

مقایسه غشاهای و خونهای مختلف برای تغذیه مصنوعی پشه‌های

آنوفل استفنیسی (Diptera ; Culicidae)

کامران اکبرزاده*، دکتر منصوره شائقی**، دکتر حسین لدنی**

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، دانشکده بهداشت، گروه حشره شناسی پزشکی، ایستگاه آموزش و تحقیقات بهداشتی ايرانشهر

تاریخ دریافت مقاله: ۸۲/۱۲/۲۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۳/۱۲/۱۵

** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، گروه حشره شناسی

چکیده

زمینه و هدف: کارآیی سیستم تغذیه مصنوعی پشه های نگهداری شده در انسکتاریوم بستگی به تکنولوژی طراحی آن، نوع غشاء و خون مورد استفاده در محفظه غذایی آن دارد. لذا این مطالعه با هدف تعیین بهترین غشای از بین سه نوع غشای متداول (غشاهای پارافیلیم "M"، روده گوسفند و پوست جوجه) و بهترین رژیم غذایی از (خونهای دفیبرینه و سیتراته گوسفند و مرغ) جهت استفاده برای دستگاه های تغذیه مصنوعی پشه های آنوفل استفنیسی به انجام رسید.

مواد و روش کار: آزمایشها در شرایط ثابت انسکتاریوم (حرارت $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و رطوبت نسبی $70 \pm 10\%$) انجام شدند. برای هر آزمایش ۳ تکرار ۲۰ تایی پشه های آنوفل استفنیسی، ۴ تا ۵ روزه خون نخورده (تغذیه شده با آب قند ۵٪) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در آنالیز آماری نتایج مقایسه غشاهای، هیچ اختلاف معنی داری بین میانگین ها مشاهده نشد ($P=0/07$). اما آنالیز آماری نتایج مقایسه خونها مشخص کرد که اختلاف بین میانگین ها معنی دار می باشد ($P=0/008$).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل و تجربیات به عمل آمده، پارافیلیم "M" به عنوان بهترین غشاء و خون دفیبرینه گوسفند به عنوان بهترین رژیم غذایی برای سیستم تغذیه مصنوعی پیشنهاد می شود. (مجله طبیب شرق، سال هفتم، شماره ۳، پائیز ۱۳۸۴، ص ۱۷۹ تا ۱۸۵)

کل واژه ها: تغذیه مصنوعی، تغذیه غشایی، آنوفل استفنیسی، انسکتاریوم

مقدمه

عبارت دیگر خون‌دهی به ناقلین خون‌خوار بدون حضور میزبان زنده به عنوان راه حلی برای گریز از این مشکلات مطرح می‌باشد. نظر به صرفه اقتصادی، اهمیت بهداشتی، راحتی استفاده، عدم ظلم به حیوانات و قابلیت خون‌دهی در شرایط خاص (در جاهایی که حیوان‌خانه وجود ندارد یا میزبان مناسب ناقل مورد نظر در دسترس نمی باشد و نیز در شرایط فیلدی) روش‌های تغذیه مصنوعی ناقلین (به‌خصوص در مورد پشه‌ها) اهمیت خاصی پیدا می‌کند. علاوه بر موارد ذکر شده، استفاده از سیستم های تغذیه مصنوعی (یا تغذیه غشایی) برای بررسی‌های فیزیولوژیکی متعددی از جمله انتقال و تلقیح انگل های مختلف به بندپایان، بررسی رژیم‌های غذایی

برای کنترل بیماری‌های انسانی از طریق کنترل ناقلین، تحقیقات بیشتری لازم است تا خواص و روش‌های مبارزه‌ای شناسایی شوند. این نوع تحقیقات نیازمند وجود کلنی های آزمایشگاهی ناقلین می‌باشند. بسیاری از آزمایشگاه‌های دنیا، گونه های زیادی از پشه ها به همین منظور نگهداری می‌کنند.^(۱) پشه های ناقل جهت تخم‌گذاری و ادامه نسل، نیازمند خون‌خواری می‌باشند. معمولاً از خوکچه‌های هندی (Guinea Pigs) به عنوان منبع خونی جهت خون‌خواری پشه‌ها در انسکتاریوم‌ها استفاده می‌شود. استفاده از حیوانات برای این منظور پرخرج، نامناسب و از نظر سلامت حیوانات غیر قابل قبول می‌باشد.^(۲) تغذیه مصنوعی یا تغذیه غشایی ناقلین، به

پرورش آنوفل استفنسی (به عنوان مهمترين ناقل مالاریا در کشور) در ایران ضروری به نظر می رسد. سیستم مذکور در عین کارآیی مناسب بایستی از نظر تکنولوژی ساخت آسان بوده، مواد و وسایل مورد نیاز آن در بازار به راحتی در دسترس باشد. لذا این تحقیق به منظور بررسی برخی غشاءها و خونهای مختلف و یافتن مناسبترین آنها در سیستم تغذیه مصنوعی در انسکتاریوم گروه حشره شناسی پزشکی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران به انجام رسید. بدیهی است این روش تغذیه با اندکی تغییرات برای ناقلین دیگر قابل استفاده خواهد بود.

روش کار

برای انجام آزمایشها ابتدا غشای مورد بررسی روی قیف تغذیه ای دستگاه بسته شد. سپس مقدار ۲/۵ میلی لیتر از خون مورد نظر با سرنگ داخل قیف تزریق شده، قیف آماده به روی دستگاه بسته شد.^(۱۰) در این حالت دستگاه روی سطح بالایی (توری فلزی) قفس های آزمایشی قرار داده شد. پشه ها از زیر توری نیش زده، از خلال غشاء مورد نظر خون خواری کردند.

دستگاهی که برای تغذیه مصنوعی پشه های آنوفل استفنسی در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت نمونه ساخته شده در سال ۱۳۷۷ بود. این دستگاه که با استفاده از جریان برق ۱۲ ولت ۳ تا ۴ آمپر کار می کند، دارای یک ترموستات حرارتی است که دمای خون را در حدود $1^{\circ}\text{C} \pm 37$ (در سطح غشای نصب شده روی قیف) ثابت نگه می دارد.^(۱۰) قبل از انجام آزمایشها، کالیبراسیون دمایی دستگاه با قرار دادن آن (به همراه قیفی که روی آن بسته شده است) روی سطح حساس (sensor) دماسنج دیجیتالی انجام شد. غشاءها و خونهای مورد استفاده در این مطالعه بر اساس منابع و نیز آزمایشهای اولیه انتخاب شدند. خونهای مورد مقایسه در این تحقیق به صورت خون کامل بوده، هیچ گونه ماده جلب کننده یا تحریک کننده غذایی به آنها اضافه نشده بود. خونهای دفیبرینه و سیترا ته گوسفند و مرغ

ناقلین، بررسی اثر داروهای مختلف روی سیکل جنسی انگل مالاریا در بدن پشه ها، آزمون حساسیت سموم، جمع آوری ترشحات بزاقی ناقلین مختلف، جمع آوری اسپوروزوئیت ها از پشه های آلوده شده و غیره کاربرد دارد.^(۴)

استفاده از روش تغذیه مصنوعی ناقلین به اوایل قرن بیست و یکم بر می گردد. در سال ۱۹۱۲ از غشاء پوست رات برای آلوده سازی مگس های تسه تسه استفاده شد.^(۵) از آن سال تاکنون غشاءها و خونهای مختلف برای تغذیه مصنوعی ناقلین مورد استفاده قرار گرفتند. خون دهی از خلال غشاءهای پوست جوجه، روده موش، روده کور جوجه نوزاد، مثانه موش نوزاد، پوست اردک یک هفته ای، پوست جنین ۲۰ روزه جوجه جهت پرورش مایت های موش صحرائی گرمسیری با رژیم های غذایی متفاوت در سال ۱۹۵۲ مورد مقایسه قرار گرفتند.^(۶) در سال ۱۹۸۰ از روده گوسفند برای تغذیه پشه های مختلف جنس های آادس، آنوفل و کولکس با خونهای مختلف از جمله خون انسان استفاده شد.^(۷) غشاء پارافیلیم در سال ۱۹۸۳ برای تغذیه برخی گونه های پشه ریزه ها (خانواده سراتوپوگونیده) با خون گوسفند استفاده شد.^(۷) غشاءهای پوست نتراشیده موش، پوست لخت شده بلدرچین، کاندوم ساخته شده از روده گوسفند "Naturalamb" و کاندوم لاتکس "Trojan" برای تغذیه مصنوعی کولکس ها و آادس ها با خون قلب خرگوش در سال ۱۹۹۱ مورد بررسی قرار گرفتند.^(۸) تنها تحقیق انجام شده در ایران در غالب یک پایان نامه دانشجویی در سال ۱۳۵۸ بود که در آن از خون سیترا ته گوسفند، مرغ و انسان برای تغذیه پشه های آنوفل استفنسی استفاده شده بود اما توفیقی حاصل نشد.^(۹) تفاوت عمده ای که در این تحقیق ها به چشم می آید، تفاوت در نحوه رساندن دمای خون یا رژیم های غذایی ناقلین به حد مطلوب، تعیین بهترین غشاء و رژیم غذایی برای ناقلین مختلف بوده است.^(۴) با توجه به کارآیی های فراوان فوق الذکر، وجود یک سیستم کارآمد تغذیه مصنوعی در انسکتاریوم های

دستگاه تغذیه مصنوعی و غشاءهای مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. براساس نتایج بدست آمده بیشترین درصد جلب (۶۵٪) مربوط به پوست جوجه و کمترین آن مربوط به روده گوسفند با ۴۶/۶ درصد بود.

در آنالیز آماری نتایج فوق هیچ اختلاف معنی داری بین میانگین درصد جلب پشه ها به غشاء های مختلف مشاهده نشد ($P=0/07$).

جدول ۱: تعداد پشه های آنوفل استغفنی جلب شده به دستگاه

تغذیه مصنوعی و غشاءهای مختلف

درصد جلب	جمع (n=۶۰)	مرحله			آزمایش ها غشاءها
		سوم (n=۲۰)	دوم (n=۲۰)	اول (n=۲۰)	
۶۵/۰	۳۹	۱۰	۱۹	۱۰	پوست جوجه
۴۶/۶	۲۸	۶	۱۰	۱۲	روده گوسفند
۶۳/۳	۳۸	۱۰	۱۳	۱۵	پارافیلیم "M"

نتایج آزمایش های مربوط به تعداد پشه های جلب شده به دستگاه تغذیه مصنوعی و خون های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج بدست آمده بیشترین درصد جلب (۶۳/۳٪) مربوط به خون دفیبرینه گوسفند و کمترین آن مربوط به خون سیتراته گوسفند (۳۰٪) بود. در آنالیز آماری نتایج فوق مقدار $P=0/0008$ به دست آمد که نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها از نظر جلب پشه ها به خون های مختلف می باشد.

جدول ۲: تعداد پشه های آنوفل استغفنی جلب شده به دستگاه

تغذیه مصنوعی و فون های مختلف

درصد جلب	جمع (n=۶۰)	مرحله			آزمایش های خون های مورد استفاده
		سوم (n=۲۰)	دوم (n=۲۰)	اول (n=۲۰)	
۶۳/۳	۳۸	۱۰	۱۳	۱۵	خون دفیبرینه گوسفند
۳۰/۰	۱۸	۶	۶	۶	خون سیتراته گوسفند
۴۱/۶	۲۵	۷	۱۲	۶	خون دفیبرینه مرغ
۳۳/۳	۲۰	۶	۶	۸	خون سیتراته مرغ

برای انجام این آزمایش ها استفاده شدند. خون های سیتراته مرغ و گوسفند با افزودن ماده ضد انعقاد "CPDA" (Citrate Phosphate Dextrose Adenin Solution) به خون مربوطه تهیه شدند. خون دفیبرینه گوسفند از نمایندگی فروش شرکت سرم سازی رازی در ویال های ۵۰ سی سی خریداری شد. برای تهیه خون دفیبرینه مرغ، مقداری خون را در ارلن مایر حاوی گوی های شیشه ای (Pearl) ریخته و تا حدود ۱۵ دقیقه گردانده شد تا عمل فیبرین زدایی صورت گیرد.

غشاء های پوست جوجه و روده گوسفند به صورت دستی در آزمایشگاه تهیه شده، در فریزر 20°C - نگهداری شدند. غشاء مصنوعی پارافیلیم "M" (American National Can, Greenwich. CT. 06836) که به صورت تجارتي در بازار موجود می باشد، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

پشه های آنوفل استغفنی (سوش نگهداری شده در دانشکده بهداشت)، در حالت فیزیولوژیکی ۳ تا ۴ روزه خون نخورده (تغذیه شده با آب قند ۵ درصد) مورد استفاده قرار گرفتند. یک ساعت قبل از انجام آزمایش ها، تعداد ۲۰ عدد پشه (برای هر تکرار) از قفس مادر (Stock) به قفس های آزمایشی انتقال داده شدند. آزمایش ها در شرایط ثابت انسکتاریوم (حرارت $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و رطوبت نسبی $70 \pm 10\%$) به انجام رسیدند. برای هر آزمایش ۳ تکرار ۲۰ تایی پشه مورد بررسی قرار گرفتند. ۱۲ تا ۱۸ ساعت قبل از آزمایش ها آب قند از روی قفس پشه ها بر داشته شد. تعداد پشه های جلب شده به غشاء ها و خون های مختلف (به عنوان ملاک مقایسه) ثبت شدند. آن دسته از پشه هایی که نیش آزمایشی زده و از خون تغذیه مناسبی نداشتند، به عنوان پشه های جلب نشده در نظر گرفته شدند. نتایج به دست آمده با روش آماری مقایسه میانگین ها توسط نرم افزار EPI6 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها

نتایج آزمایش های مربوط به تعداد پشه های جلب شده به

بحث

در خون‌خواری طبیعی ناقلین (خون‌خواری از روی میزبان زنده در طبیعت یا در آزمایشگاه) جلب‌کننده‌های متعددی از جمله دمای بدن، اسید لاکتیک روی پوست بدن، دی‌اکسید کربن، رطوبت و برخی مواد موجود در خون (از جمله ATP) مؤثر هستند.^(۱۱) در خون‌خواری (تغذیه) مصنوعی غیر از فاکتور جنس غشاء صرفاً دمای سطح غشاء و کیفیت خون به عنوان عوامل جلب‌کننده مطرح می‌باشند. رساندن دمای خون یا سایر رژیم‌های غذایی به حد مطلوب و ثبات دما توسط دستگاه قبلاً بررسی شده است. این دستگاه قادر است تا دمای رژیم غذایی داخل قیف تغذیه‌ای را با دقت $\pm 1^\circ\text{C}$ نسبت به دمای طبیعی بدن میزبان تنظیم کند.^(۱۰) هنگامی که غشاءهای مصنوعی روی دستگاه نصب می‌گردد عوامل جلب‌کننده غشاء مانند اسید لاکتیک وجود نخواهند داشت و جلب‌پشه‌ها صرفاً تحت تأثیر دمای سطح غشاء خواهد بود. اگر غشاءهای طبیعی مانند پوست جوجه به صورت تازه استفاده شوند باقیمانده اسید لاکتیک روی پوست باعث جلب بیشتر پشه‌ها خواهد بود. اما در این مطالعه با توجه به نحوه تهیه غشاء پوست جوجه، اسید لاکتیک از روی آن شسته می‌شود. لذا همان‌طور که در نتیجه آنالیز آماری مشخص است هیچ تفاوتی بین انواع غشاءها وجود نداشته و هر کدام از سه نوع غشاء مذکور قابل استفاده در این سیستم تغذیه مصنوعی می‌باشند. در عین حال طراحی سیستم تغذیه مصنوعی باید طوری باشد که به راحتی توسط کاردان‌های آزمایشگاه قابل استفاده باشند. به نظر می‌رسد مهمترین عاملی که اندکی استفاده از غشاء روده گوسفند را تحت الشعاع قرار می‌دهد، ضخامت و تراکم زیاد آن در مقایسه با بقیه غشاءها باشد. این امر نیش زدن پشه‌ها را با اختلال مواجه می‌کند. با توجه به نتایج بدست آمده غشای پارافیلیم "M" علاوه بر ضخامت مناسب باعث جلب پشه‌ها در حد مطلوبی می‌گردد. گرچه این مقدار کمی از میزان جلب پشه‌ها به پوست جوجه کمتر است اما

راحتی کار با این غشاء، سهولت تهیه از بازار، ارزانی قیمت، وجود آن در سراسر کشور (این امر قابلیت تعمیم نتایج بدست آمده را افزایش می‌دهد)، یکنواختی سطح، عدم نیاز به تمهیدات خاص برای نگهداری طولانی مدت و قابلیت استفاده در فیلد، مزایایی است که این غشاء در مقایسه با غشای پوست جوجه دارد. لذا در بررسی‌ها و پرورش متداول پشه‌ها در انسکتاریوم، استفاده از غشای مذکور توصیه می‌شود.

همان‌طور که اشاره شد یکی از مهمترین عوامل جلب پشه‌ها به میزبان، کیفیت خون می‌باشد. پشه‌ها کیفیت خون را با نیش آزمایشی بررسی می‌کنند. بدین ترتیب که پس از جلب شدن به غشاء نیش زده، با آوردن خون به پمپ‌های سیاریومی باعث تماس خون با گیرنده‌های شیمیایی سیاریومی می‌شود که قدرت پذیرش و سرنوشت وعده خونی را مشخص می‌کند.^(۱۱) در مقایسه خون‌های مختلف (خون دفیبرینه و سیتراته گوسفند و مرغ) تفاوت معنی‌داری در نتایج حاصله مشاهده می‌شود. خون گوسفند در مقایسه با خون مرغ تشابه بیشتری به خون انسان دارد. در ضمن پشه‌های آنوفل استغنیسی در طبیعت نیز خون حیوانات اهلی و انسان را به خون مرغ ترجیح می‌دهند.^(۱۲) اما کاهش بازده خون سیتراته گوسفند در مقایسه با خون دفیبرینه گوسفند را می‌توان به چند عامل ذیل نسبت داد. اول اینکه این خون دارای مواد افزودنی بوده که به نوبه خود می‌تواند باعث کاهش بازده باشد. همچنین روش تهیه آن به صورت دستی بوده و از گوسفندانی تهیه می‌شد که وضعیت فیزیولوژیکی مشخصی نداشتند. همان‌طور که قبلاً ذکر گردید خون دفیبرینه گوسفند از یک شرکت تهیه می‌شد و تولید آن به صورت صنعتی می‌باشد. لذا با توجه به نتایج ارائه شده با مشاهده تعداد کل پشه‌های جلب شده واضح است که خون دفیبرینه گوسفند مناسب تر از سایر خون‌های مورد بررسی می‌باشد. بدیهی است در صورت عدم دسترسی به خون مذکور هر کدام از سه نوع خون دیگر نیز با بازده کمتر در تغذیه مصنوعی قابل استفاده می‌باشند. این

کاهش بازده با افزایش جمعیت پشه های مورد بررسی قابل جبران می باشد. استفاده از دستگاه تغذیه مصنوعی که با خون دفیبرینه گوسفند و غشای پارافیلیم "M" تجهیز شده است، به عنوان کاربردی ترین روش برای تغذیه مصنوعی پشه های آنوفل استغفنیسی توصیه می شود.

سیاسگزاری

نویسندگان مقاله از راهنمایی های ارزنده آقایان دکتر تیرگری و مهندس عبایی (اعضای هیأت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران) در طول مطالعه و نیز از خانم مهندس صغری دوستی به خاطر ویراستاری مقاله نهایت تشکر را دارند.

References

منابع

1. Kirch HJ, Ted PD, Kloft WJ, Deloach JR. Artificial feeding of *Ornithodoros concanensis* (Acari; Argasidae) nymphs on bovine blood and morphological changes in erythrocytes undergoing idemolysis in the tick midgut. *J Med Entomol* 1991; 23:450-5.
2. Wirtz RA, Rutledge LC. Reconstituted collagen sausage casing for the blood feeding of mosuitoes. *J Med Entomol* 1990; 40:287-8.
3. Blackwell A, Mellor PS, Mordue W. Laboratory feeding of *Culicoides impunctatus* (Diptera; Ceratopogonidae) trough natural and artificial membranes. *J Med Entomol* 1994; 21:302-5.
4. اکبرزاده کامران. بررسی روش های مختلف تغذیه مصنوعی پشه های *Anopheles stephensi* در مقایسه با روش تغذیه طبیعی و ارائه مناسب ترین روش کاربردی در انسکتاریوم ها. پایان نامه شماره ۲۶۸۰ برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۷۷.
5. Gerberg EJ, Kutz FW. A large scale artificial feeding technique for infecting mosquitoes and its application to screening anti malarial chemicals. *J Med Entomol* 1971; 8:610-2.
6. McDonald EM, Scott JA. Methods for feeding tropical rat mites on blood and other floods through a membrane. *Exp Parasitol* 1952; 1:283-90.
7. Davis EL, Butler JF, Reinert RH, Kline DL. Laboratory blood feeding of *Culicoides mississippiensis* (Diptera; Ceratopogonidae) through a reinforced silicone membrane. *J Med Entomol* 1983; 20:177-82.
8. Novak MG, Berry WJ, Rowley WA. Comparison of four membranes for artificially blood feeding mosuitoes. *J Amer Mosq Cont Assoc* 1991; 7:327-9.
9. شاکری مینو. دستگاه جمع آوری پوپهای ماده پشه های کولیسیده (*Culicidae; Diptera*) و مدل تجربی دستگاه تغذیه مصنوعی پشه ها. پایان نامه شماره ۹۲۲ جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۵۸.
10. اکبرزاده کامران، لدنی ح، شائقی م. معرفی دستگاهی قابل حمل برای تغذیه مصنوعی *Anopheles-stephensi*. نامه انجمن حشره شناسی ایران ۱۳۸۰، مجلد ۱، شماره ۲۱، ص ۳۰-۲۱.

11. Chapman RF, De Boer G. Regulatory mechanisms in insect feeding. New York: Chapman & Hall; 1964.PP. 398.

۱۲. ظهيرنيا امير حسين. بررسى خصوصيات اپيدميولوژيک و ظرفيت ناقلين مهم مالاريا در منطقه قصرقند بلوچستان ايران (۷۷-)

۱۳۷۶). پايان نامه شماره ۲۴۹۳ جهت دريافت درجه دکتری (Ph.D) رشته حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلين، دانشکده

بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۷۸.

The comparison of different membranes and blood for artificial feeding system of a stephensi

Akbarzadeh K.,MSc *; Shaeghi M.,PhD**; Ladonni H., PhD**

Background: The efficiency of artificial feeding system of mosquitoes kept in insectarium depends on its technology of designing, kind of membrane and food quality. This study was conducted to find the best membrane and food regimen among three prevalent membranes (Parafilm "M", sheep intestine and chicken skin). Numbers of attracted mosquitoes were recorded in one hour of exposure as a measure of comparisons.

Methods and Materials: the experiment was conducted in constant circumstances of insectarium (temperature: 28±2C and relative humidity: 70%± 10%). Each experiment contained three replicates a lot of 20 non-blood fed(sugar fed) 4-5 days old *Anopheles stephensi*.

Results: In statistical analysis of the results of comparing membranes there was not any significant difference between the means ($P= 0.07$).

However, statistical analysis of the results of comparing bloods revealed that the difference between the means is meaningful.

Conclusions: Considering the obtained results and the experiments Parafilm "M" as an applicable membrane and sheep defibrinate blood as a suitable food regimen is recommended for artificial feeding of *An. stephensi*.

KEY WORDS: Artificial feeding, Membrane feeding, *Anopheles stephensi*, Insectry.

* Medical Entomology Dept, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences and health services, Tehran, Iran.

**Medical Entomology Dept, School of Public health and institute of public health research, Tehran University of Medical Sciences and health services, Tehran, Iran.