

Bộ Y tế
Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng trung ương

Báo cáo tổng kết đề tài

**NGHIÊN CỨU CÁC LOÀI ĐỒNG HÌNH VÀ VAI TRÒ TRUYỀN
BỆNH CỦA MUỖI *ANOPHELES MACULATUS*;
AN. LESTERI, *AN. SP1* (THUỘC NHÓM LOÀI *AN. HYRCANUS*)
Ở VIỆT NAM"**

Cấp quản lý đề tài: Bộ Y tế

Cơ quan thực hiện đề tài: Viện sốt rét -Ký sinh trùng-Côn trùng trung ương

Cơ quan phối hợp: - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

- Viện Sốt rét-KST-CT Qui Nhơn

- Phân viện Sốt rét-KST-CT TP. Hồ Chí Minh

- Trung tâm Phòng chống Sốt rét, Trung tâm Y tế dự
phòng các tỉnh: Hải Phòng, Nam Định, Ninh Bình, Hoà Bình, Sơn La
Khánh, Hoà Bình, Thuận, thành phố Hồ Chí Minh, Bạc Liêu, Cà Mau...

Chủ trì đề tài: TS. Nguyễn Đức Mạnh.

Cán bộ thực hiện: tổ Anopheles, khoa Côn trùng
và một số cán bộ phối hợp
(có danh sách kèm theo)

2002-64-246/1000

Hà Nội-2000

4248

10/11/2002

DANH SÁCH NHỮNG NGƯỜI THAM GIA THỰC HIỆN ĐỀ TÀI.

| | |
|----------------------------|----------------------------------|
| TS. Nguyễn Đức Mạnh | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| TS. Trần Đức Hình | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| ThS. Nguyễn Thị Hương Bình | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| ThS Hồ Đình Trung | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Vũ Việt Hưng | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| TS. Lê Xuân Hợi | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Văn Quyết | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Vũ Khắc Đệ | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Vũ Đức Chính | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Văn Đồng | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Lê Minh Đạo | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Đình Lựu | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Thị Diệp | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Đoàn Thị Kiểm | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Khắc Chinh | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Lê Trung Kiên | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| BS. Phạm Thị Vưu | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| BS. Ngô Trọng Hưng | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| TS. Nguyễn Tuyên Quang | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| CN. Nguyễn Sơn Hải | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| BS. Nguyễn Đình Năm | Viện Sốt rét-KST-CT TƯ |
| PGS. TS. Trịnh Đình Đạt | Trường Đại học Khoa học Tự nhiên |

NHỮNG CHỮ VIẾT TẮT

| | |
|------------------|---|
| AAT: | Aspartate Aminotranferase |
| AND: | Acid Deoxyribonucleic |
| An. : | <i>Anopheles</i> |
| bp: | Đôi bazơ nitơ |
| COI: | Gen ti lập thể Cytochrome C oxidase I |
| CDC: | Trung tâm phòng chống bệnh truyền nhiễm. |
| cs: | Cộng sự |
| ctv: | Cộng tác viên |
| D _N : | Khoảng cách di truyền |
| (E.C): | Mã số enzym |
| EC: | Cộng đồng Châu Âu |
| ELISAs: | Phản ứng miễn dịch hấp phụ liên kết enzym |
| et al: | và những người khác |
| Gel: | bản gel để điện di |
| G6PD: | Glucose - 6- Phosphate dehydrogenase |
| HAD: | D-2- Hydroxy- Acid dehydrogenase |
| IDH: | Isocitrate Dehydrogenase |
| I _N : | Hệ số tương đồng di truyền |
| LDH: | L-Lactate Dehydrognase |
| Mabs: | Kháng thể đơn dòng |
| MDH: | Malate Dehydrogenase |
| ODH: | Octanol Dehydrogenase |
| PGM: | Phosphoglutamutase |
| Rf: | Tốc độ chuyển dịch tương đối của cấu tử điện di |
| rARN: | Acid ribonucleic Ribosome |

Viện SR, KST-CT: Viện Sốt rét - Ký sinh trùng-Côn trùng.

**TÓM TẮT KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI:
NGHIÊN CỨU CÁC LOÀI ĐỒNG HÌNH VÀ VAI TRÒ TRUYỀN
BỆNH CỦA MUỖI *ANOPHELES MACULATUS*;
AN. LESTERI, *AN. SP1* (THUỘC NHÓM LOÀI *AN. HYRCANUS*)
Ở VIỆT NAM**

Đề tài được đặt ra nhằm giải quyết 3 mục tiêu:

- Xác định vị trí phân loại của các loài đồng hình của phức hợp *An. maculatus* và *An. lesteri*, *An. sp₁* trong nhóm loài *An. hyrcanus*.
- Xác định vai trò truyền bệnh của chúng bằng ELISA.
- Xác định đặc trưng kiểu gen (genotype) và kiểu hình (phenotype) của các loài có vai trò truyền bệnh.

Phân tích các dấu hiệu hình thái, di truyền, điện di enzyme các mẫu vật thu thập tại các địa điểm đại diện khác nhau, nghiên cứu đã đi đến kết luận:

- Muỗi *An. maculatus* ở Việt Nam là một phức hợp loài đồng hình. Cho đến nay, phức hợp loài này gồm 10 thành viên, trong đó có 6 loài đã xác định tên là *An. maculatus* Theobald, 1901; *An. dravidicus* Christophers, 1924; *An. notanandai* Rattanarithikul et Green, 1986; *An. pseudowillmori* (Theobald, 1910) *An. sawadwongporni* Rattanarithikul et Green, 1986; và *An. willmori* (James, 1903). Bốn thành viên khác chưa xác định chính xác vị trí phân loại là *An. maculatus* dạng 1, *An. maculatus* dạng 2, *An. maculatus* dạng 3 và *An. maculatus* dạng 4.

- *An. lesteri* là một loài chính thức trong phân nhóm *An. lesteri* của nhóm loài *An. hyrcanus* nhưng vẫn có những đặc điểm sai khác với *An. lesteri* Baisas et Hu 1936 ở Philippine.

- *An. sp₁* đã được xác định là loài mới và đặt tên khoa học là *Anopheles (Anopheles) nimpe* Nguyen, Tran and Harbach, 2000

- Ít nhất có một thành viên trong phức hợp *An. maculatus* là vectơ truyền bệnh sốt rét thư yếu ở Việt Nam.

- Muỗi *An. lesteri* là vectơ nghi ngờ ở ven biển miền Bắc và *An. nimpe* là vectơ nghi ngờ ở ven biển Nam Bộ.

Trong báo cáo cũng đã ghi nhận đặc trưng kiểu gen và kiểu hình của các đối tượng nghiên cứu và có hai đề xuất:

- Cần tiếp tục nghiên cứu làm sáng tỏ vị trí phân loại của các thành viên còn lại trong phức hợp *An. maculatus* và muỗi *An. lesteri* trong nhóm loài *An. hyrcanus*.

- Cần có nghiên cứu bổ sung về phân bố, sinh học, sinh thái học, vai trò truyền bệnh của từng thành viên trong phức hợp *An. maculatus*, cũng như của *An. lesteri*, *An. nimpe* trong nhóm loài *An. hyrcanus*.

MỤC LỤC

| | Trang |
|---|-------|
| 1. Mở đầu: | 1 |
| 2. Đối tượng, thời gian, địa điểm, phương pháp nghiên cứu | 3 |
| 2.1. Đối tượng nghiên cứu | 3 |
| 2.2. Thời gian nghiên cứu | 3 |
| 2.3. Địa điểm nghiên cứu | 3 |
| 2.4. Phương pháp nghiên cứu | 3 |
| 3. Kết quả nghiên cứu | 6 |
| 3.1. Kết quả thu thập mẫu vật | 6 |
| 3.2. Nghiên cứu phân loại phức hợp <i>An. maculatus</i> | 7 |
| 3.3. Nghiên cứu phân loại <i>An. lesteri</i> , <i>An. sp₁</i> trong nhóm loài <i>An. hyrcanus</i> | 18 |
| 3.4. Xác định vai trò truyền bệnh của các thành viên trong phức hợp <i>An. maculatus</i> ; <i>An. lesteri</i> , <i>An. sp₁</i> trong nhóm loài <i>An. hyrcanus</i> | 23 |
| 4. Thảo luận | 24 |
| 4.1. Về việc phân loại các loài đồng hình trong phức hợp <i>An. maculatus</i> | 24 |
| 4.2. Về vai trò truyền bệnh của muỗi <i>An. maculatus</i> | 25 |
| 4.3. Về phân loại <i>An. lesteri</i> và <i>An. sp₁</i> | 25 |
| 4.4. Về vai trò truyền bệnh của <i>An. lesteri</i> và <i>An. nimpe</i> (<i>An. sp₁</i>) | 26 |
| 5. Kết luận | 27 |
| 6. Đề nghị | 27 |
| Lời cảm ơn | 28 |
| Tài liệu tham khảo | 29 |
| Phụ lục | 35 |

1. MỞ ĐẦU:

Sau phát hiện của R. Ross về vai trò truyền bệnh sốt rét của muỗi *Anopheles* vào năm 1897, việc nghiên cứu về chúng ngày càng được đẩy mạnh trên mọi phương diện: phân loại, phân bố, vai trò truyền bệnh, sinh học, tập tính và biện pháp phòng chống. Nhiều loài muỗi lúc đầu được xác định như một loài đơn, nhưng trong quá trình nghiên cứu sâu về vai trò dịch tễ, đặc tính sinh học và đặc biệt là bằng các dấu hiệu di truyền, sinh hoá... đã xác định chúng là những nhóm loài đồng hình. Một trong những ví dụ kinh điển là nhóm loài *An. macullipenis* ở châu Âu đã được Mayer dẫn ra trong sách giáo khoa về phân loại của mình [6,7]. Càng về sau, người ta càng phát hiện ra nhiều loài đồng hình, đặc biệt ở những loài có vai trò truyền bệnh. Có thể kể ra hàng loạt các ví dụ như phức hợp *Anopheles gambiae* ở Châu Phi, *Anopheles quadrimaculatus* ở Châu Mỹ [55], nhóm loài *An. hyrcanus*, *An. leucosphyrus* ở Châu Á [27,28, 29, 37-43, 45-47, 52]...

Loài muỗi *Anopheles (Cellia) maculatus* được Theobald phát hiện ở Hồng Kông Trung Quốc vào năm 1901. Sau đó một loạt các loài khác được phát hiện ở Ấn Độ, Đài Loan và được coi là các tên đồng vật của *Anopheles maculatus* [15, 34,25, 50,51]

Đây là loài muỗi phân bố rộng rãi ở vùng Đông phương [15, 29, 34, 37, 49]. Từ năm 1901 đến năm 1925, nhóm loài *Anopheles maculatus* đã có 8 loài được đặt tên [50]. Năm 1986 Rattanaarithikul và Green đã phát hiện thêm 2 loài mới ở Thái Lan [50]. Năm 1990 hai loài mới nữa ở Philippine được Rattanaarithikul và Harbach đặt tên là *An. greeni* và *An. dispar* [51].

Như vậy cho đến nay, phức hợp *An. maculatus* gồm ít nhất 12 loài thành viên: *An. maculatus* Theobald, 1901; *An. willmori* (James, 1903), *An. indicus* (Theobald, 1907); *An. dudgeonii* (Theobald, 1907); *An. pseudowillmori* (Theobald, 1910); *An. maculosa* (James and Liston, 1911); *An. dravidicus* Christophers, 1924; *An. hanabusai* Yamada, 1925; *An. sawadwongporni* Rattanaarithikul and Green, 1986; *An. notanandai* Rattanaarithikul and Green, 1986; *An. greeni* Rattanaarithikul and Harbach, 1990 và *An. dispar* Rattanaarithikul and Harbach, 1990.

Nhiều thành viên trong nhóm này đã được xác định có vai trò truyền bệnh ở Malaysia [36,54], Thái Lan [23], Napal [48]...

Ở Việt Nam, trước đây, muỗi *Anopheles maculatus* được xác định là một loài đơn, phân bố rộng rãi ở vùng rừng núi toàn quốc. [1,3,9,58,59]. Những nghiên cứu gần đây cho thấy phức hợp loài này gồm ít nhất 4 loài [2,5]. Toumanoff, 1936 đã mô tả thấy *An. maculatus* nhiễm ký sinh trùng sốt

rét [62] cho đến nay nó vẫn được coi là vectơ truyền bệnh thứ yếu ở nước ta [1, 65]

Nhóm loài *An. hyrcanus* phân bố rộng rãi từ Trung Cận Đông đến vùng Đông Phương và Nhật Bản. Thành viên của nhóm loài này đã lên tới gần 30 loài, đông đảo nhất là ở Trung Quốc; 14 loài [11, 16, 18, 25-34, 37-43, 49, 52-54, 68-70].

Ở Trung Quốc, *An. anthropophagus* và *An. sinensis* được ghi nhận là vật truyền bệnh sốt rét và giun chỉ [38-43, 68].

Cho đến nay, đã có 13 loài thuộc nhóm loài *An. hyrcanus* được phát hiện ở Việt Nam. Trong đó *An. sinensis* đã được xác định là vật truyền bệnh sốt rét thứ yếu, có vai trò truyền bệnh giun chỉ ở Gia Ninh, Quảng Bình và *An. lesteri*, *An. sp₁* được ghi nhận như những vectơ nghi ngờ truyền bệnh sốt rét ven biển [1,2,3,8,45,46,47].

Như vậy, rõ ràng rằng, việc xác định vị trí phân loại và vai truyền bệnh của các thành viên trong phức hợp *An. maculatus* và hai thành viên *An. lesteri*, *An. sp₁* trong nhóm loài *An. hyrcanus* là cần thiết.

Được sự cho phép của Bộ Y tế và Viện sốt rét-Ký sinh Trùng-Côn trùng Trung ương, chúng tôi tiến hành đề tài “Nghiên cứu các loài đồng hình và vai trò truyền bệnh của muỗi *Anopheles maculatus*, *An. lesteri*, *An. sp₁* (thuộc nhóm loài *An. hyrcanus*) ở Việt Nam”, nhằm mục đích:

- Xác định vị trí phân loại của các loài đồng hình thuộc phức hợp *An. maculatus* và *An. lesteri*, *An. sp₁* trong nhóm loài *An. hyrcanus*.
- Xác định vai trò truyền bệnh của chúng.
- Xác định đặc trưng kiểu gen và kiểu hình của các loài có vai trò truyền bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG, THỜI GIAN, ĐỊA ĐIỂM, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

- Các loài thành viên trong phức hợp *An. maculatus*
An. lesteri và *An. spl* trong nhóm loài *An. hircanus*

2.2. Thời gian nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành trong 27 tháng, từ tháng 7 năm 1998 đến tháng 9 năm 2000.

2.3. Địa điểm nghiên cứu:

Các mẫu vật nhóm loài *An. maculatus* được thu thập ở vùng rừng núi thuộc các tỉnh: Hoà Bình, Sơn La, Bình Thuận, Khánh Hoà. Ngoài ra còn bổ sung mẫu vật ở các tỉnh Bắc Cạn, Lào Cai, Quảng Bình.

Mẫu vật *An. lesteri* được thu thập ở ven biển Hải Phòng, Ninh Bình, Nam Định

Mẫu vật *An. spl* được thu thập từ vùng nước lợ ven biển từ Bạc Liêu, Cà Mau, thành phố Hồ Chí Minh

2.4. Phương pháp nghiên cứu:

2.4.1. Thu mẫu tại thực địa:

Muỗi được thu thập bằng các phương pháp chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới và Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng (1975) gồm có:

Mỗi người (Trong nhà, ngoài nhà) từ 6 giờ tối đến 6 giờ sáng hôm sau.

Soi chuồng gia súc ban đêm từ 7 giờ đến 11 giờ tối.

Bẫy đèn ban đêm từ 6 giờ tối đến 6 giờ sáng hôm sau.

Soi trong nhà ban ngày từ 7 giờ đến 11 giờ.

Mẫu vật được định loại hình thái bước đầu tại thực địa. Những muỗi no máu được giữ cho đẻ trứng và nuôi theo dòng gia đình. Muỗi sống được bảo quản trong dung dịch nitơ lỏng đem về phòng thí nghiệm xử lý tiếp (điện di men xác định vị trí phân loại). Các mẫu vật bị chết, đặc biệt là các mẫu vật thu thập bằng các phương pháp mỗi người, bẫy đèn trong nhà, soi trong nhà ban ngày đều được bảo quản trong ống nghiệm nhỏ có silicagen hút ẩm để mang về phòng thí nghiệm làm ELISA xác định thoa trùng trong muỗi.

Bọ gậy được thu thập từ các loại ổ nước được giữ sống về nuôi trong phòng thí nghiệm hoặc ngâm trong cồn Ethanol 90% để phân tích hình thái.

2.4.2. Nghiên cứu trong phòng thí nghiệm:

2.4.2.1. Nuôi muỗi:

Việc nuôi muỗi trong phòng thí nghiệm nhằm mục đích có các tiêu bản đồng bộ từ trứng đến trưởng thành để phân tích các dấu hiệu hình thái và phân tích các dấu hiệu di truyền theo dòng gia đình.

Muỗi cái no máu từ thực địa được chuyển về phòng thí nghiệm cho đẻ trứng và nuôi riêng theo từng lô. Làm tiêu bản giai đoạn trứng, xác bọ gây tuổi 4, xác quăng và muỗi trưởng thành.

Ngoài ra các bọ gây được bắt từ các ổ tự nhiên cũng được chuyển về để nuôi cho nở thành muỗi, để phân loại (xác bọ gây, quăng cũng được giữ lại để phân tích các dấu hiệu hình thái).

2.4.2.2. Phân loại muỗi dựa trên các dấu hiệu hình thái:

Các dấu hiệu hình thái được sử dụng trong phân loại muỗi *Anopheles* dựa vào tài liệu của R.E. Harbach, K. Knight 1980 [24] và của R.C. Wilkerson, E.L. Peyton, 1990 [66].

Đối với muỗi thuộc phức hợp *An. maculatus* tham khảo tài liệu của R.Rattanarithikul và C. A. Green, 1986 [50], R.Rattanarithikul và R.E. Harbach, 1990 [37, 51] J. A. Reid, 1968 [54], Lu Bao Lin, 1997 [37]

Đối với muỗi thuộc nhóm loài *An. hyrcanus* tham khảo các tài liệu của Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng năm 1968, 1987 [9,10]. Các tài liệu nghiên cứu về nhóm loài này ở Việt Nam: Nguyễn Đức Mạnh, 1988 [3], Trần Đức Hình và ctv, 1987 [1], Trần Đức Hình và ctv, 1992 [2], Nguyen Duc Manh et al, 1991, 1993, 2000 [45,46, 47], Stojanovich C.J and H.G. Scott 1965, 1966 [58, 59].

Ở Trung Quốc tham khảo tài liệu của Dong, X.S. 1985 [16], Lu B.L. 1997 [37], Ma, S.F. 1964-1981 [38-43], Xu, J. J. and Feng, L. C 1975 [68], Xu. S. B and Qu, F, Y. 1991 [69].

Tham khảo các tài liệu về nhóm loài *An. hyrcanus* ở Nhật Bản: Kanda, T and Y. Oguma 1976-1978 [30-33], Yamada, S, 1924 [70]

Những tài liệu của Harrison B.A. 1972, 1973 [25, 26], Harrison et al 1973-1991 [27-29] là những tài liệu được tham khảo khi nghiên cứu phân loại *An. lesteri* và *An. spl* thuộc nhóm *An. hyrcanus*.

Ngoài ra còn có những tài liệu của Reid, J.A, 1953, 1963, 1968 [52-54] nghiên cứu về nhóm loài *An. hyrcanus* ở Mã Lai cũng được tham khảo.

2.4.2.3. Điện di enzym và phân tích kết quả điện di

Điện di enzym của các đối tượng nghiên cứu trên gel cellulose acetate (Itan II, Helana Laboratories, U.K) theo phương pháp của Smith et al, 1996 [56] đồng thời cũng điện di enzym theo phương pháp của Green C.A. et al, 1990 [22] với 2 loại gel

+ Gel polyarylamide 7,5% với hệ đệm T.E.B pH= 8,5 theo Green C.A. et al 1990 [22].

+ Gel polyarylamide 6% với hệ đệm T.C pH= 7,1 theo W. Steiner and D. Joslyn 1979 [57].

Nhuộm gel theo phương pháp của Green C. A. và có theo cải tiến của Tsukamoto, M., 1984 [63]

Phân tích kết quả điện di: Theo các tài liệu của Bullini, L. 1984 [13]. Futuyama, D.J. 1986 [19] Murphy, R.W. et al, 1996 [44]

Trong đó lấy muỗi *An. maculatus* lectotype của Rattarithikul 1986 [27] làm loài chuẩn để tính hệ số tương đồng di truyền (I_N) và khoảng cách di truyền (D_N) cho các loài khác trong phức hợp *An. maculatus*. Loài *An. sinensis* chủng phòng thí nghiệm được chọn làm chuẩn để so sánh với *An. lesteri* và *An. spl.*

Hệ số tương đồng di truyền

$$I_N = \frac{\sum_{i=1}^m (p_{ix}p_{iy})}{\left[\left(\sum_{i=1}^m p_{ix}^2 \right) \left(\sum_{i=1}^m p_{iy}^2 \right) \right]^{1/2}}$$

Khoảng cách di truyền

$$D_N = -\log_e I_N$$

Trong đó: Pix: tần số của alen I trong quần thể (hoặc loài) X
Piy: tần số của alen I trong quần thể (hoặc loài) Y
m: số alen trong locut.

Xác định tốc độ di chuyển tương đối của cấu tử điện di.

Với tất cả các enzym, coi vị trí cấu tử có tần suất alen xuất hiện cao nhất của *An. maculatus* (đối với phức hợp *An. maculatus*) và *An. sinensis* (đối với nhóm loài *An. hyrcanus*) là $R_f = 100$. Sau đó tính tỷ lệ tương đồng giữ các băng có tần suất xuất hiện cao nhất của alen đại diện cho loài đó với chuẩn của *An. maculatus* hoặc *An. sinensis* để suy ra R_f chuẩn của loài ta cần nghiên cứu.

Xác định sự phù hợp vốn gen của quần thể (hoặc loài) theo công thức

Hardy-Weinberg:

$$(p + q)^2 = 1$$

$$(D + H + R)^2 = 1; (D + 1/2H)^2 = p^2; (D + 1/2 H)(1/2 H + R) = 2pq$$

$$(1/2 H + R)^2 = q^2$$

Trong đó: D: tần suất cá thể có kiểu gen AA
R: tần suất cá thể có kiểu gen AA'
H: tần suất cá thể có kiểu gen A'A'
q: tần suất alen A
p: tần suất alen A'

2.4.2.4. Xác định ký sinh trùng trong muỗi

Muỗi khô đem từ thực địa về được tiến hành xác định ký sinh trùng bằng ELISA theo phương pháp của Burkot T. R (1984) và Wirtz, R. A., Burkot, T. R., Graves P. M và Andre, R. A (1987) [67].

Kháng thể đơn dòng của *Plasmodium falciparum* (P.f Mabs), *Plasmodium vivax* 210 (P.v 210 Mabs), *Plasmodium vivax* 247 (P.v 247 Mabs) được sử dụng trong thí nghiệm là do CDC Entomology Branch, Atlanta, Hoa Kỳ cung cấp.

Kết quả ELISA được đọc trên máy Bio-rad với bước sóng 490nm.

2.4.2.5. Xử lý số liệu:

Số liệu được xử lý trên máy vi tính với các chương trình phần mềm phù hợp.