

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 25/02/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
'JÚLIO DE MESQUITA FILHO'
Campus de Botucatu



Dinâmica da diversidade bacteriana intestinal do mosquito *Aedes aegypti* responsiva ao vírus da dengue

VANESSA RAFAELA DE CARVALHO

BOTUCATU - SP
2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

‘JÚLIO DE MESQUITA FILHO’

Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Dinâmica da diversidade bacteriana intestinal do mosquito *Aedes aegypti* responsiva ao vírus da dengue

ALUNA: VANESSA RAFAELA DE CARVALHO

ORIENTADOR: JAYME AUGUSTO SOUZA NETO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, no Programa
de Pós-Graduação em Ciências Biológicas
(Genética).

BOTUCATU – SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Carvalho, Vanessa Rafaela de.

Dinâmica da diversidade bacteriana intestinal do mosquito
Aedes aegypti responsiva ao vírus da dengue / Vanessa Rafaela
de Carvalho. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio
de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Jayme Augusto Souza Neto
Capes: 20204000

1. Dengue. 2. Aedes. 3. Metagenômica. 4. Intestinos -
Bactérias.

Palavras-chave: Competência vetorial; Gene 16S rRNA;
Metagenômica; MiSeq Illumina.

“Não coloque limites nos seus sonhos, coloque fé.”
(Autor desconhecido)

Dedicatória

Dedico este trabalho às pessoas que mais me ajudaram nessa jornada
e que me incentivaram para a materialização desse objetivo.

Meus pais e meu irmão. Muito obrigada por tudo!

Eu amo muito vocês!

Agradecimentos

Primeiramente eu agradeço à **Deus** por sempre estar ao meu lado em toda minha jornada, pelas oportunidades concedidas, por me guiar e me dar forças para concluir mais esta etapa em minha vida.

Agradeço do fundo do meu coração meus pais **Benedita e Antônio** e ao meu irmão **Vando**. Obrigada estarem sempre presentes em minha vida, por conduzirem minha formação, priorizando e apoiando meus estudos. Obrigada pela paciência que tiveram em todos os momentos difíceis e pelo amor incondicional. Sei que vocês batalharam muito e se esforçaram ao máximo pensando no meu bem. Tenho muito orgulho de vocês e toda a minha dedicação, persistência no trabalho e na vida é para um dia poder retribuir tudo o que vocês fizeram por mim. Eu amo vocês mais que tudo!

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Jayme Augusto de Souza-Neto**, pessoa a qual admiro imensamente e tenho como exemplo de competência e profissionalismo. Obrigada por todos os ensinamentos, apoio, incentivo, confiança e paciência. Sou muito grata por ter aberto as portas do laboratório e por me ajudar em cada passo para meu desenvolvimento profissional e principalmente, por ter acreditado em mim, muitas vezes mais do que eu mesma acreditava. “Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.” (Cora Coralina)

Agradeço a todos os amigos, novos e antigos **do Laboratório de Genômica Funcional e Microbiologia de Vetores (Vectomics)**, Bruno, Bruna, Carolzinha, Clara, Felipe, Jaque, Jack, Kamilinha, Lê Oda, Leo, Lídia, Mari, Marcelo, Milena, Nath, Pati, Pedro, Raquel, Vitor, Vitoria A., e Vitória D. e Whis pela convivência, aprendizados e por fazerem eu me sentir tão bem no laboratório. E em especial, à Amandinha e Bianca que se tornaram minhas grandes amigas e companheiras. As quais estiveram presentes em todos os meus melhores e piores dias durante esse percurso. Agradeço pelas risadas, pelo trabalho e por me ajudarem a crescer profissionalmente e pessoalmente. Vocês são os presentes que ganhei durante o Doutorado.

Agradeço a todos meus colegas do **Departamento de Proteção Vegetal**, especialmente aos professores Carlos Frederico Wilcken, Silvia Renata Wilcken, Renate Krause, Regiane Bueno, Nivaldo e Marcelo Soman. Obrigado por toda compreensão e pelo convívio diário.

Agradeço ao professor **Josias Rodrigues**, meu orientador de Mestrado com quem aprendi muito sobre respeito e honestidade na pesquisa científica e no ambiente de trabalho. Obrigada por permitir minha experiência em seu laboratório, por ter acreditado em mim e por me incentivar a buscar cada vez mais conhecimento.

Agradeço ao meu grande amigo e professor **Valber Pedrosa** pelo incentivo, ensinamentos e por sempre estar disposto a ajudar. Também agradeço ao professor **João Pessoa Araújo Junior**, meu orientador de IC, o qual aprendi muito e me inspirou por sua competência.

Agradeço aos **colegas, funcionários e técnicos** do Instituto de Biotecnologia (IBTEC), em especial **Bárbara C.** e Laboratório Central (LACEM) pela assistência prestada.

Agradeço às minhas grandes amigas **Maria, Luciane e Jordan** por terem participado intensivamente desses meus últimos anos de doutorado. Obrigada pela amizade de vocês, pelas alegrias compartilhadas e pelo apoio em todas as horas. Além disso, não posso deixar de agradecer aos meus amigos **Carol, Caio, Henrique, Jessica, Lais, Leili, Nuno, Paulinha, Tainá e Viviana** por estarem sempre do meu lado, comemorando minhas conquistas.

Agradeço aos meus ex-companheiros de trabalho do Instituto de Biociências, **Silvia Modolo, Eloiza, Julia, Élida, Betinha, Juliana e Daniel**. Éramos oito, mas continuamos sendo uma família. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos, amo muito vocês.

Agradeço muito ao meu namorado **Eduardo Rossi**, que me presenteia todos os dias com seu amor, amizade e companheirismo. Sou uma pessoa mais feliz agora que tenho você comigo nessa jornada. Obrigada pelos ensinamentos, pelo incentivo e paciência. Amo muito você!

Agradeço a todos os **funcionários da seção de Pós-Graduação** do Instituto de Biociências que sempre souberam me auxiliar em tudo. Em especial, agradeço muito ao meu amigo Davi Müller, um profissional excelente, paciente e muito prestativo. Obrigada por me ajudar durante esses seis anos de pós-graduação.

Resumo

O vírus da dengue é um arbovírus da família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*, transmitido no Brasil principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). A dengue é considerada uma das doenças mais infecciosas no mundo e de maior crescimento nos últimos anos, com impactos sociais e econômicos devido às altas taxas de morbidade e mortalidade desencadeadas pela infecção. A transmissão do vírus DENV por mosquitos vetores está diretamente relacionada à sua competência vetorial, isto é, a permissividade à infecção, replicação e transmissão do patógeno. Estas características têm sido associadas a fatores genéticos e a microbiota intestinal do inseto. As bactérias presentes no intestino médio são componentes-chave da competência do vetor, uma vez que o microbioma do mosquito altera características fisiológicas importantes como feminização, auxiliam na digestão, regulam a imunidade e o desenvolvimento do hospedeiro. Compreender como a microbiota intestinal influencia a competência vetorial é fundamental para elucidar o controle da propagação das doenças transmitidas por estes vetores. No município de Botucatu, SP foram capturados larvas de mosquitos de *Ae. aegypti* e analisou-se a composição da microbiota intestinal sob diferentes dietas (açúcar ou açúcar e sangue), estágios de desenvolvimento e em resposta à infecção pelo vírus da Dengue tipo 4, através do sequenciamento de nova geração da região hipervariável V4 do gene 16S rRNA. Foram detectados um total de 2736 unidades taxonômicas operacionais e quatro filos Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes e Actinobacteria. Os resultados evidenciaram que moduladores da diversidade da microbiota, como os estágios de desenvolvimento, a idade e dieta possuem potenciais implicações na diversidade bacteriana presente no intestino dos mosquitos. Os estágios de desenvolvimento têm efeito direto nas alterações da microbiota intestinal de *Ae. aegypti*, enquanto a microbiota de mosquitos machos e fêmeas apresentou diferenças, independentes da dieta. O fator dieta tem uma forte influência na alteração da microbiota uma vez que a alimentação sanguínea reduz a diversidade bacteriana intestinal. Os mosquitos infectados com DENV-4 tiveram microbiota mais homogênea e após 96 horas de ingestão do alimento, ocorreu restabelecimento na microbiota. Os resultados obtidos nesse estudo permitem compreender melhor os microbiomas do intestino médio do mosquito e podem auxiliar no entendimento do microbioma de mosquitos suscetíveis e refratários, bem como contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de controle do vetor e/ou redução da transmissão de arbovírus.

Palavras-chave: Competência vetorial, gene 16S rRNA, Metagenômica, MiSeq Illumina.

Abstract

Dengue virus is an arbovirus of the family Flaviviridae, genus Flavivirus, transmitted in Brazil mainly by the mosquito *Aedes aegypti*. Dengue is considered one of the most infectious diseases in the world and has grown considerably in recent years, with social and economic impacts due to the high rates of morbidity and mortality triggered by the infection. Transmission of the DENV virus by vector mosquitoes is directly related to their vector competence, which is defined as permissiveness to infection, replication and transmission of the pathogen, characteristics that have been associated with genetic factors of the mosquito as well as with the insect's intestinal microbiota. The bacteria present in the midgut are key components of the mosquito's vector competence, since the mosquito's microbiome alters important physiological characteristics such as feminization, aids digestion, regulates host immunity and development. Understanding how the intestinal microbiota influences vectorial competence is essential to elucidate the control of the spread of diseases transmitted by these vectors. *Ae. aegypti* mosquitoes were captured in the city of Botucatu, SP and analyzed the composition of the microbiota under different diets (sugar or sugar and blood), stages of development and in response to infection by Dengue virus serotype 4, through the sequencing of a new generation of the hypervariable region V4 of the 16S rRNA gene. We detected a total of 2736 OTUs and four phyla Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes and Actinobacteria. The results showed that modulators of microbial diversity, such as diet, age or environment, have potential implications for the bacterial diversity present in the gut of mosquitoes. The developmental stages have a direct effect on changes in the intestinal microbiota of the *Ae. aegypti* mosquito, while the microbiota of male and female mosquitoes showed differences, independently of the diet. In addition, the diet factor has a strong influence on altering the microbiota since blood supply reduces the total number of intestinal bacteria. Mosquitoes infected with DENV-4 had a more homogeneous microbiota and after 96 hours of food intake, reestablishment occurred in the microbiota. The results obtained in this study help to increase our current understanding of the mosquito's midgut and can assist in the understanding of microbial data from susceptible and refractory mosquitoes, as well as contribute to the development of new vector control and/or reduction strategies transmission of arboviruses.

Keywords: Vector competence, 16S rRNA gene, Metagenomics, MiSeq Illumina.

Lista de Figuras

Figura 1 - Distribuição geográfica da incidência de dengue por região do Brasil	3
Figura 2 - Mosquitos <i>Ae. aegypti</i> macho e fêmea	5
Figura 3 - Ciclo de replicação viral	6
Figura 4 - Fatores extrínsecos e intrínsecos que afetam a capacidade vetorial	8
Figura 5 - Gêneros bacterianos identificados em Culidade	15
Figura 6 - Regiões variáveis do RNA ribossômico 16S	17
Figura 7 - Áreas de coleta de larvas de mosquitos <i>Ae. aegypti</i> em Botucatu-SP	20
Figura 8 - Desenho experimental dos pontos coletados para disseção do intestino de diferentes grupos	21
Figura 9 - Fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> alimentadas com sangue de carneiro e fêmeas alimentadas com sangue infectado com DENV-4	23
Figura 10 - Esquema ilustrando a estratégia de uso dos <i>primers</i> utilizados na preparação das bibliotecas para o sequenciamento do microbioma	27
Figura 11 - Fluxo de trabalho e ferramentas usadas para análise de dados no CLC Genomics Workbench	29
Figura 12 - Gel de agarose da reação de PCR de larvas, mosquitos machos e fêmeas de <i>Ae. aegypti</i>	30
Figura 13 - Mosquitos <i>Ae. aegypti</i> dissecados	31
Figura 14 - Cultura de células de inseto linhagem C6/36	33
Figura 15 - Comparação de células C6/36 sadias e infectadas com DENV-4	35
Figura 16 - Gráfico de curva padrão DENV-4	36
Figura 17 - Gel de agarose das reações de PCR de microbioma padronizadas	38
Figura 18 - Gráfico resultante da análise de diversidade alfa	40
Figura 19 - Análise de beta diversidade por estágio de desenvolvimento larval	42
Figura 20 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem dos estágios larvais do <i>Ae. aegypti</i>	43
Figura 21 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem dos estágios de desenvolvimento de fêmeas adultas do <i>Ae. aegypti</i>	44
Figura 22 - Padrão oscilatório das ordens mais abundantes entre os estágios de desenvolvimento	46
Figura 23 - Diagramas de Venn das OTUs entre estágios larvais e desenvolvimento	47

Figura 24 - Análise de beta diversidade da microbiota de mosquitos fêmeas e machos de <i>Ae. aegypti</i>	49
Figura 25 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem de mosquitos machos e fêmeas do <i>Ae. aegypti</i>	50
Figura 26 - Análise de beta da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> de acordo com a dieta	52
Figura 27 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> de acordo com a dieta	53
Figura 28 - Análise de beta da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> alimentadas com sangue de carneiro sadio ou infectado com DENV-4	55
Figura 29 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> alimentadas com sangue de carneiro e sangue de carneiro infectado DENV-4	56
Figura 30 - Análise de beta da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> infectadas com DENV-4 e DENV-4 inativado por calor	58
Figura 31 - Gráfico de barras gerado pela análise de abundância relativa em nível de Ordem da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> infectadas com DENV-4 e DENV-4 inativado por calor	59
Figura 32 - Análise de beta da diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> alimentados com sangue, infectados com DENV-4 e DENV-4 inativado por calor	61

Lista de Quadro e Tabelas

Quadro 1 - Gêneros bacterianos identificados na microbiota de <i>Ae. aegypti</i>	13
Tabela 1 - Determinação da hierarquia taxonômica de acordo com a similaridade de sequências 16S rRNA	18
Tabela 2 - Dados de coleta de larvas de mosquitos no município de Botucatu-SP	19
Tabela 3 - Tabela com número correspondente aos valores de concentração em PFU/ml e valores de Ct	36
Tabela 4 - Quantificação da concentração média da extração de DNA das amostras	37
Tabela 5 - Níveis de classificação taxonômica das amostras	39
Tabela 6 - Resultados da análise PERMANOVA entre os estágios de desenvolvimento	45
Tabela 7 - Resultados da análise estatística PERMANOVA de acordo com a dieta (apenas açúcar ou acrescido de ingestão de sangue) com os intestinos dissecados com 24 e 96 horas após ingestão dos alimentos	52
Tabela 8 - Resultados da análise estatística PERMANOVA entre diversidade da microbiota das fêmeas de <i>Ae. aegypti</i> alimentados com sangue, infectados com DENV-4 e DENV-4 inativado por calor	62
Tabela Suplementar 1 - Lista de <i>primers reverse</i> para cada amostra utilizados para PCR de microbioma	79
Tabela Suplementar 2 - Lista de amostras quantificadas por RT-qPCR, grupos controle, infectado com DENV-4, infectado com DENV-4 inativado e valores de Ct	82
Tabela Suplementar 3 - Lista de OTUs compartilhadas entre os estágios larvais e estágios de desenvolvimento	82

Lista de Siglas e Abreviaturas

μL - Microlitro

Aedes aegypti - *Ae. aegypti*

Aedes albopictus - *Ae. albopictus*

cDNA - DNA complementar

CHIKV - Vírus Chikungunya

Ct - Limiar do ciclo (*cycle threshold*)

DENV - Vírus dengue

DENV-1 Vírus Dengue sorotipo 1

DENV-2 Vírus Dengue sorotipo 2

DENV-3 Vírus Dengue sorotipo 3

DENV-4 Vírus Dengue sorotipo 4

DMSO - Dimetilsulfóxido

Dpi - Dias pós-infecção

g – Unidade da força centrífuga relativa

MEB - Barreira de escape do intestino médio

MIB - Barreira de infecção do intestino médio

MP - Matriz peritrófica

NF - *Nuclease free*

NGS - Sequenciamento de nova geração

OMS - Organização Mundial da Saúde

OTU - Unidade Taxonômica Operacional

Pb - Pares de base

PBS - Tampão fosfato salino

PCR - Reação em cadeia da polimerase

Pen-Strep - Penicillina-estreptomicina

Permanova - *Permutational multivariate analysis of variance*

PFU - Unidade formadora de placa

pmol - Picomol

qPCR - Reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real

R.E. – Recém emergidos

RNA - Ácido desoxirribonucléico

RNAse - Ribonuclease

SFB - Soro fetal bovino

TB - Barreira de transmissão

TTGE - *Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis*

UV - Ultra-violeta

v/v – Volume por volume

WNV - Vírus do Oeste do Nilo

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Dengue	1
1.2. Epidemiologia.....	2
1.3. Mosquito vetor <i>Ae. aegypti</i> (Diptera: Culicidae).....	4
1.4. Vírus	5
1.5. Interação vírus-vetor	6
1.6. Controle do vetor	8
1.7. Microbiota intestinal de <i>Ae. aegypti</i> e competência vetorial	10
1.8. Composição da microbiota intestinal.....	11
2. OBJETIVOS	18
2.1. Geral	18
2.2. Específicos	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Obtenção e manutenção das colônias de mosquitos <i>Ae. aegypti</i>	18
3.2. Confirmação de espécie por PCR	21
3.3. Confirmação do sorotipo DENV-4 antes da infecção	22
3.4. Cultivo celular C6/36.....	22
3.5. Replicação, isolamento e infecção com DENV-4	22
3.6. Quantificação da Carga Viral absoluta de DENV-4 por PCR em tempo real (qRT-PCR)	23
3.7. Extração de RNA	24
3.7.1. Quantificação DNA/RNA total.....	24
3.7.2. Tratamento do RNA com DNase.....	25
3.7.3. Síntese de cDNA.....	25
3.8. Dissecção dos mosquitos	25
3.9. Extração de DNA.....	25

3.10. Preparo das bibliotecas da microbiota	26
3.10.1. Purificação dos produtos de PCR	27
3.10.2. Quantificação do produto de PCR purificado por qPCR.....	27
3.10.3. Preparo do cartucho de sequenciamento Illumina	28
3.10.4. Sequenciamento Illumina e processamento das sequências	28
3.11. Análises estatísticas	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1. Confirmação morfológica e molecular da espécie <i>Ae. aegypti</i> e dissecção do intestino	30
4.2. Padronização do cultivo celular C6/36	31
4.3. Padronização do isolamento viral e quantificação absoluta de DENV-4 em células C6/36	33
4.4. Quantificação absoluta de DENV-4 em intestinos de <i>Ae. aegypti</i>	36
4.5. Extrações de DNA total para análises de metagenômica	36
4.6. Padronização da reação de PCR de microbioma em triplicata	37
4.7. Análises da composição taxonômica bacteriana da população de campo de <i>Ae. aegypti</i>	38
4.8. Diversidades alfa e beta das amostras totais	40
4.8.1. Efeitos dos estágios de desenvolvimento na microbiota do mosquito <i>Ae. aegypti</i>	41
4.8.2. Influência do sexo na microbiota do mosquito.....	48
4.8.3. Efeitos da dieta na microbiota do mosquito vetor da dengue	51
4.8.4. Influência na microbiota de mosquitos alimentados com sangue e sangue infectado DENV-4.....	54
4.8.5. Efeitos de infecção pelo DENV-4 e inativado em laboratório	57
4.8.6. Comparação das microbiotas de mosquitos alimentados com sangue, sangue infectado DENV-4 e inativado	60
5. CONCLUSÕES	63

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	79

1. INTRODUÇÃO

1.1. Dengue

A dengue é uma enfermidade viral infecciosa transmitida por mosquitos, cujo agente etiológico é o vírus dengue (DENV), que pertence ao gênero *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), e que se manifesta sob duas formas clínicas: a febre da dengue e dengue clássica (Burke et al., 2001). O impacto da doença sobre a população humana é notório, não apenas pelos sintomas causados como também pela ocorrência de óbitos. Os impactos econômicos são grandes devido aos custos com tratamentos, hospitalizações, controle dos vetores e às perdas no setor turístico (WHO, 2009).

A dengue é uma das arboviroses (doenças virais transmitidas por artrópodes) de maior importância médica no mundo, sendo encontrada em regiões tropicais e subtropicais do globo (Halstead, 1979; Guzmán et al., 2010). A incidência global da dengue cresceu dramaticamente nas últimas décadas. Cerca de metade da população mundial está em risco. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima entre 100 a 400 milhões de infecções anuais pelo vírus dengue (DENV) no mundo, (WHO, 2020). Outro estudo sobre a prevalência da dengue estima que 3,9 bilhões de pessoas estão em risco de infecção pelo vírus da dengue (Brady et al., 2012). Os países tropicais são os mais afetados devido as suas características climáticas, ambientais e sociais (Teixeira et al., 2009; Decker, 2012).

A maioria das análises filogenéticas demonstram que o DENV-4 divergiu primeiro, seguido do DENV-2, e por fim o DENV-1 e o DENV-3 (Coffey et al., 2008). Evidências apontaram para a existência de um novo sorotipo de dengue restrito à circulação silvestre na ilha de Bornéu, região pertencente à Malásia, sendo classificado inicialmente como DENV-5 (Vasilakis, 2013, Mustafa et al., 2015). Entretanto, ainda se discute as consequências deste achado na epidemiologia da dengue caso esta linhagem seja confirmada como pertencente a um novo sorotipo.

No Brasil, em 2019 foram processadas 27.957 amostras para identificação de sorotipo DENV, e 608 foram positivas. Das amostras analisadas, 518 (85,2%) foram positivas para DENV-2 (Brasil, 2019a). O sorotipo 2 voltou a circular no fim de 2018, depois de 10 anos sob controle e, desde então, vem encontrando populações suscetíveis à doença (Brasil, 2019b). É uma situação alarmante, uma vez que o tipo 2 do vírus da dengue tem potencial mais grave, pois está associado ao choque e manifestações hemorrágicas relacionadas à dengue severa (Balmaseda et al., 2006, Guzmán et al., 2010).

Não é possível prever qual a forma da doença que um indivíduo infectado irá desenvolver. No entanto, o risco de evolução para as formas mais graves é quinze vezes maior na infecção secundária do que na primária, e por um diferente sorotipo viral (Poloni, 2009). Os anticorpos heterólogos pré-

existentes reconhecem o novo vírus, mas formam um complexo antígeno-anticorpo que não neutraliza o novo sorotipo. Além disso, este complexo de baixa avidéz facilita a adsorção e entrada da partícula viral nas células de defesa do hospedeiro, sobretudo em monócitos e macrófagos, gerando uma resposta imunológica exacerbada e, conseqüentemente, uma forma mais grave da doença (Monath, 1994).

O controle da doença é um importante desafio e há décadas que se tenta desenvolver uma vacina contra os quatro sorotipos virais da doença. A primeira vacina tetravalente de dengue (*yellow fever* -17D-dengue vírus – CYD-TDV; Dengvaxia®, Sanofi Pasteur) foi criada e liberada em alguns países e no Brasil as respectivas aplicações iniciaram-se em 28/12/2015. No entanto, a sua eficiência difere quanto aos quatro sorotipos do vírus dengue e varia em relação à idade e ao histórico de infecções anteriores do indivíduo a ser vacinado, além de ter custos elevados (Pitisuttithum & Bouckennooghe, 2016; Silveira et al., 2019).

Alguns medicamentos são recomendados nos casos de dengue apenas para aliviar sintomas, pois não existem terapias antivirais específicas. Por isso é premente a necessidade de novos conhecimentos e tecnologias para aprimorar o controle da doença. Atualmente a sua contenção está baseada principalmente no controle químico do principal mosquito vetor *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) (Diptera: Culicidae) (CDC, 2016; Lorenzi, 2016).

1.2. Epidemiologia

Desde o meio da década de 1940 até a década de 1960 o vetor foi praticamente eliminado de muitos países da América do Sul e Central, incluindo o Brasil. Entretanto, devido à redução da vigilância e dos programas de controle, houve reinfestação do *Ae. aegypti* e conseqüentemente a incidência de casos de dengue aumentou em 30 vezes nos últimos 50 anos (WHO, 2013). Alguns fatores que influenciaram a multiplicação do mosquito foram: urbanização descontrolada, falta de gerenciamento na deposição adequada do lixo humano, falta de saneamento básico e mudanças climáticas (WHO, 2013).

A OMS estima que 2,5 bilhões de pessoas estão sob o risco de infecção (WHO, 2020) e cerca de 390 milhões de infecções ocorram anualmente, dos quais cerca de 550 mil demandam hospitalização, provocando ao menos 20 mil óbitos, considerada um dos maiores problemas de saúde pública no mundo (Bhatt et al., 2013).

O Brasil registrou 1.544.987 casos de dengue em 2019, um aumento de 488% em relação a 2018, que é o segundo maior número de casos de série histórica do país (Brasil, 2019b). A região sudeste concentrou 60% do total de casos registrados no país em 2019, seguidos das regiões Centro-

Oeste, Norte, Nordeste e Sul. O estado de São Paulo foi responsável por mais de 33% dos casos de dengue seguidos de morte no país, com 400.184 casos registrados, seguidos por 263 óbitos (Brasil, 2019b). Em 2020 foram notificados 979.764 casos prováveis de dengue no país, até a semana epidemiológica 50 (24/12/2020) (Figura 1). Esta redução das notificações em relação ao mesmo período de 2019, deve-se a mobilização das equipes de vigilância epidemiológica perante a pandemia da covid-19, gerando atrasos ou subnotificações para os casos das arboviroses e outro fator importante é o receio da população de procurar atendimento em uma unidade de saúde (Brasil, 2020).

Determinadas pessoas podem ser infectadas e não manifestarem os sintomas. Este fato deve-se ao sistema imunológico desses indivíduos ou à baixa virulência da cepa em questão (Souza et al., 2002.) Para cada cinco casos sintomáticos, estima-se que haja um assintomático (Serufo et al., 2000; Souza et al., 2002). Na doença febril indiferenciada, a dengue assemelha-se à síndrome gripal, não sendo possível distingui-la clinicamente das outras (Souza et al., 2002).

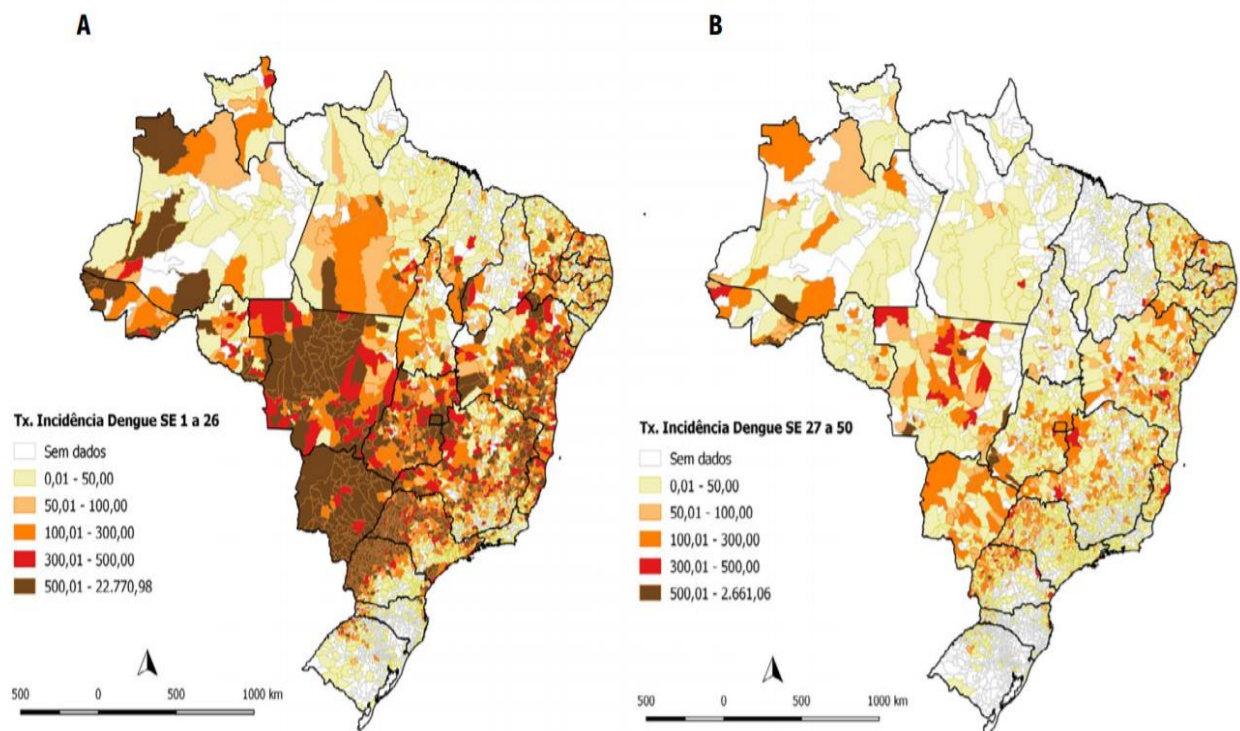


Figura 1. A. Distribuição da taxa de incidência de dengue por município, até a semana epidemiológica 1 a 26 de 2020. **B.** Distribuição da taxa de incidência de dengue por município, até a semana epidemiológica 27 a 50 de 2020. (Brasil, 2020).

5. CONCLUSÕES

Os moduladores da diversidade da microbiota, como a dieta, sexo e estágio de desenvolvimento possuem implicações na diversidade bacteriana presente no intestino dos mosquitos. Os estágios de desenvolvimento têm efeito direto nas alterações da microbiota intestinal do mosquito *Ae. aegypti*, enquanto a microbiota de machos e fêmeas apresenta diferenças, independentes da dieta. O fator dieta influencia significativamente na alteração da microbiota, uma vez que a alimentação sanguínea reduz a diversidade da microbiota intestinal. A alimentação sanguínea infectada com partículas virais DENV-4 causou alterações na microbiota. Os mosquitos infectados com DENV-4 tiveram microbiota mais semelhante com o grupo inativado após 96 horas de ingestão do alimento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allison, S. L., Schalich, J., Stiasny, K., Mandl, C. W., Kunz, C., & Heinz, F. X. (1995). Oligomeric rearrangement of tick-borne encephalitis virus envelope proteins induced by an acidic pH. *Journal of virology*, 69(2), 695-700.

Allonso, D., Belgrano, F. S., Calzada, N., Guzmán, M. G., Vázquez, S., & Mohana-Borges, R. (2012). Elevated serum levels of high mobility group box 1 (HMGB1) protein in dengue-infected patients are associated with disease symptoms and secondary infection. *Journal of clinical virology*, 55(3), 214-219.

Apte-Deshpande, A., Paingankar, M., Gokhale, M. D., & Deobagkar, D. N. (2012). *Serratia odorifera* a midgut inhabitant of *Aedes aegypti* mosquito enhances its susceptibility to dengue-2 virus. *PLoS One*, 7(7), e40401.

Araújo, A. P., Diniz, D. F. A., Helvecio, E., De Barros, R. A., De Oliveira, C. M. F., Ayres, C. F. J., & Silva-Filha, M. H. N. L. (2013). The susceptibility of *Aedes aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: a basis for management. *Parasites & vectors*, 6(1), 297.

Azambuja, P., Garcia, E. S., & Ratcliffe, N. A. (2005). Gut microbiota and parasite transmission by insect vectors. *Trends in parasitology*, 21(12), 568-572.

Baert, L., Wobus, C. E., Van Coillie, E., Thackray, L. B., Debevere, J., & Uyttendaele, M. (2008). Detection of murine norovirus 1 by using plaque assay, transfection assay, and real-time reverse transcription-PCR before and after heat exposure. *Applied and environmental microbiology*, 74(2), 543-546.

- Bahia, A. C., Dong, Y., Blumberg, B. J., Mlambo, G., Tripathi, A., BenMarzouk-Hidalgo, O. J., & Dimopoulos, G. (2014). Exploring *Anopheles* gut bacteria for *Plasmodium* blocking activity. *Environmental microbiology*, 16(9), 2980-2994.
- Balmaseda, A., Hammond, S. N., Pérez, L., Tellez, Y., Saborío, S. I., Mercado, J. C., ... & Rocha, C. (2006). Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74(3), 449-456.
- Bando, H., Okado, K., Guelbeogo, W. M., Badolo, A., Aonuma, H., Nelson, B., & Kanuka, H. (2013). Intra-specific diversity of *Serratia marcescens* in *Anopheles* mosquito midgut defines *Plasmodium* transmission capacity. *Scientific reports*, 3, 1641.
- Bauer, M. A., Kainz, K., Carmona-Gutierrez, D., & Madeo, F. (2018). Microbial wars: competition in ecological niches and within the microbiome. *Microbial cell*, 5(5), 215.
- Beerntsen, B. T., James, A. A., & Christensen, B. M. (2000). Genetics of mosquito vector competence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(1), 115-137.
- Bellini, R., Medici, A., Puggioli, A., Balestrino, F., & Carrieri, M. (2013). Pilot field trials with *Aedes albopictus* irradiated sterile males in Italian urban areas. *Journal of medical entomology*, 50(2), 317-325.
- Bennett, K. E., Olson, K. E., de Lourdes Muñoz, M., Fernandez-Salas, I., Farfan-Ale, J. A., Higgs, S., & Beaty, B. J. (2002). Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 67(1), 85-92.
- Bennett, K. L., Gómez-Martínez, C., Chin, Y., Saltonstall, K., McMillan, W. O., Rovira, J. R., & Loaiza, J. R. (2019). Dynamics and diversity of bacteria associated with the disease vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Scientific reports*, 9(1), 1-12.
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Myers, M. F. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504.
- Black IV, W. C., Bennett, K. E., Gorrochótegui-Escalante, N., Barillas-Mury, C. V., Fernández-Salas, I., de Lourdes Muñoz, M., & Beaty, B. J. (2002). Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*. *Archives of medical research*, 33(4), 379-388.
- Boissière, A., Tchioffo, M. T., Bachar, D., Abate, L., Marie, A., Nsango, S. E., & Morlais, I. (2012). Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS pathogens*, 8(5).

Bonizzoni, M., Dunn, W. A., Campbell, C. L., Olson, K. E., Dimon, M. T., Marinotti, O., & James, A. A. (2011). RNA-seq analyses of blood-induced changes in gene expression in the mosquito vector species, *Aedes aegypti*. *BMC genomics*, 12(1), 82.

Brady, O. J., Gething, P. W., Bhatt, S., Messina, J. P., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., ... & Hay, S. I. (2012). Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS neglected tropical diseases*, 6(8), e1760.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. (2020). Monitoramento dos casos de Arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, *chikungunya* e Zika), Semana Epidemiológica 1 a 29.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. (2019a). Monitoramento dos casos de Arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, *chikungunya* e Zika), Semana Epidemiológica 5.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico. (2019b). Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, *chikungunya* e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 34.

Buck, M., Nilsson, L. K., Brunius, C., Dabiré, R. K., Hopkins, R., & Terenius, O. (2016). Bacterial associations reveal spatial population dynamics in *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Scientific reports*, 6(1), 1-9.

Burke, D. S., & Monath, T. P. (2001). Flaviviruses. Fields BN, Knipe DM, Howley PM eds. *Fields Virology*.

Calado, D. C., & Navarro-Silva, M. A. (2002). Influência da temperatura sobre a longevidade, fecundidade e atividade hematofágica de *Aedes albopictus* (Stegomyia) Skuse, 1894 (Diptera, Culicidae) sob condições de laboratório. *Revista Brasileira de Entomologia*, 46(1), 93-98.

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., & Gormley, N. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME journal*, 6(8), 1621.

Carabali, M., Hernandez, L. M., Arauz, M. J., Villar, L. A., & Ridde, V. (2015). Why are people with dengue dying? A scoping review of determinants for dengue mortality. *BMC infectious diseases*, 15(1), 301.

Carpenter, S. J., & La Casse, W. J. (1974). *Mosquitoes of North America (North of Mexico)*. Univ of California Press.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2013). West Nile virus in the United States: guidelines for surveillance, prevention, and control (4th revision).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2016). Surveillance and control of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the United States. Retrieved February, 7, 2016.

Charan, S. S., Pawar, K. D., Gavhale, S. D., Tikhe, C. V., Charan, N. S., Angel, B., Shouche, Y. S. (2016). Comparative analysis of midgut bacterial communities in three aedine mosquito species from dengue-endemic and non-endemic areas of Rajasthan, India. *Medical and veterinary entomology*, 30(3), 264-277.

Charan, S. S., Pawar, K. D., Severson, D. W., Patole, M. S., & Shouche, Y. S. (2013). Comparative analysis of midgut bacterial communities of *Aedes aegypti* mosquito strains varying in vector competence to dengue virus. *Parasitology research*, 112(7), 2627-2637.

Chatzidaki-Livanis, M., Coyne, M. J., Roelofs, K. G., Gentyala, R. R., Caldwell, J. M., & Comstock, L. E. (2017). Gut symbiont *Bacteroides fragilis* secretes a eukaryotic-like ubiquitin protein that mediates intraspecies antagonism. *MBio*, 8(6).

Chavshin, A. R., Oshaghi, M. A., Vatandoost, H., Pourmand, M. R., Raeisi, A., & Terenius, O. (2014). Isolation and identification of culturable bacteria from wild *Anopheles culicifacies*, a first step in a paratransgenesis approach. *Parasites & vectors*, 7(1), 419.

Chouin-Carneiro, T., Vega-Rua, A., Vazeille, M., Yebakima, A., Girod, R., Goindin, D., ... & Failloux, A. B. (2016). Differential susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika virus. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(3), e0004543.

Cirimotich, C. M., Dong, Y., Clayton, A. M., Sandiford, S. L., Souza-Neto, J. A., Mulenga, M., & Dimopoulos, G. (2011a). Natural microbe-mediated refractoriness to Plasmodium infection in *Anopheles gambiae*. *Science*, 332(6031), 855-858.

Cirimotich, C. M., Ramirez, J. L., & Dimopoulos, G. (2011b). Native microbiota shape insect vector competence for human pathogens. *Cell host & microbe*, 10(4), 307-310.

Clemens, A. N. (1992). *The Biology of Mosquitoes. Development, Nutrition and Reproduction*, Vol. 1. London: Chapman and Hall.

Clements, A. N. (2000). *The Biology of Mosquitoes, Volume 1. Development, Nutrition and Reproduction*, Vol. 2. Oxfordshire: CABI Publishing

Coatsworth, H., Caicedo, P. A., Van Rossum, T., Ocampo, C. B., & Lowenberger, C. (2018). The composition of midgut bacteria in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) that are naturally susceptible or refractory to dengue viruses. *Journal of Insect Science*, 18(6), 12.

Coffey, L. L., Vasilakis, N., Brault, A. C., Powers, A. M., Tripet, F., & Weaver, S. C. (2008). Arbovirus evolution in vivo is constrained by host alternation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(19), 6970-6975.

Coleman, J., Juhn, J., & James, A. A. (2007). Dissection of midgut and salivary glands from *Ae. aegypti* mosquitoes. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (5), e228.

Coon, K. L., Brown, M. R., & Strand, M. R. (2016). Gut bacteria differentially affect egg production in the anautogenous mosquito *Aedes aegypti* and facultatively autogenous mosquito *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae). *Parasites & vectors*, 9(1), 375.

Coon, K. L., Vogel, K. J., Brown, M. R., & Strand, M. R. (2014). Mosquitoes rely on their gut microbiota for development. *Molecular ecology*, 23(11), 2727-2739.

Crean, A. J., Monro, K., & Marshall, D. J. (2011). Fitness consequences of larval traits persist across the metamorphic boundary. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 65(11), 3079-3089.

Dada, N., Jumas-Bilak, E., Manguin, S., Seidu, R., Stenström, T. A., & Overgaard, H. J. (2014). Comparative assessment of the bacterial communities associated with *Aedes aegypti* larvae and water from domestic water storage containers. *Parasites & vectors*, 7(1), 391.

Dalla Bona, A. C., Twerdochlib, A. L., & Navarro-Silva, M. A. (2011). Detecção do vírus da dengue em populações naturais de mosquitos. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 51(2), 107-111.

David, J. P., Ismail, H. M., Chandor-Proust, A., & Paine, M. J. I. (2013). Role of cytochrome P450s in insecticide resistance: impact on the control of mosquito-borne diseases and use of insecticides on Earth. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1612), 20120429.

David, M. R., Santos, L. M. B. D., Vicente, A. C. P., & Maciel-de-Freitas, R. (2016). Effects of environment, dietary regime and ageing on the dengue vector microbiota: evidence of a core microbiota throughout *Aedes aegypti* lifespan. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(9), 577-587.

De Block, M., & Stoks, R. (2005). Fitness effects from egg to reproduction: bridging the life history transition. *Ecology*, 86(1), 185-197.

De Paula, S. O., & Fonseca, B. A. L. D. (2004). Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 8(6), 390-398.

Decker, K. D. (2012). Dengue fever: re-emergence of an old virus. *The Journal for Nurse Practitioners*, 8(5), 389-393.

Dennison, N. J., Jupatanakul, N., & Dimopoulos, G. (2014). The mosquito microbiota influences vector competence for human pathogens. *Current opinion in insect science*, 3, 6-13.

Dheilly, N. M. (2014). Holobiont–Holobiont interactions: redefining host–parasite interactions. *PLoS Pathog*, 10(7), e1004093.

Dickson, L. B., Jiolle, D., Minard, G., Moltini-Conclois, I., Volant, S., Ghoulane, A., & Lambrechts, L. (2017). Carryover effects of larval exposure to different environmental bacteria drive adult trait variation in a mosquito vector. *Science advances*, 3(8), e1700585.

Dillon, R. J., & Dillon, V. M. (2004). The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), 71-92.

Dong, Y., Das, S., Cirimotich, C., Souza-Neto, J. A., McLean, K. J., & Dimopoulos, G. (2011). Engineered anopheles immunity to Plasmodium infection. *PLoS pathogens*, 7(12).

Dong, Y., Manfredini, F., & Dimopoulos, G. (2009). Implication of the mosquito midgut microbiota in the defense against malaria parasites. *PLoS pathogens*, 5(5).

Dreyer, C. S. (2015). Caracterização das respostas transcricionais e microbiomas de populações naturais do mosquito *Aedes aegypti* com diferentes níveis de suscetibilidade ao vírus dengue. (Tese).

Dutra, H. L. C., Rocha, M. N., Dias, F. B. S., Mansur, S. B., Caragata, E. P., & Moreira, L. A. (2016). *Wolbachia* blocks currently circulating Zika virus isolates in Brazilian *Aedes aegypti* mosquitoes. *Cell host & microbe*, 19(6), 771-774.

Farnesi, L. C., Martins, A. J., Valle, D., & Rezende, G. L. (2009). Embryonic development of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): influence of different constant temperatures. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(1), 124-126.

Finney, C. A., Kamhawi, S., & Wasmuth, J. D. (2015). Does the arthropod microbiota impact the establishment of vector-borne diseases in mammalian hosts?. *PLoS pathogens*, 11(4).

Floch, M. H., Ringel, Y., & Walker, W. A. (Eds.). (2016). The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis. *Academic Press*, (21)179-183

Forattini, O. P. (1992). Ecologia, epidemiologia e sociedade. In *Ecologia, epidemiologia e sociedade*.

Forattini, O. P. (2002). Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia: v. 2. In *Culicidologia médica: identificação, biologia e epidemiologia*, (2),860-860.

Fundação Nacional de Saúde, & Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). (2001). Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor. Manual de normas técnicas.

- Gaio, A., Gusmão, D. S., Santos, A. V., Berbert-Molina, M. A., Pimenta, P. F., & Lemos, F. J. (2011). Contribution of midgut bacteria to blood digestion and egg production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)(L.). *Parasites & vectors*, 4(1), 105.
- Gimonneau, G., Tchioffo, M. T., Abate, L., Boissière, A., Awono-Ambene, P. H., Nsango, S. E., et al. (2014). Composition of *Anopheles coluzzii* and *Anopheles gambiae* microbiota from larval to adult stages. *Infect. Genet. Evol.* 28, 715–724.
- Gonçalves, C. M. (2010). O estudo da competência vetorial das populações de *Aedes aegypti* da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, ao Dengue vírus 2. (Tese).
- Guedes, D. R. D. (2012). Análise da competência vetorial para o vírus Dengue em populações naturais de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* de Pernambuco. (Tese).
- Guégan, M., Zouache, K., Démichel, C., Minard, G., Potier, P., Mavingui, P., & Moro, C. V. (2018). The mosquito holobiont: fresh insight into mosquito-microbiota interactions. *Microbiome*, 6(1), 49.
- Gusmão, D. S., Santos, A. V., Marini, D. C., Bacci Jr, M., Berbert-Molina, M. A., & Lemos, F. J. A. (2010). Culture-dependent and culture-independent characterization of microorganisms associated with *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)(L.) and dynamics of bacterial colonization in the midgut. *Acta tropica*, 115(3), 275-281.
- Guzman, M. G., Halstead, S. B., Artsob, H., Buchy, P., Farrar, J., Gubler, D. J., & Nathan, M. B. (2010). Dengue: a continuing global threat. *Nature reviews microbiology*, 8(12), S7-S16.
- Halstead, S. B. (1979). In vivo enhancement of dengue virus infection in rhesus monkeys by passively transferred antibody. *Journal of Infectious Diseases*, 140(4), 527-533.
- Head, I. M., Saunders, J. R., & Pickup, R. W. (1998). Microbial evolution, diversity, and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. *Microbial ecology*, 35(1), 1-21.
- Henchal, E. A., & Putnak, J. R. (1990). The dengue viruses. *Clinical microbiology reviews*, 3(4), 376-396.
- Higa, Y., Toma, T., Tsuda, Y., & Miyagi, I. (2010). A multiplex PCR-based molecular identification of five morphologically related, medically important subgenus *Stegomyia* mosquitoes from the genus *Aedes* (Diptera: Culicidae) found in the Ryukyu Archipelago, Japan. *Japanese journal of infectious diseases*, 63(5), 312-316.
- Hill, T. C., Walsh, K. A., Harris, J. A., & Moffett, B. F. (2003). Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, 43(1), 1-11.

- Hillyer, J. F., Schmidt, S. L., Fuchs, J. F., Boyle, J. P., & Christensen, B. M. (2005). Age-associated mortality in immune challenged mosquitoes (*Aedes aegypti*) correlates with a decrease in haemocyte numbers. *Cellular microbiology*, 7(1), 39-51.
- Holmes, E. C., & Twiddy, S. S. (2003). The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infection, genetics and evolution*, 3(1), 19-28.
- Hurst, G. D., & Hutchence, K. J. (2010). Host defence: getting by with a little help from our friends. *Current Biology*, 20(18), R806-R808.
- Idris, F., Muharram, S. H., Zaini, Z., & Diah, S. (2018). Effectiveness of physical inactivation methods of dengue virus: heat-versus UV-inactivation. *bioRxiv*, 427666.
- Inácio, P., Lewinsohn, T., Carmo, R. L. D., & Hogan, D. J. (2002). Ordenação multivariada na ecologia e seu uso em ciências ambientais. *Ambiente & sociedade*, (10), 69-83.
- Junjhon, J., Pennington, J. G., Edwards, T. J., Perera, R., Lanman, J., & Kuhn, R. J. (2014). Ultrastructural characterization and three-dimensional architecture of replication sites in dengue virus-infected mosquito cells. *Journal of virology*, 88(9), 4687-4697.
- Jupatanakul, N., Sim, S., & Dimopoulos, G. (2014). The insect microbiome modulates vector competence for arboviruses. *Viruses*, 6(11), 4294-4313.
- Kernbauer, E., Ding, Y., & Cadwell, K. (2014). An enteric virus can replace the beneficial function of commensal bacteria. *Nature*, 516(7529), 94-98.
- Kim, C. H., Lampman, R. L., & Muturi, E. J. (2015). Bacterial communities and midgut microbiota associated with mosquito populations from waste tires in East-Central Illinois. *Journal of medical entomology*, 52(1), 63-75.
- Kirchman, D. Processes in microbial ecology. (2012).
- Knipes, D. M., C. E. Samuel, and P. Palese. (2001). Virus-host cell interactions, In D. M. Knipes and P. M. Howley (ed.). *Fields virology*, 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, 134–136.
- Knipe, D. M., & Howley, P. M. (2007). *Fields virology*. *Fields virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
- Konstantinidis, K. T., & Tiedje, J. M. (2007). Prokaryotic taxonomy and phylogeny in the genomic era: advancements and challenges ahead. *Current opinion in microbiology*, 10(5), 504-509.
- Kramer, L. D., & Ciota, A. T. (2015). Dissecting vectorial capacity for mosquito-borne viruses. *Current opinion in virology*, 15, 112-118.

Laughlin, C. A., Morens, D. M., Cassetti, M. C., Costero-Saint Denis, A., San Martin, J. L., Whitehead, S. S., & Fauci, A. S. (2012). Dengue research opportunities in the Americas. *The Journal of infectious diseases*, 206(7), 1121-1127.

Letunic, I., & Bork, P. (2007). Interactive Tree Of Life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Bioinformatics*, 23(1), 127-128.

Lima-Camara, T. N., Bruno, R. V., Luz, P. M., Castro, M. G., Lourenço-de-Oliveira, R., Sorgine, M. H., & Peixoto, A. A. (2011). Dengue infection increases the locomotor activity of *Aedes aegypti* females. *PLoS One*, 6(3), e17690.

Lindenbach, B. D., Thiel, H. J., Rice, C. M., Thiel, H., Rice, C., & Chanock, R. M. (2007). Flaviviridae: the viruses and their replication.

Lindh JM, Borg-Karlson AK, Faye I. Transstadial and horizontal transfer of bacteria within a colony of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) and oviposition response to bacteria-containing water. *Acta Trop*. 2008; 107(3):242-50.

Liu, L., Gong, T., Tao, W., Lin, B., Li, C., Zheng, X., & Zhou, R. (2019). Commensal viruses maintain intestinal intraepithelial lymphocytes via noncanonical RIG-I signaling. *Nature immunology*, 20(12), 1681-1691.

Lorenzi, O. D. (2016). Reduced incidence of Chikungunya virus infection in communities with ongoing *Aedes aegypti* mosquito trap intervention studies—Salinas and Guayama, Puerto Rico, November 2015–February 2016. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 65.

Lourenço-de-Oliveira, R., Vazeille, M., De Filippis, A. M. B., & Failloux, A. B. (2004). *Aedes aegypti* in Brazil: genetically differentiated populations with high susceptibility to dengue and yellow fever viruses. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(1), 43-54.

Lozupone, C., Lladser, M. E., Knights, D., Stombaugh, J., & Knight, R. (2011). UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME journal*, 5(2), 169-172.

Maciel-de-Freitas, R., Koella, J. C., & Lourenço-de-Oliveira, R. (2011). Lower survival rate, longevity and fecundity of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) females orally challenged with dengue virus serotype 2. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 105(8), 452-458.

Madani, T. A., Abuelzein, E. T. M., Azhar, E. I., & Al-Bar, H. M. (2014). Thermal inactivation of Alkhumra hemorrhagic fever virus. *Archives of virology*, 159(10), 2687-2691.

Malavige, G., Fernando, S., Fernando, D. J. (2007). Dengue viral infectious. *Postgrad Med J*, (80), 588-601.

Mancini, M. V., Damiani, C., Accoti, A., Tallarita, M., Nunzi, E., Cappelli, A., Bozic, J., Catanzani, R., Rossi, R., Valzano, M., Serrao, A., Ricci, I., & Spaccapelo, R. (2018). Estimating bacteria diversity in different organs of nine species of mosquito by next generation sequencing. *BMC microbiology*, 18(1), 1-10.

Manly, B. F. J., Navarro, J. A. (2016). Multivariate statistical methods: a *primer*, 4ª edição.

Manrique-Saide, P., Che-Mendoza, A., Barrera-Perez, M., Guillermo-May, G., Herrera-Bojorquez, J., Dzul-Manzanilla, F., & McCall, P. J. (2015). Use of insecticide-treated house screens to reduce infestations of dengue virus vectors, Mexico. *Emerging infectious diseases*, 21(2), 308.

Martínez, N. E., Dzul-Manzanilla, F., Gutiérrez-Castro, C., Ibarra-López, J., Bibiano-Marín, W., López-Damián, L., & Manrique-Saide, P. (2014). Natural vertical transmission of dengue-1 virus in *Aedes aegypti* populations in Acapulco, Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 30(2), 143-146.

Massonnet-Bruneel, B., Corre-Catelin, N., Lacroix, R., Lees, R. S., Hoang, K. P., Nimmo, D., & Reiter, P. (2013). Fitness of transgenic mosquito *Aedes aegypti* males carrying a dominant lethal genetic system. *PLoS One*, 8(5).

Miller, B. R. (1987). Increased yellow fever virus infection and dissemination rates in *Aedes aegypti* mosquitoes orally exposed to freshly grown virus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(6), 1011-1012.

Minard, G., Tran, F. H., Raharimalala, F. N., Hellard, E., Ravelonandro, P., Mavingui, P., & Valiente Moro, C. (2013). Prevalence, genomic and metabolic profiles of *Acinetobacter* and *Asaia* associated with field-caught *Aedes albopictus* from Madagascar. *FEMS microbiology ecology*, 83(1), 63-73.

Minard, G., TRAN, F. H., Goubert, C., Bellet, C., Lambert, G., Khanh, H. K. L., & Valiente Moro, C. (2015). French invasive Asian tiger mosquito populations harbor reduced bacterial microbiota and genetic diversity compared to Vietnamese autochthonous relatives. *Frontiers in Microbiology*, 6, 970.

Minard, G., Mavingui, P., & Moro, C. V. (2013). Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont. *Parasites & vectors*, 6(1), 146.

Minard, G., Tran, F. H., Van Tran Van, C. F., Potier, P., Roiz, D., Mavingui, P., & Moro, C. V. (2018). Shared larval rearing environment, sex, female size and genetic diversity shape *Ae. albopictus* bacterial microbiota. *PloS one*, 13(4).

Mitraka, E., Stathopoulos, S., Siden-Kiamos, I., Christophides, G. K., & Louis, C. (2013). Asaia accelerates larval development of *Anopheles gambiae*. *Pathogens and global health*, 107(6), 305-311.

Moll, R. M., Romoser, W. S., Modrakowski, M. C., Moncayo, A. C., & Lerdthusnee, K. (2001). Meconial peritrophic membranes and the fate of midgut bacteria during mosquito (Diptera: Culicidae) metamorphosis. *Journal of medical entomology*, 38(1), 29-32.

Monath, T. P. (1994). Yellow fever and dengue - the interactions of virus, vector and host in the re-emergence of epidemic disease. In *Seminars in virology* (5)2, 133-145. Academic Press.

Montagna, M., Chouaia, B., Mazza, G., Prosdocimi, E. M., Crotti, E., Mereghetti, V., ... & Cervo, R. (2015). Effects of the diet on the microbiota of the red palm weevil (Coleoptera: Dryophthoridae). *PloS one*, 10(1).

Morgan, X. C., & Huttenhower, C. (2012). Human microbiome analysis. *PLoS Comput Biol*, 8(12), e1002808.

Moro, C. V., Tran, F. H., Raharimalala, F. N., Ravelonandro, P., & Mavingui, P. (2013). Diversity of culturable bacteria including *Pantoea* in wild mosquito *Aedes albopictus*. *BMC microbiology*, 13(1), 70.

Mukherjee, D., Das, S., Begum, F., Mal, S., & Ray, U. (2019). The mosquito immune system and the life of dengue virus: what we know and do not know. *Pathogens*, 8(2), 77.

Mukhopadhyay, S., Kuhn, R. J., & Rossmann, M. G. (2005). A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), 13-22.

Mustafa, M. S., Rasotgi, V., Jain, S., & Gupta, V. (2015). Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. *Medical Journal Armed Forces India*, 71(1), 67-70.

Muturi, E. J., Ramirez, J. L., Rooney, A. P., & Kim, C. H. (2018). Comparative Analysis of Gut Microbiota of *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) Females From Different Parents. *Journal of medical entomology*, 55(1), 163-171.

Nunes, T. B. (2018). Estudo funcional da via PI3K/AKT em *Aedes aegypti*. (Tese).

Obbard, D. J., & Dudas, G. (2014). The genetics of host-virus coevolution in invertebrates. *Current opinion in virology*, 8, 73-78.

Oda, L. T. E (2018). Estudo das análises da competência vetorial e associação global do genoma em mosquitos *Aedes aegypti* da cidade de Botucatu infectados com Dengue vírus. (Tese).

Oliveira, R. L. D. (2015). Biologia e comportamento do vetor. In *Dengue: teorias e práticas* (pp. 75-92).

Ormaetxe, I., Walker, T., & O'Neill, S. L. (2011). Wolbachia and the biological control of mosquito-borne disease. *EMBO reports*, 12(6), 508-518.

Osei-Poku, J., Mbogo, C. M., Palmer, W. J., & Jiggins, F. M. (2012). Deep sequencing reveals extensive variation in the gut microbiota of wild mosquitoes from Kenya. *Molecular ecology*, 21(20), 5138-5150.

Pasakinskiene, I., & Paplauskiene, V. (1999). Floral meristems as a source of enhanced yield and quality of DNA in grasses. *Plant Cell Reports*, 18(6), 490-492.

Pinto Junior, V. L., Luz, K., Parreira, R., & Ferrinho, P. (2015). Vírus Zika: revisão para clínicos. *Acta Médica Portuguesa*, 760-765.

Pitisuttithum, P., & Bouckennooghe, A. (2016). The first licensed dengue vaccine: an important tool for integrated preventive strategies against dengue virus infection.

Poloni, T. R. R. S. (2009). *Detecção e tipificação do vírus da dengue por RT-PCR em tempo real*. (Dissertação).

Raharimalala, F. N., Boukraa, S., Bawin, T., Boyer, S., & Francis, F. (2016). Molecular detection of six (endo-) symbiotic bacteria in Belgian mosquitoes: first step towards the selection of appropriate paratransgenesis candidates. *Parasitology research*, 115(4), 1391-1399.

Ramirez, J. L., Souza-Neto, J., Cosme, R. T., Rovira, J., Ortiz, A., Pascale, J. M., & Dimopoulos, G. (2012). Reciprocal tripartite interactions between the *Aedes aegypti* midgut microbiota, innate immune system and dengue virus influences vector competence. *PLoS neglected tropical diseases*, 6(3), e1561.

Rothman, A. L. (2020). Transcriptional and clonal characterization of B cell plasmablast diversity following primary and secondary natural DENV infection. *EBioMedicine*, 54(1), 1-14.

Richards, S. L., Pesko, K., Alto, B. W., & Mores, C. N. (2007). Reduced infection in mosquitoes exposed to blood meals containing previously frozen flaviviruses. *Virus research*, 129(2), 224-227.

Ricklefs, R. E. (2010). *A Economia da Natureza*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Ritchie, S. A., Rapley, L. P., & Benjamin, S. (2010). *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) provides residual control of *Aedes aegypti* in small containers. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(6), 1053-1059.

Robinson, A. S., Franz, G., & Atkinson, P. W. (2004). Insect transgenesis and its potential role in agriculture and human health. *Insect biochemistry and molecular biology*, 34(2), 113-120.

Rocco, I. M., Kavakama, B. B., & Santos, C. L. S. (2001). First isolation of dengue 3 in Brazil from an imported case. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43(1), 55-57.

Rodgers, F. H., Gendrin, M., Wyer, C. A., & Christophides, G. K. (2017). Microbiota-induced peritrophic matrix regulates midgut homeostasis and prevents systemic infection of malaria vector mosquitoes. *PLoS pathogens*, 13(5), e1006391.

Romoser, W. S., Moll, R. M., Moncayo, A. C., & Lerdthusnee, K. (2000). The occurrence and fate of the meconium and meconial peritrophic membranes in pupal and adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 37(6), 893-896.

Rosselló-Móra, R. (2012). Towards a taxonomy of Bacteria and Archaea based on interactive and cumulative data repositories. *Environmental microbiology*, 14(2), 318-334.

Rosso, F., Tagliapietra, V., Albanese, D., Pindo, M., Baldacchino, F., Arnoldi, D., & Rizzoli, A. (2018). Reduced diversity of gut microbiota in two *Aedes* mosquitoes species in areas of recent invasion. *Scientific reports*, 8(1), 1-11.

Salazar, M. I., Richardson, J. H., Sánchez-Vargas, I., Olson, K. E., & Beaty, B. J. (2007). Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. *BMC microbiology*, 7(1), 9.

Santos, N. S. D. O., Romanos, M. T. V., & Wigg, M. D. (2008). *Introdução À Virologia Humana*. Grupo Gen-Guanabara Koogan.

Scolari, F., Casiraghi, M., & Bonizzoni, M. (2019). *Aedes* spp. and their microbiota: a review. *Frontiers in microbiology*, 10, 2036.

Seabourn, P., Spafford, H., Yoneishi, N., & Medeiros, M. (2020). The *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) microbiome varies spatially and with Ascogregarine infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(8), e0008615.

Sedda, L., Vilela, A. P. P., Aguiar, E. R. G. R., Gaspar, C. H. P., Gonçalves, A. N. A., Olmo, R. P., Kroon, E. G. (2018). The spatial and temporal scales of local dengue virus transmission in natural settings: a retrospective analysis. *Parasites & vectors*, 11(1), 79.

Segata, N., Baldini, F., Pompon, J., Garrett, W. S., Truong, D. T., & Dabiré, R. K. The reproductive tracts of two malaria vectors are populated by a core microbiome and by gender-and swarm-enriched microbial biomarkers. *Sci Rep*. 2016; 6: 24207.

Serufo, J. C., Nobre, V., Rayes, A., Marcial, T. M., & Lambertucci, J. R. (2000). Dengue: uma nova abordagem. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 33(5), 465-476.

Schloss, P. D., & Westcott, S. L. (2011). Assessing and improving methods used in operational taxonomic unit-based approaches for 16S rRNA gene sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(10), 3219-3226.

Silveira, L. T. C., Tura, B., & Santos, M. (2019). Systematic review of dengue vaccine efficacy. *BMC infectious diseases*, 19(1), 750.

Sim, S., Jupatanakul, N., Ramirez, J. L., Kang, S., Romero-Vivas, C. M., Mohammed, H., & Dimopoulos, G. (2013). Transcriptomic profiling of diverse *Aedes aegypti* strains reveals increased basal-level immune activation in dengue virus-refractory populations and identifies novel virus-vector molecular interactions. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(7), e2295.

Song, H., Li, J., Shi, S., Yan, L., Zhuang, H., & Li, K. (2010). Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture. *Virology journal*, 7(1), 40.

Sousa, N. A., Lobo, L. S., Rodrigues, J., & Luz, C. (2013). New insights on the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* formulation and application against *Aedes aegypti* eggs. *Letters in applied microbiology*, 57(3), 193-199.

Souza, L. J. D., Ronald, C., & Lopes, A. C. (2002). Aspectos clínicos da dengue: novos conceitos. *Rev Bras Clin Terap*, 28(2), 46-52.

Souza-Neto, J. A., Powell, J. R., & Bonizzoni, M. (2019). *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Infection, Genetics and Evolution*, 67, 191-209.

Stackebrandt, E., & GOEBEL, B. M. (1994). Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 44(4), 846-849.

Tabachnick, W. J. (2013). Nature, nurture and evolution of intra-species variation in mosquito arbovirus transmission competence. *International journal of environmental research and public health*, 10(1), 249-277.

Takken, W., & Verhulst, N. O. (2013). Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annual review of entomology*, 58, 433-453.

Tanaka, M. (1993). Rapid identification of flavivirus using the polymerase chain reaction. *Journal of virological methods*, 41(3), 311-322.

Tchankouo-Nguetcheu, S., Khun, H., Pincet, L., Roux, P., Bahut, M., Huerre, M., ... & Choumet, V. (2010). Differential protein modulation in midguts of *Aedes aegypti* infected with chikungunya and dengue 2 viruses. *PloS one*, 5(10), e13149.

Tchioffo, M. T., Boissiere, A., Churcher, T. S., Abate, L., Gimonneau, G., Nsango, S. E., ... & Morlais, I. (2013). Modulation of malaria infection in *Anopheles gambiae* mosquitoes exposed to natural midgut bacteria. *Plos one*, 8(12).

Teixeira, M. G., Costa, M. D. C. N., Barreto, F., & Barreto, M. L. (2009). Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. *Cadernos de saúde pública*, 25, S7-S18.

- Terenius, O., Lindh, J. M., Eriksson-Gonzales, K., Bussière, L., Laugen, A. T., Bergquist, H., & Faye, I. (2012). Midgut bacterial dynamics in *Aedes aegypti*. *FEMS microbiology ecology*, 80(3), 556-565.
- Trabulsi, L. R., & Alterthum, F. (2005). Microbiologia. In *Microbiologia*.
- Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., De Vos, P., Kersters, K., & Swings, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 60(2), 407-438.
- Vasilakis, N., Forrester, N. L., Palacios, G., Nasar, F., Savji, N., Rossi, S. L., ... & González, A. V. (2013). Negevirus: a proposed new taxon of insect-specific viruses with wide geographic distribution. *Journal of virology*, 87(5), 2475-2488.
- Vikram, K., Nagpal, B. N., Pande, V., Srivastava, A., Saxena, R., Singh, H., ... & Richard, P. (2015). Detection of dengue virus in individual *Aedes aegypti* mosquitoes in Delhi, India. *Journal of vector borne diseases*, 52(2), 129.
- Villegas, L. E., Campolina, T. B., Barnabe, N. R., Orfano, A. S., Chaves, B. A., Norris, D. E., & Secundino, N. F. (2018). Zika virus infection modulates the bacterial diversity associated with *Aedes aegypti* as revealed by metagenomic analysis. *PloS one*, 13(1).
- Wang, Y., Gilbreath III, T. M., Kukutla, P., Yan, G., & Xu, J. (2011). Dynamic gut microbiome across life history of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* in Kenya. *PloS one*, 6(9), e24767.
- Weiss, B., & Aksoy, S. (2011). Microbiome influences on insect host vector competence. *Trends in parasitology*, 27(11), 514-522.
- Wigginton, K. R., Pecson, B. M., Sigstam, T., Bosshard, F., & Kohn, T. (2012). Virus inactivation mechanisms: impact of disinfectants on virus function and structural integrity. *Environmental science & technology*, 46(21), 12069-12078.
- World Health Organization (WHO). (2009). Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition.
- World Health Organization (WHO). (2012). Handbook for integrated vector management.
- World Health Organization (WHO). (2013). Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected tropical diseases. França.
- World Health Organization (WHO). (2016). Mosquito control: can it stop Zika at source. Geneva.
- World Health Organization (WHO). (2020). Dengue and severe dengue. Geneva.
- Xi, Z., Ramirez, J. L., & Dimopoulos, G. (2008). The *Aedes aegypti* toll pathway controls dengue virus infection. *PLoS Pathog*, 4(7), e1000098.

- Yadav, K. K., Bora, A., Datta, S., Chandel, K., Gogoi, H. K., Prasad, G. B. K. S., & Veer, V. (2015). Molecular characterization of midgut microbiota of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* from Arunachal Pradesh, India. *Parasites & vectors*, 8(1), 641.
- Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K. H., & Rosselló-Móra, R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology*, 12(9), 635-645.
- Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.
- Zhu, J., Chen, L., & Raikhel, A. S. (2003). Posttranscriptional control of the competence factor β FTZ-F1 by juvenile hormone in the mosquito *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23), 13338-13343.
- Zink, S. D., Van Slyke, G. A., Palumbo, M. J., Kramer, L. D., & Ciota, A. T. (2015). Exposure to West Nile virus increases bacterial diversity and immune gene expression in *Culex pipiens*. *Viruses*, 7(10), 5619-5631.
- Zouache, K., Michelland, R. J., FAILLOUX, A. B., Grundmann, G. L., & Mavingui, P. (2012). Chikungunya virus impacts the diversity of symbiotic bacteria in mosquito vector. *Molecular Ecology*, 21(9), 2297-2309.
- Zouache, K., Raharimalala, F. N., Raquin, V., Tran-Van, V., Raveloson, L. H. R., Ravelonandro, P., & Mavingui, P. (2011). Bacterial diversity of field-caught mosquitoes, *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*, from different geographic regions of Madagascar. *FEMS Microbiology Ecology*, 75(3), 377-389.