Journal of Military Medicine
2023, Volume 25, Issue 2
Pages: 1752-1765
10.30491/JMM.2023.1006372.0

Aedes Mosquitoes, Arbovirus Vectors Rearing: A Review Study

Mehdi Khoobdel [1], Mohammad Moradi [1*]

[1] *Health Research Center, Lifestyle Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Received: 28 December 2022 **Accepted:** 21 May 2023

Abstract

Aedes mosquitoes are very important due to the transmission of dangerous arboviral diseases. Dengue Fever, Yellow fever, Chikungunya, and Zika are some of these diseases, which have become a global public health concern in recent years. Vector control is a key strategy against these diseases, and numerous research is conducted on the vectors of these diseases, which require the rearing of the vector in controlled laboratory conditions. Temperature, humidity, and light are considered the most important factors in insect rearing. These factors are adjusted in the insectary based on the selected species. Insectary, the insect reproduction laboratory, is a sensitive place, and significant attention must be paid to its cleanliness of it. Moreover, the probability of insects escaping from the colony should be reduced to zero. The life cycle of Aedes mosquitoes includes four stages: egg, larva, pupa, and adult. Knowing the biology and behavior of mosquitoes in each stage helps us in the rearing process. The mosquitoes of the genus Aedes are different from the other genera, in terms of egg-laying and blood-feeding patterns, resulting in a more complicated rearing process of this genus. The present study investigates the design of the insectary and the rearing process of Aedes mosquitoes, including egg hatching, larval rearing, pupa sorting and rearing, adult rearing, egg collection, and egg storage.

Keywords: Mosquito Rearing, Aedes, Insectary, Arbovirus.

*Corresponding author: **Mohammad Moradi,** Email: mmoradi7a@yahoo.com

مجله طب نظامی
دوره ۲۵، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۴۰۲
صفحات: ۱۷۶۵-۱۷۵۲
10.30491/JMM.2023.1006372.0

مروری بر پرورش پشه‌های آئدس؛ ناقلین آربوویروس‌ها

مهدی خوبدل[۱]، محمد مرادی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات بهداشت و تغذیه، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

چکیده

پشه‌های جنس آئدس به دلیل انتقال بیماری‌های خطرناک آربوویروسی اهمیت زیادی دارند. تب دانگ، زیکا، چیکونگونیا و تب زرد از جمله این بیماری‌ها هستند که در سال‌های اخیر به نگرانی جهانی در حوزه بهداشت و پزشکی تبدیل شده‌اند. کنترل ناقل در مقابله با این بیماری‌ها یک راهبرد کلیدی است و تحقیقات زیادی بر روی ناقلین این بیماری‌ها صورت می‌گیرد که این تحقیقات نیازمند پرورش ناقل در شرایط آزمایشگاهی قابل کنترل است. مهمترین عوامل فیزیکی در پرورش حشرات شامل دما، رطوبت و نور می‌باشند. این عوامل در انسکتاریوم بر اساس حشره مورد نظر تنظیم می‌شوند. انسکتاریوم محیط حساسی بوده و در طراحی آن باید نظافت و جلوگیری از آلودگی و حمله آفات و همچنین خروج و فرار حشرات پرورش یافته از کلنی در نظر گرفته شوند. چرخه زندگی پشه‌های آئدس شامل چهار مرحله تخم، لارو، شفیره و بالغ است که آشنایی با زیست‌شناسی و رفتار پشه در هر یک از مراحل در فرایند پرورش به ما کمک می‌کند. پشه‌های جنس آئدس از نظر نحوه تخم‌گذاری و خونخواری با سایر جنس‌های پشه‌ها تفاوت داشته و فرایند پرورش آن‌ها پیچیده‌تر است. در مطالعه حاضر طراحی انسکتاریوم و فرایند پرورش پشه‌های آئدس شامل تفریخ تخم، پرورش لارو، جداسازی و پرورش شفیره، پرورش بالغ، جمع‌آوری و ذخیره تخم مورد بررسی قرار می‌گیرد.

کلیدواژه‌ها: پشه آئدس، پرورش حشرات، انسکتاریوم، آربوویروس.

*نویسنده مسئول: **محمد مرادی.** پست الکترونیک: mmoradi7a@yahoo.com
دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱

مقدمه

پشه‌ها از راسته دوبالان، زیرراسته نماتوسرا و خانواده کولیسیده هستند (۱). خانواده کولیسیده به دلیل آزار و اذیت ناشی از گزش و همچنین نقشی که در انتقال بیماری‌ها دارند از نظر پزشکی و بهداشت دارای اهمیت هستند (۲). خانواده کولیسیده شامل ۳۵۶۳ گونه است (۳). از این خانواده تاکنون در ایران ۷۰ گونه شناسایی شده است که به جنس‌های آنوفل، کولکس و آئدس تعلق دارند (۴). جنس آئدس به دلیل انتقال بیماری‌های خطرناک آربوویروسی مانند تب دانگ، زیکا، چیکونگونیا و تب زرد اهمیت زیادی دارد. از این جنس در ایران تا کنون ۱۳ گونه از جمله آئدس اجیپتی و آئدس آلبوپیکتوس که مهمترین ناقلین آربوویروس‌ها هستند گزارش شده است (۷-۵). نگرانی درباره جنس آئدس بویژه دو گونه آئدس اجیپتی و آئدس آلبوپیکتوس به دلیل انتقال بیماری‌های خطرناک آربوویروسی در سطح جهانی رو به افزایش است (۸).

در سال‌های اخیر اپیدمی‌هایی از بیماری‌های آربوویروسی از جمله تب دانگ، چیکونگونیا و تب نیل غربی در پاکستان، تب دانگ و تب دره ریفت در عربستان و تب نیل غربی در عراق رخ داده و کشور ایران در معرض خطر این بیماری‌ها قرار دارد (۹،۱۰). البته حضور و انتشار دو گونه خطرناک آئدس اجیپتی و آئدس آلبوپیکتوس، در سال‌های اخیر در مناطق جنوبی ایران به اثبات رسیده است که یک زنگ خطر جدی بوده و می‌تواند به عنوان تهدید زیستی مطرح باشد (۱۱،۱۲).

برای بیشتر بیماری‌های آربوویروسی واکسن مؤثری وجود ندارد و کنترل ناقل در مقابله با این بیماری‌ها یک راهبرد کلیدی است (۱۳،۱۴). برای کنترل ناقلین باید بر روی آن‌ها تحقیقات زیادی صورت گیرد تا روش‌های کنترل مناسب انتخاب شوند. این تحقیقات با پرورش کلنی‌های آزمایشگاهی در انسکتاریوم امکان پذیر است (۱۵). انسکتاریوم محلی برای پرورش و نگهداری حشرات در شرایط آزمایشگاهی قابل کنترل است (۱۶). از پشه‌های پرورش یافته در انسکتاریوم برای مطالعه زیست‌شناسی ناقل، برهمکنش ناقل و انگل، حساسیت به حشره کش‌ها، مطالعه بر روی واکسن و انجام تست‌های دورکنندگی و حفاظت‌دهی استفاده می‌شود (۲۰-۱۷). همچنین روش‌هایی مانند نرعقیمی، آلوده کردن جنس نر با باکتری و دستکاری ژنتیکی، بر پایه پرورش و رهاسازی تعداد زیادی پشه نر هستند (۲۴-۲۱).

پرورش و نگهداری موفقیت‌آمیز بستگی به فراهم کردن شرایط مناسب برای هر مرحله از زندگی پشه دارد و دارای الزامات اختصاصی برای هر گونه است (۲۵). پرورش و نگهداری کلنی یک فرایند فشرده بوده و نیازمند دقت به جزییات و ثبت اطلاعات است. انجام دقیق و کامل فرایند پرورش منجر به تولید پشه‌های مناسب برای انجام سایر آزمایشات خواهد شد (۱۸). به عنوان مثال در بحث استفاده از پشه‌ها برای تکنیک نرعقیمی، کیفیت جمعیت پرورش‌یافته اهمیت زیادی دارد و نرهای تولید شده باید توانایی رقابت با جمعیت وحشی را داشته باشند (۲۶). گونه‌های مختلف آئدس در زیستگاه‌های متفاوت دیده می‌شوند. تغذیه لارو، رفتار جفت‌گیری، ترجیح خونخواری و محل تخم‌گذاری نیز برای هر گونه متمایز است. بنابرین نمی‌توان روش پرورش یکنواختی را برای همه‌ی گونه‌ها در نظر گرفت. همچنین نحوه پرورش با توجه به هدف استفاده از پشه‌های تولید شده، متفاوت است (۱۶). با توجه به نوظهوری دو گونه آئدس اجیپتی و آئدس آلبوپیکتوس در ایران و انتشار و تأسیس جمعیت آن‌ها در مناطق جنوبی، مطالعات بسیار زیادی در سال‌های آتی بر روی آن‌ها توسط محققین کشور صورت خواهد گرفت. برای این منظور نیازمند پرورش آزمایشگاهی این گونه‌ها در مکان‌های تخصصی پرورش حشرات (انسکتاریوم) خواهیم بود. مطالعه حاضر با هدف مرور روش پرورش پشه‌ها با تاکید بر جنس آئدس و ارائه نکات و جزییات مربوط به آن به رشته تحریر در آمد.

طراحی انسکتاریوم

ساختمان انسکتاریوم شامل اتاق پرورش لارو و اتاق پرورش بالغ هر یک با مساحت ۲۰ مترمربع، اتاق نگهداری حیوان آزمایشگاهی، اتاق قرنطینه، رختکن، اتاق شست و شو و دفتر کار مسئول انسکتاریوم، هر یک با مساحت ۱۰ متر مربع، انبار برای نگهداری مواد و تجهیزات مصرفی با مساحت ۱۵ متر مربع و آزمایشگاه با مساحت ۲۰ متر مربع است. البته مساحت اتاق‌ها و بویژه اتاق پرورش با توجه به هدف مورد نظر تعیین می‌گردد و مقادیر ذکر شده برای انسکتاریوم جهت امور تحقیقاتی است. رعایت نکات زیر در طراحی انسکتاریوم ضروری است:

با توجه به شرایط رطوبتی و دمایی که در انسکتاریوم وجود دارد، ساختمان انسکتاریوم و مصالح به کار رفته در آن باید نسبت به حرارت و رطوبت مقاوم باشند. برای کنترل بهتر نور و دما باید اتاق پرورش بدون پنجره باشد و دیواره خارجی آن به طور مستقیم با محیط بیرون در ارتباط نباشد. اتاق پرورش مختص یک گونه بوده و باید به سایر حشرات غیر قابل نفوذ باشد و کف و دیواره‌های آن بدون درز و سوراخ باشند. تجهیزات مورد استفاده در انسکتاریوم باید از جنس فلز ضد زنگ، فایبرگلاس و یا پلاستیک باشند. قفسه‌ها باید دارای چرخ و قابل جابجایی و باز شدن و شست و شو باشند. قفسه‌ها باید فاقد درز و سوراخ باشند. طبقه‌بندی قفسه‌ها باید متناسب با اندازه قفس پرورش بالغ و ظرف پرورش لارو باشد، کلیه تجهیزات موجود در انسکتاریوم باید قابل جابجایی باشند (۱۵).

شرایط محیطی

دما، رطوبت و نور سه عامل مهم و مؤثر بر روی تمام مراحل زندگی پشه‌ها می‌باشند، این عوامل باید بر اساس گونه تنظیم و مرتباً بررسی و ثبت شوند (۱۶). برای تنظیم دما می‌توان از هیتر اتوماتیک مجهز به سنسور حرارتی استفاده کرد. هوای گرم باید در

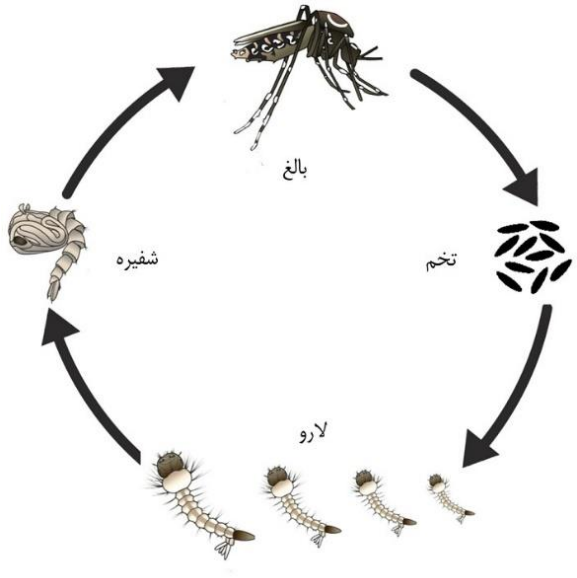
تمام فضای انسکتاریوم جریان داشته باشد، به طوری که دما در طبقات یکسان باشد (۲۷). دمای ثابت مهمترین عامل محیطی در انسکتاریوم است (۲۸). دمای ۱ ± ۲۶ درجه سانتی‌گراد برای پرورش آئدس توصیه شده است (۳۱-۲۹).

با توجه به آبزی بودن لارو و شفیره، رطوبت بیشتر در مرحله بالغ اهمیت دارد و برای مراحل لارو و شفیره تنها باعث جلوگیری از تبخیر آب موجود در ظرف نگهداری آن‌ها می‌شود. البته رطوبت خیلی زیاد هم برای بالغ مضر است و رطوبت مناسب برای پرورش آئدس ۵ ± ۷۰ درصد است (۳۰). برای تنظیم رطوبت انسکتاریوم می‌توان از دستگاه بخارساز اتوماتیک استفاده کرد (۲۸).

دوره روشنایی و همچنین شدت نور در مراحل مختلف زندگی پشه از جمله جفت‌گیری، تغذیه، تخم‌گذاری و مرحله شفیره تأثیر دارد. دوره روشنایی را با لامپ‌های تایمردار می‌توان تنظیم کرد. تنظیم دوره روشنایی بهتر است به گونه‌ای باشد که در ابتدای روز به مدت نیم ساعت به صورت گرگ و میش باشد و سپس به تدریج روشنایی افزایش یابد و در انتهای روز نیز به مدت نیم ساعت گرگ و میش و سپس به تدریج تاریک شود (۲۹). به این ترتیب طلوع و غروب خورشید شبیه‌سازی می‌شود و این نکته در جفت‌گیری پشه‌ها اهمیت دارد (۱۶). دوره روشنایی و تاریکی مناسب برای پرورش آئدس به صورت ۱۲:۱۲ است (۳۱).

رفتار و زیست‌شناسی پشه‌های‌آئدس

آگاهی از رفتار و زیست‌شناسی پشه‌های آئدس نقش مهمی در راه اندازی انسکتاریوم دارد و در انتخاب ظرف تخم‌گذاری، تغذیه لارو و نحوه خوندهی و انتخاب شرایط محیطی مناسب به ما کمک می‌کند. چرخه زندگی پشه‌های آئدس شامل چهار مرحله تخم، لارو، شفیره و بالغ است (شکل ۱). مراحل تخم، لارو و شفیره در محیط آبی طی می‌شوند (۱۴).



شکل-۱. چرخه زندگی پشه آئدس که شامل تخم، چهار سن لاروی، شفیره و بالغ می‌باشد (۳۲).

تخم

پشه بالغ ماده تخم‌های خود را به صورت منفرد بر روی سطح جداره داخلی ظروف و در بالاتر از سطح آب قرار می‌دهد. تخم پشه‌های آئدس تقریبا یک میلیمتر طول و ۰/۲۵ میلی‌متر قطر دارد و دارای پوسته سخت سیاه رنگ به نام کوریون است که نقش حفاظتی و تبادل گاز را بر عهده دارد. پوسته خارجی تخم دارای طرح موزاییکی است که در گونه‌های مختلف، الگوهای متفاوتی دارد (۱۶).

لارو

لارو پشه آبزی است و در خشکی از بین می‌رود. لارو آئدس فرصت طلب و همه چیزخوار است و با استفاده از سیفون کوتاه و پهن خود از سطح آب تنفس می‌کند. غذای لارو شامل بقایای مواد آلی، باکتری، قارچ و جلبک است. لارو پس از چهار بار پوست اندازی و طی کردن چهار سن لاروی به شفیره تبدیل می‌شود (۳۳).

شفیره

شفیره به صورت منحنی کوتاه و با سر بزرگ است. مرحله شفیره هم آبزی است اما روی سطوح مرطوب نیز زنده می‌ماند. شفیره تغذیه ندارد اما تحرک زیادی در آب، بویژه در زمان استرس دارد. تنفس شفیره با استفاده از شیپور تنفسی در سطح آب انجام می‌شود. تغییرات ساختاری و متابولیکی در مرحله شفیره رخ می‌دهد و بدن برای زیستگاه خارج از آب آماده می‌شود و بال، پرزها و قطعات دهانی و سایر ساختارهای سطحی و داخلی در طول دو تا سه روز تشکیل می‌شوند و شفیره به سطح آب رفته و تبدیل به بالغ می‌شود (۱۶).

بالغ

پس از ظاهر شدن بالغ تکامل اندام‌ها برای زندگی در محیط خشکی ادامه می‌یابد و با چرخش اندام تناسلی در نر، جفت‌گیری انجام می‌شود و اسپرم در اسپرماتک ماده ذخیره شده و برای تلقیح تخم‌ها در طول عمر ماده استفاده می‌شود. پشه بالغ از کربوهیدرات یا قندهای ساده برای تغذیه استفاده می‌کند. در بیشتر گونه‌ها پشه ماده برای تکامل تخم نیاز به خونخواری دارد. برخی گونه‌ها برای خونخواری میزبان اختصاصی دارند و برخی هم از طیف وسیعی از میزبان‌ها خونخواری می‌کنند. پس از خونخواری، تخم‌ها برای تکامل به ۳ تا ۵ روز زمان نیاز دارند و پس از آن تخم‌گذاری انجام می‌شود. محل تخم‌گذاری در گونه‌های مختلف متفاوت است و برخی گونه‌ها در سطح خاک مرطوب و برخی در سطح چوب دارای سوراخ و برخی نیز در سطح آب تخم‌گذاری می‌کنند (۱۸).

فرایند پرورش

پرورش بالغ

پرورش مرحله بالغ پشه در داخل قفس به شکل مکعب مربع و با چهارچوب آلومینیومی با ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر که با توری فلزی در پنج سمت و توری پارچه‌ای دارای آستین و دریچه در یک سمت پوشیده شده است، انجام می‌شود (شکل ۲). مش توری مورد استفاده باید کمتر از ۱/۱ میلی‌متر باشد. برای تغذیه بالغ نر و ماده از پنبه آغشته به آب قند ۱۰ درصد استفاده می‌شود. برای این منظور باید ۱۰۰ گرم شکر را در یک لیتر آب حل کرده و مقداری از آب قند و پنبه را در ظرف کوچک ریخته و آن را در داخل قفس قرار داد. برای جلوگیری از آلودگی قارچی و کپک زدن، ظرف حاوی آب قند و پنبه‌ی آغشته باید به صورت روزانه تعویض شوند (۱۷). همچنین ماده‌ها برای تخم‌گذاری نیاز به خونخواری دارند. خوندهی به پشه بالغ ماده به دو صورت طبیعی (استفاده از حیوان زنده) و یا مصنوعی انجام می‌شود.

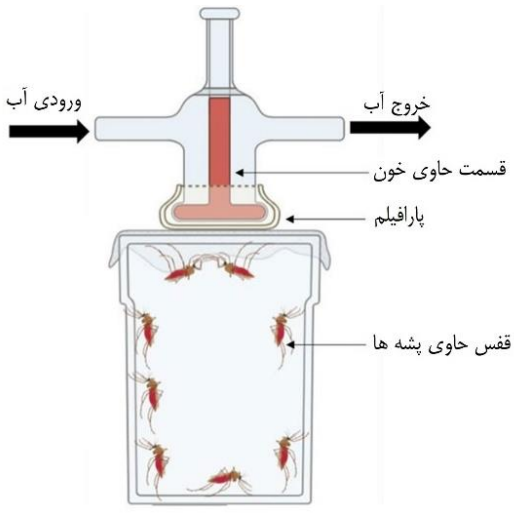
شکل-۲. قفس پرورش پشه بالغ (نگارنده)

خوندهی مصنوعی

در خوندهی مصنوعی می‌توان از ورق آلومینیومی با ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر و ضخامت ۳ میلی‌متر و پارافیلم استفاده کرد و یک طرف ورق آلومینیومی را با پارافیلم پوشانده و فضای بین پارافیلم و ورق آلومینیومی را با خون پر کرده و آن را روی قفس حاوی پشه‌های بالغ قرار داد (شکل ۳). برای جلب شدن بهتر پشه‌ها می‌توان یک کیسه آب گرم را هم روی ورق آلومینیومی قرار داد (۳۰).

در روش دیگری از خوندهی مصنوعی که در تولید انبوه پشه‌ها کاربرد دارد از محفظه شیشه‌ای با دو فضای مجزا استفاده می‌شود. در قسمت بالای این محفظه آب با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد که از داخل بن ماری پمپاژ می‌شود جریان دارد و قسمت پایینی که کف آن با پارافیلم پوشیده شده است، حاوی خون است که به صورت شماتیک در شکل ۴ نشان داده شده است. در این مدل می‌توان

شکل-۳. اجزا و وسایل مورد نیاز برای خوندهی مصنوعی شامل ورق آلومینیومی (۱) که با پارافیلم (۲) پوشیده شده و فضای بین آن‌ها با خون پر شده (۳) و همراه با کیسه آب گرم (۴) بر روی قفس حاوی پشه‌های بالغ (۵) قرار گرفته است (۳۰).



شکل-۴. نمای شماتیک سیستم خوندهی مصنوعی شامل ظرف شیشه‌ای با جریان آب در قسمت بالا و خون و غشای پارافیلمی در قسمت پایین که بر روی قفس حاوی پشه‌ها قرار گرفته است (۳۴).

شکل-۵. خوندهی مصنوعی با جریان آب و محفظه حاوی خون و پوشش پارافیلم (۳۴).

با اتصال محفظه‌ها به وسیله لوله پلاستیکی حاوی آب در حال جریان مانند شکل ۵ برای چند قفس به صورت همزمان خوندهی را انجام داد (۳۴). خون مورد نیاز در این روش را می‌توان با خونگیری از حیوان آزمایشگاهی غیر آلوده و یا منابع معتبر مانند سازمان انتقال خون و کشتارگاه تهیه کرده و پس از ریختن آن به لوله وکیوم ادتا که حاوی عامل ضد انعقادی EDTA است مورد استفاده قرار داد. همچنین خون دفیبرینه شده گوسفند را می‌توان در خوندهی مصنوعی به کار برد (۱۸).

خوندهی با استفاده از موش کوچک آزمایشگاهی

متداول‌ترین حیوان مورد استفاده در خوندهی طبیعی به پشه‌های آئدس، موش کوچک آزمایشگاهی (سوری) است. در این روش موش سوری با گرفتن دم از قفس خارج و برای مقید کردن روی میله‌های قفس قرار داده می‌شود و پوست پشت سر و گردن آن همراه با قاعده گوش‌ها به صورت مطمئن ولی با آرامش گرفته می‌شود تا سر موش کنترل شود و به این ترتیب از گاز گرفتن آن جلوگیری گردد. سپس موش برداشته شده و دم آن بین کف دست و انگشت کوچک گرفته می‌شود و بیهوشی با تزریق ترکیب دو داروی کتامین با دز ۱۰۰-۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلزین با دز ۱۰-۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی یعنی از سمت چپ یک چهارم خلفی قسمت شکمی و با زاویه ۴۵ درجه انجام می‌شود (۳۵). سپس موش بی هوش شده بر روی قفس پرورش بالغ قرار می‌گیرد تا خونخواری صورت گیرد (شکل ۶). پس از به هوش آمدن موش باید آن را برای ریکاوری به اتاقی غیر از اتاق نگهداری منتقل نموده و در قفس بدون پوشال (برای جلوگیری از خفه شدن به دلیل وضعیت بدنی) تا زمان برگشت به وضعیت طبیعی مورد ارزیابی قرار داد و سپس آن را به قفس نگهداری منتقل کرده و بلافاصله غذا و آب در اختیار آن قرار داد (۳۵).

خوندهی با استفاده از خوکچه هندی

حیوان آزمایشگاهی دیگری که برای خوندهی پشه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد خوکچه هندی است. برای خوندهی پشه‌ها به وسیله خوکچه هندی ابتدا باید مقیدسازی صورت گیرد. برای این کار یک دست از پشت یا جلو به دور قفسه سینه حلقه شده و با دست دیگر اندام‌های خلفی حیوان نگه داشته می‌شود (۳۵). پس از مقیدسازی خوکچه هندی بر روی شکم و در بالای قفس پرورش پشه بالغ قرار داده می‌شود و با استفاده از یک نگه‌دارنده به مدت ۱۵ دقیقه بر روی قفس بسته می‌شود تا خونخواری صورت گیرد (شکل ۷). برای خونخواری بهتر می‌توان موهای شکم خوکچه را کوتاه کرد.

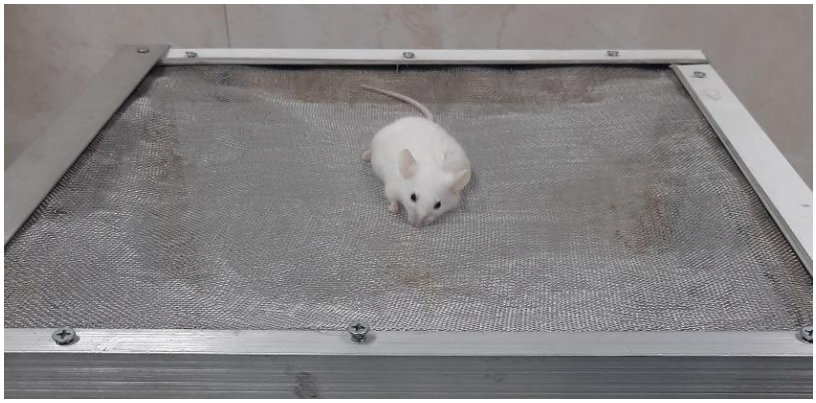
در هر دو روش خوندهی مصنوعی و طبیعی باید یک روز قبل از خوندهی ظرف آب قند از داخل قفس برداشته شود (۳۱،۳۶). عدم خونخواری می‌تواند به دلیل سن کم بالغ، ضعیف بودن آن و یا داشتن ترجیح خونخواری باشد (۱۶). برای جلوگیری از آلوده شدن کف قفس با خون و مو و فضولات حیوان، بهتر است در زمان خوندهی در کف قفس کاغذ قرار داده شود و پس از خوندهی دفع گردد. خوندهی به صورت دو بار در هفته انجام می‌شود.

نگهداری حیوان آزمایشگاهی مورد نیاز برای خوندهی

شرایط نگهداری موش کوچک آزمایشگاهی و خوکچه هندی تقریباً مشابه بوده و در قفس پرورش از جنس پلی بی‌کربنات در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۵-۴۵ درصد و دوره روشنایی و تاریکی به صورت ۱۲:۱۲ انجام می‌شود. حداکثر نور مجاز محیط ۳۵۰ لوکس است (۳۵). حداقل ابعاد قفس و فضای مجاز جهت نگهداری موش کوچک آزمایشگاهی و خوکچه هندی در جدول ۱ نشان داده شده است (۳۵). غذا از نوع پلت تجاری و آب به صورت نامحدود در دسترس حیوان قرار می‌گیرد. در رژیم غذایی خوکچه هندی باید هفته‌ای سه نوبت ویتامین ث به صورت محلول در آب با غلظت یک گرم بر لیتر گنجانده شود. ظرف آبخوری باید هفته‌ای یک بار کاملاً شسته شود. از پوشال چوب الک شده بدون خاک اره برای بستر استفاده می‌شود که این بستر باید هفته‌ای دو بار تعویض گردد.

ملاحظات اخلاقی در استفاده از حیوان زنده برای خوندهی

هر دو روش خوندهی مصنوعی و استفاده از حیوان زنده دارای مزایا و معایبی است. هرچند در خوندهی مصنوعی تهیه خون مورد نیاز مطمئن و غیرآلوده دشوار است اما با توجه به اهمیت استفاده از روش‌های جایگزین حیوانات در اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی، خوندهی مصنوعی بر استفاده از حیوان زنده ترجیح داده می‌شود (۲۳،۳۷). در صورت استفاده از حیوان زنده باید تمام اصول اخلاقی و حقوق حیوان رعایت گردد و محل نگهداری آن آرام و دارای دما، رطوبت، نور و تهویه مناسب باشد. سیستم گرمایشی و تهویه و سایر تاسیسات باید کمترین مزاحمت را برای حیوان ایجاد کنند و برای تعمیرات نیازی به ورود به محل نگهداری نباشد (۳۸). در فرایند خوندهی باید از هر حیوان برای حداکثر ۱۰۰ پشه استفاده کرد و به طور مداوم از یک حیوان برای خوندهی



شکل-۶. خوندهی با استفاده از موش کوچک آزمایشگاهی (نگارنده)

شکل-۷. خوندهی با استفاده از خوکچه هندی: ۱. خوکچه بر روی قفس حاوی پشه‌های بالغ قرار می‌گیرد، ۲. محفظه نگه‌دارنده بر روی خوکچه قرار می‌گیرد، ۳. نگه‌دارنده حاوی خوکچه هندی بر روی قفس بسته می‌شود (نگارنده).

جدول-۱. حداقل ابعاد قفس و فضای نگهداری حیوان آزمایشگاهی (۳۵)

حیوان مورد استفاده	وزن بدن (گرم)	حداقل سایز قفس (سانتی‌متر مربع)	مساحت کف قفس به ازای هر حیوان (سانتی‌متر مربع)	حداقل ارتفاع قفس (سانتی‌متر)
موش کوچک آزمایشگاهی	حداکثر ۲۰	۳۳۰	۶۰	۱۲
	۲۰ تا ۲۵	۳۳۰	۷۰	۱۲
	۲۵ تا ۳۰	۳۳۰	۸۰	۱۲
	بیش از ۳۰	۳۳۰	۱۰۰	۱۲
خوکچه هندی	حداکثر ۲۰۰	۱۸۰۰	۲۰۰	۲۳
	۲۰۰ تا ۳۰۰	۱۸۰۰	۳۵۰	۲۳
	۳۰۰ تا ۴۵۰	۱۸۰۰	۵۰۰	۲۳
	۴۵۰ تا ۷۰۰	۲۵۰۰	۷۰۰	۲۳
	بیش از ۷۰۰	۲۵۰۰	۹۰۰	۲۳

استفاده نشود. همچنین با توجه به اینکه استفاده از خوکچه هندی نیازی به اعمال بیهوشی ندارد و از نظر اخلاقی غیر تهاجمی‌تر است به موش کوچک آزمایشگاهی ترجیح داده می‌شود، مگر اینکه پشه‌های مورد نظر از آن خونخواری نکنند. نگهدارنده‌ای که برای بستن خوکچه هندی بر روی قفس پرورش بالغ استفاده می‌شود باید متناسب با اندازه بدن حیوان باشد و به بدن آن آسیب نرساند.

جمع‌آوری تخم

تخم‌گذاری از روز سوم پس از خونخواری آغاز می‌شود و به مدت دو روز طول می‌کشد و به تدریج کاهش می‌یابد. پشه ماده در ظرف سیاه حاوی آب و کاغذ صافی تخم‌گذاری می‌کند. به منظور

شکل-۸. ظرف تخم‌گذاری حاوی آب و کاغذ صافی (۱۸).

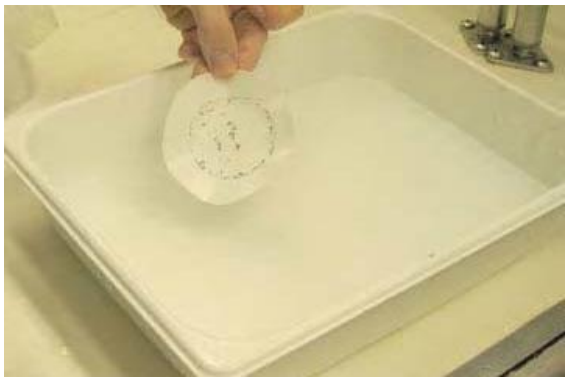
شکل-۹. تخم گذاری پشه آئدس در محل تماس کاغذ صافی با سطح آب (۲۹).

شکل-۱۰. نگهداری کاغذ صافی حاوی تخم در ظرف در بسته به منظور تکمیل دوره جنینی (۲۹).

جمع‌آوری تخم، دو روز پس از خوندهی ظرف پلاستیکی سیاه رنگ حاوی آب و کاغذ صافی مانند شکل ۸ در داخل قفس قرار داده می‌شود (۳۱). ظرف تخم‌گذاری باید دارای برچسب حاوی مشخصات گونه و تاریخ و ساعت باشد. هر پشه ماده حدود ۱۰۰ تا۱۵۰ تخم را به صورت انفرادی در محل تماس کاغذ با سطح آب (شکل ۹) قرار می‌دهد (۳۶). پس از تخم‌گذاری ظرف از داخل قفس خارج و در دمای اتاق نگهداری می‌شود تا دوره جنینی تخم‌ها طی شود و پس از آن کاغذ حاوی تخم در آب غوطه‌ور می‌شود تا تفریخ صورت گیرد (۱۶).

تفریخ تخم

پس از تخم‌گذاری به منظور تکامل جنین باید تخم به مدت ۳۶-۷۲ ساعت در رطوبت ۱۰۰-۸۰ درصد قرار گیرد. برای این منظور باید کاغذ صافی حاوی تخم را در ظرف در بسته، مانند شکل ۱۰ نگهداری و پس از ۳ روز آن را در ظرف لارو حاوی آب قرار داد تا تخم‌ها با غوطه‌ور شدن در آب تفریخ شوند (شکل ۱۱). در شرایط مطلوب ۸۰-۷۰ درصد تخم‌ها تفریخ خواهند شد. میزان تفریخ تخم تحت تأثیر محلول تخم‌گذاری است و تفریخ تخم در آب داکسیژنه و همچنین آب حاوی غذای لاروی سریع‌تر انجام می‌شود (۳۹). بنابرین می‌توان مقداری غذای لارو را در آب حل کرده و به ظرف لارو اضافه کرد. تفریخ تخم در برخی گونه‌ها در یک دوره نوری خاص انجام می شود، برخی گونه‌ها نیز به یک دوره سرما نیاز دارند. این ویژگی‌ها به زیستگاه بومی گونه‌ها بستگی



شکل-۱۱. نحوه قرار دادن کاغذ صافی حاوی تخم در ظرف لارو جهت تفریخ (۲۷).

دارند، به طور مثال گونه‌هایی که بومی محیط‌های خشک هستند به خشکی مقاوم‌تر می‌باشند (۱۶).

ذخیره تخم

مقاومت تخم در برابر خشکی می‌تواند به ذخیره آن به مدت طولانی کمک کند (۱۶). ذخیره تخم در فرایند پرورش آئدس یک نکته کلیدی است. برای ذخیره کردن تخم، کاغذ حاوی تخم در داخل کیسه در بسته قرار داده شده و در ظرف سیاه نگهداری می‌شود (شکل ۱۲). رطوبت محل نگهداری تخم باید به گونه‌ای باشد که کاملاً خشک نشوند و تفریخ هم نشوند (۳۰). در این شرایط تخم آئدس اجیبتی ۳ تا ۶ ماه و تخم آئدس آلبوپیکتوس ۱ تا ۲ ماه با قابلیت تفریخ شدن باقی می‌ماند (۱۸).

شکل-۱۲. ذخیره کردن تخم با قرار دادن کاغذ صافی در کیسه زیپ‌دار و نگهداری در ظرف سیاه در بسته (۲۹).

پرورش لارو

برای نگهداری لارو از ظرف لعابی سفید حاوی آب مقطر استفاده می‌شود. ظروف چهارگوش به دلیل منظم بودن و استفاده حداکثری از فضای روی قفسه‌ها مناسب‌ترند (شکل ۱۳). ظروف با ابعاد ۵×۲۵×۳۰ سانتی‌متر به طوری که آب تا عمق ۴ سانتی‌متری آن پر شود، برای نگهداری ۳۰۰ عدد لارو مناسب هستند. تعداد کمتر باعث رشد بهتر لاروها می‌شود. برای جلوگیری از فرار پشه‌های بالغ شده و ورود سایر حشرات باید روی ظرف لارو با توری با مش کمتر از ۱/۱ میلی‌متر پوشیده شود (۱۶).

برای تغذیه لارو می‌توان از غذای آماده ماهی که به صورت گرانولی است استفاده کرد و یا اینکه جگر مرغ را به صورت ورقه‌های نازک برش داده و سپس آن را با قرار دادن در دستگاه فور با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت خشک کرد و همراه با غذای خشک جوندگان که به صورت پلت می‌باشد به نسبت ۱ به ۳ در میکسر مخلوط و از پودر به دست آمده به عنوان غذای لارو استفاده کرد. مقدار غذای روزانه برای هر ظرف حاوی ۳۰۰ لارو، ۲۰۰ میلی‌گرم است. مقدار غذای کم باعث ضعیف شدن لاروها و مقدار زیاد نیز باعث کدر و چرب شدن آب می‌شود که در این صورت باید چربی از سطح آب برداشته شود. همچنین برای جلوگیری از جمع شدن چربی در سطح آب می‌توان مقداری از آب ظرف را با آب جدید با دمای یکسان جایگزین کرد (۱۸-۱۶). در صورت وجود لاروهای غیر همسن در یک ظرف بایستی جداسازی صورت گیرد تا از همخواری آن‌ها جلوگیری شود. برای این منظور بایستی ظرف لارو را به صورت روزانه بررسی کرده و در صورت وجود لارو بزرگتر، آن را با پیپت پلاستیکی (قطره چکان) برداشته و به ظرف دیگر منتقل کرد. طول بدن در لارو سن یک حدود ۱ تا ۱/۵ میلی‌متر، در سن دو حدود ۱/۵ تا ۳ میلی‌متر ، در لارو سن سه حدود ۳ تا ۵ میلی‌متر و در لارو سن چهار حدود ۶ تا ۷ میلی‌متر است (۱۸).

جداسازی و پرورش شفیره

در طول دوره لاروی باید شفیره‌ها را با توجه به شکل متفاوت از لارو و رنگ تیره‌تر و با استفاده از قطره چکان جدا کرده و آن‌ها را به ظرف مخصوص شفیره منتقل و در داخل قفس پرورش بالغ قرار داد. در زمان جداسازی بر خلاف لاروها که تحریک شده و

شکل-۱۳. قفسه حاوی ظروف پرورش لارو (نگارنده)

شکل-۱۴. جداسازی شفیره از لارو با استفاده از قطره چکان (۱۸).

حرکات سریع به زیر آب و وسط ظرف دارند، شفیره‌ها به کناره‌های ظرف و سطح آب می‌روند و با استفاده از قطره چکان (شکل ۱۴) می‌توان آن‌ها را برداشت و به ظرف مخصوص شفیره منتقل کرد (۱۸). ظرف پلاستیکی سفید با ابعاد ۸×۱۰×۱۰ سانتی‌متر برای تعداد ۱۰۰ شفیره مناسب است. بر روی ظرف باید تاریخ تفریخ و گونه درج شود (۱۸). در مطالعاتی که جداسازی نر و ماده اهمیت دارد می‌توان از مرحله شفیره استفاده کرد زیرا شفیره ماده از شفیره نر بزرگتر بوده و با توجه به این اختلاف سایز می‌توان جداسازی را انجام داد (۱۶).

نظافت انسکتاریوم

نظافت انسکتاریوم برای تولید پشه‌های سالم و نتایج تحقیقاتی خوب اهمیت دارد. انسکتاریوم محیط حساسی بوده و در خطر آلودگی با قارچ، باکتری و ... است که می‌توانند از طریق آب و هوا منتقل شوند و با توجه به شرایط دمایی و رطوبتی انسکتاریوم سریعاً تکثیر یابند. نظافت انسکتاریوم باید به صورت مداوم صورت گیرد. شست و شوی قفسه‌ها و ظرف لارو و قفس پرورش بالغ‌ها بهتر است در اتاق مخصوص شست و شو انجام شود. ظروف پس از شست و شو بایستی خشک شوند. غذای لارو و آب قند اضافی بایستی در یخچال نگهداری شوند. غذاهای قدیمی و جدید نباید با هم مخلوط شوند. پنبه و آب قند مورد استفاده برای بالغ باید به صورت مرتب تعویض شوند. مواد و وسایل مورد استفاده باید در ظروف دربسته باشند. پشه‌های بالغ مرده در داخل قفس را باید جمع‌آوری کرد زیرا باعث بروز آلودگی قارچی می‌شوند (۳۳).

کنترل آفات در انسکتاریوم

حشراتی مانند مورچه و یا سوسری تهدید بزرگی برای انسکتاریوم بوده و می‌توانند در زمان کوتاهی جمعیت بالغ را از بین ببرند. جوندگان و فضولات آن‌ها نیز باعث انتقال آلودگی به انسکتاریوم می‌شوند. برای جلوگیری از ورود آفات به انسکتاریوم باید عوامل جذب کننده آن‌ها یعنی آب، غذا و پناهگاه را از دسترس آن‌ها خارج کرد. بنابرین باید از ریختن مواد غذایی در محیط انسکتاریوم پرهیز شود و تغذیه لارو با دقت انجام شود تا غذای لارو بر روی قفسه‌ها و یا کف اتاق ریخته نشود. با توجه به اهمیت مواد قندی در جذب مورچه و سوسری، تهیه آب قند برای تغذیه پشه‌های بالغ با دقت صورت گیرد و ظروف مورد استفاده بلافاصله شسته شوند. مواد غذایی باید در داخل ظروف در بسته و در انبار نگهداری شوند. همچنین پشه‌های مرده در کف قفس پرورش بالغ را باید سریعاً جمع‌آوری و دفع کرد زیرا باعث جذب مورچه می‌شوند. ظرف لارو و همچنین قفس پرورش بالغ در صورتی که به مدت طولانی شسته نشوند باعث جذب مورچه و سوسری می‌شوند و باید همیشه تمیز نگهداری شوند. سطل‌های زباله‌ی موجود در انسکتاریوم باید به صورت روزانه تخلیه، شست و شو و خشک شوند. بهتر است در اطراف ساختمان انسکتاریوم، چمن و فضای سبز وجود نداشته باشد زیرا این نواحی به دلیل داشتن مواد گیاهی همراه با زمین دارای رطوبت؛ محیط مناسبی را برای زندگی مورچه‌ها و سایر حشرات فراهم می‌کنند. منابع آبی مورد تغذیه مورچه و سوسری باید با بستن کامل شیر آب و تعمیر لوله‌هایی که نشتی دارند حذف گردد. هیچ گونه درز و شکافی در دیوارها و زیر و اطراف درها برای ورود حشرات و جوندگان وجود نداشته باشد. کف شورهای فاضلاب و سینک‌ها باید همواره مجهز به توری و درپوش باشند. وسایل اضافی نباید در انسکتاریوم رها شوند زیرا باعث ایجاد پناهگاه برای آفات می‌شوند. استفاده از تله‌های چسبی بهترین روش برای پایش و کنترل آفات است و با قرار دادن تله‌های چسبی در ورودی‌ها و لبه دیوارها و مسیرهای احتمالی عبور آفات و بررسی مرتب و روزانه آن‌ها می‌توان آفات وارد شده به ساختمان و راه‌های ورود و محل تجمع آن‌ها را شناسایی کرد (۳۳،۴۰).

مشکلات احتمالی در فرایند پرورش

در فرایند پرورش و در هر یک از مراحل زندگی پشه‌ها ممکن است به دلایل مختلف با کاهش جمعیت و یا حتی از بین رفتن کامل کلنی و یا مشکلاتی مواجه شویم، رعایت نکات زیر می‌تواند به ما در فرایند پرورش کمک کند:

پس از تخم‌گذاری، کاغذ صافی حاوی تخم نباید در معرض هوا قرار گیرد و برای جلوگیری از خشک شدن تخم‌ها باید کاغذ صافی حاوی تخم بلافاصله به کیسه زیپ‌دار و یا ظرف در بسته حاوی پارچه مرطوب منتقل شود تا مرحله جنینی تکمیل گردد. ظرف لاروی باید کاملاً تمیز و فاقد آلودگی باشد. آب مورد استفاده برای ظرف لارو باید دکلره گردد، برای این منظور باید آب را از ۲۴ ساعت قبل در ظرف نگه داشت تا کلر آن تبخیر شود و یا آن را جوشانده و سپس سرد نمود، البته آب مورد استفاده باید هم دمای انسکتاریوم باشد. در زمان غوطه‌ور کردن کاغذ صافی در ظرف لارو و رهاسازی تخم‌ها باید دقت نمود که تخم‌ها آسیب نبینند و به دیواره ظرف نچسبند. برای این منظور می‌توان کاغذ صافی را در وسط ظرف قرار داد و تخم‌های چسبیده به دیواره ظرف را نیز با چکاندن آب به وسیله قطره چکان بر روی آن‌ها از دیواره ظرف جدا و به داخل آب هدایت کرد (۱۶،۳۶).

تغذیه ناکافی، تراکم بالای لارو و وجود لارو غیر همسن منجر به ضعیف شدن و از بین رفتن آن‌ها می‌گردد و باید تعداد لارو و تغذیه آن‌ها متناسب با اندازه ظرف در نظر گرفته شود. تشکیل لایه چربی بر روی سطح آب و کدر شدن بیش از حد آن منجر به از بین رفتن لارو و شفیره می‌شود و لایه چربی بایستی با کاغذ صافی برداشته شود و آب ظرف نیز به مرور با آب تازه تعویض گردد. در صورتی که جداسازی شفیره‌ها به طور منظم انجام نشود آن‌ها در همان ظرف لارو، به بالغ تبدیل می‌شوند و ممکن است با افتادن به داخل آب از بین رفته و یا از ظرف لارو خارج شوند.

تغییرات ناگهانی دما، رطوبت و نور منجر به اختلال در چرخه زندگی پشه‌ها و کاهش جمعیت کلنی می‌گردد و این سه عامل باید به طور مرتب ثبت شود و در صورت مشاهده تغییرات، سیستم‌ها و دستگاه‌های تامین کننده آن‌ها بررسی، تعمیر و کالیبره شوند. متناسب نبودن اندازه قفس پرورش بالغ در برخی گونه‌ها می‌تواند منجر به عدم جفت‌گیری شود بنابرین باید در انتخاب قفس و همچنین متناسب بودن آن با گونه و تعداد پشه‌ها دقت نمود. همچنین بهتر است قفس پرورش بالغ هر دو هفته یک بار تعویض گردد. در صورتی‌که قبل از خوندهی ظرف آب قند از دسترس ماده‌های بالغ خارج نشود خونخواری به خوبی صورت نمی‌گیرد. همچنین در

خوندهی با استفاده از حیوان زنده بایستی ترجیح خونخواری گونه در نظر گرفته شود. مناسب نبودن ظرف و بستر تخم‌گذاری از نظر رنگ و اندازه و مقدار آب آن منجر به عدم تخم‌گذاری می‌شود. عدم پایش و کنترل مرتب آفات انسکتاریوم منجر به حمله آفات و از بین رفتن کلنی می‌گردد. ورود مواد شیمیایی و بویژه حشره کش‌ها به انسکتاریوم منجر به از بین رفتن کلنی می‌شود بنابرین برای کنترل آفات در داخل انسکتاریوم بهتر است از روش‌های فیزیکی و پیشگیرانه ذکر شده در قسمت کنترل آفات انسکتاریوم استفاده کرد (۱۶،۳۶). عدم انجام و یا بروز تاخیر در هر یک از مراحل پرورش در زمان معین منجر به آسیب به کلنی می‌گردد، بنابرین برای پرورش موفق و مفید بهتر است از برنامه زمان‌بندی منظم و دقیق در فرایند پرورش استفاده کرد.

ایمنی زیستی در انسکتاریوم

در راه اندازی و نگهداری انسکتاریوم باید اقدامات ویژه برای ایزوله کردن محیط و جلوگیری از فرار و خروج حشرات پرورش یافته و همچنین ورود آفات و میکروارگانیسم‌ها به انسکتاریوم صورت گیرد. اقدامات ضروری برای رعایت ایمنی زیستی در پرورش پشه‌ها شامل موارد زیر می‌باشد:

انسکتاریوم پرورش پشه‌ها باید در یک ساختمان مجزا و دور از ساختمان‌های اداری و مسکونی باشد (۴۱). انسکتاریوم و بویژه اتاق پرورش باید فاقد پنجره باشد و در صورت وجود پنجره باید کاملاً بسته و مجهز به توری گردد. در صورت وجود سیستم تهویه، مجاری هواکش باید دارای توری باشند. دسترسی به انسکتاریوم باید به صورت کنترل شده و فقط برای پرسنل و افراد مرتبط مجاز باشد. همچنین آموزش‌های لازم به پرسنل داده شود و افراد باید هنگام کار در انسکتاریوم از لباس کاملاً پوشیده و دستکش استفاده نمایند (۲۷). برای جلوگیری از خروج پشه‌های بالغ و همچنین جلوگیری از ورود سایر حشرات باید ورودی و خروجی انسکتاریوم مجهز به دو در باشد، به طوری که در اول قبل از باز شدن در دوم بسته شود، بهتر است از در اتوماتیک استفاده شود و در کاملاً بسته شود. همچنین بهتر است از پرده هوا و توری و حشره‌کش الکتریکی نیز استفاده گردد (۱۳).

طراحی، ساخت و نگهداری انسکتاریوم باید به گونه‌ای باشد که نظافت آن به آسانی و به بهترین نحو صورت گیرد. دیوارهای اتاق باید صاف و به رنگ سفید روشن و رنگ آن فاقد حشره کش باشد. بهتر است سقف انسکتاریوم بویژه در اتاق پرورش خیلی بلند نباشد. به این ترتیب پشه‌های بالغی که فرار می‌کنند راحت‌تر دیده می‌شوند و به دام می‌افتند. کف شورها و سینک‌های فاضلاب باید مجهز به توری و درپوش باشند تا از خروج پشه‌ها بویژه در مراحل نابالغ جلوگیری شود. هر گونه خروج و فرار پشه‌ها از اتاق پرورش با استفاده از تله گذاری و بررسی روزانه تله‌ها ثبت و علت یابی شود. در اتاق پرورش از حداقل وسایل و تجهیزات از نظر تعداد و اندازه استفاده شود و هیچ گونه درز و شکافی در کف، سقف و دیواره‌ها وجود نداشته باشد تا محلی برای اختفای پشه‌ها ایجاد نشود. تجهیزات و وسایل اضافی باید در انبار نگهداری شوند. هیچ ظرف و منبع آبی به صورت رو باز در محیط قرار داده نشود (۴۲).

قفس پرورش بالغ و ظرف لارو قبل از استفاده باید شست و شو و ضد عفونی شوند و بر روی آن‌ها برچسب حاوی اطلاعات مربوط به گونه، تاریخ، نسل و مسئول مربوطه نصب گردد. برای جلوگیری از خروج پشه‌ها بایستی قفس پرورش بالغ و ظرف لارو فاقد هر گونه درز و شکاف باشند و دریچه تعبیه شده بر روی قفس پرورش بالغ پس از هر بار تعویض آب قند و یا قراردادن ظرف تخم‌گذاری حتما بسته شود و بر روی ظرف لارو هم توری قرار داده شود و پس از هر بار غذا دادن به لاروها با کش محکم شود. همچنین پشه‌هایی که از اتاق پرورش خارج شده‌اند باید جمع‌آوری و دفع شوند و به کلنی برگشت داده نشوند. با توجه به احتمال وجود آلودگی به بیماری‌های منتقله از طریق پشه‌ها، اجازه ورود به بازدید کنندگان موقت به محل پرورش داده نشود و توضیحات و آموزش‌های مورد نظر، در خارج از اتاق پرورش به آن‌ها ارائه گردد. مشاورین و همکاران طرح‌های تحقیقاتی و پرسنل جدید نیز برای ورود به انسکتاریوم باید گواهی پزشکی مبنی بر عدم ابتلا به بیماری‌های منتقله از طریق بندپایان ارائه نمایند و از نظر وجود هر گونه علایم و عفونت و یا آلرژی بررسی شوند. خون مورد استفاده برای تغذیه بالغ باید فاقد هر گونه آلودگی باشد و در ظرف دربسته و در یخچال نگهداری شود. در صورت انتقال گونه‌های جدید به انسکتاریوم، بایستی در اتاق جداگانه نگهداری شوند و برای ایجاد کلنی جدید تا سه نسل در قرنطینه باشند و با انجام آزمایشات مولکولی از عدم آلودگی ویروسی آن‌ها اطمینان حاصل شود (۴۲،۴۳).

محل نگهداری حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده برای خوندهی باید کاملاً جدا باشد تا در صورت خروج پشه‌ها در معرض گزش قرار نگیرند. پس از انجام آزمایشات زیست سنجی، از رها کردن پشه‌های بلا استفاده به صورت زنده خودداری شود. آسپیراتور مورد استفاده برای جداسازی و صید پشه‌های بالغ باید دارای فیلتر باشد تا از ورود پشه به دهان جلوگیری شود. در مطالعات ژنتیکی باید از ورود گونه‌ها و استرین‌های دیگر به داخل کلنی جلوگیری شود و از وسایل و ظروف جداگانه استفاده گردد و در صورت استفاده از ظروف مشترک، بایستی ظرف تخم با آب جوش شسته شود و یا به مدت سه روز در فریزر قرار گیرد. همچنین تعویض دستکش در زمان کار با سویه‌های مختلف اهمیت زیادی دارد (۲۸).

وظایف مسئول انسکتاریوم

مسئول انسکتاریوم بایستی مراحل فرایند پرورش را به صورت منظم و برنامه‌ریزی شده انجام داده و جمعیت‌های مورد نیاز برای پروژه‌های تحقیقاتی را فراهم نماید. پایش روزانه شرایط محیطی و بررسی و ثبت شرایط دما، رطوبت و نور انسکتاریوم از مهمترین

وظایف مسئول انسکتاریوم است. مسئول انسکتاریوم باید خروج و فرار پشه‌ها از اتاق پرورش را مرتبا پایش و علت‌یابی کرده و پشه‌های خارج شده را به دام انداخته و دفع نماید. وضعیت بهداشت، نظافت و وجود آفات در انسکتاریوم باید به صورت مرتب توسط مسئول انسکتاریوم بررسی شود. آموزش نکات ایمنی و احتیاطی به سایر پرسنل و بازدیدکنندگان و مجریان طرح‌های تحقیقاتی از دیگر وظایف مسئول انسکتاریوم است. مسئول انسکتاریوم همچنین باید گزارش کار روزانه تهیه کرده و ورود و خروج بازدیدکنندگان را ثبت نماید (۲۷،۲۸).

نتیجه‌گیری

بیماری‌های آربویروسی مانند تب دانگ و تب چیکونگونیا در دنیا در حال گسترش هستند و در سال‌های اخیر در مناطق جنوب و جنوب شرقی ایران نیز مشاهده شده‌اند. همچنین انتشار پشه‌های ناقل این آربوویروس‌ها، شامل آئدس اجیپتی و آئدس آلبوپیکتوس نیز در برخی از مناطق جنوب کشور گزارش شده است. برای کنترل مؤثر گونه‌های مذکور، پرورش آن‌ها در انسکتاریوم‌های تخصصی ضرورت دارد. علاوه بر این، موضوع استفاده از حشرات به‌عنوان عوامل بیولوژیک نیز در دنیا مطرح است. برای همین منظور در برخی از کشورهای دنیا و بویژه در نیروهای نظامی اقدام به تأسیس و راه اندازی انسکتاریوم‌های پیشرفته نموده‌اند. پرورش پشه‌های جنس آئدس نسبت به سایر جنس‌ها مانند آنوفل و کولکس دشوارتر است. پشه‌های آئدس در انسکتاریوم از نظر نحوه تخم‌گذاری و ترجیح خونخواری، رفتار خاصی دارند که بایستی در حین پرورش مورد توجه قرار گیرد. برای مقابله با تهدیدات بیولوژیک ناشی از پشه‌های آئدس و همچنین تهدیدات طبیعی، راه‌اندازی انسکتاریوم‌های پیشرفته و مجهز در مراکز تحقیقاتی نیروهای نظامی ایران پیشنهاد می‌گردد.

نکات بالینی کاربردی برای جوامع نظامی

- برخی از گونه‌های پشه‌های آئدس ناقل بیماری‌های آربوویروسی خطرناکی مانند تب زرد، تب دانگ، تب زیکا و تب چیکونگونیا هستند. برای انجام مطالعات علمی و کنترل مؤثر این پشه‌ها، پرورش آزمایشگاهی آن‌ها در انسکتاریوم‌های تخصصی در مراکز علمی و تحقیقاتی نظامی ایران توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی: بدینوسیله از مرکز تحقیقات بهداشت و تغذیه و مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تشکر و قدردانی می‌گردد.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Braverman Y. Nematocera (Ceratopogonidae, Psychodidae, Simuliidae and Culicidae) and control methods. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 1994;13(4): 1175-99. doi:10.20506/rst.13.4.819
2. Tolle MA. Mosquito-borne-diseases. Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care. 2009;39(4):97-140. doi:10.1016/j.cppeds.2009.01.001
3. Azari-Hamidian S, Norouzi B, Harbach RE. A detailed review of the mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Iran and their medical and veterinary importance. Acta Tropica. 2019;194:106-22. doi:10.1016/j.actatropica.2019.03.019
4. Azari-Hamidian S, Abai MR, Norouzi B. *Mansonia uniformis* (Diptera: Culicidae), a genus and species new to southwestern Asia, with a review of its medical and veterinary importance. Zootaxa. 2020;4772(2):385-95. doi:10.11646/ZOOTAXA.4772.2.10
5. Doosti S, Yaghoobi-Ershadi MR, Sedaghat MM, Moosa-Kazemi SH, Akbarzadeh K, Hashemi-Aghdam SS. Genetic population diversity of Aedes caspius in Southern Provinces of Iran. Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique. 2018;111(1):31-7. doi:10.3166/bspe-2018-0011
6. Dorzaban H, Soltani A, Alipour H, Hatami J, Jaberhashemi SA, Shahriari-Namadi M, et al. Mosquito surveillance and the first record of morphological and molecular-based identification of invasive species *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera: Culicidae), southern Iran. Experimental Parasitology. 2022;236:108235. doi:10.1016/j.exppara.2022.108235
7. Moradi-Asl E, Vatandoost H, Adham D, Emdadi D, Moosa-Kazemi H. Investigation on the occurrence of Aedes species in borderline of Iran and Azerbaijan for control of arboviral diseases. Journal of Arthropod-Borne Diseases. 2019;13(2): 191-7. doi:10.18502/jad.v13i2.1245
8. Leta S, Beyene TJ, De Clercq EM, Amenu K, Kraemer MU, Revie CW. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. International Journal of Infectious Diseases. 2018;67:25-35. doi:10.1016/j.ijid.2017.11.026
9. Khan HA, Akram W, Shehzad K, Shaalan EA. First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, Aedes albopictus (Diptera: Culicidae), from Pakistan. Parasites & Vectors. 2011;4(1):146. doi:10.1186/1756-3305-4-146
10. S Rasheed SB, Butlin RK, Boots M. A review of dengue as an emerging disease in Pakistan. Public Health. 2013;127(1):11-17. doi:10.1016/j.puhe.2012.09.006

11. Khoobdel M, Keshavarzi D. Survey of Usutu virus potential vectors and their diversity in Iran: A neglected emerging arbovirus. The Open Public Health Journal. 2020;13(1):114-18. doi:10.2174/1874944502013010114
12. Khoobdel M, Dehghan O, Bakhshi H, Moradi M. Control and management of vector-borne diseases in disaster conditions. Journal of Military Medicine. 2020;22(8):778-98. doi:10.30491/JMM.22.8.778
13. Tur C, Almenar D, Benlloch-Navarro S, Argilés-Herrero R, Zacarés M, Dalmau V, et al. Sterile insect technique in an integrated vector management program against tiger mosquito *Aedes albopictus* in the Valencia region (Spain): operating procedures and quality control parameters. Insects. 2021; 12(3):272. doi:10.3390/insects12030272
14. Mundim-Pombo AP, Carvalho HJ, Rodrigues Ribeiro R, León M, Maria DA, et al. *Aedes aegypti*: egg morphology and embryonic development. Parasites & Vectors. 2021;14(1):531. doi:10.1186/s13071-021-05024-6
15. Scott TW. Containment of arthropod disease vectors. ILAR Journal. 2005;46(1):53-61. doi:10.1093/ilar.46.1.53
16. Munstermann LE. Care and maintenance of Aedes mosquito colonies. The molecular biology of insect disease vectors: a methods manual. 1997:13-20. doi:10.1007/978-94-009-1535-0_2
17. Imam H, Sofi G, Seikh A. The basic rules and methods of mosquito rearing (*Aedes aegypti*). Tropical parasitology. 2014;4(1):53-5. doi:10.4103/2229-5070.129167
18. Kauffman E, Payne A, Franke MA, Schmid MA, Harris E, Kramer LD. Rearing of *Culex* spp. and *Aedes* spp. mosquitoes. Bio-protocol. 2017;7(17): e2542. doi:10.21769/BioProtoc.2542
19. Mamai W, Maiga H, Somda NS, Wallner T, Konczal A, Yamada H, et al. *Aedes aegypti* larval development and pupal production in the FAO/IAEA mass-rearing rack and factors influencing sex sorting efficiency. Parasite. 2020; 27:43. doi:10.1051/parasite/2020041
20. Khoobdel M, Moradi M, Sobati H, Yousefi H, Dehghan O, Abai MR. Repellency effects and chemical components of essential oils Foeniculum vulgare and Cinnamomum verum against Aedes vexans in Iran. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2020;25(1):12-22. doi:10.52547/sjku.25.1.12
21. Zheng ML, Zhang DJ, Damiens DD, Lees RS, Gilles JR. Standard operating procedures for standardized mass rearing of the dengue and chikungunya vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)-II-Egg storage and hatching. Parasites & Vectors. 2015;8:348. doi:10.1186/s13071-015-0951-x
22. Balestrino F, Puggioli A, Bellini R, Petric D, Gilles JR. Mass production cage for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology. 2014;51(1):155-63. doi:10.1603/ME13130
23. Gonzales KK, Hansen IA. Artificial diets for mosquitoes. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2016;13(12):1267. doi:10.3390/ijerph13121267
24. Farnesi LC, Carvalho FD, Lacerda AP, Moreira LA, Bruno RV. The influence of different sources of blood meals on the physiology of Aedes aegypti harboring Wolbachia wMel: mouse blood as an alternative for mosquito rearing. Parasites & Vectors. 2021;14(1):21. doi:10.1186/s13071-020-04465-9
25. Parker C. Collection and Rearing of Container Mosquitoes and a 24-h Addition to the CDC Bottle Bioassay. Journal of Insect Science. 2020;20(6):13. doi:10.1093/jisesa/ieaa059
26. Pudar D, Puggioli A, Balestrino F, Sy V, Carrieri M, Bellini R, et al. Effect of cage size on *Aedes albopictus* wing length, survival and egg production. Heliyon. 2021;7(6):e07381. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07381
27. Eukubay A, Tensai A, Eticha G, Nigatu W, Wayessa A, Mekuriaw W, et al. Anopheles mosquito rearing and insectary handling guideline. Ethiopia, Ethiopian Public Health Institute. 2017. Available from: https://ephi.gov.et/images/pictures/download2009/Anopheles-mosquito-rearing-and-insectary-handling-guideline.pdf. [accessed 21 January 2023]
28. Benedict MQ. Care and maintenance of anopheline mosquito colonies. The Molecular Biology of Insect Disease Vectors: A Methods Manual. 1997:3-12. doi:10.1007/978-94-009-1535-0_1
29. FAO/IAEA. Guidelines for Routine Colony Maintenance of Aedes Mosquito Species – Version 1.0. 2017. Available from: https://www.iaea.org/sites/default/files/21/06/nafa-ipc-manual-guidelines-for-routine-colony-maintenance-of-aedes-mosquito-species-v1.0.pdf. [Accessed 21 January 2023]
30. Carvalho DO, Nimmo D, Naish N, McKemey AR, Gray P, Wilke AB, et al. Mass production of genetically modified *Aedes aegypti* for field releases in Brazil. JoVE (Journal of Visualized Experiments). 2014;(83):e3579. doi:10.3791/3579
31. Ross PA, Axford JK, Richardson KM, Endersby-Harshman NM, Hoffmann AA. Maintaining *Aedes aegypti* mosquitoes infected with *Wolbachia*. JoVE (Journal of Visualized Experiments). 2017(126): e56124. doi:10.3791/56124
32. Hossain MS, Raihan ME, Hossain MS, Syeed MM, Rashid H, Reza MS. *Aedes* Larva Detection Using Ensemble Learning to Prevent Dengue Endemic. BioMedInformatics. 2022;2(3):405-23. doi:10.3390/biomedinformatics2030026
33. Benedict MQ, Hunt CM, Vella MG, Gonzalez KM, Dotson EM, Collins CM. Pragmatic selection of larval mosquito diets for insectary rearing of *Anopheles gambiae* and *Aedes aegypti*. PLoS One. 2020;15(3):e0221838. doi:10.1371/journal.pone.0221838
34. Timinao L, Vinit R, Katusele M, Schofield L, Burkot TR, Karl S. Optimization of the feeding rate of *Anopheles farauti* ss colony mosquitoes in direct membrane feeding assays. Parasites & Vectors. 2021;14(1):356. doi:10.1186/s13071-021-04842-y
35. Sarrafzadeh-Rezaei F, Ahmadi-Noorbakhsh S.

Management, anesthesia, and surgery of laboratory animals. Urmia: Urmia University Publication. 2010:376-378. [In Persian]
36. Clemons A, Mori A, Haugen M, Severson DW, Duman-Scheel M. Culturing and egg collection of *Aedes aegypti*. Cold Spring Harbor Protocols. 2010. doi:10.1101/pdb.prot5507
37. Faber PA, Dorai AJ, Chown SL. A standardised low-cost membrane blood-feeder for *Aedes aegypti* made using common laboratory materials. PeerJ. 2022;10:e14247. doi:10.7717/peerj.14247
38. Ahmadi-Noorbakhsh S, Mirabzadeh Ardakani E, Sadighi J, Aldavood SJ, Farajli Abbasi M, Farzad-Mohajeri S, et al. Guideline for the care and use of laboratory animals in Iran. Lab Animal. 2021; 50(11):303-5. doi:10.1038/s41684-021-00871-3
39. Gjullin C, Hegarty C, Bollen W. The necessity of a low oxygen concentration for the hatching of *Aedes* mosquito eggs. Journal of Cellular and Comparative Physiology. 1941;17(2):193-202. doi:10.1002/jcp.1030170205
40. American Committee of Medical Entomology; American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Arthropod containment guidelines, version 3.2. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 2019; 19(3):152-73. doi:10.1089/vbz.2018.2431
41. Pan American Health Organization. Guidelines for the Structure of Public Health Entomology Laboratories. Washington, D.C.: PAHO; 2019. Available from: https://iris.paho.org handle/10665.2 /51689. [accessed 21 January 2023]
42. FAO/IAEA. Guidelines for Biosafety and Biosecurity in Mosquito Rearing Facilities. Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria. 2021; 7. Available from: https:// www.iaea.org/sites/default/files/guidelines_for_mo squito_facilities.pdf. [accessed 21 January 2023].
43. Raban RR, Akbari OS. A day in the life of a mosquito insectary team: pushing for solutions to mosquito-borne diseases. Lab Animal. 2020;49(9): 241-3. doi:10.1038/s41684-020-0617-y