAENIKE, John. Evolutionarily Stable Infection by a Male-Killing Endosymbiont in *Drosophila innubila*. **Genetics**, [s.l.], v. 168, n. 3, p.1443-1455, nov. 2004. Genetics Society of America.
- EPSTEIN, Paul R. Climate change and emerging infectious diseases. **Microbes And Infection**, [s.l.], v. 3, n. 9, p.747-754, jul. 2001. Elsevier BV.
- ESTATÍSTICA, Instituto Brasileiro de Geografia e. **Aglomerados subnormais: Informações Territoriais.** Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/aglomerados_subnormais_informacoes_territoriais/default_informacoes_territoriais.shtm>. Acesso em: 27 maio 2019.
- FARIA, Vitor Gouveia. **Mecanismos de transmissão vertical e horizontal do endossimbionte Wolbachia.** 2009. 47 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Biologia Evolutiva e do Desenvolvimento, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.
- FENN, Katelyn; BLAXTER, Mark. Wolbachia genomes: revealing the biology of parasitism and mutualism. **Trends In Parasitology**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.60-65, fev. 2006. Elsevier BV.
- FERRI, Emanuele et al. New Insights into the Evolution of Wolbachia Infections in Filarial Nematodes Inferred from a Large Range of Screened Species. **Plos One**, [s.l.], v. 6, n. 6, p.1-17, 22 jun. 2011. Public Library of Science (PLoS).
- FIALHO, Roberto F.; STEVENS, Lori. Male-killing Wolbachia in a flour beetle. **Proceedings Of The Royal Society Of London. Series B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 267, n. 1451, p.1469-1473, 22 jul. 2000. The Royal Society.
- FINKLER, Christine Lamenha Luna, 2012, Pernambuco. **Controle de insetos:** uma revisão. Recife: Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 2012. 21 p.
- FONSECA, Aliani Moura. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral utilizando proteínas de Leishmania infantum com função desconhecida.** 2013. 75 f. Dissertação

- (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- FOSTER, Woodbridge A.; WALKER, Edward D. MOSQUITOES (Culicidae). **Medical And Veterinary Entomology**, [s.l.], p.203-262, 2002. Elsevier.
- GALLATI, Eunice A. B. et al. Estudo de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, [s.l.], v. 31, n. 4, p.378-390, ago. 1997. FapUNIFESP (SciELO).
- GANTZ, Valentino M. et al. Highly efficient Cas9-mediated gene drive for population modification of the malaria vector mosquito *Anopheles stephensi*. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 112, n. 49, p.6736-6743, 23 nov. 2015. Proceedings of the National Academy of Sciences.
- GAVGANI, A S Mazloumi et al. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched cluster randomised trial. **The Lancet**, [s.l.], v. 360, n. 9330, p.374-379, ago. 2002. Elsevier BV.
- GENTILE, Carla et al. Circadian Expression of Clock Genes in Two Mosquito Disease Vectors: *Cry2* Is Different. **Journal Of Biological Rhythms**, [s.l.], v. 24, n. 6, p.444-451, 19 nov. 2009. SAGE Publications.
- GHELELOVITCH, S. 1952. Sur le déterminisme génétique de la stérilité dans le croisement entre différentes souches de *Culex autogenicus* Roubaud. **C. R. Acad. Sci. Paris**. 234: 2386-2388.
- GIL, Antônio Carlos. **Como delinear uma pesquisa bibliográfica**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.
- GUBLER, Duane. Resurgent Vector-Borne Diseases as a Global Health Problem. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.442-450, set. 1998. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).
- HALL, A. B. et al. A male-determining factor in the mosquito *Aedes aegypti*. **Science**, [s.l.], v. 348, n. 6240, p.1268-1270, 21 maio 2015. American Association for the Advancement of Science (AAAS).

- HAMMOND, Andrew et al. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. **Nature Biotechnology**, [s.l.], v. 34, n. 1, p.78-83, jan. 2016. Springer Nature.
- HARRIS, Angela F et al. Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes. **Nature Biotechnology**, [s.l.], v. 30, n. 9, p.828-830, set. 2012. Springer Nature.
- HARRIS, Caroline et al. Sterilising effects of pyriproxyfen on *Anopheles arabiensis* and its potential use in malaria control. **Parasites & Vectors**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.144-152, 2013. Springer Nature.
- HEDGES, L. M. et al. Wolbachia and Virus Protection in Insects. **Science**, [s.l.], v. 322, n. 5902, p.702-702, 31 out. 2008. American Association for the Advancement of Science (AAAS).
- HERTIG M, Wolbach SB. 1924. Studies on rickettsia-like microorganisms in insects. **The Journal of Medical Research**. 44:329–74.
- HILGENBOECKER, Kirsten et al. How many species are infected with Wolbachia? A statistical analysis of current data. **Fems Microbiology Letters**, [s.l.], v. 281, n. 2, p.215-220, abr. 2008. Oxford University Press (OUP).
- HOFFMANN, A. A. et al. Successful establishment of Wolbachia in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. **Nature**, [s.l.], v. 476, n. 7361, p.454-457, ago. 2011. Springer Science and Business Media LLC.
- HUGHES, G. L.; RASGON, J. L.. Transinfection: a method to investigate Wolbachia-host interactions and control arthropod-borne disease. **Insect Molecular Biology**, [s.l.], v. 23, n. 2, p.141-151, 11 dez. 2013. Wiley.
- HUIGENS, M. E. et al. Infectious parthenogenesis. **Nature**, [s.l.], v. 405, n. 6783, p.178-179, maio 2000. Springer Nature.
- JIGGINS, Francis M et al. Two male-killing Wolbachia strains coexist within a population of the butterfly *Acraea encedon*. **Heredity**, [s.l.], v. 86, n. 2, p.161-166, fev. 2001. Springer Nature.

- JINEK, M. et al. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. **Science**, [s.l.], v. 337, n. 6096, p.816-821, 28 jun. 2012. American Association for the Advancement of Science (AAAS).
- JOHNSON, Karyn. The Impact of Wolbachia on Virus Infection in Mosquitoes. **Viruses**, [s.l.], v. 7, n. 11, p.5705-5717, 4 nov. 2015. MDPI AG.
- KAGEYAMA, D et al. Feminizing Wolbachia in an insect, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Heredity**, [s.l.], v. 88, n. 6, p.444-449, 27 maio 2002. Springer Nature.
- KNIPLING, E. F.. Possibilities of Insect Control or Eradication Through the Use of Sexually Sterile Males¹. **Journal Of Economic Entomology**, [s.l.], v. 48, n. 4, p.459-462, 1 ago. 1955. Oxford University Press (OUP).
- LAFFERT, Kevin. The ecology of climate change and infectious di. **Ecology**, [s.l.], v. 90, n. 4, p.888-900, abr. 2009.
- LAVEN, H.. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through Cytoplasmic Incompatibility. **Nature**, [s.l.], v. 216, n. 5113, p.383-384, out. 1967. Springer Nature.
- LEGNER, E.f.. Effects of scheduled high temperature on male production in thelytokous *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). **The Canadian Entomologist**, [s.l.], v. 117, n. 3, p.383-389, mar. 1985. Cambridge University Press (CUP).
- LUCIENTES, Javier et al. Flebotomos, de la biología al control. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Espanha, v. 6, n. 8, p.1-9, ago. 2005.
- MCMENIMAN, C. J. et al. Stable Introduction of a Life-Shortening Wolbachia Infection into the Mosquito *Aedes aegypti*. **Science**, [s.l.], v. 323, n. 5910, p.141-144, 2 jan. 2009. American Association for the Advancement of Science (AAAS).
- MONTEIRO, Carolina Cunha et al. Bacterial diversity of the American sand fly *Lutzomyia intermedia* using high-throughput metagenomic sequencing. **Parasites & Vectors**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-6, 31 ago. 2016. Springer Nature.
- MOREIRA, L. A. et al. Robust gut-specific gene expression in transgenic *Aedes aegypti* mosquitoes. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 97, n. 20, p.10895-10898, 26 set. 2000. Proceedings of the National Academy of Sciences.

- MOREIRA, Luciano A. et al. A Wolbachia Symbiont in *Aedes aegypti* Limits Infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, [s.l.], v. 139, n. 7, p.1268-1278, dez. 2009. Elsevier BV.
- MULAMBA, Charles et al. Widespread Pyrethroid and DDT Resistance in the Major Malaria Vector *Anopheles funestus* in East Africa Is Driven by Metabolic Resistance Mechanisms. **Plos One**, [s.l.], v. 9, n. 10, p.1-10, 15 out. 2014. Public Library of Science (PLoS).
- NARITA, S. et al. Unexpected Mechanism of Symbiont-Induced Reversal of Insect Sex: Feminizing Wolbachia Continuously Acts on the Butterfly *Eurema hecabe* during Larval Development. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 73, n. 13, p.4332-4341, 11 maio 2007. American Society for Microbiology.
- NEGRI, I et al. Feminizing Wolbachia in *Zyginidia pullula* (Insecta, Hemiptera), a leafhopper with an XX/X0 sex-determination system. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 273, n. 1599, p.2409-2416, 22 set. 2006. The Royal Society.
- NODA, H. et al. Wolbachia infection shared among planthoppers (Homoptera: Delphacidae) and their endoparasite (Strepsiptera). **Molecular Ecology**, [s.l.], v. 10, n. 8, p.2101-2106, ago. 2001. Wiley.
- ONO, Midori et al. Wolbachia Infections of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae). **Journal Of Medical Entomology**, [s.l.], v. 38, n. 2, p.237-241, 1 mar. 2001. Oxford University Press (OUP).
- ORGANIZATION, World Health. **Vector-borne diseases**. 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>>. Acesso em: 17 jan. 2019.
- PAN, Xiaoling et al. The bacterium Wolbachia exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. **The ISME Journal**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.277-288, 3 nov. 2017. Springer Science and Business Media LLC.
- PERROT-MINNO, Marie-jeanne; GUO, Li Rong; WERREN, John H.. Single and Double Infections with Wolbachia in the Parasitic Wasp *Nasonia vitripennis* Effects on

- Compatibility. **Genetics Society Of America**, New York, v. 143, n. , p.961-972, jun. 1996.
- PFARR, Kenneth; HOERAUF, Achim. The Annotated Genome of Wolbachia from the Filarial Nematode *Brugia malayi*: What It Means for Progress in Antifilarial Medicine. **Plos Medicine**, [s.l.], v. 2, n. 4, p.0289-0292, 26 abr. 2005. Public Library of Science (PLoS).
- RANGEL, Elizabeth; LAINSON, Ralph. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. 367 p.
- RASGON, J. L.; GAMSTON, C. E.; REN, X.. Survival of Wolbachia pipientis in Cell-Free Medium. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 72, n. 11, p.6934-6937, 1 set. 2006. American Society for Microbiology.
- RASGON, Jason L.; STYER, Linda M.; SCOTT, Thomas W.. Wolbachia-Induced Mortality as a Mechanism to Modulate Pathogen Transmission by Vector Arthropods. **Journal Of Medical Entomology**, [s.l.], v. 40, n. 2, p.125-132, 1 mar. 2003. Oxford University Press (OUP).
- REGIS, Lêda; SILVA, Sinara B da; MELO-SANTOS, Maria Alice V. The use of bacterial larvicides in mosquito and black fly control programmes in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 95, n. 1, p.207-210, 2000. FapUNIFESP (SciELO).
- ROCHA, N. O. da et al. Molecular detection of Wolbachia pipientis in natural populations of sandfly vectors of *Leishmania infantum* in endemic areas: first detection in *Lutzomyia longipalpis*. **Medical And Veterinary Entomology**, [s.l.], v. 32, n. 1, p.111-114, 11 ago. 2017.
- RODÓ, Xavier et al. Climate change and infectious diseases: Can we meet the needs for better prediction? **Climatic Change**, [s.l.], v. 118, n. 3-4, p.625-640, 17 abr. 2013. Springer Science and Business Media LLC.
- ROS, V. I. D. et al. How Diverse Is the Genus Wolbachia? Multiple-Gene Sequencing Reveals a Putatively New Wolbachia Supergroup Recovered from Spider Mites (Acari: Tetranychidae). **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 75, n. 4, p.1036-1043, 19 dez. 2008. American Society for Microbiology.

- SAÚDE, Ministério da. **Leishmaniose visceral 2017**. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/leishvisceral-17-novo-layout.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2019.
- SAÚDE, Ministério da. **Manejo integrado de vetores (MIV)**. 2014. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/control-de-vetores-inseticidas-e-larvicidas/manejo-integrado-de-vetores>>. Acesso em: 07, abr. 2019.
- SAÚDE, Ministério da. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 2014. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2019.
- SAÚDE, Ministério da. **Ministério da Saúde alerta para aumento de 149% dos casos de dengue no país**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45257-ministerio-da-saude-alerta-para-aumento-de-149-dos-casos-de-dengue-no-pais>>. Acesso em: 18 mar. 2019.
- SAÚDE, Organização Pan-americana da. Leishmanioses - Informe Epidemiológico das Américas. 2019. Disponível em: <<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50505/2019-cde-leish-informe-epi-das-americas.pdf?sequence=2&isAllowed=y>>. Acesso em: 09 abr. 2019.
- SAUNDERS, D.S. 2002. Insect Clocks. 3rd edition Elsevier Science. Amsterdam.
- SAZAMA, Eric J. et al. Incidence of Wolbachia in aquatic insects. **Ecology And Evolution**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.1165-1169, 24 jan. 2017. Wiley.
- SHEARMAN, D.c.a.. The evolution of sex determination systems in dipteran insects other than Drosophila. **Genetica**, [s.l.], v. 116, n. 1, p.25-43, 2002. Springer Nature.
- SHERLOCK, Ítalo Rodrigues de Araújo; PESSÔA, Samuel B. Métodos práticos para a captura de flebótomos. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 24, n. 3, p. 331-340, 1964.
- SILVA, Cláudia Marina Hachmann de Sousa; WINCK, Cesar Augustus. LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.1-12, 2018. Universidade Vale do Rio Verde (UninCor).
- SINKINS, S.p.; BRAIG, H.r.; ONEILL, S.I.. Wolbachia pipientis: Bacterial Density and Unidirectional Cytoplasmic Incompatibility between Infected Populations of Aedes

- albopictus. **Experimental Parasitology**, [s.l.], v. 81, n. 3, p.284-291, nov. 1995. Elsevier BV.
- STOUTHAMER, Richard; KAZMER, David J. Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. **Heredity**, Califórnia, v. 73, n. , p.317-327, fev. 1994.
- STOUTHAMER, Richard; LUCK, Robert F.. Transition from Bisexual to Unisexual Cultures in *Encarsia perniciosi* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Annals Of The Entomological Society Of America**, [s.l.], v. 84, n. 2, p.150-157, 1 mar. 1991. Oxford University Press (OUP).
- SUESDEK, Lincoln. Microevolution of medically important mosquitoes – A review. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 191, p.162-171, mar. 2019. Elsevier BV.
- TAUIL, Pedro Luiz. Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 39, n. 3, p.275-277, jun. 2006
- TEIXEIRA, Luís; FERREIRA, Álvaro; ASHBURNER, Michael. The Bacterial Symbiont *Wolbachia* Induces Resistance to RNA Viral Infections in *Drosophila melanogaster*. **Plos Biology**, [s.l.], v. 6, n. 12, p.2753-2763, 23 dez. 2008. Public Library of Science (PLoS).
- TOL, Richard S.j.; DOWLATABADI, Hadi. Vector-Borne Diseases, Development & Climate Change. **Integrated Assessment**, [s.l.], v. 2, n. 4, p.173-181, 2001. Springer Nature.
- VALLET-GELY, Isabelle; LEMAITRE, Bruno; BOCCARD, Frédéric. Bacterial strategies to overcome insect defences. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.302-313, 10 mar. 2008. Springer Science and Business Media LLC.
- VANDEKERCKHOVE, Tom T. M. et al. Evolutionary trends in feminization and intersexuality in woodlice (Crustacea, Isopoda) infected with *Wolbachia pipientis* (α -Proteobacteria). **The Belgian Journal Of Zoology**, Bélgica, v. 1, n. 133, p.61-69, jan. 2003.
- VAVRE, F. et al. Phylogenetic evidence for horizontal transmission of *Wolbachia* in host-parasitoid associations. **Molecular Biology And Evolution**, [s.l.], v. 16, n. 12, p.1711-1723, 1 dez. 1999. Oxford University Press (OUP).

- VINUTO, Juliana. A amostragem em bola de neve na pesquisa qualitativa: um debate em aberto. **Temáticas**, Campinas, v. 44, n. 22, p.203-220, dez. 2014.
- WALLACE, Helen. Mosquitos Geneticamente Modificados: Preocupações Atuais. Rio de Janeiro: **Penang**, 2014. 98 p.
- WERMELINGER, Eduardo Dias; FERREIRA, Aldo Pacheco. Métodos de controle de insetos vetores: um estudo das classificações. **Revista Pan-amazônica de Saúde**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.49-54, set. 2013. Instituto Evandro Chagas.
- WERREN, John H. BIOLOGY OF WOLBACHIA. **Annual Review Of Entomology**, New York, v. 42, p.587-509, 1997.
- WERREN, John H.; BALDO, Laura; CLARK, Michael E. Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 6, n. 10, p.741-751, out. 2008. Springer Science and Business Media LLC.
- WILKE, André Barreto Bruno et al. Controle de vetores utilizando mosquitos geneticamente modificados. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 43, n. 5, p.869-874, out. 2009a. FapUNIFESP (SciELO).
- WILKE, André Barreto Bruno et al. Mini-review: Genetic enhancements to the sterile insect technique to control mosquito populations. **Asia-pacific Journal Of Molecular Biology And Biotechnology**, São Paulo, v. 3, n. 17, p.65-74, jun. 2009b.
- WRIGHT, Addison v.; NUÑEZ, James k.; DOUDNA, Jennifer a.. Biology and Applications of CRISPR Systems: Harnessing Nature's Toolbox for Genome Engineering. **Cell**, [s.l.], v. 164, n. 1-2, p.29-44, jan. 2016. Elsevier BV.
- WU, Xiaoxu et al. Impact of global change on transmission of human infectious diseases. **Science China Earth Sciences**, [s.l.], v. 57, n. 2, p.189-203, 23 jun. 2013. Springer Science and Business Media LLC.
- YAPABANDARA, A.m.g.m et al. Control of malaria vectors with the insect growth regulator pyriproxyfen in a gem-mining area in Sri Lanka. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 80, n. 3, p.265-276, dez. 2001. Elsevier BV.
- YEN, Janice Harumi; BARR, A. Ralph. New Hypothesis of the Cause of Cytoplasmic Incompatibility in *Culex pipiens* L. **Nature**, [s.l.], v. 232, n. 5313, p.657-658, ago. 1971. Springer Nature.

- ZABALOU, Sofia et al. Multiple Rescue Factors Within a Wolbachia Strain. **Genetics**, [s.l.], v. 178, n. 4, p.2145-2160, abr. 2008. Genetics Society of America. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.107.086488>.
- ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [s.l.], v. 25, n. 2, p.1-2, jun. 2016. Instituto Evandro Chagas.
- ZCHORI-FEIN, E.; ROUSH, R. T.; HUNTER, M. S.. Male production induced by antibiotic treatment in *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), an asexual species. **Experientia**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.102-105, jan. 1992. Springer Science and Business Media LLC.
- ZEH, D W; A ZEH, J; BONILLA, M M. Wolbachia, sex ratio bias and apparent male killing in the harlequin beetle riding pseudoscorpion. **Heredity**, [s.l.], v. 95, n. 1, p.41-49, 1 jun. 2005. Springer Nature.
- ZHANG, Dongjing et al. Combining the Sterile Insect Technique with the Incompatible Insect Technique: Impact of Wolbachia Infection on the Fitness of Triple- and Double-Infected Strains of *Aedes albopictus*. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 4, p.1-13, 7 abr. 2015. Public Library of Science (PLoS).
- ZUG, Roman; HAMMERSTEIN, Peter. Still a Host of Hosts for Wolbachia: Analysis of Recent Data Suggests That 40% of Terrestrial Arthropod Species Are Infected. **Plos One**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.1-3, 7 jun. 2012. Public Library of Science (PLoS).