Journal of Research in Environmental Health

Volume 8, Issue 4, Winter 2023

Study on Ultrasonic Waves on Mortality of *Culex pipiens*, Vector of West Nile in laboratory condition

Majid Kababian
MSc. in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Alireza Zahraei-Ramazani
* Associate Professor in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. **(Corresponding Author):** Alireza Zahraei-Ramazani- alirezazahraei@yahoo.com , azahraei@tums.ac.ir
Hassan Vatandoost
Professor in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Moose-Kazemi SH
Professor in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Saideh Yousefi
Assistant Professor in Medical entomology and vector control. Department of Public Health, Sirjan Faculty of Medical Sciences, Sirjan, Iran.
Mozhgan Baniardalani
Lecturer in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Amir hossein Mahvi
Associate Professor in Environmental Health Engineering. Department of Environmental Health, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Amrollah Azarm
PhD student in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Soudebeh Hamedi Shahraki
Assistant Professor in Biostatistics. Department of Public Health, Faculty of Health, Zabul University of Medical Sciences, Sistan and Baluchistan, Iran.
Shahrokh Izadi
Assistant Professor in Medical Parasitology and Mycology. Department of Parasitology and Medical Mycology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Hamed Zahraei-Ramazani
Master's student in Thermal and Fluid Engineering. Department of Thermal and Fluid Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
Zahra Hajivand
MSc. in Medical Entomology and Vector Control. Department of Biology and Vector Control of Diseases, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received:2022/07/23
Accepted: 2022/10/02

Document Type: Research article

ABSTRACT

Background and purpose: Mosquito-borne diseases are serious health problems in many countries around the world, and the widespread distribution of their vectors has a major impact on the transmission and spread of these diseases. Mosquitoes play a key role in transmitting arboviruses such as West Nile, Dengue Fever, Chikungunya, Sindbis, Zika, Rift Valley Fever, Batai virus, Usutu virus, East Horse Encephalitis (EEE), and West Nile Virus (WNV), and also some suspected emerging viral agents, such as SARS-CoV-2 (causative agent of COVID-19) and the Zika virus in the world. There are several methods for mosquito larval control. An important challenge in mosquitoes control programs is their resistance to different groups of insecticides. The ultrasonic device is a novel and naturally friendly approach for controlling insecticide resistance mosquitoes.

Materials and methods: In this study, Ultrasonic TI-H5 device of Elma Company were used against 4th instar larvae of *Culex pipiens* under laboratory condition. Different variables including; Electrical power (50,100,200, 250 watts), and exposure times (1, 2.5, 5, 10, 15 minutes) at two frequencies of 35, and 130 Kilohertz were employed.

Results: Mortality of 4th instar larvae at 35 KHz and different exposure times with specific Electronic power was 100%. In 130 KHz with increasing exposure time, the mortality was increased.

Conclusion: Insecticides are one of the causes of environmental and water pollution. Also, due to the resistance of mosquitoes to insecticides, the new safe, cost-effective and effective method in integrated pest management programs is the control of mosquito larvae using ultrasonic waves.

Keywords: Arboviruses, Control, *Culex pipiens*, Mortality, Ultrasonic waves.

▶ **Citation:** Kababian M, Zahraei-Ramazani A, Vatandoost H, Moose-Kazemi SH, Yousefi S, Baniardalani M, Mahvi AH, Azarm AR, Hamedi-Shahraki S, Izadi S, Zahraei-Ramazani H, Hajivand Z. Study on Ultrasonic Waves on Mortality of *Culex pipiens*, Vector of West Nile in laboratory condition. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Winter 2023; 8(4): 431-440.

بررسی اثر امواج اولتراسونیک بر روی مرگ‌ومیر *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) ناقل بیماری West Nile در شرایط آزمایشگاهی

مجید کبابیان
مجید کبابیان: کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
علیرضا زهرایی رمضانی
* علیرضا زهرایی رمضانی: دانشیار حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. **(نویسنده مسئول)**:
azahraei@tums.ac.ir , alirezazahraei@yahoo.com
حسن وطن‌دوست
حسن وطن دوست: استاد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
سید حسن موسی کاظمی
سید حسن موسی کاظمی: استاد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
سعیده یوسفی
سعیده یوسفی: استادیار حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بهداشت عمومی،دانشکده علوم پزشکی سیرجان، سیرجان، ایران.
مژگان بنی اردلانی
مژگان بنی اردلانی: مربی حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
امیر حسین محوی
امیر حسین محوی: دانشیار مهندسی بهداشت محیط. گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
آزرم امراله
امراله آذرم: دانشجوی دکترا حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
سودابه حامدی شهرکی
سودابه حامدی شهرکی: استادیار آمار زیستی. گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زابل، سیستان و بلوچستان، ایران.
شاهرخ ایزدی
شاهرخ ایزدی: استادیار انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی. گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
حامد زهرایی رمضانی
حامد زهرایی رمضانی: دانشجوی کارشناسی ارشد مکانیک سیالات. گروه مهندسی حرارت و سیالات، دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
زهرا حاجیوند
زهرا حاجیوند: کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین. گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰
نوع مقاله: پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: پشه ها نقش اساسی در انتقال آربوویروس هایی مانند تب زرد، تب دانگ، چیکن گونیا، سیندبیس، زیکا،تب دره ریف، باتایی ویروس، اوسوتو ویروس، آنسفالیت اسبی شرقی و ویروس نیل غربی دارند. همچنین آنها مظنون به انتقال عوامل بیماری‌های نوپدیدی مانند ویروس زیکا و SARS-CoV-2 (عامل بیماری COVID-19) در جهان می باشند. یک چالش مهم در برنامه های کنترل پشه‌ها، مقاومت آنها در برابر گروه های مختلف حشره‌کش ها است. استفاده از امواج اولتراسونیک یک روش جدید و دوستدار طبیعت برای کنترل پشه های مقاوم به حشره‌کش‌ها می باشد.
مواد و روش‌ها: در این مطالعه از دستگاه اولتراسونیک TI-H5 شرکت الما و لاروهای سن ۴ پشه *کولکس پیپینس* در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد. متغیرهای مختلف از جمله توان برق مصرفی دستگاه (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ وات)،زمان قرار گرفتن در معرض (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) و دو فرکانس ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز استفاده شد.
یافته‌ها: میزان مرگ‌ومیر لاروهای سن چهارم *کولکس پیپینس* در فرکانس ۳۵ کیلوهرتز در زمان ها و توان های مشخص، حدود ۱۰۰٪ و در فرکانس ۱۳۰ کیلوهرتز با افزایش زمان و توان امواج، این میزان افزایش یافت.
نتیجه‌گیری: یکی از عوامل آلوده‌ساز محیط زیست و آب‌ها، حشره‌کش ها هستند. با توجه به مقاومت پشه ها در برابر حشره‌کش‌ها، روش جدید، سالم، مقرون به‌صرفه و مؤثر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی ناقلین، کنترل لارو پشه ها با استفاده از امواج معین اولتراسونیک در این تحقیق می باشد.

کلید واژه‌ها: آربوویروس، کنترل، *کولکس پیپینس*، مرگ‌ومیر ، امواج التراسونیک.

◀ **استناد:** کبابیان م، زهرایی رمضانی رع، وطن‌دوست ح، موسی کاظمی س ح، یوسفی س، بنی اردلانی م، محوی ا ح، آذرم ا، حامدی شهرکی س، ایزدی ش، زهرایی رمضانی ح، حاجیوند ز. بررسی اثر امواج اولتراسونیک بر روی مرگ‌ومیر *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae)ناقل بیماری West Nile در شرایط آزمایشگاهی. *فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط*. زمستان ۱۴۰۱؛۸(۴): ۴۳۱-۴۴۰.

مقدمه

بر اساس آخرین طبقه‌بندی، پشه‌ها[1] شامل ۳ زیرخانواده، ۱۱ قبیله، ۱۱۳ جنس و ۳۵۶۳ گونه و زیرگونه می‌باشند (۱) و شامل ناقلین برخی بیماری‌های ژئونوز و غیرژئونوز بوده و مرگ‌ومیر سالانه ناشی از این بیماری‌ها در مقایسه با سایر بیماری‌های ناقل‌زاد در دنیا، فوق‌العاده چشم‌گیر می‌باشند (۲، ۳).

بیماری‌های منتقله توسط پشه‌ها از مشکلات جدی بهداشتی در بسیاری از کشورهای جهان است و توزیع گسترده ناقلین آنها تأثیر زیادی در انتقال و شیوع این بیماری‌ها دارد. پشه‌ها نقش اساسی در انتقال آربوویروس‌هایی مانند عامل تب زرد[2]، نیل غربی[3]، تب دانگ[4]، چیکن گونیا[5]، سیندبیس[6]، زیکا[7]، تب دره ریف[8]، باتایی ویروس[9]، اوسوتو ویروس[10] و آنسفالیت اسبی شرقی[11] دارند. همچنین آنها مظنون به انتقال عوامل بیماری‌های نوپدیدی مانند زیکا و بیماری کووید-۱۹ در جهان می‌باشند (۷-۴).

یکی از عوامل مهم، ویروس نیل غربی (WNV) است. این ویروس از جنس فلاوی ویروس است و به مجموعه آنتی‌ژنی آنسفالیت ژاپنی از خانواده Flaviviridae تعلق دارد. این ویروس می‌تواند باعث بیماری عصبی و مرگ در افراد شود. WNV معمولاً در آفریقا، اروپا، خاورمیانه، آمریکای شمالی و غرب آسیا یافت می‌شود. این ویروس در طبیعت در چرخه‌ای شامل پرندگان و پشه‌ها نگهداری می‌شود. انسان، اسب و سایر پستانداران ممکن است آلوده شوند. واکسن‌ها برای استفاده در اسب‌ها در دسترس هستند، اما هنوز برای مردم در دسترس نمی باشند (۸).

پشه *کولکس پیپینس*[12] یکی از گونه‌های مهم در زیرخانواده کولیسینی بوده که بیشترین وفور را در بین سایر گونه‌های موجود در این زیرخانواده دارد (۹). پشه *کولکس پیپینس* دارای چند بیوتیپ مختلف است که دو بیوتیپ مهم از این گونه، *کولکس پیپینس* پیپینس و *کولکس پیپینس* مولستوس می‌باشد. هر بیوتیپ قادر به خونخواری از یک دامنه خاصی از میزبانان می‌باشد؛ برای مثال پرندگان، میزبانان ترجیحی برای خونخواری گونه *کولکس پیپینس* می‌باشند (۱۰). کشور ایران با داشتن شرایط اکولوژیک، آب‌وهوای مناسب و همچنین قرار گرفتن در سه منطقه زئوجغرافیایی؛ پاله آرکتیک، نئارکتیک و اورینتال شرایط مناسبی جهت رشد و تکثیر لارو و بالغ *کولکس پیپینس* فراهم کرده است. دو بیوتیپ *کولکس پیپینس* و *کولکس پیپینس* مولستوس از این گونه در اکثر نواحی ایران با وفور بالا صید می گردند (۱۱-۲۰). دارا بودن خصوصیات اکولوژیک و فیزیولوژیک متفاوت باعث شده که این گونه در صف اول کنترل، بعد از ناقلین مالاریا قرار گیرد (۲۱).

امروزه روش‌های عمده کنترل جنس کولکس وابسته به ترکیبات شیمیایی است که بر علیه مراحل بالغ و یا لارو به کار می‌روند. استفاده از این ترکیبات اگرچه در ابتدا باعث کنترل مؤثر این گونه می‌شود، ولی در نهایت باعث ایجاد مقاومت در برابر ترکیبات شیمیایی، تأثیر نامطلوب بر گونه‌های غیرهدف و آلودگی محیط زیست می گردد (۲۲، ۲۳). یکی از کم‌خطرترین و در عین حال مؤثرترین روش‌های کنترل ناقلین از جمله پشه‌های کولکس، استفاده از روش‌های کنترل فیزیکی است. استفاده از امواج اولتراسونیک، یک روش فیزیکی کم‌خطر، مقرون به‌صرفه و مؤثر در کنترل لارو پشه‌هاست. این امواج که برای انتشار آن‌ها نیاز به محیط مادی می‌باشد، توسط ارتعاش‌های طولی با فرکانس بالاتر از ۲۰۰۰۰ دور بر ثانیه ایجاد می‌شوند (۲۴، ۲۵). امواج اولتراسونیک برحسب کاربرد به دو نوع اولتراسوند فرکانس بالا (۱۰-۲ مگاهرتز) و اولتراسوند فرکانس پایین (۵۰۰-۲۰ کیلوهرتز) تقسیم می‌شوند (۲۴، ۲۶). این تکنیک علاوه بر کنترل

1. Diptera: Culicidae
2. Yellow Fever Virus (YFV)
3. West Nile Virus (WNV)
4. Dengue Fever Virus (DFV)
5. Chikungunya Virus
6. Sindbis Virus (SINV)
7. Zika
8. Rift Valley Fever (RVF)
9. Batai Virus (BATV)
10. Usutu Virus (USUV)
11. Eastern Equine Encephalitis Virus (EEEV)
12. *Culex pipiens*

12. *Cx. pipiens molestus*

لارو پشه‌ها، کارایی بالایی در تجزیه مواد آلی و آلاینده‌های شیمیایی موجود در آب‌ها را نیز دارد (۲۷).

نتایج مطالعه بریچ و همکاران (۲۸) که توانایی اثر دستگاه لاروکش صوتی[1] را در طیف وسیعی از فرکانس‌ها بر روی لارو آئدس اجیبتی[2] بررسی کردند، نشان داد که امواج در فرکانس‌های متفاوت، باعث به تأخیر افتادن و ممانعت از رشد سنین مختلف لاروی و مرگ‌ومیر لاروها می‌گردد (۲۸). در مطالعه نایبرگ، دستگاه‌های لاروکش صوتی بر روی مراحل لاروی پشه‌ها در آب مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه مذکور امواجی با فرکانس ۳۰-۱۸ کیلوهرتز در محیط‌های آبی مختلف مانند فاضلاب‌ها، استخرها، برکه‌ها، مرداب‌ها و تالاب‌ها ایجاد گردید که این امواج باعث تخریب دیواره پشتی تراشه‌های لارو پشه‌ها، پر شدن قفسه سینه از هوا، آسیب شدید به اندام‌ها و نقص عمده در اسکلت خارجی لاروها گردید (۲۹). سیستانی‌زاده اقدم و همکاران میزان مرگ‌ومیر *کولکس پیپینس* در فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و زمان‌های ۳-۱ دقیقه را ۱۰۰٪ گزارش کردند. همچنین آنها با ثابت نگهداشتن فرکانس ۱۳۰ کیلوهرتز و تغییر وات از ۱۰ تا ۲۵، میزان مرگ‌ومیر ۹۱-۸۵ ٪ را مشاهده نمودند (۳۰).

استفاده از امواج صوتی می‌تواند به‌عنوان یکی از روش‌های سالم، مقرون به‌صرفه و مؤثر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی ناقلین به‌منظور کنترل لارو پشه‌ها در آب‌های آشامیدنی و ذخیره شده در حوضچه‌ها، آب‌های مانده در برکه‌ها، زمین‌های کشاورزی و آب‌های راکد بعد از بارندگی در مناطق فعالیت پشه‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

لذا با توجه به اهمیت استفاده از روش‌های سالم، مقرون به‌صرفه و مؤثر در برنامه‌های مبارزه با ناقلین بیماری‌ها، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر امواج اولتراسونیک نوع مخزنی، بر علیه لاروهای پشه *کولکس پیپینس* در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت تا در صورت موفقیت‌آمیز بودن این روش در آزمایشگاه، در آینده بتوان در گام بعدی مطالعات را در محیط صحرایی نیز ادامه داد.

1. SD-Mini (Larvisonic SD)
2. *Aedes aegypti*

روش کار

این مطالعه تجربی- مداخله‌ای و کاربردی در آزمایشگاه پرورش کولیسیده‌ها در گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماریها و آزمایشگاه گروه بهداشت محیط دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۹۶،انجام گرفت. به‌منظور بررسی امواج اولتراسونیک در مرگ‌ومیر لاروهای سن چهارم *کولکس پیپینس*، از دستگاه اولتراسونیک شرکت الما[3] در شرایط آزمایشگاه استفاده گردید.

پرورش *کولکس پیپینس*:

برای اجرا و تهیه لارو از پشه‌های *Culex pipiens* که از سالیان پیش در انسکتاریوم دانشکده بهداشت کلونیزه شده‌اند، استفاده شد. پرورش پشه‌ها در محیط انسکتاریوم و با شرایط دمایی ۲۵±۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰-۶۰ ٪ و نوردهی ۱۲:۱۲ ساعت (تاریکی: روشنایی) انجام شد. برای تغذیه پشه‌های بالغ، از آب قند ۱۰٪ و برای خونخواری جنس ماده از جوجه ماکیان استفاده شد. پرورش لاروها در ظروف پرورش لاروی، حاوی آب دکلره انجام گردید و جهت تغذیه لارو پشه‌ها، از غذای ماهی استفاده شد (۳۱).

مواجهه لاروها با امواج اولتراسونیک:

تست‌ها در دو گروه تیمار و شاهد و در ظروف آزمایش حاوی ۲۵۰ سی‌سی آب دکلره انجام شد. هر گروه شامل ۳ تکرار و برای هر تکرار تعداد ۲۰ عدد لارو سن ۴ در نظر گرفته شد. گروه تیمار تحت تماس با امواج اولتراسونیک در توان‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ وات، فرکانس‌های ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز و زمان‌های ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. برای گروه کنترل، لاروها بدون تماس با امواج اولتراسونیک در ظروف آزمایش یکسان قرار گرفتند و تمام آزمایشات در شرایط دمایی آزمایشگاه انجام شد. ۲۴ ساعت پس از مواجهه لاروها با امواج اولتراسونیک، نتایج ثبت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS، ورژن ۲۰ و نرم‌افزار اکسل انجام گرفت.

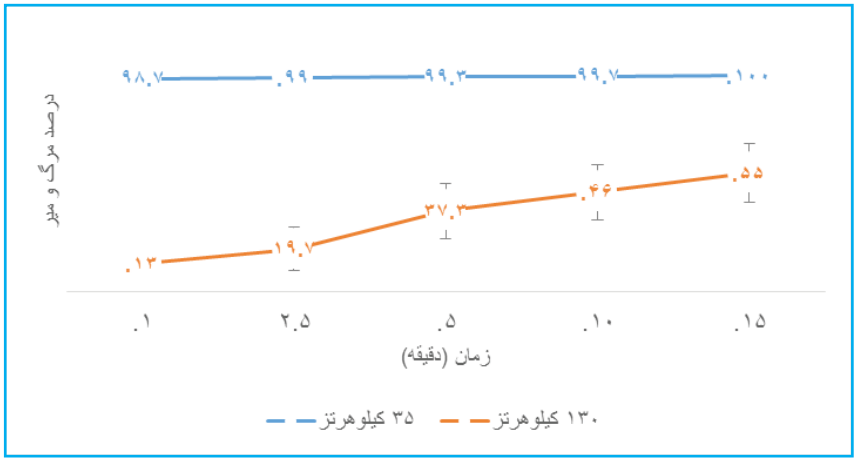
3. Elma

نتایج

نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌ها برحسب متغیر زمان (۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) در فرکانس‌های ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز به تفکیک توان‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ وات در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌گردد، فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و زمان ۱ دقیقه موجب مرگ حدود ۹۳٪ لاروها شده بود و افزایش زمان مواجهه تا ۱۵ دقیقه، باعث مرگ تمام لاروهای مورد آزمایش گردید. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و با افزایش توان به بیش از ۵۰ وات (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ وات) در کمترین زمان (۱ دقیقه) مواجهه، موجب مرگ‌ومیر ۱۰۰٪ لاروها شده بود، لذا در این فرکانس، زمان مواجهه تأثیری در نتیجه آزمایش نداشت. علاوه بر این نتایج حاصل از آزمایش‌ها در فرکانس ۱۳۰ کیلوهرتز و در هر یک از توان‌ها، نشان داد که با افزایش زمان مواجهه، درصد مرگ‌ومیر لاروها افزایش یافته بود که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$). همچنین با افزایش زمان، درصد لاروهای کشته شده افزایش یافته بود ($p<0/001$) (نمودار ۱).

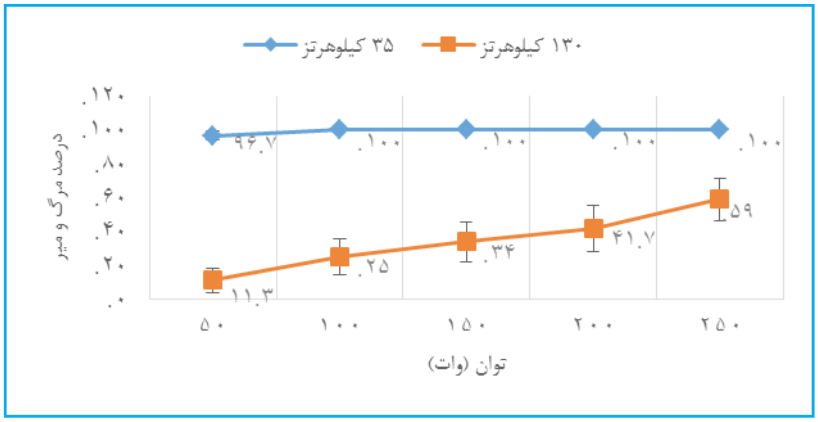
جدول ۱. میانگین و انحراف معیار درصد مرگ‌ومیر لاروهای سن ۴ *کولکس پیپینس* (*Culex pipiens*) در برابر امواج اولتراسونیک به تفکیک توان، بسامد و زمان مواجهه

توان (وات)	بسامد (کیلوهرتز)	زمان (دقیقه)					سطح معنی‌داری
		۱	۲/۵	۵	۱۰	۱۵	
۵۰	۳۵	۹۳/۳ ± ۵/۸	۹۵/۰ ± ۵/۰	۹۶/۷ ± ۵/۸	۹۸/۳ ± ۲/۹	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۰/۰۶۹
	۱۳۰	۰/۰ ± ۰/۰	۳/۳ ± ۵/۸	۸/۳ ± ۷/۶	۱۸/۳ ± ۱۰/۴	۲۶/۷ ± ۱۲/۶	۰/۰۰۱
۱۰۰	۳۵	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	--
	۱۳۰	۸/۳ ± ۷/۶	۱۰/۰ ± ۱۰/۰	۳۱/۷ ± ۱۶/۱	۳۳/۳ ± ۱۲/۶	۴۱/۷ ± ۲۰/۸	۰/۰۰۶
۱۵۰	۳۵	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	--
	۱۳۰	۱۳/۳ ± ۷/۶	۱۶/۷ ± ۱۰/۴	۴۰/۰ ± ۱۸/۰	۴۵/۰ ± ۱۳/۲	۵۵/۰ ± ۱۵/۰	۰/۰۰۱
۲۰۰	۳۵	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	--
	۱۳۰	۱۵/۰ ± ۱۰/۰	۲۰/۰ ± ۵/۰	۴۱/۷ ± ۱۰/۴	۶۰/۰ ± ۱۰/۰	۷۱/۷ ± ۷/۶	<۰/۰۰۱
۲۵۰	۳۵	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	۱۰۰/۰ ± ۰/۰	--
	۱۳۰	۲۸/۳ ± ۱۴/۴	۴۸/۳ ± ۱۰/۴	۶۵/۰ ± ۱۰/۰	۷۳/۳ ± ۱۰/۴	۸۰/۰ ± ۱۵/۰	<۰/۰۰۱



نمودار ۱. میانگین درصد مرگ‌ومیر لاروهای سن ۴ *کولکس پیپینس* در زمان‌های مختلف به تفکیک فرکانس‌های ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز

علاوه بر این و با تجزیه و تحلیل داده‌ها بر حسب توان و رسم نمودار، مشخص گردید که با افزایش توان، درصد مرگ‌ومیر لاروها افزایش یافته بود ($p<0/001$) (نمودار ۲). همچنین این نمودار نشان‌دهنده درصد مرگ‌ومیر لاروها در فرکانس ۳۵ کیلوهرتز بود که در تمامی زمان‌ها تقریباً ۱۰۰٪ بود.



نمودار ۲. میانگین درصد مرگ‌ومیر لاروهای سن ۴ *کولکس پیپینس* در توان‌های مختلف به تفکیک فرکانس‌های ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز

بحث

پشه‌ها، از کشنده‌ترین موجودات زنده در جهان هستند. پشه *کولکس پیپینس*، یکی از مهم‌ترین ناقلین بیماری‌های آربوویروسی، باکتریایی و نماتدی در سراسر دنیا است (۳۲، ۳۳). امروزه علی‌رغم عدم وجود ویرمی قابل تشخیص، انجام آزمایشاتی برای تعیین نقش احتمالی این پشه‌ها در انتقال SARS-CoV-2 عامل بیماری نوظهور کووید-۱۹ ضروری است، زیرا آزمایشات قبلی نشان داده‌اند که پشه‌ها در معرض ویروس نیز ممکن است به ویروس آلوده شوند (۳۴). گزارشات محققین از پراکندگی جهانی و تنوع گونه‌ای پشه *کولکس پیپینس* از سراسر اروپا، آسیا، آمریکا، آفریقا و استرالیا حکایت می کند (۳۵).

امروزه از سموم و ترکیبات مختلف شیمیایی جهت کنترل این گونه استفاده می گردد، ولی متأسفانه بروز مقاومت‌های متقاطع در برابر این ترکیبات باعث شده است که تلاش‌ها جهت کنترل این گونه در نقاط مختلف جهان چندان موفقیت‌آمیز نباشد (۳۶، ۳۷).

استفاده از امواج اولتراسونیک برای اولین بار در دهه ۱۹۲۹ جهت تخریب میکروارگانیسم‌ها مطرح گردید. طی مطالعات کاربردی برای کاهش میزان *باسیلوس فیشری* در آب دریا از بسامد ۳۷۵ کیلوهرتز در دمای ۱۹ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. در دهه‌های اخیر از این امواج برای مصارف پزشکی، اکتشافات زمین‌شناسی و حذف آفت‌کش‌های درون آب استفاده می‌شود. امروزه به‌دلیل طبیعت دوستی و عدم به‌جا گذاشتن اثرات مخرب در طبیعت و بدن انسان، استفاده از این امواج در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و حذف آلاینده‌ها، رو به گسترش است(۲۶و۲۸و۲۹)

همچنین در سراسر جهان، مطالعات مختلفی برای مقایسه اثرات امواج اولتراسونیک بر روی مراحل تکاملی حشرات گوناگون انجام گرفته است. در دانشگاه ایالتی لوئیزیانا، تحقیقاتی در رابطه با تأثیر امواج اولتراسوند بر روی سوسری‌های آلمانی با استفاده از چند دستگاه دور کننده در شرایط متفاوت آزمایشگاهی و محیط زیستی غیرآبی انجام شده و نتایج حاکی از عدم تأثیر دورکنندگی کافی این دستگاه‌ها بر روی سوسری آلمانی در آن شرایط بود (۳۹). همچنین چندین دستگاه تجاری اولتراسونیک در شرایط آزمایشگاهی علیه بالغ پشه‌های *آنوفل کوادری ماکولاتوس*[1] و

1. *Anophele Quadrimaculatus*

آنوفل گامبیه[1] مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند که تأثیری بر دورکنندگی آن‌ها نداشته است.

تاکنون مطالعات محدودی بر روی لارو پشه هادر جهان انجام شده است. نتایج حاصل از این تحقیقات نشان داد که امواج اولتراسونیک به‌عنوان یک روش فیزیکی بی‌خطر، قادر به کاهش مراحل نابالغ و لاروی پشه‌ها می‌باشند.

نحوه تأثیر امواج صوتی بر روی لارو پشه‌ها به‌صورتی است که هوا انرژی صوتی را جذب می‌کند و در نتیجه لرزش منجر به پارگی غشای بدنی در لاروها و مرگ‌ومیر آنها می‌شود (۴۰).

طبق آزمایشات انجام شده توسط احمد (۹) کاهش بیش از محدوده فرکانس مؤثر بر لاروکشی دستگاه، موجب می‌شود که اثر کشندگی امواج کاهش یابد و در نتیجه دستگاه خاصیت لاروکشی نداشته باشد. همچنین این آزمایش‌ها در فرکانس بین ۲-۵ کیلوهرتز نیز انجام شده است. به‌طور کلی، هرچه از محدوده لاروکشی دور شود، خاصیت کشندگی کمتر خواهد شد (۳۱و۲۹).

بریچ و همکاران اثر دستگاه لاروکش صوتی در لاروکشی پشه آئدس اجیبتی در زمان‌های ۶۰-۱ ثانیه را مورد بررسی قرار دادند که با افزایش زمان، تأثیر امواج بر لاروها، باعث عقب افتادگی در رشد اعضای بدن لاروها گردید (۲۸). در مطالعه نایبرگ که بر روی مراحل لاروی پشه‌ها انجام شد، خروجی امواج از دستگاه اولتراسوند در محدوده ۳۰-۱۸ کیلوهرتز، باعث تخریب دیواره‌های پشتی تراشه‌ها و در نهایت باعث مرگ لاروها گردید (۲۹). همچنین سیستانی‌زاده اقدم و همکاران، میزان مرگ‌ومیر *کولکس پیپینس* در فرکانس ۳۵ کیلوهرتز و زمان‌های ۳-۱ دقیقه را ۱۰۰٪ گزارش کردند. ایشان با ثابت نگهداشتن فرکانس ۱۳۰ کیلوهرتز و تغییر وات از ۱۰ تا ۲۵، میزان مرگ‌ومیر ۹۱-۸۵٪ را مشاهده نمودند (۳۰).

در مطالعه حاضر اثرات امواج اولتراسوند به‌عنوان عامل فیزیکی اثرگذار بر مراحل لاروی *کولکس پیپینس* مورد بررسی قرار گرفت. در پژوهش حاضر فرکانس ۳۵ کیلوهرتز در زمان‌ها و توان‌های تعیین شده علیه لاروهای سن چهارم *کولکس پیپینس*، تقریبا موجب مرگ ۱۰۰٪ لاروها شد. با تغییر فرکانس به ۱۳۰ کیلوهرتز، در همان زمان و توان‌ها، مرگ‌ومیر لاروها کمتر شد؛ به‌طوری‌که از ۹۳/۳٪ در زمان مواجهه (۱ دقیقه، توان ۵۰ وات) به صفر رسید و با افزایش زمان و توان (۱۵ دقیقه، ۲۵۰ وات)، مرگ‌ومیر افزایش یافت و به حدود ۸۰٪ رسید. این نتایج نشان می‌دهد دستگاه اولتراسوند با توان ۵۰ وات و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز طی زمان مواجهه ۱ دقیقه، بیش از ۹۰٪ لاروهای *کولکس پیپینس* را از محیط آبی حذف کرده و در صورت نیاز به کنترل با درصد بالاتر می‌توان زمان مواجهه را تا ۱۵ دقیقه افزایش داد.

با توجه به این‌که تغییر فرکانس در دو اندازه ۳۵ و ۱۳۰ کیلوهرتز باعث افزایش میزان مرگ‌ومیر لاروها شده است، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش فرکانس، مرگ‌ومیر لاروها کاهش می‌یابد.

نتایج این تحقیقات همانند پژوهش حاضر، نشان می‌دهد که افزایش زمان تماس لاروها با امواج اولتراسوند در محدوده ۳۵ کیلوهرتز، باعث اختلال در روند تکاملی و هم‌چنین مرگ‌ومیر لاروها می‌شود. میزان تماس لاروها در زمان‌های ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با میزان امواج، باعث افزایش مرگ آنها تا ۱۰۰٪ می‌گردد.

نتیجه‌گیری

استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی برای مبارزه با لارو پشه‌ها در محیط‌های آبی می‌تواند باعث آلودگی آب‌ها و تخریب محیط زیست گردد. اگرچه استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک روش مؤثری به‌منظور کاهش جمعیت ناقلین می‌باشد اما استفاده از این روش‌ها نیاز به شناسایی و پرورش عوامل مبارزه بیولوژیک مؤثر و سالم و همچنین پذیرش این روش‌ها توسط مردم دارد و از طرفی این عوامل را نمی‌توان در همه زیستگاه‌های لاروی مورد استفاده قرار داد. امروزه روش‌های فیزیکی می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای کنترل ناقلین باشند، لذا استفاده از امواج اولتراسونیک به‌عنوان یک روش مبارزه فیزیکی و غیرشیمیایی، جایگزین مناسبی برای استفاده بی‌رویه از لاروکش‌های شیمیایی و نیزدشمنان طبیعی

1. *Anopheles Gambiae*

در مبارزه با لارو پشه‌ها است که با تعیین زمان، فرکانس و توان مناسب کارایی مؤثری در مبارزه با لارو پشه‌های کولکس دارد. نتایج حاصل از این تحقیق در آینده می‌تواند در ساخت دستگاه‌های تولید کننده امواج اولتراسونیک با طراحی پروب‌های قابل حمل دستی و نیز طراحی پروب‌هایی در داخل ربات‌های کوچک جارو کننده سطح آب، ژیت‌های لاروی در کنترل پشه‌های آزاردهنده و ناقل انواع بیماری‌های زئونوز و غیرزئونوز در اطراف شهرها واماکن عمومی و نیز اماکن شخصی به‌طور مؤثر استفاده شود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند. همچنین هرگونه تضاد منافع حقیقی یا مادی که ممکن است بر نتایج یا تفسیر مقاله تأثیر بگذارد را رد می‌کنند.

تشکر و قدردانی

ای مطالعه با شماره کد اخلاق IR.TUMS.SPH. REC.1398.075 توسط دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران (کد طرح: ۹۸-۰۱-۲۷-۴۰۱۴۸) مورد حمایت مالی قرار گرفت. بدین‌وسیله از هم‌فکری و حمایت علمی و معنوی مدیر محترم و تمام همکاران عزیز گروه بیولوژی و کنترل ناقلین بیماری‌های دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تشکر و قدردانی می‌شود.

Reference

1. Moin-Vaziri V, Charrel RN, Badakhshan M, de Lamballerie X, Rahbarian N, Bavani MM, Azari-Hamidian S. A Molecular Screening of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) for Flaviviruses in a Focus of West Nile Virus Infection in Northern Iran. Journal of arthropod-borne diseases. 2019 Dec; 13(4)391.
2. Service MW. Mosquitoes (Culicidae). Medical insects and arachnids. 1993:120-240.
3. Weaver SC, Charlier C, Vasilakis N, Lecuit M. Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. Annual review of medicine. 2018 Jan 29; 69:395-408.
4. Huang YJ, Vanlandingham DL, Bilyeu AN, Sharp HM, Hettenbach SM, Higgs S. SARS-CoV-2 and mosquitoes: an extreme challenge.
5. Sandrock C, Aziz SR. Travel/Tropical Medicine and Pandemic Considerations for the Global Surgeon. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics. 2020 Aug 1; 32(3):407-25.
6. Huang YJ, Vanlandingham DL, Bilyeu AN, Sharp HM, Hettenbach SM, Higgs S. SARS-CoV-2 failure to infect or replicate in mosquitoes: an extreme challenge. Scientific reports. 2020 Jul17; 10(1):1-4.
7. Scheuch DE, Schäfer M, Eiden M, Heym EC, Ziegler U, Walther D, Schmidt-Chanasit J, Keller M, Groschup MH, Kampen H. Detection of Usutu, Sindbis, and Batai viruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in Germany, 2011–2016. Viruses. 2018 Jul;10(7):389.
8. W.H.O. 2017; Available at: URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus. Accessed 3 October 2017.
9. Ahmed MA, Cornel A, Hammock B. Monitoring of insecticide resistance of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) colonies-collected from California. International Journal of Environmental Science and Development. 2012 Aug 1; 3(4):346.
10. Michaelakis A, Papachristos DP, Rumbos CI, Benelli G, Athanassiou CG. Larvicidal activity of spinosad and its impact on oviposition preferences of the West Nile vector *Culex pipiens* biotype molestus–A comparison with a chitin synthesis inhibitor. Parasitology international. 2020 Feb1; 74:1101917.
11. Rudolf M, Czajka C, Börstler J, Melaun C, Jöst H, von Thien H, Badusche M, Becker N, Schmidt-Chanasit J, Krüger A, Tannich E. First nationwide surveillance of *Culex pipiens* complex and Culex torrentium mosquitoes demonstrated the presence of *Culex pipiens* biotype pipiens/molestus hybrids in Germany. PloS one. 2013 Sep 11; 8(9):e71832.
12. Omrani SM, Azari-Hamidian S, Pour-Shahbazi G, Taghipour S. Fauna and the distribution of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Chahar Mahal and Bakhtiari province, 2011-2012. Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences. 2015;16.
13. Zahirnia AH, Rastgar HA, Azarihmidian SH, Salehzadeh AR. Determination of Mosquitoes Fauna (Culicidae: Diptera) in Poldokhtar County of Lorestan Province, 2015. Avicenna Journal of Clinical Medicine. 2017 Sep 15; 24(2):126-34.

14. Dehghan H, Sadraei J, Moosa-Kazemi SH. The morphological variations of *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae) in Yazd Province, central Iran. Iranian journal of arthropod-borne diseases.2010;4(2):42.
15. Kazemi SM, Karimian F, Davari B. Culicinae mosquitoes in Sanandaj county, Kurdistan province, western Iran. Journal of vector borne diseases. 2010 Jun 1; 47(2):103.
16. Moosa-Kazemi SH, Vatandoost H, Nikookar H, Fathian M. Culicinae (Diptera: culicidae) mosquitoes in chabahar county, sistan and baluchistan province, southeastern iran. Iranian journal of arthropod-borne diseases. 2009; 3(1):29.
17. Azari-Hamidian S. Larval habitat characteristics of mosquitoes of the genus Culiseta Felt, 1904 (Diptera: Culicidae) in the Caspian Sea littoral, Iran. Zoology in the Middle East. 2005 Jan1;36(1):59-66.
18. Barghamadi Z, MOOSA KS, Pirmohammadi M, Shekarpoor H, Ramiyan N. Mosquito Species diversity (Diptera: Culicidae) and larval habitat characteristics in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province-2012.
19. Moradi-Asl E, Hazrati S, Vatandoost H, Emdadi D, Ghorbani E, Ghasemian A, Rafiee M, Panahi A, Shokri A. Fauna and larval habitat characteristics of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Ardabil province, Northwestern Iran. Journal of Health. 2018 Jul 10; 9(3):259-66.
20. Dehghan H, Sadraei J, Moosa-Kazemi SH, Abolghasemi E, Solimani H, Nodoshan AJ, Najafi MH. A pictorial key for *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) in Iran. Journal of arthropod-borne diseases. 2016 Sep; 10(3):291.
21. Weaver SC, Charlier C, Vasilakis N, Lecuit M. Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. Annual review of medicine. 2018 Jan 29; 69:395-408.
22. Dehghani R, Limoee M, Zarghi I. The review of pesticide hazards with emphasis on insecticide resistance in arthropods of health risk importance. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2012; 17(1).
23. Scott JG, Yoshimizu MH, Kasai S. Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. Pesticide biochemistry and physiology. 2015 May 1;120:68-76.
24. Bermúdez-Aguirre D, Mobbs T, Barbosa-Cánovas GV. Ultrasound applications in food processing. In Ultrasound technologies for food and bioprocessing 2011 (pp. 65-105). Springer, New York, NY.
25. Honarvar F. Non Distructive Ultrasonic Testing. 3th ed. Noorpardazan Publication.press:2010,P,32-40.
26. Dolatowski ZJ, Stadnik J, Stasiak D. Applications of ultrasound in food technology. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 2007 Sep 30; 6(3):88-99.
27. Mason TJ, Lorimer JP. Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing. Weinheim: Wiley-VT; 2002 May 6.
28. Britch SC, Nyberg H, Robert L, Swan T, Linthicum KJ. Acoustic control of mosquito larvae in artificial drinking water containers. Journal of the American Mosquito Control Association. 2016 Dec;32(4):341-4.
29. H Nyberg Acoustic Larvicide an Integration of Technology and Applications for an Urban Solution. Logo Fundación Areces; Feb; UNITAID Madrid Spain. https://www.slideshare.net/featured/category/health-medicine: New Mountain Innovations; 2017.
30. Sistanizadeh-Aghdam M, Abai MR, Shayeghi M, Mahvi AH, Raeisi A. Bio-efficacy of ultrasound exposure against immature stages of common house mosquitoes under laboratory conditions. International journal of radiation biology. 2020 Jul 2; 96(7):937-42.
31. Kauffman E, Payne A, Franke MA, Schmid MA, Harris E, Kramer LD. Rearing of Culex spp. and Aedes spp. mosquitoes. Bio-protocol. 2017 Sep 5; 7(17).
32. Zakhia R, Mousson L, Vazeille M, Haddad N, Failloux AB. Experimental transmission of West Nile Virus and Rift Valley Fever Virus by *Culex pipiens* from Lebanon. PLoS neglected tropical diseases. 2018 Jan 11; 12(1):e0005983.
33. Diaz A, Coffey LL, Burkett-Cadena N, Day JF. Reemergence of St. Louis encephalitis virus in the Americas. Emerging infectious diseases. 2018 Dec; 24(12):2150.
34. Huang YJ, Vanlandingham DL, Bilyeu AN, Sharp HM, Hettenbach SM, Higgs S. SARS-CoV-2 failure to infect or replicate in mosquitoes: an extreme challenge. Scientific reports. 2020 Jul17;10(1):1-4.
35. Yurchenko AA, Masri RA, Khrabrova NV, Sibataev AK, Fritz ML, Sharakhova MV. Genomic differentiation and intercontinental population structure of mosquito vectors *Culex pipiens* pipiens and *Culex pipiens* molestus. Scientific reports. 2020 May 5; 10(1):1-3.
36. Porretta D, Fotakis EA, Mastrantonio V, Chaskopoulou A, Michaelakis A, Kioulos I, Weill M, Urbanelli S, Vontas J, Bellini R. Focal distribution of diflubenzuron resistance mutations in *Culex pipiens* mosquitoes from Northern Italy. Acta tropica. 2019 May 1; 193:106-12.
37. Salim-Abadi Y, Oshaghi MA, Enayati AA, Abai MR, Vatandoost H, Eshraghian MR, Mirhendi H, Hanafi-Bojd AA, Gorouhi MA, Rafi F. High insecticides resistance in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tehran, capital of Iran. Journal of arthropod-borne diseases. 2016 Dec;

10(4):483.
38. Taskin BG, Dogaroglu T, Kilic S, Dogac E, Taskin V. Seasonal dynamics of insecticide resistance, multiple resistance, and morphometric variation in field populations of *Culex pipiens*. Pesticide biochemistry and physiology. 2016 May 1; 129:14-27.
39. HUANG F, SUBRAMANYAM B. Lack of repellency of three commercial ultrasonic devices to the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). Insect Science. 2006 Feb; 13(1):61-6.
40. Kalimuthu K, Tseng LC, Murugan K, Panneerselvam C, Aziz AT, Benelli G, Hwang JS. Ultrasonic Technology Applied against Mosquito Larvae. Applied Sciences. 2020 Jan; 10(10):3546.