

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Онищенко Г.Г.^{1,2}, Сизикова Т.Е.³, Лебедев В.Н.³, Борисевич С.В.^{2,3}

ТРАНСГЕННЫЕ КОМАРЫ КАК СРЕДСТВО ПРОТИВ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АРБОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119435, г. Москва, Россия;²Российская академия наук, 109240, г. Москва, Россия;³ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России, 141306, г. Сергиев Посад, Россия

Комары рода *Aedes* являются векторами передачи таких арбовирусных заболеваний, как жёлтая лихорадка, лихорадка денге, Чикунгунья, Западного Нила, Зика. Существуют две основные стратегии генетического контроля популяций комаров: SIT (Sterile Insect Technique) – стерилизация, которая использует главным образом методы супрессии для создания самоподдерживающихся генетических систем, и RIDL (Release of insects carrying of a Dominant Lethal) – создание популяций насекомых, несущих доминантные летальные гены, основанное на методах генного переноса и создания самоограничивающихся генетических систем. Стратегия RIDL более дорогостоящая, но имеет несколько важных преимуществ по сравнению с SIT. Полевые испытания систем генетического контроля проводятся в различных странах начиная с 2009 г.

В обзоре рассмотрены генетический контроль, трансгенные технологии для обеспечения стерилизации, генетическая элиминация и трансформация комаров рода *Aedes*.

Ключевые слова: обзор; комары *Aedes*; трансгенные комары; SIT; RIDL; генетический контроль; трансгенные технологии; стерилизация; генетическая элиминация.

Для цитирования: Онищенко Г.Г., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Трансгенные комары как средство против распространения арбовирусных инфекций. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(3): 101-104.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-3-101-104>Onishchenko G.G.¹, Sizikova T.E.², Lebedev V.N.², Borisevich S.V.²

THE USE OF TRANSGENIC MOSQUITOES FOR PREVENTION OF SPREAD OF ARBOVIRAL DISEASES

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119435, Russian Federation;²Russian Academy of Sciences, Moscow, 109240, Russian Federation;³48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, 141306, Russian Federation

The mosquitoes of *Aedes* genus are the most important vector such arboviral diseases as dengue, yellow, Chikungunya, West Nile and Zika fevers. Work is currently in progress to control the transmission of agents of these diseases by forming of transgenic mosquitoes in order to altering the capacity of wild mosquitoes to support of virus replication. There are two main strategies of genetic control of mosquitoes population. Sterile Insect Technique (SIT), that mainly uses population suppression methods for making self-sustaining genetic systems and Release of insects carrying of a Dominant Lethal (RIDL) that uses mainly gene transfer methods for making of self-limiting genetic systems. The RIDL is more expensive, but it has some significant preferences, according compares with SIT. The field trials of genetic control methods are conducted in several countries from 2009 to present time. Genetic control, transgenic technologies to induce sterility, genetic elimination and stable transformation of *Aedes* mosquitoes are viewed in this review.

Keywords: review; *Aedes* mosquitoes; transgenic mosquitoes; SIT; RIDL; Genetic control; transgenic technologies; sterility; genetic elimination.

For citation: Onishchenko G.G., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. The use of transgenic mosquitoes for prevention of spread of arboviral diseases. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2019; 64(3):101-104. (In Russ.).

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-3-101-104>

For correspondence: Sergey V. Borisevich, Doctor of Biology, Professor, 48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mil.ru

Information about authors:

Sizikova T.E., <http://orcid.org/0000-0002-1817-0126>Lebedev V.N., <http://orcid.org/0000-0002-6552-4599>Borisevich S.V., <http://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 14 October 2018

Accepted 02 April 2019

Для корреспонденции: Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАН, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ, 141306, г. Сергиев Посад. E-mail: 48cnii@mil.ru

Введение

Арбовирусные инфекции, переносимые комарами, распространены повсеместно и характеризуются различными симптомами, включая лихорадку, воспаление мозговых оболочек, системное поражение слизистых оболочек и лимфаденопатию.

В настоящее время из этой группы инфекций наибольшие проблемы для здравоохранения представляют жёлтая лихорадка, лихорадка денге, Чикунгунья, Западного Нила, Зика. Особую опасность представляет лихорадка денге, в мире ежегодно регистрируют от 50 до 400 млн случаев заболевания [1]. В настоящее время группа риска включает почти 1/3 населения земли. Стоимость ущерба, наносимого лихорадкой денге только в США, ежегодно составляет от 1 до 4 млрд долларов [2].

В последнее время пристальное внимание привлекает расширение ареала распространения лихорадок Зика и Чикунгунья.

Вирус Зика близкородственен другим флавивирусам, представляющим опасность для здравоохранения, в том числе вирусам денге, жёлтой лихорадки и Западного Нила [3, 4]. Вирус Зика – арбовирус, передаваемый комарами рода *Aedes*. Энзоотический цикл вируса включает естественный (низшие приматы как резервуар, комары рода *Aedes*: *A. aegypti*, *A. albopictus*) как вектор) и городской (человек как резервуар, комары как вектор передачи) циклы [5].

С учётом того, что вирус Зика способен передаваться комарами *A. aegypti* и *A. albopictus*, вероятным регионом распространения возбудителя может быть весь тропический, субтропический пояс, а с учётом глобального потепления и регионы, расположенные на более высоких географических широтах.

Вирус Зика отнесён к эмерджентным вирусам [6]. Для последних характерно волнообразное распространение, определяемое изменениями в окружающей среде, трансформацией экосистем, снижением финансируемых систем здравоохранения, спонтанным появлением вирулентных штаммов возбудителей вследствие генетической изменчивости. Данные факторы могут активно воздействовать на расширение ареала распространения возбудителя [7, 8].

Вирус Чикунгунья является возбудителем арбовирусной инфекции (вектор передачи – комары рода *Aedes* [9]), характеризующейся лихорадкой, миалгией, артралгией, сыпью, гипертонией и интенсивной астенией [10]. Возбудитель был выделен в Танзании в 1952 г. из сыворотки крови больного мужчины. В дальнейшем описаны небольшие эпидемические вспышки в отдельных районах Африки и Азии. Ситуация коренным образом изменилась к концу 2004 г., когда началась первая крупная вспышка лихорадки Чикунгунья. С тех пор количество людей, инфицированных вирусом Чикунгунья, исчисляется миллионами. Масштабные эпидемии заболевания отмечены в некоторых регионах Африки, Азии, а также в тропических районах Северной, Центральной и Южной Америки [11]. Таким образом, произошёл пересмотр роли вируса Чикунгунья от возбудителя, вызывающего локальные вспышки в ограниченных регионах, до этиологического агента заболевания, представляющего угрозу для здравоохранения многих стран мира, обуславливающую необходимость разработки современных средств диагностики, профилактики и лечения.

Для рассмотренных арбовирусных заболеваний эффективная вакцина существует только против жёлтой

лихорадки. В отношении других заболеваний эффективные средства профилактики и лечения отсутствуют.

При отсутствии эффективных средств профилактики и лечения основные усилия в борьбе с распространением заболевания направлены на вектор передачи инфекции, комаров вида *A. aegypti*. Однако существующие методы борьбы с распространением насекомых малоэффективны. В этой связи необходима разработка новых эффективных методов, направленных на многочисленные элементы процесса размножения комаров, на которые можно воздействовать естественным или искусственным путём.

Отношения комаров с возбудителями арбовирусных инфекций – специфический вариант симбиоза, закономерности которого выявлены на популяционном уровне.

Генетические методы борьбы с векторами передачи возбудителей инфекционных заболеваний можно условно разделить на 2 группы [12–14].

Первая группа методов предусматривает введение в исходную популяцию переносчиков генетического элемента, нарушающего её идентичность, постепенное повышение частоты этого элемента внутри популяции и распространение модифицированной популяции. Эта генетическая система является самоподдерживающейся.

Вторая группа методов предусматривает создание в исходной популяции переносчиков дополнительных барьеров, препятствующих увеличению её численности. Эта генетическая система является самоограничивающейся.

Наиболее известной стратегией первого направления является стерилизация насекомых (Sterile Insect Technique, SIT), предусматривающая стерилизацию самцов комаров, что приводит к снижению уровня оплодотворения самок и, как следствие, к уменьшению численности популяции переносчиков [15]. На первых этапах использования метода стерилизация достигалась за счёт ионизирующего облучения. Облучённых комаров выпускали в окружающую среду, при скрещивании стерилизованных особей с комарами дикого типа потомства не образуется, в результате численность природной популяции насекомых резко сокращается [16, 17].

Важное преимущество указанного метода – его безопасность для окружающей среды. К недостаткам можно отнести необходимость использования радиоактивных изотопов кобальта, при отсутствии эффективного метода разделения комаров по половому признаку (в окружающую среду выпускают и самцов, и самок). Однако даже стерилизованные самки комаров способны передавать возбудитель в процессе кровососания. Поэтому данный метод наиболее эффективен при выпуске в окружающую среду только самцов комаров.

Другим методическим подходом является снижение численности популяции насекомых за счёт инфицирования последних внутриклеточными бактериями рода *Wolbachia*, индуцирующие форму бесплодия, известную как цитоплазматическая недостаточность, при которой яйца неинфицированных самок, оплодотворённые спермой инфицированных комаров, не развиваются [18–20]. Основанный на этом метод Incompatible Insect Technique (ITT) может быть использован при проведении SIT [15, 17, 21].

Вторую группу методов представляют исследования по созданию самоограничивающихся генетических систем, направленных на создание в исходной популяции переносчиков дополнительных барьеров, препятствующих

Полевые испытания генетических методов снижения численности популяций насекомых [12, 13, 23, 27–29]

Место проведения испытаний	Начало проведения испытаний	Испытуемый объект	Результат испытаний
Каймановы острова	2009–2010 гг.	Штамм OX513A комаров <i>A. aegypti</i>	Снижение численности комаров данного вида в месте проведения испытаний
Малайзия	2010 г.	Штамм OX513A комаров <i>A. aegypti</i>	Снижение численности комаров данного вида в месте проведения испытаний
Французская Полинезия	2010 г.	Самцы комаров <i>A. polynesiensis</i> , инфицированных штаммом <i>Wolbachia</i> из комаров <i>Ae. riversi</i>	Снижение численности комаров <i>A. polynesiensis</i> в месте проведения испытаний
Бразилия	2011 г.	Искусственное поддержание в природе самцов штамма OX513A комаров <i>A. aegypti</i>	Снижение численности комаров данного вида в месте проведения испытаний
Австралия	2011 г.	Ввод в популяцию комаров <i>A. aegypti</i> (самцов и самок), инфицированных штаммом <i>Wolbachia</i>	Влияние на популяцию диких комаров пока не установлено
Вьетнам	2011 г.		

ших увеличению её численности. Одним из таких приёмов является создание популяций насекомых, несущих доминантные летальные гены (Release of Insects carrying a Dominant Lethal, RIDL) [15].

В настоящее время проводятся исследования по генетической модификации комаров *A. aegypti* с целью изменения их способности участвовать в репликации данных вирусов. Чтобы внедрить в геном насекомого новый генетический материал, обычно используют векторные конструкции, созданные на основе транспозонов (мобильных генетических элементов участка ДНК организма, способных к передвижению и репликации в пределах генома). Эти элементы размером до 5 т.п.н. с двух сторон ограничены концевыми обращёнными повторами (TIR), между которыми находится ген фермента транспозазы, ответственного за перемещения транспозона. При транспозиции происходит транскрипция хозяйской клеткой гена транспозазы и трансляция на его основе белка транспозазы. В искусственных векторных конструкциях между двумя TIR вставляют целевой фрагмент ДНК. Затем векторную конструкцию вводят в эмбрион насекомого вместе с вектором, несущим ген транспозазы [14]. В работе N. Jasinskiene и соавт. [22] проведена стабильная трансформация комаров *A. aegypti* с помощью модифицированного Hermes транспозона, несущего фрагмент геномной ДНК размером 4,7 т.о., который включён в аллель дикого типа гена мух *Drosophila melanogaster cinnabar* (cn). В качестве реципиента использован штамм белоглазых комаров *A. aegypti*. В результате микроинъекции транспозона в пребластомерму эмбрионов комаров у 50% взрослых особей наблюдали изменённый цвет глаз. В результате последующей селекции получены 3 линии комаров, несущих ген *cn⁺*. Данный ген функционирует как полудоминантный трансген и распределяется в потомстве в соответствии с биномиальным законом распределения. Таким образом, показано, что Hermes транспозон может быть использован в качестве вектора для эффективной, наследуемой и стабильной трансформации комаров *A. aegypti* [22].

Изменение структуры популяций насекомых, являющихся векторами передачи инфекционных заболеваний, может быть проведено при использовании молекулярно-биологических методов трансформации зародышевых линий. Эти методы, в частности, позволяют изучить влияние отдельных синтетических генов на развитие насекомых.

Стерилизация насекомых возможна за счёт использования летальных аллелей, интродуцируемых в геном с по-

мощью рекомбинантной ДНК. Эти мутации индуцируют разрыв цепей ДНК в X-хромосоме, что ведёт к снижению доли самок в общей популяции.

Для создания трансгенных насекомых с индуцированной стерильностью разработаны конструкции на основе тетрациклинового оперона *E. coli*. В их состав входит ген чувствительного к тетрациклину белка, приводящего в нормальном состоянии к стерилизации самцов комаров. Это позволяет создать популяцию насекомых, нормально развивающихся только при введении в их рацион питания тетрациклина. В естественных условиях окружающей среды (в отсутствие тетрациклина) такие насекомые становятся стерильными [23, 24].

Для контроля трансмиссии комарами вируса денге посредством супрессии популяций комаров разработан штамм OX3604C комаров *A. aegypti*, имеющий генетические характеристики, необходимые для продукции доминирующей продолжительной элиминации самок комаров. Штамм OX3604C комаров *A. aegypti* получен из генетически различных лабораторных штаммов комаров из смеси популяций потомков комаров, пойманных в 2006 г. в районе Чиापас (Мексика), путём спонтанного отбора самцов с соответствующим генотипом и последующего гибридного скрещивания. Трансгенные комары несут условно-летальные гены, которые обуславливают чувствительность к тетрациклину и неспособность к летанию у самок комаров. Этот штамм освобождает от необходимости стерилизации комаров посредством облучения, позволяет создать искусственную популяцию комаров, состоящую из одних самцов, и оперировать не с взрослыми особями, а с яйцами комаров. Самцов комаров штамма OX3604C еженедельно интродуцируют в больших лабораторных клетках (объемом 0,9–1,8 м³), содержащих комаров штамма OX3604C и комаров дикого типа в соотношении 1 : 8,5–10. При этом в течение 10–20 нед происходит полная элиминация генотипа комаров *A. aegypti* дикого типа. Штамм OX3604C комаров *A. aegypti* рекомендован для проведения полевых испытаний [17].

Наиболее широко в системе RIDL используют штамм OX513A комаров *A. aegypti*. Данный трансгенный штамм обладает доминантной, неспецифичной по отношению к полу, условно-летальной генетической системой, которая подавляется в присутствии тетрациклина. При выходе в окружающую среду трансгенные самцы спариваются с самками дикого типа, в отсутствие тетрациклина их потомство не способно к выживанию [24–26].

При проведении сравнительной оценки эффективности систем SIT и RIDL следует констатировать, что вторая си-

стема в целом является более эффективной. В целом она более эффективная. Кроме того, создание самоподдерживающихся систем всегда несёт определённые экологические риски, несмотря на то, что они менее затратные по сравнению с самоограничивающимися системами [16, 20].

В таблице представлены результаты полевых испытаний генетических методов снижения численности популяций насекомых, проведённых при использовании систем SIT и RIDL. Как следует из представленных данных, при использовании штамма OX513A комаров *A. aegypti* снижается численность комаров данного вида в месте проведения испытаний.

При анализе практической значимости использования трансгенных комаров для предотвращения распространения арбовирусных инфекций, видимо, можно сделать вывод о том, что этот инструмент будет наиболее эффективен для предотвращения расширения ареалов распространения экзотических заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ooi E.E., Goh K.T., Gubler D.J. Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore. *Emerg Infect. Dis.* 2006; 2(6): 887-93. Doi: <https://doi.org/10.3201/10.3201/eid1206.051210>
- Shepard D.S., Coudeville L., Halasa Y.A., Zambrano B., Dayan G.H. Economic Impact of Dengue Illness in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2011; 84(2): 200-7. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0503>
- Faye O., Freire C.C., Imarino A., Faye O., Oliveira J.V.C., Diallo M., et al. Molecular evolution of Zika virus during its emerging in the 20th century. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2014; 8(1): e2636. doi: [10.1371/journal.pntd.0002636](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002636)
- Pierson T.C., Diamond M.S. Flaviviruses. In: Knipe D.M., Howley P.M., eds. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013: 714-94.
- Musso D., Cao-Lormeau V.M., Gubler D.J. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya. *Lancet.* 2015; 386(9990): 243-4. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61273-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61273-9)
- Ioos S., Mallet H.P., Goffart H., Gauthier V., Cardoso T., Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med. Mol. Infect.* 2014; 44(7): 302-7. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008>
- Dash A.P., Bhatia R., Sunyoto T., Mourya D.T. Emerging and re-emerging arboviral diseases in Southeast Asia. *J. Vector Borne Dis.* 2013; 50(2): 77-84.
- Dikid T., Jain S.K., Sharma A., Kumar A., Narain J.P. Emerging and re-emerging arboviral diseases in India: an overview. *Indian J. Med. Res.* 2013; 138: 19-31.
- Zouache K., Failloux A. Insect-pathogen interactions: contribution of viral adaptation to the emergence of vector-borne diseases, the example of Chikungunya. *Curr. Opin. Insect Sci.* 2015; 10: 14-21. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.04.010>
- Seymour R.L., Adams A.P., Leal G., Alcorn M.D., Weaver S.C. A Rodent Model of Chikungunya Virus Infection in RAG1^{-/-} Mice, with Features of Persistence, for Vaccine Safety Evaluation. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6): e0003800. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003800>
- Rougeron V., Sam I.C., Caron M., Nkoghe D., Leroy E., Roques P. Chikungunya, a paradigm of neglected tropical disease that emerged to be a new health global risk. *J. Clin. Virol.* 2015; 64: 144-52. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2014.08.032>
- Alphey N., Alphey L., Bonsall M.B. A model framework to estimate impact and cost of genetics-based sterile insect methods for dengue vector control. *PLoS One.* 2011; 6(10): e25384. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025384>
- Alphey L., McKemey A., Nimmo D., Neira Oviedo M., Lacroix R., Matzen K., et al. Genetic control of Aedes mosquitoes. *Pathog. Glob. Health.* 2013; 107(4): 170-9. Doi: <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000095>
- Nimmo D.D., Alphey L., Meredith J.M., Eggleston P. High efficiency site-specific genetic engineering of the mosquito genome. *Insect Mol. Biol.* 2006; 15(2): 129-36. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00615.x/>
- Winkill P., Harris A.F., Morgan S.A., Stevenson J., Raduan N., Alphey L., et al. Genetic control of Aedes aegypti: data-driven modelling to assess the effect of releasing different life stages and the potential for long-term suppression. *Parasit. Vectors.* 2014; 7: 68. Doi: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-68>
- Juliano S.A. Population Dynamics. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2007; 23(2 Suppl.): 265-75. Doi: [https://doi.org/10.2987/8756-971-X\(2007\)23\[265:PD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971-X(2007)23[265:PD]2.0.CO;2)
- Wise De Valdez M., Nimmo D., Betz J., Gong H., James A.A., Alphey L., et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. *PNAS.* 2011; 108(12): 4772-5. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1019295108>
- Chambers E.W., Hapairi L., Peel B.A., Bossin H., Dobson S.L. Male mating competitiveness of a Wolbachia-introgressed Aedes polynesiensis strain under semi-field conditions. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(8): 1-6. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001271>
- Xi Z., Khoo C.C., Dobson S.L. Wolbachia establishment and invasion in an Aedes aegypti laboratory population. *Science.* 2005; 310(5746): 326-8. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.1117607>
- Xi Z., Khoo C.C., Dobson S.L. Interspecific transfer of Wolbachia into the mosquito disease vector Aedes albopictus. *Pros. Biol. Sci.* 2006; 273(1592): 1317-22. Doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3405>
- Catteruccia F., Crisanti A., Wimmer E.A. Transgenic technologies to induce sterility. *Malar. J.* 2009; 8(Suppl. 2): S7. Doi: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-8-S2-S7>
- Jasinskiene N., Coates C.J., Benedict M.Q., Cornel A.J., Rafferty C.S., James A.A., et al. Stable transformation of the yellow fever mosquito, Aedes aegypti, with the Hermes element from the housefly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(7): 3743-7. Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.3743>
- Behura S.K., Sarro J., Li P., Mysore K., Severson D.W., Emrich S.J., et al. High-throughput cis-regulatory element discovery in the vector mosquito Aedes aegypti. *BMC Genomics.* 2016; 17: 341. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2468-x>
- Patil P.B., Reddy B.P., Gorman K., Reddy K.V., Barwale S.R., Zehr U.B., et al. Mating competitiveness and life-table comparisons between transgenic and Indian wild-type Aedes aegypti L. *Pest. Manag. Sci.* 2015; 71(7): 957-65. Doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3873>
- Massonnet-Bruneel B., Corre-Catelin N., Lacroix R., Lees R.S., Hoang K.P., Nimmo D., et al. Fitness of transgenic mosquito Aedes aegypti males carrying a dominant lethal genetic system. *PLoS One.* 2013; 8(5): e62711. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062711>
- Phuc H.K., Andreasen M.H., Burton R.S., Vass C., Epton M.J., Pape G., et al. Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. *BMC Biol.* 2007; 5: 11. Doi: <https://doi.org/10.1186/1741-7007-5-11>
- de Souza R.P., Rocco I.M., Maeda A.Y., Spenassatto C., Bisordi I., Suzuki A., et al. Dengue virus type 4 phylogenetics in Brazil 2011: looking beyond the veil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(12): e1439. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001439>
- Facchinelli L., Valerio L., Ramsey J.M., Gould F., Walsh R.K., Bond G., et al. Field cage studies and progressive evaluation of genetically-engineered mosquitoes. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(1): e2001. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002001>
- Lacroix R., McKemey A.R., Raduan N., Kwee Wee L., Hong Ming W., Guat Ney T., et al. Open field release of genetically engineered sterile male Aedes aegypti in Malaysia. *PLoS One.* 2012; 7(8): e42771. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042771>

Поступила 14.10.18

Принята в печать 02.04.19