

# 蠕形螨的系统学研究进展

赵亚娥<sup>1\*</sup> De Rojas Manuel<sup>2</sup>

**【摘要】** 蠕形螨是一类小型永久性寄生螨, 目前已知有 140 个种和亚种, 可寄生于 11 种目的哺乳动物的毛囊和皮脂腺等部位。蠕形螨具有高感染率和低发病率的特点。随着蠕形螨与人体面部皮肤病关联性的确认, 其种群分类与致病关系已引起医学界的关注。该文就蠕形螨的研究历史、形态学分类、DNA 标志以及系统发育等研究进展进行综述。

**【关键词】** 蠕形螨; 形态学分类; DNA 标志物; 系统发育

**Advances on the research on systematics of *Demodex*** ZHAO Ya-e<sup>1\*</sup>, De Rojas Manuel<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Immunology and Pathogen Biology, Xi'an Jiaotong University College of Medicine, Xi'an 710061, China <sup>2</sup>Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Sevilla, Sevilla 41012, Spain

\* Corresponding author: ZHAO Ya-e, Email: zhaoyae@mail.xjtu.edu.cn

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81271856)

**【Abstract】** *Demodex* mites are slender and permanent parasites. Up to now, 140 species or subspecies have been identified, infesting the hair follicles, sebaceous glands and other parts of 11 orders of mammals. The pathogenicity of *Demodex* has not been universally acknowledged mainly because of its high infection rate yet low incidence rate. Thanks to the recent studies that confirmed the association between *Demodex* mites and human facial dermatosis, the relationship between the population classification and pathogenicity of *Demodex* has drawn attention from the medical field. These advances are reviewed in various aspects of *Demodex* research, including research history, morphological classification, DNA markers and phylogeny research.

**【Key words】** *Demodex*; Morphological classification; DNA marker; Phylogeny

蠕形螨是一类小型永久性寄生螨, 呈世界性分布, 寄生于犬、牛、羊、猫、猪以及鼠类等 11 个目哺乳动物的毛囊、皮脂腺、睑板腺、耵聍腺、表皮凹陷处、腔道和内脏内, 若大量繁殖可引起动物蠕形螨病<sup>[1-6]</sup>, 严重感染可导致动物死亡。但寄生于人体毛囊和皮脂腺的两种蠕形螨的致病性却一直存在争议。争议的焦点在于人体蠕形螨与各种动物蠕形螨是否存在相同的致病性、宿主感染率高而发病率低是否存在种群致病性的不同、寄生于不同宿主和不同部位蠕形螨表型的不同是否存在基因型的不同、基因型不同是否存在种群致病性不同等等。

随着近年人体蠕形螨感染与多种面部皮肤病显著关联性的确认<sup>[7-11]</sup>, 蠕形螨的种群致病性与系统发育关系研究已经引起皮肤病学和病原学领域的关注。在目前蠕形螨研究基础相对较为薄弱的背景下, 本文就蠕形螨的研究进展综述如下。

## 1 蠕形螨的研究历史与形态学分类

蠕形螨, 隶属节肢动物 (Arthropoda)、蛛形纲 (Arachnida)、蜱螨亚纲 (Acari)、真螨总目 (Acariformes)、绒螨目 (Trombidiformes)、肉食螨总科 (Cheyletoidea)、蠕螨科 (Demodicidae)。该科分 5 属, 即蠕螨属 (*Demodex*, Owen)、鼻蠕螨属 (*Rhinodex*, Fain)、翼蠕螨属 (*Plerodex*, Lukoschus 等)、眼蠕螨属 (*Ophthalmodex*, Lukoschus Nutting) 和口蠕螨属 (*Stomatodex*, Fain), 其中, 与致病密切相关的蠕形螨属蠕螨属<sup>[12]</sup>。

人类发现蠕形螨最初始于 19 世纪中叶。1842 年, Simon 首先发现了寄生于人体的毛囊蠕形螨, 接着, Tulk 在犬身上也发现了相似形态的物种, 但未确定其名称。直到 1855 年, Nicolet 才创立了蠕形螨科。1919 年, Stanley Hirst 首次出版蠕形螨属专著, 那时已记录有 24 种蠕形螨, 分别来自 7 个目的哺乳类动物, 绝大部分是来自欧洲的家畜或野生哺乳动物。截至目前已知蠕形螨属有 140 种或亚种, 但每年仍有 1~3 个蠕形螨新种被发现。事实上, 绝大多数宿主有两种或两种以上的蠕形螨同时寄生。蠕形螨通常被认为对寄生宿主有种特异性, 但也有个别交

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2013.03.011

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81271856)

作者单位: <sup>1</sup>710061 西安, 西安交通大学医学院免疫学与病原生物学系; <sup>2</sup>41012 塞维利亚, 塞维利亚大学药学院微生物学与寄生虫学系

\* 通信作者, 赵亚娥, Email: zhaoyae@mail.xjtu.edu.cn

又感染的报道<sup>[13-14]</sup>。

蠕形螨所寄生的宿主和形态特征是其识别和分类的主要依据。1842 年,Simon 不仅首先发现了毛囊蠕形螨,而且指出毛囊蠕形螨形态具有明显的多态性,认为有长毛囊蠕形螨 (*Demodex folliculorum longus*)和短毛囊蠕形螨 (*Demodex folliculorum brevis*)两个亚种。后来,Akbulatova 报道皮脂蠕形螨(即短毛囊蠕形螨)应为一个独立的种。Desch 等<sup>[15]</sup>于 1972 年采用传统形态学分类方法将寄生于人体的蠕形螨确定为毛囊蠕形螨 (*Demodex folliculorum*, Simon, 1842;图 1A、D)和皮脂蠕形螨 (*Demodex brevis*, Akbulatova, 1963;图 1B、E)两种。我国学者谢秀秀等<sup>[16]</sup>于 1982 年采用量度特征和形态特征相结合的方法,对采集自上海的毛囊蠕形螨进行测量,发现来自中国上海的毛囊蠕形螨的测量值与国外描述的毛囊蠕形螨有所不同,因而提出建立一个新的亚种,即毛囊蠕形螨中华亚种 (*Demodex folliculorum sinensis*),但之后很长时间未检索到被证实或被采用的报道。

犬蠕形螨 (*Demodex canis*, Leydig, 1859;图 1C、F)与人体蠕形螨同属于蠕形螨科,主要寄生于犬的毛囊和皮脂腺内。目前检索到寄生于犬的蠕形螨有 3 种,即 *D. canis*、*Demodex injai* 以及未命名的短体蠕虫。*D. canis* 最早被 Leydig 确定并命名<sup>[17]</sup>, *D. injai* 则被 Hillier 和 Desch 描述为寄生于犬的一长体蠕形螨<sup>[18-19]</sup>,雄虫体长是 *D. canis* 雄虫体长的 2 倍以上,雌虫体长则是 *D. canis* 雌虫的 1.5 倍以上。未被命名的短体蠕形螨由 Scarff<sup>[20]</sup>在 1988 年首次描述。1999 年,Chesney<sup>[21]</sup>报道这个“短粗(stubby)”形态的蠕形螨体长大约是 *D. canis* 雌虫体长的一半。2011 年 Izdebska 等<sup>[22]</sup>再次报道,在波兰发现寄生于犬的蠕形螨有 3 种,分别来自 3 个不同的地域,即 Gdańsk, Pomerania, Poland,这 3 种犬蠕形螨 (*D. canis*, *D. cornei* 和 *D. injai*)不仅形态上不同,而且寄生于宿主的位置也不相同。提出 3 种犬蠕形螨形态结构、生物学特性和寄生部位的不同可能与犬蠕形螨病的不同症状有关。

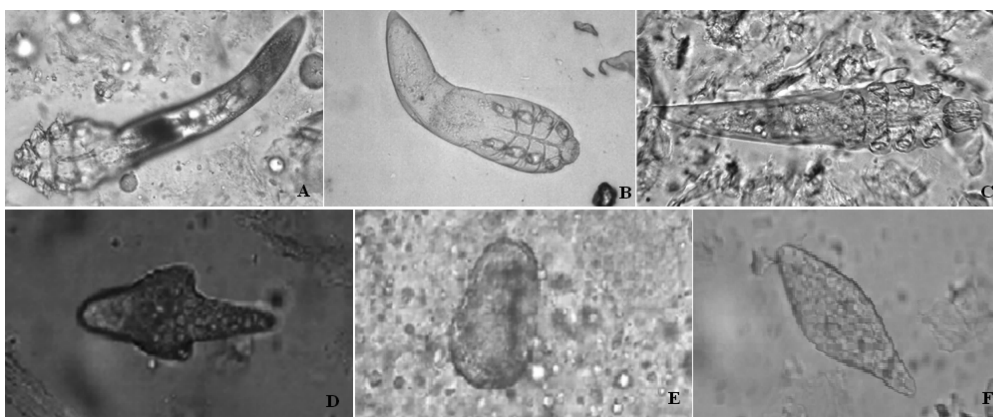


图 1 三种蠕形螨成虫与卵形态

A:毛囊蠕形螨成虫, B:皮脂蠕形螨成虫, C:犬蠕形螨成虫, D:毛囊蠕形螨卵, E:皮脂蠕形螨卵, F:犬蠕形螨卵

## 2 蠕形螨 DNA 研究的现状

长期以来,人类对蠕形螨的识别和分类主要依据其所寄生的宿主和形态特征,而同一宿主有两种或两种以上的蠕形螨寄生,使得以寄生活体作为蠕形螨分类鉴定的依据变得困难;而以生物表型为依据的传统分类和谱系分析具有很大的不确定性,通常表型会受基因和环境双重影响,基因型相同的个体在不同环境下可能表现出表型的变化,而表型相同的个体其基因型有可能不同。然而,基因型则不会因环境的改变而变化,能够直接反映基因的分子结构特征,因此将分子标志技术应用于蠕形螨的分类鉴定和系统学研究具有非常重要的意义。

蠕形螨在分子水平的研究主要受 3 大因素影

响。首先,蠕形螨致病性的不确定性,直接影响了人们对蠕形螨研究的兴趣;其次,蠕形螨个体微小,体壁几丁质厚,破膜困难,使得蛋白质、DNA 和 RNA 提取很难;第三,蠕形螨目前无法进行体外培养<sup>[23-24]</sup>,标准化虫源获得困难,实验用螨只能通过流行病学调查获取,但离体蠕形螨容易自溶,使得实验虫源的获取更加困难。

通过 meta 分析综合定量研究手段<sup>[7-9]</sup>和西安市青少年学生和皮肤科患者大样本流行病学调查<sup>[10-11]</sup>,赵亚娥等先后确认了蠕形螨感染与酒糟鼻、睑缘炎、痤疮等多种面部皮肤病存在关联后,蠕形螨在 DNA 水平的研究日益增多。

虽然 2002 年日本学者就首次提交了犬蠕形螨

几丁质合成酶序列片段 777 bp (GenBank 登录号为 AB080667), 但直到 2008 年以后, GenBank 中有关蠕形螨的基因序列才相继被递交, 有关蠕形螨 DNA 水平的研究报道在 PubMed 和中国期刊全文数据库 (CNKI) 中才陆续被检索到, 内容主要涉及 DNA 提取与 RAPD 分子标志技术、实时定量 PCR 检测和 DNA 序列分析技术等。

## 2.1 RAPD 技术重复性差影响了其在蠕形螨分子标志中的应用前景

RAPD 技术具有事先无需知晓研究对象的任何遗传背景, 即可提供大量位点上的非细节信息的优点。赵亚娥等<sup>[25-26]</sup>于 2009 年首次设计随机引物, 探索了人体蠕形螨基因组 DNA 提取的 3 种方法和 RAPD 分子标志技术在蠕形螨分子鉴定中的应用。结果显示, 每个样本需要蠕形螨 1 500~2 000 只才能提取到基因组 DNA, 试剂盒法提取的蠕形螨 DNA 质量最好, 明显优于碱裂解法和改良小昆虫 DNA 提取法, 随机引物扩增得到清晰的 DNA 指纹图谱显示两种人体蠕形螨具有明显差异, 因此认为试剂盒提取法是提取蠕形螨 DNA 的好方法, RAPD 技术可以用于两种人体蠕形螨分子鉴定和分类。

国外学者也对犬蠕形螨进行了分子水平的研究报道。2010 年, Toops 等<sup>[27]</sup>通过刮取病犬皮屑分离获得犬蠕形螨虫株, 以玻璃珠涡旋混匀破坏几丁质外壳, 采用酚氯仿抽提法提取 DNA; 然后采用 RAPD 法扩增基因组 DNA, 将获得的片段克隆重组测序。结果显示, 采用 75~220 只犬蠕形螨可以成功提取 DNA, 并可用于蠕形螨的分子生物学研究。

在此基础上, 赵亚娥等<sup>[28]</sup>进一步采用 RAPD-SCAR 复合标志对三种 6 株蠕形螨进行分子鉴定和亲缘关系分析。结果显示, RAPD-SCAR 复合标志比单独 RAPD 技术重复性更好, 更适用于三种蠕形螨的分子鉴定, 毛囊蠕形螨与犬蠕形螨的亲缘关系近于皮脂蠕形螨。同时实验结果也显示, RAPD 极易受反应条件的影响, 不同实验室和不同实验条件下的结果难以统一, 造成 RAPD 技术的重复性差, 因而直接限制了对蠕形螨在 DNA 水平的深入研究。

## 2.2 缺乏蠕形螨的分子信息限制了实时定量 PCR 技术的应用潜能

实时定量 PCR 技术是目前确定样品中 DNA (或 cDNA) 拷贝数最敏感、最准确的方法<sup>[29]</sup>。Ravera 等<sup>[30]</sup>根据 GenBank 中日本学者最早提交的唯一一

条犬蠕形螨几丁质合成酶基因序列片段 (登录号为 AB080667) 设计特异性引物, 对样本进行实时定量 PCR 扩增。结果显示, PCR 检测阳性率明显高于形态学检查结果。因此认为, 实时定量 PCR 技术可以作为犬蠕形螨病的检测手段。

赵亚娥等<sup>[31]</sup>以该序列片段为模板设计引物, 对皮脂蠕形螨和犬蠕形螨基因组 DNA 进行扩增测序, 发现该片段非常保守, 皮脂蠕形螨与犬蠕形螨序列只有 1 个核苷酸的差异, 故认为该序列作为犬蠕形螨病的检测手段缺乏特异性。

## 2.3 DNA 序列分析是蠕形螨最直接和灵敏的分子标志方法

DNA 序列分析是探讨生物系统学最直接、最灵敏的分子标志方法。近年线粒体 rDNA 和核糖体 DNA 在蠕形螨的不同阶元分类中已有应用。

### 2.3.1 线粒体 rDNA 在蠕形螨分子标志中的应用

在蠕形螨线粒体 16S rDNA 和 CO I 基因片段的研究中, De Rojas 等<sup>[32]</sup>对来自人体不同部位 (皮肤和睫毛) 的毛囊蠕形螨的两个种群分子形态进行鉴别和研究。结果显示, 16S rDNA 不是区别两个种群的有用标志, 而 CO I 序列有助于鉴别在形态学上很相近以致于用传统的方法很难区分的 2 个种群。

Zhao 等<sup>[33]</sup>对上述序列片段进行研究发现, 线粒体 16S 和 CO I 基因适合于蠕形螨属较低阶元的系统发育分析, 可有效对毛囊蠕形螨、犬蠕形螨和皮脂蠕形螨进行分子鉴定, 但对来自西班牙和中国西安两个地理株的毛囊蠕形螨均未发现亚种分化。第一次在 DNA 水平不支持谢禾秀等认为存在毛囊蠕形螨中华亚种的假设。

De Rojas 等<sup>[34]</sup>进一步采用相同的线粒体 rDNA 16S 和 CO I 片段再次对三种形态上存在明显差异的犬蠕形螨进行基因水平鉴定, 通过遗传距离和差异百分比分析认为, *D. canis*、*D. injai* 和 *Demodex* sp. *Cornei* 是同一个物种的多态性, 并非 3 个独立的种, 从 DNA 水平否定了 Fryderyk 等<sup>[22]</sup>人认为的犬蠕形螨可能存在 3 个种的假设。

### 2.3.2 核糖体 DNA 在蠕形螨分子标志中的应用

2012 年, Zhao 等<sup>[36]</sup>基于单个蠕虫对毛囊蠕形螨 18S rDNA 部分序列进行扩增和序列比对, 结果显示, 蠕形螨样本经过 DNARelease 添加剂和热启动

II DNA 聚合酶处理,单只蠕虫 DNA 产量以 1 只蠕虫最高,后随虫数增加呈下降趋势。提示单个毛囊蠕形螨提取的基因组 DNA 质量即可满足 18S rDNA (900 bp) 特异性片段的检测,并且与 OMEGA 试剂盒提取的蠕形螨多个虫体样本(1 000~1 500 只蠕虫/样本)比对,测序结果一致性在 97% 以上。

Zhao 等<sup>[37]</sup>进一步利用核糖体 18S rDNA 基因和 28S rDNA 基因存在保守区和可变区,不同区域在系统进化中变化速率不一的特征,通过 GenBank 获取已知物种的保守序列设计通用引物,首次获得了毛囊蠕形螨、皮脂蠕形螨和犬蠕形螨 rRNA 基因全序列或近全序列,并对其进行了序列比对分析和系统进化研究,结果显示,18S rDNA 序列各可变区均较适合高阶元总科间(内)的物种分类鉴定,V4 可变区虽然变异最大,但并不适用于较低阶元(蠕形螨属)的鉴定;28S rDNA 序列差异较 18S rDNA 大,13 个可变区只能作为蜱螨亚纲四个总科以下较低阶元的分子鉴定和分类,但总科间的鉴别力各不相同。

### 3 现阶段对蠕形螨研究的难点

近年来,随着蠕形螨致病性的确认,国内外学者对蠕形螨的研究兴趣渐趋浓厚。在 DNA 水平对蠕形螨进行鉴定和亲缘关系研究的文献已有报道<sup>[25-36]</sup>,但三个难以在短时间内解决的问题仍然是限制蠕形螨在分子水平进行深入研究的重要因素。

一是标准化虫源获取困难。蠕形螨对寄生物主有物种特异性,实验动物模型尚未成功建立,体外细胞培养也未取得成功,难以获得标准化虫源是当前面临的一大难题。

二是分子水平研究基础薄弱,缺乏分子数据。蠕形螨在分子水平的研究虽有一些报道,但主要涉及分子标志手段的研究,包括 DNA 提取、RAPD 分子标志和几丁质合成酶部分序列的分子检测等有限范围内。DNA 序列分析作为探讨生物系统学研究最直接最灵敏的方法,在蠕形螨分子系统性研究中才刚刚起步,数据还需要较长一段时间的积累。

三是单个蠕形螨 DNA 和 RNA 提取困难。蠕形螨个体微小,体壁几丁质厚,破膜困难,仍然是限制目前蠕形螨分子水平研究的一大难题。目前虽然已有一些分子水平的研究报道,但大多是通过传统形态学分类进行鉴定的取自同一个宿主的同一种蠕形螨的多个个体标本混合提取的 DNA,无法鉴别寄生于同一个宿主上的同一种蠕形螨个体间的差异,直

接影响蠕形螨低阶元(属或种内)分子差异的鉴别;而采用单个蠕形螨提取的基因组 DNA,虽然对比较保守的基因片段进行 PCR 扩增已取得成功<sup>[36]</sup>,但对于扩增一些变异较大的序列片段其特异性和敏感性仍然不够稳定。

另外,蠕形螨蛋白组分分析、cDNA 文库的构建,因实验需要大量的蠕虫使得研究很难进行。最近,虽然国内已有山羊蠕形螨 cDNA 文库构建的研究报道<sup>[37]</sup>,但对于人体蠕形螨来说,自同一个受试者面部要获取如此数量的实验蠕虫非常困难。因此探索人体蠕形螨体外培养条件或细胞培养方法是今后解决蠕形螨标准化实验虫源行之有效的途径。

### 4 展望

目前国内、外学者已将 DNA 序列看作物种演化的重要依据,正在寻找新的敏感性高和特异性强的分子标志及检测手段。可以预见,随着蠕形螨体外培养条件或细胞培养方法的不断完善,标准化蠕形螨模型的建立,将促进 DNA 序列分析在蠕形螨分子鉴定和系统进化研究中的应用,并为进一步阐明蠕形螨种群致病机制的研究奠定基础。

### 参 考 文 献

- [1] 李广, 崔作宏. 犬蠕形螨病的防治[J]. 畜牧兽医科技信息, 2008, (7): 111.
- [2] Mederle N, Darabu G, Oprescu I, et al. Diagnosis of canine demodicosis[J]. Sci Parasitol, 2010, 11: 20-23.
- [3] Izdebska JN. *Demodex* sp. (Acari, Demodecidae) and demodicosis in dogs: characteristics, symptoms, occurrence[J]. Bull Vet Inst Pulawy, 2010, 54: 335-338.
- [4] 肖芳萍, 徐洪忠, 李明举. 山羊蠕形螨病的研究[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2008, 5: 64-65.
- [5] Smith HJ. Demodicidosis in a flock of goats[J]. Can Vet J, 1961, 2: 231-233.
- [6] Chakrabarti A, Pradhan NR. Demodicidosis in livestock in West Bengal (India)[J]. Int J Zoonoses, 1985, 12: 283-290.
- [7] Zhao YE, Wu LP, Peng Y, et al. Retrospective analysis of the association between *Demodex* infestation and rosacea[J]. Arch Dermatol, 2010, 146(8): 896-902.
- [8] Zhao YE, Wu LP, Hu L, et al. Association of blepharitis with *Demodex*: a meta-analysis[J]. Ophthalmic Epidemiol, 2012, 19(2): 95-102.
- [9] Zhao YE, Hu L, Wu LP, et al. A meta-analysis of association between acne vulgaris and *Demodex* infestation[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2011, 13(3): 192-202.
- [10] Zhao YE, Guo N, Xun M, et al. Sociodemographic characteristics and risk factor analysis of *Demodex* infestation (Acari:

- Demodicidae)[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2011, 12(12): 998-1007.
- [11] Zhao YE, Peng Y, Wang XL, et al. Facial dermatosis associated with *Demodex*: a case-control study[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2011, 12(12): 1008-1015.
- [12] 李朝品. 人体寄生虫学实验研究技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1177.
- [13] Morsy TA, el Okbi MM, el-Said AM, et al. *Demodex* (follicular mite) infesting a boy and his pet dog[J]. J Egypt Soc Parasitol, 1995, 25(2): 509-512.
- [14] 王彦平, 李萍, 郇国强, 等. 犬蠕形螨致人体皮炎一例报告[J]. 白求恩医科大学学报, 1998, 24(3): 265.
- [15] Desch CE, Nutting WB. *Demodex folliculorum* (Simon) and *Demodex brevis* (Akbulatova) of man: redescription and reevaluation[J]. J Parasit, 1972, 58(1): 167-177.
- [16] 谢禾秀, 刘素兰, 徐业华, 等. 蠕形螨的分类和一种新亚种[J]. 动物分类学报, 1982, 7(3): 265-269.
- [17] Leydig F. Ueber harrsackmiben, kratzmilben[J]. Arch Nat Berlin, 1859, 25: 338-354.
- [18] Desch CE, Hillier A. *Demodex injai*: A new species of hair follicle mite (Acari: Demodicidae) from the domestic dog (Canidae) [J]. J Med Entomol, 2003, 40(2): 146-149.
- [19] Hillier A, Desch CE. A new species of *Demodex* mite in the dog a case report [C]. Annual Members' Meeting of the American Academy of Veterinary Dermatology and the American College of Veterinary Dermatology Nashville, Tennessee, 1997: 118-119.
- [20] Scarff D. Morphological differences in *Demodex* spp [C]. Proceedings of the fifth annual congress of the European society of veterinary dermatology, London, 1988: 23.
- [21] Chesney CJ. Short form of *Demodex* species mite in the dog occurrence and measurements[J]. J Small Anim Pract, 1999, 40: 58-61.
- [22] Izdebska JN, Fryderyk S. Diversity of three species of the genus *demodex* (Acari: Demodicidae) parasitizing dogs in Poland[J]. Pol J Environ Stud, 2011, 20: 565-569.
- [23] Zhao YE, Guo N, Wu LP. The effect of temperature on the viability of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* [J]. Parasitol Res, 2009, 105: 1623-1628.
- [24] Zhao YE, Guo N, Wu LP. Influence of temperature and medium on viability of *Demodex folliculorum* and *Demodex brevis* (Acari: Demodicidae)[J]. Exp Appl Acarol, 2011, 54(4): 421-425.
- [25] 赵亚娥, 成慧, 寻萌, 等. 人体蠕形螨的 DNA 提取与随机引物 PCR 检测[J]. 昆虫学报, 2009, 52(8): 929-933.
- [26] 赵亚娥, 成慧. 毛囊蠕形螨与皮脂蠕形螨基因组 DNA 的 RAPD 分析和序列比对[J]. 昆虫学报, 2009, 52(11): 1273-1279.
- [27] Toops E, Blagburn B, Lenaghan S, et al. Extraction and characterization of DNA from *Demodex canis* [J]. J Appl Res Vet Med, 2010, 8(1): 31-43.
- [28] Zhao YE, Wu LP. RAPD-SCAR marker and genetic relationship analysis of three *Demodex* species (Acari: Demodicidae)[J]. Parasitol Res, 2012, 110: 2395-2402.
- [29] 赵焕英, 包金凤. 实时荧光定量 PCR 技术的原理及其研究进展[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2007, 16(4): 492-497.
- [30] Ravera I, Altet L, Francino O, et al. Development of a real-time PCR to detect *Demodex canis* DNA in different tissue samples[J]. Parasitol Res, 2011, 108(2): 305-308.
- [31] Zhao YE, Wang ZH, Xu Y, et al. Cloning and sequence analysis of chitin synthase gene fragments of *Demodex* mites [J]. J Zhejiang Univ-Sci B, 2012, 13(10): 763-768.
- [32] De Rojas M, Riazzo C, Callejon R, et al. Morphobiometrical and molecular study of two populations of *Demodex folliculorum* from humans[J]. Parasitol Res, 2012, 110(1): 227-233.
- [33] Zhao YE, Wu LP. Phylogenetic relationships in *Demodex* mites (Acari: Demodicidae) based on mitochondrial 16S rDNA partial sequences [J]. Parasitol Res, 2012, 111(3): 1113-1121.
- [34] Zhao YE, Ma JX, Hu L, et al. Discrimination between *Demodex folliculorum* (Acari: Demodicidae) isolates from China and Spain based on mitochondrial *cox 1* sequence[J]. Zhejiang Univ Sci B, 2013. In press.
- [35] De Rojas M, Riazzo C, Callejon R, et al. Molecular study on three morphotypes of *Demodex* mites (Acarina: Demodicidae) from dogs[J]. Parasitol Res, 2012, 111: 2165-2172.
- [36] Zhao YE, Xu JR, Hu L, et al. Complete sequence analysis of 18S rDNA based on genomic DNA extraction from individual *Demodex* mites (Acari: Demodicidae)[J]. Exp Parasitol, 2012, 131(1): 45-51.
- [37] Zhao YE, Wu LP, Hu L, et al. Sequencing for complete rDNA sequences (18S, ITS1, 5.8S, ITS2, and 28S rDNA) of *Demodex* and phylogenetic analysis of Acari based on 18S and 28S rDNA[J]. Parasitol Res, 2012, 111(5): 2109-2114.
- [38] 肖克源, 郭淑玲, 刘艳荣, 等. 蠕形螨 cDNA 文库的构建及鉴定[J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(5): 15-19.

(收稿日期: 2012-12-28)

(本文编辑: 高石)