

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 16 décembre 2024

Par Madame Sarah FRANCIS

***Wolbachia* : une bactérie méconnue aux relations complexes
et aux applications médicales prometteuses**

Membres du jury :

Président : Monsieur Hermann Emmanuel, Maître de Conférences, Université de Lille.
Faculté de Pharmacie, Immunologie.

Directeur de thèse : Monsieur Foligné Benoît, Professeur des universités Faculté des
sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille.

Asseseurs :

Madame Odou Marie-Françoise, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier (MCU-
PH) au sein de l'Université de Lille.

Monsieur Crespel Sidoine, Docteur en Pharmacie, Pharmacien adjoint à la Pharmacie
du Grand Palais, Lille.

Membre extérieur : Monsieur Blondiaux Nicolas, Biologiste Médical - Praticien
Hospitalier Laboratoire, Microbiologie, Groupement des Hôpitaux de l'Institut
Catholique de Lille.

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 1/9

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
Audrey Hennebelle Assistante de direction	Cyrille Porta Responsable des Services	Delphine Allorge Doyen

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Corinne ROBACZEWSKI
Olivier COLOT
Bertrand DÉCAUDIN
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen International
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoire-Partenariats
Vice-Doyen Santé numérique et Communication
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Hervé HUBERT
Karine FAURE
Damien CUNY
Vincent DERAMECOURT
Sébastien D'HARANCY
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Vincent SOBANSKI
Anne-Laure BARBOTIN
Valentin ROUSSEL

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté et
Assesseur aux Ressources et Personnels
Responsable des Services
Représentant étudiant
Chargé de mission 1er cycle
Chargée de mission 2eme cycle
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche
Chargé de mission Relations Internationales
Chargée de Mission Qualité
Chargé de mission dossier HCERES

Delphine ALLORGE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE
Philippe GERVOIS
Héloïse HENRY
Nicolas WILLAND
Christophe FURMAN
Marie-Françoise ODOU
Réjane LESTRELIN

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 2/9

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 3/9

M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 4/9

M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 5/9

M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 6/9

Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURGET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 7/9

M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 8/9

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 9/9

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

CYCLE DE VIE DU DOCUMENT

Version	Modifié par	Date	Principales modifications
1.0		20/02/2020	Création
2.0		02/01/2022	Mise à jour
2.1		21/06/2022	Mise à jour
2.2		01/02/2024	Mise à jour

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux
opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont
propres à leurs auteurs.**

Remerciements

A Monsieur Foligné : Un grand merci d'avoir accepté de m'encadrer dans mon travail de thèse et de m'avoir fait découvrir *Wolbachia*, une bactérie fascinante, dont j'ai pris plaisir à explorer l'univers. Vous avez toute ma gratitude, ma reconnaissance et mon respect pour votre investissement et votre réactivité. C'était un réel honneur de travailler avec vous.

A Monsieur Hermann : Je vous remercie profondément d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A Madame Odou : Je vous remercie chaleureusement de faire partie de mon jury de thèse en tant qu'assesseuse. Je vous prie de bien vouloir agréer l'expression de ma plus sincère considération.

A Monsieur Crespel : Merci cher Sidoine d'être assesseur dans mon jury, cela marquera d'autant plus ce moment si important de ma vie. Tu as toute mon amitié, mon affection, et mon plus profond respect.

A Monsieur Blondiaux : Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté d'être le membre extérieur de mon jury de thèse. Veuillez accepter toute ma gratitude à votre égard.

A la Pharmacie du Faubourg d'Arras : Merci Monsieur Mitoumba, merci Marine, pour m'avoir inculqué ces valeurs humaines d'une pharmacie proche et à l'écoute de ses patients. Je vous suis très reconnaissante de ce que vous m'avez appris et je vous en remercie encore une fois.

A mes Parents, Rachida Francis, ma Maman guerrière que j'ai pour modèle, et Georges Francis, mon Papa doux, blagueur et rassurant : Je ne saurais vous dire à quel point je suis reconnaissante de tout ce que vous avez pu faire pour moi. C'est dur de résumer en quelques lignes tout l'amour, le respect, l'admiration que j'ai pour vous. Merci d'être mes conseillers de vie au flair aiguisé. Merci d'être mes sources chaleureuses de soutien et d'énergie. Je vous aime. Et Papouni, merci pour tes yeux de lynx qui repèrent des fautes d'orthographe à dix kilomètres !

A mon Grand Frère, Chadi Francis : Merci pour tes conseils, merci pour ton sang-froid face à toute épreuve. Tu as la tête sur les épaules et tu trouves toujours les mots justes pour me rassurer. J'ai de la chance de t'avoir comme grand frère, j't'aime bro.

A ma Belle-Sœur, Meryem Francis : Je suis très heureuse et très fière de t'accueillir dans la famille. Tu es d'une douceur infinie et j'aime ta présence qui nous complète à merveille. Tu es la sœur que je voulais en étant petite, je t'aime.

A ma Précieuse Mamie Chérie et à mes deux Familles, Marocaine et Libanaise : Je vous aime fort, vous fais d'énormes bisous et vous souhaite tout le bonheur du monde. Une pensée très forte va à la mémoire de mon cher grand-père.

A mes Amis proches, Laura, Sidoine, Judith, Achille, Mathilde, Marie : Je vous remercie de votre présence dans ma vie et d'avoir donné une autre saveur à ces années d'études. Gros bisous sur vous les copains !

A mes Amis de PACES, Romane, Ophélie et son copain Adrien : Votre présence à des moments difficiles de ma vie m'a été précieuse, un énorme merci pour ça. J'espère pouvoir vous revoir bientôt, la bise !

A mes autres Potes de Pharma, dont Théo, Chiara, Lisa, Juliette... mais aussi mes amis d'enfance comme ma Salima : On a passé de belles années ensemble, et j'espère que cela continuera !

Pour finir, Merci à tous les Enseignants de la Faculté de Pharmacie, pour vos leçons et vos efforts parfois acharnés afin de faire progresser le pharmacien de demain. On vous voit, vous et votre travail, et on vous remercie.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	17
INTRODUCTION	19
1. GENERALITES	20
1.1 LA BACTERIE <i>WOLBACHIA</i>	20
1.1.1 CLASSIFICATION HIERARCHIQUE ET PHENOTYPES ASSOCIES	20
1.1.2 PHYLOGENIE DE L'ESPECE <i>WOLBACHIA PIPIENTIS</i>	22
1.1.3 LE MOBILOME DE <i>WOLBACHIA</i>	23
1.1.4 RELATIONS ENTRE <i>WOLBACHIA</i> ET SES HOTES	24
1.1.5 TRANSMISSION DE LA BACTERIE	25
1.1.6 PREVALENCE DE LA BACTERIE	26
1.2 LE MOUSTIQUE <i>Aedes aegypti</i>	28
1.2.1 PRESENTATION D' <i>Aedes aegypti</i>	28
1.2.2 PROPHYLAXIE ANTI-MOUSTIQUE	29
1.2.3 RELATION ENTRE <i>WOLBACHIA</i> ET <i>Aedes aegypti</i>	30
1.3 LES PATHOLOGIES	31
1.3.1 EVOLUTION CROISSANTE DES ARBOVIRUS	31
1.3.2 PRESENTATION ET EPIDEMIOLOGIE DE LA DENGUE	31
1.3.3 PRESENTATION ET EPIDEMIOLOGIE DU CHIKUNGUNYA	32
1.3.4 PRESENTATION ET EPIDEMIOLOGIE DU ZIKA	33
1.3.5 PRESENTATION ET EPIDEMIOLOGIE DE LA FIEVRE JAUNE	33
1.3.6 SYMPTOMATOLOGIES ET TRAITEMENTS DES ARBOVIROSES	34
2. LES PHENOTYPES INDUITS PAR <i>WOLBACHIA</i> CHEZ SES HOTES	38
2.1 L'INCOMPATIBILITE CYTOPLASMIQUE (IC)	38
2.1.1 PRESENTATION DE L'INCOMPATIBILITE CYTOPLASMIQUE (IC)	38
2.1.2 LES DIFFERENTS TYPES D'INCOMPATIBILITE CYTOPLASMIQUE (IC)	39
2.1.3 LES MECANISMES EMBRYONNAIRES DE L'IC	41
2.1.4 LES MECANISMES GENETIQUES DE L'IC : PRESENTATION DES GENES Cif	44
2.1.5 LES MECANISMES GENETIQUES DE L'IC : LE MODELE TOXINE/ANTIDOTE	45
2.1.6 LES FACTEURS QUI INFLUENCENT LA PENETRANCE DE L'IC	48

2.2	INHIBITION VIRALE INDUITE PAR <i>WOLBACHIA</i>	49
2.2.1	PRESENTATION DE L'INHIBITION VIRALE INDUITE PAR <i>WOLBACHIA</i>	49
2.2.2	CHRONOLOGIE DE L'INFECTION D' <i>Aedes aegypti</i> PAR LE DENV	50
2.2.3	1 ^{ERE} STRATEGIE : PRE-ACTIVATION DES VOIES DE L'IMMUNITE	52
2.2.4	2 ^{EME} STRATEGIE : MANIPULATION DES MICRO ARN.....	54
2.2.5	3 ^{EME} STRATEGIE : ALTERER L'ENVIRONNEMENT INTRACELLULAIRE DU DENV	54
2.3	AUTRES PHENOTYPES	56
2.3.1	MALE KILLING	56
2.3.2	FEMINISATION.....	57
2.3.3	PARTHENOGENESE THELYTOQUE.....	58
2.3.4	<i>WOLBACHIA</i> INFLUENCE LA VALEUR SELECTIVE DE SES HOTES	59
3.	<u>WOLBACHIA UTILISEE A DES FINS MEDICALES</u>	62
3.1	CONCEPTION DE LA METHODE DE LUTTE BIOLOGIQUE « <i>WOLBACHIA/Aedes aegypti</i> », L'EXEMPLE DU WORLD MOSQUITO PROGRAM (WMP)	62
3.1.1	PRESENTATION DU WORLD MOSQUITO PROGRAM (WMP).....	62
3.1.2	LES CONCEPTS DERRIERE LA LUTTE BIOLOGIQUE	63
3.1.3	LE CHOIX DE LA SOUCHE DE <i>WOLBACHIA</i>	65
3.1.4	LA CREATION D' <i>Aedes aegypti</i> TRANSGENIQUES	65
3.1.5	LIBERATION DES <i>Aedes aegypti</i> TRANSGENIQUES SUR LE TERRAIN	66
3.2	RESULTATS DE LA LUTTE BIOLOGIQUE, A TRAVERS LA STRATEGIE DU WMP	67
3.2.1	QUELQUES CHIFFRES DE LA LUTTE BIOLOGIQUE	67
3.2.2	ÉLÉMENTS DE COMPARAISON DE TROIS METHODES ANTI-ARBOVIROSES	68
3.2.3	FACTEURS LIMITANTS DE LA LUTTE BIOLOGIQUE	69
3.3	QUELQUES AUTRES PROJETS DE SANTE PUBLIQUE UTILISANT <i>WOLBACHIA</i>	71
3.3.1	<i>WOLBACHIA</i> CONTRE LE PALUDISME	71
3.3.2	<i>WOLBACHIA</i> CONTRE LES MALADIES FILAIRES	71
	<u>CONCLUSION</u>	73
	<u>ANNEXES</u>	75
	ANNEXE 1 : « MOLECULAR BIOLOGY OF CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY CAUSED BY <i>WOLBACHIA</i> ENDOSYMBIONTS », ECRIT PAR MARK HOCHSTRASSER, UN BIOLOGISTE AMERICAIN, DANS « ANNUAL REVIEW OF MICROBIOLOGY »	75

ANNEXE 2 : « A COMPREHENSIVE REVIEW OF *WOLBACHIA*-MEDIATED MECHANISMS TO CONTROL DENGUE VIRUS TRANSMISSION IN *Aedes aegypti* THROUGH INNATE IMMUNE PATHWAYS » (57) . 83
..... 84

ANNEXE 3 : TABLEAUX DE COMPARAISON DE PLUSIEURS METHODES ANTIVECTORIELLES (70)... 94

BIBLIOGRAPHIE 96

ABREVIATIONS

µm : Micromètre

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AMP : Antimicrobial peptide

ARNr 16S : Acide ribonucléique ribosomique sous-unité 16S

Cid A : Deubiquitylase A induisant l'incompatibilité cytoplasmique

Cid B : Deubiquitylase B induisant l'incompatibilité cytoplasmique

Cif : Cytoplasmic incompatibility factor

Cin A : Nucléase A induisant l'incompatibilité cytoplasmique

Cin B : Nucléase B induisant l'incompatibilité cytoplasmique

Cnd A : Nucléase et deubiquitylase A induisant l'incompatibilité cytoplasmique

Cnd B : Nucléase et deubiquitylase B induisant l'incompatibilité cytoplasmique

DEET : N1,N-diéthyl-meta-toluamide

DENV : Virus de la dengue

dsRNA : Double-stranded ribonucleic acid (ARN double brin)

DUB : Deubiquitylases

ER : Endoplasmic reticulum (Réticulum endoplasmique)

H3.3 : Histone 3.3

IC : Incompatibilité Cytoplasmique

IIT : Incompatible insect technique

IMD : Immune deficiency pathway (Voie de l'immunodéficience)

IR3535 : N-acétyl-N-butyl-alaninate d'éthyle

Jak/STAT : Janus kinase / Signal transducer and activator of transcription.

miRNA : Micro-ribonucleic acid (micro ARN)

MLST : Multilocus Sequence Typing

NEB : Nuclear envelope breakdown

nm : Nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase chain reaction

PRR : Pattern recognition receptor

PRS : Population replacement strategy

pWCP : Plasmid of *Wolbachia* endosymbiont in *C. pipiens*

RNAi : RNA interference (interférence par ARN)

ROS : Reactive oxygen species

SIT : Sterile Insect Technique

WMP : World Mosquito Program

WSP : Wolbachia surface protein

Introduction

Découverte il y a cent ans, la bactérie *Wolbachia* ne cesse de nous surprendre. Son génome diversifié et en constante expansion lui confère des propriétés particulières. Elle a d'abord été connue pour sa capacité à manipuler la reproduction de son hôte, mais on sait aujourd'hui qu'elle possède davantage de cordes à son arc. Elle a, en outre, gagné au jeu de la propagation et de la survie puisqu'elle est l'un des endosymbiotes les plus répandus du monde animal.

L'ensemble de ces qualités lui ont valu d'être scrupuleusement étudiée. Si bien que l'on trouva un intérêt médical à cette simple bactérie. En effet, *Wolbachia* est capable de diminuer la charge virale au sein de ses hôtes insectes. S'est alors imposée l'idée d'utiliser *Wolbachia* pour réduire la transmission des arbovirus, comme la dengue, véritable problème de Santé Publique mondiale, au sein des moustiques, dont l'espèce *Aedes aegypti*, 1^{er} vecteur d'arbovirose. C'est ce qu'on appelle la « lutte biologique » : utiliser des organismes vivants (*Wolbachia*) pour contrôler des espèces devenues envahissantes (moustiques vecteurs).

Le but premier de cette thèse est de plonger dans l'univers de *Wolbachia*, de comprendre ses relations avec les hôtes et les mécanismes qu'elle met en œuvre pour parvenir à ses fins. L'objectif secondaire est de mettre en exergue l'exploitation de *Wolbachia* au bénéfice de la lutte biologique anti-arbovirose.

Dans un premier temps, nous présenterons la bactérie *Wolbachia*, le moustique *Aedes aegypti*, et les différentes arboviroses, afin de fournir du contexte et des éléments de compréhension pour les parties suivantes.

Ensuite, nous développerons les propriétés de *Wolbachia* exercées sur ses hôtes, telles que l'incompatibilité cytoplasmique, l'inhibition virale et bien d'autres encore.

Enfin, nous montrerons comment *Wolbachia* est utilisée dans la lutte biologique anti-arbovirose et les résultats qui en découlent.

1. Généralités

Cette partie se concentre sur la présentation des différents acteurs de cette thèse. Premièrement, la bactérie *Wolbachia*, sa classification et ses phénotypes, sa diversité génomique, ses relations avec ses hôtes, ses mécanismes de transmission et enfin sa prévalence.

Ensuite, le moustique hôte *Aedes aegypti*, vecteur d'arbovirose, dont nous aborderons notamment les moyens de lutte préexistants.

Enfin, les arboviroses, en faisant un état des lieux des épidémiologies, des réservoirs naturels, des symptomatologies et des traitements.

1.1 La bactérie *Wolbachia*

1.1.1 Classification hiérarchique et phénotypes associés

L'espèce *Wolbachia pipientis* a été découverte en 1924 par deux scientifiques américains du nom de Marshall Hertig et Simeon Burt Wolbach. Elle a été nommée ainsi par Hertig en l'honneur de son collaborateur Wolbach et du moustique *Culex pipiens* dans lequel la bactérie a été découverte. (1)

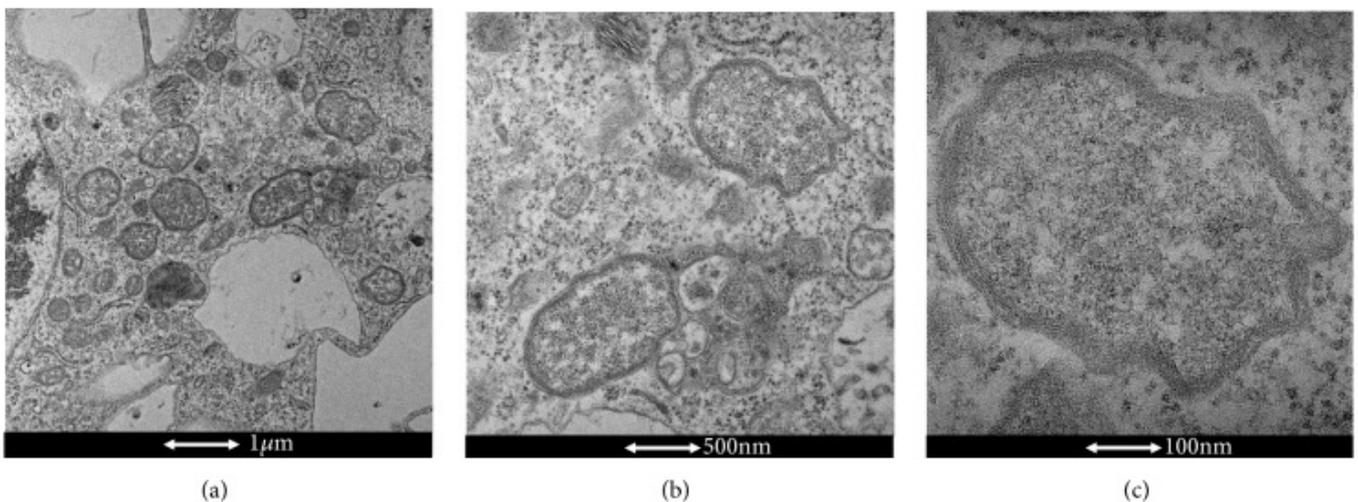
Figure 1 : Classification hiérarchique de *Wolbachia* (1)

Classe	Nom
Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Alphaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Rickettsiales</i>
Famille	<i>Rickettsiaceae</i>
Genre	<i>Wolbachia</i>
Espèce	<i>Wolbachia pipientis</i> Hertig, 1936

Wolbachia pipientis est la seule espèce du genre *Wolbachia* à ce jour. Ce genre fait lui-même partie de l'ordre des *Rickettsiales*, et en possède donc quelques caractéristiques communes (1) : Comme les *Rickettsiales*, les *Wolbachia* sont des bactéries pléiomorphes. C'est-à-dire qu'elles peuvent changer de forme, passant de court bacille à cocci. Elles sont de petites tailles. Le cocci mesure 0,25 à 1 μm de diamètre et le bacille 0,5 à 1,3 μm de long. De plus, ce sont des bactéries Gram négatives. Par ailleurs, elles sont obligatoirement intracytoplasmiques. Concernant leur localisation au sein de l'hôte eucaryote, on peut la retrouver dans l'hémolymphe, le cerveau, les antennes, les ailes, ou encore les tissus adipeux, mais surtout au niveau des cellules germinales. (2)

Figure 2 : *Wolbachia* vue au microscope électronique (1)

Réalisé par El Hadji Amadou Niang (1)



(a) Plusieurs *Wolbachia* sous leur forme cocci (échelle : 1 μm).

(b) Zoom sur deux *Wolbachia* (échelle : 500 nm).

(c) Zoom sur une seule cellule *Wolbachia* (échelle : 100 nm).

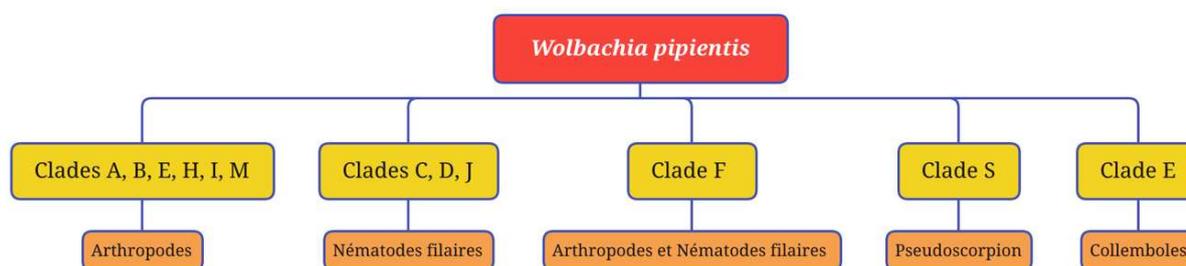
En revanche, à la différence des autres bactéries appartenant aux *Rickettsiales* : *Wolbachia* ne forme pas de morulae (il s'agit de kystes contenant jusqu'à plusieurs dizaines de bactéries agglomérées afin de se protéger du système immunitaire de l'hôte). De plus, elle infecte exclusivement les arthropodes et nématodes filaires, alors que certaines *Rickettsiales* appartenant à d'autres genres, tels que *Ehrlichia* et *Rickettsia*, infectent les mammifères, dont l'homme. Par ailleurs, elle n'est pas, en règle générale, nocive pour son hôte, entretenant une relation symbiotique avec ce dernier. (1)

1.1.2 Phylogénie de l'espèce *Wolbachia pipientis*

L'espèce *Wolbachia pipientis* est composée de plusieurs super-groupes phylogénétiques appelés clades. Ils sont nommés de A à F, puis de H à Q, et enfin S. Ces clades contiennent eux-mêmes plusieurs souches de *Wolbachia* différentes. La majorité des souches est cependant contenue dans les clades A et B. (3)

On trouve, par exemple, dans le clade B, la souche *wPip* qui a pour hôte *Culex pipiens*, le moustique dans lequel a été découverte *Wolbachia*. Dans le clade A, on a la souche *wMel*, qui parasite naturellement *Drosophila melanogaster* (mouche du vinaigre). C'est une des souches qui nous intéresse le plus car elle est utilisée pour infecter artificiellement le moustique *Aedes aegypti* dans le cadre de la lutte biologique, ce dernier n'étant pas un hôte naturel de *Wolbachia*.

Figure 3 : Les différents clades de *Wolbachia pipientis*



Les clades se différencient notamment par le type d'hôte qu'ils parasitent. Leurs hôtes sont variés et nombreux, mais il s'agit en majorité d'arthropodes. On peut citer les insectes, les araignées, les acariens, les isopodes terrestres... On sait d'ailleurs que *Wolbachia* infecte près de 50% des espèces d'insectes, ce qui en fait un des symbiotes les plus répandus du monde animal. (4) Le deuxième type d'hôtes le plus fréquent sont les nématodes filaires, puis dans une moindre mesure les pseudoscorpions et collemboles.

Initialement, la classification des super-groupes et des souches de *Wolbachia* était basée sur la variabilité de l'ARNr 16S (5) et du gène WSP(2). Cependant, l'ARNr 16S est d'évolution lente et le gène WSP est d'évolution rapide. Boldo et al. ont donc apporté une nouvelle classification en 2006, utilisant la méthode MLST. (7)

Le MLST est un outil universel visant au génotypage, ici, de cinq gènes omniprésents chez *Wolbachia* : *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *fbpA* et *ftsZ*. La diversité allélique de ces gènes

permet ainsi de classer efficacement les différentes souches de *Wolbachia*. Boldo et al. ont conservé le gène WSP comme système de typage complémentaire au MLST afin de parfaire la classification. (7)

1.1.3 Le mobilome de *Wolbachia*

Le premier génome de *Wolbachia* à être séquencé est celui de la souche *wMel*, infectant l'hôte *Drosophila melanogaster*, et comptait 1,3 méga bases. Les recherches autour de *Wolbachia* se sont énormément concentrées sur l'évolution de son génome et ce qui le compose, afin de comprendre la bactérie dans sa globalité et d'en expliquer ses spécificités. Le mobilome désigne l'ensemble des éléments mobiles du génome d'un organisme. Cela comprend les prophages, les transposons et les plasmides. (8)

Les prophages sont des génomes de virus intégrés dans le génome bactérien. On sait que *Wolbachia* a été, à un moment de son évolution, infectée par des prophages, et que ces derniers jouent un rôle crucial dans sa capacité à influencer la biologie de ses hôtes. Les prophages infectant *Wolbachia* sont appelés « phages WO ». Ils sont fréquemment trouvés dans les souches de *Wolbachia*, et sont présents dans au moins cinq clades, dont A, B, E, F et S. Quand le phage WO infecte *Wolbachia* et intègre son contenu génomique dans l'ADN de la bactérie, deux cas de figures peuvent survenir : le phage WO peut devenir lytique ou lysogénique. Si le phage WO devient lytique, il va se répliquer abondamment et détruire *Wolbachia*, puis partira coloniser d'autres cellules. Si le phage WO reste à l'état lysogénique, il s'intégrera de manière stable dans le chromosome de *Wolbachia*, se répliquant avec celui-ci et se transmettant aux descendants de *Wolbachia*. Par la suite, l'ADN viral intégré peut être conservé dans la bactérie ou se dégrader petit à petit par des remaniements génétiques. S'il est conservé, il pourra produire des protéines qui seront impliquées dans des mécanismes détaillés dans la partie 2, à savoir l'incompatibilité cytoplasmique et le « male killing ». (3) De plus, il faut noter que seules les souches contenant des prophages seront utilisées pour la lutte biologique.

Les transposons sont également des facteurs de variabilité et d'évolution du génome. En effet, les transposons ou éléments transposables ou encore « gènes sauteurs », sont des segments d'ADN capables de se déplacer d'une position à l'autre dans le génome. Ils sont impliqués dans les réarrangements génomiques de la bactérie et

dans les transferts horizontaux de gènes. Ils influencent ainsi l'adaptation, la biologie et les interactions avec l'hôte de *Wolbachia*, et auraient également une incidence sur une des propriétés de *Wolbachia*, qui est l'incompatibilité cytoplasmique. Ces transposons composent d'ailleurs une assez grande partie du génome. Par exemple, les séquences d'insertion, qui sont un type de transposon simple, constituent environ 10% du génome de *Wolbachia*. (3)

Enfin, les plasmides sont des molécules d'ADN que l'on trouve dans le cytoplasme et qui n'appartiennent pas au chromosome bactérien, ils sont capables de se répliquer de manière autonome. Ils contiennent des gènes qui peuvent s'avérer bénéfiques pour les bactéries. Les plasmides concernent plutôt les bactéries extracellulaires, mais une étude récente a montré que les bactéries *Wolbachia* pourraient se transmettre horizontalement ces plasmides entre elles. Avec *Wolbachia*, on parle souvent de plasmide « putatif », c'est-à-dire qu'il semblerait que ce soit un plasmide, sans que ce soit confirmé de manière définitive, le doute persiste sur le sujet. Le premier plasmide putatif à avoir été identifié chez *Wolbachia* est le plasmide pWCP, trouvé dans la population de *Culex pipiens* et au sein de la souche wPip qui le parasite. C'est un élément circulaire de 9,23 kilobases et qui contient 14 gènes dont un transposon. (9)

1.1.4 Relations entre *Wolbachia* et ses hôtes

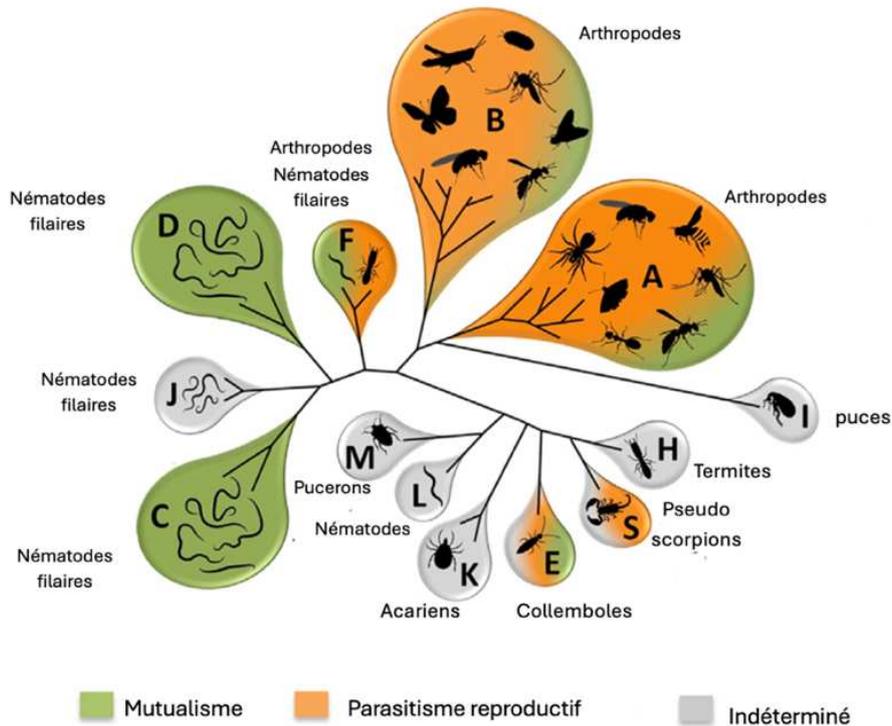
Étant dans un symbiote, *Wolbachia* entretient principalement des relations de mutualisme et de parasitisme reproductif avec son hôte. (3)

Le mutualisme est un type de symbiote où les deux individus tirent mutuellement des bénéfices de la relation. Alors que le parasitisme reproductif implique que les bénéfices ne sont que dans le sens de la bactérie qui profite de son hôte pour se reproduire.

La bactérie est parfois un mutualisme obligatoire pour son hôte. C'est le cas, par exemple, de la punaise de lit *Cimex lectularius* à laquelle *Wolbachia* apporte la vitamine B nécessaire à sa survie.(10) Ou encore, la guêpe parasitoïde *Asobara tabida*, pour qui *Wolbachia* est indispensable afin de réaliser l'ovogénèse. (11)

Mais elle peut également être un mutualisme facultatif pour son hôte. Elle permet par exemple à son hôte d'acquérir une immunité vis-à-vis d'autres micro-organismes. Nous aborderons plus amplement ce point dans la deuxième partie.

Figure 4 : Répartition des relations entre *Wolbachia* et ses hôtes (3)



1.1.5 Transmission de la bactérie

Wolbachia se transmet principalement de manière verticale, de la mère à ses descendants, via le cytoplasme des ovocytes. (12) Ainsi, seules les bactéries présentes dans les cellules germinales sont transmises à la descendance, les autres bactéries dans les cellules somatiques sont destinées à mourir avec l'hôte. (2)

De surcroît, *Wolbachia* se transmet de manière horizontale, au sein d'une même espèce ou d'une espèce à une autre. (12) Il a tout d'abord été pensé que ces transferts horizontaux étaient des événements rares, mais une étude récente semble suggérer le contraire. En effet, les génomes de 17 espèces d'hôtes différentes ont été étudiés, et parmi elles, 10 espèces partageaient les mêmes souches de *Wolbachia*, un résultat qui paraît plus élevé qu'attendu. Cela implique certainement une transmission horizontale entre ces différentes espèces. Il reste cependant toujours difficile de quantifier la fréquence de survenue de ce type de transmission de la bactérie (13).

En outre, les mécanismes des transferts horizontaux de *Wolbachia* sont complexes, nombreux et dépendant du type d'hôte. Plusieurs études ont été menées sur le sujet. On peut citer par exemple, les crustacés isopodes terrestres qui se transmettent

Wolbachia par l'hémolymphe entre deux individus blessés. (14) Ou encore, *Wolbachia* qui se transmet horizontalement au sein de l'espèce *Drosophila melanogaster* par phagocytose : *Wolbachia*, à l'intérieur de son hôte, induit sa propre phagocytose par un autre individu non infecté en manipulant le cytosquelette d'actine via un effecteur que la bactérie sécrète (protéine WDO830). (12) Par ailleurs, une hypothèse avait été avancée sur la transmission horizontale de *Wolbachia* par un système prédateur-proie, où la proie infectée transmettrait la bactérie à son prédateur au moment de l'ingestion. Cela a été étudié avec l'acarien prédateur *Metaseiulus occidentalis* et sa proie acarien *Tetranychus urticae*. L'hypothèse semble fonctionner sur ce couple prédateur-proie : la même souche de *Wolbachia* a été retrouvée chez les deux individus. Mais ces résultats sont à nuancer, car deux autres systèmes prédateurs-proie avaient été étudiés et n'ont pas révélé le même phénomène. De plus, L'auteur de l'étude a avancé qu'il serait peu probable que *Wolbachia* survive à la digestion de l'hôte prédateur. (15) Une autre hypothèse, cette fois-ci plus concluante, suggère qu'il occure des transferts horizontaux de *Wolbachia* d'un hôte à son parasite chez les isopodes. En effet, les mêmes souches de *Wolbachia* ont été retrouvées dans des larves de mouches rhinophoridés parasitoïdes et leur hôte cloporte *Armadillidium nasatum*, alors qu'ils ne possèdent aucun symbiote en commun. Le même phénomène a été observé chez le cloporte *Armadillidium vulgare* et une espèce d'acarien phorétique vivant sur le cloporte. (15)

1.1.6 Prévalence de la bactérie

S'il est dur d'établir la fréquence d'apparition des transmissions horizontales, on sait en revanche, que le taux de transmission maternelle est assez élevé, s'approchant de 90% pour la majorité des souches de *Wolbachia*. Cela devrait permettre à *Wolbachia* de rapidement coloniser une population, or il n'en est rien. La prévalence de *Wolbachia* au sein d'une population est en moyenne plutôt aux alentours de 60%. Cela varie considérablement d'une population à l'autre. Certaines espèces de moustiques, par exemple, peuvent être presque entièrement infectées, tandis que d'autres peuvent montrer des taux d'infection assez bas. (16) Cette variation de la prévalence de *Wolbachia* d'une population à une autre peut être expliquée par différents facteurs.

Premièrement, la distribution de *Wolbachia* dépend du type d'hôte. Certains hôte vont avoir plus tendance à transmettre *Wolbachia* au sein de l'espèce, surtout ceux impliqués dans un symbiote mutualiste. De plus, certaines populations d'hôtes font davantage de transferts horizontaux de *Wolbachia* que d'autres, en parallèle de la transmission verticale.

Deuxièmement, la prévalence de *Wolbachia* dépend du type de souche concernée. En effet, certaines souches sont plus virulentes que d'autres, notamment celles qui confèrent à leur hôte une protection contre les pathogènes. De même, certaines souches manipulent davantage la reproduction de leur hôte, ce qui influe positivement sur la propagation de la bactérie.

Troisièmement, on sait que les mâles sont une impasse génétique pour *Wolbachia*, puisqu'ils ne lui permettent pas d'être transmise à la descendance. Pour contourner ce problème, *Wolbachia* a mis en place des stratégies visant à augmenter le sex-ratio en faveur des femelles infectées par *Wolbachia*, nous étudierons ce phénomène plus en détail dans la deuxième partie. Cependant, ces stratégies apportent elles aussi leur lot de problèmes. En effet, en augmentant le nombre de femelles infectées, il reste moins de mâles pour les féconder. D'autant plus qu'il a été rapporté une préférence des mâles pour s'accoupler avec des femelles non infectées par *Wolbachia* (allant même jusque fournir une quantité moins importante de sperme lors de l'accouplement avec une femelle infectée). (17) Par ailleurs, des résistances aux mécanismes déployés par *Wolbachia* sont apparues chez certains hôtes, freinant alors sa propagation à travers les populations. (18)

Enfin, il ne faut pas négliger l'impact des conditions environnementales, aussi bien sur la propagation et la survie de l'hôte, que sur celles de *Wolbachia*.

1.2 Le moustique *Aedes aegypti*

1.2.1 Présentation d'*Aedes aegypti*

Aedes aegypti est un insecte diptère de la famille des culicidés, plus communément appelé moustique. (19) Il est reconnaissable par les taches blanches sur ses pattes et la forme de lyre blanche sur son thorax. (20)

Ces moustiques vivent dans les régions tropicales et subtropicales, demeurant essentiellement aux alentours des zones aqueuses, puisqu'ils se servent de petits réservoirs d'eau pour pondre leurs œufs. (21) Ce sont des moustiques plutôt à activité diurne, ne se déplaçant pas à plus de 100 mètres de leur gîte larvaire. (22)

Ils peuvent transmettre à l'homme des pathologies, et notamment des maladies virales. Pour qu'un virus puisse infecter un moustique, il faut d'abord que ce moustique sain pique une personne porteuse du virus. Ensuite, il y a une période d'incubation de quelques jours, pendant laquelle le virus se réplique au sein du moustique et atteint les glandes salivaires. Lorsque le moustique pique à nouveau une personne, il lui déverse le pathogène dans le sang. Le virus se réplique alors à l'intérieur de cette nouvelle personne infectée jusqu'à atteindre une concentration plasmatique élevée, après quoi il peut contaminer d'autres moustiques et perpétuer le cycle de transmission. L'infection virale n'a pas d'incidence pour la santé du moustique. (23)

Il faut noter qu'uniquement les moustiques femelles sont hématophages, en effet, le sang récolté est utilisé comme source de protéines pour le développement des œufs. Ainsi, seule les moustiques femelles peuvent être infectées et transmettre le virus. (24)

Les moustiques *Aedes aegypti* sont impliqués dans la propagation de maladies vectorielles arbovirose telles que la dengue, le Zika, le chikungunya et la fièvre jaune. Ce sont des pathologies dont il n'existe pas de traitement spécifique, avec parfois des complications graves, voire mortelles. La lutte contre ces arbovirose et ces moustiques vecteurs sont un enjeu crucial de Santé Publique mondiale.

1.2.2 Prophylaxie anti-moustique

Des mesures préventives ont été mises en place contre les moustiques au sein des zones d'endémie.

En premier lieu, l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides autour du lit et des fenêtres de l'habitat est fortement recommandée. C'est une technique particulièrement efficace sur les moustiques d'activité nocturne, mais ce n'est pas le cas d'*Aedes aegypti*, il faut donc nécessairement coupler cette technique à d'autres en période d'endémie. (25)

Pour les voyageurs, l'utilisation de répulsifs cutanés anti-moustiques est fortement recommandée. Ces produits biocides contiennent soit du DEET, de l'IR3535, de l'icaridine, ou de l'huile d'*Eucalyptus citriodora*. Le DEET est le biocide le plus efficace et existe sur le marché depuis longtemps, il y a donc le recul nécessaire sur son utilisation. Il n'est cependant, pas recommandé chez les femmes enceintes. Il peut être utilisé à faible concentration (10% maximum) chez l'enfant de 1 à 2 ans. L'IR3535 a le mérite d'avoir peu d'effets toxiques recensés. Il est utilisable chez la femme enceinte et l'enfant à partir de 6 mois, à condition de ne pas dépasser une concentration de 20%. L'icaridine ne dispose pas encore d'AMM, mais il peut être utilisé dès 24 mois à la concentration maximale de 25%, et chez la femme enceinte, à la concentration maximale de 20%. L'huile d'*Eucalyptus citriodora* n'a pas non plus d'AMM et sa toxicité n'a été que partiellement évaluée, son utilisation est contre-indiquée chez les enfants de moins de 3 ans. Ces répulsifs sont à appliquer sur la peau exposée, maximum 3 fois par jour pour un adulte. (25)

Afin de parfaire la protection, il est recommandé de toujours porter des vêtements légers, amples et couvrants, de couleur claire. (25)

L'imprégnation des vêtements par la perméthrine n'est recommandée qu'en cas de nonaccès à d'autres moyens de prévention, en raison du rapport bénéfice risque défavorable des produits proposés. Cependant, des produits d'imprégnation des tissus à base d'IR3535 ou de DEET ont depuis peu obtenu une AMM. Ils peuvent être utilisés comme un outil supplémentaire aux autres moyens de protection à partir de l'âge de 12 mois. (25)

En complément de ces techniques, des moyens d'appoints peuvent être utilisés, comme les diffuseur électrique d'insecticide, les raquettes électriques, la pulvérisation

intra-domiciliaire d'insecticides, la climatisation, la ventilation et les serpentins fumigènes. Ce sont bien des techniques complémentaires, qui ne sauraient se soustraire aux autres mentionnées précédemment au vu de leur faible efficacité. (25)

Concernant les insecticides, la perméthrine notamment, ils sont assez efficaces, mais non sélectifs, de ce fait ils sont susceptibles de tuer les prédateurs des moustiques également. De plus, des résistances sont apparues et leur toxicité vis-à-vis de l'homme et de l'environnement pose problème. (25)

Il existe d'autres techniques non recommandées : les bracelets anti-insectes, les huiles essentielles, les appareils sonores à ultrasons, la vitamine B1, l'homéopathie, les rubans, papiers et autocollants gluants sans insecticide. L'efficacité de ces produits n'a jamais été prouvée, d'autant plus qu'ils exposent parfois à des substances potentiellement dangereuses pour l'organisme. (25)

Enfin, concernant la population résidente en zone d'endémie, de simples gestes sont à adopter contre les moustiques, comme l'élimination des gîtes larvaires autour du domicile une fois par semaine. Des campagnes sont régulièrement menées par les gouvernements des États concernés pour éduquer les populations sur le sujet. (26)

1.2.3 Relation entre *Wolbachia* et *Aedes aegypti*

La bactérie *Wolbachia* n'est pas naturellement retrouvée dans *Aedes aegypti*. wMel est une des souches qui a été choisie pour artificiellement infecter *Aedes aegypti*, notamment en raison de sa forte capacité à réduire les infections des moustiques par certains virus et parasites. (27)

En soi, *Wolbachia* n'enregistre pas de réel bénéfice pour *Aedes aegypti*, à part peut-être de booster son système immunitaire (thème abordé dans la deuxième partie). Cela reste une relation symbiotique de parasitisme reproductif en faveur de *Wolbachia*, qui profite de son hôte pour se propager.

1.3 Les pathologies

1.3.1 Evolution croissante des arbovirus

Ces dernières années, une propagation ainsi qu'une hausse du nombre de cas d'arboviroses ont été constatées dans le monde entier, touchant des pays qui n'avaient alors jamais été contaminés.

La fièvre jaune, par exemple, avait presque disparu d'Amérique du Sud vers les années 1950, puis est revenue en force successivement en Colombie en 2003 et au Brésil en 2017. De plus, le virus de la fièvre jaune ne se limite maintenant plus à la savane, ni à la bordure de forêt, gagnant les cités urbaines en expansion, qui offrent aux moustiques de nouveaux lieux de vie (vieux pneus, bidons pleins d'eau...). (28)

Plusieurs raisons sont à l'origine de ces évolutions. Premièrement, l'augmentation des voyages avec le tourisme et le commerce international a été mise en cause. En effet, les voyageurs qui partent en zone d'endémie puis qui reviennent dans leur pays, risquent de ramener le virus au sein de nouveaux territoires. D'autant plus que les arboviroses sont généralement asymptomatiques, de ce fait, les voyageurs n'ont souvent pas conscience qu'ils sont porteurs de virus.

Par ailleurs, les moustiques *Aedes aegypti* sont originaires d'Afrique et se sont dispersés à travers le monde en voyageant sur les bateaux lors de périodes historiques de mouvements internationaux, comme la traite négrière, le commerce avec l'Asie aux XVIIIe et XIXe siècles, et les déplacements de troupes lors de la seconde guerre mondiale.(29)

Ensuite, le réchauffement climatique, ainsi que l'augmentation de l'humidité et des précipitations, créent un climat de vie propice aux moustiques, ce qui en favorise leur dispersion.

On retrouve donc maintenant *Aedes aegypti* principalement en Afrique, en Amérique centrale et du Sud, et au sein d'une vingtaine de pays d'Asie du Sud. (21)

1.3.2 Présentation et épidémiologie de la dengue

La dengue est l'arbovirose la plus répandue dans le monde. Il s'agit d'une infection par le virus de la dengue (DENV), transmise à l'homme par la piqûre de

moustique infecté. Il existe 4 sérotypes de virus différents, de DENV-1 à DENV-4. Être infecté par un sérotype confère une immunité protectrice pour ce sérotype, mais pas pour les autres.(30)

Le principal réservoir de la dengue est l'homme, ensuite il s'agit des moustiques vecteurs, qui sont les *Aedes aegypti* et, dans une moindre mesure, les *Aedes albopictus* (moustique tigre). Les singes peuvent sporadiquement être infectés.(31)

La dengue est endémique dans plus de 100 pays, et on compte chaque année entre 100 à 400 millions d'infections dans le monde. (31) Elle sévit dans les régions tropicales du monde entier, notamment dans les milieux urbains. L'Amérique latine et l'Asie du Sud-Est et du Pacifique occidental sont particulièrement touchées par ce fléau, l'Asie concentrant environ 70 % de la charge de morbidité mondiale. Dans ces pays, il y a des poussées endémiques tous les 3 à 5 ans et le DENV y est l'arbovirus le plus répandu. L'Afrique est également concernée, on compte des poussées épidémiques dans au moins 15 pays du continent. (32)

De surcroît, le nombre de cas de dengue ainsi que l'ampleur des flambées ont été en hausse dans le monde ces deux dernières décennies, atteignant un pic inquiétant en 2023. (32)

1.3.3 Présentation et épidémiologie du chikungunya

Le chikungunya est une maladie provoquée par le virus du chikungunya (CHIKV), transmise aux humains par les moustiques *Aedes aegypti* et *albopictus*. La maladie sévit dans plus de 60 pays, principalement en Afrique, Asie et Amérique latine. (23) Le réservoir de la maladie est principalement les hommes, les moustiques, puis, plus rarement les singes. (33)

Depuis la première épidémie de chikungunya en 1952 en Tanzanie, la maladie a amplement évolué sur les continents africain et asiatique, et en particulier en Inde à partir de 2006 (on compte environ 2 millions de cas en Inde cette année). Elle a même progressé jusqu'en Europe, touchant plusieurs centaines de personnes en Italie en 2007, et atteignant la Nouvelle-Calédonie et la Polynésie française par la suite. (23)

1.3.4 Présentation et épidémiologie du Zika

Le Zika est une maladie provoquée par le virus du Zika et est transmise à l'homme par les moustiques *Aedes aegypti* et *albopictus*. (34)

Elle a été détectée pour la première fois chez un singe en Ouganda en 1947. Les premiers cas humains surviennent dans les années 1970 dans d'autres pays d'Afrique, puis dans certains pays d'Asie. C'est en 2007 qu'apparaît la première réelle épidémie, qui a eu lieu en Micronésie, causant 5 000 infections. Le Zika infecte ensuite la Polynésie française en 2013, avec 55 000 cas signalés cette année. Le virus poursuit son chemin jusqu'au Brésil en 2015, créant la plus grosse épidémie jamais arrivée de Zika avec 440 000 à 1 500 000 de cas suspects rapportés, propageant définitivement le virus dans toute l'Amérique. En France métropolitaine, il y a eu 176 personnes contaminées, dont 7 femmes enceintes, 1 cas de complications neurologiques et 1 personne infectée par le virus par voie sexuelle. (34)

En effet, le Zika, bien qu'en majorité transmis à l'homme par les moustiques, peut également se transmettre par voie sexuelle, ou par transfusion sanguine, ou encore de la femme enceinte à son enfant. (35)

1.3.5 Présentation et épidémiologie de la fièvre jaune

La fièvre jaune est une arbovirose transmise par des piqûres de moustiques principalement en journée. Il s'agit initialement d'une zoonose transmise de singe en singe via les moustiques *Aedes aegypti* et les moustiques *Haemagogus* et *Sabethes*. L'homme passant dans ces foyers d'endémie se fait sporadiquement attaquer par ces moustiques et finit par ramener le virus en milieu urbain. (28)

L'OMS estime chaque année 200 000 cas de fièvre jaune et 30 000 décès dus à cette maladie dans le monde.(28) La pathologie est endémique dans 34 pays d'Afrique subsaharienne et 13 pays d'Amérique du Sud. L'Afrique recense 95% des cas mondiaux de la fièvre jaune, c'est donc le continent le plus touché par ce fléau. Mais la fréquence des épidémies a régulièrement évolué au cours de ces dernières années. La maladie a particulièrement frappé au Mali et au Soudan en 2005, ainsi qu'en Angola et en République démocratique du Congo en 2016 (où des campagnes de vaccination d'urgence ont été mises en place). (28)

1.3.6 Symptomatologies et traitements des arboviroses

Ces arboviroses sont, dans la plupart des cas, asymptomatiques. Lorsqu'elles ne le sont pas, leur tableau clinique est très similaire, entraînant souvent des erreurs de diagnostic entre elles.

Figure 5 : Tableau comparatifs des signes cliniques de la dengue, du chikungunya, du Zika et de la fièvre jaune (36,37)

Signes cliniques	Dengue	Chikungunya	Zika	Fièvre jaune
Incubation	4-10 jours	2-7 jours	3-12 jours	3-6 jours
Symptomatique	10 à 50% des cas	75 à 95% des cas	50% des cas	50 à 90% des cas
Hyperthermie	++++	++++	++	++++
Céphalée	++++	++++	++	++++
Myalgie et arthralgie	+++	++++	++	+++
Nausée, vomissement	++++	++	++	++++
Éruption cutanée	++++	++++	++++	+
Conjonctivite	+	+	++++	+
Durée des symptômes	7 à 14 jours	7 à 14 jours	2 à 7 jours	3 à 6 jours

Toutes ces pathologies peuvent entraîner des complications rares mais potentiellement graves.

Concernant la dengue, il y a un risque de développer un syndrome polyviscéral et hémorragique. Ce syndrome consiste en un choc hypovolémique et hémorragique,

avec parfois des atteintes sévères d'organes (méningo-encéphalite, myocardite, hépatite fulminante, rupture de rate), pouvant entraîner jusqu'à la mort. (37)

Le chikungunya peut se compliquer d'arthralgies chroniques, mais également de syndrome neurologique, d'atteintes cutanées sévères (éruptions bulleuses), d'hépatites, de myocardites et de rares formes hémorragiques particulièrement chez les patients à risque. (37)

Les symptômes du Zika peuvent exceptionnellement s'accompagner du syndrome de Guillain-Barré (paralysie ascendante progressive qui peut atteindre les muscles respiratoires), de neuropathie et de myélite chez l'adulte et l'enfant. (35) De plus, pendant la grossesse le Zika peut entraîner des malformations congénitales du nourrisson, et notamment la microcéphalie, responsable d'un retard mental irréversible. Cette microcéphalie a été déclarée comme une urgence de santé publique de portée internationale par l'OMS en 2016. Le Zika peut également être responsable de prématurité et de fausse couche. (35)

La fièvre jaune présente un risque de forme grave qui se compose d'une rémission passagère suivie d'une hépatite ictérique, entraînant une jaunisse (d'où la fièvre « jaune ») et l'apparition d'un syndrome hémorragique avec vomissement de sang noirâtre (d'où un autre nom de la fièvre jaune : « vomito negro »), et de troubles rénaux (albuminurie). Puis, il y a un risque d'hallucination, de convulsion, de coma, et enfin de mort dans 20 à 60% des cas de formes graves. (28)

Il n'y a pas de traitement spécifique contre la fièvre jaune, en revanche il y a la prévention par vaccination. (28) Le vaccin le plus couramment utilisé est le Stamaril®. Il confère une immunité efficace chez 80 % à 100 % des personnes vaccinées dans les 10 jours, et à plus de 99 % des personnes vaccinées dans les 30 jours. (38) Il s'agit d'un vaccin vivant atténué, ne devant donc pas être administré aux personnes immunodéprimées. En France, le vaccin est à réaliser dans un centre de vaccination pour voyageur, environ 15 jours avant le voyage à destination d'une zone d'endémie. C'est un vaccin recommandé à partir de 9 mois pour les résidents de zones endémiques, ou à partir de 6 mois en cas d'actuelle épidémie. Une seule dose est généralement suffisante pour une protection à vie, mais parfois un rappel tous les 10 ans est exigé pour les voyageurs.

Depuis 2016, il existe également un vaccin contre la dengue, le Dengvaxia®. Il s'agit d'un vaccin tétravalent dont les recommandations d'utilisation varient d'un pays à l'autre. Au vue de son efficacité variable et de son profil de sécurité mitigé, la Haute Autorité de Santé ne recommande la vaccination en France que pour les patients de 6 à 45 ans qui ont des antécédents documentés d'infection par la dengue et vivants dans des zones d'endémie. (39)(40)

Concernant les autres arboviroses, il n'existe aucun traitement, ni vaccin. De manière générale lors d'une infection par arbovirose, seuls les symptômes sont traités (antipyrétiques, antalgiques...).

2. Les phénotypes induits par *Wolbachia* chez ses hôtes

Les phénotypes désignent les caractères observables d'un organisme. Ils sont conditionnés en grande partie par l'expression du patrimoine génétique, mais dépendent aussi des influences du milieu ou des caractères acquis au cours du développement de l'individu. (41)

Wolbachia fait partie de ces influences pour ses hôtes. Elle est capable d'en modifier des caractéristiques physiques, physiologiques et comportementales. On dit que *Wolbachia* induit des phénotypes chez son hôte.

Par exemple, afin de favoriser sa propagation, *Wolbachia* est capable de manipuler les mécanismes de reproduction de son hôte. Elle induit donc des phénotypes reproductifs, dont le plus connu et le plus répandu est l'incompatibilité cytoplasmique, que nous détaillerons en première sous-partie. De surcroît, *Wolbachia* confère une capacité d'inhibition virale à son hôte, thème abordé dans la deuxième sous-partie.

Ces deux points, l'incompatibilité cytoplasmique et l'inhibition virale, sont l'essentiel des phénotypes induits par *Wolbachia* chez *Aedes aegypti*.

Mais nous verrons dans la troisième sous-partie, que la bactérie est capable d'induire davantage de phénotypes chez ses autres hôtes. Il y a par exemple, d'autres phénotypes reproductifs comme la féminisation, la parthénogénèse thélytoque et le « male killing ».

2.1 L'incompatibilité cytoplasmique (IC)

2.1.1 Présentation de l'incompatibilité cytoplasmique (IC)

L'incompatibilité cytoplasmique (IC) a été observée pour la première fois par Laven en 1951(42). Il fut constaté que certains croisements entre différentes souches de *Culex* aboutissaient à une mort de la progéniture. Ce phénomène semblait être dû à un défaut de compatibilité cytoplasmique entre le mâle et la femelle, d'où son nom.

Il faut attendre 1971, avec les chercheurs Yen et Barr, pour que ce phénomène soit associé à la présence de *Wolbachia* dans le *Culex* (43). Ils ont traité certaines larves de *Culex* par de la tétracycline, éliminant ainsi la bactérie *Wolbachia* de ces larves.

Une fois ces larves adultes, les chercheurs établirent plusieurs croisements avec d'autres adultes infectés ou non par *Wolbachia*. Ainsi, ils observèrent que si un mâle non infecté s'accouplait avec une femelle non infectée, alors leur progéniture était la plupart du temps viable. Ils en conclurent, que la mort de ces embryons était bien liée à présence de *Wolbachia*.

Plusieurs questions se posent alors : Pourquoi est-ce que *Wolbachia* tue ces embryons ? Quels en sont les impacts pour elle et son hôte ? Et surtout comment fait-elle ?

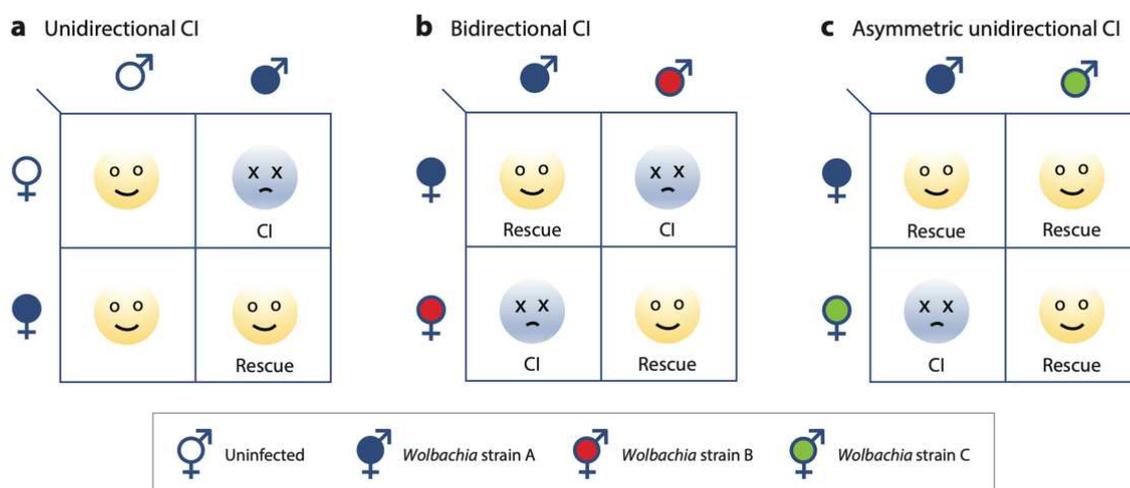
2.1.2 Les différents types d'incompatibilité cytoplasmique (IC)

L'article « Molecular Biology of Cytoplasmic Incompatibility Caused by *Wolbachia* Endosymbionts », écrit par Mark Hochstrasser, un biologiste américain, dans « *Annual Review of Microbiology* » (cf. : Annexe 1), fait un état des lieux des connaissances sur l'IC en 2023. (44) Aussi, nous nous servons de son article comme base pour nos recherches sur l'IC.

Il convient de noter que l'IC est un phénomène complexe, non parfaitement élucidé, dépendant aussi bien de la nature des hôtes que du type de souches de *Wolbachia*. Ainsi, nous présenterons ici les théories actuelles qui semblent les plus probables quant aux mécanismes impliqués dans l'IC.

L'auteur commence par décrire les différents cas d'IC observés dans la nature, issus de croisements entre individus infectés ou non par *Wolbachia*.

Figure 6 : Les types d'incompatibilité cytoplasmique (44)



Nous avons déjà vu que si des **mâles et femelles non** infectés s'accouplent, alors leur progéniture était en général **viable** (cf. figure 6, a.).

En revanche, il a été observé que si un **mâle infecté** s'accouplait avec une **femelle non** infectée, alors leur progéniture était **non** viable (cf. figure 6, a.).

De plus, si une **femelle infectée** s'accouple avec un mâle infecté de la même souche ou un mâle non infecté, alors la progéniture est souvent **viable** (cf. figure 6, a.).

Cela est appelé l'incompatibilité cytoplasmique « unidirectionnelle », car il y a une mortalité embryonnaire que dans un seul sens de croisement, à savoir celui où le père est le **seul** infecté.

La **femelle infectée** par *Wolbachia* possède une caractéristique qui lui permet de « **sauver** » sa progéniture en cas d'accouplement avec **mâle infecté**, alors que ce dernier possède quelque chose qui **tue** sa progéniture.

On comprend donc que *Wolbachia* apporte un avantage sélectif fort pour les **femelles infectées**, qui peuvent alors se reproduire avec presque n'importe quel mâle de la population. C'est cohérent avec *Wolbachia* et sa volonté de se propager, puisqu'elle se transmet de la mère à l'enfant. *Wolbachia* a tout à gagner à favoriser la progéniture des femelles infectées, la transmission maternelle de *Wolbachia* à l'enfant étant proche des 90%.

De surcroît, pour compliquer les choses, si une femelle infectée s'accouple avec un mâle infecté d'une autre souche de *Wolbachia* qu'elle, alors la progéniture ne pourra être viable que dans certains cas (cf. figure 6, b. et c.), énoncés ci-dessous :

Soit la progéniture n'est jamais viable entre deux souches différentes. C'est ce qu'on appelle une IC « bidirectionnelle », car il y a une mortalité embryonnaire dans deux sens de croisements (cf. figure 6, b). (44)

Soit, les souches sont compatibles, mais dans un seul sens de croisement uniquement. C'est une IC « unidirectionnelle asymétrique ». Dans l'exemple **c** de la figure 6, la mère souche C et le père souche A sont pas compatibles, alors que le père souche A et la mère souche C le sont (ce n'est pas toujours le père qui est compatible, il s'agit ici d'un exemple !). On ne sait pas vraiment expliquer ce phénomène qui ne procure pas d'avantage sélectif à la mère. En revanche, certaines souches pourront

se propager plus facilement que d'autres, car elles seront, par exemple, facilement compatibles avec plusieurs souches (cf. [figure 6](#), c).

Il est important d'avoir en tête que ces deux cas de figures existent, car on en déduit que certaines souches sont favorisées par l'IC. C'est donc un paramètre à prendre en compte dans le choix de la souche pour la lutte biologique.

Il existe d'autres cas de figure d'IC, comme par exemple, l'IC entre individus pluri-infectés par différentes souches de *Wolbachia*. Ces cas sont complexes et moins répandus, aussi nous ne nous attarderons pas dessus.

2.1.3 Les mécanismes embryonnaires de l'IC

Pour comprendre les mécanismes embryonnaires de l'IC, il faut revoir quelques étapes clés de la fécondation (cf. [figure 7](#)).

Lors de la spermatogénèse chez l'hôte mâle, l'ADN est compacté par des protéines appelées protamines. Plus tard, lors de la fécondation, l'enveloppe nucléaire paternelle est détruite, les protamines partent et sont remplacées par des histones maternelles. Ensuite, vient la réplication de l'ADN, puis la première mitose. Les chromosomes paternels et maternels se condensent, s'alignent puis se séparent lors de l'anaphase. (44)

L'article nous informe que c'est au niveau de ces étapes que va agir l'incompatibilité cytoplasmique. Selon l'espèce d'hôte, on n'observe pas les défauts cellulaires que cause l'IC au même moment, même si c'est généralement visible dès la première mitose. (44)

Chez les drosophiles par exemple, l'IC frappe très vite, en retardant la disposition des histones maternelles sur l'ADN paternel (cf. [figure 7](#)). Cela a pour conséquence une réplication lente de l'ADN paternel, voir incomplète, accompagnée d'un ralentissement à la fois de l'activation des protéines Cdk1, du départ de l'enveloppe du noyau, et aussi de la condensation des chromosomes paternels. A l'inverse, du côté de l'ADN maternel, tout se déroule dans les temps. Il y a donc un décalage entre les chromosomes maternels et paternels, entraînant une mauvaise ségrégation des chromosomes pendant l'anaphase. (45)

Par ailleurs, puisque les chromosomes maternels sont fonctionnels, l'IC peut conduire à une progéniture haploïde viable chez certaines espèces d'hôtes haploïdes, (ce n'est, bien sûr, pas le cas d'*Aedes aegypti*). (44)

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer l'IC. Le plus connu et le plus probable est le modèle toxine/antidote où *Wolbachia* produirait des « toxines » pour inhiber des composants du cycle cellulaire et de la fécondation. Si la femelle est infectée, elle pourra alors fournir un « antidote » pour sauver sa progéniture. Nous allons revenir sur ce modèle par la suite. (44)

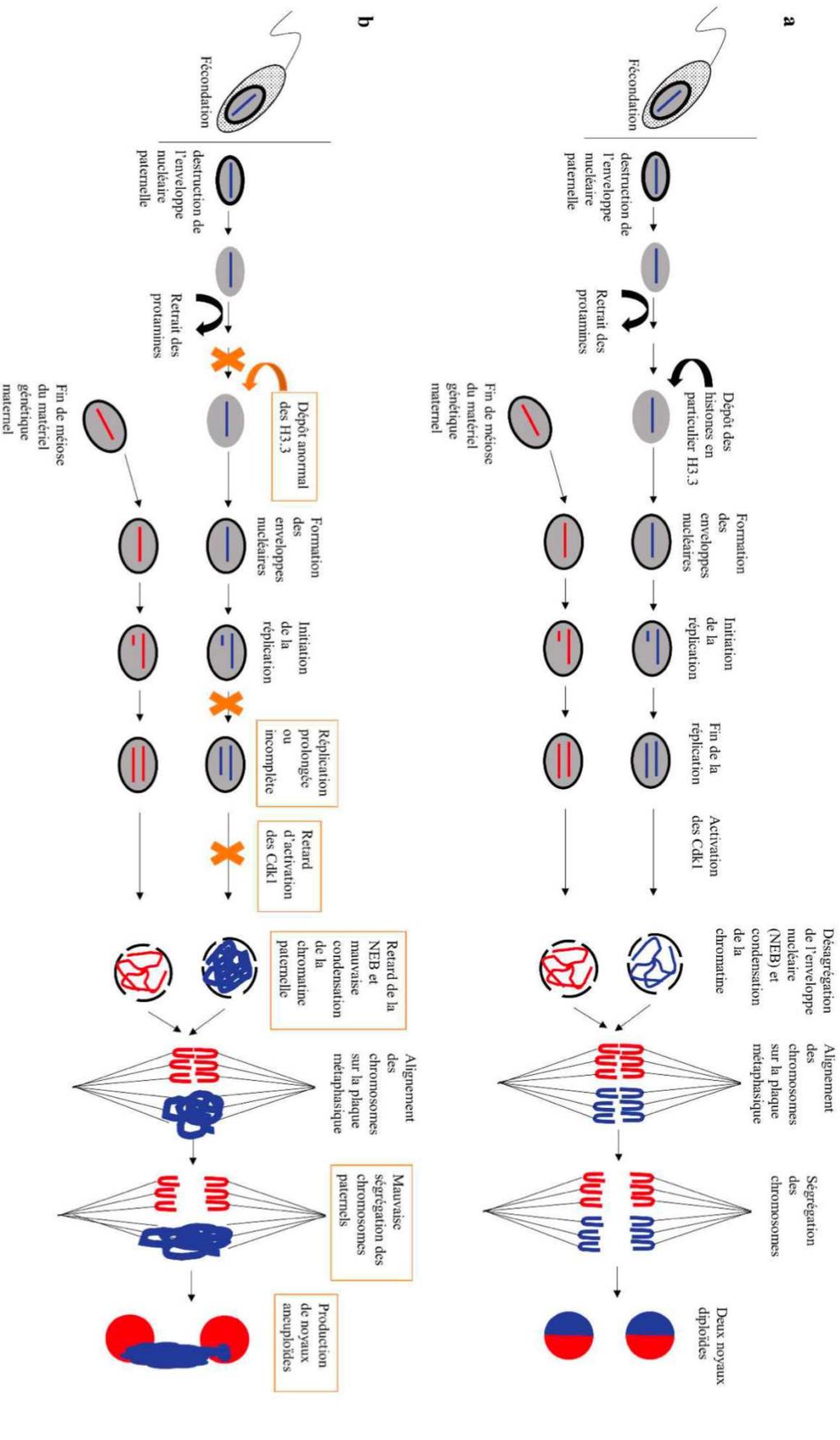


Figure 7 : Représentation schématique des événements clés depuis la fécondation à la fin de la première division embryonnaire chez un embryon issu d'un croisement compatible (a) et un embryon issu de croisement incompatible (b). (45)

Les défauts associés à l'IC sont encadrés en orange.
 Figure adaptée de Landmann et al. (2009) par Manon Bonneau (2018).

2.1.4 Les mécanismes génétiques de l'IC : présentation des gènes Cif

L'article mentionne qu'en 2017 ont été trouvées, dans le génome des souches de *Wolbachia*, deux paires de gènes synténiques. Le qualificatif « synténique » indique que ces gènes sont présents sur les chromosomes de plusieurs souches différentes et aux mêmes endroits. Ils ont effectivement été identifiés dans tous les génomes séquencés des souches de *Wolbachia* connues pour provoquer l'incompatibilité cytoplasmique. Ces gènes ont donc été catégorisés comme ayant un lien avec l'IC, voire la provoquant. Ils ont ainsi été nommés « facteurs d'incompatibilité cytoplasmique », désignés de manière abrégée « Cif » en anglais.

Puisqu'il y a deux paires de gènes, on parle de Cif A et Cif B. (44)

Au niveau des séquences génomiques, les deux gènes sont l'un à la suite de l'autre, avec les allèles Cif A toujours situés en amont des allèles Cif B. Ils constituent ce qu'on appelle un opéron, à savoir une unité d'ADN regroupant des gènes qui opèrent sous le signal d'un même promoteur (zone par laquelle commence la transcription). Cet opéron Cif A-Cif B code pour deux types de protéines : les deubiquitylases (DUB) et les nucléases, selon les souches bactériennes. La souche *wRi*, par exemple, ne semble contenir que des nucléases.

Les DUB sont des enzymes capables de cliver des ubiquitines. Ces ubiquitines sont des petites protéines attachées à d'autres protéines, jouant ainsi un rôle dans la stabilité, la fonction, la localisation des protéines auxquelles elles sont attachées. Elles sont nommées ainsi car elles sont retrouvées de manière ubiquitaires dans un organisme. Les nucléases, quant à elles, clivent des acides nucléiques.

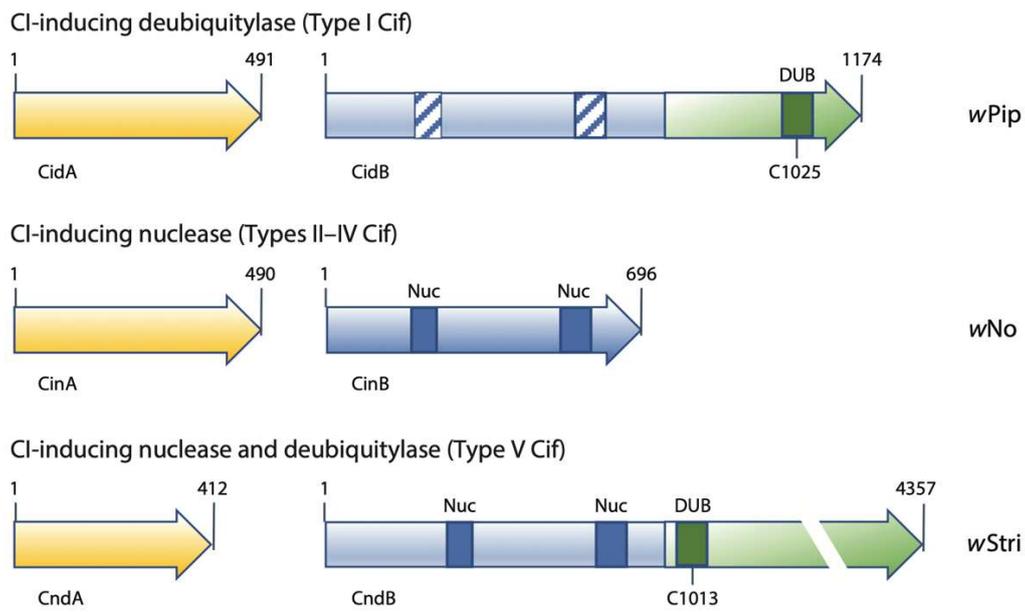
A l'heure actuelle, on ne sait pas encore quelles sont les cibles de ces enzymes DUB et nucléases. On sait néanmoins qu'elles sont synthétisées par *Wolbachia* au sein de l'hôte pour en déclencher l'IC. Elles ont été retrouvées notamment dans les ovaires et la spermathèque (organite féminin de stockage du sperme) d'une femelle *Culex* dont la progéniture est morte en raison de l'incompatibilité cytoplasmique.

En outre, 5 types de gènes Cif ont été identifiés (44) :

- Les Cif de type I, qui codent pour des DUB. Ces DUB sont appelées « Cid A » et « Cid B ». Ainsi Cif A de type I code pour Cid A et Cif B de type I code pour Cid B.

- Les Cif de type II à IV, qui codent pour des nucléases. Ces nucléases sont appelées « Cin A » et « Cin B ».
- Les Cif de type V, qui codent pour des nucléases et des DUB, appelées « Cnd A » et « Cnd B ».

Figure 8 : Types I à V de Cif en fonction des souches wPip, wNo, wStri (44)



A noter qu'on peut désigner le gène par sa protéine, et inversement. C'est-à-dire qu'on peut, par exemple, parler de gène Cid A pour signifier en réalité le **gène Cif A** qui code pour la **protéine Cid A**. De même, on peut parler de protéines Cif A pour désigner l'ensemble des **protéines** codées par le **gène Cif A** (sachant que **Cif A** peut coder pour une Cid, une Cin, ou une Cnd).

2.1.5 Les mécanismes génétiques de l'IC : le modèle toxine/antidote

On ne connaît, certes, pas les cibles des DUB et nucléases, en revanche on a un aperçu du rôle global qu'elles ont au sein de l'IC. Ces rôles ont été étudiés, premièrement, par le groupe de Beckmann, grâce au modèle transgénique de la levure *saccharomyces cerevisiae*. (44)

Dans un premier temps, les gènes Cid B et Cin B, issus de souche wPip, ont été incorporés à la levure, on observa alors une inhibition de sa croissance. Ensuite, Cid A et Cin A, issus de souche wPip, ont été insérés seuls dans la levure, et aucun

changement ne fut notable. Enfin, ils intégrèrent les 4 gènes cités précédemment ensemble. Une inhibition de la croissance fongique fut débutée par Cid B et Cin B mais arrêtée par les gènes Cid A et Cin A.

Cela suggère que les gènes Cif A-Cif B se comportent comme un couple de toxine/antidote, avec Cid B et Cin B qui sont des facteurs de modification du cycle cellulaire et Cid A et Cin A qui sont des facteurs de sauvetage.

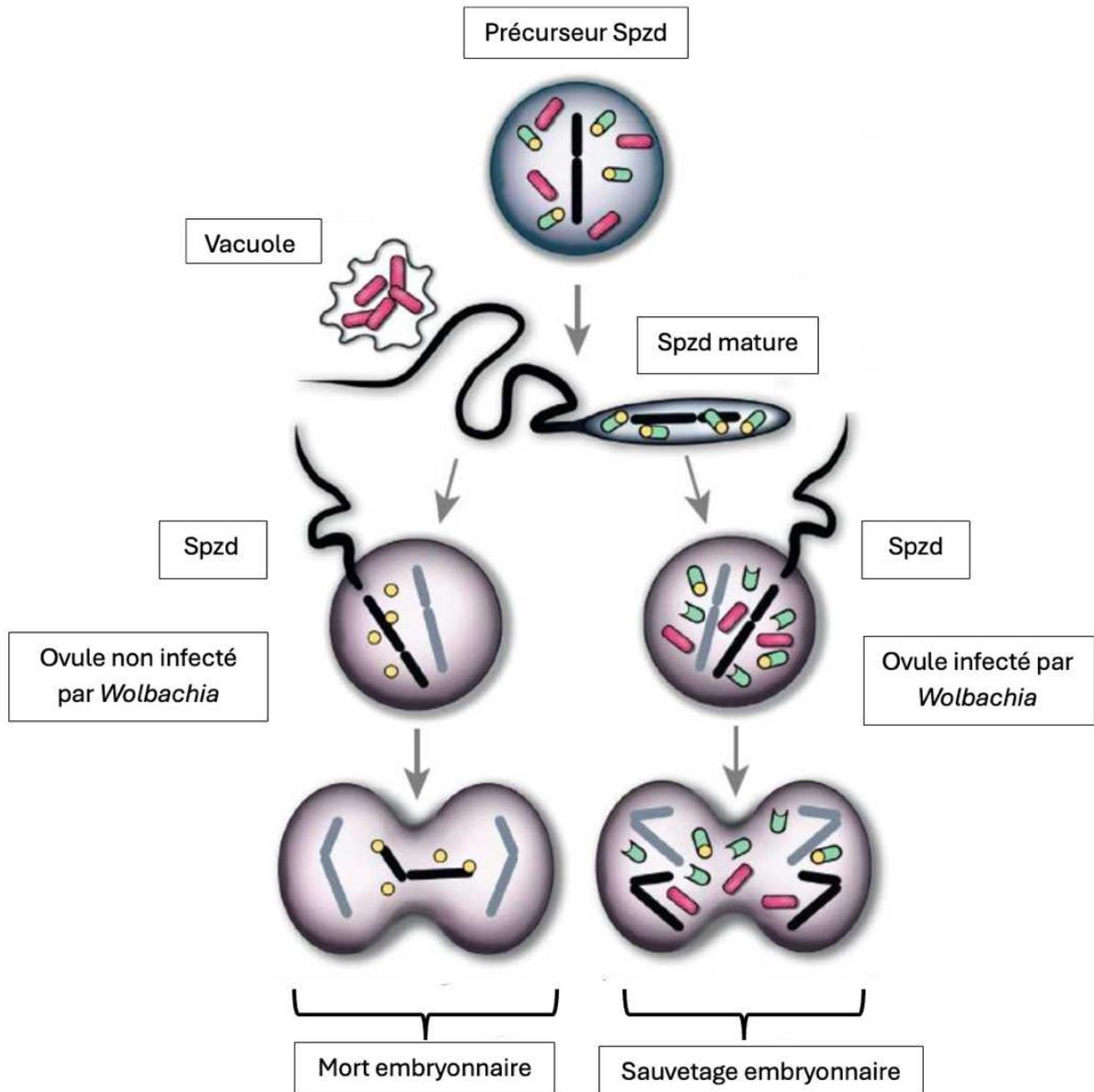
Par la suite, le groupe de Lepage a produit d'autres expériences, cette fois-ci sur un hôte de *Wolbachia*, la mouche *Drosophila melanogaster*. Ils ont créé des mâles *Drosophila melanogaster* transgéniques n'exprimant uniquement que Cif A **ou** Cif B. Lorsque ces derniers s'accouplaient avec des femelles infectées ou non, leur progéniture était viable. Puis, ils ont produit des mâles exprimant à la fois Cif A **et** Cif B, lorsqu'ils s'accouplèrent avec une femelle non infectée, l'IC se produisit. Ces expériences ont montré qu'une coexpression de Cif A et Cif B était paradoxalement obligatoire pour déclencher l'IC chez *Drosophila melanogaster*. (44) Il faudrait davantage d'études sur la nécessité de Cif A dans l'induction de l'IC, avant de pouvoir généraliser cette règle à toutes les espèces.

Il existe plusieurs hypothèses quant au rôle qu'aurait Cif A dans la coexpression avec Cif B pour en déclencher l'IC, notamment que Cif A aiderait à neutraliser la toxicité prématurée de Cif B dans les précurseurs du sperme. De plus, des études sur les levures montrent que la coexpression semble augmenter les taux de Cif B, car la liaison avec Cif A, le rendrait plus stable.

Aujourd'hui, ce modèle, où Cif A et Cif B sont nécessaires pour induire l'IC et où seule Cif A permettrait de la lever, est le plus connu. Cif B serait davantage exprimé chez le mâle infecté par *Wolbachia* et Cif A serait plutôt exprimé chez la femelle infectée, car c'est elle qui semble avoir le pouvoir de sauver sa progéniture dans l'IC unidirectionnelle.

Il faut noter que le mâle infecté par *Wolbachia* ne contient pas *Wolbachia* dans ses spermatozoïdes matures. En revanche, il possède le couple Cif A-Cif B dans son sperme. Ainsi en théorie, lors d'une fécondation, ce couple commence à induire une IC. Si la femelle est infectée par la bactérie, *Wolbachia* qui est présente dans les ovules, synthétise des protéines Cif A. Les protéines Cif A se lient directement aux protéines Cif B, afin d'arrêter l'IC et de sauver la progéniture.

Figure 9 : Représentation du modèle toxine/antidote de l'IC (46)



Légende :

- Spzd : Spermatozoïdes
- En rose : *Wolbachia*
- En jaune : Toxine (Cif B)
- En vert : Antidote (Cif A)
- La vacuole permet d'éliminer le contenu cytoplasmique inutile au spermatozoïde mature, dont *Wolbachia*.

2.1.6 Les facteurs qui influencent la pénétrance de l'IC

La pénétrance est la proportion d'embryons morts causée par l'IC. Au niveau expérimental, la pénétrance reflète donc l'efficacité et la fréquence d'apparition de l'IC au sein d'une population. C'est un paramètre sujet à plusieurs facteurs d'influence.

En effet, on observe que certaines souches causent davantage d'IC que d'autres, sans compter les souches qui n'en provoquent jamais. Par exemple, la souche *wRi* a une pénétrance qui s'élève à presque 100%, contrairement à *wNo* qui est plutôt autour de 40%. Les souches *wMa* ou *wAu*, par exemple, ne font jamais d'IC. (47) Cette différence entre souches peut être expliquée par plusieurs critères. Premièrement, la présence ou non de prophages au sein de *Wolbachia*. Ils sont cruciaux pour déclencher une IC, car en réalité, les protéines Cif ne proviennent pas du génome de la bactérie *Wolbachia*, mais des virus phages WO qui infectent *Wolbachia* ! Ainsi les souches non inductrices d'IC, comme *wMa* ou *wAu*, ne contiennent pas de prophage. De plus, ces prophages offrent une grande source de variabilité de gènes Cif A et B, puisqu'ils entraînent de nombreux réarrangements et recombinaisons génomiques. Cette diversité génétique est susceptible d'affecter le mécanisme de l'IC et donc d'en modifier la pénétrance. Par exemple, certaines protéines Cif B se lient plus facilement que d'autres aux Cif A, impactant nécessairement l'efficacité de l'IC. (48) Deuxièmement, il a été montré que la pénétrance était plus forte si les souches de *Wolbachia* possédaient à la fois des DUB et des nucléases. Ainsi, les souches *wRi* et *wPip*, connues pour être fortement inductrices d'IC, contiennent les deux types d'enzymes, contrairement à *wNo* qui ne possède que des nucléases et *wHa* qui n'a que des DUB. (49)

L'hôte est également un facteur d'influence de la pénétrance de l'IC. On sait que le génotype de l'hôte peut pencher en faveur ou non d'une IC. (50) De même, l'âge de l'hôte peut jouer un rôle. Chez les drosophiles, le vieillissement des mâles entraîne une baisse de la pénétrance. (51)

En outre, plus la densité de *Wolbachia* au sein de l'hôte est élevée et plus la pénétrance de l'IC est augmentée. C'est notamment le cas chez les espèces drosophiles. (52) Directement lié à cela, la température élevée diminue la densité de *Wolbachia* dans l'hôte, et donc influence négativement la pénétrance de l'IC. (53)

2.2 Inhibition virale induite par *Wolbachia*

2.2.1 Présentation de l'inhibition virale induite par *Wolbachia*

Wolbachia peut diminuer la densité microbienne chez ses hôtes. Ce phénotype a été découvert en 2008, grâce à la souche *wMel* infectant *Drosophila melanogaster*. (3) Par la suite, Moreira et al ont étudié l'impact de l'infection par la souche *wMelPop*, chez *Aedes aegypti*, sur le virus de la dengue (DENV). Le nombre de copie d'ARN du DENV fut 10^4 fois plus faible que chez un moustique *Aedes aegypti* non infecté. De plus, fait intéressant, il n'a été retrouvé aucune trace du DENV dans la salive des moustiques, or c'est cette voie qu'utilise le virus pour infecter les humains. (54)

Chez *Aedes aegypti*, l'inhibition peut être induite par de nombreuses souches, telles que *wMel*, *wAlb*... Or ces souches ne confèrent pas toujours ce phénotype chez leur hôte naturel. Par exemple, *wAlb* ne confère aucune inhibition à son hôte naturel *Aedes albopictus*. C'est d'ailleurs dommage car *Aedes albopictus* est vecteur du chikungunya. (55) En revanche, lorsqu'on inocule artificiellement la souche *wMel* dans *Aedes albopictus* (hôte non naturel), l'inhibition induite contre le DENV est présente. (56) On pourrait se dire que ce phénotype dépend alors de l'association souche/hôte, mais plusieurs études suggèrent qu'il s'agit en réalité du côté artificiel et de la nouveauté du symbiote qui déterminent l'induction de cette inhibition, comme c'est le cas du symbiote *Wolbachia/Aedes aegypti*. Par ailleurs, une densité élevée de *Wolbachia* est nécessaire pour induire ce phénotype, ce qui n'est pas compatible avec tous les hôtes. Par exemple, certains hôtes surexpriment des gènes qui inhibent la réplication de la bactérie, tel que le gène de la méthyltransférase, les empêchant alors de bénéficier de cette protection virale. (57)

Tout comme l'IC, l'inhibition virale induite par *Wolbachia* demeure mystérieuse, d'autant plus qu'elle n'a été découverte qu'il y a 16 ans. De nombreuses théories ont été formulées à son sujet quant à ses mécanismes, nous nous intéresserons ici aux hypothèses les plus plausibles. Par ailleurs, un grand nombre d'études sur le sujet se sont penchées sur le couple *Wolbachia/Aedes aegypti* dans la lutte contre la dengue, 1^{ère} arbovirose au monde, aussi nous présenterons un article faisant un bilan de nos connaissances en 2024 sur les mécanismes impliqués dans cette inhibition virale. Il s'agit de l'article, (cf. : [annexe 2](#)), « A comprehensive review of *Wolbachia*-mediated mechanisms to control dengue virus transmission in *Aedes aegypti* through innate

immune pathways » écrit par les universitaires Mushtaq, Sarwar et Munzoor, publié dans « *Frontiers in Immunology* ». Cet article de synthèse passera en revue la manière dont *Wolbachia* interfère avec *Aedes aegypti* et le DENV pour induire cette inhibition virale. (57)

2.2.2 Chronologie de l'infection d'*Aedes aegypti* par le DENV

Avant d'étudier les stratégies déployées par *Wolbachia* pour la lutte antivirale, il convient d'aborder les processus d'invasion du DENV au sein de l'hôte, ainsi que le système immunitaire du moustique *Aedes aegypti*.

Le virus intègre *Aedes aegypti* au moment du repas sanguin. Il doit ensuite traverser la barrière de l'intestin moyen, premier rempart de l'immunité, puis l'épithélium de l'intestin et enfin les glandes salivaires, où il s'y réplique abondamment. Les virions pénètrent dans les cellules hôtes par endocytose (cf. [figure 10](#)). Le génome viral s'échappe ensuite de l'endosome grâce à la création de pores ou après fusion du virion avec la membrane endosomale. Il va alors se répliquer au niveau du réticulum endoplasmique (ER). Le DENV utilise le matériel cellulaire de l'hôte, tel que le cholestérol et les acides aminés, pour se répliquer et synthétiser les protéines structurelles virales. Lorsque le virus sortira de la cellule, il obtiendra son enveloppe virale en utilisant la membrane de la cellule hôte. (58)

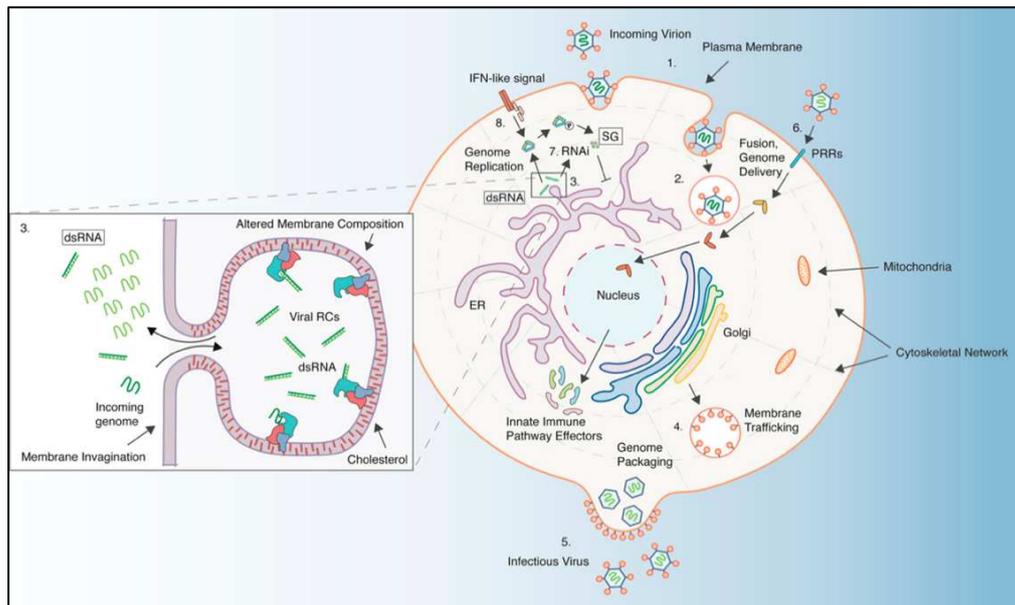
Les invertébrés, tels que *Aedes aegypti*, ne possèdent pas d'immunité adaptative. Leur immunité innée fournit tout de même une réponse humorale et cellulaire (58) La réponse cellulaire est médiée par les hémocytes, qui font office de leucocytes pour les arthropodes, capables de phagocyter les pathogènes. La réponse humorale, quant à elle, est médiée par des récepteurs de reconnaissance de motifs appelés « PRR » (pour Pattern Receptor Recognition), et l'enzyme phénoloxydase. La frontière entre l'immunité cellulaire et humorale est assez subjective puisque les hémocytes produisent de nombreuses molécules immunitaires humorales, tandis que certaines molécules humorales jouent un rôle important dans la régulation des défenses immunitaires cellulaires. Cependant, l'immunité humorale est plus impliquée dans la réponse antivirale, aussi nous nous concentrerons sur cet élément. (59)

Le premier acteur de l'immunité humorale, les PRR, sont des molécules solubles dans l'hémolymphe qui reconnaissent les protéines virales du DENV. Cette reconnaissance déclenche des voies de signalisation antivirales dont les voies Toll, IMD et Jak/STAT notamment. (58) Ces voies fonctionnent de manière similaire, à savoir qu'elles sont chacune activées par un PRR qui leur est propre, entraînant la translocation nucléaire de facteurs de transcription spécifiques, qui codent pour des effecteurs et des facteurs antiviraux. Le deuxième acteur de l'immunité humorale, l'enzyme phénoloxydase, permet la synthèse de molécules de mélanine, qui encapsulent les pathogènes. A noter que ce processus concerne surtout les parasites. (59)

De plus, il existe une autre voie antivirale d'importance majeure. Il s'agit de la voie d'interférence par ARN (RNAi). Cette voie conduit à la production de petits ARN interférents (siRNA) et de micro ARN (miRNA). Les deux types d'ARN sont issus de l'action d'une enzyme appelée Dicer-2. Pour produire des siRNA, Dicer-2 découpe l'ARN double brin viral (dsRNA) en petits fragments, alors que pour produire des miRNA, Dicer-2 utilise l'ARN de l'hôte. Les siRNA et les miRNA ont pour rôle de dégrader l'ARN messager afin de réguler à la baisse la synthèse de certaines protéines virales ou cellulaires, ce sont des régulateurs post-transcriptionnels des gènes. Ils sont alors capables d'inhiber la réplication virale, en rendant impossible la synthèse de certaines molécules essentielles. (58)

Enfin, un dernier élément immunitaire s'oppose à la réplication du génome viral, il s'agit de la production de granules de stress (SG) médiée par les interférons et la présence de l'ARN viral double brin dans la cellule. Ce phénomène ne concerne pas *Wolbachia*, aussi nous n'en parlerons pas davantage. (58)

Figure 10 : Schéma résumant l'invasion virale dans une cellule d'arthropode et les mécanismes immunitaires mis en place en réponse (58)



Légende : 1. Entrée des particules virales dans la cellule par endocytose ; 2. Délivrance du génome viral dans le cytoplasme ; 3. Réplication du génome viral ; 4. Acheminement des protéines structurales virales vers la membrane plasmique ; 5. Acquisition de l'enveloppe virale ; 6. Reconnaissance des protéines virales par les PRR, déclenchant les voies immunitaires innées ; 7. Déclenchement de la voie d'interférence par ARN ; 8. Assemblage de granules de stress (SG).

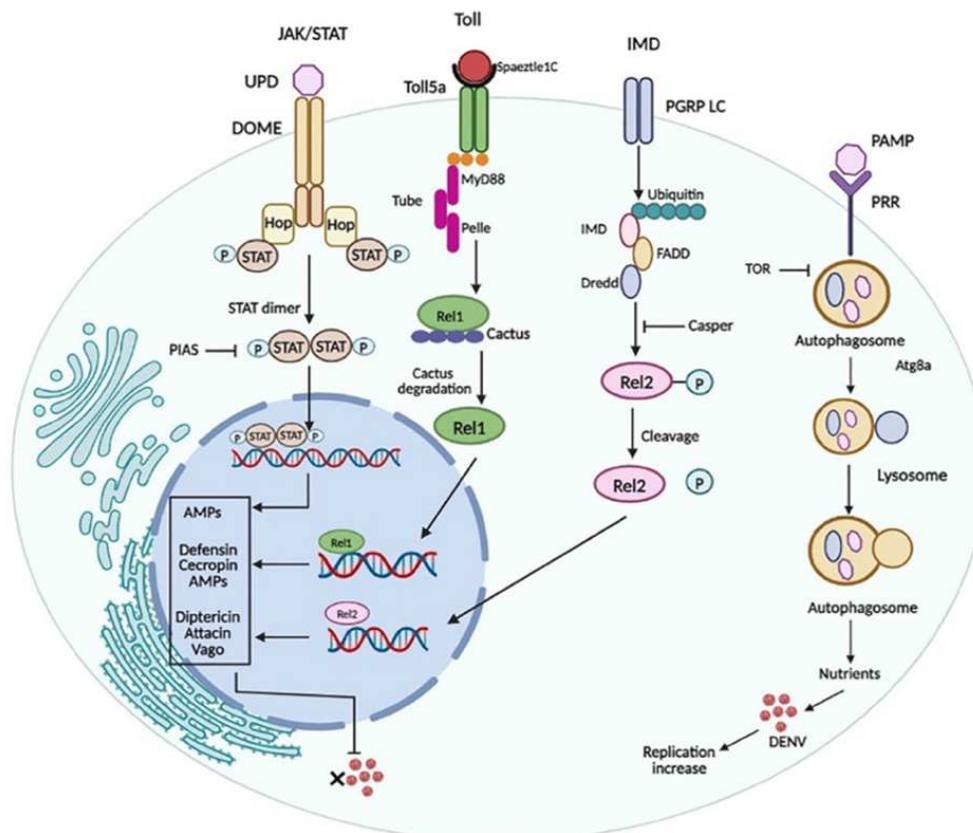
2.2.3 1^{ère} stratégie : Pré-activation des voies de l'immunité

L'article scientifique (57) nous révèle la première stratégie utilisée par *Wolbachia* contre les arbovirus. Il s'agit d'activer les voies de l'immunité avant même que l'infection par le DENV n'ait lieu. L'activation des voies Toll, IMD et Jak/STAT par *Wolbachia* ne passe pas par le chemin classique des PRR. *Wolbachia* a ses propres méthodes : elle entraîne la production de ROS (espèces réactives de l'oxygène), qui vont eux-mêmes activer NF- κ B, un régulateur central, qui contrôle l'immunité, l'inflammation, et notamment les voies de signalisation. A première vue, c'est tout à fait curieux que *Wolbachia* cherche à augmenter l'efficacité du système immunitaire de son hôte, on pourrait penser que cela puisse se retourner contre elle et freiner sa propagation. Or, c'est tout le contraire, il a été constaté une corrélation entre l'activation des voies de signalisation et la hausse de la densité de *Wolbachia* ! Les raisons derrière ce phénomène restent encore incertaines, mais il semblerait que les voies immunitaires favorisent la synthèse de substances nécessaires au développement de *Wolbachia*. De plus, certains effecteurs, produits finaux des voies de signalisation, ne

sont pas nuisibles pour *Wolbachia*, c'est le cas des voies Toll et IMD, qui conduisent à la synthèse de peptides antimicrobiens (AMP) qui ne reconnaissent pas la bactérie. En outre, la voie IMD est celle qui augmente le plus la densité de *Wolbachia*, elle produit des peptides antimicrobiens qui éliminent indirectement une partie de la flore microbienne avec qui *Wolbachia* est en compétition. (57)

Une des raisons pour lesquelles *Wolbachia* est si cruciale contre les virus, est que ces derniers sont en mesure de contrer les voies de signalisation. En effet, après une infection par le DENV, on observe une augmentation majeure des effecteurs des voies de signalisation, montrant bien une réponse immunitaire robuste contre le DENV. Cependant, 7 jours après, cette augmentation s'affaïsse. C'est particulièrement le cas avec certains variants du DENV-2, qui inhibent la voie Toll dans les glandes salivaires des moustiques, lieu de réplication crucial du DENV pour sa propagation chez les humains. Le DENV a la capacité de réguler à la baisse l'expression de certains gènes clés des voies immunitaires. *Wolbachia* pare ce phénomène en induisant un stress oxydatif, déclenchant de nouveau les voies de signalisation, et conduisant à la production d'AMP de type défensine, cécropine, attacine, en défaveur du DENV. (57)

Figure 11 : Voies immunitaires Toll, IMD et Jak/STAT d'*Aedes aegypti* (ainsi que la voie de l'autophagie que nous aborderons par la suite) (57)



2.2.4 2^{ème} stratégie : Manipulation des micro ARN

La deuxième stratégie mise en place par *Wolbachia* est de jouer sur la régulation post-transcriptionnelle des gènes de l'hôte pour synthétiser ou inhiber certaines protéines, à son avantage et au détriment du DENV. En effet, elle est capable d'influencer la synthèse des micro ARN, issus de la voie d'interférence par ARN, dont nous avons parlé précédemment. Nous citerons quelques exemples pour comprendre l'étendue de cette propriété. (57)

Premièrement, la souche wMelPop-CLA peut augmenter chez *Aedes aegypti* l'expression de miR-2940, un micro ARN qui cible les gènes qui régulent la densité de *Wolbachia*, tels que les gènes de la métalloprotéase et de l'arginine méthyl transférase. De plus, miR-2940 régule à la baisse la production de l'ADN méthyltransférase, une enzyme qui inhibe la réplication de *Wolbachia* et favorise la réplication du DENV chez *Aedes aegypti*. Deuxièmement, l'infection par *Wolbachia* déclenche l'expression de l'aae-miR-981, entraînant la régulation négative de l'importine b-4. Or, l'importine b-4 aide à la migration nucléaire des protéines non structurales du DENV pour une réplication optimale. En outre, wMelPop-CLA augmente l'expression de aae-miR-12, un micro ARN qui influence l'autophagie et la réplication virale. (57)

2.2.5 3^{ème} stratégie : Altérer l'environnement intracellulaire du DENV

La dernière stratégie de *Wolbachia* pour lutter contre les arbovirus est de perturber l'environnement du virus au sein de la cellule hôte. (57)

Le DENV modifie à son avantage les structures cellulaires et métaboliques afin de favoriser sa propagation. Par exemple, pour entrer dans une cellule, le DENV doit manipuler le cytosquelette de l'hôte et créer une adhésion cellulaire à l'aide de filament d'actine et de microtubules. *Wolbachia* est capable de perturber ce processus, d'empêcher directement la liaison entre le virus et la cellule, en détournant le cytosquelette en sa faveur. (57) En effet, *Wolbachia* a besoin du cytosquelette, notamment pour maintenir une densité bactérienne suffisante et se déplacer. La bactérie possède un système de sécrétion de type IV, lui permettant de sécréter des protéines effectrices qui ciblent le cytosquelette de l'hôte. On peut citer par exemple, la protéine effectrice, Wale1, qui est un groupeur d'actine. (58)

Par ailleurs, le DENV et *Wolbachia* nécessitent tous les deux des quantités de cholestérol et d'acides aminés suffisantes pour leur réplication. On remarque d'ailleurs que les cellules d'*Aedes aegypti* subissent une réduction significative du cholestérol total lorsqu'elles sont infectées par les souches wMelPop ou wMel. En cela, *Wolbachia* semble totalement dépendante de la synthèse de cholestérol de la cellule hôte, la bactérie ne possédant pas de gène essentiel lui permettant d'en produire par elle-même. Le virus, quant à lui, est capable d'augmenter la production de lipides par la cellule. Le DENV et *Wolbachia* sont donc en compétition permanente pour les ressources cellulaires. En cas de densité bactérienne de *Wolbachia* assez élevée, le DENV ne pourra pas rivaliser avec *Wolbachia*, empêchant alors sa réplication. De plus, *Wolbachia* est localisée stratégiquement dans la cellule, puisqu'elle se trouve dans des vésicules étroitement associées au réticulum endoplasmique, lieu riche en lipides de la cellule hôte, lui permettant un accès direct avec les ressources cellulaires. Dans le même thème, l'article mentionne que le DENV est capable d'augmenter l'autophagie cellulaire. L'autophagie est un processus de recyclage des organites et agrégats de protéines détériorés, afin d'en récupérer des ressources en cas de stress ou de famine. Il s'agit donc d'une banque de nutriments potentielle pour le DENV, qui la détourne en ciblant principalement les gouttelettes lipidiques, entraînant la libération d'acides gras. Cependant, *Wolbachia* a acquis des gènes de contrôle de l'autophagie. En effet, l'autophagie permet également à la cellule de se débarrasser des micro-organismes, dont *Wolbachia*, qui est plus sensible à ce phénomène que le DENV. Ainsi *Wolbachia* est capable d'inhiber l'autophagie, privant le DENV d'une de ses sources de nutriments. (57)

2.3 Autres phénotypes

Wolbachia augmente le sex-ratio en faveur des femelles dans les populations d'hôtes. En plus de l'IC, elle utilise pour cela plusieurs méthodes telles que le « male killing », la féminisation et la parthénogénèse thélytoque. A noter qu'elle n'induit pas ces phénotypes chez tous ses hôtes. Par exemple, le « male killing » concerne plutôt les mouches, les coccinelles et les papillons. La féminisation implique principalement les cloportes. La parthénogénèse thélytoque est surtout répandue chez les hyménoptères.

De surcroît, *Wolbachia*, bactérie qui ne cesse de nous impressionner, est en mesure d'induire bien d'autres phénotypes chez ses hôtes, impactant leur valeur sélective, leurs comportements, leur métabolisme, et même leur longévité. Nous en présenterons une liste non exhaustive.

2.3.1 Male killing

Le « male killing » est une forme de parasitisme reproductif dans laquelle *Wolbachia* tue les embryons mâles en cours de développement, ne permettant qu'une descendance féminine chez ses hôtes. Ce phénomène a été constaté pour la première fois en 1999 chez l'espèce de coccinelle *Adalia bipunctata* et l'espèce de papillon *Acræa encedon*.⁽⁶⁰⁾

Un gène candidat au « male killing » chez *Wolbachia* a été identifié dans une région du prophage WO de *wMel*. Ce gène a donc été appelé « WO-mediated killing » (WMK). Il est présent dans toutes les souches de *Wolbachia* tueuses de mâle et est propre à *Wolbachia*, suggérant que la bactérie utilise des mécanismes différents des autres espèces connues pour faire du « male killing ». L'expression de WMK entraîne des défauts cellulaires de type anomalies de distribution des noyaux et des pontages de chromatine chez l'embryon mâle, conduisant à sa destruction. ⁽⁶¹⁾

Un autre phénomène dans le « male killing », qui serait en lien avec le gène WMK, est la régulation négative par *Wolbachia* des systèmes de compensation de dosage de l'hôte. Il s'agit d'un système génétique de compensation du déséquilibre entre le chromosome X unique des mâles et les deux chromosomes XX des femelles. Chez certains insectes, dont les hôtes concernés par le male killing, ce système se traduit

par l'augmentation de la transcription des gènes des chromosomes X chez les mâles. (62) On remarque que, paradoxalement, le « male killing » ne concerne donc pas le chromosome Y de l'homme. En effet, des études ont montré que des hôtes femelles de génotype muté XXY n'étaient pas atteintes par le « male killing », à l'inverse des femelles de génotype X. La première étude abordant ce phénomène de système de compensation dans le « male killing » est assez récente, datant de 2015, par le groupe Fukui et al. Ils ont d'abord constaté que, parmi les embryons de papillon *Otrinia furnacalis* infectés par *Wolbachia*, seules les larves femelles avaient éclos. Ils ont donc réalisé des expériences sur les séquence d'ARN d'embryons des deux sexes, infectés ou non par *Wolbachia*, à différentes heures après la ponte. Les résultats ont révélé une régulation négative du gène « Masc » chez les embryons infectés par *Wolbachia*. Or, ce gène joue un rôle dans la compensation de dosage. Le fait de ne plus pouvoir assurer ce système de compensation de dosage, perturbe le génome des mâles infectés, causant une instabilité qui leur est létale. (63)

2.3.2 Féminisation

La féminisation est un phénotype bien étudié chez le cloporte *Armadillidium vulgare*. Cette espèce engendre normalement une descendance de proportion égale en mâles et femelles, mais avec l'intervention de *Wolbachia*, 90% de la progéniture deviennent des femelles. Ici, *Wolbachia* ne tue pas les embryons mâles, mais se contente de les rendre femelles au sens phénotypique du terme. En revanche, le génotype n'est pas altéré par *Wolbachia*. (64)

Les mécanismes derrière la féminisation induite par *Wolbachia* ne sont pas encore élucidés. On sait néanmoins que chez les mâles devenus femelles, la glande androgénique responsable de la production d'hormones sexuelles de la masculinisation ne se développe pas au cours de l'embryogenèse. En cas de faible densité de *Wolbachia*, cela peut même conduire à une féminisation partielle de l'individu, qui sera alors intersexué avec un mélange de caractères sexuels mâles et femelles. (64)

A noter que les chromosomes sexuels chez les cloportes sont appelés ZW pour la femelle et ZZ pour le mâle. Les femelles induites par *Wolbachia* seront donc de génotypes ZZ. Cela aura des conséquences importantes sur l'évolution génomique

d'*Armadillidium vulgare*, puisqu'il y aura à terme une disparition du chromosome sexuel W. En effet, les femelles ZW non infectées par *Wolbachia* produisent 50% de progéniture femelle ZW (et 50% de progéniture mâle). En revanche, les femelles ZZ infectées par *Wolbachia*, produisent 90% de progéniture femelle exclusivement ZZ (car le père et la mère sont tous les deux de génotype ZZ). (64) Par ailleurs, l'espèce *Armadillidium vulgare* a récemment acquis un nouveau déterminisme du sexe chez les individus ne possédant ni *Wolbachia*, ni chromosome W. Il s'agit d'un gène de féminisation appelé « élément f ». Cet élément a été séquencé et comparé au génome de *Wolbachia*. L'analyse a révélé une correspondance autour de 80%, indiquant que cet « élément f » est en réalité issu d'un transfert de gène de *Wolbachia* à son hôte cloporte. En somme, *Wolbachia* fait disparaître le chromosome W et apparaît un nouveau gène de féminisation à la place. Ces exemples mettent en exergue la force de *Wolbachia* à manipuler le génome et la reproduction de l'hôte à son avantage. (64)

2.3.3 Parthénogénèse thélytoque

La parthénogénèse induite par *Wolbachia* concerne principalement les guêpes hyménoptères, mais aussi les thysanoptères et les acariens. (65) En général, la détermination du sexe chez ces espèces se base sur le type de reproduction utilisé : En cas de reproduction sexuée, c'est-à-dire avec fécondation de l'œuf, on obtient une progéniture femelle diploïde. En cas de reproduction asexuée, on obtient une progéniture mâle haploïde. C'est ce qu'on appelle la parthénogénèse arrhénotoque. *Wolbachia* dérègle ce processus en faisant en sorte que les mères vierges produisent toutes des descendantes femelles au lieu de mâles, à partir de leurs œufs non fécondés. La parthénogénèse devient thélytoque. (66)

Les mécanismes sous-jacents de la parthénogénèse thélytoque semblent dépendre de l'hôte et de la souche. Généralement, les souches ciblent soit des étapes de la méiose afin de créer des gamètes diploïdes, soit la première mitose pour convertir les embryons haploïdes en diploïdes. On peut citer par exemple, les souches *wTre* et *wCla* qui, lors de la première mitose embryonnaire, provoquent une endoduplication des chromosomes, qui ne se sépareront pas lors l'anaphase. On obtient donc un noyau diploïde chez leur hôtes, respectivement les parasitoïdes *Trichogramma* et *Leptopilina*.

La souche wUni, quant à elle, déclenche une deuxième prophase mitotique pour dupliquer les gamètes chez son hôte parasitoïde. (66)

Parfois cette simple modification du cycle cellulaire n'est pas suffisante pour obtenir des femelles, notamment en cas de densité faible en *Wolbachia*, ou encore chez certains hyménoptères, où la différenciation en femelle nécessite la présence d'un élément paternel. Le système d'induction de la parthénogénèse requiert, pour certaines associations souche/hôte, une deuxième étape dans laquelle *Wolbachia* interagit avec la voie de différenciation sexuelle médiée par le gène « Transformer ». Cela a été constaté chez certains hôtes infectés par *Wolbachia*, tel que la guêpe *Leptopilina*, chez qui le produit final de l'épissage du gène Transformer diffère par rapport aux individus non infectés. (66)

De plus, un gène candidat chez *Wolbachia* de l'induction de la parthénogénèse thélytoque a récemment été désigné en avril 2024, il s'agit du gène Pif (« parthenogenesis inducing factor »), codant pour les protéines Pif A et Pif B. On retrouve sur Pif A une région de type épissage d'ARN, avec une homologie pour le gène Transformer. De plus, la structure et les domaines des protéines Pif laissent penser qu'elles sont capables de participer à des processus mitotiques, et notamment de les perturber. Ainsi ce gène semble correspondre aux deux étapes du système d'induction de la parthénogénèse thélytoque par *Wolbachia*. (66)

2.3.4 *Wolbachia* influence la valeur sélective de ses hôtes

Jusqu'à maintenant, nous avons abordé dans cette sous-partie des phénotypes plutôt reproductifs, liés au genre de la descendance de l'hôte. Il convient de parler des autres phénotypes que *Wolbachia* induit chez ses hôtes. Elle est notamment capable d'influencer la valeur sélective en jouant sur le métabolisme, les comportements et la longévité de son hôte. Nous présenterons quelques exemples. (2)

Wolbachia peut modifier les habitudes alimentaires de ses hôtes, notamment en diminuant l'olfaction vis-à-vis des signaux alimentaires. Chez les moustiques, cela peut entraîner une baisse des repas sanguins. C'est bénéfique pour *Wolbachia* car ces repas sont une porte ouverte aux pathogènes nuisibles, qui réduisent alors la valeur sélective de l'hôte et qui peuvent entrer en compétition avec *Wolbachia*. (2)

De surcroît, *Wolbachia* régule le métabolisme de ses hôtes. Sa présence dans le tissu adipeux, clé de contrôle endocrinien chez les insectes, est un grand atout. Elle impacte autant le métabolisme des macronutriments, que des micronutriments, qui fournissent des minéraux et des cofacteurs. Elle est ainsi en mesure de synthétiser des protéines telles que facilitateurs du transport membranaire des cations qui procurent des cofacteurs essentiels aux enzymes de la chaîne respiratoire. Chez les moustiques, *Wolbachia* augmente le taux métabolique de base, ce qui est visible par la production à la hausse de dioxyde de carbone. Chez les mouches, *Wolbachia* influence l'utilisation du fer. Par ailleurs, *Wolbachia* est capable d'induire certains comportements liés au métabolisme, par exemple, elle entraîne une agressivité chez les mâles drosophiles en contrôlant la synthèse d'octopamine. (2)

En outre, *Wolbachia* influence la longévité de son hôte en optimisant sa réaction face au stress et à l'apoptose. Contre le stress oxydatif, la bactérie est capable d'entraîner une production accrue d'antioxydant par l'hôte. De plus, elle régule l'homéostasie du fer en synthétisant des bactérioferrétines. Or le fer est un précurseur hautement toxique des ROS, *Wolbachia* protège donc son hôte en inhibant sa production. Par ailleurs, cette inhibition de la toxicité ferreuse est associée à l'inhibition de l'apoptose chez la guêpe *Asobara tabida*. Elle est même vitale pour empêcher les ovocytes d'entrer en apoptose lors de l'ovogénèse. A noter que *Wolbachia* est paradoxalement capable d'enclencher une apoptose dans certains tissus chez ses hôtes, mais les raisons derrière ce phénomène curieux sont encore inconnues. (2)

3. *Wolbachia* utilisée à des fins médicales

Cette partie a pour vocation de donner un aperçu de la lutte biologique contre les arbovirus avec le symbiote *Wolbachia/Aedes aegypti*, au moyen d'un exemple qui sera notre fil conducteur. Cet exemple est le « World Mosquito Program » (WMP), une ONG dont la méthode de lutte biologique est recommandée par l'OMS. (67) Le WMP est l'organisation non gouvernementale la plus impliquée et la plus active dans le domaine *Wolbachia/Aedes aegypti*.

La première sous-partie retracera la conception expérimentale de leur méthode : l'histoire du WMP, les concepts de la méthode, le choix de la souche, la création des moustiques transgéniques, et pour finir leur libération sur le terrain.

La deuxième sous-partie abordera les résultats de leur méthode. Le but ne sera pas de trancher sur l'efficacité de la méthode mais plutôt de donner un aperçu de ce que la lutte biologique peut offrir. En effet, essayer d'apporter une conclusion définitive à ce sujet nécessiterait très certainement sa propre thèse d'analyses statistiques et épidémiologiques.

Enfin, nous consacrerons une dernière sous-partie à la présentation d'autres exemples d'utilisation médicale de *Wolbachia*.

3.1 Conception de la méthode de lutte biologique « *Wolbachia/Aedes aegypti* », l'exemple du World Mosquito Program (WMP)

3.1.1 Présentation du World Mosquito Program (WMP)

En 2004, une petite équipe de recherche de l'Université de Queensland en Australie s'est vu obtenir des subventions pour pouvoir réaliser ses projets de lutte contre les arboviroses vectorisées par le moustique *Aedes aegypti*. Ils formèrent alors le « Eliminate dengue program » à l'échelle locale, une organisation pionnière dans la lutte contre les arboviroses. (68) Leur projet initial a pris place à Cairns dans le nord du Queensland, avec en 2011, la première libération au monde d'*Aedes aegypti* transgéniques. (69) Les résultats furent sans appel, et on peut aisément dire qu'aujourd'hui la dengue n'est plus un problème de Santé Publique dans le

Queensland. Devant ce succès, la méthode fut mise en place dans 11 pays du Pacifique, d'Asie du Sud-Est et des Amériques. Le « Eliminate dengue program » devint le « World Mosquito Program », un projet à l'ambition planétaire, ayant pour but de diminuer la transmission des arboviroses, à l'aide d'une méthode autosuffisante, douce, « naturelle », non nocive pour les moustiques. (69) La méthode du WMP a été testée dans 14 pays jusqu'à présent. (70)

3.1.2 Les concepts derrière la lutte biologique

La méthode du WMP repose sur deux concepts complémentaires : la stratégie de remplacement des populations (PRS) et la technique des insectes incompatibles (IIT).

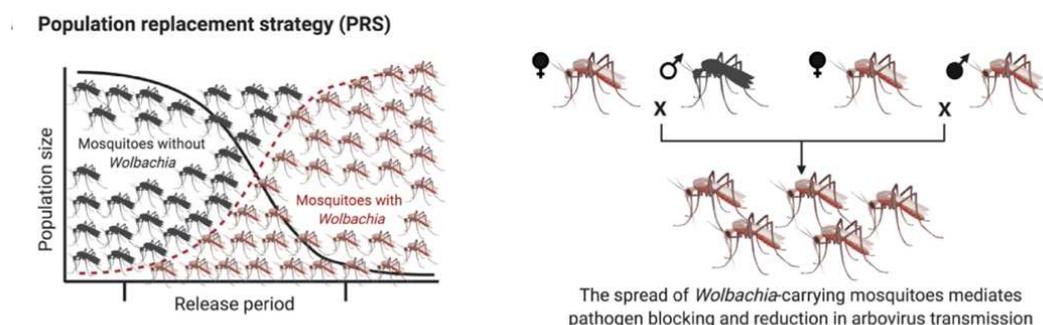
La PRS utilise l'inhibition virale et l'incompatibilité cytoplasmique induite par *Wolbachia* chez *Aedes aegypti*.

Grâce à l'IC, les *Aedes aegypti* transgéniques relâchés dans la nature vont se répandre au sein des populations de moustiques, et à terme les remplacer. En effet, les femelles infectées s'accoupleront avec n'importe quel mâle et fourniront une descendance à 90% infectée par *Wolbachia*.

En revanche, les mâles infectés provoqueront une létalité embryonnaire après s'être accouplés avec des femelles non infectées. De ce fait, ces moustiques mâles entraîneront une réduction de la natalité des individus non infectés. C'est ce qu'on appelle la technique des insectes incompatibles (IIT).

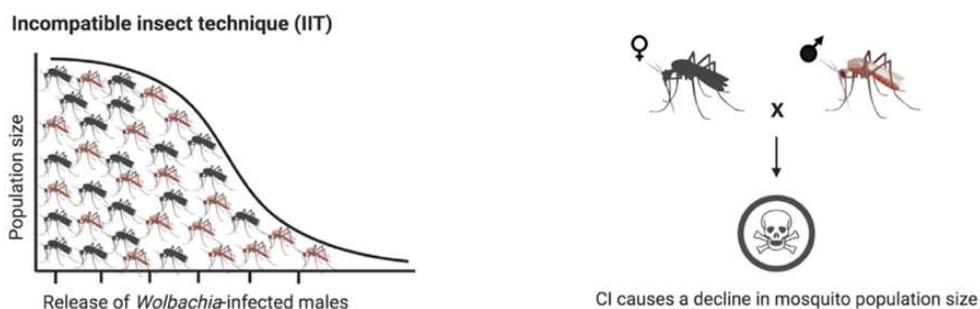
En outre, grâce à la capacité d'inhibition virale, ces populations remplaçantes de moustiques développeront une résistance vis-à-vis des arbovirus. (3)

Figure 12 : La stratégie de remplacement de la population (3)



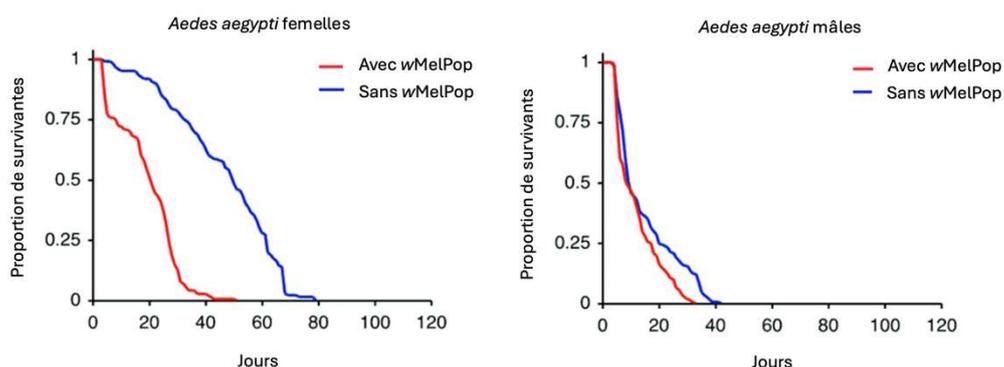
Il existe d'autres concepts dans la lutte biologique, mais qui ne concernent pas le World Mosquito Program. Par exemple, si elle est utilisée seule, l'IIT peut être une technique de « suppression des populations ». En effet, si on réalise des lâchers de **mâles infectés** uniquement, ils s'accoupleront avec les femelles résidentes non infectées, n'entraînant aucune descendance, et faisant ainsi chuter la natalité. Cela conduirait à terme à la disparition entière d'une population. (3) Bien sûr, pour que la technique soit efficace, il faut que certaines conditions soient respectées : nombre de mâles infectés supérieur au nombre de mâles résidents non infectés, lâchers réguliers et nombreux de moustiques infectés, compétitivité des mâles infectés... Pour l'instant, l'IIT a principalement été mise en place en Polynésie française, où elle semble donner des résultats assez satisfaisants. (71)(72)

Figure 13 : L'IIT en tant que technique de suppression des populations (3)



De manière similaire, il existe la stratégie « life-shortening », consistant en l'introduction d'une souche de *Wolbachia* réduisant l'espérance de vie d'*Aedes aegypti*. Le but est de supprimer les femelles, puisqu'elles sont les vecteurs d'arbovirus. La souche en question est wMelPop, elle provoque la mort de son hôte par sa prolifération excessive au niveau du cerveau et des muscles. (73)

Figure 14 : Survie d'*Aedes aegypti* infecté ou non par wMelPop au cours du temps (74)



3.1.3 Le choix de la souche de *Wolbachia*

Le choix de la souche pour la lutte biologique dépend de plusieurs critères :

- de la stratégie choisie (RPS, IIT, suppression des populations etc...).
- de la virulence de la souche.
- de l'aptitude à induire l'incompatibilité cytoplasmique.
- de la capacité à induire l'inhibition virale.
- du caractère nocif ou non pour *Aedes aegypti* (qui peut être un critère positif ou négatif selon la stratégie choisie).
- du taux de transmission maternelle.

Plusieurs souches candidates ont été identifiées et étudiées telles que *wMel*, *wMelPop*, *wAlb*, par exemple. (75)

Figure 15 : Tableau comparatif des effets de *wMel*, *wMelPop*, *wAlbB* sur *Aedes aegypti*
(75)(76)

Souches	IC	Inhibition virale	Nocivité pour <i>Aedes aegypti</i>	Transmission maternelle
<i>wMel</i>	>90%	>90%	<20%	>90%
<i>wMelPop</i>	>>>90%	>>>90%	>90%	>90%
<i>wAlbB</i>	>>90%	>>90%	20–90%	>90%

Les stratégies étant différentes d'un projet à l'autre, d'un organisme à l'autre, il n'y a pas de consensus sur la souche à utiliser. Si la stratégie voulue est la suppression d'une population, la souche *wMelPop* sera privilégiée. Pour la stratégie du WMP, la souche *wMel* est un bon compromis. C'est en effet, une souche qui entraîne un peu moins d'IC et d'inhibition virale que *wMelPop*, mais qui est aussi plus sécuritaire pour *Aedes aegypti*. (75)

3.1.4 La création d'*Aedes aegypti* transgéniques

Une fois la souche retenue, il ne reste plus qu'à transférer *Wolbachia* dans *Aedes aegypti*. Les démarches pour créer cet *Aedes aegypti* transgénique ont débuté en 2005, par l'équipe Australienne pionnière qui deviendra le WMP. Les chercheurs ont récolté des œufs d'*Aedes aegypti* à Cairns dans le Queensland. Après incubation,

ils ont obtenu des larves, qu'ils élèvent dans des plateaux remplis d'eau. Une fois adultes, les moustiques sont placés dans des cages répliquant les conditions de leur milieu de vie naturel, c'est-à-dire, la température s'élevant à 25° et le taux d'humidité relative à hauteur de 80%. Les chercheurs nourrissent les femelles de sang humain pour obtenir de nouveaux œufs. Les embryons sont collectés au stade de pré-blastoderme, puis sont microinjectés dans le pôle postérieur avec la bactérie *Wolbachia*. Une fois adultes, les mâles et femelles s'accouplent. Ils sacrifient les femelles pour en extraire leur ADN et vérifier la présence de *Wolbachia*. Les femelles testées négatives sont éliminées avec leur progéniture. A l'inverse, la descendance des femelles qui ont été testées positives pour *Wolbachia* est utilisée comme stock parental. Ainsi, pour les projets futurs, il suffira d'accoupler les moustiques du stock parental pour obtenir davantage de moustiques transgéniques, il n'y aura plus besoin de passer par des microinjections. En parallèle, les chercheurs mènent des tests afin de s'assurer de la fécondité, de la fertilité et de la longévité des moustiques. (74)

3.1.5 Libération des *Aedes aegypti* transgéniques sur le terrain

La dispersion des *Aedes aegypti* infectés sur le terrain est réalisée par les habitants bénévoles de la communauté résidente. Les bénévoles acceptent de recevoir une capsule appelée « Wolbicap », contenant des œufs d'*Aedes aegypti* transgéniques et leur nourriture. Ces Wolbicap sont à placer dans un récipient fourni, qu'il faut remplir avec de l'eau et déposer dans leur jardin. Une à deux semaines plus tard, les moustiques devenus adultes sortent d'eux-mêmes et se propagent. (77)(78) Une autre technique de dispersion est en cours d'étude, il s'agit du lâcher de moustiques adultes par drones. Deux essais réussis ont déjà été réalisés aux Fidji. (77) (79)

Afin de s'assurer de la propagation optimale de *Wolbachia* au sein des populations de moustiques, des centaines de pièges à moustiques sont placés dans les jardins d'autres habitants bénévoles. Toutes les une à deux semaines, les insectes sont récoltés puis sacrifiés par congélation, et enfin triés par microscopie pour isoler les moustiques *Aedes aegypti* des autres espèces. Les scientifiques cherchent ensuite par PCR la présence de *Wolbachia* dans *Aedes aegypti*, afin de conclure quant à la prévalence de la bactérie au sein des populations de moustiques. (78) (80)

3.2 Résultats de la lutte biologique, à travers la stratégie du WMP

3.2.1 Quelques chiffres de la lutte biologique

Afin de s'assurer du caractère significatif des résultats de la lutte biologique, chaque intervention a nécessairement donné lieu à des études épidémiologiques. Par exemple, une étude « cas-témoin » prospective et une analyse de « séries chronologiques interrompues » ont été réalisées dans trois villes Colombiennes pendant et après le projet *Wolbachia* instauré par le WMP de 2015 à 2022. Il en résulte une réduction significative de la notification des cas de dengue à hauteur de 95% dans les villes Bello et Medellín, et 97% à Itagüí. De plus, aucun cas de chikungunya ou de Zika n'a été notifié à Bello depuis décembre 2019 et juin 2017 respectivement. (81)

A Yogyakarta, en Indonésie, des essais contrôlés randomisés ont montré une diminution significative de 77% de la transmission de la dengue, avec une réduction de 83 % des cas de dengue graves suite au déploiement de *wMel-Aedes aegypti*. (82)

Tandis qu'au Brésil, la méthode du WMP a entraîné une réduction de 38% de la dengue et de 10% du chikungunya. (83)

En France en 2019, l'institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie a collaboré avec le WMP pour implanter la méthode dans la commune de Nouméa. Il y a été relâché des moustiques *Aedes aegypti* transgéniques toutes les semaines pendant six mois dans 3 500 points de la ville de Nouméa. Les 230 pièges à moustiques répartis dans toute la ville leur a permis de vérifier la bonne propagation de *Wolbachia*. (67) En mai 2023, 89% des moustiques à Nouméa étaient désormais porteurs de *Wolbachia*. (84) Le même projet a été repris dans les villes de Dumbéa et Mont-Doré en 2021. En avril 2023, la prévalence de *Wolbachia* était de 77% à Dumbéa et 71% au Mont-Doré. Le projet est toujours en cours d'analyse, mais les premiers résultats sont plutôt encourageants. Par exemple, à Nouméa, il n'a été enregistré que 52 cas de dengue entre le 1^{er} janvier et le 28 juillet 2021, contre presque 4000 en 2019. (85)

Concernant les symbiotes comprenant d'autres souches, ne faisant donc pas partie des initiatives du WMP, les résultats ont également été intéressants. Par exemple, l'association *wAlb-Aedes aegypti* a entraîné une réduction de l'incidence de la dengue en Malaisie notamment. (86) A Singapour, ce symbiote associé aux techniques IIT et de l'insecte stérile a permis une diminution d'au moins 70% des cas de dengue. (87)

3.2.2 Éléments de comparaison de trois méthodes anti-arboviroses

Nous comparons ici quelques méthodes de lutte contre les maladies vectorielles propagées par *Aedes aegypti*. Trois techniques ont été choisies, qui sont la « PRS+IIT » du WMP, la « SIT+IIT » et les insecticides. Il est question de comparer une méthode ancienne et traditionnelle (les insecticides) avec deux autres stratégies utilisant *Wolbachia* dans la lutte biologique. Il s'agit, en outre, d'une comparaison non exhaustive et, par ailleurs, d'autres moyens de lutte existent. Pour aller un peu plus loin, des tableaux comparatifs sont disponibles en [annexes 3](#).

Concernant les insecticides, ils demeurent nécessaires notamment en période d'endémie, mais les apparitions de plus en plus nombreuses de résistances montrent les limites de la méthode et l'urgence de trouver des solutions alternatives. D'autant plus qu'ils sont polluants et toxiques pour l'être humain.

La « technique de stérilisation des insectes (SIT) couplée à la technique des insectes incompatibles (IIT) » est une méthode relativement récente, actuellement en cours d'essai en Chine et en Thaïlande. La SIT fonctionne comme l'IIT, excepté que les moustiques sont rendus stériles par irradiation. (70) Ensemble, la SIT et l'IIT, maximisent les chances de réduire les populations de moustiques résidentes. Cependant, si les résultats semblent encourageants, des questions se posent au vu des efforts économiques et de la quantité de ressources à devoir mobiliser. De surcroît, le but étant de supprimer des population entières de moustiques, la réalisation d'études épidémiologiques de l'impact à long terme sur la biodiversité mérite d'être étudiée. En somme, cette stratégie peut être intéressante à développer, mais principalement dans des zones de petites tailles et peu nombreuses.

La « stratégie de remplacement des populations (PRS) couplée à la technique des insectes incompatibles (IIT) » du World Mosquito Program, a pour atout majeur d'être autosuffisante. En effet, suite au premier lâcher, *Wolbachia* se propagera d'elle-même à travers les populations. Il n'y aura plus qu'à surveiller cette propagation. La méthode est installée dans 14 pays, où elle semble faire ses preuves. Mais il faut bien avoir conscience qu'il s'agit d'une méthode d'installation progressive, plutôt utile en prévention, qu'en curatif.

Figure 16 : Tableau comparatif des trois méthodes (70)

	Insecticides	IIT + SIT	PRS + IIT (WMP)
Autosuffisant	Non, apparition de résistances	Non	Oui
Nombre de lâchers requis	Pas concerné	Nombreux, tout au long du projet	1 seul, avec peu de moustiques
Impact positif sur la santé humaine	Pas d'étude montrant l'évidence d'impact à long terme	Encore peu utilisée, mais semble être plutôt efficace	Réduction significative des arboviroses
Impact négatif sur la santé humaine	Intoxication, irritation	Aucun	Aucun
Périmètre atteint	A l'échelle d'une ville	Quelques km	> 100 km
Lieux où la technique est utilisée	Dans la plupart des pays concernés par les maladies vectorielles	Essais en cours en Chine et Thaïlande	14 pays
Coût financier	Cher car nécessite une application continue	Cher car nécessite des lâchers en continu	Peu coûteux

3.2.3 Facteurs limitants de la lutte biologique

A l'instar de n'importe quelle méthode, la lutte biologique au moyen de *Wolbachia/Aedes aegypti* n'est pas infaillible.

La bactérie n'induit pas 100% d'inhibition virale, d'incompatibilité cytoplasmique et de transmission maternelle. Elle est dépendante des conditions environnementales, que ce soient les vagues de fortes chaleurs qui réduisent la densité de *Wolbachia*, ou encore la présence d'antibiotiques dans les milieux naturels.

Par ailleurs, la réussite du projet dépend aussi des populations de moustiques, de leur accès à la nourriture, de leur valeur sélective, de leur âge... On sait, par exemple, que dans certains cas, le vieillissement de l'hôte réduit la pénétrance de l'incompatibilité cytoplasmique.

De plus, des questions se posent quant à la perdurance de l'inhibition virale dans le temps. En effet, comme énoncé dans la seconde partie, l'inhibition virale est particulièrement efficace chez les symbiotes nouveaux et artificiels, qu'en sera-t-il une fois *Wolbachia* bien intégrée pendant plusieurs générations dans les populations de moustiques *Aedes aegypti*?

En outre, la réalisation de la méthode offre également son lot de challenges, comme l'élevage de moustiques à grande échelle, ou le déploiement de *Wolbachia* sur le terrain. (88) En effet, des difficultés à propager *Wolbachia* ont été observées lors d'un projet à Rio de Janeiro. La prévalence de *wMel* n'a pas réussi à excéder 32% en deux ans et demi de projet. Cela a tout de même entraîné une réduction de l'incidence de la dengue de 38% et du Chikungunya de 10%. Les causes de ce semi-échec étaient d'une part les périodes de chaleur élevée, mais surtout, la répartition hétérogène des lâchers d'*Aedes aegypti* transgéniques en raison d'un territoire urbain et diversifié, avec des zones difficiles d'accès. (83)

Malgré ces facteurs limitants, la méthode *Wolbachia/Aedes aegypti* demeure pertinente, innovante et prometteuse. Après tout, nous ne sommes qu'à l'aube de la lutte biologique au moyen de *Wolbachia*.

3.3 Quelques autres projets de Santé Publique utilisant *Wolbachia*

3.3.1 *Wolbachia* contre le paludisme

Le paludisme est un problème majeur de Santé Publique, touchant principalement l'Afrique subsaharienne, territoire qui a compté en 2015 plus de 90% des cas mortels mondiaux. (89) Le vecteur principal du *Plasmodium falciparum* est le moustique *Anopheles*, qui, à l'instar d'*Aedes aegypti*, n'est pas un hôte naturel de *Wolbachia*. La suite de l'histoire est toute tracée ! Ils ont transféré *Wolbachia* dans *Anopheles* avec la même technique de microinjection embryonnaire. Plusieurs associations symbiotiques ont ainsi été étudiées, telles que *wAlb/Anopheles gambiae* (90), *wMelPop/Anopheles gambiae* (90), *wPip/Anopheles stephensi* (91) ...

Pour les couples *wAlb/Anopheles gambiae* et *wMelPop/Anopheles gambiae*, *Wolbachia* diminue de manière significative la densité de *Plasmodium falciparum* dans l'intestin moyen du moustique. Cependant, la bactérie ne se propage pas jusqu'aux cellules germinales, ce qui en empêche la transmission maternelle, freinant l'utilisation de ces symbiotes pour les stratégies autosuffisantes comme le remplacement de population. (90) C'est le couple *wPip/Anopheles stephensi* qui propose les meilleurs résultats, avec une induction de l'IC presque complète, une densité de *Wolbachia* élevée dans les cellules somatiques et germinales, une transmission maternelle de 100% et peu d'effets nocifs sur l'hôte. (91)

3.3.2 *Wolbachia* contre les maladies filaires

Wolbachia entretient des relations mutualistes avec certaines espèces de vers nématodes filaires qui sont responsables de maladies graves telles que l'onchocercose (cécité des rivières), la filariose lymphatique et la dirofilariose. (92) Les traitements antiparasitaires sont assez contraignants pour le patient, notamment en raison de la réponse thérapeutique sous-optimale et du fait qu'ils sont à prendre sur le long terme, allant parfois jusque 10 à 15 ans de traitement, comme c'est le cas pour l'ivermectine dans l'onchocercose et la filariose lymphatique. Par ailleurs, ces pathologies touchent particulièrement les zones où l'accès aux médicaments est limité, telles que l'Afrique subsaharienne. (93) *Wolbachia* a donc été envisagée comme moyen de lutte alternatif contre les maladies filaires, et à juste titre. En effet, d'une part, *Wolbachia* est nécessaire au cycle de vie du ver hôte. D'autre part, *Wolbachia* est

capable d'activer, par la sécrétion de lipoprotéines, le recrutement de neutrophiles humains autour des vers hôtes ! Ces neutrophiles ne sont absolument pas nuisibles, ni pour le ver, ni la bactérie, ils seraient au contraire hautement bénéfiques. En effet, en s'accumulant à la surface du nématode, ils forment une barrière biophysique qui bloque l'infiltration de cellules immunitaires davantage filaricides, telles que les éosinophiles. (94) Cet exemple est intéressant puisqu'il met en lumière que *Wolbachia* pourrait exercer une influence chez l'être humain et notamment au niveau de son système immunitaire, mais il montre également l'implication et la nécessité de la bactérie pour la survie de son hôte filaire. *Wolbachia* apparaît donc comme une cible médicamenteuse tout à fait pertinente afin de traiter les maladies filaires.

Plusieurs antibiotiques candidats, tels que la doxycycline, la minocycline, et la rifampicine ont montré des résultats intéressants. Par exemple, lors d'essais cliniques la doxycycline a entraîné une diminution de presque 100% de la densité de *Wolbachia*, activant l'apoptose cellulaire chez ses hôtes filaires. Cependant, ces antibiotiques ont le désavantage de devoir être administrés sur une longue période de traitement (4 à 6 semaines pour la doxycycline, par exemple) et ont des restrictions d'utilisation chez l'enfant et la femme enceinte. (93)

D'autres médicaments sont en cours d'étude. On peut citer le flubentylosine, un antibiotique qui a pour avantage d'être d'activité forte et spécifique contre *Wolbachia*, ainsi que d'être d'utilisation courte, entre 7 et 14 jours de traitement. (93)(3) On peut également citer les médicaments qui induisent l'autophagie cellulaire chez les humains, à savoir le Niclosamide, le sel d'éthanolamine de Niclosamide et le Rottlerin. L'idée est d'induire cette même autophagie au sein des filaires, afin de réduire la densité de *Wolbachia*. Ces médicaments, étudiés in vivo sur des gerbilles, ont montré une réduction significative de la densité de *Wolbachia* chez les vers femelles adultes après 6 jours de traitement. Ils ont également entraîné une altération de la fécondité des femelles, visible par la diminution de la sécrétion des microfilaries par les femelles adultes, mais également par le nombre élevé de malformations embryonnaires. (93)

Conclusion

Nous avons commencé cette thèse en décrivant *Wolbachia*, premièrement à travers sa diversité génétique offrant une multitude de souches aux capacités différentes, et deuxièmement, par son omniprésence dans la nature en partie grâce à ses modes variés de transmission.

Ensuite, nous avons étudié la complexité des relations qu'entretient *Wolbachia* avec ses hôtes, passant de la manipulation de la reproduction, du déterminisme sexuel, à la modulation de l'immunité, du métabolisme, des comportements et de la longévité... Tout cela sur des bases de régulations moléculaires diverses, élaborées et singulières. A noter qu'il est crucial de continuer les recherches sur le sujet, car ils sont au cœur des applications médicales de *Wolbachia*.

Ces relations complexes nous ont ainsi amené à aborder *Wolbachia* comme un moyen de lutte biologique contre les arboviroses, notamment à travers la méthode de « remplacement des populations » et des « insectes incompatibles », offrant des résultats satisfaisants et prometteurs pour l'avenir. *Wolbachia* est, de surcroît, déjà impliquée dans d'autres projets de Santé Publique comme la lutte contre le paludisme et les maladies filaires. Il faut d'ailleurs relever que notre exemple sur les filaires nous a permis de mettre en évidence l'influence de *Wolbachia* sur les neutrophiles humains. Ainsi, la bactérie demeure une piste à explorer en recherches fondamentales et médicales. Cela nous renvoie d'ailleurs aux études en plein essor sur l'influence du microbiote sur les fonctions humaines, telles que l'immunité, à l'instar de *Wolbachia*.

ANNEXES

Annexe 1 : « Molecular Biology of Cytoplasmic Incompatibility Caused by *Wolbachia* Endosymbionts », écrit par Mark Hochstrasser, un biologiste américain, dans « Annual Review of Microbiology » (44)



Annual Review of Microbiology Molecular Biology of Cytoplasmic Incompatibility Caused by *Wolbachia* Endosymbionts

Mark Hochstrasser

Department of Molecular Biophysics and Biochemistry and Department of Molecular, Cellular, and Developmental Biology, Yale University, New Haven, Connecticut, USA;
email: mark.hochstrasser@yale.edu

rest) IP: 77.201.220.104 On: Thu, 29 Aug 2024 09:59:06

Annu. Rev. Microbiol. 2023. 77:299–316

First published as a Review in Advance on June 7, 2023

The *Annual Review of Microbiology* is online at micro.annualreviews.org

<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-041020-024616>

Copyright © 2023 by the author(s). This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited. See credit lines of images or other third-party material in this article for license information.

ANNUAL REVIEWS **CONNECT**

www.annualreviews.org

- Download figures
- Navigate cited references
- Keyword search
- Explore related articles
- Share via email or social media

Keywords

cytoplasmic incompatibility, *Wolbachia*, nuclease, deubiquitylase, toxin, male killing

Abstract

Among endosymbiotic bacteria living within eukaryotic cells, *Wolbachia* is exceptionally widespread, particularly in arthropods. Inherited through the female germline, it has evolved ways to increase the fraction of bacterially infected offspring by inducing parthenogenesis, feminization, male killing, or, most commonly, cytoplasmic incompatibility (CI). In CI, *Wolbachia* infection of males causes embryonic lethality unless they mate with similarly infected females, creating a relative reproductive advantage for infected females. A set of related *Wolbachia* bicistronic operons encodes the CI-inducing factors. The downstream gene encodes a deubiquitylase or nuclease and is responsible for CI induction by males, while the upstream product when expressed in females binds its sperm-introduced cognate partner and rescues viability. Both toxin-antidote and host-modification mechanisms have been proposed to explain CI. Interestingly, male killing by either *Spiroplasma* or *Wolbachia* endosymbionts involves deubiquitylases as well. Interference with the host ubiquitin system may therefore be a common theme among endosymbiont-mediated reproductive alterations.



Contents

INTRODUCTION	300
Embryonic Phenotype of CI	302
Genetic Analysis of the <i>Wolbachia</i> Cifs	302
BIOCHEMICAL ACTIVITIES OF THE Cin AND Cid PROTEINS	305
CifA-CifB Binding	305
CidB Deubiquitylase Activity	307
CinB Nuclease Activity	308
GERMLINE LOCALIZATION OF CidA AND CidB PROTEINS	309
RESOLVING MODELS FOR CI INDUCTION AND RESCUE	309
CI CAUSED BY OTHER SYMBIOTIC BACTERIA	310
MALE KILLING: POTENTIAL PARALLELS TO CI?	311
CONCLUDING REMARKS	312

INTRODUCTION

The ability of bacteria to take up residence inside other cells has had an enormous impact on the history of life, ranging from the genesis of mitochondria and chloroplasts long ago to host reproductive manipulations that have been causing population isolation and incipient speciation to the present day (39, 40). In the latter category are bacterial species that can alter the reproductive outcomes of their hosts to increase the number of bacterially infected offspring. Best studied among these endosymbionts is *Wolbachia pipientis*, an obligate intracellular alphaproteobacterium of the *Rickettsiales* order that has insinuated itself into millions of insect species and other arthropods (34, 94).

A *Rickettsia*-like bacterium later named *Wolbachia pipientis* was first identified in the reproductive tissues of *Culex pipiens* mosquitoes by Hertig & Wolbach in 1924 (31). Only one species of *Wolbachia* is currently recognized, so only the genus name will be used here (54, 66). However, there are many distinct *Wolbachia* strains found in different arthropods as well as certain filarial nematodes from around the world (88). Several decades after the first descriptions of *Wolbachia*, a type of conditional male sterility called cytoplasmic incompatibility (CI) was described, also in *Culex*, although there had been anecdotal reports dating back to at least 1938 (27, 50, 56). CI was eventually linked to *Wolbachia* infection (91, 92). Other reproductive manipulations, namely, feminization of chromosomal males, parthenogenesis, and male killing, have since been associated with particular strains of *Wolbachia* as well (88). All these intrusions on host reproduction improve the chances of passing the *Wolbachia* bacteria to the next generation by transovarial transmission, that is, through the female germline. Although most commonly acting as reproductive parasites in arthropods, some *Wolbachia* strains have evolved into mutualists with their insect or filarial nematode hosts (18, 21, 59).

In CI, *Wolbachia* infection exerts a paternal effect on embryogenesis in which embryos of uninfected females crossed to *Wolbachia*-infected males die with high frequency (16, 49, 71) (Figure 1a). This is not true for the reciprocal cross between infected females and uninfected males and hence is called unidirectional incompatibility. If both partners are infected by the same *Wolbachia* strain, normal numbers of viable embryos result. This ability of bacterially infected females to rescue viability gives them a reproductive advantage over uninfected females in populations carrying a threshold frequency of infected males; the exact frequency depends on

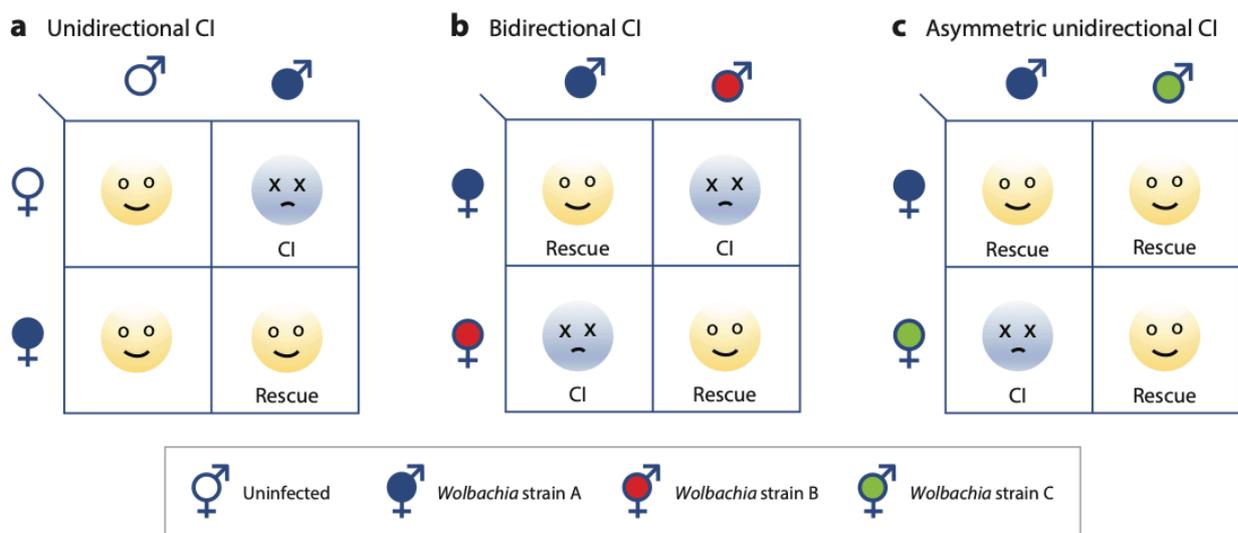


Figure 1

Categories of cytoplasmic incompatibility (CI). (a) Unidirectional incompatibility. (b) Bidirectional incompatibility. (c) Asymmetric unidirectional incompatibility.

factors such as the likelihood of maternal transmission of *Wolbachia* and CI penetrance (81). In this way, the vertically inherited infection can be efficiently driven into a population.

More complicated incompatibility patterns are observed in nature as well (12, 50). If both male and female are infected but with different strains of *Wolbachia*, bidirectional incompatibility can occur (**Figure 1b**). In other cases, females infected with one strain may rescue males infected either with the same strain or with a distinct strain, but the latter *Wolbachia* does not allow the reciprocal rescue (58, 71) (**Figure 1c**). These patterns of incompatibility have been formally described using a “modification–rescue” scheme (87). *Wolbachia*, which are excluded from mature sperm, are proposed to modify the male gametes during earlier stages of sperm development when the bacteria are abundant within the sperm cyst (17). Following fertilization of an uninfected female, the sperm modification leads to defects during early divisions of the zygote, whereas fertilization of a similarly infected female—the rescue cross—allows reversal or neutralization of the otherwise lethal modification (69).

Interest in how *Wolbachia* causes CI stems not only from its still mysterious molecular mechanisms and its potential to cause reproductive isolation and incipient speciation of geographically overlapping insect populations (88). The embryonic death caused by CI has also been shown to be an effective tool in reducing populations of specific insect species such as mosquito vectors of human disease (19, 93). CI allows the rapid infiltration of this obligatory endosymbiont into a host population together with any properties associated with the infection. One such property, which had not been anticipated, is the severe inhibition of RNA virus propagation in insects (30, 73, 78). This property is now being exploited, with considerable success, in reducing mosquito infections with the flaviviruses that cause dengue fever, yellow fever, and Zika virus–associated disease (60, 82). *Wolbachia* can also interfere with the ability of *Anopheles* mosquitoes to carry the *Plasmodium* parasites responsible for malaria (10, 37).

In 2017, a set of *Wolbachia* factors capable of inducing CI were reported (6, 51). They are found as syntenic gene pairs, likely expressed from bicistronic mRNAs, and can be identified in all fully sequenced genomes of *Wolbachia* strains that are known to cause CI. In this review, I focus on

the biochemical activities of these bacterial proteins, most importantly their ability to bind to one another in a highly specific fashion, and their identified enzymatic activities as well. I discuss these properties in the context of current models for the mechanism of CI, including consideration of apparently contradictory recent data on the localization of these factors in the germline of insects that either were expressing the proteins transgenically or were infected with *Wolbachia*. Other bacterial species can also cause CI, but the molecular underpinnings are not yet known and are likely distinct from the *Wolbachia* factors in some cases. At the same time, work on the mechanisms of male killing by *Wolbachia* and *Spiroplasma* hints at mechanistic parallels with *Wolbachia*-induced CI, particularly perturbation of the host ubiquitin system. This might relate to the ability of certain *Wolbachia* strains to cause CI in one host but male killing in another, or it might instead reflect related metabolic processes that are accessible to bacterial interventions in host reproduction.

Embryonic Phenotype of CI

During spermatogenesis, paternal DNA is bound and compacted by small, highly basic proteins called protamines (3, 22). Following fertilization of the egg, the protamines are removed from the DNA and replaced with maternal histones (55). DNA replication follows, and the female pronucleus migrates toward the male pronucleus until the two are juxtaposed. In the ensuing first zygotic mitosis, the nuclear envelopes break down and the chromosomes condense in synchrony, followed by anaphase separation of the laterally aligned maternal and paternal chromosome sets.

CI-induced cytological defects are usually already apparent by this first zygotic division (47, 67). The earliest reported cytochemical defect seen in incompatible *Drosophila* crosses is a delay in deposition of maternal histones on the paternal DNA following removal of protamines (47). As a result, replication of the paternal DNA is slowed or incomplete. Activation of the central cell cycle kinase Cdk1, nuclear envelope breakdown, and chromosome condensation in the male pronucleus then also lag compared to these events in the nearby female pronucleus (80). These defects lead to chromosome missegregation during anaphase and chromatin bridging (14, 49, 79). This can cause either complete loss of the paternal chromosome set and haploidy, or aneuploidy that stalls development of the embryo. In haplodiploid host species, CI can lead to viable haploid offspring lacking paternal DNA (67).

An intriguing recent analysis of incompatible *Drosophila simulans* crosses involving the *wRi* strain of *Wolbachia* revealed that a sizeable fraction of the embryos (approximately one-third) have cytologically normal diploid nuclei until the midblastula transition and early gastrulation (86). At these later stages, mitotic errors become apparent and embryo development is arrested. The late defects can also be rescued by crossing to *wRi*-infected females. The data suggest that the late CI-induced lethality occurs independently of the early CI effects and could potentially be mechanistically distinct. How, or if, the recently identified *Wolbachia* CI-inducing factors (Cifs) contribute to this late phase of developmental disruption will be important to examine. It is worth noting here that there are currently two verified enzymatic classes of Cif inducers—deubiquitylases (DUBs) and nucleases (discussed below)—and *wRi* is thought only to have an active nuclease inducer. The two-stage CI observed with *wRi* might be specific to this class.

Genetic Analysis of the *Wolbachia* Cifs

Once *Wolbachia* genome sequences became available, various *Wolbachia* proteins were suggested as potential Cifs, but none of the guesses proved correct (63, 76, 90). A subsequent proteomic study led to the identification of a *Wolbachia* protein in spermathecae (sperm storage organelles) dissected from female *C. pipiens* mosquitoes that had been mated with *wPip* *Wolbachia*-infected males (5). The same protein was identified—with much higher sequence coverage—from the ovaries of

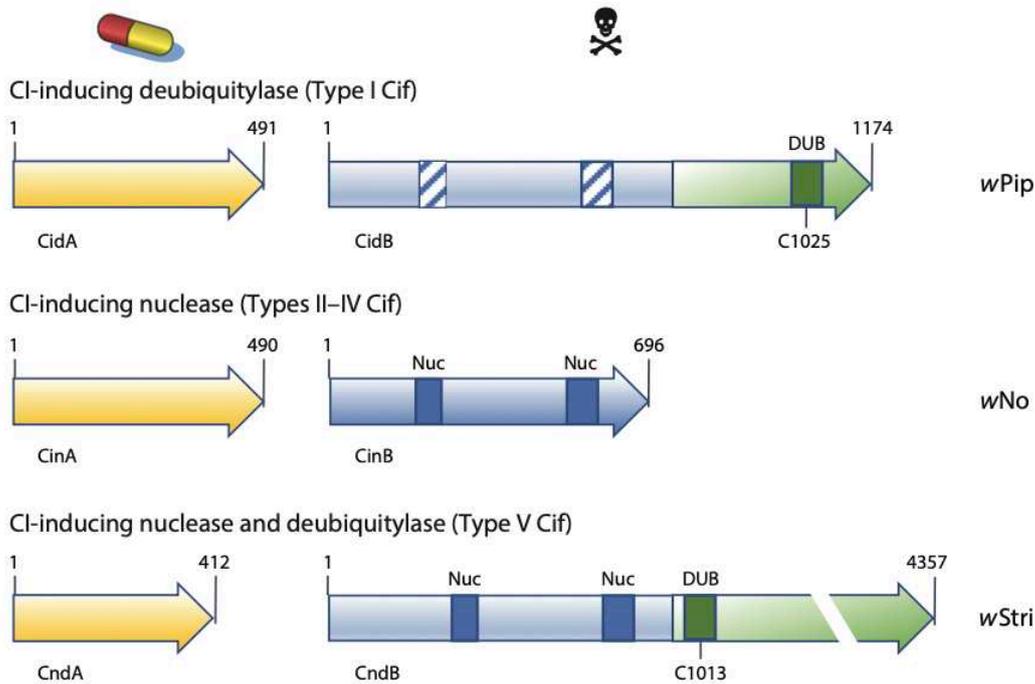


Figure 2

Proteins encoded by the cytoplasmic incompatibility (CI) operons. The (putative) antidote proteins are encoded by the upstream gene, the (putative) toxin by the downstream gene. The active-site cysteine in the deubiquitylase (DUB) domain is indicated. The Nuc [PD-(D/E)xK nuclease] domains in CidB lack key catalytic residues, as indicated by hatched boxes.

infected females. This protein is now called CidA^{wPip} (6) (part of the CI-inducing deubiquitylase operon; **Figure 2**). The primary sequence of CidA did not show any high confidence similarities to other proteins, but gene neighborhood analysis revealed a consistent association with a second conserved gene immediately downstream of *cidA*, now named *cidB*, and evidence for mRNA sequences spanning the two open reading frames indicated that *cidA* and *cidB* were part of a two-gene operon (5, 53). Based on genomic sequence comparisons, at least one *cidA-cidB*-related gene pair was found in all *Wolbachia* strains known to cause CI in insects but not in strains infecting filarial nematodes that do not (5). These findings were consistent with the hypothesis that CidA, CidB, or both could be related to CI.

As additional *Wolbachia* genome sequences became available, more syntenic pairs of *cidA-cidB*-related genes were found, again closely associated with *Wolbachia* strains that cause CI (51). At present, these genes fall into five sequence clades or types (*cif* types I–V), and additional types may well be found (2, 11, 28, 72). I use a previously proposed nomenclature that is based on the known or predicted enzymatic activity of the downstream protein encoded by each *cif* operon (4, 6) (**Figure 2**). The CidB (CI-inducing DUB) protein and its cognate CidA protein correspond to the type I *cif* clade (4, 51). CinB (CI-inducing nuclease) and the cognate CinA factor are encoded by *cif* types II–IV, while the CndB proteins appear to have both active nuclease and DUB domains (and additional motifs) and are encoded by the type V *cif* operons. When these genes are discussed more generally, I use the *cifA-cifB* designations (51).

Due to the lack of tools for DNA transformation or creating loss-of-function mutations in *Wolbachia*, the genetic significance of the *cifA-cifB* genes for CI has been inferred largely from

transgene expression studies. Conditional expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* provided important initial clues to the respective contributions of these factors (6, 7, 15). Both CidB^{wPip} and CinB^{wPip} when expressed by themselves in yeast cause a temperature-sensitive inhibition of growth. Production of the cognate CidA^{wPip} and CinA^{wPip} factors has little or no effect on colony growth by itself. However, coexpression of these latter factors suppresses the growth defects due to CidB^{wPip} and CinB^{wPip} in a cognate-specific fashion. CidA^{wMel}, from the wMel strain of *Wolbachia* that causes CI in *Drosophila melanogaster*, also fails to suppress the growth phenotype caused by the noncognate CidB^{wPip} and CinB^{wPip} factors. Thus, in yeast the *cifA-cifB* genes behave as a toxin-antitoxin/antidote (TA) module. This behavior led to the predictions that CidB and CinB are modification factors loaded into the sperm of *Wolbachia*-infected male insects and that the cognate CidA and CinA proteins function as rescue factors when expressed in females (6).

Indeed, transgenic germline expression of Cifs from wPip, wMel, or wNo *Wolbachia* strains in *D. melanogaster* flies or of wPip CidA and CidB in *Anopheles gambiae* mosquitoes appears to recapitulate all the major features of CI in a way that is closely analogous to the yeast growth data (1, 6, 15, 51, 72, 75). This is clearest for transgenic expression of the *cidA* and *cidB* wPip genes in *A. gambiae* and *cinA* and *cinB* wNo genes in *D. melanogaster*, where the CI induction and rescue functions align exactly with the predictions from yeast analyses (1, 75). Notably, transgenic rescue requires only the cognate CidA or CinA factor not only in the aforementioned cases but also for *cinA*^{wPip} and *cidA*^{wMel} expressed in *D. melanogaster* females (15, 72). On the other hand, induction of CI by transgenic expression in the male germline depends not just on the *cifB* factors but on coexpression of the cognate *cifA* when *cidA-cidB*^{wPip}, *cinA-cinB*^{wPip}, or *cidA-cidB*^{wMel} effects are examined in flies.

Altogether, the findings strongly support a genetic model in which the CifB factors are responsible for a lethal paternal effect on embryogenesis through their expression in the male germline and the cognate CifA factors rescue viability via their expression in females. Notably, cytological analysis of incompatible crosses in transgenic fly lines shows the classical first zygotic mitosis defects of natural CI such as delayed chromosome condensation in the male pronucleus and lagging separation of the paternal chromosomes during anaphase (15, 75). The exact basis for the differential requirements for *cifA* coexpression in the induction of CI in different transgenic model organisms or for *cif* genes from distinct *Wolbachia* strains remains to be determined. They may simply be due to differences in the level or localization of the transgenically expressed proteins in the male germline. CifA may help neutralize premature toxicity of CifB in sperm precursors, or it may facilitate proper loading of CifB into sperm to trigger CI following fertilization. An intriguing observation from yeast studies of several of the *cifA-cifB* systems is that coexpression of CifA seems to enhance levels of CifB (75, 84). This might reflect metabolic stabilization of CifB through binding to the cognate CifA (see the next section), which could enhance levels of CifB loaded into sperm nuclei.

Support for the *cifA-cifB* genetic model also comes from studies with *Wolbachia*-infected natural populations. The most complex incompatibility patterns known are those documented for the different but monophyletic wPip *Wolbachia* types that infect geographically distinct *C. pipiens* mosquito populations (58). Multiple copies of *cidA* and *cidB* are carried in these bacteria; they also all have *cinA-cinB* loci. By sequence analysis of the wPip *cif* loci, blocks of sequence changes in the *cidA-cidB* operon were observed, and these correlated with crossing-type diversity (12). Variation in the CI modification function was later associated specifically with differences in the *cidB* gene (13).

In the majority of CI-inducing *Wolbachia*, the *cif* genes are within a WO prophage genomic insert that in at least some instances can form bacteriophage-like particles (24, 51). It is not certain that full infectious viruses are assembled; an interesting alternative hypothesis is that the

phage-related proteins may act together as a gene transfer agent similar to the RcGTA from *Rhodobacter capsulatus*, a free-living alphaproteobacterium, that packages random genomic DNA fragments (23, 48). Other mobile genetic elements such as transposons are also often linked to the *cif* genes. These various mobile genetic elements could all potentially promote lateral gene transfer of *cif* and other genes among different strains and species (28).

Genes related to the *Wolbachia cifA-cifB* syntenic gene pairs have been predicted from sequences in a broader range of intracellular bacterial species, including *Rickettsia* and *Orientia* species, and in some arthropod genomes (9, 28). An interesting example is a putative TA locus on the pLbAR plasmid of *Rickettsia felis* (28). Here *cifA*-like and *cifB*-like genes are arranged similarly, and the downstream *cifB*-like sequence encodes a modular 3,241-residue protein that is similar to the large CndB *Wolbachia* proteins (such as the one from *wStri*), which are predicted to have both enzymatically active CE-clan DUB and PD-(D/E)xK nuclease domains (as well as additional domains such as ankyrin repeats). Gillespie et al. (28) have argued that this configuration of active DUB and nuclease domains was likely present in the ancestral sequence of the *Wolbachia* CifB proteins. These activities are discussed further in the next section.

BIOCHEMICAL ACTIVITIES OF THE Cin AND Cid PROTEINS

CifA-CifB Binding

The genetics and biochemistry of the *cifA-cifB* systems accord well with a TA mode of action. Furthermore, the complex compatibility phenotypes of *wPip*-infected *C. pipiens* mosquitoes are most readily explained by a lock-and-key TA mechanism. Only specific pairs of the multiple CidA antidote and CidB toxin proteins are predicted to associate, presumably involving the cognate partners from the same operon in most cases (58). In many TA modules from free-living bacteria, namely the type II systems, the antitoxin protein binds directly to the toxin to neutralize it (42). Using recombinant *Escherichia coli*-expressed *Wolbachia* Cif proteins, it was demonstrated that the CidA^{wPip}-CidB^{wPip}, CinA^{wPip}-CinB^{wPip}, and CinA^{wNo}-CinB^{wNo} factors form specific cognate complexes that are either not detected or detected only weakly when noncognate proteins are mixed (6, 15, 75). The interactions can be quite strong: A dissociation constant of ~25 nM was determined for the purified CinA^{wPip}-CinB^{wPip} pair (15). Binding is not related to the enzymatic activity of the CifB protein; for example, CidA^{wMel} does not associate with CidB^{wPip}, consistent with its inability to suppress the CidB^{wPip}-induced growth defect in yeast. Despite the tight binding between cognate factors, the enzymatic activity of the CifB proteins against model substrates is not diminished (6, 15).

More recent high-resolution structural and mutagenesis studies of CidA-CidB and CinA-CinB complexes have not only determined the molecular basis for the tight interactions but also highlighted the specificity and functional importance of such binding in both CI rescue in flies and growth restoration in yeast (84, 89). A 2.2-Å-resolution X-ray crystallographic structure of the *wPip* CinA-CinB complex revealed an interface with over 2,500 Å² of buried surface area (**Figure 3a**). The interface does not occlude the active site(s) of the CinB enzyme, consistent with the unchanged enzyme activity observed for the complex. A notable feature of this extensive interface, which is divided into three distinct regions, is that it forms almost entirely through hydrophilic and electrostatic interactions (**Figure 3b-d**). The CinB interacting surface is largely basic, while the complementary surface of CinA is mostly acidic.

Mutating two of the three interfacial regions in either CinA or CinB using charge-reversed amino acid substitutions strongly impairs complex formation (89). Strikingly, if both surfaces are simultaneously mutated in the two proteins to partially reconstitute surface charge complementarity, CinA-CinB binding is substantially restored, as is growth of yeast expressing the two

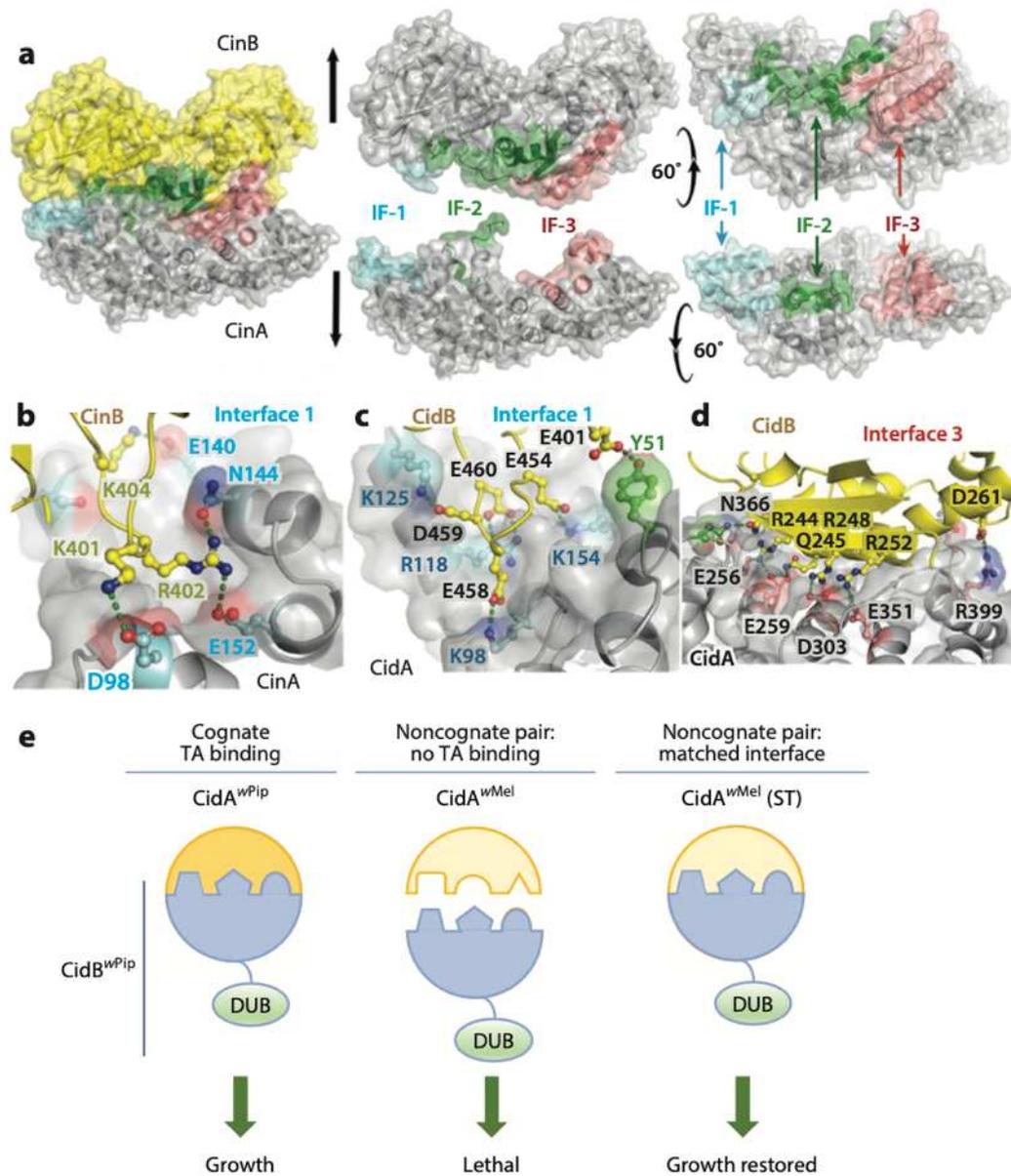


Figure 3

The CifA-CifB heterodimer interface and its function in rescue of viability (84, 89). (a) Crystal structure CinA-CinB^{wPip} highlighting the tripartite interface (IF-1, IF-2, IF-3). (b) A basic finger of CinB^{wPip} inserts into an acidic pocket of CinA^{wPip} at IF-1. (c) The equivalent IF-1 finger of CidB^{wPip} is acidic and inserts into a basic pocket of CidA^{wPip}. (d) The structurally distinct IF-3 of CidA^{wPip}-CidB^{wPip} is also dominated by charge interactions. (e) Mutation of the CidA^{wMel} surface that binds CidB^{wMel} enables it to bind CidB^{wPip}. The change-of-specificity mutant, CidA^{wMel} (ST), can also suppress CinB^{wPip} toxicity as measured by yeast growth assays. Panels a–d adapted from images provided by Dr. Jimin Wang (Yale University). Abbreviation: DUB, deubiquitylase.

complementary mutants; expression of the CinB mutant by itself remains lethal, arguing that the surface mutations do not alter the overall folding or activity of the enzyme. Importantly, transgenic expression of a CinA interface mutant in female *D. melanogaster* also eliminates its ability to rescue embryo viability in matings with males expressing wild-type CinA-CinB^{wPip}.

Annexe 2: « A comprehensive review of *Wolbachia*-mediated mechanisms to control dengue virus transmission in *Aedes aegypti* through innate immune pathways » (57)



OPEN ACCESS

EDITED BY
Luwen Zhang,
University of Nebraska-Lincoln, United States

REVIEWED BY
André Alves Dias,
Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Brazil
Kíssila Rabelo,
Rio de Janeiro State University, Brazil

*CORRESPONDENCE
Muhammad Sajjad Sarwar
✉ mssravian@gmail.com

†These authors have contributed
equally to this work and share
first authorship

RECEIVED 17 May 2024
ACCEPTED 16 July 2024
PUBLISHED 08 August 2024

CITATION
Mushtaq I, Sarwar MS and Munzoor I (2024)
A comprehensive review of *Wolbachia*-
mediated mechanisms to control dengue
virus transmission in *Aedes aegypti* through
innate immune pathways.
Front. Immunol. 15:1434003.
doi: 10.3389/fimmu.2024.1434003

COPYRIGHT
© 2024 Mushtaq, Sarwar and Munzoor. This is
an open-access article distributed under the
terms of the [Creative Commons Attribution
License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or
reproduction in other forums is permitted,
provided the original author(s) and the
copyright owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is cited, in
accordance with accepted academic
practice. No use, distribution or reproduction
is permitted which does not comply with
these terms.

A comprehensive review of *Wolbachia*-mediated mechanisms to control dengue virus transmission in *Aedes aegypti* through innate immune pathways

Iqra Mushtaq[†], Muhammad Sajjad Sarwar*[†] and Iqra Munzoor

Department of Zoology, Faculty of Life Sciences, University of Okara, Okara, Pakistan

The Dengue virus (DENV), primarily spread by *Aedes aegypti* and also by *Aedes albopictus* in some regions, poses significant global health risks. Alternative techniques are urgently needed because the current control mechanisms are insufficient to reduce the transmission of DENV. Introducing *Wolbachia pipiensis* into *Ae. aegypti* inhibits DENV transmission, however, the underlying mechanisms are still poorly understood. Innate immune effector upregulation, the regulation of autophagy, and intracellular competition between *Wolbachia* and DENV for lipids are among the theories for the mechanism of inhibition. Furthermore, mainly three immune pathways Toll, IMD, and JAK/STAT are involved in the host for the suppression of the virus. These pathways are activated by *Wolbachia* and DENV in the host and are responsible for the upregulation and downregulation of many genes in mosquitoes, which ultimately reduces the titer of the DENV in the host. The functioning of these immune pathways depends upon the *Wolbachia*, host, and virus interaction. Here, we summarize the current understanding of DENV recognition by the *Ae. aegypti*'s immune system, aiming to create a comprehensive picture of our knowledge. Additionally, we investigated how *Wolbachia* regulates the activation of multiple genes associated with immune priming for the reduction of DENV.

KEYWORDS

dengue virus, *Aedes aegypti*, *Wolbachia*, innate immune pathways, toll pathway, IMD pathway, JAK/STAT pathway

1 Introduction

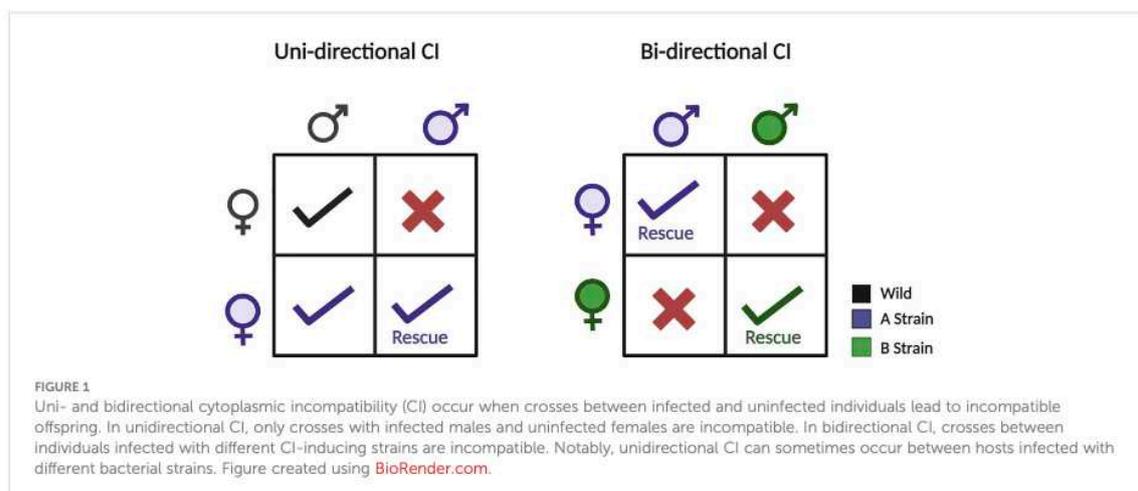
Arboviruses are mainly transmitted by blood-feeding arthropods like *Aedes* mosquitoes. Predominantly transmitted by female *Aedes aegypti*, these viruses encode RNA genomes including dengue (DENV), Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV), yellow fever (YFV), and Ross River (RRV) viruses, etc. (1). *Aedes*-borne viruses are potentially deadly; they cause at least 40,000 deaths, each year (2). One of these viruses, DENV is endemic in over 141 countries, affects 390 million people, and claims 36,000 lives annually (3). As of right now, proper treatments for these viral diseases are unavailable. To combat this, different strategies focus on hosts, host-vector interaction, and the vectors themselves. From all these, vector control is a primary approach that involves chemical, environmental, and biological methods. Notably, one novel biological method is *Wolbachia*-based control, which may involve replacing wild-type mosquito populations with *Wolbachia*-infected variants. Additionally, *Wolbachia* can also inhibit viral proliferation in their host's midguts, significantly reducing their ability to transmit viruses (4, 5). In the past two decades, establishing *Wolbachia*-infected *Ae. aegypti* population resistant to DENV, and investigating transgenic drivers for population replacement have substantially progressed (6, 7).

Naturally, *Wolbachia* inhabits around 65% of all insect species (8) and in arthropods, this bacterium exhibits both mutualistic and parasitic interactions with its hosts (9). It provides multiple approaches to disease suppression such as by reducing vector population through incompatible males, affecting the fitness of the host, inhibiting pathogen transmission (10–13), affecting reproduction through male killing (14), feminization (15), parthenogenesis (16), and primarily, by cytoplasmic incompatibility (CI) (17, 18). In insects, CI occurs in two forms: (a) Unidirectional CI, where infected males can mate with only infected females with the same strain and cross with wild females resulting in embryo lethality and (b) Bidirectional CI, where males and females infected with different strains of *Wolbachia* cannot produce viable off-springs (Figure 1) (19). *Wolbachia*-infected

females gain an evolutionary edge by mating with uninfected males, yielding viable offspring (20, 21). Manipulation of reproduction seems promising as it suggests that once a *Wolbachia* strain invades a target vector population through host reproductive alteration, ongoing management by health authorities might be minimized.

Anti-pathogenic effects of *Wolbachia* have been observed by many authors when it transacted non-native hosts (10, 22, 23). Although *Ae. aegypti* lacks natural association with *Wolbachia*, however, an uninfected *Ae. aegypti* laboratory population can quickly become infected when *Wolbachia*-infected females are introduced to the population (24). Hoffmann et al. (4) artificially introduced the *wMel* strain of *Wolbachia* into *Ae. aegypti* mosquitoes. This strain induces CI, hampering breeding with *Wolbachia*-free mosquitoes. It was reported that it spreads quickly through mosquito populations, with little harm to the mosquitoes, and reaches high levels within just a few generations under semi-natural conditions. Most interestingly once a disease-blocking *Wolbachia* strain establishes itself in the target vector population, it can persist without further releases. It makes *Wolbachia* the best tool to inhibit arboviral transmission (25).

Investigating mosquito interactions with microorganisms, particularly with *Wolbachia*, reveals fascinating details about the defense mechanisms of the insects. Investigating mosquito interactions with microorganisms, particularly mosquitoes, like many insects, possess a vigorous innate immune system activated through pattern-recognition receptors (PRRs). In *Ae. aegypti*, both Toll and immune deficiency (IMD) signaling pathways induce antimicrobial peptides through transcription factors REL1 and REL2 (26). In transacted mosquito lines, the presence of *Wolbachia* activates the immune system, however, the precise function of these immune responses in establishing the symbiotic relationship between *Wolbachia* and the mosquitoes remains uncertain. Understanding how *Wolbachia* inhibits arboviruses is important for predicting factors that could affect both the viruses and mosquitoes. It will help to anticipate changes that might influence the effectiveness of *Wolbachia*-mediated inhibition.



Gaining this understanding is essential to maximizing the *Wolbachia*-based control strategies' durability and efficacy. This review article will go over how *Wolbachia* interferes with the way mosquito hosts, *Ae. aegypti*, interact with DENV, inhibits the entry and replication of viruses, reduces the amount of nutrients required for an arboviral infection, boosts immunity, produces reactive oxygen species (ROS), promotes cellular regeneration for a better midgut barrier, and controls genes involved in a range of cellular functions.

2 Defence systems of *Ae. aegypti* as a host

Pathogen-blocking mechanisms vary among host species, and a cellular process involved in pathogen blocking may not be generally applicable. It is commonly known that invertebrates, including *Ae. aegypti*, do not possess adaptive immunity. Mosquitoes employ defense mechanisms both within and outside their bodies to prevent pathogens and mainly rely on their innate immune system (27). It is now recognized that innate immunity in mosquitoes provides prompt defense against infections via humoral or cellular responses, which are typically brought on by the invasive microorganism. The cellular part involves special cells called hemocytes, while the humoral part includes various substances like PRR and anti-microbial peptides (AMPs). However, gene network analysis across insect species highlights strong connections between the pathways controlling the production of nutrients in the insect and the ability of viruses to replicate (28).

The genome of *Ae. aegypti*, known for its role as a disease vector, contains genes crucial for both viral infection and defense mechanisms. The most recent reference genome (AaegL5) reveals an expanded range of gene families, such as chemosensory receptors (related to the mosquito's ability to sense chemicals), glutathione S-transferase (involved in detoxification processes), and C-type lectin (associated with immune responses), including specific genetic regions (chromosome 2) associated with viral susceptibility (29, 30). The presence of DENV, ZIKV, and CHIKV induces varying transcriptomic changes in *Ae. aegypti* (31). When these viruses infect *Ae. aegypti*, they trigger changes in the mosquito's genetic activity in specific areas like cell structure, genetic processes, immune responses, stress reactions, and metabolic activities (32–34).

Wolbachia complicates the interaction between *Ae. aegypti* and arboviruses by disrupting the same molecular processes that are necessary for the viruses (33, 34–39). This interference causes cellular disturbances that harm the pathogen. Mosquitoes possess a natural defense mechanism against oxidative stress induced by blood meals. This defense involves activating antioxidants to protect their tissues. In DENV infection, mosquitoes produce ROS like mammalian cells but avoid the harmful effects associated with ROS accumulation (40). This unique ability is considered an evolutionary advantage, ensuring the successful transmission of the virus without compromising the mosquito's health. DENV infection in mosquito cells (specifically C6/36 cells), causes endoplasmic reticulum (ER) stress by inducing the unfolded protein response, a cellular stress response mechanism. The chaperones GRP78/BiP and GRP94 are used as ER stress sensor

genes, and their upregulation is observed against DENV in the cells of mosquitoes (41). Alterations in the mitochondrial membrane potential are linked to a noteworthy rise in GST (Glutathione S-Transferase) activity, suggesting the possibility of ER stress induction. Because mosquito cells have more GST activity, there may be less oxidative stress in the environment, which would facilitate viral propagation. Knocking down GST in DENV-infected cells elevates the concentration of superoxide dismutase, linking GST activity to oxidative stress regulation during DENV infection in mosquitoes (42, 43). GST also plays a significant role in minimizing cell death triggered by oxidative stress induced by DENV2 in mosquito cells (44). Additionally, eIF5A (an important protein involved in the complex process of protein synthesis) levels decrease during the aging of *Ae. aegypti* mosquitoes and its expression is upregulated in response to actively replicating DENV in the C6/36 cell line. It indicates a potential role for eIF5A in the cellular response to DENV infection (43, 45). Knowing all these cellular defense mechanisms in *Ae. aegypti* may help us to understand the mechanism behind *Wolbachia*-mediated control of DENV. Additionally, there is much evidence that the transinfection of various strains of *Wolbachia* into *Ae. aegypti* can prevent the spread of DENV (Table 1).

3 *Wolbachia*-Aedes-dengue association

The internal cellular structure of *Ae. aegypti* is required for arboviruses to successfully move through the stages of viral entrance, replication, assembly, and exit (75). This framework, referred to as the cytoskeleton, is made up of an actin filament and microtubule network. Arboviruses help build host cell structures for their survival, while *Wolbachia* does the opposite, weakening these structures to block the arboviral binding and entry (Figure 2) (9). In DENV-infected *Ae. aegypti*, genes for specific proteins such as dynein, vimentin, tubulin, actin, myosin, tropomyosin, and laminin are substantially expressed (76). Guo et al. (77) reported that actin and tubulin support DENV infection *in vitro*, while NS5 is associated with myosin in DENV infection (78). The introduction of the wAlbB strain appears to influence the cellular environment by reducing the levels of specific proteins associated with cell adhesion (dystroglycan) and cytoskeletal structure (beta-tubulin) in *Ae. aegypti* cells infected with DENV (79). This reveals a mechanism by which *Wolbachia* interferes with the virus's development. This is a significant finding as it demonstrates how *Wolbachia* interferes with the early stages of arboviral infection (79).

4 How *Wolbachia* control DENV?

While *Wolbachia* is recognized for inhibiting certain viruses, its effectiveness is mainly observed against viruses with positive-sense or double-stranded RNA genomes (13). Its ability to inhibit negative-sense RNA viruses is less commonly reported. DENV, a positive-strand RNA virus, enters midgut cells following a blood

TABLE 1 Transaction of different *Wolbachia* strains into different cell lines results in DENV inhibition.

Wolbachia Strains	Cell line	DENV	Source
wAlbB	WB1,	Inhibition	(24, 46)
	Aag2 cell line		(47)
	C6/36 cells		(48)
	WB2 line		(49)
	Aag2		(50)
	wRNase HI		(51)
	<i>Ae. albopictus</i> cell line C6/36		(22)
	<i>Ae. aegypti</i> WB1		(52)
	W-Aag2 cell line		(46)
	C6/36 cells		(53)
	NA		(54)
	C6/36 cells	(55)	
wAu and wAlbA	C6/36 cells	(56)	
wMel	wMel-Aag2	(50)	
	RML-12 cell line	(4)	
	MGYP2 PGYP1	(57)	
	MGYP2.out C6/36 cells	(58)	
	Aag2	(52)	
	Aag2	(59)	
	Aag2	(60)	
	<i>Ae. aegypti</i> WB1	(61)	
	RML-12 cell line	(62)	
	C6/36 cells	(63)	
	No cell line mentioned	(64–72)	
wMelPop	PGYP1	(73)	
	wRNase HI	(51)	
	Aag2	(72)	
	PGYP1 <i>Ae. aegypti</i>	(52)	
		(57, 64)	
wMelPop-CLA	C6/36.wMelPop-CLA line,	(74)	
	Aag2	(72)	
	MGYP1.line PGYP1.out	(10)	
wMelPopCS		(55)	
wPip	wPip-Aag2	(50)	

meal (80). Many proteins, including replication factors, are produced when the viral RNA is translated into a polyprotein. Once DENV surpasses the midgut barrier, it can access other tissues like the fat body and the hemocytes. As soon as the virus enters the hemocoel, it can reproduce in the salivary gland cells and travel to the lumen of the glands. From there, the virus can be transmitted to a human host during subsequent mosquito blood-feeding. The exact mechanism behind *Wolbachia*-mediated blocking remains a mystery, primarily due to challenges in isolating the contributions of the three partners in the *Wolbachia-Aedes-dengue* association. The understanding of this process relies on observations of how these partners interact for a clear comprehension of the specific mechanisms involved (81). Some scientists suggest that *Wolbachia* may outcompete the virus for resources like lipids, enhance the mosquito's immune system (82), and possibly this bacterium can lessen *Ae. aegypti*'s susceptibility to DENV (83). Additionally, there are many possible methods by which the transinfection of various strains of *Wolbachia* into *Ae. aegypti* can prevent the spread of disease. This section is all about how DENV affects the genes of *Ae. aegypti* and how the mosquito responds at the cellular level in the presence and absence of *Wolbachia*.

4.1 Competition for intracellular resources

Studies suggest that *Wolbachia*-induced metabolic changes in transinfected *Ae. aegypti* may elucidate the pathogen-blocking mechanism (84–86). New studies suggest that instead of simply struggling over lipids, there's a more complicated relationship where changes in lipids might work against each other. In one study by Koh et al., when DENV infection alone leads to an abundance of lipids *Wolbachia* and DENV both want the same things inside the cells of mosquitoes (87). *Wolbachia* relies on various host factors for replication, transmission, and manipulation of the host. It depends on host-derived membranes (88), altering their morphology, and affecting cholesterol/lipid metabolism (85). *Wolbachia* strategically localizes itself within vesicles closely associated with the endoplasmic reticulum, to gain access to the host cell's lipid-rich environment (89). On the other hand, the DENV also disturbs the internal membranes of the cell to produce specific locations where the virus can multiply (90). By manipulating the cell's fatty acid synthesis pathway, DENV effectively increases the production of lipids to facilitate its replication, while *Wolbachia* often triggers a response against pathogens in arthropods by competing for cholesterol and iron, necessary for their growth (46). wMelPop or wMel infected cells of *Ae. aegypti* exhibit a significant reduction in total cholesterol (91) suggesting reliance on the host cell for lipid production due to lacking essential genes. This reduction in cholesterol impacts DENV replication, which also relies on cholesterol production. However, high *Wolbachia* abundance might consume excessive fatty acids, potentially disrupting normal cellular functions and virus replication. While the exact mechanism remains unclear, *Wolbachia* could be more resource-efficient than the virus, potentially enhancing mosquito immunity.

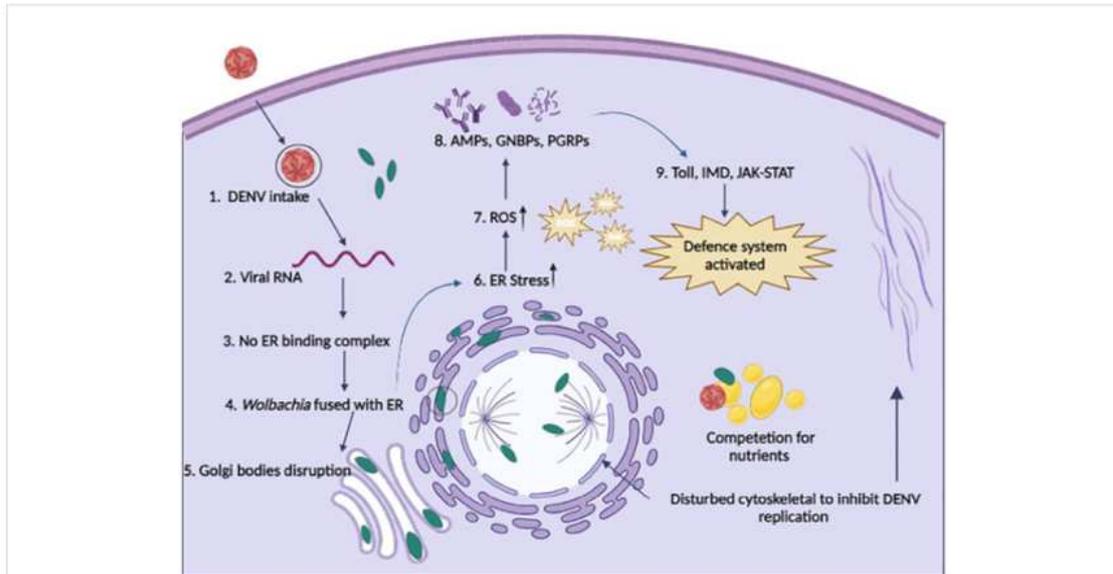


FIGURE 2

Possible defense systems of cells in the presence of *Wolbachia*. 1. DENV enters a *Wolbachia*-infected cell through endocytosis; 2. Viral RNA starts replication; 3. Replication of DENV is restricted because no binding complex forms on the ER membrane; 4. *Wolbachia* fused with the ER membrane and disturbs it; 5. No formation of Golgi vesicles due to disturbance of Golgi apparatus membrane by *Wolbachia*; 6. *Wolbachia* induces ER stress; 7. *Wolbachia* produces ROS to increase cellular stress; 8. Upregulation of AMPs, GNBPs, and PGRPs to boost immunity; 9. Immune pathways are activated to fight against pathogens (cells take *Wolbachia* as part of innate immunity); 6 *Wolbachia* also competes with DENV for nutrients and also disturbs the cytoskeleton to stop the movement of DENV and maturation.

In *Ae. aegypti*, the *Wolbachia* strain or DENV disturbs cholesterol levels, resulting in increased cholesterol storage and localized lipid droplet accumulation (85). This dysregulation is marked by the upregulation of Niemann-Pick type C2, sterol carrier protein 2, and calnexin 99, associated with the downregulation of fatty acid synthase and LDL receptor proteins, indicative of compromised intracellular cholesterol transport. Specific lipids, like sphingomyelins and cardiolipins, are highly present in DENV3-infected mosquitoes but depleted when *wMel* is present, suggesting an indirect antagonistic effect (87). In another study, the interaction involves elevated acyl-carnitine lipids during DENV infection but a significant reduction in *wMel*-infected cells (92). Lowering acyl-carnitine increases *wMel* density while adding this lipid to *wMel*-infected cells boosts DENV. A recent study indicates that *wMel*-transfected *Ae. aegypti* suppresses DENV and ZIKV through the downregulation of the insulin receptor, however exact mechanisms need to be defined (93). In simple words, the virus may seek a lipid-rich environment for replication, which *Wolbachia* disrupts. However, understanding how *Wolbachia* downregulates the DENV is a matter of interest that is unclear.

4.2 Immune priming

To prevent arboviral transmission, *Wolbachia* employs two strategies. For starters, it competes for limited host cellular resources with arboviruses. Second, when transmitted to non-

native hosts, it uses immune priming, which is a preactivation of the host's immune system. This strengthens the arthropod's resistance to arboviral infections. Signaling pathways such as IMD, Toll, and JAK-STAT initiate immune priming (94). Rances et al. (95) found that *Wolbachia* activates immunological genes linked to Toll pathways, melanization, and AMPs. The JAK-STAT pathway, known for regulating antiviral immunity, has been proven effective in preventing DENV infection in *Ae. aegypti* (96). *wAlbB*-transfected *Ae. aegypti* upregulates Toll (GNBP1, SPZ3B, MYD88) and IMD (PRGP-LE, REL2) pathway genes, triggering the release of AMPs (e.g., cecropins, defensins) during arboviral infection (33, 34, 46). This immune-priming effect can be observed in mosquito larvae exposed to dormant dengue virus, resulting in protection against the virus in maturity (97).

4.2.1 *Wolbachia* and Toll pathway

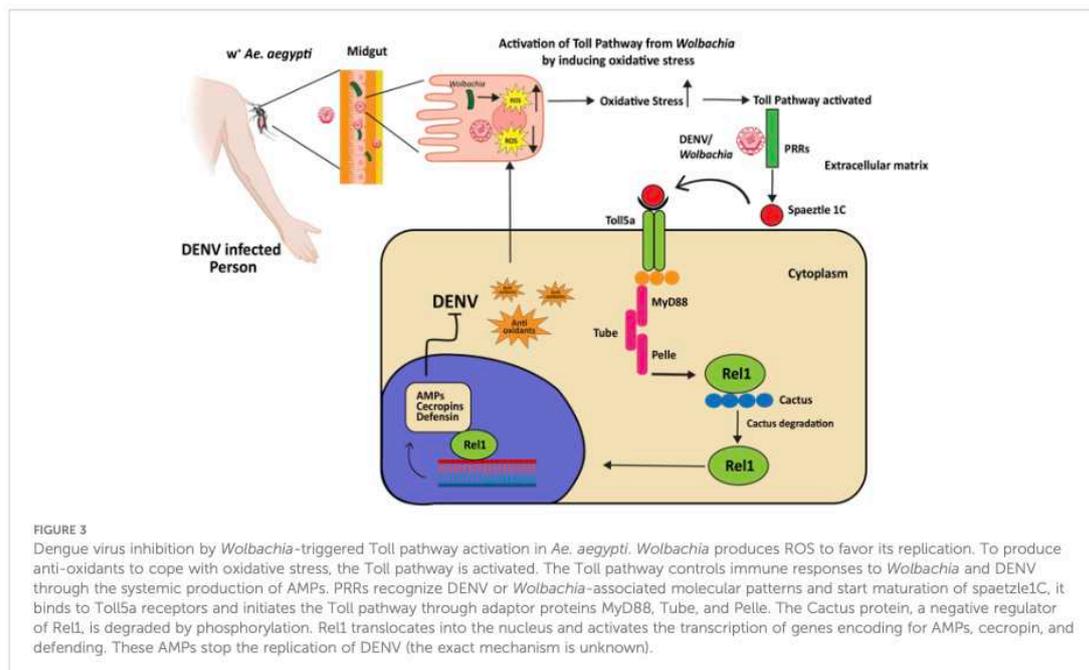
Vector-virus interactions have been studied since the initial *Ae. aegypti* genome sequence was made public (98). *Ae. aegypti*'s defense against DENV infection is mediated by this pathway, as demonstrated by early transcriptome analysis in conjunction with functional assessments (99). Immune genes of the Toll pathway are upregulated in response to DENV-2 infection, indicating Myeloid Differentiation factor 88 (MYD88) is responsible for the high level of DENV and its essential role in controlling mosquito defense against DENV (33). *Wolbachia* activation of the Toll pathway induces the host release of ROS, leading to the synthesis of AMPs and antioxidants as shown in Figure 3 (100). The silencing of the

tissues of the midgut. In both the carcass and midgut tissue of *Ae. aegypti* infected with DENV, the AMP transcripts are highly marked (96). Furthermore, AMP gene expression is enhanced by the silencing of Cactus and Caspar (33). Viruses can modulate host arboviral susceptibility by downregulating AMP genes, as demonstrated in *in-vitro* and transcriptomic research on DENV-, ZIKV-, and CHIKV-infected mosquitoes (101). After infection, there's a temporary increase in the expression of Spätzle (spz) and Rel1A, along with a transient rise in Cactus expression, which later decreases after 7 days (102). This upregulation indicates a robust immune response, with the pathway recognizing and combating the presence of the DENV in *Ae. aegypti*. When *Ae. aegypti* becomes infected with dengue, the Gram-negative binding proteins (GNBPs) may engage with virus particles or cellular debris, which could trigger immunological responses or directly neutralize virus particles, strengthening the mosquito's defenses against DENV. Susceptibility has also been directly linked to several immune-related genes. Caicedo et al. (103) demonstrated that certain genes in *Ae. aegypti* significantly reduce the proliferation of DENV. These genes for specific proteins included Keratinocyte lectin (AAEL009842), GNBP (AAEL009176), Cathepsin-b (AAEL007585), and NPC2 (AAEL015136). This demonstrates the significance of these genes and their role in the functioning of DENV infection. In mosquitoes, the midgut serves as a primary site for the replication of the virus and now it's clear that the Toll pathway activation by RNAi-mediated depletion of Cactus suppresses viral infection in the mosquito midgut.

Bonizzoni et al. (104–106) found that extracellular PRR attaches to pathogen-derived ligands to initiate the Toll

pathway. It triggers a proteolytic cascade that causes the Spätzle processing enzyme (SPE) to convert pro-Spätzle to Spätzle (107). Effector gene transcription is started when Spz binds to the transmembrane receptor Toll, triggering a cytoplasmic cascade that results in the nuclear translocation of the NF- κ B transcription factor Rel1a. This pathway is noticeably downregulated in response to DENV infection specifically, certain variants of DENV-2, found in the 3' untranslated region 3'UTR, inhibit the Toll pathway within mosquito salivary glands by producing subgenomic flaviviral RNA (108). However, there's evidence suggesting that *Wolbachia* induces oxidative stress within the mosquito, and this stress, in turn, triggers the Toll pathway (100).

In the mosquito's antiviral defense, multiple immune pathways are engaged, with each pathway showing specificity toward particular viruses. DENV virus activates Toll pathway genes, and increased expression of AMPs has been observed in these mosquitoes but their specific function in antiviral defense has yet to be fully understood. Pan et al. (100) suggested that the Toll pathway is responsible for expressing antioxidants and AMPs such as defensins and cecropins. Defensins were originally assumed to target enveloped viruses by breaking the viral envelope. Their extracellular antiviral impact is indicated by the fact that they are generated in the fat body and released into the hemolymph. *Wolbachia* infection activates defensins, including DEFA and CECA, to limit DENV proliferation, as demonstrated in DEF/CEC transgenic *Ae. aegypti* (109). Hence to fully understand mosquito antiviral defenses and their significance in the fight against infectious illnesses, more research is necessary.



4.2.2 *Wolbachia* and IMD pathway

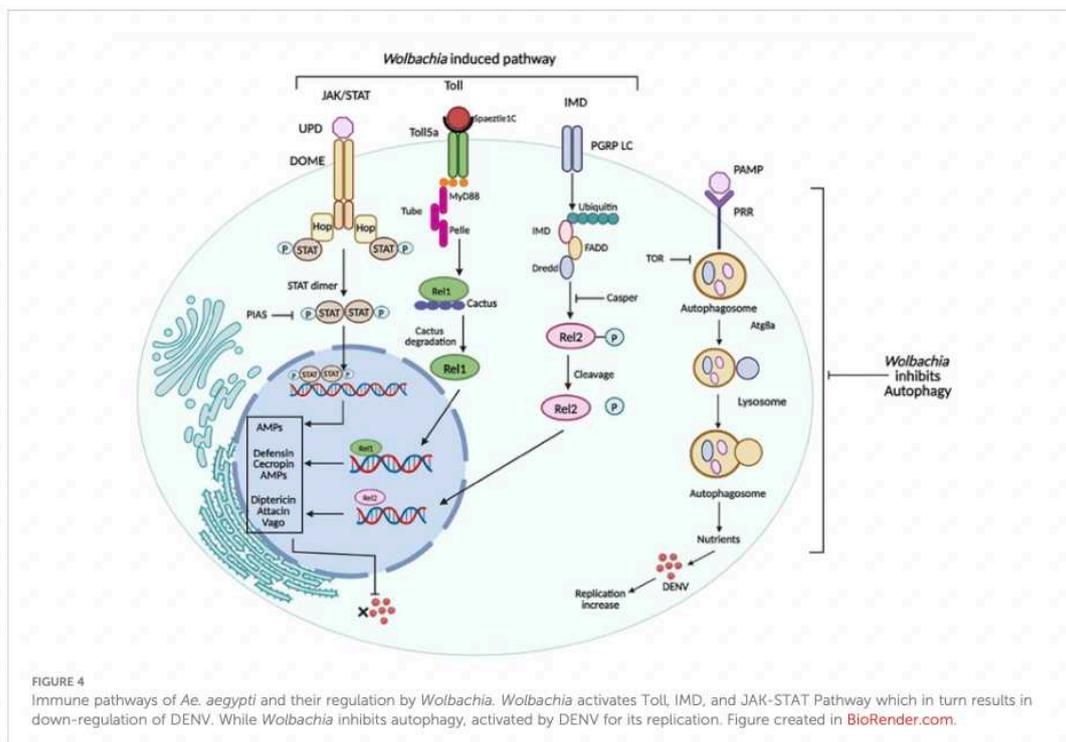
The IMD pathway is an important component of the insect defense system, particularly effective against gram-negative bacteria (110). Like the mammalian tumor necrosis factor signaling mechanism, the IMD pathway activates when membrane-bound PGRPs detect any pathogen. This triggers a signaling cascade involving the IMD protein, caspases, and kinases, ultimately leading to the activation of Rel2. It activates the transcription of AMPs and defense-related genes (111). When *D. melanogaster* gets infected by viruses, it activates the IMD pathway, which triggers the production of AMPs to fight off the invaders (112). Silencing key components of this pathway led to increased DENV titers in DENV-resistant mosquito strains, indicating its potential as an antiviral defense mechanism against this virus (113). Furthermore, *Wolbachia* activates this pathway, as a mechanism of defense in both natural host *Drosophila* and transinfected host *Ae. aegypti* mosquitoes (11, 22, 95).

Ye et al. (57) reported that boosting the IMD pathway leads to higher wAlbB titers while silencing it leads to a decrease. The mosquito's innate immune system can detect wAlbB through PGRP-LE, acting as a PRR and this triggers the activation of the IMD pathway. It is similar to how PGRP-LE functions as an intracellular sensor of Gram-negative bacteria in *Drosophila*, inducing the IMD pathway (110). Enhanced immunity boosts the expression of molecules that stimulate rather than inhibit wAlbB proliferation in *Ae. aegypti*, possibly because these AMPs lack

specific targets on the *Wolbachia* cell membrane (46). Immune boosting may lead to increased *Wolbachia* density via the production of molecules that support *Wolbachia* replication, such as antioxidants as in the case of the Toll pathway (100). Increased production of AMPs by these antioxidants may indirectly benefit *Wolbachia* by removing susceptible microbial flora, allowing *Wolbachia* to occupy new niches. This suggests a positive feedback loop between host immune system activation and *Wolbachia* growth, aiding the establishment of *Wolbachia* symbiosis in transinfected *Ae. aegypti* lines. However, by activating the IMD pathway *Wolbachia* inhibits the replication of DENV in mosquitoes (Figure 4).

4.2.3 *Wolbachia* and JAK-STAT pathway

The JAK-STAT pathway is crucial in *Ae. aegypti*'s defense against DENV, as suppressing it leads to increased virus replication in the mosquito midgut (114) and its activation, on the other hand, reduces virus replication. In *Ae. aegypti*, high JAK/STAT activation limits DENV replication, but the pathway's effectors and the mechanisms behind JAK-STAT pathway-mediated antiviral effects are poorly understood. In *Ae. aegypti*, this pathway is activated by ligands such as Unpaired (Upd), which binds to the Dome receptor, leading to downstream signaling activation. Suppressing the Dome receptor or its JAK homolog HOP through RNA interference increases mosquito susceptibility to DENV infection while blocking the negative



regulator, a protein inhibitor of activated STAT (PIAS), enhances DENV resistance (114). Two putative effector genes, DVRF1 and DVRF2, have been identified in *Ae. aegypti* as dengue virus restriction factors, but their functions are uncharacterized. The activation of various immunity-related genes by the JAK-STAT pathway suggests its role as a non-classical innate immune defense against DENV. Souza-Neto, Sim, & Dimopoulos (114) reported that *wMel* induces the JAK/STAT pathway in *Ae. aegypti*, which controls DENV. However, the exact mechanism by which *Wolbachia* modulates the expression of the JAK/STAT pathways remains unclear.

4.2.4 Transfected *Wolbachia* and mosquito immune responses

Naturally occurring *Wolbachia* does not have a major effect on vector competence in mosquito species. For example, *Ae. albopictus wAlbB* is unable to produce resistance against DENV in its native host (22). Bourtzis et al. (115) demonstrated that the AMP transcripts in *Ae. albopictus* is not substantially affected by *Wolbachia*. *Wolbachia*-infected mosquitoes exhibit resistance to diseases, which is probably the result of an increased host immune response that balances any potential negative consequences resulting from the recently acquired parasite. The key point here is that *Wolbachia*-induced immune factors activate pre-invasion, contrasting with pathogen-induced factors that activate post-invasion. Compared to the Toll pathway's later activation by DENV, *Wolbachia* increases its activity before DENV invasion, allowing it to play a more significant role in clearing invasive viruses (33).

Many researchers explained the mechanisms through which *Wolbachia* activates the immune system of its host. In the case of *wAlbB* infected *Ae. aegypti*, Pan et al. (100) reported increased hydrogen peroxide (H₂O₂) levels and a significant increase in the expression of genes that encode NADPH oxidase (NOXM) and Dual Oxidase 2 (DUOX2) enzymes. These enzymes play a role in the production of ROS (116, 117). However, an upregulation of antioxidant genes in *Wolbachia*-infected mosquitoes implies the activation of mechanisms to neutralize ROS. Brennan et al. (35) also show ROS generation and antioxidant protein expression in *Wolbachia*-infected *Ae. albopictus* cell. ROS serve as messengers, activating NF- κ B, a central regulator, to control immunity, inflammation, and cell survival (118).

Pan et al. (46) demonstrated that *Ae. aegypti*'s IMD and Toll pathways respond to *wAlbB* introduction, influencing infection levels. Activation increases *wAlbB* titer, while silencing reduces it, and elevated infection persists through maternal transmission. Remarkably, immune system amplification strongly promotes the synthesis of chemicals that actively promote *wAlbB* development in *Ae. aegypti* rather than merely failing to inhibit it. This is likely because there are no specific targets for AMPs in the *Wolbachia* cell membrane. The mosquito immune pathways trigger the effector molecules, such as *Wolbachia*-AMPs DEF and CEC, but surprisingly don't impede *Wolbachia* growth. This immune system boost serves as a survival signal for the successful establishment of a novel *Wolbachia* symbiosis.

4.3 Autophagy

When cells face stress or starvation, autophagy helps get rid of damaged organelles and large protein aggregates. It can be used to degrade invasive bacteria, viruses, and parasites in addition to its function in recycling cell components during development (119). Autophagy is important for iron scavenging and cellular homeostasis and DENV induces and relies on autophagy for efficient viral replication in mammalian cells, despite its antiviral functions (120). DENV-induced autophagy, specifically targeting lipid droplets, alters cell metabolism, leading to the release of free fatty acids. Inhibition of this autophagy pathway inhibits DENV replication, suggesting that this pathway creates a favourable environment for viral replication by providing energy (121). Additionally, When *Wolbachia* is present, it manipulates the cell's autophagy, impacting the replication of arboviruses. This interference limits the nutrients available for the viruses, making it harder for them to grow.

Activating autophagy decreases bacteria whereas suppressing it boosts bacterial populations in many organisms. *Wolbachia* levels are regulated by autophagy in a range of hosts, indicating the bacteria's adaptation to resist autophagy and stay inside host cells. *Wolbachia* secretes a protein that manipulates the autophagy initiation pathway (122). Recent demonstrations show that ATG8a, a protein indicating autophagy activation, is abundant in *Brugia* tissues with high *Wolbachia* levels (123). Activation of the autophagy pathway triggered by *Wolbachia* infection is controlled by TOR-Atg1 signaling pathway genetic modification (123). Modification of TOR-Atg1 results in increased lysosomal production within the cell. *Wolbachia*-containing vacuoles can be bound by these lysosomes and eliminated. However, using a substance called 3-MA, autophagy could be inhibited which causes an increase in the quantity of *Wolbachia* in both animals and cells. *Wolbachia* most likely evolved anti-autophagy mechanisms to live and proliferate inside host cells. Furthermore, the APG5 is the most important gene of the autophagy (123). A recent finding revealed that there was no significant effect of *Wolbachia* infection on APG5 expression. Even though the load of DENV is high with the suppression of APG5, the *Wolbachia* presence does not alter the level of APG5. This indicates that in the presence of a *Wolbachia* infection autophagy is acting independently, but is probably a crucial factor in the *Ae. aegypti* against DENV infection.

4.4 miRNA-dependent immune pathways

The miRNA-dependent immune route is the fourth mechanism and it regulates numerous cellular functions, including transposon silencing, antiviral defense, differentiation, timing, cell division, and death, and is greatly aided by miRNAs. This pathway controls arboviral infection in diverse mosquito vectors by regulating arthropod host genes. Hussain et al. (36) concentrated on comprehending the impact of the *wMelPop* on cellular miRNAs

in female mosquitoes. *aae-miR-2940-5p*, a mosquito-specific miRNA, is substantially increased in *wMelPop-CLA*-infected mosquitoes as opposed to uninfected mosquitoes. Mature *aae-miR-2940-5p* and *pelo* transcripts were found to co-localize by (124), suggesting the potential, in *Wolbachia*-containing cells, for *aae-miR-2940-5p* to downregulate the *pelo* transcripts. The immune response to viral infections consists of RNA interference (RNAi), a protective mechanism (125) that protects mosquitoes against DENV. In *Ae. aegypti* RNAi is the most important antiviral pathway, shown to reduce the proliferation of multiple viruses (DENV, chikungunya, and Sindbis viruses) but seems less crucial for blocking pathogens in naturally *Wolbachia*-infected insects (126). Activated by viral dsRNA cleavage, this pathway employs siRNAs to degrade viral ssRNA via cellular machinery. R2D2 and Dicer-2 are essential components of this pathway and if silenced mosquitoes are more susceptible to DENV (126). The RNase III domain of Dicer-2 cleaves the dsRNA after binding of Dicer-2-R2D2 complex to the viral dsRNA, for the formation of siRNA of 21–23 nucleotides long. Now the siRNA will initiate the RNAi machinery by binding with RNA-induced silencing complex (RISC) which breaks the double-stranded RNA and unwinds one of the siRNA strands keeping the other for targeted degradation of single-stranded viral RNA with sequence complementary to the siRNA by the host endonuclease, Argonaute-2 (Ago2). Although RNAi activates against DENV, it doesn't always stop the virus completely, emphasizing its role but limited effectiveness. To ensure the long-term survival of infected mosquitoes, it might just modify the replication of the virus to maintain chronic viral infection.

4.5 *Wolbachia* and specific immunity of *Ae. aegypti*

Wolbachia infects various tissues in the host, leading to significant impacts on host physiology (127). These effects extend to the cellular, individual, and population levels, affecting gene expression (33, 39), macromolecule availability (128), and fecundity, (129). The diversity of *Wolbachia*'s effects on the host highlights the complexity of this symbiotic relationship. *Wolbachia* combines reproductive manipulation, like cytoplasmic incompatibility, with mutualistic benefits, such as pathogen protection. The relationship spans a range between parasitism and mutualism. This dual impact makes *Wolbachia* a promising tool for controlling vector-borne diseases, using its influence on host reproduction and immune enhancement to reduce disease transmission. The mechanism through which *Wolbachia* provides antiviral protection is still a subject of ongoing research and discussion.

The example of DENV replication being seriously disrupted in the presence of *Wolbachia* is arguably the most thoroughly researched. Authors examine whether the Chromodomain helicase DNA binding proteins (CHD) may play a role in the interactions among *Wolbachia*, *Aedes*, and DENV. CHD proteins

are a type of proteins classified within the ATP-dependent chromatin modifiers, specifically belonging to the SNF2 superfamily. Experimental evidence by (130) supports *AeCHD7*, a host component in *Ae. aegypti*, supporting DENV replication, while *Wolbachia*'s downregulation of it may inhibit DENV replication. Reduction in the expression levels of *AeCHD* genes is observed in mosquitoes infected with *Wolbachia*. *AeCHD7* promotes DENV replication, but *Wolbachia* reduces its expression in female *Ae. aegypti*, limiting the replication of DENV. This mechanism is only for female mosquitoes and not universally applicable across different hosts for *Wolbachia* to inhibit viral replication.

Asad et al. (131) discovered two vago proteins, *AeVago1* and *AeVago2*, in *Ae. aegypti*. Vago is a special antiviral protein found in insects. They investigated *AeVago1* production increased in *Wolbachia*-infected *Ae. aegypti*. Without changing the density of *Wolbachia*, *AeVago1* knockdown in *Wolbachia*-infected cells boosted DENV replication. Based on the data, it appears that *AeVago1* which *Wolbachia* induces in Aag2 cells, prevents DENV replication. Wu et al. (132) Lapidot et al. (133) have revealed the significance of the *pelo* protein for efficient viral replication, specifically for the *Drosophila* C virus and Tomato yellow leaf curl virus. Asad et al. (124) reported that *wMelPop-CLA* inhibits the *pelo* protein, and this inhibition might protect *Ae. aegypti* mosquitoes against DENV particles. *Ae. aegypti*'s tissues exhibit widespread expression of the *pelo* gene, with salivary gland expression being especially high but interestingly (134), but the presence of *Wolbachia* results in the suppression of *pelo* in various cell lines, salivary glands, muscles, and ovaries. In summary, the *pelo* protein promotes replication of DENV and on the other hand, *Wolbachia* inhibits the *pelo* protein in female *Ae. aegypti* mosquitoes, which may reduce DENV in these mosquitoes.

4.6 Unique miRNA expression in *Wolbachia* infection

Despite extensive research on *Wolbachia* biology, numerous unexplored mechanisms exist in its interactions with other organisms, suggesting manipulation of the host's environment to ensure its survival. One such mechanism is the differential expression of mosquito cellular miRNAs due to *Wolbachia* infection (36). miRNAs function as post-transcriptional regulators, controlling multiple genes. In the presence of microbes, some miRNAs are dysregulated, while others are exclusively expressed, altering mosquito host responses as microbes persist within cells (135). Different *Wolbachia* strains have substantiated effects on *Ae. aegypti*'s miRNA profile such as in *Wolbachia*-infected mosquitoes, *wMelPop-CLA* induces exclusive miRNA expression, notably elevating *miR-2940*, which targets genes regulating *Wolbachia* density (36, 136). *miR-2940* enhances *wMelPop-CLA* replication by upregulating metalloprotease m41 fish and arginine methyl transferase 3 (*AaArgM3*) genes while inhibiting it reduces target gene expression and *Wolbachia* levels.

Metalloprotease genes like *m41* fth are upregulated by *miR-2940* in DENV-infected *Ae. aegypti* (106), and this miRNA is downregulated in WNV-infected cells (137). It suggests that *Wolbachia* may exploit host miRNAs to control essential host genes. On the other hand, *miR-2940* inhibits DNA methyltransferase (*AaDnmt2*) in *wMelPop-CLA*-infected mosquitoes (136). This gene is responsible for host defense and genome stability and is present abundantly in DENV-infected mosquitoes that are negative for *Wolbachia*. It indicates that *Wolbachia* creates a cellular environment incompatible with the virus by downregulating *AaDnmt2* in *Ae. aegypti* (136).

Other miRNAs, can influence host autophagy and viral replication. For instance, *aae-miR-12* miRNAs, induced by *wMelPop-CLA* in Aag2 cells, can influence host autophagy and viral replication. For instance, *aae-miR-12* suppresses monocarboxylate transporter (MCT1) and DNA replication licensing factor (MCM6), potentially impacting autophagy pathways (138). MCT1's involvement in autophagy is a matter of interest, which is exploited by DENV and ZIKV to evade host immune defenses (139). Further investigation is needed to determine if *Wolbachia*-produced miRNAs can modulate MCT1 activity and autophagy. *Wolbachia* infection also triggers the expression of *aae-miR-981*, resulting in the downregulation of importin b-4 in *wMelPop-CLA*-infected Aag2 cells (37). This reduction in importin b-4 activity inhibits the translocation of AGO1 to the nucleus. While the exact advantage of hindering AGO1 translocation for *Wolbachia*'s viral blocking remains unclear, importin b is known to assist in the nuclear migration of DENV and ZIKV non-structural proteins for optimal replication (140, 141). It suggests that the downregulation of importin b during *Wolbachia* infection may hinder viral transcription. Additionally *WsrNA-46*, a *Wolbachia*-derived miRNA in infected *Ae. aegypti*, promotes dynein expression, required for cellular transport and maintaining density in both *Wolbachia* and arboviruses, indicating an overlapping requirement for host cellular factors (142).

4.7 Fight for cytoskeletal components

Studies link *Wolbachia*'s pathogen-blocking effect to decreased viral load, but the mechanism and timing of interference in the virus life cycle are unclear. It was reported that *Wolbachia* interacts with the host cytoskeleton in two ways: by secreting effector molecules that bind to cytoskeletal structures to maintain optimal density and ensure transmission, and by regulating the expression of cytoskeletal proteins like dystroglycan and tubulin, crucial for arboviral infection (79). Arboviruses upregulate cytoskeletal structures for viral processes while the transinfected *wAlbB* strain in *Ae. aegypti* (Aag2) cells infected with DENV show downregulation of cytoskeletal membrane proteins, dystroglycan, and beta-tubulin. Silencing these cytoskeletal proteins inhibits DENV binding to Aag2 cells. This indicates *Wolbachia*'s direct involvement in hindering DENV binding and entry by targeting host cytoskeletal proteins utilized by the virus (106, 143).

4.8 Phenoloxidase cascade

The third mechanism disrupts arboviral transmission by triggering the phenoloxidase (PO) cascade. Melanin is produced by this cascade, which involves the enzyme phenoloxidase. Melanin exhibits antipathogenic properties when it accumulates around invasive pathogens and at wound sites (144, 145). The mosquito's innate immune response to arboviruses depends on this process. Studies reveal that *Wolbachia* increases melanization in native and non-native arthropod vectors using phenoloxidase activities. Therefore, the phenoloxidase cascade that *Wolbachia* induces is probably a defense mechanism against different arboviral infections (146).

5 Discussion

This study analyzed different studies on the effect of *Wolbachia* on the immune system of hosts and offers an appealing mechanistic explanation for pathogen blocking. Recent field studies have demonstrated the effectiveness of *Wolbachia* in suppressing vector-borne disease transmission (4, 10, 13, 56, 72, 146, 147). These studies utilize three main strategies: (a) introducing *Wolbachia*-infected males to induce CI with uninfected females (4), (b) deploying *Wolbachia* strains that reduce mosquito fitness, such as by shortening lifespan, especially in regions with seasonal variation, (73) and (c) introducing *Wolbachia* strains that inhibit viral transmission by reducing vector competence (10, 13, 23, 72). These strategies, implemented in various countries including Australia, China, Indonesia, Brazil, and Vietnam, have shown promising results in controlling *Aedes*-borne viral infections.

Wolbachia-infected mosquitoes have been successfully used in over 14 countries, initially proven effective in Cairns, Australia in 2011 (4). In Brazil, after a resurgence of dengue in 1981, large-scale releases of *Wolbachia*-infected mosquitoes resulted in a notable 38% reduction in dengue and a 10% reduction in chikungunya (69). Yogyakarta, Indonesia also saw a significant 77% decrease in dengue transmission with *Wolbachia*-infected mosquito releases, accompanied by an 83% reduction in severe dengue cases (61, 148). In the USA, Myanmar, Malaysia, and China, the introduction of *wAlbB*-infected *Ae. aegypti* led to reduced human dengue incidence (54, 148, 149). Singapore's release of the *wAlbB* strain in 2018 resulted in a 71-88% decrease in dengue cases (150). Cost-effectiveness analyses proposed implementing *Wolbachia* in high-risk urban areas of Vietnam, estimating significant reductions in dengue cases and associated economic benefits over 20 years (151). While field studies have demonstrated the effectiveness of *Wolbachia* in controlling mosquito-borne diseases, understanding the underlying mechanisms is crucial for optimizing its use.

Several mechanisms have been proposed to explain how *Wolbachia* inhibits virus replication in mosquitoes. Early in DENV infection, mosquitoes enhance innate immune genes, but as the infection progresses, it can suppress mosquito defenses, through the inhibition of immune-related genes (33,

76). However, the mosquitoes' ability to compete with viruses can be modified by their microbiota. *Wolbachia*, a microbe, inhibits disease transmission by vectors, either by directly blocking virus transmission or reducing mosquito lifespan but the exact mechanism remains unclear due to *Wolbachia*'s inability to be cultured in a lab. Experimental evidence has repeatedly shown that *Wolbachia* is effective at preventing the replication of different flaviviruses, such as CHIKV, ZIKV, WNV, and DENV (10, 152, 153) with numerous studies demonstrating its significant inhibition of DENV replication (22, 136, 154). Transfecting *Wolbachia* into *Ae. aegypti*, a vector not naturally hosting it, effectively inhibited DENV and CHIKV replication (155). Though much research has been done, the true mechanism or mechanisms through which *Wolbachia* inhibits viral reproduction in its host environment are still predominantly unknown.

Wolbachia, in general, boosts immune responses and increases resistance to viruses in mosquitoes (156). Additionally, mosquitoes infected with the *wMelPop* strain feed less as they age due to a bent proboscis, leading to reduced bite rates (157). Furthermore, the *wMel* strain has been successfully transinfected into *Ae. aegypti*, inducing CI, ensuring high maternal transmission, and blocking the transmission of DENV (158). *Wolbachia* is believed to induce pathogen interference by activating the host's innate immune system, particularly immune genes in the IMD and Toll pathways, such as REL1 and REL2 (10, 22, 23). Upregulation of immune effector genes is shown by *wMelPop-CLA* (10) and *wAlbB* (46) infected *Ae. aegypti*, by activation of IMD and Toll pathway. This activation increases the density of *Wolbachia* while turning off these pathways reduces it. The density increase may result from effector molecules that support *Wolbachia* replication and enhance the immune system. Such as the production of ROS that in turn initiates the Toll pathway (100) that is responsible for the inhibition of DENV. It demonstrates a positive feedback loop between the host immune system and *Wolbachia* density.

Another possibility for the observed effects of *Wolbachia* on DENV could be related to competition for essential nutrients. Cholesterol is recognized as a key fatty acid essential for the successful replication of DENV and *Wolbachia*. Substantive evidence suggests that *wMel* competes with the DENV for limited sub-cellular fatty acid resources crucial for viral replication (4). Besides this when mosquitoes get infected with DENV there's a natural defense system called autophagy that usually helps the virus grow. Chen and Smartt (159) discovered a surprising twist that this defense system might fight against the virus. DENV uses autophagy to help it grow. This special kind of autophagy focuses on lipid droplets and changes how the cell works. Interestingly, the *Wolbachia* hijack the cell's internal process, to acquire nutrients it needs from the host. ATG8a, which indicates activation of autophagy, is found in large amounts in tissues of the host, where *Wolbachia* is also

abundant (123). The reason is that *Wolbachia* relies on host cells for unsaturated fatty acids and may deplete these fatty acids, upsetting DENV replication. The hypothesis suggests that *Wolbachia*'s presence at high densities could inhibit viruses by competing for cholesterol, but experimental testing is needed for confirmation. Several aspects of immunity have been changed by *Wolbachia* in *Ae. aegypti* have been included in this review. Several other mechanisms are still not clear like, the connection between the lncRNA and the Toll pathway as *Wolbachia* uses lncRNA to activate the Toll pathway.

A radical effort is underway to combat dengue by using *Wolbachia* for long-term biological control. Recent studies are looking at immunity more completely. The lack of anti-dengue drugs highlights the importance of understanding how *Wolbachia* inhibits viral growth, which could inform new drug development. *Wolbachia* interferes with viruses by altering host factors necessary for viral replication. Future research should focus on identifying and characterizing these host factors, which could lead to novel strategies for controlling mosquito-borne diseases. Mosquito strains, carrying *Wolbachia* are currently bred and experimentally released in areas with a high public health burden of DENV transmission (59, 160). The ongoing *Wolbachia* releases offer a unique opportunity to predict the evolutionary impacts on the bacterium, virus, and mosquito host. This includes potential scenarios like the DENV partly evading transmission blockage and *Wolbachia* reducing its harmful effects on mosquitoes. These predictions aim to improve future forecasting and strategies. In the future, studies will try to understand how *Wolbachia* deals with the immune system, hormones, metabolism, and behavior of the host. To project the long-term stability of *Wolbachia*-*Ae. aegypti* mosquito system that controls mosquitoes and prevents dengue, we need to understand how *Wolbachia* and the host's immunity work together.

6 Conclusions

Manipulation of mosquitoes' innate immunity by *Wolbachia* to control diseases like malaria, dengue, chikungunya, and Zika is a rising strategy these days. However, its successful implementation relies on a thorough understanding of mosquito immunity and interactions with *Wolbachia* and viruses. This review concludes that *Ae. aegypti*'s innate immune response is essential to its ability to spread DENV, and using *Wolbachia* to boost immunity helps prevent DENV transmission. Even while the understanding of the host-*Wolbachia*-virus relationship has advanced significantly, there are still gaps in our understanding. Although the precise mechanism of antiviral defense is unknown. Determining the mechanism of *Wolbachia*-induced viral inhibition requires an understanding of mosquito innate immune responses in the presence of *Wolbachia*. This information is crucial for a major plan against arboviruses.

Annexe 3 : Tableaux de comparaison de plusieurs méthodes antivectorielles (70)

	Sustainability	Number of mosquitoes released	Effectiveness	Length of mosquito-release period
World Mosquito Program <i>Wolbachia</i> Method	Self-sustaining	Only need to release a small number of mosquitoes	Usually only need to release mosquitoes once	Short mosquito-release period (once per week for 12–30 weeks)
Insecticide spraying	Not self-sustaining	N/A	Need to constantly reapply insecticides. Mosquitoes develop resistance to insecticides. Not cost-effective to use as a prevention tool	N/A
Sterile Insect Technique (SIT)	Not self-sustaining	Need to release a very large number of male mosquitoes	Need to continually release large amounts of mosquitoes	Mosquito-release period is indefinite otherwise population will rebound
Incompatible Insect Technique (IIT)	Not self-sustaining	Need to release a very large number of male mosquitoes	Need to continually release large amounts of mosquitoes	Mosquito-release period is indefinite otherwise population will rebound
Combined SIT & IIT	Not self-sustaining	Need to release a very large number of male mosquitoes	Need to continually release large amounts of mosquitoes	Mosquito-release period is indefinite otherwise population will rebound
Genetic modification	Not self-sustaining	Numbers of mosquitoes released depends on the specific method	Numbers of mosquitoes released depends on the specific method	In some cases, mosquito-release period is indefinite otherwise population will rebound

	Scaleability	Affordability	Evidence of public health impact	Safety
World Mosquito Program <i>Wolbachia</i> Method	Has been demonstrated at the scale of hundreds of kms ²	Affordable. In most urban areas predicted to be cost saving	Multi-country evidence indicating major reductions in dengue incidence	Safe for human health
Insecticide spraying	Can be used at the scale of towns and cities	Expensive because of need for continuous application	No randomised control trials showing evidence of impact	Insecticides can harm human health
Sterile Insect Technique (SIT)	No published evidence of scaleability	Relatively more expensive because of need for continuous application	No evidence on whether it reduces disease transmission	Safe for human health
Incompatible Insect Technique (IIT)	Demonstrated to work in areas up to several square kilometres	Relatively more expensive because of need for continuous application	No evidence on whether it reduces disease transmission	Safe for human health
Combined SIT & IIT	Demonstrated to work in areas up to several square kilometres	Relatively more expensive because of need for continuous application	No evidence on whether it reduces disease transmission	Safe for human health
Genetic modification	Demonstrated to work in areas up to several square kilometres	Often more expensive because of need for continuous application	No evidence on whether it reduces disease transmission	Safe for human health

BIBLIOGRAPHIE

1. Niang EHA, Bassene H, Fenollar F, Mediannikov O. Biological Control of Mosquito-Borne Diseases: The Potential of *Wolbachia*-Based Interventions in an IVM Framework. *J Trop Med*. 15 nov 2018;2018:1470459.
2. Pietri JE, DeBruhl H, Sullivan W. The rich somatic life of *Wolbachia*. *MicrobiologyOpen*. 2016;5(6):923-36.
3. Kaur R, Shropshire JD, Cross KL, Leigh B, Mansueto AJ, Stewart V, et al. Living in the endosymbiotic world of *Wolbachia*: A centennial review. *Cell Host Microbe*. 9 juin 2021;29(6):879-93.
4. World Mosquito Program [Internet]. [cité 11 juill 2024]. Notre histoire World Mosquito Program. Disponible sur: <https://fr.worldmosquitoprogram.org/en/about-us/our-story>
5. O'Neill SL, Giordano R, Colbert AM, Karr TL, Robertson HM. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1 avr 1992;89(7):2699-702.
6. Zhou W, Rousset F, O'Neil S. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences. *Proc R Soc B Biol Sci*. 22 mars 1998;265(1395):509-15.
7. Baldo L, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, et al. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl Environ Microbiol*. nov 2006;72(11):7098-110.
8. Siefert JL. Defining the mobilome. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2009;532:13-27.
9. Reveillaud J, Bordenstein SR, Cruaud C, Shaiber A, Esen ÖC, Weill M, et al. The *Wolbachia* mobilome in *Culex pipiens* includes a putative plasmid. *Nat Commun*. 5 mars 2019;10(1):1051.
10. Hosokawa T, Koga R, Kikuchi Y, Meng XY, Fukatsu T. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proc Natl Acad Sci*. 12 janv 2010;107(2):769-74.
11. Dedeine F, Vavre F, Fleury F, Loppin B, Hochberg ME, Bouletreau M. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 22 mai 2001;98(11):6247-52.

12. White PM, Pietri JE, Debec A, Russell S, Patel B, Sullivan W. Mechanisms of Horizontal Cell-to-Cell Transfer of *Wolbachia* spp. in *Drosophila melanogaster*. *Appl Environ Microbiol.* 17 mars 2017;83(7):e03425-16.
13. Gomes TMFF, Wallau GL, Loreto ELS. Multiple long-range host shifts of major *Wolbachia* supergroups infecting arthropods. *Sci Rep.* 17 mai 2022;12:8131.
14. Rigaud T, Juchault P. Success and failure of horizontal transfers of feminizing *Wolbachia* endosymbionts in woodlice. *J Evol Biol.* 1995;8(2):249-55.
15. Hoy MA, Jeyaprakash A. Microbial diversity in the predatory mite *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae) and its prey, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Biol Control.* 1 mars 2005;32(3):427-41.
16. de Oliveira CD, Gonçalves DS, Baton LA, Shimabukuro PHF, Carvalho FD, Moreira LA. Broader prevalence of *Wolbachia* in insects including potential human disease vectors. *Bull Entomol Res.* juin 2015;105(3):305-15.
17. Moreau J, Bertin A, Caubet Y, Rigaud T. Sexual selection in an isopod with *Wolbachia*-induced sex reversal: males prefer real females. *J Evol Biol.* 2001;14(3):388-94.
18. Rigaud T, Juchault P. Conflict between feminizing sex ratio distorters and an autosomal masculinizing gene in the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* Latr. *Genetics.* févr 1993;133(2):247-52.
19. naturelle M national d'Histoire. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [cité 29 juill 2024]. *Aedes aegypti* (Linnaeus in Hasselquist, 1762). Disponible sur: https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/775981
20. Torres M. Mosquito Alert. 2016 [cité 29 juill 2024]. *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito. Disponible sur: <https://www.mosquitoalert.com/en/aedes-aegypti-the-yellow-fever-mosquito/>
21. Le moustique vecteur de la fièvre jaune, (*Aedes aegypti*) [Internet]. Biogents AG. [cité 26 juill 2024]. Disponible sur: <https://eu.biogents.com/aedes-aegypti-moustique-vecteur-de-la-fievre-jaune/?lang=fr>
22. *depliant-arbovirose.pdf* [Internet]. [cité 29 juill 2024]. Disponible sur: <https://dass.gouv.nc/sites/default/files/atoms/files/depliant-arbovirose.pdf>

23. Chikungunya [Internet]. [cité 23 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>
24. Piqûre de moustiques : maladies et mode de transmission [Internet]. [cité 26 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/oise/assure/sante/themes/piqûre-moustique-maladies/mecanismes-contamination-maladies-moustiques>
25. Recommandations sanitaires 2024 aux voyageurs [Internet]. [cité 30 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/AvisRapportsDomaine?clefr=1379>
26. Lutte anti-vectorielle et mobilisation sociale contre le moustique tigre [Internet]. 2024 [cité 31 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.paca.ars.sante.fr/lutte-anti-vectorielle-prevention-contre-les-maladies-transmises-par-les-moustiques-tigres>
27. World Mosquito Program [Internet]. [cité 31 juill 2024]. Successful introgression of *wMel Wolbachia* into *Aedes aegypti* populations in Fiji, Vanuatu and Kiribati. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/learn/scientific-publications/successful-introgression-wmel-wolbachia-aedes-aegypti-populations>
28. Institut Pasteur [Internet]. 2015 [cité 24 juill 2024]. Fièvre jaune. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/fievre-jaune>
29. World Mosquito Program [Internet]. [cité 26 juill 2024]. How it works. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/work/wolbachia-method/how-it-works>
30. Institut Pasteur [Internet]. 2016 [cité 2 août 2024]. Dengue. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/dengue>
31. Dengue et dengue sévère [Internet]. [cité 20 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
32. Dengue – situation mondiale [Internet]. [cité 20 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>
33. Institut national de santé publique du Québec [Internet]. [cité 2 août 2024]. Chikungunya : virus et transmission | INSPQ. Disponible sur: <https://www.inspq.qc.ca/sante-voyage/guide/risques/chikungunya/virus-transmission>
34. Institut Pasteur [Internet]. 2016 [cité 24 juill 2024]. Zika. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/zika>

35. Zika (maladie à virus) [Internet]. [cité 24 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>
36. 57_Focus_Dengue_Chikungunya_Zika.pdf [Internet]. [cité 2 août 2024]. Disponible sur: https://www.eurofins-biomnis.com/wp-content/uploads/2016/04/57_Focus_Dengue_Chikungunya_Zika.pdf
37. VIRUS_ARBOVIRUS.pdf [Internet]. [cité 2 août 2024]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/VIRUS_ARBOVIRUS.pdf
38. Principaux repères sur la fièvre jaune [Internet]. [cité 24 juill 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever>
39. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 2 août 2024]. DENVAXIA (vaccin contre la dengue quadrivalent (vivant, atténué)). Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3302593/fr/dengvaxia-vaccin-contre-la-dengue-quadrivalent-vivant-attenuue
40. Dengue [Internet]. 2023 [cité 17 oct 2024]. Disponible sur: <https://professionnels.vaccination-info-service.fr/Maladies-et-leurs-vaccins/Dengue>
41. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 4 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=ph%C3%A9notype>
42. Laven H. Crossing Experiments with *Culex* Strains. *Evolution*. 1951;5(4):370-5.
43. Yen JH, Barr AR. New Hypothesis of the Cause of Cytoplasmic Incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*. août 1971;232(5313):657-8.
44. Hochstrasser M. Molecular Biology of Cytoplasmic Incompatibility Caused by *Wolbachia* Endosymbionts. *Annu Rev Microbiol*. 15 sept 2023;77(Volume 77, 2023):299-316.
45. Bonneau M. Bases génétiques et mécanismes cytologiques à l'origine de la diversité de l'incompatibilité cytoplasmique induite par *Wolbachia* chez le moustique *Culex pipiens* [Internet] [phdthesis]. Université Montpellier; 2018 [cité 11 sept 2024]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-02010568>
46. Beckmann JF, Bonneau M, Chen H, Hochstrasser M, Poinot D, Merçot H, et al. The Toxin–Antidote Model of Cytoplasmic Incompatibility: Genetics and Evolutionary Implications. *Trends Genet*. 1 mars 2019;35(3):175-85.

47. Merçot H, Charlat S. *Wolbachia* Infections in *Drosophila Melanogaster* and *D. Simulans*: Polymorphism and Levels of Cytoplasmic Incompatibility. *Genetica*. 1 mars 2004;120(1):51-9.
48. Lindsey ARI, Rice DW, Bordenstein SR, Brooks AW, Bordenstein SR, Newton ILG. Evolutionary Genetics of Cytoplasmic Incompatibility Genes cifA and cifB in Prophage WO of *Wolbachia*. *Genome Biol Evol*. 1 févr 2018;10(2):434-51.
49. Bonneau M, Landmann F, Labbé P, Justy F, Weill M, Sicard M. The cellular phenotype of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* in the light of cidB diversity. *PLOS Pathog*. 15 oct 2018;14(10):e1007364.
50. Bordenstein SR, Uy JJ, Werren JH. Host Genotype Determines Cytoplasmic Incompatibility Type in the Haplodiploid Genus *Nasonia*. *Genetics*. 1 mai 2003;164(1):223-33.
51. Bressac C, Rousset F. The Reproductive Incompatibility System in *Drosophila simulans*: Dapi-Staining Analysis of the *Wolbachia* Symbionts in Sperm Cysts. *J Invertebr Pathol*. 1 mai 1993;61(3):226-30.
52. Bourtzis K, Nirgianaki A, Markakis G, Savakis C. *Wolbachia* Infection and Cytoplasmic Incompatibility in *Drosophila* Species. *Genetics*. 1 nov 1996;144(3):1063-73.
53. Proctor JD, Mackevicius-Dubickaja V, Gottlieb Y, White JA. Warm temperature inhibits cytoplasmic incompatibility induced by endosymbiotic *Rickettsiella* in spider hosts. *Environ Microbiol*. sept 2024;26(9):e16697.
54. Naciri M. La bactérie *Wolbachia* bloque l'infection des moustiques par différents pathogènes humains. *médecine/sciences*. 1 juin 2019;35(6-7):584-5.
55. Vavre F, Mavingui P. Les bactéries symbiotiques d'arthropodes et de nématodes - De nouvelles alliées dans le contrôle des maladies infectieuses. *médecine/sciences*. 1 nov 2011;27(11):953-8.
56. Blagrove MSC, Arias-Goeta C, Failloux AB, Sinkins SP. *Wolbachia* strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3 janv 2012;109(1):255-60.
57. Mushtaq I, Sarwar MS, Munzoor I. A comprehensive review of *Wolbachia*-mediated mechanisms to control dengue virus transmission in *Aedes aegypti* through innate immune pathways. *Front Immunol* [Internet]. 8 août 2024 [cité 26 sept 2024];15. Disponible sur:

<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1434003/full>

58. Lindsey ARI, Bhattacharya T, Newton ILG, Hardy RW. Conflict in the Intracellular Lives of Endosymbionts and Viruses: A Mechanistic Look at *Wolbachia*-Mediated Pathogen-blocking. *Viruses*. avr 2018;10(4):141.
59. Hillyer JF, Strand MR. Mosquito hemocyte-mediated immune responses. *Curr Opin Insect Sci*. 1 sept 2014;3:14-21.
60. Hurst GDD, Jiggins FM, Hinrich Graf von der Schulenburg J, Bertrand D, West SA, Goriacheva II, et al. Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 7 avr 1999;266(1420):735-40.
61. Perlmutter JI, Bordenstein SR, Unckless RL, LePage DP, Metcalf JA, Hill T, et al. The phage gene *wmk* is a candidate for male killing by a bacterial endosymbiont. *PLOS Pathog*. 10 sept 2019;15(9):e1007936.
62. Riparbelli MG, Giordano R, Ueyama M, Callaini G. *Wolbachia*-Mediated Male Killing Is Associated with Defective Chromatin Remodeling. *PLoS ONE*. 23 janv 2012;7(1):e30045.
63. Fukui T, Kawamoto M, Shoji K, Kiuchi T, Sugano S, Shimada T, et al. The Endosymbiotic Bacterium *Wolbachia* Selectively Kills Male Hosts by Targeting the Masculinizing Gene. *PLOS Pathog*. 14 juill 2015;11(7):e1005048.
64. Cordaux R, Gilbert C. Evolutionary Significance of *Wolbachia*-to-Animal Horizontal Gene Transfer: Female Sex Determination and the *f* Element in the Isopod *Armadillidium vulgare*. *Genes*. juill 2017;8(7):186.
65. Ma W -J., Schwander T. Patterns and mechanisms in instances of endosymbiont-induced parthenogenesis. *J Evol Biol*. 1 mai 2017;30(5):868-88.
66. Fricke LC, Lindsey ARI. Identification of Parthenogenesis-Inducing Effector Proteins in *Wolbachia*. *Genome Biol Evol*. 1 avr 2024;16(4):evae036.
67. Institut Pasteur [Internet]. 2019 [cité 9 oct 2024]. *Wolbachia*, une bactérie pour lutter contre la dengue. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/institut-pasteur-monde/actualites/wolbachia-bacterie-lutter-contre-dengue>
68. World Mosquito Program [Internet]. [cité 9 oct 2024]. Our story. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/about-us/our-story>

69. World Mosquito Program [Internet]. [cité 9 oct 2024]. Into the wild – 10 years since our first release in Queensland. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/news-stories/stories/wild-10-years-our-first-release-queensland>
70. World Mosquito Program [Internet]. [cité 10 oct 2024]. How our method compares. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/learn/how-our-method-compares>
71. BSS10-S11-2023.pdf [Internet]. [cité 14 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.service-public.pf/arass/wp-content/uploads/sites/46/2023/08/BSS10-S11-2023.pdf>
72. Les moustiques mâles, petits soldats dans la lutte anti-vectorielle - French Polynesia (France) | ReliefWeb [Internet]. 2019 [cité 14 oct 2024]. Disponible sur: <https://reliefweb.int/report/french-polynesia-france/les-moustiques-m-les-petits-soldats-dans-la-lutte-anti-vectorielle>
73. Suh E, Mercer DR, Dobson SL. Life-shortening *Wolbachia* infection reduces population growth of *Aedes aegypti*. *Acta Trop.* 1 août 2017;172:232-9.
74. McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AWC, Sidhu M, Wang YF, et al. Stable Introduction of a Life-Shortening *Wolbachia* Infection into the Mosquito *Aedes aegypti*. *Science.* 2 janv 2009;323(5910):141-4.
75. Hoffmann AA, Ross PA, Rašić G. *Wolbachia* strains for disease control: ecological and evolutionary considerations. *Evol Appl.* sept 2015;8(8):751.
76. Flores HA, Bruyne JT de, O'Donnell TB, Nhu VT, Giang NT, Trang HTX, et al. Multiple *Wolbachia* strains provide comparative levels of protection against dengue virus infection in *Aedes aegypti*. *PLOS Pathog.* 13 avr 2020;16(4):e1008433.
77. World Mosquito Program [Internet]. [cité 11 oct 2024]. How we deploy our *Wolbachia* mosquitoes. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/how-it-works/how-we-deploy-our-mosquitoes>
78. Nouvelle-Calédonie la 1ère [Internet]. 2021 [cité 14 oct 2024]. Le programme *Wolbachia* étendu à Dumbéa et sur le Mont-Dore. Disponible sur: <https://la1ere.francetvinfo.fr/nouvellecaledonie/province-sud/le-programme-wolbachia-etendu-a-dumbea-et-sur-le-mont-dore-1177105.html>
79. Field deployment of *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* using uncrewed aerial vehicle |

Science Robotics [Internet]. [cité 11 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/scirobotics.adk7913>

80. Velez ID, Santacruz E, Kutcher SC, Duque SL, Uribe A, Barajas J, et al. The impact of city-wide deployment of *Wolbachia*-carrying mosquitoes on arboviral disease incidence in Medellín and Bello, Colombia: study protocol for an interrupted time-series analysis and a test-negative design study [Internet]. F1000Research; 2020 [cité 14 oct 2024]. Disponible sur: <https://f1000research.com/articles/8-1327>

81. Velez ID, Tanamas SK, Arbelaez MP, Kutcher SC, Duque SL, Uribe A, et al. Reduced dengue incidence following city-wide *wMel Wolbachia* mosquito releases throughout three Colombian cities: Interrupted time series analysis and a prospective case-control study. *PLoS Negl Trop Dis*. 30 nov 2023;17(11):e0011713.

82. Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, et al. Efficacy of *Wolbachia*-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue. *N Engl J Med*. 10 juin 2021;384(23):2177-86.

83. Ribeiro Dos Santos G, Durovni B, Saraceni V, Souza Riback TI, Pinto SB, Anders KL, et al. Estimating the effect of the *wMel* release programme on the incidence of dengue and chikungunya in Rio de Janeiro, Brazil: a spatiotemporal modelling study. *Lancet Infect Dis*. nov 2022;22(11):1587-95.

84. World Mosquito Program [Internet]. [cité 9 oct 2024]. New Caledonia. Disponible sur: <https://www.worldmosquitoprogram.org/en/global-progress/new-caledonia>

85. Nouvelle-Calédonie la 1ère [Internet]. 2021 [cité 9 oct 2024]. Dengue : selon le programme *Wolbachia*, à Nouméa, 70 % des moustiques « *aedes aegypti* » portent la bactérie. Disponible sur: <https://la1ere.francetvinfo.fr/nouvellecaledonie/province-sud/noumea/selon-le-programme-wolbachia-a-noumea-70-des-moustiques-aedes-aegypti-portent-la-bacterie-1072885.html>

86. Wa N, Aa H, A N, Yl C, Mv M, N G, et al. Establishment of *Wolbachia* Strain *wAlbB* in Malaysian Populations of *Aedes aegypti* for Dengue Control. *Curr Biol CB* [Internet]. 16 déc 2019 [cité 10 oct 2024];29(24). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31761702/>

87. Zheng X, Zhang D, Li Y, Yang C, Wu Y, Liang X, et al. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature*. 1 août 2019;572:1.

88. Wang GH, Hoffmann A, Champer J. Gene Drive and Symbiont Technologies for Control of Mosquito-Borne Diseases. *Annu Rev Entomol.* 1 oct 2024;
89. Gomes FM, Barillas-Mury C. Infection of anopheline mosquitoes with *Wolbachia*: Implications for malaria control. *PLoS Pathog.* 15 nov 2018;14(11):e1007333.
90. Hughes GL, Koga R, Xue P, Fukatsu T, Rasgon JL. *Wolbachia* infections are virulent and inhibit the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae*. *PLoS Pathog.* mai 2011;7(5):e1002043.
91. Liang Y, Liu J, Wu Y, Wu Y, Xi Z. Stable introduction of *Wolbachia* wPip into invasive *Anopheles stephensi* for potential malaria control. *PLoS Negl Trop Dis.* 26 sept 2024;18(9):e0012523.
92. Taylor MJ, Bandi C, Hoerauf A. *Wolbachia*. Bacterial Endosymbionts of Filarial Nematodes. In: Baker JR, Muller R, Rollinson D, éditeurs. *Advances in Parasitology* [Internet]. Academic Press; 2005 [cité 12 oct 2024]. p. 245-84. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065308X05600048>
93. Voronin D, Tricoche N, Peguero R, Kaminska AM, Ghedin E, Sakanari JA, et al. Repurposed Drugs That Activate Autophagy in Filarial Worms Act as Effective Macrophilicidal. *Pharmaceutics.* 9 févr 2024;16(2):256.
94. Tamarozzi F, Wright HL, Johnston KL, Edwards SW, Turner JD, Taylor MJ. Human filarial *Wolbachia* lipopeptide directly activates human neutrophils in vitro. *Parasite Immunol.* 2014;36(10):494-502.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2024/2025

Nom : FRANCIS

Prénom : Sarah

Titre de la thèse : *Wolbachia* : une bactérie méconnue aux relations complexes et aux applications médicales prometteuses

Mots-clés : *Wolbachia*, *Aedes aegypti*, maladie vectorielle, arbovirus, dengue, Zika, chikungunya, fièvre jaune, incompatibilité cytoplasmique, inhibition virale, parthénogénèse thélytoque, féminisation, lutte biologique.

Résumé :

***Wolbachia* est une des bactéries les plus répandues du monde animal. Elle a su se propager grâce à ses capacités de manipulation de la reproduction de ses hôtes, en induisant chez eux des phénotypes tels que l'incompatibilité cytoplasmique, la parthénogénèse thélytoque, la féminisation, et le « male killing ». Les mécanismes derrière ces propriétés impliquent une variété de processus génétiques inhérents à la bactérie mais également aux prophages, virus infectant les bactéries. De plus, *Wolbachia* confère à ses hôte une protection contre les microorganismes, notamment par la stimulation de leurs système immunitaire inné, mais également en rentrant en compétition avec les pathogènes pour les ressources cellulaires.**

Les capacités de *Wolbachia* à se propager et à inhiber les microorganismes ont fait d'elle l'objet de recherches fondamentales. *Wolbachia* est aujourd'hui utilisée dans la lutte biologique contre les arboviroses, comprenant la dengue, maladie en expansion dont on recense 100 à 400 millions d'infections par an.

Membres du jury :

Président : Monsieur Hermann Emmanuel, Maître de Conférences, Université de Lille. Faculté de Pharmacie, Immunologie.

Directeur de thèse : Monsieur Foligné Benoît, Professeur des universités Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille.

Assesseurs : Madame Odou Marie-Françoise, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier (MCU-PH) au sein de l'Université de Lille.

Monsieur Crespel Sidoine, Docteur en Pharmacie, Pharmacien adjoint à la Pharmacie du Grand Palais, Lille.

Membre extérieur : Monsieur Blondiaux Nicolas, Biologiste Médical - Praticien Hospitalier Laboratoire, Microbiologie, Groupement des Hôpitaux de l'Institut Catholique de Lille.