نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران: ۲۱، (۱)، ۱۳۸۰: ۲۱-۳۰

معرفی دستگاهی قابل حمل برای تغذیه‌ی مصنوعی *Anopheles stephensi* (Lis.)

کامران اکبرزاده[۱]، حسین لدنی[۱] و منصوره شایقی[۱]

چکیده

از اوایل قرن بیستم تاکنون دستگاههای تغذیه مصنوعی زیادی ساخته شده است. این دستگاهها در زمینه‌ی پرورش بندپایان خونخوار بدون حضور میزبان زنده، تلقیح انگلها و بررسی میزان انتقال و دوره‌ی زندگی آنها در بدن ناقلین، بررسی اثر داروهای مختلف روی انگلها در بدن ناقلین و سایر بررسی‌های فیزیولوژیک کاربرد دارند. دستگاه تغذیه مصنوعی که در انیستکتاریم دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ساخته شده، سبک و قابل حمل و نقل بوده، دارای قطعات ساده، قابلیت کار با ولتاژهای مختلف و کار در شرایط میدانی و با برق اتومبیل می‌باشد. میزان جلب پشه‌های *Anopheles stephensi* (Lis.) پرورش یافته در انسکتاریم دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، به این دستگاه براي ارزیابی کارایی آن بررسی شد. از چهار نوع خون مورد استفاده، بیشترین درصد حشرات جلب شده با خون فیبرین زدایی شده‌ی گوسفند (۳ ±۱۳) بود که با خونخواری طبیعی (۰/۵۷±۱۳) اختلافی نشان نداد ($P < 0/05$). کمترین درصد جلب با خون سیترات دار شده‌ی گوسفند بود (۰/۳۳+ ۹/۳۳). در کاربرد این دستگاه، استفاده از خون فیبرین زدایی شده‌ی گوسفند، برای تغذیه مصنوعی پشه‌ها توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: تغذیه مصنوعی، *Anopheles stephensi*.

۱- گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی تهران، صندوق پستی ۱۴۱۵۵-۶۴۴۶.

این مقاله در تاریخ ۷۹/۱۱/۱۱ دریافت و چاپ آن در تاریخ ۸۰/۳/۲۲ به تصویب نهایی رسید.

مقدمه

تحقیقات درباره‌ی خواص و روشهای کنترل ناقلین، وجود کلنی‌های آزمایشگاهی آنها ضرورت دارد. استفاده از حیوانات زنده برای انبوه سازی حشرات خونخوار، پرخرج، نامناسب و از نظر سلامت حیوانات غیرقابل قبول می‌باشد (۲).

از روشهای تغذیه مصنوعی برای پرورش بندپایان خونخوار بدون حضور میزبان زنده و تعیین رژیم غذایی ناقلین، تعیین میزان انتقال انگلها، انتقال و تلقیح انگلهای مختلف به بندپایان و بررسی دوره‌ی زندگی آنها، بررسی اثر داروهای مختلف روی دوره‌ی زندگی انگلها در بدن پشه‌ها، جمع‌آوری ترشحات بزاقی، جمع‌آوری و کشت اسپوروزئیتها و سایر بررسی‌های فیزیولوژیک استفاده می‌شود (۹، ۷، ۵، ۸، ۱۰، ۱۱).

از اوایل قرن بیستم تاکنون دستگاههای تغذیه مصنوعی زیادی برای پرورش آزمایشگاهی انواع مختلفی از بندپایان خونخوار ساخته شده است. استفاده از این سیستم اولین بار توسط رودهین[1] و همکاران انجام شد (۷). از آن تاریخ تاکنون دستگاههای بسیار متنوعی در این زمینه توسط محققین مختلف ساخته شده است (۱۶، ۳، ٤، ۱۵؛ ۱۳، ۱۷، ۱٤، ۱۸، ٦، ۱۲ و ۵). با بررسی روش کار دستگاههای مختلف مشخص می‌شود که مهمترین تفاوت آنها نحوه رساندن دمای خون یا سایر رژیمهای غذایی به دمای طبیعی بدن میزبان می‌باشد (۱).

هدف از انجام این تحقیق ارایه‌ی روشی جدید، ارزان و کاربردی در پرورش پشه‌های *Anopheles stephensi* به عنوان جایگزین تغذیه‌ی طبیعی می‌باشد.

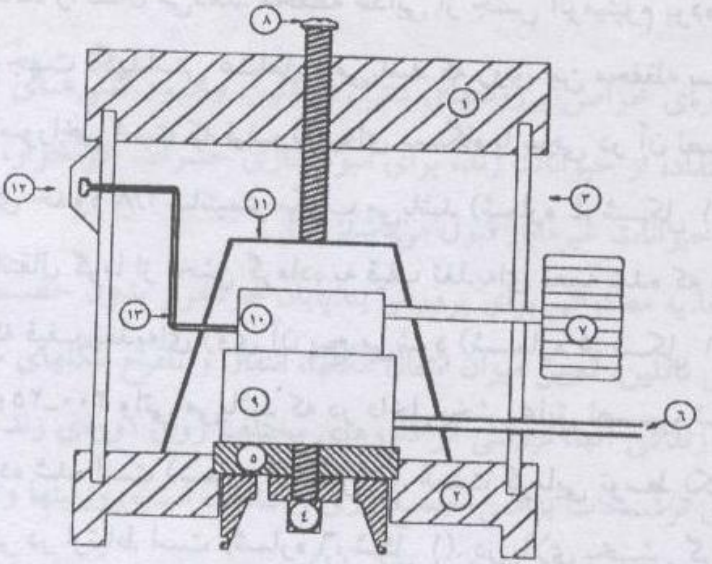
مواد و روشها

الف ـ طراحی و ساخت دستگاه تغذیه‌ی مصنوعی:

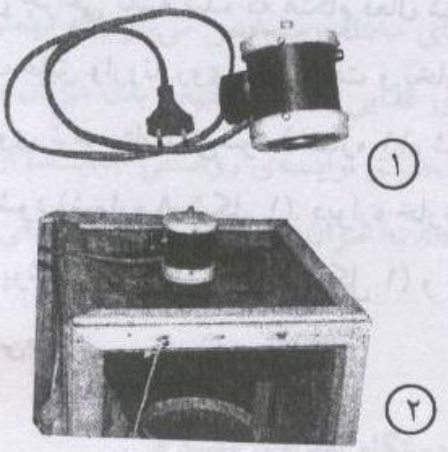
تصمیم ساخت دستگاه از روی شکلی که توسط کسگرو و همکاران ارایه شده بود گرفته شد (۵). طراحی و ساخت این دستگاه در انستکتاریم دانشکده‌ی بهداشت علوم پزشکی تهران صورت گرفت. ابعاد دستگاه ۷/۵ × ۷ سانتی‌متر و وزن آن حدود ۲۵۰ گرم می‌باشد. شکل ۱

۱- Rodhian

اجزاء مختلف دستگاه را نشان می‌دهد. محفظه غذایی از جنس آلومینیوم بوده، دارای شیاری در بخش خارجی لبه جهت نگهداشتن غشاهایی می‌باشد که روی این محفظه بسته می‌شوند. در پشت این محفظه سوراخی است که قیف تغذیه‌ای دستگاه با پیچی در آن نصب شده است. حجم قیف تغذیه‌ای حدود ۲/۸ سانتیمتر مکعب می‌باشد (شماره ٤، شکل ۱). یک استوانه‌ی آلومینیومی جهت انتقال گرما از بخش گرماده به قیف تغذیه‌ای تعبیه شده که در مرکز آن پیچی نصب شده است که قیف تغذیه‌ای روی آن پیچ می‌شود (شماره ۵، شکل ۱). بخش گرماده دارای یک المنت ۲۵۰ـ۲۰۰ واتی می‌باشد که در داخل بخش عایق نصب شده روی استوانه آلومینیومی، قرار داده شده است (شماره ۹، شکل ۱). المنت گرمایی توسط یک کابل با منبع برق ۱۲ ولت ۳ آمپر در ارتباط است (شماره ٦، شکل ۱). در بالای بخش گرماده ترموستات حرارتی نصب شده که به منزله کلیدی برای روشن و خاموش کردن بخاری عمل می‌کند (شماره ۱۰، شکل ۱). ترموستات دارای یک فنر حساس به گرما می‌باشد که عمل قطع و وصل را انجام می‌دهد و همچنین دارای پیچ تنظیم دما است که دماهایی از حدود دمای اتاق تا حدود ۵۰ درجه قابل تنظیم است (شماره ۷، شکل ۱) و دقت آن حدود ۱± درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در مسیر برق ورودی به بخاری چراغی تعبیه شده که هنگام فعال شدن بخاری روشن می‌شود (شماره ۱۲، شکل ۱). یک قیف عایق وارونه روی ترموستات و بخاری را می‌پوشاند که باعث انتقال بهتر گرما از بخاری به روی ترموستات می‌شود (شماره ۱۱، شکل ۱). این قیف وارونه توسط پیچ نگهدارنده ثابت می‌شود (شماره ۸، شکل ۱). دیواره خارجی دستگاه از جنس PVC می‌باشد (شماره ۳، شکل ۱) و پوشش بالایی (شماره ۱، شکل ۱) و پایینی (شماره ۲، شکل ۱) دستگاه از جنس عایق صنعتی می‌باشد.



شکل ۱: طرح کلی دستگاه تغذیه مصنوعی (اندازه واقعی).
۱- پوشش بالایی، ۲- پوشش پائینی، ۳- دیواره خارجی، ٤- قیف تغذیه‌ای، ٥- استوانه آلومینیومی، ٦- کابل برق ورودی، ۷- پیچ تنظیم دما، ۸- پیچ نگهدارنده، ۹- بخاری، ۱۰- ترموستات، ۱۱- قیف وارونه.



عکس ۱: نمونه‌ای از دستگاه تغذیه‌ی مصنوعی.
عکس ۲ : طرز قرارگرفتن دستگاه تغذیه‌ی مصنوعی روی قفس پشه‌ها در انسکتاریم.

ب ـ کالیبراسیون دستگاه:

برای کالیبراسیون، قیف تغذیه‌ای با یک پارافیلم بسته شده، با آب پر می‌شود. قیف در محل

خاص خودش در بخش زیرین دستگاه پیچ می‌شود. دستگاه با قیف مذکور روی سطح حساس یک دماسنج دیجیتالی صفحه‌ای قرار داده شده، دستگاه روشن می‌شود. بعد از ۱۵ دقیقه دمای آن قرائت می‌شود. در صورت نیاز پیچ تنظیم دستگاه اندکی به سمت راست (جهت افزایش دما) یا به سمت چپ (جهت کاهش دما) چرخانده می‌شود. بعد از هر بار چرخاندن باید ۱۵ دقیقه بعد دماسنج قرائت شود. این کار باید در دمای انسکتاریم صورت گیرد. هرچند وقت یکبار (معمولا هر ۳ هفته) باید تنظیم بودن دستگاه توسط دماسنج دیجیتالی کنترل شود.

ج - شرح آزمایشها:

برای این بررسی‌ها از *Anopheles stephensi* پرورش انسکتاریم دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران استفاده گردید. پشه‌ها در حرارت حدود۲ ± ۲۸درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی حدود۱۰ ±۷۰٪ پرورش یافته بودند. برای هر آزمایش ۳ تکرار و برای هر تکرار ۲۰ پشه مورد استفاده قرار گرفتند. پشه‌های ۳ ـ ٤ روزه که با آب قند ۵٪ تغذیه شده بودند، انتخاب می‌شدند. ۱۲ ـ ۱۸ ساعت قبل از آزمایشات آب قند برداشته می‌شد. برای این آزمایشات از غشاء پوست جوجه یکروزه بهمراه ٤ نوع خون (خون فیبرین زدایی شده و سیترات دار شده‌ی گوسفند و خون فیبرین زدایی شده و سیترات دار شده‌ی مرغ) استفاده شد. برای سیترات دار کردن خون از ماده ضد انعقاد CPDA (Citrate Phosphate Dextrose Solution) به مقدار ۱ قسمت در ٦ قسمت خون کامل استفاده شد. برای برون فیبرین کردن خون از گویهای شیشه‌ای (Pearl) استفاده شد. مدت زمان تغذیه در هر آزمایش ۱ ساعت بود. خون‌دهی طبیعی به پشه‌ها به عنوان آزمایش شاهد توسط خوکچه‌ها در شرایط مساوی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایشات مربوط به درصد جلب پشه‌های *Anopheles stephensi* به دستگاه تغذیه‌ی مصنوعی جدید در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج آزمایشهای تعیین میزان جلب پشه‌های *An. stephensi* به دستگاه با غشاء پوست جوجه و خونهای مختلف

محاسبات / نوع تغذیه	تکرار۱، تعداد جلب شده	تکرار۲، تعداد جلب شده	تکرار۳، تعداد جلب شده	جمع کل، تعداد جلب شده	درصد جلب	میانگین	انحراف معیار
الف	۱۰	۱۹	۱۰	۳۹	٦٥	۱۳/۰۰	۳/۰۰
ب	۹	۹	۱۰	۲۸	٤٦/٦٧	۹/۳۳	۰/۳۳
پ	۸	۱٦	۸	۳۲	٥۳/۳٤	۱۰/٦٦	۲/٦٦
ت	۱۲	۱۲	٥	۲۹	٤۸/۳٤	۹/٦٦	۲/۳۳
ث	۱۳	۱۲	۱٤	۳۹	٦٥	۱۳/۰۰	۰/٥۷

الف – تغذیه با خون فیبرین زدایی شده‌ی گوسفند، **ب** – تغذیه با خون سیترات دار شده‌ی گوسفند، **پ** – تغذیه با خون فیبرین زدایی شده‌ی مرغ، **ت** – تغذیه با خون سیترات دار شده‌ی مرغ، **ث** – تغذیه طبیعی با خوکچه.

نتایج حاصل توسط روش آماری آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است که در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۲: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری میزان جلب پشه‌های *An. stephensi* به دستگاه با غشاء پوست جوجه و خونهای مختلف

	خون فیبرین زدایی شده‌ی گوسفند	خون سیترات دار شده‌ی گوسفند	خون فیبرین زدایی شده‌ی مرغ	خون سیترات دار شده‌ی مرغ
خون سیترات دار شده‌ی گوسفند	N			
خون فیبرین زدایی شده مرغ	N	N		
خون سیترات دار شده مرغ	N	N	N	
خوکچه	N	N	N	N

N = اختلاف معنی‌دار ندارد.

با توجه به جدول ۲، اختلاف معنی‌داری در میزان جلب پشه‌ها به دستگاه بازسازی شده با استفاده از خونهای مختلف و غشاء پوست جوجه مشاهده نشد (*Pvalue* <۰/۰۵) فقط خون سیترات دار شده‌ی گوسفند بصورت بسیار جزئی اختلاف نشان داد (*Pvalue* = ۰/۰۵) که قابل چشم پوشی است. بهترین درصد جلب پشه‌ها به خون فیبرین زدایی شده‌ی گوسفند بود (۳ ± ۱۳). لذا استفاده از این خون برای کار با این دستگاه توصیه می‌شود. این آزمایشات کارایی این دستگاه را برای پرورش مصنوعی *Anopheles stepensi* به اثبات می‌رساند.

آزمایشات بیشتری در زمینه مقایسه این روش از تغذیه مصنوعی با روشهای دیگر در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران به انجام رسیده است (۱).

دستگاه تغذیه مصنوعی جدید اکنون در انسکتاریم دانشکده بهداشت و انسکتاریم مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی ایرانشهر در کنار تغذیه طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

سپاسگزاری

از آقایان دکتر فریبرز اکبرزاده و مهندس عبدالرسول صفائیان، اعضای هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به خاطر راهنمایی‌های ارزنده شان در بررسی آماری این تحقیق نهایت تشکر را داریم.

منابع

۱- اکبرزاده، ک.، ۱۳۷۷. بررسی تکنیکهای مختلف تغذیه‌ی مصنوعی آنوفل استفنسی در مقایسه با روش تغذیه‌ی طبیعی و ارایه مناسبترین روش در انسکتاریم‌ها. پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد علوم بهداشتی "MSPH"؛ دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، شماره ۲۶۸۰.

2- Blackwell, A., P. S. Mellor & W. Mordue, 1994. Laboratory feeding of *Culicoides impunctatus* (Diptera; Ceratopogonidae) through natural and artificial membranes. Journal of Medical Entomology, 21 (2): 302-305.

3- Burgdörfer, W., 1957. Artificial feeding of *Ixodes* ticks for study on the tranmission of disease agents. Journal of Infectious Disease, 100, 212-214.

4- Collins, W. E., G. M. Jeffery, J. C. Skiiner & A. J. Harrison, 1964. Comparative infectivity of strain of *Plasmodium falciparum* from Panama to three spesies of *Anopheles* as studied by membrane feeding. Mosquito News, 24 (1): 28-31.

5- Cosgrove, J. B., R. J. Wood, D. patric, D. T. Evans & R. H. R. Abott, 1994. A convenient mosquito membrane feeding system. Journal of American Mosquito Control Association, 10 (3): 434 - 436.

6- Davis, E. L., R. H. Butler, R. H. Roberts, J. F. Reinert & D. L. Kline, 1983. Laboratory blood feeding of *Culicoides mississippiensis* (Diptera; Ceratopogonidae) through a rainforced silicon membrane. Journal of Medical Entomology, 20 (2): 177 - 182.

7- Failloux, A. B., S. Chanteau, E. Changae, S. Lonken & Y. Sechan, 1991. Oral infection of *Aedes polynesiensis* by *Wuchereria bancrofti* by using parafilm membrane feeding. Journal of American Mosquito Control Association, 7 (4): 660 - 662.

8- Fahrner, J. & C. Barthelmens, 1988. Rearing of *Culicoides nubeculatus* (Diptera; Ceratopogonidae) by natural or artificial feeding in the laboratory. Veterinary Parasitology, 28,307 - 313.

9- Friends, W. G. & F. J. Hewson, 1978. A small volume thermostatically controlled apparatus for feeding radioactive diets to mosquitoes and other blood sucking arthropods. Mosquito News, 38 (4): 536 - 541.

10- Gerberg, E. J. & F.W. Kuts, 1971. A large scale artificial feeding technique for infection of mosquitoes and its application to screening antimalarial chemicals. Journal of Medical Entomology, 8 (5): 610 - 612.

11- Ghosh, K. N., 1994. A modified artificial membrane feeding method for the study of

transmission dynamics of leishmaniasis. Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 88,488 - 489.

12- Hagen, H. E. & J. Grunwald, 1990. Routine blood - feeding of *Aedes aegypti* via a new membrane. Journal of American Mosquito Control Association, 6 (3): 535 - 536.

13- McMahon, J. P., 1968. Artificial feeding of *Simulium* vectors of human and bore in onchocerciasis. Bulletin of W. H. O, 28, 957-966.

14- Mokry, J. E., 1976. A simplified membrane feeding technique for feeding blackflies (Diptera; Simulidae) of blood in the laboratory. Bulletin of W.H.O., 31,127 – 129.

15- Rutledge, L. C., R. A. Ward & D. J. Gould, 1964. Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. Mosquito News, 24 (4): 407 – 441.

16-Whitman, L., 1948. The effect of artificial blood meals containing the Hydroxynaphthagunnone M 2279 on the developmental cycle of *Plasmodium gallinacearum* in *Aedes aegypti*. Journal of Infectious Disease, 82, 251–255.

17- Wills, W., D. F. Carrol & G. E. Jones, 1974. A simple method for artificially feeding mosquitoes. Mosquito News, 34, 119–121.

18- Wirts, R. A. & L. C. Rutledg, 1980. Reconstituted collagen sausage casing for the bloog feeding of mosquitoes. Journal of Medical Entomology, 40 (2): 287 – 288.

Journal of Entomological Society of Iran. 21 (1), 2001

Introducing a Portable Apparatus for Artificial Feeding of *Anopheles stephensi*

K. Akbarzade[1], H. Ladonni[1] and M. Shaeghi[1]

Abstract

Since the earliest 20th. century (the first use of artificial feeding technique) various apparatuses was made .This technique was used for arthropod rearing and also parasitological studies e.g. inoculation of parasites and study of their life cycle ,survey of various drugs on parasites etc. A new portable apparatus has desined with simple construction at the insectry of Public Health School of Tehran University of Medical Science. This apparatus was enabled to run a wide range of voltage such as automobile electricity in field. Attraction of *Anopheles stephensi* Tehran insectry strain to this apparatus with four kind of blood was evaluate the technique's efficiensy in comparison to natural blood feeding of Guinea pig which is an usual method. It was revealed that the greatest attraction for defibrinated sheep blood was (13 ± 3) that has no significant difference (Pvalue < 0.05) with natural blood feeding (13 ± 0.57) and the least a ttraction was with citrated sheep blood (9/33 ± 0/33). This apparatus with defibrinated sheep blood may be considered as an alternative of natural blood feeding.

Key words: Artificial feeding, *Anopheles stephensi.*

1- Medical Entomology Department, School of Publichealth, Tehran University of Medical Sciences. Tehran, Iran.