

An Overview of the Origin and Role of Wolbachia Bacteria in the Biological Control of Sandflies

Nasibeh Hosseini-Vasoukolaei¹,
Fereshteh Mohammad Nejhad²,
Reza Valadan³,
Farzaneh Sahraei⁴,
Seyed Hassan Nikookar⁵

¹ Associate Professor, Department of Medical Entomology and Vector Control, Health Science Research Center, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² MSc Student in Medical Entomology and Vector Control, Student Research Committee, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Immunology and Molecular and Cellular Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ MSc in Medical Entomology, Department of Medical Entomology and Vector Control, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, Health Sciences Research Center, Department of Medical Entomology and Vector Control, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 12, 2025; Accepted October 28, 2025)

Abstract

Wolbachia, a genus of intracellular Alphaproteobacteria, has attracted significant attention due to its widespread presence in arthropods, including sand flies (Phlebotominae). These bacteria are recognized as a potential tool for controlling vector-borne diseases due to their ability to manipulate host reproduction and influence disease transmission. This review examines current knowledge about *Wolbachia* in sand flies globally and in Iran, covering its history, classification, biology, and key challenges in its application for sand fly control. *Wolbachia* has been identified in 33 sand fly species worldwide, with infection rates ranging from 2.5% to 93.9%. In Iran, the bacterium has been reported in key species such as *Phlebotomus papatasi* and *Phlebotomus sergenti* (the primary vectors of cutaneous leishmaniasis in Iran), which exhibit the highest infection rates. Three major *Wolbachia* supergroups (A, B, and N/A) have been detected in Iran, with supergroup A being the most prevalent. Furthermore, *Wolbachia* can reduce disease transmission by enhancing host immunity or competing with pathogens. This bacterium is capable of activating innate immune pathways in the host, including the Toll and Imd pathways, leading to the upregulation of antimicrobial peptide production. This trait, combined with its ability to trigger cytoplasmic incompatibility, highlights its potential for vector control strategies. However, challenges such as compatibility with different sand fly species, field population stability, and environmental considerations remain and require further research. This review emphasizes the importance of future studies to better understand *Wolbachia*'s role in leishmaniasis control and the development of bacteria-based methods. Collaboration between researchers and policymakers is essential for establishing regulatory and ethical frameworks.

Keywords: *Wolbachia*, sand flies, leishmaniasis, vector control, Iran

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (251): 205-223 (Persian).

Corresponding Author: Seyed Hassan Nikookar - Health Sciences Research Center, Department of Medical Entomology and Vector Control, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: Nikookar_84@yahoo.com)

مروری بر خاستگاه و نقش باکتری ولباخیا در کنترل زیستی پشه خاکی ها

نصیبه حسینی واسوکلایی^۱

فرشته محمدنژاد^۲

رضا ولدان^۳

فرزانه صحرایی^۴

سید حسن نیکوکار^۵

چکیده

سابقه و هدف: ولباخیا، یک جنس از باکتری های آلفا پروتئوباکتیریا داخل سلولی، به دلیل حضور گسترده در بندپایان، از جمله پشه خاکی های (فلبوتومینه)، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این باکتری ها به دلیل توانایی در دستکاری تولیدمثل میزبان و تأثیر بر قابلیت انتقال بیماری ها، به عنوان یک ابزار بالقوه برای کنترل بیماری های منتقله از طریق ناقلین شناخته می شوند. این مقاله مروری، به بررسی دانش فعلی در مورد ولباخیا در پشه خاکی ها در دنیا و ایران، تاریخچه، طبقه بندی و زیست شناسی ولباخیا و همچنین چالش های اصلی در کاربرد ولباخیا در پشه خاکی می پردازد. ولباخیا در ۳۳ گونه از پشه خاکی ها در نقاط مختلف جهان شناسایی شده است، با شیوعی که از ۲/۵ تا ۹۳/۹ درصد متغیر است. در ایران، این باکتری در گونه های مهمی مانند *Phlebotomus papatasi* و *Phlebotomus sergenti* (ناقلین اصلی لیشمانیوز جلدی در ایران) با بالاترین میزان آلودگی گزارش شده است. سه بالا گروه اصلی ولباخیا (A، B، و N/A) در ایران شناسایی شده اند که بالا گروه A بیشترین شیوع را دارد. ولباخیا از طریق تقویت سیستم ایمنی میزبان یا رقابت با پاتوژن ها، می تواند انتقال بیماری را کاهش دهد. این باکتری می تواند مسیرهای ایمنی ذاتی نظیر مسیر Toll و Imd را در میزبان فعال کند، که منجر به افزایش تولید پپتیدهای ضد میکروبی در میزبان می شود این فرایند به کاهش بار پاتوژن نظیر لیشمانیا در ناقل کمک می کند. این ویژگی، همراه با توانایی آن در ایجاد سازگاری سیتوپلاسمی، امکان استفاده از آن را در استراتژی های کنترل ناقلین مطرح می کند. با این حال، چالش هایی مانند سازگاری با گونه های مختلف پشه خاکی، پایداری در جمعیت های میدانی، و ملاحظات زیست محیطی نیازمند تحقیقات بیش تر هستند. این مقاله بر اهمیت مطالعات آینده برای درک بهتر نقش ولباخیا در کنترل لیشمانیوز و توسعه روش های مبتنی بر این باکتری تأکید دارد. همکاری بین محققان و سیاستگذاران برای تدوین چارچوب های نظارتی و اخلاقی نیز ضروری است.

واژه های کلیدی: ولباخیا، پشه خاکی، لیشمانیوز، کنترل ناقلین، ایران

مؤلف مسئول: سید حسن نیکوکار-ساری: کیلومتر ۱۷ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبراعظم، دانشکده بهداشت E-mail: Nikookar_84@yahoo.com

۱. دانشیار، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، کمیته ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه ایمنولوژی و مرکز تحقیقات زیست شناسی مولکولی و سلولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. استادیار، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، گروه حشره شناسی پزشکی و کنترل ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۲/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۸/۶

مقدمه

پشه خاکی‌های فلبوتومینه (Diptera: Psychodidae) حشرات خون‌خواری هستند که از نظر پزشکی و دامپزشکی اهمیت بسیار زیادی دارند. حدود ۱۰۰۰ گونه پشه خاکی وجود دارد که از این میان، ۹۸ گونه به عنوان ناقل‌های تأیید شده و یا مشکوک به پاتوژن‌های عفونی برای انسان‌ها و حیوانات شناخته شده‌اند (۱). پشه خاکی‌ها می‌توانند باکتری‌هایی از جنس بارتونلا (Bartonella)، ویروس‌های مختلف از خانواده‌های رابدوویریده (Rhabdoviridae)، پری بونیوویریده (Peribunyaviridae)، فلاوی ویریده (Flaviviridae)، رئوویریده (Reoviridae) و فنوویریده (Phenuiviridae)، و مهم‌تر از همه، انگل‌های پروتوزوآ از جنس *Leishmania* که عامل بیماری لیشمانیوز است را منتقل کنند (۲، ۳).

در جهان، چهار نوع لیشمانیوز شامل لیشمانیوز جلدی (CL)، لیشمانیوز جلدی-مخاطی (MCL)، لیشمانیوز جلدی منتشره (DCL) و لیشمانیوز احشایی (VL) که به عنوان کالآزار و جدی‌ترین نوع این بیماری می‌باشد وجود دارد (۴، ۵). این بیماری‌ها در دنیای قدیم و جدید با تنوع اپیدمیولوژیکی بسیار بالا گسترش یافته و از طریق گزش پشه خاکی ماده، یعنی *Phlebotomus* در دنیای قدیم و *Lutzomyia* در دنیای جدید به انسان منتقل می‌شوند (۷-۵).

لیشمانیوز در بسیاری از مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و مدیترانه‌ای گسترش یافته و تقریباً ۱۰۲ کشور را تحت تأثیر قرار داده و حدود ۳۵۰ میلیون نفر را در معرض خطر قرار داده است، به طوری که حدود ۱۲ میلیون عفونت ثبت شده است (۸). در ایران، لیشمانیوز به وسیله سه گونه اصلی شامل *L. tropica*، *L. infantum* و *L. major* ایجاد می‌شود که *L. major* از همه شایع‌تر است (۹).

لیشمانیوز جلدی و احشایی بیماری‌های بومی و باستانی در ایران هستند که تقریباً هر ساله ۲۰۰۰ مورد

جدید در کشور گزارش می‌شود و حتی تعداد واقعی ممکن است چهار تا پنج برابر بیش‌تر باشد که این خود تهدید فزاینده‌ای برای سلامت جامعه و محیط زیست به شمار می‌آید. بنابراین به دلیل پیچیدگی شرایط اپیدمیولوژیکی و بیولوژیکی مرتبط با انتقال لیشمانیا، کنترل مؤثر این بیماری نیازمند به کارگیری استراتژی‌های کنترلی مناسب و هم‌چنین توسعه رویکردهای جدید برای مدیریت ناقلین می‌باشد (۲، ۱۰). اخیراً باکتری ولباخیا به عنوان یک استراتژی جایگزین برای کنترل بیماری‌های منتقله توسط ناقلین، از طریق کاهش یا مسدود کردن عفونت‌های پاتوژن مورد استفاده قرار گرفته است.

در همین راستا، حضور طبیعی ولباخیا در برخی گونه‌های پشه خاکی، به ویژه ناقلین لیشمانیا به عنوان راهبردی جدید برای مهار انتقال این انگل مطرح می‌باشد. ولباخیا یک همزیست درون سلولی است که به صورت مادری به نسل‌های بعدی منتقل می‌شود و می‌تواند به‌طور طبیعی در حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد از بندپایان و برخی نماتودها را آلوده کند. ولباخیا به دلیل ایجاد دستکاری‌های تولیدمثلی در میزبان‌های خود شناخته شده است. این باکتری‌ها باعث ایجاد تعدادی از ناهنجاری‌های تولیدمثلی در فنوتیپ میزبان‌های خود، از جمله ناسازگاری سیتوپلاسمی، بکرزایی، ماده‌زایی و کشتن نرها، می‌شوند. ناسازگاری سیتوپلاسمی یکی از فنوتیپ‌های رایج ولباخیا است. هنگامی که جمعیت‌های آلوده از یک گونه با یکدیگر تلاقی می‌کنند، نتایج ممکن است به صورت ناسازگاری یک‌طرفه، ناسازگاری دوطرفه، کامل یا جزئی ظاهر شوند (۱۱).

در صورتی که یک نر آلوده با یک ماده غیر آلوده (یا آلوده به سویه دیگری از ولباخیا) جفت‌گیری کند، این تلاقی ناسازگار خواهد بود و هیچ فرزندی تولید نخواهد شد که به آن ناسازگاری یک‌طرفه می‌نامند و هم‌چنین در صورتی که جمعیت‌های نر و ماده به بیش از یک سویه ولباخیا آلوده باشند، ناسازگاری دوطرفه مشاهده خواهد شد (۱۱).

این مقاله مروری به بررسی دانش فعلی در مورد ولبافیا در پشه خاکی ها در دنیا و ایران، تاریخچه، طبقه بندی و زیست شناسی ولبافیا، شیوع و چالش های آن برای استراتژی های کنترل ناقلین می پردازد.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع مروری غیرنظام مند (Narrative review)، است. داده های این تحقیق با استفاده از کلید واژه های فارسی "ولبافیا"، "پشه خاکی"، "لیشمانیوز"، "کنترل ناقلین"، "ایران"، "شیوع"، "باکتری همزیست"، "جهان" و انگلیسی "Wolbachia"، "Sandfly"، "Leishmaniasis"، "Prevalence"، "Vector control"، "Symbiotic bacteria"، "Iran" و "world" از طریق جستجو در موتورهای جستجوی داده Google Scholar، پایگاه های علمی بین المللی Web of Science، Pubmed، Scopus، ScienceDirect و پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID)، بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) و مرجع دانش (Civilica) به صورت جستجوی انفرادی و پیشرفته ترکیبی با عملگرهای بولین (AND، OR و NOT) جمع آوری شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل مقالاتی که ارتباط موضوعی با ولبافیا، شیوع و نقش آن در کنترل زیستی پشه خاکی ها در ایران و جهان داشتند، در بازه زمانی ۱۳۷۶ تا مرداد ۱۴۰۴ بود. در حالی که مقالات منتشر شده به زبان هایی غیر از فارسی و انگلیسی از مطالعه خارج شدند. پس از جمع آوری داده ها، غربالگری مطالعات بر اساس تطابق موضوعی و اعتبار علمی انجام شد، داده های مرتبط استخراج و به روش توصیفی-تحلیلی ارائه گردیدند.

تاریخچه کشف ولبافیا

ولبافیا، یک باکتری داخل سلولی و همزیست، برای اولین بار در سال ۱۹۲۴ توسط هرینگ و ولباخ در بافت های تولیدمثلی پشه *Culex pipiens* شناسایی

بکرزایی در حشرات دارای اشکال مختلف است که در همه آن ها در واقع ماده ها بدون مشارکت نرها فرزند تولید می کنند. ولبافیا نوع خاصی از بکرزایی را در برخی گونه ها القا می کند که به آن تلیتیوکی (Thelytoky) می گویند. در این حالت، ولبافیا باعث تکثیر گامت ها در برخی حشرات می شوند، بنابراین تمام فرزندان ماده خواهند بود و عفونت ولبافیا را نیز حمل می کنند. علاوه بر این، ولبافیا باعث مرگ و میر جنین های نر در برخی بندپایان می شود. هم چنین، ولبافیا انتقال افقی بین گونه های مختلف بندپایان دارد (۱۲). این انتقال در گروه هایی از زنبورهای پارازیتوئید که به طور طبیعی آلوده به ولبافیا نبودند، مشاهده شده است. این زنبورها پس از شکار و تغذیه از گونه هایی از *Drosophila*، در مدت کوتاهی به همان سویه ولبافیا که در *Drosophila* وجود داشت، آلوده شدند (۱۲، ۱۳).

در پشه خاکی ها، که ناقلین بیماری لیشمانیوز هستند، ولبافیا در چندین گونه شناسایی شده است و این موضوع سوالاتی را در مورد نقش آن در زیست شناسی میزبان و انتقال بیماری مطرح می کند. مطالعات عملیاتی و آزمایش های میدانی نشان داده اند که استفاده از سویه های خاص ولبافیا می تواند به طور مؤثری جمعیت پشه خاکی های ناقل لیشمانیوز را کاهش دهد و انتقال این بیماری را کنترل کند، که این امر پتانسیل ولبافیا را به عنوان ابزار بیولوژیکی در برنامه های کنترل برجسته می سازد (۱۴). برای عملی سازی این استراتژی، باید سویه های سازگار و پایدار ولبافیا شناسایی شوند و پس از آلوده سازی مصنوعی پشه خاکی های در آزمایشگاه (مانند تجربه موفق در *Ae. aegypti*) و بررسی پارامترهای زیستی و انتقال عمودی، کارایی آن ها در آزمایش های میدانی محدود در مناطق آندمیک ارزیابی شود (۱۵). نتایج موفق چنین پروژه هایی در کشورهایی مانند استرالیا و اندونزی، که منجر به کاهش انتقال ویروس دنگی شده است، می تواند الگویی برای توسعه مدل های کاربردی کنترل ناقلین لیشمانیوز باشد (۱۶، ۱۷).

شد (۱۸). مارشال هرتیگ در مقاله‌اش در سال ۱۹۳۶ با ادای احترام به استاد خود سیمنون بی. ولباخ، بیان کرد «نام *Wolbachia pipientis* برای ریکتریای *Culex pipiens* پیشنهاد می‌شود». در ابتدا، ولباخ به عنوان یک باکتری نادر و کم‌اهمیت در نظر گرفته می‌شد، در دهه ۱۹۷۰، ولباخ بار دیگر مورد توجه قرار گرفت و مقاله کلاسیک ین و بار نشان داد که نوعی ناسازگاری تولید مثلی (ناسازگاری سیتوپلاسمی (CI) در میان جمعیت‌های پشه‌ها به دلیل وجود این ارگانسیم شبیه ریکتیزا است که به صورت مادری به ارث می‌رسد و با آنتی‌بیوتیک قابل درمان است (۱۸). در سال‌های بعد، تحقیقات گسترده‌ای در مورد نقش ولباخ در دستکاری تولیدمثل میزبان‌های خود انجام شده است که منجر به کشف مکانیسم‌های دیگری شد که از طریق آن‌ها ولباخ باعث افزایش جمعیت ماده‌های آلوده در جمعیت‌های مختلط می‌شود. این مکانیسم‌ها شامل ماده-زایی (تبدیل نرهای ژنتیکی به ماده)، بکرزایی (توسط ماده‌های آلوده و کشتن نرهای آلوده) هستند (۱۹). از میان این مکانیسم‌ها، ناسازگاری سیتوپلاسمی رایج‌ترین و مورد مطالعه‌ترین مکانیسم است.

در دهه ۱۹۹۰، با پیشرفت تکنیک‌های توالی‌یابی DNA، ژنوم ولباخ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این باکتری دارای تنوع ژنتیکی قابل توجهی است که آن را به یکی از گسترده‌ترین و فراوان‌ترین همزیست‌های داخل سلولی در بین بندپایان تبدیل کرده است (۲۰). این مطالعات همچنین نشان دادند که ولباخ می‌تواند به صورت افقی بین گونه‌های مختلف منتقل شود، که این امر به گسترش جهانی آن کمک کرده است (۲۱). انتقال افقی ولباخ از طریق تماس تغذیه‌ای، شکارگری یا رفتار انگلی بین گونه‌های بندپا، به‌ویژه زنبورهای پرازیتوئید و مگس‌های میوه، رخ داده و موجب پراکنش گسترده این باکتری شده است (۲۲).

امروزه، ولباخ به عنوان یک ابزار بالقوه در کنترل بیولوژیکی بیماری‌های منتقله توسط بندپایان، مانند

مالاریا، لیشرمانیوز و دانگ مورد توجه قرار گرفته است (۲۳). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که ولباخ می‌تواند با مهار تکثیر پاتوژن‌ها در میزبان‌های خود، به کاهش انتقال بیماری‌ها کمک کند (۲۱، ۲۴).

از زمان کشف اولیه ولباخ در سال ۱۹۲۴ تاکنون، این باکتری به عنوان یکی از جذاب‌ترین و پیچیده‌ترین همزیست‌های داخل سلولی شناخته شده است. تحقیقات گسترده در مورد زیست‌شناسی، ژنتیک و کاربردهای بالقوه ولباخ همچنان ادامه دارد و این باکتری را به یکی از موضوعات مهم در علوم میکروبیولوژی و کنترل بیماری‌ها تبدیل کرده است.

طبقه‌بندی و فیلوژنی ولباخ

ولباخ در سلسه جانوری به رده آلفا پروتوباکتیریا (Alpha-proteobacteria)، راسته ریکتریال (Rickettsiales) و خانواده آناپلاسماتاسه‌آ (Anaplasmataceae) و جنس ولباخ (*Wolbachia*) تعلق دارد. این باکتری به عنوان رایج‌ترین باکتری درون سلولی در نظر گرفته می‌شود که میلیون‌ها گونه حشره در سراسر جهان را آلوده می‌کند. در میان رده آلفا پروتوباکتیریا، ولباخ نیز اعضای دیگری مانند آناپلازما (*Anaplasma*)، اهرلیشیا (*Ehrlichia*) و نوریکتسیا (*Neorickettsia*) دارد که از نظر ژنتیکی به ولباخ نزدیک هستند (۲۵). لازم به ذکر است که به دلیل عدم اطمینان در مورد وضعیت طبقه‌بندی واقعی *Wolbachia pipientis* که احتمالاً این عدم اطمینان به دلیل تنوع ژنتیکی گسترده، انتقال افقی ژن، فقدان معیارهای استاندارد دقیق و محدودیت‌های تکنیکی در تحلیل‌های فیلوژنتیکی و ژنومی است که تعیین مرزهای تاکسونومیک آن را پیچیده می‌کند، از این رو محققان معمولاً آن را صرفاً به عنوان *Wolbachia* یاد می‌کنند (۲۶). در حال حاضر، بر اساس اطلاعات توالی به دست آمده از ژن‌های باکتریایی هدفمند، شامل rDNA ۱۶S (زیر واحد کوچک DNA ریبوزومی)، groEl (ژن)

پروتئین شوک حرارتی)، wsp (ژن پروتئین پوشش سطحی خارجی) و ftsZ (ژن تقسیم سلولی)، آلودگی‌های ولبافیا در میزبان‌های مختلف مشخص شده و به هشت بالاگروه A تا H تقسیم شده‌اند (۲۷، ۲۸). علاوه بر این، برخی از منابع اخیر با استفاده از آنالیزهای چند ژنی (MLST) و داده‌های ژنومی گزارش داده‌اند که سویه‌های آلوده کننده ولبافیا را می‌توان به بالاگروه‌های دیگر نیز طبقه‌بندی کرد، یعنی به بالاگروه‌های A تا W که در جدول شماره ۱، مشهود می‌باشد (۳۰-۲۸). این تحولات در طبقه‌بندی ولبافیا ناشی از بهبود روش‌های توالی‌یابی، توسعه روش‌های فیلوژنتیکی پیشرفته و افزایش تعداد نمونه‌های مورد بررسی است که به مرور زمان ساختار طبقه‌بندی دقیق‌تر و جامع‌تری را ارائه می‌کند (۳۱). جدول شماره ۱، هم‌چنین نشان دهنده تنوع بالای میزبان‌هایی است که توسط بالاگروه‌های مختلف ولبافیا آلوده می‌شوند.

جدول شماره ۱: تقسیم بندی آلودگی‌های ولبافیا به ۲۲ بالاگروه در میزبان‌های مختلف

بالاگروه	میزبان‌ها	رفرنس
A, B, E	بندپایان، پشه خاکی	(۳۲، ۲۶)
C, D	نماتدهای فیلاریا	(۲۶)
F	بندپایان و نماتدها	(۳۴، ۳۳)
G	عنکبوت‌ها	(۳۵)
H	موریانه‌ها	(۲۹)
I	کک‌ها	(۲۸)
J	اسپیروئیدا و نماتودا	(۲۸)
K	پروستیماتات و آکاریتا	(۲۸)
L	نماتد Radopholus و بال غشاییان	(۳۶، ۳۰)
M	شته سیب زمینی و مگس سفید	(۳۶، ۳۰)
N	شته سیاه مرکبات و تریس	(۳۶، ۳۰)
O	عسلک پنبه و پسیل گیاه چمنده	(۳۶، ۳۰)
P	کنه‌ها	(۳۰)
Q	کنه‌ها	(۳۰)
S	شبه عقرب، (عقرب‌های کاذب) <i>Atemnus politus</i>	(۳۰)
T	ساق‌گرمریری	(۳۰)
U	کنه	(۳۰)
V(wCfeT)	کک گربه	(۳۰)
W(wCfeJ)	کک گربه	(۳۰)

زیست‌شناسی ولبافیا

ولبافیا یک جنس از باکتری‌های گرم منفی، چند شکلی، غیرمتحرک و درون‌سلولی اجباری است که برای بقا و تولیدمثل به سلول‌های میزبان وابسته است. این

باکتری در طول تاریخ به عنوان یکی از عمده‌ترین عوامل همزیستی با موجودات متعدد شناخته شده‌اند (۱۴). ولبافیا به طور معمول در اندام‌های تولیدمثلی میزبان، مانند تخمدان‌ها یافت می‌شود. این باکتری عمدتاً به صورت عمودی از مادر به فرزندان منتقل می‌شود، اگر چه انتقال افقی نیز ممکن است رخ دهد (۳۷). این انتقال همان طور که در بالا هم اشاره شد معمولاً از طریق روابط زیست‌محیطی نزدیک اتفاق می‌افتد. برای مثال، انتقال افقی مشاهده شده بین گونه‌های زنبور پارازیتوئید و مگس‌های *Drosophila*، که احتمالاً از طریق تغذیه بر روی میزبان آلوده صورت گرفته است (۳۸). مطالعات نشان داده‌اند که حتی گونه‌هایی از بندپایان که از نظر فیلوژنتیکی فاصله زیادی دارند، می‌توانند ولبافیای مشابهی را در خود داشته باشند که نشان دهنده وقوع انتقال افقی است (۱۴). باکتری با تغییر رفتار و فیزیولوژی میزبان، شانس بقا و انتقال خود را افزایش می‌دهد که این اثرات باعث گسترش ولبافیا در جمعیت‌های میزبان می‌شود (۳۹). به عنوان مثال، ناسازگاری سیتوپلاسمی باعث می‌شود که نرهای آلوده به ولبافیا تنها بتوانند با ماده‌های آلوده به ولبافیا تولیدمثل موفق داشته باشند، در حالی که جفت‌گیری با ماده‌های غیرآلوده منجر به مرگ جنین می‌شود. این مکانیسم باعث افزایش فراوانی ولبافیا در جمعیت‌های میزبان می‌شود (۱۴). این ویژگی‌ها احتمالاً تفاوت عملکرد ولبافیا نسبت به سایر همزیست‌های درون‌سلولی را برجسته می‌کند.

مطالعات ژنومی نشان داده‌اند که ژنوم ولبافیا به طور قابل توجهی کوچک شده و بین ۱ تا ۱/۵ مگابایت اندازه دارد، اما حاوی مجموعه‌ای از ژن‌های تکراری آنکایرین (Ankyrin repeat genes) است که در تعامل با میزبان نقش دارند (۴۰). کوچک بودن ژنوم ولبافیا نتیجه‌ی تکامل همزیستی طولانی مدت آن با میزبان‌های بندپا است. طی این فرآیند، بسیاری از ژن‌هایی که برای زندگی آزاد ضروری بودند، حذف شده‌اند، چرا که

باکتری در محیط درون سلولی میزبان برای تأمین نیازهای خود به انتقال دهنده‌های اختصاصی متکی است که متابولیت‌های ضروری را از میزبان جذب می‌کند و نیاز به مسیرهای متابولیکی مستقل ندارد. این پدیده که به عنوان «کاهش ژنوم ناشی از همزیستی اجباری» شناخته می‌شود، در سایر همزیست‌های درون سلولی مانند *Buchnera aphidicola* نیز مشاهده شده است (۴۱، ۴۲). تحقیقات پروتئومیک اخیر نشان داده‌اند که ولباخیا به شدت با شبکه متابولیک میزبان خود ادغام شده است، به طوری که می‌تواند اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها و سایر متابولیت‌های حیاتی را از میزبان دریافت کند (۴۳).

ولباخیا در پشه خاکی های دنیا

پشه خاکی‌ها ناقلین اصلی انگل‌های لیشمانیا هستند که باعث ایجاد بیماری لیشمانیوز، یک بیماری گرمسیری فراموش شده، می‌شوند. تا قبل از سال ۱۹۹۷، هیچ بررسی اولیه‌ای درباره وجود ولباخیا در پشه خاکی‌ها انجام نشده بود، که احتمالاً تمرکز بیش‌تر جامعه علمی بر روی اکولوژی و بیولوژی این ناقلین و محدودیت در ابزارهای تشخیصی شامل تکنیک‌های مولکولی (PCR) و تعیین توالی ژن‌های خاص که تا دهه ۱۹۹۰ هنوز به‌طور گسترده در پژوهش‌های حشره‌شناسی کاربرد نداشتند تأثیر گذار بوده است (۴۴). بعد از این سال‌ها اولین بار توالی ولباخیا از گونه *Phlebotomus papatasi* به‌وسیله ژنو و همکاران شناسایی شد (۴۵). پس از آن، مطالعات مختلف حضور ولباخیا را در ۳۳ گونه از پشه خاکی‌ها در نقاط مختلف دنیا مثبت گزارش نمودند. ولباخیا بیش‌تر از بالا گروه‌های A و B در این پشه خاکی‌ها گزارش شدند، اما موارد آلودگی همزمان به هر دو بالا گروه فقط در دو گونه *Evandromyia evandroi* و *Pressatia choti* گزارش شده است (جدول شماره ۲). شیوع ولباخیا در پشه خاکی‌های از نظر جغرافیایی و بین گونه‌ها متفاوت است و میزان عفونت از کم تا متوسط (۲/۵ تا ۹۳/۹

درصد) متغیر است (جدول شماره ۲). با این حال، میزان عفونت و تنوع سویه‌ها در جمعیت‌های مختلف به طور قابل توجهی متفاوت است (۴۴). تأثیر ولباخیا بر توانایی بقا و موفقیت تولیدمثلی پشه‌خاکی‌ها هنوز به خوبی درک نشده است. برخی مطالعات نشان می‌دهند که ولباخیا ممکن است بر باروری، طول عمر و حساسیت به عفونت لیشمانیا تأثیر بگذارد (۴۶). حضور ولباخیا در پشه‌های خاکی ممکن است توانایی ناقلین در انتقال انگل‌های لیشمانیا را تعدیل کند. به عنوان مثال، ولباخیا ممکن است بار لیشمانیا را در پشه‌های خاکی کاهش دهد و در نتیجه کارایی انتقال را کاهش دهد (۴۴، ۴۷).

ولباخیا در پشه خاکی های ایران

ایران یکی از کانون‌های اصلی بیماری لیشمانیوز است و هر دو شکل جلدی (CL) و احشایی (VL) این بیماری در این منطقه بومی هستند. پشه‌های خاکی از جنس‌های *Phlebotomus* ناقلین اصلی انگل‌های لیشمانیا در این منطقه هستند (۴، ۹). مطالعات مختلف در ایران وجود ولباخیا را در گونه‌های متعددی از پشه خاکی‌های کشور تأیید کرده‌اند و بینش‌های مهمی در مورد توزیع و نقش بالقوه آن در انتقال بیماری ارائه داده‌اند (جدول شماره ۳). مهم‌ترین گونه‌های آلوده شامل *Phlebotomus papatasi* و *Ph. sergenti* ناقلین اصلی لیشمانیوز جلدی روستایی و شهری (ZCL و ACL)، *Ph. mongolensis*، *Ph. caucasicus*، *Ph. perfliewi*، *Ph. kandelakii* و *Ph. alexandri* می‌شوند (۵۸). از نظر درصد شیوع، ۷۲/۶ درصد نرهای *Ph. papatasi* و در ۹۳/۹ درصد ماده‌ها، در *Ph. sergenti* با ۷۶ درصد، *Ph. mongolensis* با ۳۶ درصد و *Ph. perfliewi* ۶/۶ درصد بیش‌ترین میزان آلودگی را نشان داده‌اند (۱۲، ۶۱-۵۹). سایر گونه‌ها معمولاً بین ۵-۲۰ درصد آلودگی داشته‌اند (۶۲).

از نظر پراکنندگی جغرافیایی، عفونت ولباخیا در پشه خاکی‌های از مناطق مختلف ایران گزارش شده است (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۲: وضعیت شیوع ولبافیا در پشه خاکی ها در دنیا از ۱۹۹۸ تاکنون

نویسنده	سال	کشور	یافته‌های کلیدی	گونه پشه خاکی	بالا گروه	رفرنس
Zhou et al	۱۹۹۸	اسرائیل	<i>Ph. papatasi</i> یکی از گونه‌های حشرات مورد مطالعه در این تحقیق بوده است که آلودگی به باکتری باکتری را نشان داده است و محققان از ژن WSP برای بررسی سویه‌های این باکتری در این پشه خاکی استفاده کردند.	<i>Ph. papatasi</i>	A	(۴۵)
Ono et al	۲۰۰۱	کلمبیا	از بین ۵۳ نمونه پشه خاکی متعلق به ۱۵ گونه مختلف، ۹ نمونه از چهار گونه مختلف به باکتری ولبافیا آلوده بودند انتقال افقی ولبافیا بین گونه‌های پشه خاکی اتفاق افتاده است	<i>Lu. shannoni</i>	A	(۴۴)
		برزیل		<i>Lu. whitmania</i>	A	
		ایتالیا		<i>Ph. perniciosus</i>	B	
Kassem et al	۲۰۰۳	هند	این مطالعه که در مصر مورد بررسی قرار گرفت از ۴ کلنی پشه خاکی فقط <i>Ph. papatasi</i> که در شهر سینا جمع آوری شده بود آلوده به ولبافیا تشخیص داده شد	<i>Ph. papatasi</i>	N/A	(۱۱)
		مصر		<i>Ph. perniciosus</i>	B	
Benlarbi and Ready	۲۰۰۳	ایتالیا و فرانسه	این مطالعه نشان داد که سویه های ولبافیا در جمعیت های گسترده پشه های <i>Ph. papatasi</i> , <i>Phperniciosus</i> به صورت میزبان اختصاصی هستند. این یافته ها نشان دهنده پتانسیل استفاده از این باکتری ها برای انتقال ژن ها به این ناقلین لیسمانیا است. نرخ آلودگی در نر وماده بالا بود و آلودگی در <i>Ph. perniciosus</i> به یک سویه خاص از ولبافیا کم تر از <i>Ph. papatasi</i> بود	<i>Ph. papatasi</i>	A	(۴۸)
Azpuru et al	۲۰۱۰	پاناما	۴۳۷ پشه خاکی از ۷ نقطه جمع آوری شد دو گونه <i>Lu. vespertilionis</i> و <i>Lu. trapidoi</i> آلوده به ولبافیا گزارش شد	<i>Lu. vespertilionis</i> <i>Lu. trapidoi</i>	B A	(۴۹)
Pacheco et al	۲۰۱۲	مکزیک	ولبافیا در پشه خاکی ماده <i>Lu. cruciata</i> پیدا شد	<i>Lu. cruciata</i>	A	(۵۰)
Matsumoto et al.	۲۰۱۴	فرانسه	سه گونه مورد بررسی در فرانسه آلوده به ولبافیا گزارش شدند. باکتری شناسایی شده از <i>Se. minuta</i> به عنوان یک گونه جدید به نام " <i>Wolbachia</i> sp." نام گذاری شد. این مطالعه نشان می دهد که پشه خاکی <i>Lu. stewarti</i> در کالیفرنیا به طور طبیعی با باکتری ولبافیا آلوده هستند ترکیب باکتریایی در جمعیت های مختلف از پشه خاکی <i>Ph. chinensis</i> در استان های هنان و سیچوان چین مقایسه شد. نتایج نشان دادند که این جمعیت ها شامل ۲۹ جنس می باشند و آلودگی به ولبافیا فقط درشهر هنان شناسایی شد.	<i>Ph. mascitti</i>	N/A	(۵۱)
				<i>Ph. ariasi</i>	N/A	
				<i>Se. minuta</i>	A	
Hughes et al.	۲۰۱۴	آمریکا	این مطالعه نشان می دهد که پشه خاکی <i>Lu. stewarti</i> در کالیفرنیا به طور طبیعی با باکتری ولبافیا آلوده هستند ترکیب باکتریایی در جمعیت های مختلف از پشه خاکی <i>Ph. chinensis</i> در استان های هنان و سیچوان چین مقایسه شد. نتایج نشان دادند که این جمعیت ها شامل ۲۹ جنس می باشند و آلودگی به ولبافیا فقط درشهر هنان شناسایی شد.	<i>Lu. stewarti</i>	A	(۴۷)
Li et al.	۲۰۱۶	چین	این مطالعه نشان می دهد که پشه خاکی <i>Lu. stewarti</i> در کالیفرنیا به طور طبیعی با باکتری ولبافیا آلوده هستند ترکیب باکتریایی در جمعیت های مختلف از پشه خاکی <i>Ph. chinensis</i> در استان های هنان و سیچوان چین مقایسه شد. نتایج نشان دادند که این جمعیت ها شامل ۲۹ جنس می باشند و آلودگی به ولبافیا فقط درشهر هنان شناسایی شد.	<i>Ph. chinensis</i>	N/A	(۲۵)
Vivero et al.	۲۰۱۷	کلمبیا	وجود آلودگی به ولبافیا در سه گونه <i>Lutzomyia</i> شناسایی شد.	<i>Lu. dubitans</i>	B	(۵۲)
				<i>Lu. cayennensis</i>	B	
				<i>Lu. evansi</i>	B	
Karatepe et al	۲۰۱۸	ترکیه	بیش تر پشه خاکی های مورد بررسی آلوده به <i>Wolbachia</i> بودند و میزان آلودگی در پشه های نر بیش تر بود (نر ۷۶ درصد و ماده ۶۳ درصد).	<i>Phlebotomus</i> spp	N/A	(۴۶)
Da Rocha et al	۲۰۱۸	برزیل	از ۲۰۰ پشه خاکی مورد بررسی ۵ پشه خاکی (۲/۵ درصد) آلوده بودند. که تمام پشه های آلوده از گونه <i>Lu. longipalpis</i> بود	<i>Lu. longipalpis</i>	B	(۵۳)
Cruz et al.	۲۰۲۱	آمریکای جنوبی	ولبافیا در ۱۲ گونه از پشه خاکی های نمونه برداری شده (۶۶/۷ درصد) شناسایی شد.	Bi.	A	(۵۴)
				<i>flaviscutellata</i>	B	
				<i>Ps. complexus</i>	B	
				<i>Ev. evandroi</i>	A/AB	
				<i>Ev. termitophila</i>	A	
				<i>Mi. peresi</i>	A	
				<i>Mi. rabelloi</i>	B	
				<i>Pr. choti</i>	B/AB	
				<i>Ny. whitmani</i>	A	
				<i>Ny. intermedia</i>	A	
Lozano-Sardaneta et al	۲۰۲۲	مکزیک	در مجموع ۱۹۳ پشه خاکی صید و ۵ گونه شناسایی شد (۴ گونه جدید در ایالت تاباسکو شناسایی شد) نرخ آلودگی <i>Wolbachia</i> ۰٫۹۱ درصد گزارش شد.	<i>Lu. longipalpis</i>	B	(۵۵)
				<i>Ps. shannoni</i>	B	
				<i>Ps. corossoniensis</i>	B	
Lozano-Sardaneta et al.	۲۰۲۳	مکزیک	۵۹۱ پشه خاکی از ۱۰ گونه مورد بررسی قرار گرفت ولبافیا در پنج گونه شناسایی شد.	<i>Lu. cruciata</i>	A	(۵۶)
				<i>Pt. ovallesi</i>	A	
				<i>Ps. panamensis</i>	B	
Rodríguez-Rojas et al.	۲۰۲۴	مکزیک	۷۰۷ پشه خاکی از ۶ گونه جمع آوری شد. دو گونه <i>Ps. cratifer</i> و <i>Lu. cruciata</i> آلوده به ولبافیا بودند.	<i>Ny. ylephiletor</i>	B	(۵۷)
				<i>cratifer</i> <i>Ps. Lu. cruciata</i>	A	

Abbreviations: Ph= *Phlebotomus*, Lu: *Lutzomyia*, Se= *Sergentomyia*,
Bi=Bichromomyia, Ps=Psychodopygus,Ev=Evandromyia, Mi=*Microcopygomyia*, Pr=Pressatia,
Ny=Nyssomyia, Ps=Psathyromyia, Sc=Sciopemyia, Pt=Ptychoptera

جدول شماره ۳: وضعیت شیوع ولبافیا در پشه خاکی ها در ایران از ۲۰۰۳ تاکنون

نویسنده	سال	شهر/استان	یافته‌های کلیدی	گونه پشه خاکی	بالا گروه	رفرنس
پرویزی و همکاران	۲۰۰۳	اصفهان	این مطالعه نشان داد که جمعیت های <i>Ph. papatasi</i> در ایران از نظر ژنتیکی نسبتاً همگن هستند و اکثراً به باکتری ولبافیا آلوده هستند.	<i>Ph. papatasi</i>	A	(۶۳)
پرویزی و همکاران	۲۰۰۵	اصفهان، ترکمن صحرا، گنبد کاووس، بوشهر، همدان،	درصد مثبت ولبافیا: ۷۲/۶ درصد از ۱۲۴ پشه خاکی نر و ۹۳/۹ درصد از ۴۹ پشه خاکی ماده	<i>Ph. papatasi</i>	A	(۵۹)
پرویزی و همکاران	۲۰۱۳	گنبد کاووس و مراوه تپه	۷۳ پشه خاکی از ۲۰۳ عدد آلوده به ولبافیا گزارش شد	<i>Ph. mongolensis</i>	B	(۶۱)
پرویزی و همکاران	۲۰۱۳	سراب و کلپیر در استان آذربایجان، مشکین شهر در استان اردبیل	در مجموع ۱۲ پشه خاکی از ۱۸۳ پشه خاکی جمع آوری شده به ولبافیا آلوده بودند. ۱۱ مورد آن <i>Ph. Perfiliewi</i> ۱ مورد آن <i>Ph. kandelakii</i>	<i>Ph. caucasicus</i> <i>Ph. perfiliewi</i>	A B	(۱۲)
بردبار و همکاران	۲۰۱۴	اردبیل، اصفهان، گلستان، فارس، آذربایجان شرقی، همدان، تهران، یزد	۲۴۱ پشه خاکی از ۶۴۸ پشه خاکی آلوده به ولبافیا بودند	<i>Ph. sergenti</i>	A	(۶۲)
				<i>Ph. alexandri</i>	A	
کریمیان و همکاران	۲۰۱۸	اصفهان، فارس، اردبیل، خراسان شمالی، کرمان	این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی <i>Ph. papatasi</i> و <i>Ph. sergenti</i> به ولبافیا به ترتیب ۸۳ درصد و ۷۶ درصد بود.	<i>Ph. mongolensis</i>	B	(۶۰)
				<i>Ph. caucasicus</i>	A	
				<i>Ph. kandelakii</i>	N/A	
علیپور و همکاران	۲۰۲۱	شیراز، مرودشت، خرامه، کازرون، لرستان	<i>Ph. papatasi</i> در مناطق شیراز، مرودشت و خرامه آلوده به ولبافیا تشخیص داده شدند.	<i>Ph. perfiliewi</i>	B	(۶۴)
				<i>Ph. papatasi</i>	A	

استان اصفهان با بالاترین میزان گزارش، استان‌های شمالی (گلستان، خراسان شمالی)، استان‌های غربی (همدان، آذربایجان شرقی)، استان‌های جنوبی (فارس، بوشهر) و استان‌های مرکزی (تهران، یزد) مهم‌ترین مناطق آلوده محسوب می‌شوند (۶۰، ۶۲، ۶۳).

در ایران، سه بالاگروه اصلی از ولباخیا شامل A، B و N/A شناسایی شده‌اند. سویه A با بیش از ۶۰ درصد بیش‌ترین شیوع را دارد و عمدتاً در *Ph. papatasi* و *Ph. sergenti* یافت شده است (۶۲). این سویه ارتباط مستقیمی با نرخ بالای آلودگی در ماده‌ها دارد. سویه B با شیوع ۳۰-۳۵ درصد بیش‌تر در *Ph. mongolensis* و *Ph. perfiliewi* مشاهده شده است. سویه‌های N/A با شیوع کم‌تر از ۱۰ درصد عمدتاً در *Ph. kandelakii* گزارش شده‌اند (۶۰، ۶۲). مطالعات نشان می‌دهند که در بیش‌تر گونه‌های پشه خاکی در ایران، نرخ آلودگی در ماده‌ها به طور معنی‌داری بالاتر از نرها است (۵۹). این الگو ممکن است نشان دهنده انتقال عمودی مؤثرتر در ماده‌ها باشد.

از نظر اهمیت اپیدمیولوژیک، وجود ولباخیا در پشه خاکی‌های ایران ممکن است، تأثیرات مهمی داشته باشد که شامل امکان تداخل با انتقال لیشمانیا، پتانسیل استفاده در کنترل بیولوژیک و تأثیر بر دینامیک جمعیت ناقلین می‌شود (۶۴). با این حال، این یافته‌ها اهمیت مطالعات بیش‌تر در این زمینه را برای برنامه‌ریزی‌های کنترلی ناقلین نشان می‌دهد.

پیامدهای مثبت ولباخیا برای کنترل ناقلین

توانایی ولباخیا در دستکاری زیست‌شناسی میزبان و تداخل در انتقال پاتوژن‌ها، آن را به یک ابزار بالقوه برای کنترل بیماری‌های منتقله از طریق ناقلین تبدیل کرده است. در پشه‌ها، استراتژی‌های مبتنی بر ولباخیا با موفقیت انتقال ویروس‌های دانگ، زیکا و چیکونگونیا را کاهش داده‌اند (۲۳). رویکردهای مشابه می‌توانند برای کنترل پشه خاکی‌ها و مبارزه با لیشمانیوز به کار گرفته شوند. معرفی ولباخیا به جمعیت‌های پشه خاکی می‌تواند

قابلیت ناقلین را کاهش دهد یا جمعیت آن‌ها را از طریق ناسازگاری سیتوپلاسمی سرکوب کند (۴۸). مطالعات میدانی در ایران نشان داده‌اند که سویه‌های بومی ولباخیا در گونه‌های کلیدی مانند *Ph. papatasi* و *Ph. sergenti* با کاهش بار انگلی لیشمانیا همراه بوده‌اند، که پتانسیل بالای این استراتژی را برای کنترل لیشمانیوز در مناطق اندمیک ایران ارائه می‌کند (۶۰، ۶۴). باید اشاره کرد که ولباخیا با تقویت سیستم ایمنی میزبان به کاهش تکثیر و بقای انگل لیشمانیا در بدن میزبان کمک می‌کند. در این حالت، ولباخیا با تحریک بیان ژن‌های ضد میکروبی مانند defensins و cecropins، محیط درونی بدن پشه را برای رشد لیشمانیا نامطلوب می‌سازد. علاوه بر این، ولباخیا ممکن است با انگل برای منابع سلولی حیاتی مانند لیپیدها و نوکلئوتیدها رقابت کند، که منجر به محدود شدن رشد انگل در میزبان می‌شود (۶۵، ۶۶).

بحث

پشه خاکی‌های فلبوتومینه (Diptera: psycodidae) حشرات خونخوار با اهمیت بالای پزشکی و دامپزشکی هستند. از حدود ۱۰۰۰ گونه پشه خاکی، ۹۸ گونه به عنوان ناقلین بیماری‌زا برای انسان و حیوانات تأیید یا مشکوک هستند. این پشه‌خاکی‌ها می‌توانند باکتری‌های جنس بارتونلا، ویروس‌های مختلف (رابدوویریده، پری بونیوویریده، فلاوی ویریده، رئوویریده و فتوویریده) و مهم‌تر از همه، انگل‌های تک‌یاخته جنس لیشمانیا (عامل بیماری لیشمانیوز) را منتقل کنند (۲). علاوه بر نقش آن‌ها به عنوان ناقلین بیماری، پشه خاکی‌ها در زنجیره غذایی اکوسیستم‌های طبیعی نیز نقش دارند و لاروهای آن‌ها با تغذیه از مواد آلی در خاک، به چرخه مواد مغذی کمک می‌کنند (۶۷). لیشمانیوز طیفی از بیماری‌های مهم اپیدمیولوژیک است که در بیش از ۱۰۰ کشور شایع است و سالانه بیش از ۱/۵ میلیون مورد از آن در سراسر جهان گزارش می‌شود. حدود یک میلیارد نفر در

مناطق با خطر بالای انتقال زندگی می کنند (۶۶). در سال های اخیر، تغییرات اقلیمی از جمله افزایش دما، تغییر در الگوهای بارندگی و افزایش خشکسالی ها، با گسترش زیستگاه های پشه های خاکی و تغییر در دینامیک جمعیتی میزبان ها، منجر به گسترش جغرافیایی و فصلی بیماری لیشمانیوز شده است. همچنین مطالعات نشان داده اند که تغییرات آب و هوایی می توانند باعث انتقال بیماری به ارتفاعات بالاتر و مناطق جدیدتر شوند که پیش تر در معرض بیماری نبوده اند (۶۸).

کنترل مؤثر لیشمانیوز به دلیل پیچیدگی شرایط اپیدمیولوژیک و بیولوژیک مرتبط با انتقال آن، مستلزم اجرای راهبردهای کنترل چند جانبه شامل تشخیص و درمان مؤثر بیماری، مطالعه ناقلین و مخازن، و توسعه روش های جدید مدیریت ناقلین است (۶۹). مبارزه با لیشمانیوز به ویژه در زمینه مدیریت ناقلین پشه خاکی بسیار چالش برانگیز بوده که نیازمند پایش مستمر ناقلین و اجرای راهبردهای کنترل مختلف عمده تا مبتنی بر حشره کش ها است. در برخی کشورها، برنامه های موفق برای مدیریت ناقلین لیشمانیوز بر پایه حشره کش به اجرا در آمده است. به عنوان نمونه، در برزیل، برنامه کنترل ناقلین با استفاده سم پاشی ابقایی و حذف سگ های آلوده توانسته است در کاهش موارد لیشمانیوز مؤثر باشد (۷۰). در هند، پروژه های گسترده سم پاشی با سموم پائرترویدها در مناطق روستایی موجب کاهش قابل توجهی در تراکم ناقلین و موارد لیشمانیوز احشایی شده است (۷۱). در آفریقا نیز، اجرای مداخلات ترکیبی شامل استفاده از تورهای آغشته به حشره کش و سم پاشی ابقایی، نقش مهمی در مهار شیوع بیماری ایفا کرده است (۷۲).

اگرچه روش های شیمیایی به دلیل اثر سریع و قوی خود محبوبیت زیادی یافته اند، اما ظهور مقاومت به حشره کش ها در پشه خاکی های، اثرات منفی زیست محیطی (آلودگی آب و خاک) و تاثیر بر موجودات غیر هدف (مانند حشرات گرده افشان، دشمنان طبیعی آفات، یا سایر بندپایان مفید، که موجب برهم خوردن

تعادل طبیعی اکوسیستم می شوند (۷۳). استفاده از آن ها را به عنوان راهکار نهایی کنترل پشه خاکی و لیشمانیوز با محدودیت مواجه کرده است. این محدودیت ها نیاز فوری به روش های مؤثرتر و نوین با حداقل اثرات زیست محیطی را نشان می دهد (۷۴).

اخیراً، باکتری درون سلولی ولبافیا به عنوان یک استراتژی جایگزین برای کنترل بیماری های ناشی از ناقلین مورد توجه زیاد محققان قرار گرفته است. این باکتری به طور طبیعی حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد از بندپایان و برخی از نماتدها را آلوده می کند و از طریق تخم به نسل های بعدی منتقل می شود (۳۹، ۷۵). شیوع گسترده ولبافیا در بی مهرگان باعث شده تا مطالعاتی در مورد پتانسیل آن برای محافظت از میزبان در برابر پاتوژن ها انجام شود. برخی مطالعات نشان داده اند حضور ولبافیا می تواند *Drosophila* را در برابر ویروس های RNA محافظت کند و بیان ژن های ایمنی مانند *Relish* و *Dorsal* و همچنین پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) را افزایش دهد (۷۶، ۷۷). اخیراً، سویه های مختلف این باکتری به پشه ها معرفی شدند که باعث افزایش بیان ژن های مرتبط با ایمنی مانند *TEP1*، *Myd88*، *SOCS36E*، *Cactus* و *AMPs Defensin* شد (۷۸). از جمله نمونه های موفق آن می توان به پروژه هایی در استرالیا، اندونزی و برزیل اشاره کرد، که در آن ها سویه های ولبافیا مانند *wMel* با موفقیت به پشه های *Aedes aegypti* منتقل شدند. این پشه های آلوده سپس در محیط آزاد رها سازی شده و توانستند جمعیت های بومی را با سویه های ولبافیا جایگزین کنند، که این امر منجر به کاهش عفونت توسط پاتوژن هایی شد که بیماری هایی مانند دانگ، چیکونگونیا، زیکا و مالاریا را ایجاد می کنند (۲۴، ۷۹، ۸۰). همان طور که ذکر شد بیش تر مطالعات مربوط به ولبافیا روی انتقال عفونت به پشه ها و اثرات عفونت بر میزبان جدید متمرکز شده است.

با توجه به اهمیت لیشمانیوز برای سلامت انسان، نیاز به توجه بیش تر تحقیقات در این زمینه می باشد. مطالعه

مختلف در دنیا حضور ولباخیا را در ۳۳ گونه از پشه خاکی ها گزارش نمودند (جدول شماره ۲). در ایران، مطالعات کمی بر روی شناسایی ولباخیا در پشه خاکی ها متمرکز شده است. این مطالعات حضور ولباخیا را در ۷ گونه از پشه خاکی ها مثبت گزارش کرده اند (جدول شماره ۳). در ایران، از بین سه بالا گروه اصلی از ولباخیا، سویه A بیشترین شیوع را دارد و عمدتاً در *Ph. papatasi* و *Ph. sergenti* گزارش شده است. مطالعات نشان داده اند که شیوع ولباخیا در پشه خاکی های ایران و جهان متفاوت است. این تفاوت در شیوع می تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله، تنوع ژنتیکی گونه های میزبان، ویژگی های بوم شناختی خاص مانند شرایط اقلیمی، ساختار جمعیت ناقلین، تفاوت در سویه های ولباخیا، تاریخچه تماس با میزبانان آلوده و عوامل زیست محیطی و تغییرات فصلی (نوسانات دما، رطوبت، بارندگی) باشد (۸۱). علاوه بر این، عوامل انسانی مانند استفاده از آفت کش ها، تخریب زیستگاه ها و تغییرات کاربری زمین نیز ممکن است بر پایداری و انتقال عمودی یا افقی ولباخیا تأثیر بگذارند (۸۲). بنابراین، درک دقیق تر از الگوی شیوع ولباخیا در ایران در مقایسه با سایر نقاط جهان، نیازمند مطالعات گسترده تری می باشد. لازم به ذکر است که اگر چه هنوز داده ای در مورد استفاده از ولباخیا به عنوان یک عامل کنترل ناقل در پشه خاکی ها منتشر نشده است، اما ممکن است تغییرات ناشی از ولباخیا به عنوان یک ابزار جدید برای توسعه استراتژی های کنترل بیماری های منتقل شده توسط پشه خاکی های مورد استفاده قرار گیرد. در یک مطالعه انجام شده به وسیله da Silva Gonçalves و همکاران امکان آلودگی ولباخیا به سلول های خطی *Lutzomyia longipalpis* به عنوان اولین گام برای استفاده از این باکتری برای کنترل لیشمانیوز آزمایش شد. در این آزمایش، از دو خط سلول جنینی *Lu. longipalpis* شامل LL-5 (که حداقل شامل دو نوع سلول اپیتلیوئید و فیروپلاست) و سلول های Lulo (که از سلول های اپیتلیوئید تشکیل شده اند و قبلاً به عنوان مدل

احتمالی برای متابولیسم لیشمانیا و ارزیابی داروهای ضد انگلی توصیف شده اند) استفاده شد (۶۶). مطالعه نشان داد که با القای ولباخیا مسیرهای دفاعی مانند Toll و Imd (ژن های مرتبط با ایمنی) در پشه خاکی تقویت می شود و همچنین ولباخیا می تواند در رقابت با انگل لیشمانیا قرار گیرد که این امر می تواند به کاهش انگل لیشمانیا کمک می کند. بنابراین شواهد نشان می دهد که کاربرد عملی ولباخیا در جمعیت های پشه خاکی هنوز وارد فاز اجرایی در مقیاس رسمی نشده است و همچنان در مرحله پژوهش و آزمایش های میدانی قرار دارد. این محققان همچنین تأکید بر مطالعات بیش تر برای ارزیابی این اثرات در پشه خاکی های زنده و شرایط طبیعی دارند. باید اشاره کرد که با وجود پتانسیل بالای ولباخیا در کنترل بیماری های منتقله، کاربرد آن در پشه خاکی ها با چالش هایی همراه است که نیاز به بررسی دقیق دارد. یکی از چالش های اصلی در به کارگیری ولباخیا، عدم سازگاری این باکتری با همه گونه های پشه خاکی است. در حالی که ولباخیا در برخی از گونه ها تأثیر مثبتی بر روی باروری و کاهش توانایی انتقال بیماری دارد، در سایر گونه ها ممکن است تأثیرات منفی ایجاد کند یا بی اثر باشد (۴۸، ۶۰). مطالعات انجام شده در ایران و برخی دیگر از مناطق جهان (جدول شماره ۱ و ۲)، نشان دهنده وجود سویه های خاص ولباخیا در گونه های پشه خاکی بوده است که ممکن است ویژگی های عملکردی متفاوتی نسبت به سویه های گزارش شده در سایر کشورها، از جمله تفاوت در سطح بار باکتری، توان انتقال عمودی، و تعامل با انگل، داشته باشند. بنابراین، انتخاب گونه مناسب برای تجویز ولباخیا ضروری است.

انتقال ولباخیا به نسل های بعدی پشه خاکی ها و پایداری آن در جمعیت های میدانی یکی دیگر از چالش ها است (۱۲). باکتری ولباخیا می تواند در برخی شرایط تحت تأثیر تنش های محیطی قرار گیرد، به ویژه در جمعیت های کوچک و ناپایدار می تواند منجر به کاهش فراوانی یا حذف تدریجی آن گردد (۸۵-۸۳).

پژوهش‌های بیش‌تری برای یافتن روش‌های بهینه‌سازی نگرانی‌ها در زمینه انتقال و پایداری‌سازی ولبافیا در جمعیت‌های پشه‌خاکی ضروری است.

چالش دیگر این که استفاده از ولبافیا در کنترل جمعیت پشه‌خاکی‌های ناقل ممکن است با نگرانی‌های زیست محیطی و اجتماعی همراه باشد. به طور خاص، تغییرات غیرقابل پیش‌بینی در اکوسیستم‌ها، اثرات بالقوه بر روی دیگر موجودات زنده و پذیرش عمومی می‌تواند یک ملاحظه کلیدی باشد (۶۴، ۸۴). هم‌چنین، انتقال افقی ولبافیا میان گونه‌های ناقل می‌تواند پیامدهای اکولوژیکی گسترده‌ای داشته باشد؛ برای مثال، ممکن است باعث ایجاد تغییرات در جمعیت‌های میکروبی بومی و در نتیجه اختلال در روابط همزیستی شود. بنابراین، انجام ارزیابی‌های زیست محیطی و اجتماعی قبل از پیاده‌سازی برنامه‌های مبتنی بر ولبافیا در سطح وسیع لازم است. علاوه بر این موارد، نبود زیرساخت‌های آزمایشگاهی، هزینه‌های بالای تولید، رهاسازی کنترل شده و برنامه‌های کنترل بیولوژیک پایدار در برخی مناطق اندمیک، اجرای میدانی این روش را دشوار می‌سازد. در نهایت، در حالی که ولبافیا می‌تواند به کاهش توانایی انتقال بیماری‌ها کمک کند، ولی هم‌چنین ممکن است بر روی پروفایل ایمنی حشره و بروز بیماری‌های جدید نیز تأثیر بگذارد (۸۶). مطالعه و بررسی این جوانب می‌تواند به درک بهتر از پیامدهای کاربرد ولبافیا در کنترل ناقلین کمک کند.

جهت‌گیری‌های آینده

با توجه به چالش‌های مطرح شده، تحقیقات بیش‌تری برای روشن‌سازی نقش ولبافیا در پشه‌های خاکی و پتانسیل آن برای کنترل لیشمانیوز مورد نیاز است. برخی حوزه‌های کلیدی پیشنهادی برای تحقیقات آینده می‌توان به مکانیسم‌های مولکولی تعاملات ولبافیا و پشه‌خاکی، تأثیر ولبافیا بر قابلیت ناقلین پشه‌خاکی و انتقال لیشمانیا، توسعه استراتژی‌های مبتنی بر

ولبافیا که با زیست‌شناسی و اکولوژی پشه‌خاکی سازگار باشد و ارزیابی زمان و مکان بهینه رهاسازی بر اساس متغیرهای محیطی، پویایی جمعیت پشه‌خاکی‌ها و الگوهای فعالیت انسانی، اشاره کرد.

بنابراین علاوه بر پیشرفت‌های فن‌آوری، لازم است محققان و سیاست‌گذاران با یکدیگر همکاری کنند تا دستورالعمل‌های اخلاقی و روشنی در جهت پذیرش عمومی و اجتماعی برای استفاده از استراتژی‌های مبتنی بر ولبافیا ایجاد کنند. مطالعات انجام شده در اندونزی و استرالیا نشان داده‌اند که آموزش عمومی، شفافیت علمی، و مشارکت جوامع محلی در روند تصمیم‌گیری، به‌طور مستقیم بر پذیرش موفق این فناوری تأثیرگذار بوده‌اند (۱۶، ۸۷). به عنوان نمونه، برنامه (World WMP (Mosquito Program با همکاری دولت اندونزی توانسته است با آموزش و مشارکت اجتماعی، انتشار ولبافیا را در بیش از ۱۲ منطقه شهری اجرایی کند که کاهش معنی‌دار موارد بیماری دانگ را به دنبال داشته است (۸۷). همان‌طور که این مداخلات گسترده تر می‌شوند، ایجاد استانداردهای جهانی برای ارزیابی ریسک، نظارت و مشارکت عمومی تضمین می‌کند که این فناوری به‌طور مسئولانه و پایدار استفاده می‌شود. مشارکت سازمان‌های بین‌المللی، مانند سازمان جهانی بهداشت (WHO)، در توسعه این چارچوب‌ها برای هماهنگ کردن تلاش‌ها در مناطق مختلف و حصول اطمینان از این که همه جوامع از پیشرفت‌های کنترلی مبتنی بر ولبافیا سود می‌برند، ضروری است. با ایجاد تعادل بین جاه طلبی علمی و مسئولیت اجتماعی، می‌توان از پتانسیل کامل ولبافیا برای ایجاد راه‌حل‌های پایدار و بلندمدت برای کنترل بیماری‌های منتقله از ناقل در دنیایی که به سرعت در حال تغییر است استفاده کرد. علاوه بر این، بررسی ترکیب ولبافیا با سایر روش‌های کنترل ناقل مانند استفاده هدفمند از حشره‌کش‌ها، اصلاح محیط زیست، و روش‌های ژنتیکی مانند تکنیک‌های عقیم‌سازی (SIT: Sterile Insect Technique) نیز

دانشی و چالش‌ها برای بهره‌برداری از پتانسیل ولباخیا در مبارزه با لیشمانیوز ضروری است.

سپاسگزاری

نویسندگان اعلام می‌کنند که مقاله حاضر، در دانشگاه علوم پزشکی مازندران به تصویب رسیده است. هم‌چنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به جهت حمایت مالی از طرح (کد: ۲۲۰۸۱) سپاسگزاریم.

موضوع مطالعات اخیر بوده و می‌تواند کارایی برنامه‌های کنترل ناقلین را، به‌ویژه در مناطق با جمعیت متنوع ناقل یا مقاوم به حشره کش افزایش دهند (۸۸، ۸۹).

ولباخیا یک راه‌حل امیدوار کننده برای کنترل جمعیت پشه خاکی‌ها و کاهش انتقال لیشمانیوز است. اگرچه پیشرفت‌های قابل توجهی در درک زیست‌شناسی و کاربردهای ولباخیا در سایر ناقلین حاصل شده است، تحقیقات در مورد نقش آن در پشه خاکی‌ها هنوز در مراحل اولیه است. رفع شکاف‌های

References

1. Shimabukuro PHF, de Andrade AJ, Galati EAB. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. *Zookeys* 2017; (660): 67-106. PMID: 28794674.
2. Vaselek S. The role of protists, nematodes and mites as natural control agents of sandfly populations. *Front Trop Dis* 2024; 5: 1369007.
3. Jancarova M, Polanska N, Volf P, Dvorak V. The role of sand flies as vectors of viruses other than phleboviruses. *J Gen Virol* 2023; 104(4): 001837. PMID: 37018120.
4. Nikookar SH, Akbari MR, Oshaghi MA, Hosseini-Vasoukolaei N, Enayati A, Motevalli-Haghi F, et al. Molecular detection of Leishmania DNA in wild-caught sand flies, *Phlebotomus* and *Sergentomyia* spp. in northern Iran. *Parasite Epidemiol Control* 2024; 27: e00395. PMID: 39691461.
5. Georgiadou SP, Makaritsis KP, Dalekos GN. Leishmaniasis revisited: current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. *J Transl Intern Med* 2015; 3(2): 43-50. PMID: 27847886.
6. Vahabi A, Rassi Y, Oshaghi M, Sayyadi M, Rafizadeh S. Detection of *Leishmania major* DNA within wild caught *Phlebotomus papatasi* and species composition of sand flies in endemic focus of cutaneous leishmaniasis, in western Iran. *J Parasit Dis* 2016; 40: 69-74. PMID: 27065601.
7. Ghavibazou L, Hosseini-Vasoukolaei N, Akhavan AA, Jahanifard E, Yazdani-Charati J, Fazeli-Dinan M. Dispersal status of cutaneous leishmaniasis in Mazandaran province, 2009-2017. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2018; 28(167): 58-70.
8. Mohammadbeigi A, Khazaei S, Heidari H, Asgarian A, Arsangiang S, Saghaipour A, et al. An investigation of the effects of environmental and ecologic factors on cutaneous leishmaniasis in the old world: a systematic review study. *Rev Environ Health* 2021; 36(1): 117-128. PMID: 32892182.
9. Jalali H, Nikookar SH, Hosseini-Vasoukolaei N, Jahanifard E, Enayati AA, Motevalli-Haghi F, et al. Ecology of sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in Jajarm County, an area with high risk of cutaneous leishmaniasis, in North Khorasan, Iran. *BMC Zool* 2022; 7(1): 14. PMID: 37170333.

10. Montenegro Quiñonez CA, Runge-Ranzinger S, Rahman KM, Horstick O. Effectiveness of vector control methods for the control of cutaneous and visceral leishmaniasis: A meta-review. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15(5): e0009309. PMID: 33983930.
11. Kassem H, Hassan A, Abdel-Hamid I, Osman G, El Khalab E, Madkour M. Wolbachia infection and the expression of cytoplasmic incompatibility in sandflies (Diptera: Psychodidae) from Egypt. *Ann Trop Med Parasitol* 2003; 97(6): 639-644. PMID: 14511562.
12. Parvizi P, Fardid F, Soleimani S. Detection of a new strain of Wolbachia pipientis in *Phlebotomus perfiliewi transcausicus*, a potential vector of visceral leishmaniasis in North West of Iran, by targeting the major surface protein gene. *J Arthropod Borne Dis* 2013; 7(1): 46-55. PMID: 23785694.
13. Rousset F, Solignac M. Evolution of single and double Wolbachia symbioses during speciation in the *Drosophila simulans* complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(14): 6389-6393. PMID: 7604001.
14. Werren JH, Baldo L, Clark ME. Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6(10): 741-751. PMID: 18794912.
15. Walker T, Johnson P, Moreira L, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu F, McMeniman C, et al. The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature* 2011; 476(7361): 450-453.
16. Ryan PA, Turley AP, Wilson G, Hurst TP, Retzki K, Brown-Kenyon J, et al. Establishment of wMel Wolbachia in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia. *Gates Open Res* 2020; 3: 1547. PMID: 31667465.
17. Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, et al. Efficacy of Wolbachia-infected mosquito deployments for the control of dengue. *N Engl J Med* 2021; 384(23): 2177-2186. PMID: 38902790.
18. Hertig M, Wolbach SB. Studies on Rickettsia-like micro-organisms in insects. *J Med Res* 1924; 44(3): 329-374. PMID: 19972605.
19. Yen JH, Barr AR. The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens*. *J Invertebr Pathol* 1973; 22(2): 242-250. PMID: 4206296.
20. Werren JH, Windsor D, Guo LR. Distribution of Wolbachia among neotropical arthropods. *Proc Biol Sci* 1995; 262(1364): 197-204.
21. 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* 2021; 29(6): 879-893. PMID: 33945798.
22. Turelli M. Evolution of incompatibility-inducing microbes and their hosts. *Evolution* 1994; 48(5): 1500-1513. PMID: 28568404.
23. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, et al. A Wolbachia symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. *Cell* 2009; 139(7): 1268-1278. PMID: 20064373.
24. Hoffmann AA, Montgomery B, Popovici J, Iturbe-Ormaetxe I, Johnson P, Muzzi F, et al. Successful establishment of Wolbachia in *Aedes* populations to suppress dengue

- transmission. *Nature* 2011; 476(7361): 454-457. PMID: 21866160.
25. Li K, Chen H, Jiang J, Li X, Xu J, Ma Y. Diversity of bacteriome associated with *Phlebotomus chinensis* (Diptera: Psychodidae) sand flies in two wild populations from China. *Scientific reports*. 2016 Nov 7;6(1):36406.
 26. Lo N, Paraskevopoulos C, Bourtzis K, O'Neill SL, Werren J, Bordenstein S, et al. Taxonomic status of the intracellular bacterium *Wolbachia pipientis*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2007; 57(3): 654-657 . PMID: 17684235.
 27. 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* 2006; 72(11): 7098-7110. PMID: 16936055.
 28. Ros VI, Fleming VM, Feil EJ, Breeuwer JA. How diverse is the genus *Wolbachia*? Multiple-gene sequencing reveals a putatively new *Wolbachia* supergroup recovered from spider mites (Acari: Tetranychidae). *Appl Environ Microbiol* 2009; 75(4): 1036-1043.
 29. Bordenstein SR, Paraskevopoulos C, Dunning Hotopp JC, Sapountzis P, Lo N, Bandi C, et al. Parasitism and mutualism in *Wolbachia*: what the phylogenomic trees can and cannot say. *Mol Biol Evol* 2009; 26(1): 231-241. PMID: 18974066.
 30. Sharma AK, Som A. Assigning new supergroups V and W to the *Wolbachia* diversity. *Bioinformation* 2023; 19(3): 336-340.
 31. Glowska E, Dragun-Damian A, Dabert M, Gerth M. New *Wolbachia* supergroups detected in quill mites (Acari: Symbiontida). *Infect Genet Evol* 2015; 30: 140-146. PMID: 25541519.
 32. Lo N, Casiraghi M, Salati E, Bazzocchi C, Bandi C. How many *Wolbachia* supergroups exist? *Mol Biol Evol* 2002; 19(3): 341-346.
 33. Rasgon JL, Scott TW. Phylogenetic characterization of *Wolbachia* symbionts infecting *Cimex lectularius* L. and *Oeciacus vicarius* Horvath (Hemiptera: Cimicidae). *J Med Entomol* 2004; 41(6): 1175-1178. PMID: 15605657.
 34. Campbell BC, Bragg TS, Turner CE. Phylogeny of symbiotic bacteria of four weevil species (Coleoptera: Curculionidae) based on analysis of 16S ribosomal DNA. *Insect Biochem Mol Biol* 1992; 22(5): 415-421.
 35. Goodacre SL, Martin OY, Thomas CG, Hewitt GM. *Wolbachia* and other endosymbiont infections in spiders. *Mol Ecol* 2006; 15(2): 517-527. PMID: 31300838.
 36. Montenegro D, Cortés-Cortés G, Balbuena-Alonso MG, Warner C, Camps M. *Wolbachia*-based emerging strategies for control of vector-transmitted disease. *Acta Trop* 2024; 260: 107410. PMID: 39349234.
 37. Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH. How many species are infected with *Wolbachia*?—a statistical analysis of current data. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 281(2): 215-220.
 38. Huigens M, De Almeida R, Boons P, Luck R, Stouthamer R. Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps. *Proc Biol Sci* 2004; 271(1538): 509-515. PMID: 15129961

39. Zug R, Hammerstein P. Still a host of hosts for Wolbachia: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PLoS One* 2012; 7(6): e38544.
40. Wu M, Sun LV, Vamathevan J, Riegler M, Deboy R, Brownlie JC, et al. Phylogenomics of the reproductive parasite Wolbachia pipientis w Mel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements. *PLoS Biol* 2004; 2(3): e69.
41. Moran NA, Wernegreen JJ. Lifestyle evolution in symbiotic bacteria: insights from genomics. *Trends Ecol Evol* 2000; 15(8): 321-326. PMID: 40965139.
42. Foster J, Ganatra M, Kamal I, Ware J, Makarova K, Ivanova N, et al. The Wolbachia genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode. *PLoS Biol* 2005; 3(4): e121. PMID: 15780005.
43. Siozios S, Ioannidis P, Klasson L, Andersson SG, Braig HR, Bourtzis K. The diversity and evolution of Wolbachia ankyrin repeat domain genes. *PLoS One* 2013; 8(2): e55390. PMID: 23390535.
44. Ono M, Braig HR, Munstermann LE, Ferro C, O'Neill SL. Wolbachia infections of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 2001; 38(2): 237-241. PMID: 37926385.
45. Zhou W, Rousset F, O'Neill S. Phylogeny and PCR-based classification of Wolbachia strains using wsp gene sequences. *Proc Biol Sci* 1998; 265(1395): 509-515. PMID: 9569669.
46. Karatepe B, Aksoy S, Karatepe M. Investigation of Wolbachia spp. and Spiroplasma spp. in *Phlebotomus* species by molecular methods. *Sci Rep* 2018; 8(1): 10616. PMID: 30006543.
47. Hughes G, Samuels S, Shaikh K, Rasgon J, Vardo-Zalik A. Discrimination of the *Plasmodium mexicanum* vectors *Lutzomyia stewarti* and *Lutzomyia vexator* by a PCR-RFLP assay and Wolbachia infection. *J Vector Ecol* 2014; 39(1): 224-227. PMID: 24820578.
48. Benlarbi M, Ready P. Host-specific Wolbachia strains in widespread populations of *Phlebotomus perniciosus* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae), and prospects for driving genes into these vectors of *Leishmania*. *Bull Entomol Res* 2003; 93(5): 383-391. PMID: 14641977.
49. Azpurua J, De La Cruz D, Valderama A, Windsor D. *Lutzomyia* sand fly diversity and rates of infection by Wolbachia and an exotic *Leishmania* species on Barro Colorado Island, Panama. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4(3): e627.
50. Pacheco M, Fernández M, Bernal I, Guillén S, Vera C. Infección natural de *Lutzomyia Cruciat* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) con Wolbachia en cafetales de Chiapas, México. *Acta zoológ mexicana*. 28(2): 401-413.
51. Matsumoto K, Izri A, Dumon H, Raoult D, Parola P. First detection of Wolbachia spp. , including a new genotype, in sand flies collected in Marseille, France. *J Med Entomol* 2014; 45(3): 466-469. PMID: 34346878.
52. Vivero RJ, Cadavid-Restrepo G, Herrera CXM, Soto SIU. Molecular detection and identification of Wolbachia in three species of the genus *Lutzomyia* on the Colombian Caribbean coast. *Parasit Vectors* 2017; 10: 147. PMID: 28241782.
53. Da Rocha N, Lambert S, DIAS- LIMA A, Julião F, Souza B. Molecular detection of

- Wolbachia pipientis* in natural populations of sandfly vectors of *Leishmania infantum* in endemic areas: first detection in *Lutzomyia longipalpis*. *Med Vet Entomol* 2018; 32(1): 111-114. PMID: 28799248.
54. Cruz LNPD, Carvalho-Costa LF, Rebêlo JMM. Molecular evidence suggests that *Wolbachia pipientis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) is widely associated with South American sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 2021; 58(6): 2186-2195. PMID: 34448004.
 55. Lozano-Sardaneta YN, Jacobo-Olvera E, Ruiz-Tovar K, Sánchez-Montes S, Rodríguez-Rojas JJ, Fernández-Figueroa EA, et al. Detection of *Wolbachia* and *Leishmania* DNA in sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) from a focus of cutaneous leishmaniasis in Tabasco, Mexico. *Parasitol Res* 2022; 121(2): 513-520. PMID: 35067743.
 56. Lozano-Sardaneta YN, Marina CF, Torres-Monzón JA, Sánchez-Cordero V, Becker I. Molecular detection of *Wolbachia* and *Bartonella* as part of the microbiome of phlebotomine sand flies from Chiapas, Mexico. *Parasitol Res* 2023; 122(6): 1293-1301. PMID: 37055642.
 57. Rodríguez-Rojas JJ, Lozano-Sardaneta YN, Fernández-Salas I, Sánchez-Casas RM, Becker I. Species diversity, barcode, detection of pathogens and blood meal pattern in Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from northeastern Mexico. *Acta Trop* 2024; 249: 107064. PMID: 37926385.
 58. Hosseini-Vasoukolaei N, Ghavibazou L, Akhavan AA, Enayati AA, Jahanifard E, Fazeli-Dinan M, et al. Bioecological study on the sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in Sari County, north of Iran. *J Arthropod Borne Dis* 2022; 16(2): 159-171.
 59. Parvizi P, Baghban N. Genetic Analysis of *Phlebotomus papatasi*, the Primary Vector of *Leishmania major*, Based on Genetic Markers and DNA Haplotype Diversity in Various Regions of Iran. *Mil Med* 2005; 7(3): 245-252.
 60. Karimian F, Vatandoost H, Rassi Y, Maleki-Ravasan N, Choubdar N, Koosha M, et al. wsp-based analysis of *Wolbachia* strains associated with *Phlebotomus papatasi* and *P. sergenti* (Diptera: Psychodidae) main cutaneous leishmaniasis vectors, introduction of a new subgroup wSerg. *Pathog Glob Health* 2018; 112(3): 152-160. PMID: 29745300.
 61. Parvizi P, Bordbar A, Najafzadeh N. Detection of *Wolbachia pipientis*, including a new strain containing the wsp gene, in two sister species of *Paraphlebotomus* sandflies, potential vectors of zoonotic cutaneous leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2013; 108(4): 414-420. PMID: 23828002.
 62. Bordbar A, Soleimani S, Fardid F, Zolfaghari M, Parvizi P. Three strains of *Wolbachia pipientis* and high rates of infection in Iranian sandfly species. *Bull Entomol Res* 2014; 104(2): 195-202. PMID: 24484966.
 63. Parvizi P, Benlarbi M, Ready P. Mitochondrial and *Wolbachia* markers for the sandfly *Phlebotomus papatasi*: little population differentiation between peridomestic sites and gerbil burrows in Isfahan province, Iran. *Med Vet Entomol* 2003; 17(4): 351-362. PMID: 14651648.
 64. Alipour H, Izadpanah L, Azizi K, Shahriari-Namadi M, Kalantari M.

- Potential co-infection of Wolbachia with Leishmania among sand fly vectors caught from endemic leishmaniasis foci in Fars province, southern Iran. *J Parasit Dis* 2021; 45: 817-822. PMID: 34475664.
65. Xi Z, Gavotte L, Xie Y, Dobson SL. Genome-wide analysis of the interaction between the endosymbiotic bacterium Wolbachia and its *Drosophila* host. *BMC Genomics* 2008; 9: 1. PMID: 30798391.
 66. da Silva Gonçalves D, Iturbe-Ormaetxe I, Martins-da-Silva A, Telleria EL, Rocha MN, Traub-Csekö YM, et al. Wolbachia introduction into *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) cell lines and its effects on immune-related gene expression and interaction with *Leishmania infantum*. *Parasit Vectors* 2019; 12: 33. PMID: 30646951.
 67. Ready PD. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annu Rev Entomol* 2013; 58: 227-250. PMID: 23317043.
 68. Peterson AT, Shaw J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *Int J Parasitol* 2003; 33(9): 919-931. PMID: 12906876.
 69. Serafim TD, Coutinho-Abreu IV, Dey R, Kissinger R, Valenzuela JG, Oliveira F, et al. Leishmaniasis: the act of transmission. *Trends Parasitol* 2021; 37(11): 976-987. PMID: 34389215.
 70. Alves EB, Figueiredo FB, Rocha MF, Castro MC, Werneck GL. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. *Prev Vet Med* 2020; 182: 105104. PMID: 33331613.
 71. Joshi AB, Das ML, Akhter S, Chowdhury R, Mondal D, Kumar V, et al. Chemical and environmental vector control as a contribution to the elimination of visceral leishmaniasis on the Indian subcontinent: cluster randomized controlled trials in Bangladesh, India and Nepal. *BMC Med* 2009; 7: 54.
 72. Austin A, John I, Francis N, Murph N, Augusta E-N, Atinuke A, et al. Impact of Indoor Residual Spray (IRS) and Insecticide Treated Nets (ITNs) for sand flies (Diptera: Psychodidae) elimination in some remote communities. *J Exp Sci* 2024; 15: 13-18.
 73. Wan N-F, Fu L, Dainese M, Kiær LP, Hu Y-Q, Xin F, et al. Pesticides have negative effects on non-target organisms. *Nat Commun* 2025; 16(1): 1360. PMID: 40946773.
 74. Balaska S, Fotakis EA, Chaskopoulou A, Vontas J. Chemical control and insecticide resistance status of sand fly vectors worldwide. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15(8): e0009586. PMID: 34383751.
 75. De Oliveira C, Gonçalves DdS, Baton LA, Shimabukuro PHF, Carvalho FD, Moreira LA. Broader prevalence of Wolbachia in insects including potential human disease vectors. *Bull Entomol Res* 2015; 105(3): 305-315. PMID: 25772521.
 76. Teixeira L, Ferreira Á, Ashburner M. The bacterial symbiont Wolbachia induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol* 2008; 6(12): e1000002. PMID: 19222304.
 77. Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN. Wolbachia and virus protection in insects. *Science* 2008; 322(5902): 702. PMID: 33584729.

78. Xi Z, Gavotte L, Xie Y, Dobson SL. Genome-wide analysis of the interaction between the endosymbiotic bacterium Wolbachia and its *Drosophila* host. *BMC Genomics* 2008; 9: 1-12. PMID: 30798391.
79. Pan X, Pike A, Joshi D, Bian G, McFadden MJ, Lu P, et al. The bacterium Wolbachia exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti*. *ISME J* 2018; 12(1): 277-288. PMID: 29099491.
80. Iturbe- Ormaetxe I, Walker T, O'Neill SL. Wolbachia and the biological control of mosquito- borne disease. *EMBO Rep* 2011; 12(6): 508-518. PMID: 41073070.
81. Mouton L, Henri H, Bouletreau M, Vavre F. Effect of temperature on Wolbachia density and impact on cytoplasmic incompatibility. *Parasitology* 2006; 132(Pt 1): 49-56. PMID: 35799282.
82. Ross PA, Turelli M, Hoffmann AA. Evolutionary ecology of Wolbachia releases for disease control. *Annu Rev Genet* 2019; 53: 93-116. PMID: 31505135.
83. Hien NT, Anh DD, Le NH, Yen NT, Phong TV, Nam VS, et al. Environmental factors influence the local establishment of Wolbachia in *Aedes aegypti* mosquitoes in two small communities in central Vietnam. *Gates Open Res* 2022; 5: 147. PMID: 35602266.
84. Branda F, Cella E, Scarpa F, Slavov SN, Bevivino A, Moretti R, et al. Wolbachia-Based Approaches to Controlling Mosquito-Borne Viral Threats: Innovations, AI Integration, and Future Directions in the Context of Climate Change. *Viruses* 2024; 16(12): 1868. PMID: 39772178.
85. Bian G, Joshi D, Dong Y, Lu P, Zhou G, Pan X, et al. Wolbachia invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection. *Science* 2013; 340(6133): 748-751. PMID: 23661760.
86. Hughes GL, Koga R, Xue P, Fukatsu T, Rasgon JL. Wolbachia infections are virulent and inhibit the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae*. *PLoS Pathog* 2011; 7(5): e1002043. PMID: 21625582.
87. Anders KL, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Andari B, et al. The AWED trial (Applying Wolbachia to Eliminate Dengue) to assess the efficacy of Wolbachia-infected mosquito deployments to reduce dengue incidence in Yogyakarta, Indonesia: study protocol for a cluster randomised controlled trial. *Trials* 2018; 19: 302. PMID: 29855331.
88. Bourtzis K, Dobson SL, Xi Z, Rasgon JL, Calvitti M, Moreira LA, et al. Harnessing mosquito-Wolbachia symbiosis for vector and disease control. *Acta Trop* 2014; 132: 16. PMID: 24252486.
89. Fazeli DM, Nikookar SH, Azarnoosh M, Jafari A, Daneshpour E, Enayati A, et al. An Overview of Different Control Methods of Invasive *Aedes Aegypti* and *Aedes Albopictus*. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2024. 34 (232) : 260-286.