室内塵, 稲藁などの材料からダニ類を 検出する方法の比較検討

Comparative studies on the methods for detection of
mites from house dust and straw

篠原 茂 文¹⁾ 佐々 学²⁾
宮本 詢 子²⁾ 白坂 昭 子²⁾

Shigefumi Shinohara, Manabu Sasa,
Junko Miyamoto and Akiko Shirasaka

はじめに

種々の貯蔵食品, 屋内塵, 畳の材料となる稲藁などに多くの種類のダニ類が発生することは周知の通りであるが, これらの材料からダニ類を検出する方法としては今日まで色々な術式が報告されている。たとえば, 食品中の異物としての昆虫, ダニ類などを検出する方法としては, 以前からワイルドマン・トラップ法が標準とされており, さらに佐々ら (1961) は飽和食塩水浮游法がこの目的に能率がよいことを報告した。近年になつて, 室内塵に多くのダニ類がいることが注目され, その検出法として, Spijksma ら (1967) は乳酸浮游法を, 大島 (1968) はエーテルと四塩化炭素を用いる有機溶媒浮游分画法を採用している。また, 土壌中などのダニ類を採集する方法としては, 古くからベルレーゼ法も用いられている。これらの方法はその原理からみて, (1) 比重の高い液に混和してダニ (比重約 1.1以下) を自然に, 又は遠心器にかけて浮上させるもの, (2) 水に少量のクロシンを加えた液中で振盪したあと静止しておくとき昆虫, ダニ類等が特異的にクロシン層に捕えられて浮上してくる原理を用いたもの, (3) 上から電灯の熱を加えると生きたダニが基材から逃げ出して下に落ちることを利用したもの, という3種に分類される。それらは目的や材料に応じて一長一短があるものと思われるが, ある材料について一定の目的をもつて検査を行なおうとする際に, その検出性 (存在するダニ類の何%を検出できるか), 選択性 (虫

体をそれ以外のものからどの程度選択的に拾いあげることができるか), 能率性 (操作にどの程度の労力や時間が必要か), 経済性 (器具, 試薬の経費や人手がどのくらいかかるか) などの面から比較検討を行なう必要がある。さらに, 場合によつては, これらの材料にふくまれるダニが生きていたものか, 死骸であるのかの別が必要となつたり, 分離した虫体が化学的, 免疫学的に変質せぬことが必要となる。

今回の研究は, これら多くの条件のうち, 基材としては主として屋内塵と, 畳の材料となる稲藁に主眼をおき, ケナガコナダニとコナヒョウヒダニの両種を材料に用い, これらの方法についてその検出能を比較する実験を行なつた。これらの実験に用いたダニは, あらかじめ色素を用いて標識し, さらに生きたダニと, 乾燥して殺したダニについて別々にその回収率を求めることとした。

供試材料

1) 供試したダニはケナガコナダニ *Tyrophagus putrescentiae* (以下 T.p と呼ぶ) とコナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* (以下 D.f と呼ぶ) の2種で, 前者は水分含量約15%の粉末飼料 (マウス飼育用固型飼料を粉末にしたもの) 50g に 25°C でおおむね60日間培養したもの, 後者は同じ飼料を水分含量約12%でおよそ60日間培養したものを用いた。

2) 実験にあたつては, まず確実に生きているダニを集める目的で, ダニの培養容器 (径 6 cm, 深さ 7 cm, プラスチック製) を水を入れたシャーレの中におき, およそ15~18時間保存し, 容器から這い出して水面に浮いている生きたダニを吸引濾過し濾紙面に集めた。

3) T.p については, 供試材料とすでに屋内塵などに

- 1) 長野県軽井沢中学校, 長野県教育委員会派遣による東京大学医科学研究所客員研究員
- 2) 東京大学医科学研究所, 寄生虫研究所
Department of Parasitology, the Institute of Medical Science, The University of Tokyo

あらかじめ発生していたものとを区別するために、飼料に対し 0.1% の Azur II をアルコールに溶解し、飼料に混ぜ、よく攪拌してからアルコールを飛散させたものの中で数日間飼育したところ、そのダニはすべて体内に青色の色素をもつことが認められた。死ダニに対する標識法としては、T.p, D.f とともに、濾紙上に集めた生きたダニを、赤外線ランプの下で約 50°C で 10 分間加熱乾燥したものを、再び吸引漏斗に乗せ、エオシン 0.1% 液を数滴滴下して染色し、水洗後乾燥させる方法をとった。

4) 各検出方法ごとに、次の 4 種の材料を供試した。

(a-1) 生きたダニを濾紙面においたもの。

這い出しダニを吸引濾過し、濾紙面に集めたものを、濾紙のまま小さく切り取り、実体顕微鏡下でダニ数を数え、そのまま使用。

(a-2) ダニを濾紙面においたまま乾燥して殺し、濾紙を切つて数を調べたもの。

(b-1) 生きたダニを屋内塵に混ぜたもの。

上記同様にして数えたダニを細筆を用いて 0.2g の屋内塵中に払い落とし、よく混和したもの。

(b-2) 死んだダニを屋内塵中に混ぜたもの。(b-1) と同様の方法で標識した死んだダニ使用。

以上の実験に用いた屋内塵は、鳥居薬品会社が、1963 年以降、北海道、四国、九州はじめ全国各地の家庭から採集して倉庫に貯蔵しておき、のち混合したものである。この屋内塵をメッシュ NO. 32 の篩でこして使用した。

5) 加熱追い出し法に使用した藁は一辺 15cm の正方形に切断した畳床の上部に、藁包紙に 3g の T.p が繁殖した飼料に乗せ、下部には長さ 10cm、幅 5cm、深さ 5cm のプラスチック容器に水を約 100 ml 入れ、全体をポリエチレン袋に封入し、25°C で約 1 カ月間保存し、ダニが充分繁殖した後、畳床の藁を抜きとり、約 2cm の長さに切断して使用した。

実験方法

1) 飽和食塩水浮上法

標識した濾紙片上のダニ、または、屋内塵 0.2g に混合したダニをそれぞれ、500ml 入りワイルドマンフラスコ* にとり、飽和食塩水約 50ml を加え、振とうし、のちフラスコの首の上部まで飽和食塩水を加え、攪拌後、約 30 分間静置した。のち栓を引き上げ、上部の液をあらかじめ約 1cm 間隔に線を引いた径 7cm の丸濾紙の上

にブッフネル濾斗で吸引濾過したものを「浮上ダニ」として取扱った。同様に中間層および下部沈澱層を吸引濾過したものを「沈澱ダニ」として取扱った。「浮上ダニ」、「沈澱ダニ」とともに必要により、2～3 枚の濾紙にとり、フリーザー (約 -20°C) におよそ 30 分間入れ、ダニの運動を停止させた上で、実体顕微鏡下で数えた。

2) 遠心沈澱法

供試ダニを内径 3cm、深さ 10cm の遠心管に入れ、これに飽和食塩水、乳酸、有機溶媒 (四塩化炭素 s.g = 1.582, および比重を変えるためエーテルを適宜混合し、それぞれ目的の比重液を作ったもの) を遠心管に約 8 分目入れ、攪拌後、クボタスウィング遠心分離機にかけ、約 2500 rpm で 15 分間回転した。

上清部を吸引濾過し、必要に応じ 2～3 枚の濾紙にとり、数えたものを「浮上ダニ」とし、沈澱部は水または有機溶媒等を加えて再び浮游させ、数枚の濾紙にとり、数えたものを「沈澱ダニ」とした。

3) 有機溶媒浮游法

200ml フラスコを用い、これに針金の柄をつけたゴム栓を挿入して小形のワイルドマンフラスコに改造し、有機溶媒を用いて、飽和食塩水浮上法と同様の操作でダニの回収を試みた。

有機溶媒は、大島 (1968) の方法に従い、四塩化炭素、エーテルを用いて混合比を変え、目的の比重液をつくった。たとえば、比重 1.206 は四塩化炭素 5 : エーテル 4, 比重 1.416 は 5 : 1, 比重 1.582 は四塩化炭素のみを用いた。

4) ケロシン浮上法

供試ダニをそれぞれ、ワイルドマンフラスコにとり、ケロシン 1ml を加え、水を約 500 ml 加えてよく振とうしてから液面がフラスコの首の上部に達するまで水を加え、攪拌後、30 分間静置し、飽和食塩水浮上法と同様の操作で回収を試みた。

以上の方法により、(1) あらかじめ数をかぞえた濾紙上のダニを使つて回収し、(2) 次に屋内塵 0.2g に混合したダニを回収した。

5) 加熱追い出し法

供試材料藁を約 2cm に切断したものを、次の装置によつて加熱追い出し数を時間ごとに数えた。

この装置は径 9cm のガラス製ロートの管部を 2cm 残して切除したものを三脚台に乗せ、ロートの底部に 28 番のエナメル線を丸めて押し、金網状にして入れ、そこへ切断藁を入れる。上部から Z ライト (100V—100W) で適当な距離を隔てて点灯照射する。

表 3 は、同一の畳床 (15×15cm) から稲藁約 50g をとり、約 2cm に切断し、よく混ぜ合わせて、2g ずつ 15

* 三角コルベンに金属棒の柄がついたゴム栓を挿入し、これを引き上げると、頸部をふさぎ、液の表面に浮いたものを傾斜して流し出させるようになってゐる。

Table 1. Comparison of the recovery rates of mites (on filter paper) by various separation methods

Method applied (A)	Specific gravity (B)	Species of mites tested (C)	Tests with fresh mites				Tests with dead mites					
			Number added (D)	% reco- vered (E)	% in sediment (F)	% on paper (G)	% missed (H)	Number added (D)	% reco- vered (E)	% in sediment (F)	% on paper (G)	% missed (H)
Sodium chloride, sat. Floation	1.20	T.p. D.f.	2005 518	97.3 70.5	1.2 19.5	0.2 1.9	1.2 8.1	818 606	18.0 24.3	76.4 69.6	1.1 0.7	4.3 5.4
Sodium chloride, sat. Centrifugation	1.20	T.p.	197	95.9	2.5	1.5	0.	386	71.5	6.5	16.1	1.6
Lactic acid, 90% Centrifugation	1.20	T.p.	290	93.1	5.2	1.7	0.	255	94.9	4.3	0.8	0.
Carbon tetrachloride & ether, Centr.	1.21	T.p.	282	78.4	16.0	5.7	0.	168	33.9	45.8	20.2	0.
Carbon tetrachloride Centrifugation	1.58	T.p.	194	84.0	2.1	13.9	0.	244	63.5	5.3	31.1	0.
Carbon tetrachloride & ether, Float.	1.21	T.p. D.f.	455 265	13.4 14.7	61.8 56.6	8.4 22.6	16.5 6.0	585 459	1.4 3.5	77.3 82.8	10.6 7.2	10.6 6.5
do.	1.42	T.p. D.f.	640 250	20.6 31.6	62.5 46.0	7.2 10.0	10.0 12.4	652 459	23.3 3.5	65.8 82.8	6.4 7.2	4.4 6.5
Carbon tetrachloride Floation	1.58	T.p. D.f.	438 326	50.2 50.9	32.0 27.6	11.2 17.5	6.6 4.0	327 326	28.1 47.9	45.0 37.7	9.8 6.4	16.5 8.0
Kerosene & water Floation		T.p. D.f.	613 381	95.8 92.1	0.3 0.3	0. 1.0	3.9 6.8	592 388	93.6 74.5	0.2 1.8	0. 1.3	6.3 22.4

Table 2. Comparison of the recovery rates of mites (mixed in house dust) by various collection methods

Method applied	Species tested	Tests with fresh mites				Tests with dead mites			
		Number added	% reco- vered	% in sediment	% missed	Number added	% reco- vered	% in sediment	% missed
Sodium chloride, sat. Floation	T.p. D.f.	147 254	63.9 84.3	27.2 10.6	8.8 5.1	286 293	58.4 60.4	39.5 35.2	2.1 4.4
Sodium chloride, sat. Centrifugation	T.p. D.f.	261 304	86.2 94.1	10.7 3.6	3.1 2.3	357 349	89.9 89.1	7.8 8.9	2.2 2.0
Kerosene & water Floation	T.p. D.f.	206 256	88.3 93.8	7.8 3.5	3.9 2.7	507 224	89.9 90.6	8.7 8.5	1.4 0.9

検体を取り、うち5検体を電球と検体表面までの距離を6cmとし、5検体は9cmの距離にして実験した。

これらは1時間ごとに、ピーカーの水面上に落下したダニ、および、ロート管部に付着しているダニを水で洗い落とし、吸引濾過して数えた。

残りの5検体は直接実体顕微鏡下で切り開いて「生ダニ」をプレパラートにして数え、追い出し実験対照区とした。

成 績

1) 濾紙上の検体を濾紙のまま切りとって回収した実験結果を表1に示した。それぞれ2～3回の実験を行ない、その合計数で表わした。最初に入れたダニ数の合計を投入ダニ数とし、各分画ごとに検出したダニ数の合計と、投入ダニ数との比を百分率で示したものを各分画の比率とした。表中「浮上」がその実験の回収率を示している。

飽和食塩水浮上法では、T.p (ケナガコナダニ)、D.f (コナヒョウヒダニ) の生きたダニの回収率は、97.3%、70.5%で、死んだダニの回収率は、18%、24.3%であった。濾紙に付着残留して回収できなかったもの、および各分画ごとのダニ数の合計と最初に投入したダニ数との差、すなわち「不明」(行方不明となったダニ)は0.2%～0.8%の割合を示した。遠心沈澱法は、上清部を「浮上」とした。乳酸を用いた方法の回収率は生、死それぞれ93.1%、94.9%を示し、飽和食塩水遠心沈澱法では、95.9%、71.5%で、この両者に顕著な差がなかった。

有機溶媒浮游法では1.4%から50.9%の回収率を示

し、比重の大なるものほど回収率が高くなっているが、いずれも上の2法よりはるかに劣っている。

クロシン浮上法では、T.p、D.fの各「生ダニ」、「死ダニ」とともに74.5%から95.8%の高率を示した。

2) 屋内塵0.2gに混ぜたダニの検出結果を表2に示した。実験方法はおおむね濾紙に乗せたダニの検出と同様に行なった。

飽和食塩水浮上法では、T.pの生、死ダニの回収率がそれぞれ63.9%、58.4%、D.fで60.4%、84.3%を示した。

飽和食塩水遠心沈澱法では、89.1%、94.1%と比較的均一化された高い回収率を示している。

ワイルドマン法では88.3%、93.8%と高い回収率を示した。

3) 加熱追い出し法を稲藁に対して応用した成績は表3に示す。ここに用いた方法は、(A)検体表面と光源ランプの距離を6cmとし加熱追い出しを行なったもの、(B)その距離を9cmに離れたもの、(C)同量の材料を直接に実体顕微鏡下で切り開いてプレパラートにしてダニ数を数えたものの3つで、それぞれ2gずつ5検体を用いた。

直接検査法(C)で得られたダニ数は合計885疋で、熱追い出し7時間値の合計は、(A)、6cmの距離では856疋で、(C)に対しては96.7%の推定回収率となるが、(B)9cmの距離のものは573疋で、推定回収率64.7%となり、6cm距離の方がすぐれた成績を示した。さらに各時間毎の累積率を見ると、6cm距離では1時間で36.4%、3時間で84.0%で、9cm距離のものは1時

Table 3. The numbers and the recovery rates of *Tyrophagus putrescentiae* in 2 gr. samples of rice straw by the heating method with electric bulbs according to the hours after application at distances of 6 cm and 9 cm from the sample surface (The numbers of mites detected from the same 2 gr. straw samples by direct examination under microscope were 181, 160, 131, 248, 165 and 885 in total)

	Heating from 6 cm distance					Heating from 9 cm distance										
Time after application	Sample Number					Total	Cumul. %	Recovery rate (%)	Sample Number					Total	Cumul. %	Recovery rate (%)
	1	2	3	4	5				1	2	3	4	5			
1 hour	77	54	48	91	42	312	36.4	35.3	9	15	13	18	22	77	13.4	8.7
2 hours	104	62	38	14	46	264	67.3	65.1	40	35	10	70	34	189	46.4	30.1
3 "	38	21	28	32	24	143	84.0	81.2	25	46	32	19	21	143	17.4	46.2
4 "	19	10	17	3	9	58	90.8	87.8	12	10	26	10	19	71	84.8	54.9
5 "	12	6	4	13	3	38	95.2	92.1	12	6	20	2	3	43	92.3	59.8
6 "	4	5	6	1	11	27	98.4	95.1	5	2	9	1	1	18	95.5	61.8
7 "	3	2	3	2	4	14	100.	96.9	11	4	6	3	2	26	100.	64.7
Total	257	144	159			856	—	96.9	114	116	102			573	—	64.7
		160	156							118	123					

間で13.4%, 3時間で71.4%と、6 cm 距離のものが、短時間に高率を示すことを表わしている。なお、検体表面温度は、18°C の室温で6 cm の場合48°~49°C, 9 cm の場合42°~43°C であった。

考 察

貯蔵食品、粉末飼料、屋内塵、畳の材料の稲藁などからダニを回収する方法としては、(1) 比重の高い液を用いてダニを浮上させ、異物を沈澱させる方法、(2) 検体を水に沈めクロシンの少量を加えて振とうし虫体をクロシンにひっかけて浮上させる方法、(3) 赤外線加熱により生きたダニを検体から追い出す方法などが考えられ、ここにその比較検討を行なった。

(1) の高比重液を用いる方法としては、すでに佐々ら(1961)が報告した飽和食塩水(比重約1.2)を用いる分離法がある。この報告によれば、ケナガコナダニの比重はおおむね 1.1以下であることから、比重 1.2の食塩水を用いると異物とよく分離することが示されている。今回の実験では、生きたダニについては95%以上の回収率が示されたが、死んだダニには飽和食塩水が浸透するため浮上しなくなるものが多くなると考えられる。ただし屋内塵については死んだダニについても回収率が高いことが示された。飽和食塩水を用い、ワイルドマンフラスコで自然に浮游させるよりも、遠心管で遠心沈澱して強制的に異物を除去する方がダニの回収率は若干すぐれているし、1回の操作で異物を除去する力も遠心沈澱の方がすぐれている。

高比重液に乳酸を用いる方法(Spieksma ら1967)、グリセリン、蔗糖液を用いる方法なども試みたが、生ダニに関しては、とくに飽和食塩水よりすぐれている成績は得られず、安価でしかもダニが生きたまま回収される方法として飽和食塩水に利点があると考えた。

四塩化炭素とエーテルを用いて分画する方法は、いちじるしく回収率が悪いことが示された。このような有機溶媒を用いると、生きたダニはすぐに死んで濾紙や塵にひっかかったまま沈んでしまうものが多いこと、溶媒がダニに急速に浸透し、ダニが溶媒とほぼ同じ比重になり、比重 1.2以上の液を用いても浮上せずに液中に浮游ないし沈澱してくるものが多くなるために、浮上法による回収率はいちじるしく悪い。しかも回収されたダニは脱水脱脂され、生死の別が分らなくなり、化学的にも変化がおこると考えられる。大島(1968)の原法では室内塵の処理に色々と比重を変えた何段階かの液を用い、各比重について数枚ずつの濾紙に集めて液中に浮游するものを分画回収することが行なわれ、ダニを多くの分画に希釈してそのすべてを検出しようとするものであるが、1

検体の検査に数十枚もの濾紙の検鏡を要し、操作の複雑さ、溶媒の価格、エーテルを使う危険性、毒性等を考えると、日常検査の目的には添っていないとみなされる。

これに対して、食品中の昆虫、ダニ等を検出するために従来から一般に用いられていたワイルドマン・トラップを改良し、クロシンの使用量を従来の基準の約30 ml から1 ml という少量にすると、室内塵からのダニの回収は生死を問わずきわめて高率であることがわかった。この方法では回収されたダニはクロシンにまみれて死んでいるが、単なる検出方法としては簡単ですぐれているものと思われる。

稲藁のような材料の中にいるダニは、その内部に食いつこんでいるために直接の浮上法では検出されない個体が多い。藁の各層をはがしてから浮上させるか、直接に検鏡する方法のほかに、電灯の熱により追い出す古典的なベルレーゼ法の改良によつて、少なくとも生きたダニについては高率に回収しうることが明らかにされ、畳に生息するダニの検査などには適していることが示された。

ま と め

1) 室内塵、粉末飼料、畳床に用いる稲藁などの材料からコナダニ類を検出する方法を検討し、その回収率(あらかじめ存在したダニの何%が検出されたか)、選択性(ダニ以外の異物との分離がどのくらい行なわれたか)をケナガコナダニ、コナヒョウヒダニの2種についてそれぞれ生きた材料と、死んで乾燥した材料につき比較検討した。

2) 飽和食塩水を検体に加えて自然に浮上した部分、あるいはそれを遠心沈澱した上清を濾紙に吸引濾過する方法は、生きたダニについては高い回収率を示したが、死んだ乾燥したダニの回収は一般に不良であった。選別に用いる高比重液として乳酸、グリセリン、蔗糖液なども検討したが、とくにすぐれた点は見出されなかった。四塩化炭素にエーテルを混合した有機溶媒ではダニが液中に浮游するものが多く、浮上率が低いことが示された。

3) ダニ材料をワイルドマンフラスコに入れ、水と少量のクロシンを加えて振とうした後、水を追加し、浮上したクロシン層を濾紙上に吸引濾過する方法は、生ダニ、死ダニとも高い回収率を示した。

4) 稲藁の中に繁殖しているケナガコナダニの回収には、材料を細切にしてガラスロートにとり、上から電灯の熱を加えると追い出されロートの下においた容器の水面に大部分が落下してくるので、その繁殖状況の調査にはすぐれた方法であることがわかった。

文 献

- 1) 佐々学 (1954) : 食品害虫及び衛生害虫としてのコナダニ類. 医家叢書, 医学書院. —2) 佐々学, 他 (1965) : ダニ類—その分類, 生態, 防除—p 28-p 33, 東大出版会. —3) 佐々学, 他 (1961) : 食品や薬品に繁殖するコナダニ類の飽和食塩水浮遊法による検出. 食品衛生研究 1-3. —4) 大島司郎, 他 (1967) : 日本各地で採集した室内塵中のダニ相とくに優占種としての *Meulia* spp. 横浜市衛生研究所年報, 第 6 号(昭和41年度). —5) Edward W. Baker & G. W. Wharton : An introduction to Acarology p 4-p 11. —6) 松本克彦, 他 (1967) : 畳におけるケナガコナダニの繁殖とその防除. 東女医大誌, 36(4) : 145-150. —7) Manabu Sasa, Katsuhiko Matsumoto, Akiko Miura and Ueto Takeda (1961) : Saturated saline floatation method, a new and simple technic for the detection of grain mites in stored food product and drugs. The Japanese Journal of Experimental Medicine, 31(5) : 341-349. —8) F. Th. M. Spieksma and M. I. A. Spieksma-Boezeman (1967) : The mite fauna of house dust with particular reference to the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897). Acarologia, IX(1-1).

Summary

Various methods have been proposed for the detection of mites in stored food, house dust, straw, and other materials with different characters. The authors carried out a series of experiments with various methods for comparison of the efficiency in the recovery rates of living and dead mites, that in selectivity of mites from other debris, and from standpoint of economy and labour. The methods may be classified into the three categories, (1) those separating the mites by specific gravity of the media, (2) that separating from materials suspended in water by trapping in kerosine, and (3) the classical Berlese's method, or the collection of mites on water surface that escaped from the breeding media

heated by irradiation with electric bulb.

Two species of mites were used in the present experiments, *Tyrophagus putrescentiae* and *Dermatophagoides farinae*, both bred in artificial media. The living mites were marked by adding the dye azur II dissolved in alcohol to the culture media (powder of laboratory mouse food), and were collected on water surface by placing the containers of culture media in a dish with water. The marked dead mites were produced by killing the mites on filter paper with heat from infra-red bulb, and by staining with eosine.

The saturated NaCl solution with a specific gravity of about 1.2 was found to be an excellent media for separating the living mites from the breeding media either by floatation in Wildman flask, or by centrifugation of debris in centrifuge tubes, but the rates of recovery of dead mites were rather poor. The mites isolated with saturated salt were alive and intact, and could be used for further studies in immunology and biology. Some media with specific gravity of about 1.2, such as the pure lactic acid, glycerine or sugar solution, were found to be as useful but less economic than the saturated salt solution. The use of organic solvent with various specific gravity prepared by mixing carbon tetrachloride and ether were found to be not efficient in separating the mites by floatation, as the media were easy to penetrate into the mite body and gave balanced specific gravities.

The classical method using Wildman's flask, mixing the materials with water and separating the mite bodies with kerosine, was found to be excellent also in isolating both living and dead mites from materials such as house dust, when small amount of kerosine such as 1 ml to 500 ml of water was used. Another classical method of the use of heat from electric bulb on straw and other materials as the media for the breeding of mites was found to be excellent also for separating the living mites under appropriately designed equipments.