

白纹伊蚊体内人血源DNA的STR分型检测

郑鑫建^{1*}, 瞿鹏飞^{2*}, 徐冲冲¹, 魏巍¹, 杨朔¹, 钟树荣^{1#}

¹昆明医科大学法医学院, 云南 昆明

²北京大学医学部基础医学院病理学系, 北京

收稿日期: 2023年5月31日; 录用日期: 2023年7月10日; 发布日期: 2023年7月17日

摘要

探讨白纹伊蚊吸血后不同时间段提取人类DNA的可能性, 并探究用于个人识别的可行性。运用Chelex-100法和硅膜纯化法提取白纹伊蚊吸食人血后体内消化物DNA, 测定OD值, 对DNA进行定量分析, 并采用PCR-STR分型技术对D3S1358等21个基因座进行分型。采用Chelex-100法提取DNA可以在白纹伊蚊吸血后60小时内获得完整的STR分型图谱, 吸血后72小时扩增结果未成功; 采用硅膜纯化法, 成功获得吸血后72小时完整图谱, STR分型结果与志愿者完全相同。白纹伊蚊体内提取的人血源DNA可用于DNA分型及个人识别鉴定, 是有价值的法医学证据。

关键词

法医学, 个人识别, STR, 白纹伊蚊

Short Tandem Repeat Typing of Human Blood-Derived DNA in *Aedes albopictus*

Xinjian Zheng^{1*}, Pengfei Qu^{2*}, Chongchong Xu¹, Wei Wei¹, Shuo Yang¹, Shurong Zhong^{1#}

¹School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan

²Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing

Received: May 31st, 2023; accepted: Jul. 10th, 2023; published: Jul. 17th, 2023

Abstract

To explore the possibility of extracting human DNA at different times after blood feeding of *Aedes albopictus* and explore the feasibility of individual identification. Chelex-100 method and silicon

*共同第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 郑鑫建, 瞿鹏飞, 徐冲冲, 魏巍, 杨朔, 钟树荣. 白纹伊蚊体内人血源 DNA 的 STR 分型检测[J]. 自然科学, 2023, 11(4): 627-633. DOI: 10.12677/ojns.2023.114075

membrane purification method were used to extract the digested DNA of *Aedes albopictus* after sucking human blood. OD value was determined and the DNA was quantitatively analyzed, and 21 loci, including D3S1358, were typed by PCR-STR typing technology. The complete STR genotyping profiles of *Aedes albopictus* were obtained within 60 hours after blood feeding by using Chelex-100 method, but the amplification was not successful at 72 hours after blood feeding. The complete profiles were obtained at 72 hours after blood feeding by silicon membrane purification method, and the STR typing results were identical to those of volunteers. Human blood DNA extracted from *Aedes albopictus* can be used for DNA typing and individual identification, which is valuable forensic evidence.

Keywords

Forensic Science, Personal Identification, Short Tandem Repeat (STR), *Aedes albopictus*

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

蚊虫是最常见和分布最广泛的昆虫之一，在世界范围内发现 37 属 3600 种，主要分布在温带和热带地区[1]。我国蚊虫种类繁多，在华南、华中和西南地区蚊虫多样性最高，分别有 229 种、188 种和 148 种蚊虫，分布最广泛的蚊属是按蚊、库蚊和伊蚊[2]。白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)又名“亚洲虎纹”，起源于亚洲，如今已扩散至全球 70 多个国家和地区。白纹伊蚊在中国分布广泛，北至辽宁省，南至海南省，西至西藏自治区均有白纹伊蚊分布，其中北纬 30°以南地区该蚊种密度更高[3] [4]。雄性蚊虫不吸血，只以吸花蜜、植物汁液等为食，而雌蚊虽也吸花蜜、植物汁液等，但除了自育性蚊种外，还必须吸食人或动物的血液，才能使其卵巢发育、产卵和延续后代[4]。由于蚊虫所吸食血液的重量与身体的重量大致相同，因此在吸食血液后无法长距离飞行，需要在附近停留一段时间来消化血液，以提供卵子成熟所必需的营养物质[5]。

近年来，犯罪分子反侦察意识越来越高，在作案过程中有意识地采取自我保护措施，对犯罪现场采取针对性的清理，减少了现场遗留物证信息的可能性，为物证的发现和提取以及案件的侦破带来了新的挑战。利用蚊虫分布广泛以及吸血特性，案发现场存留的蚊虫为法医物证 DNA 的提取以及个人识别提供了可能性，最终可为案件的侦破提供帮助。Soghigian 等[6]经过长达 40 年的调查研究，对收集到的 42 种共 177833 只雌性蚊子进行研究发现，白纹伊蚊具有较高的人类特异性咬人意愿(HSBW)和相对咬人风险指数(RBRI)，是理想的法医调查目标。本研究以白纹伊蚊为研究对象，通过 Chelex-100 法和硅膜纯化法提取白纹伊蚊吸食人血后体内消化物 DNA，测定 OD 值，对 DNA 进行定量分析，并采用 PCR-STR 分型技术对 D3S1358 等 21 个基因座进行分型，探讨白纹伊蚊吸血后不同时间段提取人类 DNA 的可能性，并探究用于个人识别的可行性，供法医工作者参考。

2. 材料与方法

2.1. 试剂及耗材

500 mL 烧瓶、TIANamp Genomic DNA Kit-DP304 试剂盒(中国，天根生化科技(北京)有限公司)、QIAamp DNA Investigator Kit 试剂盒(德国，QIAGEN 公司)、PowerPlex® 21 System 试剂盒(美国，Promega

公司)、3130 自动遗传分析仪(美国, AB 公司)。

2.2. 血源的确定

选择一名成年身体健康的男性, 获得其知情同意后, 采集其指尖血, 将血样涂于定性滤纸上, 在室温下干燥并冷藏。

2.3. 白纹伊蚊的捕捉、鉴别和处理

在重庆市綦江区殡仪馆附近, 选择一避光背风、阴暗潮湿的区域[7]。准备一个 500 mL 烧瓶作为简易捕蚊器, 12.5 cm × 11.5 cm × 13.5 cm 规格昆虫箱一个。志愿者暴露小腿皮肤, 当蚊虫飞落至小腿时, 根据蚊虫的花纹和体型等, 参考白纹伊蚊的形态学特征初步判定是否为白纹伊蚊。初步认定为白纹伊蚊后, 用捕蚊器罩住蚊子并记录吸血时间, 当蚊子主动拔出口器(约 2 min 后), 立即捕捉并转移至昆虫箱中, 不再喂食。共捕捉到 100 只蚊子, 随机选取 35 只蚊子作为实验组。根据禁食时间长短将 35 只蚊子随机分为 7 组: 吸血后 0 h 组、12 h 组、24 h 组、36 h 组、48 h 组、60 h 组以及 72 h 组, 每组 5 只蚊子, 再随机抽取 5 只蚊子(W1~W5)做基因种属鉴定。另捕捉 10 只未吸血的蚊子, 随机选取 5 只作为空白对照组。用乙醚处理实验组和空白对照组蚊子, 使用剃须刀片将蚊子腹部后端切下, 用牙签将蚊子腹内消化物涂于定性滤纸上, 阴干。滤纸上的每个样品都编号并密封在纸质证据袋中。在提取 DNA 之前, 所有样品在室温下干燥并冷藏。进行种属鉴定的 5 只蚊子, 处死后置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 无水乙醇, -20°C 保存。

2.4. 白纹伊蚊种属鉴定

使用 TIANamp Genomic DNA Kit-DP304 试剂盒提取 W1~W5 共 5 只蚊子的 DNA。基于 NCBI 网站白纹伊蚊线粒体 16S rDNA 序列设计引物。PCR 扩增体系为 12.3 μL, 配比如下: 10%海藻糖 7.2 μL, ddH₂O 2.4 μL, 10 × Buffer (含 Mg²⁺) 1.2 μL, dNTP 0.6 μL, BSA 0.6 μL, Primer 1 (正向) 0.12 μL, Primer 2 (反向) 0.12 μL, Taq 酶 0.06 μL。扩增循环步骤为: ① 97°C, 5 min; ② 94°C, 1 min, 58°C, 1 min, 72°C, 1 min, 共 28 个循环; ③ 72°C, 7 min。扩增产物送上海基康生物技术有限公司(上海)进行测序。测序结束后, 将序列与 NCBI 网站(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)上的标准序列进行比较, 以确定捕捉到的蚊子是否为白纹伊蚊[8]。

2.5. 白纹伊蚊体内人血源 DNA STR 分型

采用 Chelex-100 法提取志愿者血样、实验组蚊子的 DNA。此外, 采用 QIAamp DNA Investigator Kit 试剂盒提取吸血后 72 h 组和空白对照组蚊子的 DNA。不同方法提取的 DNA 均用 PP21 试剂盒进行扩增, 反应体系选择 10 μL 体系, 配比如下: mixture 2 μL, 物种特异性引物 2 μL, DNA 模板 1.0 μL, ddH₂O 5.0 μL。扩增循环步骤为: ① 97°C, 5 min; ② 94°C, 1min; ③ 58°C, 1min; ④ 72°C, 1 min, 共 28 个循环; ⑤ 72°C, 7 min。扩增产物经 3130 自动遗传分析仪电泳检测, 电泳结果用 GeneMapper ID v3.2 分析。

3. 结果与分析

对 W1~W5 共 5 只蚊子 mtDNA 16S rDNA 进行测序, 经数据库比对, 确定 5 只蚊子均为白纹伊蚊。可推断出实验样本中的 35 只蚊子均为白纹伊蚊, 测序结果见图 1。实验组中, 用 Chelex-100 法提取不同时间段白纹伊蚊体内消化物中的 DNA, 其 DNA 的浓度在 59.9~90.3 ng/μL 之间, OD 260/280 在 0.75~1.68 之间。白纹伊蚊体内消化物 DNA 浓度随吸血后时间延长而呈下降趋势, 如图 2 所示。经过对样本 DNA 荧光标记复合扩增和毛细管电泳分离, 所得结果显示: 采用 Chelex-100 法提取的蚊子吸血后 0 h 组、12 h

组、24 h 组、36 h 组、48 h 组和 60 h 组样本 DNA 均获得完整 STR 基因分型图谱。吸血后 72 h 的样本只有 1 例做出部分 STR 基因图谱，且峰值偏低(20~400)，其余 4 例均无结果。因此，本课题研究人员又用硅膜法重新提取纯化吸血后 72 h 组中 5 例样本的 DNA。经过对该样本 DNA 荧光标记复合扩增和毛细管电泳分离，所得结果显示：吸血后 72 h 组中，5 例样本均得出完整 STR 基因图谱。Chelex-100 法和硅膜法提取蚊子吸血后不同时间段 STR 基因分型结果及志愿者 STR 表型见表 1。经比对，实验组蚊子获得的 STR 基因图谱与志愿者 DNA STR 基因图谱相同。综上所述，白纹伊蚊在吸血后 72 h 以内，其体内消化物能够做出人血源 DNA 的完整 STR 基因分型图谱。



Figure 1. Comparison of 16S rDNA and Ae reference sequences in W1~W5 mosquitoes. Ae: *Aedes albopictus* sequences in gene bank

图 1. W1~W5 蚊子 16S rDNA 与 Ae 参考序列比较。Ae: 基因库中的白纹伊蚊序列

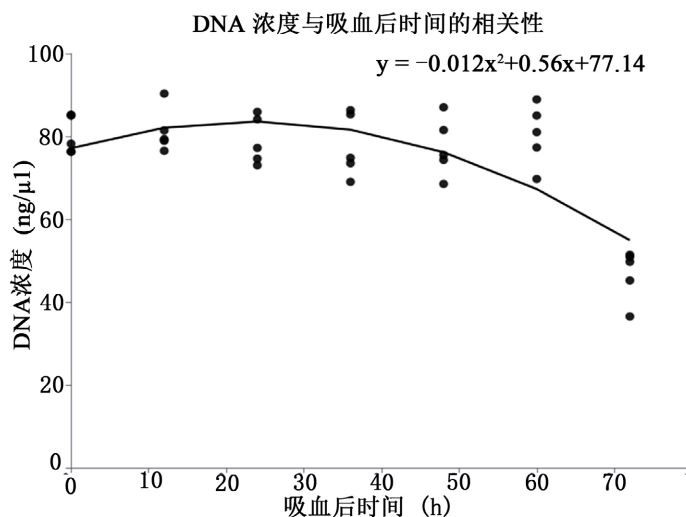


Figure 2. Linear relationship between post-feeding time and DNA concentrations

图 2. 吸血后时间与 DNA 浓度线性关系

Table 1. STR typing results of human blood-derived DNA in mosquitoes**表 1.** 蚊子体内人血源 DNA STR 分型结果

基因座	志愿者	Chelex-100 法							硅膜法	
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	72 h	
<i>D3S1358</i>	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17
<i>D1S1656</i>	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14	14,14
<i>D6S1043</i>	12,18	12,18	12,18	12,18	12,18	12,18	12,18	12,18	-	12,18
<i>D13S317</i>	12,13	12,13	12,13	12,13	12,13	12,13	12,13	12,13	-	12,13
<i>Penta E</i>	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12	-	5,12
<i>DI6S539</i>	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13	10,13
<i>DI8S51</i>	14,15	14,15	14,15	14,15	14,15	14,15	14,15	14,15	-	14,15
<i>D2S1338</i>	17,23	17,23	17,23	17,23	17,23	17,23	17,23	17,23	-	17,23
<i>CSF1PO</i>	10,12	10,12	10,12	10,12	10,12	10,12	10,12	10,12	10	10,12
<i>Penta D</i>	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
<i>TH01</i>	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9
<i>vWA</i>	14,21	14,21	14,21	14,21	14,21	14,21	14,21	14,21	-	14,21
<i>D21S11</i>	30,32.2	30,32.2	30,32.2	30,32.2	30,32.2	30,32.2	30,32.2	30,32.2	-	30,32.2
<i>D7S820</i>	8,12	8,12	8,12	8,12	8,12	8,12	8,12	8,12	-	8,12
<i>D5S818</i>	10,11	10,11	10,11	10,11	10,11	10,11	10,11	10,11	-	10,11
<i>TPOX</i>	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11	-	8,11
<i>D8S1179</i>	13,14	13,14	13,14	13,14	13,14	13,14	13,14	13,14	-	13,14
<i>DI2S391</i>	19,21	19,21	19,21	19,21	19,21	19,21	19,21	19,21	19	19,21
<i>DI9S433</i>	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13	13,13
<i>FGA</i>	21,23	21,23	21,23	21,23	21,23	21,23	21,23	21,23	-	21,23
<i>Amelogenin</i>	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y	X,Y

注：-表示未检出。

4. 讨论

本研究以白纹伊蚊为研究对象,探讨吸血后白纹伊蚊体内检测人类 DNA 的可能性,以及用于个体识别的可行性。本研究对捕捉的蚊子进行了种属鉴定和吸血后不同时间段白纹伊蚊体内人类 DNA 浓度检测及 STR 分析。蚊子活动有早晨和傍晚两个高峰期,通常多出现于早晨日出前 1~2 小时及日落前 2~3 小时。根据白纹伊蚊整体呈黑色、有银白色斑纹、中胸盾片上有一条白色纵纹等形态学特征,可对蚊子种属进行初步鉴定[9] [10] [11]。目前已开发出多种物种鉴定方法,如线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (COI)的 DNA 序列、DNA 条形码等技术。结合本研究的实际情况,最终选择 16S rDNA 测序技术,在分子学水平上最终确认所捕捉蚊子为白纹伊蚊[12] [13]。明确蚊子为白纹伊蚊后,我们采用 Chelex-100 法和硅膜法提取各组蚊子体内人血源 DNA,并进行 PCR 扩增及 STR 基因分型,将蚊子体内人血源 DNA STR 分型图谱与志愿者 STR 图谱进行对比。结果显示, Chelex-100 法提取获得的 STR 图谱中,除 72 h 组,其余各组均获得完整的 STR 分型图谱,STR 分型结果与志愿者 DNA 分型结果比对完全相同。而 72 h 组 DNA 通过硅膜法提取并用相同条件扩增和分型后,也得到了完整的与志愿者相同的 STR 图谱。我们的研究还发现,蚊子体内 DNA 浓度随吸血后时间的推移逐渐下降,随着蚊子吸血后时间延长, DNA 被逐渐降解,大片的基因位点检测出来的可能性越来越低,如 Penta E、D21S11、FGA 等。Mukabana 等[14]对冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae))的研究发现,蚊子吸血后时间与获得 PCR 产物的成功概率

之间存在显著的负相关关系($P < 0.001$)。Curic 等[15]通过对按蚊亚科和库蚊科蚊子的研究也发现,吸血后时间对获得完整 DNA 图谱存在显著的负相关关系,吸血后间隔时间每增加 8 小时,获得完整轮廓的可能性降低 15.5%。Oshaghi 等[16]也通过对 20 只按蚊和库蚊体内人线粒体 DNA 细胞色素 b(cytB)基因进行 PCR 扩增,成功在蚊子体内获得了吸血后 36 小时的人血源 DNA 分型,并且随着消化时间的延长,蚊子体内人血源 DNA 的含量也随之下降。因此,白纹伊蚊体内消化物中的人类 DNA 浓度与吸血后时间之间存在负相关性。

分析 72 h 组通过 Chelex-100 法提取 DNA 无法获得完整 STR 图谱原因主要有以下两点。交配后的雌蚊在吸血时,血液储存于背支囊和腹支囊中,吸血完成后,支囊中的血液由马氏管浓缩后转至蚊胃中消化,在多种消化酶以及胃肠道细菌的作用下,血红蛋白转化为所需营养吸收,以促进受精卵发育。消化吸收的程度则取决于蚊子消化酶的活性和胃肠道细菌的活动[14] [17]。在消化吸收过程中,蚊子体内会产生许多代谢物,如金属阳离子(Fe^{3+} 等)、腐殖酸等,在用 Chelex-100 法提取 DNA 时可能被引入,导致 DNA 纯度不高,扩增受到抑制,从而影响了吸血后 72 h 组的分型结果。除以上结果外,在蚊子消化吸收吸入的人血过程中,血液中的 DNA 也会随之降解成小片段[18]。消化时间越长,人血源 DNA 降解程度越大,Chow-Shaffer 等[19]通过实验发现,在 29℃ 环境下,蚊子体内的人血源 DNA 在吸血后 8 小时平均降低 67%,吸血后 24 小时平均降低 90%。运用荧光标记符合扩增技术对白纹伊蚊体内人血源 DNA 的 STR 基因检测,结果主要受 DNA 降解程度的影响,这也可能是本实验研究中采用 Chelex-100 法提取吸血后 72 h 组蚊子的 DNA 进行检测,未获得完整 STR 分型图谱的另外一个原因[15]。

蚊子是一种广泛分布于世界各地的昆虫,在众多案发现场可以看见蚊子的踪迹。研究表明,蚊子消化道中提取到的人血源 DNA 可以协助调查在封闭环境(如房间或车辆)中实施的犯罪活动[15] [20]。在犯罪分子反侦察意识增强的今天,外加刑事侦查技术的普及,在犯罪现场提取到有效的生物物证并成功进行个人识别变得越来越困难。本研究从分布广泛并有吸血特性的白纹伊蚊出发,为案发现场提取 DNA 物证并完成个人识别的调查提供了突破口和新的工作思路。

本研究表明,白纹伊蚊体内提取的人血源 DNA 可作为法医学证据,对犯罪现场中的蚊子血进行 DNA 检测,可获得人类 DNA 分型结果,并可用于个人识别。此外,我们的研究发现,蚊子吸血后消化时间会影响 STR 分型图谱完整性。从犯罪现场的蚊子体内采集的血液,有助于确定犯罪现场人员的身份,为识别涉案人员开辟一条新的途径。

基金项目

国家自然科学基金项目(81660232); 昆明医科大学研究生教育创新基金(2022S150)。

参考文献

- [1] Hiroshige, Y., Hara, M., Nagai, A., *et al.* (2017) A Human Genotyping Trial to Estimate the Post-Feeding Time from Mosquito Blood Meals. *PLOS ONE*, **12**, e0179319. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179319>
- [2] Wang, T., Fan, Z.-W., Ji, Y., *et al.* (2022) Mapping the Distributions of Mosquitoes and Mosquito-Borne Arboviruses in China. *Viruses*, **14**, Article 691. <https://doi.org/10.3390/v14040691>
- [3] 吴凡. 中国白纹伊蚊的分布和影响因素及登革热的风险评估研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.
- [4] 徐承龙, 姜志宽. 蚊虫防制(二)——蚊虫的生态习性与常见种类[J]. 中华卫生杀虫药械, 2006, 12(5): 403-407.
- [5] Trájer, A.J. (2018) Which Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Are Candidates for DNA Extraction in Forensic Practice? *Journal of Forensic and Legal Medicine*, **58**, 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2018.07.002>
- [6] Soghigian, J., Andreadis, T.G. and Livdahl, T.P. (2017) From Ground Pools to Treeholes: Convergent Evolution of Habitat and Phenotype in *Aedes* Mosquitoes. *BMC Ecology and Evolution*, **17**, Article No. 262.

- <https://doi.org/10.1186/s12862-017-1092-y>
- [7] Benson, D.A., Cavanaugh, M., Clark, K., *et al.* (2018) GenBank. *Nucleic Acids Research*, **46**, D41-D47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1094>
- [8] Mehlhorn, H. (2008) Encyclopedia of Parasitology. Springer, Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-48996-2>
- [9] Shiff, C. (1998) Vector Control: Methods for Use by Individuals and Communities. *Trends in Parasitology*, **14**, 470. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(98\)01304-0](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(98)01304-0)
- [10] 陆宝麟, 等. 中国动物志: 昆虫纲. 第 8 卷. 双翅目: 蚊科(上、下) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 243.
- [11] Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. (2003) Biological Identifications through DNA Barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **270**, 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- [12] 翟仙敦, 赵琳琳, 郑哲, 等. 洛阳地区 5 种嗜尸性麻蝇分子鉴定研究[J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(5): 443-447+452.
- [13] 张柠, 赵斐, 杨朔, 等. DNA 条形码技术在法医学中的研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(10): 130-133.
- [14] Mukabana, W.R., Takken, W., Seda, P., *et al.* (2002) Extent of Digestion Affects the Success of Amplifying Human DNA from Blood Meals of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, **92**, 233-239. <https://doi.org/10.1079/BER2002164>
- [15] Curic, G., Hercog, R., Vrselja, Z. and Wagner, J. (2014) Identification of Person and Quantification of Human DNA Recovered from Mosquitoes (*Culicidae*). *Forensic Science International: Genetics*, **8**, 109-112. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.07.011>
- [16] Oshaghi, M.A., Chavshin, A.R., Vatandoost, H., *et al.* (2006) Effects of Post-Ingestion and Physical Conditions on PCR Amplification of Host Blood Meal DNA in Mosquitoes. *Experimental Parasitology*, **112**, 232-236. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.11.008>
- [17] Mukabana, W.R., Takken, W. and Knols, B.G.J. (2002) Analysis of Arthropod Bloodmeals Using Molecular Genetic Markers. *Trends in Parasitology*, **18**, 505-509. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02364-4](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02364-4)
- [18] 李海军. 聚合酶链反应中抑制物的检测及去除方法研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2004.
- [19] Chow-Shaffer, E., Sina, B., Hawley, W.A., De Benedictis, J. and Scott, T.W. (2000) Laboratory and Field Evaluation of Polymerase Chain Reaction-Based Forensic DNA Profiling for Use in Identification of Human Blood Meal Sources of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **37**, 492-502. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-37.4.492>
- [20] Spitaleri, S., Romano, C., Di Luise, E., Ginestra, E. and Saravo, L. (2006) Genotyping of Human DNA Recovered from Mosquitoes Found on a Crime Scene. *International Congress Series*, **1288**, 574-576. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2005.11.055>