

تعیین اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری به روش ساندویچ الایزا در استان زنجان

*دکتر محمد باقر قوامی^۱، دکتر علی هانیلو^۲، مهندس جمشید محمدی^۳

*نویسنده‌ی مسئول: دانشگاه علوم پزشکی زنجان دانشکده پزشکی زنجان ghavami@zums.ac.ir

خلاصه

سابقه و هدف: پشه‌ها مهم‌ترین حشرات خون‌خواری هستند که باعث انتقال بیماری‌های خطرناکی چون مالاریا و آربوویروس‌ها می‌گردند و برحسب شرایط منطقه و خصوصیات ژنتیکی، میزان خاصی را برای خون‌خواری انتخاب می‌نمایند. کمپلکس آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری، گونه‌های غالب پشه‌های استان زنجان هستند. از این رو مطالعه‌ی حاضر به منظور تعیین اندیکس خون‌خواری آن‌ها به روش ساندویچ الایزا در سال ۱۳۸۳ در زنجان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: پشه‌های کمپلکس آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری با دو روش افشانه‌ی پایترم (PSC) و تله‌ی نوری از اماکن داخلی و بیرونی مناطق مختلف استان زنجان در سال ۱۳۸۲ صید و نمونه‌های خون خورده بعد از خشک سازی در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. این نمونه‌ها پس از راه اندازی روش ساندویچ الایزا، از نظر داشتن خون انسان در معده، آزمایش شدند. نتایج با استفاده از آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۶۴۳۶ نمونه پشه‌ی مورد بررسی، ۳۰۷۲ عدد (۴۷/۷ درصد) آنوفل ماکولپینیس و ۳۳۶۴ عدد (۵۲/۳ درصد) کولکس تیلری بودند. نسبت خون‌خواری از انسان در آنوفل ماکولپینیس، ۲/۲ درصد و در کولکس تیلری ۱/۵ درصد بود. آنوفل ماکولپینیس ۲/۱۲ برابر کولکس تیلری میل به خون‌خواری از انسان داشت. اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس در نمونه‌های صید شده به شیوه‌ی PSC، ۰/۲ درصد ولی در نمونه‌های تله‌ی نوری ۷/۳ درصد بود. مقایسه‌ی این اندیکس در نمونه‌های صید شده با دو روش فوق اختلاف معنی داری داشت ($P= /0.005$). در نمونه‌های PSC اندیکس انسان دوستی ۳۵/۱۷ برابر کمتر از نمونه‌های تله‌ی نوری بود. اندیکس انسان دوستی آنوفل کولکس تیلری در روش PSC، ۱/۸ درصد و در نمونه‌های تله‌ی نوری ۱/۳ درصد دیده شد که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: با توجه به اندیکس بالای خون‌خواری از انسان در آنوفل ماکولپینیس، پیشنهاد می‌شود برنامه‌های کنترل و مراقبت مالاریا به طور جدی مورد توجه مسئولین بهداشتی و درمانی استان قرار گیرد. جهت کاهش این اندیکس، مردم به استفاده از روش‌های حفاظت فردی و نگهداری دام تشویق و حمایت شوند هم‌چنین انجام مطالعات بیولوژی مولکولی و اکولوژیکی بر جمعیت‌های مختلف کمپلکس آنوفل ماکولپینیس توصیه می‌گردد. **واژگان کلیدی:** آنوفل ماکولپینیس، کولکس تیلری، عادت خون‌خواری از انسان، ساندویچ الایزا، زنجان.

تاریخ دریافت: ۸۴/۳/۴

تاریخ پذیرش: ۸۴/۵/۱۰

^۱ دکترای حشره شناسی پزشکی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان.

^۲ دکترای انگل شناسی پزشکی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان.

^۳ کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی، مربی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

مقدمه

پشه‌ها مهم‌ترین حشرات خون‌خواری هستند که برخی از آن‌ها در انسان باعث بروز حساسیت‌های پوستی و انتقال بیماری‌های خطرناکی چون مالاریا، آربوویروس‌ها و فیلاریوزها می‌گردند (۱). پشه‌ها جهت ادامه‌ی زندگی، ملزم به خون‌خواری از مهره‌داران هستند (۲). هر گونه از پشه‌ها بر حسب شرایط بیولوژیک منطقه و خصوصیات ژنتیکی، میزان خاصی را برای خون‌خواری خود انتخاب می‌نمایند (۳-۵). تعیین عادت خون‌خواری هر کدام از آن‌ها کمک زیادی به درک دوره‌ی زندگی عوامل بیماری‌زا، شناسایی میزبان‌ها و تدوین برنامه‌های کنترل بیماری‌های واگیر می‌نماید (۶، ۷). کمپلکس آنوفل ماکولپنیس^۱ و کولکس تیلری^۲، گونه‌های غالب پشه‌های صید شده از اماکن داخلی و تله‌های نوری استان زنجان را تشکیل می‌دهند (۸). قبل از اجرای عملیات ریشه‌کنی مالاریا، کمپلکس آنوفل ماکولپنیس ناقل اصلی مالاریا در نیمه‌ی شمالی ایران محسوب می‌شد (۹، ۱۰). در چند سال اخیر گونه‌ی مذکور موارد مالاریای بازپدید را در استان‌های آذربایجان غربی، اردبیل، گیلان (۱۱، ۱۲) و کشورهای همسایه‌ی شمال غرب نظیر ارمنستان (۱۳)، ترکیه (۱۴) و مناطقی از اروپا (۱۵) به وجود آورده است. کولکس تیلری نیز ناقل تب نیل غربی و برخی آنسفالیت‌های ویروسی در مناطق مختلف دنیا معرفی شده است (۱۶). به این ترتیب تعیین عادت خون‌خواری این پشه‌ها، مهم‌ترین شاخص برآورد میزان گزش‌های آلوده کننده‌ی آن‌ها می‌باشد و می‌تواند در تدوین برنامه‌های پیشگیری و کنترل بیماری‌های مالاریا، تب نیل غربی، ناراحتی‌های گزش، ارتقاء سطح سلامتی و آموزش بهداشت مردم مؤثر باشد.

مهم‌ترین روش تشخیص نوع میزبان پشه‌ها، بررسی آن‌ها در ۱۲ تا ۴۰ ساعت بعد از خون‌خواری است که طول این مدت

بر حسب حساسیت روش، متفاوت است (۱۷). از اوایل قرن ۱۹ روش‌های بررسی رسوبی^۳ جهت تعیین نمونه‌ی خون پشه‌ها معرفی شده است. در سال ۱۹۳۱ از این روش در سطح وسیع برای مطالعه‌ی ۲۶ گونه از پشه‌های غرب آفریقا استفاده شد (۱۸) و بعد از گذشت ۱۰ سال سازمان جهانی بهداشت، مقدمات بررسی ۱۲۴ هزار نمونه از ۹۲ گونه‌ی آنوفل‌های دنیا را فراهم آورد (۱۹). در دهه‌ی ۱۹۸۰ به منظور شناسایی نمونه‌های خون خورده شده در پشه‌ها، شیوه‌ی حساس‌تری جایگزین آزمون‌های رسوبی شد (۲۰) و روش اصلاح شده‌ی آن نیز در سال ۱۹۸۵ به صورت الایزای مستقیم توسط ادریسیان و همکاران برای مطالعه‌ی آنوفل‌های برخی از مناطق ایران به‌کار گرفته شد (۲۱). در سال‌های اخیر چاوو و همکاران (۲۲) برای بررسی خون‌خواری، از روش حساس‌تر و اختصاصی‌تر ساندویچ الایزا استفاده کرده‌اند. هم‌چنین در مراکزی که امکانات تحقیقات بیولوژی مولکولی - سلولی موجود باشد، با روش واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز می‌توان به طور دقیق نمونه‌ی خون خورده شده را تعیین نمود. این روش مستلزم صرف وقت و هزینه‌ی زیادی است و بیشتر برای مطالعه‌ی نمونه‌هایی با حجم کم مناسب است و در مطالعات عرصه باحجم نمونه‌ی بالا کارایی ندارد و حداکثر تا ۱۰ ساعت بعد از خون‌خواری پشه، می‌تواند نوع خون را مشخص کند (۲۳، ۲۴). با توجه به نامعلوم بودن اندیکس انسان دوستی کمپلکس آنوفل ماکولپنیس و کولکس تیلری در استان زنجان و گذشت ۲۰ سال از مطالعات قبلی، این مطالعه با هدف تعیین اندیکس انسان دوستی پشه‌های غالب استان زنجان و پیشنهاد روش کاربردی برای مطالعات بعدی با استفاده از روش ساندویچ الایزای نمونه‌های خون انسان در کمپلکس آنوفل ماکولپنیس و کولکس تیلری در سال ۱۳۸۳ انجام گردید.

³ Precipitation¹ *Anopheles maculipennis* Complex² *Culex theileri*

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی - تحلیلی، تعداد ۶۴۳۶ نمونه پشه‌ی خون خورده‌ی گونه‌های آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری که با دو روش افشانه‌ی پایترم (PSC)^۴ و تله‌های نوری (LT)^۵ (۲۵) از مناطق مختلف استان زنجان در تابستان ۱۳۸۲ صید شده بودند، بعد از راه اندازی روش ساندویچ الایزا مورد آزمایش قرار گرفتند. با توجه به این که در مطالعه‌ی ادیسیان و همکاران (۱۹۸۵) از بعضی مناطق ایران، اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس حدود ۷ الی ۸ درصد گزارش شده است (۲۱)، با دقت ۳ در هزار و حدود اطمینان ۹۵ درصد و با احتساب دو روش جداگانه‌ی صید پشه، حداقل نمونه‌ی لازم برای مطالعه‌ی اندیکس خون‌خواری دو گونه‌ی آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری، ۵۱۰۸ عدد برآورد گردید. در آزمایشگاه نمونه‌های صید شده در زیر استریومیکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر (۴۰ X) تشخیص و نمونه‌های تازه خون خورده‌ی آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری تفکیک و بعد از خشک سازی در شرایط آزمایشگاهی، در فریزر در ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

هر کدام از پشه‌های مورد بررسی را در لوله‌ی اپندرف ۵۰۰ میکرولیتری گذاشته و بر روی آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۲۰ (PBS-T)^۶ اضافه و به مدت یک شب در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و بعداً نمونه‌ها کاملاً له شده و سوسپانسیون آن‌ها تهیه شد. سوسپانسیون تهیه شده به مدت ۵ دقیقه با میکروسانتریفوژ با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی به عنوان عصاره‌ی پشه‌ها جمع‌آوری و تا موقع بررسی در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت انجام آزمایش ساندویچ الایزا، روش چاوو و همکارانش (۲۲) با اصلاحاتی مورد استفاده قرار گرفت. به طور خلاصه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ایمونوگلوبولین

توتال ضد انسانی (BA122: Biogen) با رقت $\frac{1}{3000}$ در بافر کربنات بی‌کربنات به هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ریخته و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد کوت شدند. از آلبومین سرم گاوی (BSA)^۷ با غلظت یک درصد در فسفات بافر سالین (PBS) به عنوان بافر بلوک کننده و از PBS-T به عنوان بافر رقیق کننده استفاده شد. عصاره‌ی پشه‌های مورد آزمایش (یک پشه در ۵۰۰ میکرو لیتر PBS-T) به مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر به ازای هر چاهک به مدت یک ساعت انکوبه شد. در هر میکرو پلیت یک چاهک به عنوان بلانک، دو نمونه‌ی کنترل مثبت (سرم انسان با رقت $\frac{1}{50}$)، یک نمونه‌ی کنترل مثبت (پشه‌ی خون خورده از انسان)، یک نمونه‌ی کنترل منفی (پشه‌ی نر) و دو نمونه‌ی کنترل منفی (پشه‌ی خون خورده از گاو) منظور شد. هم‌چنین کونزوگه ایمونوگلوبولین پر اکسیداز ضد انسانی (پژوهشکده‌ی ابن سینا، SPH: 505) با رقت $\frac{1}{1000}$ مورد استفاده قرار گرفت. زمان انکوباسیون یک ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد. شستشوی بین مراحل مختلف با PBS در چهار نوبت انجام یافت. در نهایت به هر چاهک ۱۰۰ میکرو لیتر اورتوفیلین دی‌آمین افزوده و بعد از ۱۰ دقیقه واکنش با اسیدسولفوریک یک مولار، متوقف گردید. چگالی نوری محلول واکنش نهایی با طول موج ۴۹۲ نانومتر در کنار طول موج استاندارد ۶۳۰ نانومتر توسط الایزا ریدر (Stat Fax® 2100, Awareness technology Inc) خوانده شد. رقت مناسب سرم، عصاره‌ی پشه، ایمونوگلوبولین ضد انسانی و کونزوگه به روش تیتراسیون متقاطع تعیین گردید (۲۶). به منظور تعیین مرز نمونه‌های مثبت از منفی، نقطه‌ی برش آزمایش با افزودن ۳ برابر انحراف معیار به میانگین چگالی نوری سرم‌های منفی در هر میکروپلیت

^۶ Phosphat Buffer Salin - Tween

^۷ Bovine Serum Albomin

^۴ Pyrethrum Spray Catch

^۵ Light Trap

جدول ۱ - مقایسه‌ی اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری، زنجان ۱۳۸۳

گروه	تمایل به خون خواری	دارد	ندارد
آنوفل ماکولپینیس	۹۷	۲۹۷۵	
کولکس تیلری	۵۱	۳۳۱۳	
جمع	۱۴۸	۶۲۸۸	

خون‌خواری داشتند. در مقابل، این شاخص در نمونه‌های صید شده توسط تله‌های نوری به ۷/۳ درصد می‌رسید و ۹۳ عدد از ۱۲۷۷ نمونه، دارای خون انسان در معده بودند (جدول ۲).

با این حال نسبت خون خواری کمپلکس گونه‌ی آنوفل ماکولپینیس که به دو شیوه‌ی PSC و تله‌ی نوری صید شده بود یکسان نبود ($P=0/00001$) و در نمونه‌های PSC اندیکس انسان دوستی ۳۵/۱۷ برابر کمتر از نمونه‌های تله‌ی نوری بود. از ۳۳۶۴ نمونه‌ی کولکس تیلری، ۱۶۴۸ عدد (۴۹ درصد) به شیوه‌ی PSC از اماکن حیوانی و ۱۷۱۶ عدد (۵۱ درصد) دیگر توسط تله‌های نوری صید شده بودند. در میان ۱۶۴۸ نمونه‌ی کولکس تیلری که به شیوه‌ی PSC صید شده بودند، ۲۹ نمونه (۱/۸ درصد) از انسان خون‌خواری داشتند. این نسبت در ۱۷۱۶ نمونه‌ی صید شده به شیوه‌ی تله‌ی نوری به ۱/۳ درصد (۲۲ عدد) رسید. بین اندیکس انسان دوستی پشه‌های کولکس تیلری که به دو شیوه‌ی PSC و تله‌ی نوری صید شده بودند، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

مورد محاسبه قرار گرفت. فراوانی و نسبت نمونه‌های خون خورده از انسان در دو گونه از پشه‌ها که با دو روش از مناطق مختلف استان زنجان صید شده بودند، تعیین و اختلاف نسبت خون خواری از انسان با آزمون کای دو تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

به طور کلی در این مطالعه ۶۴۳۶ نمونه پشه‌ی خون خورده به شیوه‌ی ساندویچ الایزا از نظر داشتن خون انسان در معده بررسی شدند که ۳۰۷۲ عدد (۴۷/۷۳ درصد) آن‌ها کمپلکس آنوفل ماکولپینیس و ۳۳۶۴ نمونه‌ی (۵۲/۲۷ درصد) دیگر کولکس تیلری بودند. نسبت خون خواری از انسان در ۳۰۷۲ نمونه‌ی آنوفل ماکولپینیس بررسی شده، ۳/۲ درصد (۹۷ عدد) به دست آمد، در حالی که در ۳۳۶۴ نمونه‌ی کولکس تیلری، این نسبت به ۱/۵ درصد (۵۱ عدد) رسید. این نسبت در دو گونه از پشه‌های مورد بررسی یکسان نبود آزمون کایدو این اختلاف را معنی‌دار نشان داد ($P=0/00001$) و محاسبه‌ی نسبت شانس (OR) نشان داد که کمپلکس آنوفل ماکولپینیس ۲/۱۲ برابر کولکس تیلری، تمایل به خون‌خواری از انسان داشت (جدول ۱). در میان ۳۰۷۲ نمونه‌ی آنوفل ماکولپینیس بررسی شده، ۱۷۹۵ عدد (۵۸ درصد) به شیوه‌ی PSC و ۱۲۷۷ عدد (۴۲ درصد) باقی‌مانده، توسط تله‌های نوری صید شده بودند. اندیکس انسان دوستی این گونه در نمونه‌های صید شده به شیوه‌ی PSC از اماکن حیوانی ۰/۲ درصد بود و فقط ۴ نمونه از پشه‌های مورد بررسی از انسان

جدول ۲ - اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری به روش ساندویچ الایزا در استان زنجان، ۱۳۸۳

گروه و روش صید	آنوفل ماکولپینیس		آنوفل کولکس تیلری		جمع
	تله‌ی نوری	افشانه‌ی پای‌ترم	تله‌ی نوری	افشانه‌ی پای‌ترم	
دارای خون انسان	۹۳ (۷/۳)*	۴ (۰/۰۲)	۲۲ (۱/۳)	۲۹ (۱/۸)	۱۴۸ (۲)
فاقد خون انسان	۱۱۸۴ (۹۲/۷)	۱۷۹۱ (۹۹/۹)	۱۶۹۴ (۹۸/۷)	۱۶۱۹ (۹۸/۲)	۶۲۸۸ (۹۸/۰)
جمع	۱۲۷۷	۱۷۹۵	۱۷۱۶	۱۶۴۸	۶۴۳۶ (۱۰۰)

* اعداد داخل پرانتز بیان‌گر درصد می‌باشد

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش که در آن پشه‌های خون خورده به شیوه‌ی ساندویچ الایزا آزمایش شدند، نشان می‌دهد که اندیکس انسان دوستی کمپلکس آنوفل ماکولپینیس در نمونه‌های صید شده به شیوه‌ی تله‌ی نوری ۷/۳ درصد و در نمونه‌های صید شده به شیوه‌ی PSC از اماکن داخلی حدود ۰/۲ درصد بود. این شاخص برای نمونه‌های کولکس تیلری در دو روش جمع‌آوری شده، یکسان بود و به ۱/۵ درصد می‌رسید.

کمپلکس آنوفل ماکولپینیس و کولکس تیلری گونه‌های غالب پشه‌های استان زنجان هستند که در مناطق وسیعی از استان در اطراف رودخانه‌ی قزل‌اوزن در مسافتی بیش از ۳۳۰ کیلومتر پراکنده‌اند. این دو گونه به هنگام گرم بودن محیط به خصوص در فصل تابستان وفور زیادی دارند (۸). آن‌ها جهت ادامه‌ی زندگی نیازمند به خون‌خواری از میزبان مهره‌دار به ویژه پستانداران هستند. در چرخه‌ی بیماری‌های عفونی منتقله از ناقلین، عادت خون‌خواری این ناقلین نقش به سزایی ایفا می‌کند. زمانی که اندیکس انسان دوستی و ضریب خون‌خواری این دو گونه از انسان بالا باشد، انسان‌های زیادی در معرض گزش قرار می‌گیرند و متعاقب آن بر موارد بیماری افزوده می‌شود.

معتبر و همکارانش (۱۹۷۵) در ارزیابی عملیات کنترل مالاریا در ایران، تمایل به خون‌خواری آنوفل ماکولپینیس را در مناطق غرب و شرق فلات ایران و اطراف دریای خزر ۹/۸ تا ۲۱ درصد گزارش نمودند (۹). هم‌چنین ادریسیان و همکارانش (۱۹۸۵) اندیکس انسان دوستی این آنوفل را ۷ الی ۸ درصد اعلام نموده‌اند (۲۱). در این دو مطالعه نمونه‌های مورد بررسی با روش‌های تست رسوبی و الایزای مستقیم بررسی شده بودند. یافته‌ی نمونه‌های صید شده به روش تله‌ی نوری با نتایج مطالعات انجام یافته در ایران مطابقت دارد ولی با یافته‌ی نمونه‌های صید شده به شیوه‌ی PSC مغایر است.

در بررسی‌های انجام یافته بر روی کمپلکس آنوفل ماکولپینیس

در مناطق جغرافیایی مختلف دنیا مشخص شده که آنوفل ساکاروی^۸ کمترین نسبت خون‌خواری از انسان را دارد. در این گونه متوسط اندیکس خون‌خواری از انسان، ۴/۷ درصد گزارش شده است. در بقیه‌ی گونه‌های کمپلکس آنوفل ماکولپینیس که شامل آنوفل لابرانشیا^۹، آنوفل مزا^{۱۰} و آنوفل آتروپاروس^{۱۱} است، اندیکس انسان دوستی در دامنه‌ی ۹/۵ تا ۲۵ درصد می‌باشد (۲۷). این گونه‌ها در مناطق معتدله‌ی شمالی قاره‌های اروپا و آسیا پراکنده‌اند (۲۸، ۲۹).

در مطالعه‌ی حاضر نمونه‌های کمپلکس آنوفل ماکولپینیس که توسط PSC صید شده‌اند کمتر از نمونه‌های دیگر این آنوفل، اندیکس انسان دوستی داشتند. پایین بودن نسبت خون‌خواری از انسان در جمعیت‌های این آنوفل می‌تواند علت ژنتیکی و محیطی داشته باشد. در میان عوامل محیطی وفور نسبی و میزان بیومس میزبان‌های مهره‌دار، فرصت زمانی تماس با انسان و خون‌خواری از آن، مهم‌ترین عواملی هستند که می‌توانند بر میزان خون‌خواری اثر بگذارند (۳۰، ۵، ۴، ۳). با این حال مطالعه‌ی بیولوژی سلولی - مولکولی جمعیت‌های صید شده به شیوه‌ی تله‌ی نوری و PSC می‌تواند تنوع ژنتیکی دو جمعیت را در مطالعات بعدی مشخص سازد. در مطالعه‌ای که بر میزان احتمال بقای نمونه‌های صید شده به دو شیوه‌ی تله‌ی نوری و PSC در این کمپلکس انجام یافته، مشخص شد که در تله‌های نوری، نمونه‌های جوان زیادی صید می‌شوند. ممکن است بالا بودن اندیکس خون‌خواری از انسان در نمونه‌های تله‌ی نوری در مقایسه با نمونه‌های PSC، مربوط به عادت خاص نمونه‌های جوان پشه‌ها باشد (۸). از این رو انجام مطالعات علمی در مورد اکولوژی کمپلکس آنوفل ماکولپینیس می‌تواند این موضوع را مشخص نماید.

نصب توری بر روی پنجره‌ها، به کارگیری کولر و وسایل الکتریکی جهت تهویه‌ی هوا در اماکن مختلف استان زنجان،

⁸ An. sacharovi

⁹ An. labbranchiae

¹⁰ An. messeae

¹¹ An. atroparvus

به همراه نگه‌داری حیوانات اهلی به ویژه گاو در اغلب مناطق روستایی باعث کاهش تماس پشه‌های خون‌خوار با انسان و هدایت آن‌ها به سوی حیوانات می‌شود. این وضعیت زمانی می‌تواند تداوم یابد که وضعیت بیولوژی و اکولوژی منطقه ثابت و آگاهی مردم جهت حفاظت فردی بالا باشد (۳۱). از این رو، آموزش بهداشت مردم و حمایت روستاییان در نگه‌داری حیوانات اهلی به خصوص گاو می‌تواند در حفظ چنین وضعیتی مؤثر باشد. با توجه به بالا بودن اندیکس انسان دوستی آنوفل ماکولپینیس (ناقل مالاریا در شمال غرب) نسبت به پشه‌های دیگر در استان زنجان، از این رو پیشنهاد می‌شود برنامه‌های کنترل و مراقبت مالاریا در این استان و استان‌های مجاور به طور جدی مورد توجه مسئولین بهداشتی و درمانی استان قرار گیرد. کولکس تیلری پراکندگی وسیعی در مناطق مدیترانه‌ای، اتیوپی و نواحی اوریتال ایران دارد و در اکثر استان‌های ایران دیده می‌شود (۳۲، ۳۳). این گونه مثل کولکس کوینکفاسیاتوس^{۱۲} و کولکس نیگری پالپوس^{۱۳}، یک گونه‌ی

میزبان‌های مختلفی می‌تواند داشته باشد. بنابراین، نسبت خون‌خواری آن از انسان در فصول مختلف سال متفاوت است (۵، ۲). بررسی حاضر نشان داد که این گونه در ۹۸/۵ درصد موارد از حیوانات اهلی خون‌خواری می‌کند. از آنجا که در این گونه توزیع جمعیت انسان دوستی از مکان‌های داخلی و تله‌های نوری یکسان بود به نظر می‌رسد که جمعیت‌های مختلف آن می‌توانند در داخل یا خارج از اماکن خون‌خواری کنند. همچنین این امکان وجود دارد که برخی از جمعیت‌های این گونه در دوره‌ی خون‌خواری مثل گونه‌های کولکس تارسالیس^{۱۴} (۳۴)، آنوفل پانکوچولاتوس^{۱۵} (۳۵) و آنوفل فری‌بورنی^{۱۶} (۳۶) خون‌خواری مضاعف^{۱۷} داشته باشند. از این جهت روشن شدن موضوع پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی اندیکس خون‌خواری این گونه از حیوانات اهلی و پرندگان تعیین و میزان آلودگی آن به آربوویروس‌ها به خصوص تب نیل غربی مشخص شود.

فرصت طلب است و بر حسب شاخص‌های مهم اکولوژیک،

¹⁵ *An. punctulatus*

¹⁶ *An. freeborni*

¹⁷ Multiple feeding

¹² *Cx. quinquefasciatus*

¹³ *Cx. nigripalpus*

¹⁴ *Cx. tarsalis*

- 6 - Boreham PFL. Some application of blood meal identification in relation to the epidemiology of vector borne tropical diseases. *J Trop Med Hyg* 1975; 75: 83-91.
- 7 - Kay BHJ, Boreham PFL, Edman JD. Application of "feeding index" concept to studies of mosquito host feeding patterns. *Mosq News* 1976; 39: 68-72.
- 8 - Ghavami MB. Estimation and comparison of *Anopheles maculipennis* s.l.(Diptera: Culicidae) survival rates with Light-trap and indoor resting data. *Iranian J Publ Health* 2005; 34: 48-57.
- 9 - Motabar M, Tabibzadeh I, Manouchehri AV. Malaria and its control in Iran. *Trop Geor Med* 1975; 27: 71-8.
- 10 - Zaim M. Malaria control in Iran, Present and future. *J Am Mosq Control Ass* 1987; 3: 392-6.
- 11 - Manouchehri AV, Zaim M, Emadi AM. A review of malaria in Iran, 1975-90. *J Am Mosq Control Asso* 1992; 4: 381-5.
- 12 - Edrissian GH. Malaria history and status in Iran. *Iranian Journal of Public Health* 2002; 3: 50-61.
- 13 - Romi R, Boccolini D, Hovanesyan L, Grigorian G, Luca DM. *Anopheles sacharovi*. A reemerging malaria vector in the valley of Armania. *J Med Entomol* 2002; 39: 446-50.
- 14 - Alten B, Caglar SS, Özel O. Malaria and its vectors in Turkey. *Eur Mosq Bull* 2000; 7: 27-33.
- 15 - Romi R. *Anopheles labranchiae*, an important malaria vector in Italy, and other potential malaria vectors in southern Europe. *Euro Mosq Bull* 1999; 4: 8-10.
- 16 - McIntosh BM, Jupp PG, Dos Santos I, Meenehan GM. Epidemic of West Nile and Sindbis viruses in south Africa with *Culex* mosquitoes. *S Afri J Sci* 1974; 72: 295-300.
- 17 - Washino RK, Tempelis CH. Mosquito host blood meal identification methodology and data analysis. *Annu Rev Entomol* 1983; 28: 179-201.
- 18 - Bruce-Chwatt LJ, Garrett-Jones C, Weirtz B. Ten years study of host selection by anopheline mosquitoes. *Bull World Health Org* 1966; 35: 405-39.
- 19 - Garrett Jones C, Boreham PFL, Pant CP. Feeding habitat of anophelines in 1971-1978, with reference to the human blood index. A review. *Bull Entomol Res* 1980; 70: 165-85.
- 20 - Burkot TR, Goodman WG, DeFoliart GR. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30: 1336-41.
- 21 - Edrissian GH, Manouchehri AV, Hafizi A. Application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of the human blood index in anopheline mosquitoes collected in Iran. *J Am Mosq Control Ass* 1985; 1: 349-52.
- 22 - Chow E, Wirtz RA, Scatt TW. Identification of blood meal in *Aedes aegypti* by antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Am Mosq Con* 1993; 9: 196-205.
- 23 - Coulson RMR, Curtis CF, Ready PD. Amplification and analysis of human DNA present in mosquito blood meals. *Med Vet Entomol* 1990; 4: 357-66.
- 24 - Gokool S, Curtis CF, Smith DF. Analysis of mosquito blood meals by DNA profiling. *Med Vet Entomol* 1993; 7: 208-15.
- 25 - Service MW. *Ecology of Mosquitoes: Field Sampling Methods*. 2nd ed. London: Elsevier Applied Science; 1993: 988.
- 26 - Crowther JR. *Methods in Molecular Biology, ELISA. Theory and Practice*. Ottawa: Humana Press; 1995: 223.

- 27 - Kiszewski A, Mellinger A, Spielman A, Malaney P, Sachs, SE. A global index representing the stability of malaria transmission. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70: 486-98.
- 28 - World Health Organization. The epidemiology and control of malaria. *The WHO, Eastern Mediterranean Region. Mimeographed document*. WHO/VBC/90.2-MAL/90.3. 1990.
- 29 - Wekesa JW, Yual B, Washino RK, Vasquez AM. Blood feeding pattern of *Anopheles freeborni* and *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) effects of habitat and host abundance. *Bull Entomol Res* 1997; 39: 633-41.
- 30 - Zahar AR. Vector bionomics in the epidemiology and control of malaria: Part II. *The WHO European region & the WHO Eastern Mediterranean Region*. WHO / VBC; 90.3 -MAL/90.3. 1990.
- 31 - Molineaux LH, Muir DA, Spencer HC, Wernsdorfer W. *The epidemiology of malaria and its measurement*. In Wernsdorfer WH, McGregor I (editors). *Malaria principles and practice of malariology*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1988: 999-1089.
- 32 - Zaim M, Cranston PS. Checklist and keys to the Culicinae of Iran (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 1986; 18: 233-45.
- 33 - Harbach RE. The mosquitoes of the subgenus *Culex* in southwestern Asia and Egypt (Diptera: Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute* 1988; 24 (1): 8-203.
- 34 - Anderson RA, Brust RA. Field evidence for multiple host contacts during blood feeding by *Culex tarsalis* and *Cx. nigripalpus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1995; 32: 705-10.
- 35 - Burkot TR, Graves PM, Paru R, Lagog M. Mixed blood feeding by the malaria vectors in the *Anopheles punctulatus* complex (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 1988; 25: 205-13.
- 36 - Wekesa JW, Yual B, Washino RK, DeVasquez AM. Multiple blood feeding by *Anopheles freeborni* and *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) effects of habitat and host abundance. *Bull Entomol Res* 1997; 39: 633-4.