

蠕形螨扫描电镜样本的制备方法

吴聪明

(湛江海洋大学农学院牧医系 广东湛江 524088)

摘要 本文对蠕形螨扫描电镜样本制备方法做了一定改进,结果制得的山羊蠕形螨扫描电镜样本观察效果显著优于原有方法,该改进方法特别适用于结节脓疱型蠕形螨扫描电镜样本的制备。

关键词 蠕形螨 扫描电镜 技术改进

蠕形螨(*Demodex*)是一类寄生在哺乳动物毛囊及皮脂腺内的永久性寄生虫,种类多,已知有140个种和亚种。有些形态特征,尤其是一些具有分类意义的微细形态目前描述还不够细致,影响了虫种的鉴别,因此应用电镜对蠕形螨形态进行了观察研究,十分必要而有意义。但是蠕形螨虫体细小柔弱,又同寄生部位的毛囊——皮脂腺分泌物或组织碎屑物混杂、粘集在一起,难以分离,故制得虫体分散、表面清洁、形态完整、变形少的电镜样本,便成了细致、准确观察蠕形螨形态的关键。

有关蠕形螨扫描电镜样本的制备方法,Clifford 和 Nutting、徐荫祺、丁晓昆、樊培方^[1~5]等曾进行过简要介绍,但我们根据这些方法步骤制备的样本,或者虫体互相粘集不清,或者虫体破损变形,观察效果不尽人意。参照这些方法并结合蠕形螨虫体样本特点,我们对蠕形螨扫描电镜样本制备方法做了一些改进,结果制得的山羊蠕形螨(*D. caprae*)扫描电镜样本效果满意,现将其介绍如下。

1 样本制备步骤

1.1 材料的采取 以手术刀划破感染蠕形螨病的山羊皮肤结节,挤压并挑取结节内容物,置于2.5%戊二醛(0.1mol/L, pH7.2 磷酸缓冲液配制),溶液内固定。

1.2 固定和脱水 将在2.5%戊二醛溶液内固定1~2小时的结节内容物取出,用磷酸缓冲液冲洗,即以30%~95%梯度酒精各脱水10~15

分钟,最后移入无水酒精内,使之完全脱水。

1.3 脱 脂 将脱水后的结节内容物转入二甲苯内迅速处理,待虫体间组织碎屑物及类脂物溶解,虫体分散,即以无水酒精洗涤2~3次并离心。

1.4 置 换 把洗涤过的虫体先通过1/2无水酒精和1/2醋酸异戊酯混合液处理15分钟,最后放入纯醋酸异戊酯内置换30分钟以上。

1.5 临界点干燥及镀膜 用吸管吸取虫体少量滴于干净小盖玻片上,置于临界点干燥仪中干燥,取出小盖玻片粘贴在电镜样品台上,再以离子溅射镀膜,即可送入电镜进行观察、拍照。

2 结果及讨论

2.1 用此步骤制备的山羊蠕形螨扫描电镜样本经观察结果表明:虫体分散,表面清洁,变形少,在一个样品台上存在几十甚至上百个形体完好的各期虫体,能选取虫体作不同侧面、不同角度观察比较其形态结构。

2.2 改进方法同原方法比较有如下特点: 删去了一些不必要的样本处理环节,如反复用缓冲液换洗等;以二甲苯脱脂分散清洁虫体代替既繁琐又易招致虫体破损变形的虫体挑取分离工作;去掉丙酮在脱水前的清洗过程,把二甲苯的脱脂处理放在脱水之后,用无水酒精换洗二甲苯。这些方法特点,既能保证众多的虫体分散,

作者介绍: 吴聪明,男,29岁,讲师,硕士;

收稿日期: 1997-03-20, **修回日期:** 1997-09-03

表面清洁,又能尽量避免虫体在处理过程中的破损变形。

2.3 改进方法也适用于其他蠕形螨(特别是结节脓疱型蠕形螨)扫描电镜样本的制备。

参 考 文 献

- 1 Clifford Desch, Wm. B. Nutting. Morphology and functional anatomy of *Demodex folliculorum* (Simon) of man. *Acta dermato-venereologica*, 1978, 19:422~462.
- 2 徐荫祺,徐业华,谢禾秀等.毛囊蠕形螨扫描电镜的观察.昆虫学报,1982,25(1):56~58.
- 3 丁晓昆,李 芳.毛囊蠕形螨的扫描电镜观察.中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1990,8(1):45~46.
- 4 丁晓昆,李 芳,王彦平.皮脂蠕形螨的扫描电镜观察.中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1992,10(3):225~226.
- 5 樊培方,叶明忠,温廷桓.山羊蠕形螨扫描电镜观察.动物学研究,1996,17(4):385~391.