

Mosquitos Genéticamente Modificados: Preocupaciones actuales

TWN Biotechnology & Biosafety Series No. 15

Helen Wallace

PRIMERA PARTE

Introducción

Oxitec, una compañía británica de biotecnología liberó recientemente en Brasil, millones de mosquitos modificados genéticamente, después de haber realizado otros experimentos en las Islas Caimán y Malasia. Esta compañía planea realizar experimentos incluso a una mayor escala en Brasil e iniciar nuevos experimentos en Panamá, los Estados Unidos (Florida Keys), India, Sri Lanka y quizás en otros países.

La técnica patentada por Oxitec para modificar insectos se conoce como RIDL (del inglés Liberación de Insectos que Cargan un Gen Letal Dominante). [1] Hasta ahora, todos los experimentos que ésta compañía ha realizado en el campo se han dado con la cepa del mosquito *Aedes aegypti* OX513A que ha sido modificado genéticamente y por lo tanto contiene tanto un marcador fluorescente rojo, como RIDL o el rasgo “de letalidad condicionada”.

El objetivo de este experimento es que los mosquitos macho OX513A de Oxitec se crucen con las hembras silvestres y produzcan descendencia; esta descendencia morirá en su fase larvaria. Por lo tanto, se espera que la liberación de un gran número de machos transgénicos - mayor a la población actual de machos silvestres - reduzcan la población total de mosquitos adultos en el tiempo, ya que muchas de las crías transgénicas no sobrevivirán; es decir no llegarán a ser adultos. Los mosquitos transgénicos (modificados genéticamente) liberados en los experimentos son mosquitos de la Fiebre Amarilla (*Aedes aegypti*) que transmiten la enfermedad tropical del dengue.

En las Islas Caimán y Brasil no se publicaron las evaluaciones de riesgo ni se realizó una consulta a la población antes de la liberación de los mosquitos transgénicos. En Malasia lo que se publicó fue únicamente un resumen de la evaluación de riesgos. GeneWatch pudo obtener copias de las evaluaciones de riesgo en el Reino Unido ya que Oxitec debe presentarlas como requisito para la exportación de huevos de mosquitos transgénicos y su liberación por primera vez en un determinado país. La compañía no cumplió correctamente con el procedimiento de notificación, por lo tanto no se pudo realizar un análisis independiente para establecer si las evaluaciones de riesgos cumplían o no con los estándares europeos.

Existen muchas preocupaciones sobre la tecnología utilizada por Oxitec. Algunas de las preguntas aún sin respuesta se describen a continuación:

Algunos asuntos incluyen:

- Los resultados de los experimentos de eliminación de la población en Brasil no han sido publicadas en revistas científicas. Sin embargo, la información de dominio público sugiere que RIDL podría no ser efectiva para eliminar las poblaciones de mosquitos e incluso ser menos efectiva que la Técnica del Insecto Estéril (TIE o del inglés SIT) que utiliza la irradiación de insectos.
- La ineffectividad es una cuestión preocupante especialmente en las áreas donde el dengue es endémico, porque en algunos casos una eliminación parcial o temporal podría empeorar la situación.
- Oxitec no siguió adecuadamente el procedimiento para la notificación transfronteriza de los cargamentos internacionales de huevos de mosquitos genéticamente modificados; por lo tanto las evaluaciones de riesgo no se hicieron públicas antes de los ensayos de introducción de mosquitos en el ambiente y no se cumplió con los estándares establecidos.
- Por consiguiente, algunas cuestiones importantes no fueron tratadas adecuadamente antes de la liberación de millones de mosquitos genéticamente modificados en las Islas Caimán y Brasil. Otros experimentos menores en Malasia si incluyeron un proceso de consulta; sin embargo también existieron algunas fallas en este proceso que deben tomarse en cuenta.
- En su publicidad sobre los ensayos, Oxitec ha simplificado excesivamente la relación compleja existente entre *Aedes aegypti*; otras especies de mosquitos; los humanos que son picados por ellos y los cuatro serotipos del virus del dengue. Esto significa que los impactos adversos más importantes han sido efectivamente excluidos del debate público, el proceso de evaluación de riesgos, y el proceso de obtención del consentimiento de las poblaciones locales.
- En varias ocasiones Oxitec se ha referido a sus mosquitos transgénicos como estériles, pero esta esterilidad es parcial y condicional ya que si llegan a reproducirse, pero la mayoría muere en una etapa larvaria. El número de crías que sobreviven a la adultez es uno de los muchos factores que influyen la eficacia y seguridad de éste método.
- La decisión de llevar a cabo experimentos a una mayor escala en el Brasil parece responder a un acuerdo político para comercializar la tecnología de Oxitec en este país; en lugar de a una evaluación integral de los posibles riesgos y beneficios.

CAPÍTULO 2.

¿LA LIBERACIÓN DE MOSQUITOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE ELIMINARÁ A LAS POBLACIONES SILVESTRES DE MOSQUITOS?

Oxitec frecuentemente compara su tecnología RIDL con la Técnica del Insecto Estéril (TIE). Esta técnica consiste en liberar grandes cantidades de insectos irradiados para que se crucen con los silvestres. Ya que los insectos irradiados son estériles y no

producen crías, esta técnica puede ser efectiva a la hora de reducir las poblaciones de insectos. También se han probado métodos de esterilización química.

TIE se ha utilizado exitosamente con algunas especies de plagas en la agricultura, pero ha sido menos exitosa con otras porque cada especie de insecto tiene una forma de vida y comportamiento particularesii[2]. En general TIE no es efectiva para reducir altas poblaciones de insectos si no se combina con otros métodos de control convencionales, pero puede ser efectiva para reducir o erradicar poblaciones más pequeñas y aisladas. iii[3] Sin embargo, esta técnica por lo general ha fallado con mosquitos, ya que la eliminación de la población se ha dado solamente en pocos experimentos en donde se han liberado grandes cantidades de mosquitos estériles en relación a los números de mosquitos silvestresiv[4].v[5].

Aunque se han realizado algunos experimentos en el campo sobre la capacidad de apareamiento y otros factores, se han conducido únicamente dos ensayos de eliminación utilizando la técnica TIE con mosquitos *Aedes aegypti*. Estos ensayos se realizaron durante la década de 1970 en un pueblo aislado de Kenia, utilizando los machos semi-estériles cuya fertilidad era del 37%. En el primer experimento, se liberaron aproximadamente 10 mosquitos estériles por cada mosquito silvestre, pero tuvo un bajo efecto en la población y fue menos efectivo que retirar las larvas de los contenedores domésticos de agua en un pueblo vecinovi[6]. Un segundo experimento TIE se condujo en la misma localidad con resultados similaresvii[7]. Dos marcadores genéticos que contenían los machos liberados -y que no existían naturalmente en la región- continuaban apareciendo en la población durante el periodo de observación; es decir casi un año después de haber terminado los experimentosviii[8].

TIE no se utiliza actualmente en ninguna especie de mosquito; sin embargo, existen algunos programas que investigan su uso potencial con mosquitos *Anopheles arabiensis* (que transmiten malaria) en Sudán, ix[9] y *Aedes albopictus* (que transmiten el dengue y otros virus) en Italia.x[10] Experimentos recientes con *Aedes albopictus* sugieren que es posible ajustar las dosis de radiación para que estos mosquitos puedan ser esterilizados sin perder su aptitud física para el apareamientoxi[11].

El aplicar la técnica TIE a los mosquitos es complicado debido a los efectos de “densidad dependiente” en las poblaciones de mosquitosxii[12].xiii[13]. El tamaño de la población de mosquitos no depende únicamente de cuan bien se reproducen sino de otros factores como la competencia que existe entre las larvas por la comida y los sitios de reproducción. El reducir la capacidad reproductiva podría tener un efecto bajo si el tamaño de la población de los mosquitos se limitaría únicamente a estos factores, en lugar de a su habilidad de reproducirsexiv[14].

Debido a los efectos “densidad dependientes” el reducir el número de mosquitos que se reproducen exitosamente puede afectar el número total de mosquitos adultos y paradójicamente algunas veces puede incluso aumentar las poblaciones. Por ejemplo, debido a que la reducción en el éxito de reproducción también reduce la competencia entre larvas por los recursos, el número de sobrevivientes puede aumentar. Los efectos “densidad dependientes” pueden influenciar a la generación actual de mosquitos o a las futuras generaciones (efectos densidad dependientes retardados). xv[15] Los efectos “densidad dependientes” tienden a ser menos importantes para las plagas en la agricultura de monocultivos a gran escala ya que el abastecimiento de comida es

ilimitado y por lo tanto, en este caso, la competencia por los recursos juega un papel menos importante.

El influjo de mosquitos desde las áreas vecinas hacia un área donde la población ha sido eliminada puede ser uno de los mayores problemas al usar TIE. Una esterilización incompleta; la reducción de competitividad de apareamiento (comparado con los mosquitos silvestres); y la migración de mosquitos desde las áreas aledañas pueden reducir la efectividad de TIE^{xvi}[16]. Los huevos de *Aedes aegypti* pueden sobrevivir varios meses bajo condiciones de sequía en un estado de reposo vegetativo al final de su desarrollo embrionario, lo que dificulta el control de las poblaciones ya que pueden esparcirse a través de la dispersión de huevos^{xvii}[17]. El Centro Estado Unidense de Control y Prevención de Enfermedades manifiesta que aunque se eliminen de un sitio todas las larvas, pupas y adultos de *Aedes aegypti*, su población podría recuperarse dos semanas luego como resultado de la eclosión de los huevos debido a las lluvias o al añadir agua a los contenedores que los albergan^{xviii}[18].

Oxitec argumenta que RIDL es una técnica más exitosa que TIE debido a dos razones principales: (1) los machos RIDL tienen una mayor capacidad física que los irradiados y por lo tanto competirían mejor con los machos silvestres a la hora de cruzarse con las hembras silvestres y (2) porque las crías de los mosquitos transgénicos sobreviven a los estadios larvales tardíos o el estadio pupal temprano, por lo que también competirían con las larvas silvestres por comida y por lo tanto sería más efectiva para eliminar las poblaciones de mosquitos silvestres. Para estas afirmaciones Oxitec se basa en varios modelos informáticos que buscan pronosticar cómo responderán las poblaciones de mosquitos silvestres ante la liberación de grandes cantidades de mosquitos modificados genéticamente^{xix}[19],^{xx}[20],^{xxi}[21],^{xxii}[22]. Todos estos modelos contienen muchas supuestas, incluyendo supuestas sobre cómo actúan los efectos “densidad dependientes” en las poblaciones de mosquitos. Estos modelos informáticos se han construido a partir de datos sobre el desarrollo de los adultos y larvas *Aedes aegypti* de Tailandia; ^{xxiii}[23] pero no han sido validados con datos de las otras áreas donde Oxitec ha conducido sus ensayos.

Los resultados del modelo indican que las dinámicas de las poblaciones de mosquito no son directas y la liberación de los mosquitos estériles o RIDL pueden tener efectos contraproducentes, incluyendo oscilaciones en la abundancia de adultos -que podrían incluso superar los niveles habituales de la población- e incrementos en las poblaciones de mosquitos en las áreas aledañas.

Si estos incrementos en las poblaciones de mosquitos llegan a darse en las áreas de liberación o cerca de ellas, las poblaciones humanas podrían estar en riesgo. Oxitec afirma que estos riesgos aparecen con la tecnología TIE mas no con RIDL. No está claro si estos modelos representan lo que ocurre en el mundo real; por lo tanto es posible que ni TIE ni RIDL presenten estos riesgos, pero también es posible que los dos métodos lo hagan. En la práctica no existe evidencia de que la competencia entre las larvas RIDL y las larvas silvestres aumente la efectividad de RIDL en comparación con la técnica TIE. Una complicación adicional es que los efectos de las interacciones de las larvas en las poblaciones de mosquitos son diferentes en diferentes contextos, ya que pueden alterarse debido a las condiciones ecológicas^{xxiv}[24].

En los experimentos en las Islas Caimán en el 2010, Oxitec midió los efectos de liberar aproximadamente 3 millones de mosquitos OX513A modificados genéticamente en las poblaciones locales. Oxitec manifestó que se alcanzó una reducción del 80% en la población de *Aedes aegypti*; así lo publicó ampliamente en la prensa y mostró algunos datos en las presentaciones de la compañía^{xxv}[25]. Sin embargo, luego de dos años de haber anunciado estos resultados recién se publicaron los resultados de un pre-ensayo de liberación de mosquitos transgénicos en las Islas Caimán en una revista científica. Es importante anotar que este pequeño ensayo no buscaba eliminar la población silvestre^{xxvi}[26],^{xxvii}[27].

En enero del 2011, Oxitec presentó los resultados de la prueba de eliminación de la población en las Islas Caimán a la revista científica *Science*,^{xxviii}[28] pero dicha revista no publicó estos resultados sino que éstos aparecieron en una revista diferente: *Nature Biotechnology* en Septiembre del 2012^{xxix}[29]. Esto significa que otros experimentos se llevaron a cabo en Malasia y Brasil antes de la publicación de la tasa de liberación (de mosquitos transgénicos y mosquitos silvestres) y antes de presentar los detalles de este experimento al público independiente y someterlos a un análisis científico.

Science pudo haber rechazado o retrasado la publicación de esta información por razones éticas o científicas. Las investigaciones en *Nature Biotechnology* se someten a una revisión por pares a discreción del editor, por lo tanto no está claro qué estándares científicos fueron utilizados para su análisis.

Oxitec no estableció una línea base ni las fluctuaciones de las poblaciones silvestres de mosquitos antes de conducir sus experimentos; no existían datos de la presencia de *Aedes aegypti* en los lugares escogidos por Oxitec ya que se buscaron áreas que no tenían medidas de control y que no habían sido monitoreadas previamente^{xxx}[30]. La compañía afirma que existe un 80% de diferencia entre los números de mosquitos en el área de liberación y el área circundante, pero la investigación presenta estimados de la reducción de las poblaciones silvestres de mosquitos que van del 60% al 85% dependiendo de las comparaciones que se hagan. Ya que no existe una línea base de las poblaciones de mosquitos, los resultados no son claros.

En algunas ocasiones, Oxitec movió las trampas de mosquitos de un lugar a otro y cambió el tamaño del sitio de liberación-experimentación lo que dificulta la interpretación de los resultados. Además queda sin responder la preocupación sobre el incremento de mosquitos en las áreas aledañas luego de la liberación de mosquitos genéticamente modificados en el ambiente.

Durante el experimento Oxitec tuvo que incrementar significativamente el número de mosquitos liberados de 3.150 machos por hectárea por semana, a aproximadamente 14.000 por hectárea por semana (en un área total de 16 hectáreas) para alcanzar los efectos esperados de eliminación de la población. Cuando los residentes locales se quejaron de los malestares causados por la gran cantidad de mosquitos, Oxitec redujo a la mitad el número de adultos liberados e implantó cerca de 5.600 pupas transgénicas, tres veces por semana en paquetes que se encontraban a una distancia de 70 a 90 metros el uno del otro. Esto sugiere que la tecnología fue relativamente inefectiva y falló a la hora de superar los problemas previamente detectados en el uso de la tecnología TIE. En la investigación Oxitec afirma que la eliminación de la población se consiguió al

liberar 3.500 machos transgénicos por hectárea por semana, con una proporción de liberación de 5 a 1. Sin embargo esta afirmación se basa en el argumento de que existió un retraso en el tiempo de los efectos de las liberaciones anteriores, lo cual es difícil verificar.

Las liberaciones en la fase final del experimento fueron cuatro veces mayores, lo que significa una proporción de liberación de 20 a 1 o más. Antes de la publicación de estos resultados, los informes de prensa sugerían que se necesitaría una proporción de liberación de 10 a 1 (mosquitos transgénico frente a mosquitos silvestres), aunque este cálculo podría quedarse cortoooo[31].

Los resultados preliminares de los experimentos en Brasil muestran que la proporción de liberación utilizada en la fase final de los experimentos conducidos en Brasil fue de 54 RIDL a 1 macho silvestre. La competitividad de apareamiento fue de 0,03 (3 en 100) en promedio y bajó a 0,012 (1,2 en 100) en la fase finalxxxii[32]. El número de mosquitos atrapados en el área control también incrementaron en la fase final del experimento. Se produjeron más de medio millón de mosquitos a la semana durante la última fase de los experimentos y las liberaciones se concentraron en una pequeña área de casas en Itaberaba (Bahía), de 500 m por 200 m. La alta proporción de liberación y baja competitividad de apareamiento sugiere que RIDL es menos efectiva que TIE. Antes de conducir los experimentos en el Brasil, la investigadora jefe Prof. Margareth Capurro predijo que la proporción necesitada sería de 5 a 10 (mosquitos transgénicos a mosquitos silvestres)xxxiii[33].

Los resultados de los experimentos de Oxitec sobre la eliminación de la población en Brasil no han sido publicados en revistas científicas, pero la información de dominio público sugiere que RIDL podría no ser realmente efectiva a la hora de eliminar las poblaciones de mosquitos y podría incluso ser menos efectiva que TIE; es decir utilizando insectos irradiados. Su ineffectividad podría ser un asunto preocupante si se desatienden los métodos más efectivos. Peor aún, en algunas circunstancias la eliminación parcial o temporal de las poblaciones de mosquitos puede empeorar la situación de la enfermedad del dengue, como se argumenta en los siguientes capítulos. Además, aunque RIDL fuese temporalmente exitosa para reducir la población del mosquito *Aedes aegypti*, podría no tener el efecto deseado en la fiebre del dengue y su efecto podría no ser sostenido. Estos puntos se tratan con más detalle a continuación.

CAPÍTULO 3.

¿REDUCIRÁ LA FIEBRE DEL DENGUE LA ERRADICACIÓN DE LA POBLACIÓN DE MOSQUITOS?

Aunque parecería lógico asumir que el reducir la población de los mosquitos transmisores de dengue reducirán la incidencia de la enfermedad, en realidad la situación es más compleja. La transmisión del dengue puede a veces continuar aún con un número reducido de mosquitos y el umbral de transmisión de la enfermedad es desconocido.^{xxxiv[34],xxxv[35]} En Brasil, un estudio encontró que el número de casos de dengue en dos áreas diferentes estaban asociados al tamaño de la población humana, mas no al número de mosquitos.^{xxxvi[36]} A pesar de que la lluvia (asociada con el incremento del número de larvas de mosquitos) juega un papel importante, la densidad de la población y la pobreza son dos factores esenciales en la incidencia de dengue y las

muertes asociadas a esta enfermedad^{xxxvii}[37]- Los patrones locales de transmisión son complejos y la densidad de la población humana juega un papel fundamental al determinar la dinámica de la transmisión del dengue endémico^{xxxviii}[38].

La fiebre del dengue tiene una inmunología compleja ya que los anticuerpos contra uno de los cuatro serotipos a veces protege a los individuos pero otras, aumenta la severidad de la enfermedad en la siguiente infección (con un segundo serotipo). La ocurrencia cíclica de la epidemia es posible que se deba a la interacción entre la disponibilidad de los huéspedes susceptibles (por ejemplo los niños nacidos luego de la epidemia), las olas sucesivas de diferentes cepas del virus del dengue y los factores climáticos.^{xxxix}[39]

La forma más grave y muchas veces letal es la fiebre hemorrágica del dengue que parece que ocurre con mayor frecuencia cuando una persona que ya ha sido infectada anteriormente es nuevamente infectada por un segundo serotipo de dengue. Parece que esto se debe a los mecanismos inmunológicos incluyendo la amplificación dependiente de anticuerpos, en la que los anticuerpos desarrollados contra la primera infección hacen que la segunda sea más grave.

Sin embargo si las dos infecciones con diferentes serotipos ocurren de manera seguida (en semanas), se puede desarrollar una inmunidad cruzada, que tiene el efecto contrario; es decir reduce el riesgo de la fiebre hemorrágica del dengue. Muchos de los individuos que habitan las áreas donde abundan los mosquitos vectores serán infectados por y adquirirán inmunidad contra, múltiples serotipos por lo tanto sin saberlo, estarán protegidos por la inmunidad cruzada y desarrollarán resistencia a la fiebre de dengue hemorrágico. Una preocupación sobre las intervenciones parcialmente efectivas para reducir los números de mosquitos es que mientras la abundancia de mosquitos baja, un mayor número de individuos será infectado nuevamente una vez que la inmunidad cruzada haya disminuido, y por lo tanto la incidencia de dengue hemorrágico incrementará.

Un estudio en Tailandia sugiere que en las regiones donde existe una fuerte transmisión del dengue, una insuficiente reducción de las poblaciones de mosquitos podría incrementar la incidencia de dengue hemorrágico a largo plazo, debido a la existencia del efecto complejo de inmunidad cruzada. ^{xl}[40]^{xli}[41] Este estudio sugiere que cuando se redujo la abundancia de *Aedes aegypti* en Tailandia de un alto nivel a un nivel moderado se incrementó la incidencia de dengue hemorrágico en un 40%. Un modelo informático con estos datos ha confirmado esta afirmación. ^{xlii}[42] Si esta información es correcta, puede ser muy importante para los programas de control del dengue, incluyendo el uso de los mosquitos transgénico de Oxitec. Así, este estudio sugiere que los programas inefectivos pueden ser incluso dañinos y no solamente inefectivos porque podrían en realidad incrementar la enfermedad, principalmente en las áreas de mayor riesgo.

En los modelos informáticos iniciales de Oxitec solo se incluyó un serotipo del virus del dengue, por lo tanto no se analizaron los posibles efectos adversos debido a la interacción entre los cuatro diferentes tipos de virus y la inmunidad humana^{xliii}[43]. Un modelo más reciente incluye dos serotipos pero no incluye los beneficios a corto plazo de la inmunidad cruzada y por tanto no podría predecir el problema identificado en

Tailandia: el modelo de Oxitec asume que la reducción en los números de mosquitos generará solamente beneficios^{xliv}[44].

Algunos autores han advertido que la reducción inicial en los números de mosquitos podrían causar una reducción en la inmunidad humana al dengue en las áreas endémicas. Este efecto de inmunidad, combinado con la transmisión residual de la enfermedad (de *Aedes aegypti* o *Aedes albopictus*), podría dar como resultado un “efecto rebote”, en el que la cantidad de enfermedades graves se incrementa, a pesar de que los números de mosquitos *Aedes aegypti* se reduzcan. ^{xlv}[45],^{xlvi}[46] Dos socios de Oxitec son coautores de una investigación que estudió el “efecto rebote” en Singapur. ^{xlvii}[47] A pesar de que en este caso el “efecto rebote” ocurrió aplicando métodos tradicionales de salud pública, es posible que dicho efecto resulte más grave aun si se utiliza una tecnología que se vuelve menos efectiva con el paso del tiempo (con efectos similares a los que tendría el implementar y luego parar un programa de salud pública para eliminar los sitios de reproducción). Esto significa que la posibilidad de que se desarrolle una resistencia a RIDL (ver abajo) deben tomarse muy en cuenta, porque el uso de una tecnología que solo es temporalmente efectiva podría empeorar la situación.

Las preocupaciones sobre la inmunidad humana se aplican a áreas donde el dengue es endémico, como Brasil, Panamá o Malasia. Sin embargo, Oxitec también ha probado o propuesto probar su tecnología en sitios como las Islas Caimán y Florida Keys, donde solo ocurren casos esporádicos de dengue. Los casos en estas áreas se dan debido a que una persona ha sido infectada en otro país y a su ingreso al territorio puede ser picado/a por un mosquito que luego transmite la enfermedad a otros en el área. Debido a que se necesita únicamente un pequeño número de mosquitos para la transmisión de la enfermedad, es posible que el reducir las poblaciones de mosquitos tenga solo un efecto marginal en la incidencia del dengue en estas circunstancias^{xlviii}[48].

Los cambios en la estructura de la población así como la abundancia, pueden afectar la transmisión de dengue^{xlix}[49]. Una posibilidad que no ha sido investigada suficientemente es que el virus del dengue mute y se vuelva más virulento. El método de eliminación de la población presenta un riesgo más bajo en este sentido, que los intentos de modificar la transmisión de la enfermedad; pero en todo caso se han realizado muy pocos estudios sobre este tema^l[50].

Recientemente, un grupo de investigadores han discutido las dificultades de evaluar si la liberación de mosquitos transgénico tendrá un impacto beneficioso en la incidencia de dengue y propone monitorear los impactos potenciales de la enfermedad mediante la medición de los anticuerpos que la gente desarrolla contra el virus. ^{li}[51] Sin embargo, Oxitec continúa realizando afirmaciones infundadas de que la reducción de la población de *Aedes aegypti* conducirá inevitablemente a una reducción en la incidencia de dengue.

Aunque la tecnología de Oxitec fuese exitosa eliminando las poblaciones de mosquitos silvestres, debido a los bajos umbrales de transmisión de la enfermedad podría no reducir la fiebre del dengue. En las áreas endémicas y bajo ciertas circunstancias, un “efecto rebote” podría empeorar la situación o podría incrementar la incidencia del dengue hemorrágico. Estos problemas son aun más probables si la tecnología tiene una eficacia temporal o limitada en la eliminación de la población de los mosquitos *Aedes*

aegypti. Oxitec ha liberado grandes cantidades de mosquitos modificados genéticamente en las áreas de dengue endémico en Brasil y no ha monitoreado sus efectos en la salud.

CAPÍTULO 4.

IMPACTOS DEL ANTIBIÓTICO TETRACICLINA

Los mosquitos de Oxitec OX513A han sido modificados genéticamente para poder sobrevivir a la adultez solo en la presencia de tetraciclina (un antibiótico utilizado ampliamente en la agricultura industrial y la medicina). La tetraciclina actúa como un interruptor químico: en su presencia, los mosquitos pueden reproducirse por varias generaciones, pero en su ausencia muchos de ellos mueren. En el laboratorio los científicos cruzan los mosquitos transgénicos adultos en la presencia del antibiótico y luego escogen los machos para liberarlos al ambiente. Se asume que los mosquitos macho transgénicos se cruzarán con hembras silvestres y sus crías morirán en la ausencia de tetraciclina, en su mayoría durante su estado larvario.

El rasgo de la “condicionalidad letal” de Oxitec fue creado al modificar genéticamente a los mosquitos para que se exprese una proteína llamada tTA (transactivador). El alto nivel de tTA es tóxico para los mosquitos y por lo tanto las larvas mueren; sin embargo este mecanismo no está totalmente entendido. La tetraciclina se une a tTA y previene la expresión de más tTA, lo que a su vez permite que los mosquitos sobrevivan hasta la adultez. De esta forma los mosquitos pueden reproducirse en el laboratorio ya que se les administra tetraciclina a través de su alimento.

Oxitec reportó que las crías de sus mosquitos transgénicos en el laboratorio, tuvieron una tasa de sobrevivencia de un 3-4% aún en la ausencia de tetraciclina. lii[52] Sin embargo, la tasa de sobrevivencia puede ser mayor si existe una contaminación de tetraciclina en el ambiente. liii[53] Un documento confidencial de Oxitec que se dio a conocer por las ONGs, revela que las crías de mosquitos genéticamente modificadas, alimentadas con comida de gato tuvieron una tasa de supervivencia de 15%. liv[54] La comida de gato estaba compuesta de pollos criados industrialmente, que al parecer estaban contaminados con tetraciclina – sustancia que es ampliamente usada en la agricultura: parece que el tratamiento térmico aplicado a los pollos para producir la comida de gato, no eliminó totalmente la tetraciclina. Oxitec trató de ocultar la información de este documento argumentando que era información comercial de carácter confidenciallv[55].^{lvi[56]}

Grandes cantidades de antibióticos se descargan diariamente en el ambiente natural a través de diversos efluentes como los que provienen de la agricultura industrial y acuicultura. La tetraciclina es uno de los tipos de antibióticos más comúnmente utilizado en medicina humana y veterinaria. lvii[57] Se ha detectado esta clase de antibióticos en diferentes elementos como: carnes,lviii[58] leche,lix[59] pescados cultivadoslx[60] y miel;lxi[61] estiércol de animal;lxii[62] y aguas servidas.lxiii[63] El tiempo que estos antibióticos se demoran en degradarse depende del alimento, el medio y otros factores como la temperatura.

Oxitec y su socio investigador que alimentó a los mosquitos transgénicos con comida de gato ha afirmado que la tetraciclina no está presente en el ambiente en suficientes cantidades como para asegurar la sobrevivencia de los mosquitos transgénicos y que la especie *Aedes aegypti* no se encuentra en ningún sitio que pueda estar contaminado con tetraciclina. lxiv[64].lxv[65].lxvi[66] Para llegar a esta conclusión, Oxitec ha revisado la literatura científica sobre la contaminación con tetraciclina en las plantas municipales, pero no ha considerado ninguna otra fuente de éste u otros antibióticos de la misma familia de productos químicos.

Las aguas servidas provenientes de humanos y animales se contaminan frecuentemente con tetraciclina y éste antibiótico puede estar presente en los alcantarillados incluyendo cloacas, fosas sépticas y excrementos de animales. Los pollos criados industrialmente son utilizados en comida para gatos y otros, por ejemplo en la comida rápida. Los niveles de tetraciclina o algún químico similar puede haber sido lo suficientemente alto y persistente en la comida de gato como para reportar esta tasa de sobrevivencia. Sin embargo, parece que Oxitec no ha identificado la causa de este efecto y tampoco ha demostrado que no existen niveles similares de esta sustancia en otros alimentos o piensos. Tampoco ha establecido un umbral que excluya la posibilidad de que niveles más bajos de tetraciclina o químicos similares puedan igualmente causar problemas de sobrevivencia ni ha publicado información sobre la curva dosis – respuesta.

Una investigación reciente cita amplias pruebas de que los mosquitos *Aedes aegypti* se reproducen en aguas servidas, donde la tetraciclina podría estar presente.lxvii[67]. Aunque *Aedes aegypti* usualmente se reproduce en pequeños charcos de agua como los que se forman en cubos y macetas, ha sido encontrado en pozos sépticos en Nigeria, Puerto Rico y Florida. Además, varios estudios han confirmado que pueden reproducirse en aguas servidas contaminadas.lxviii[68].lxix[69].lxx[70].lxxi[71].lxxii[72]. Los autores del estudio de Puerto Rico calcularon que las fosas sépticas podrían producir más de 18.000 *Aedes aegypti* adultos por día y concluyeron que la reproducción en fosas sépticas podría contribuir significativamente en el mantenimiento del virus del dengue en la isla.lxxiii[73]. En el 2004, habían más de 36.000 sistemas sépticos y de 5.000 a 10.000 cloacas en Florida Keys, donde Oxitec planea realizar sus próximos experimentos.lxxiv[74]. En el año 2005 en Brasil se registraron 78 millones de habitantes que tenían fosas sépticas.lxxv[75]. Las áreas como los barrios marginales que no tienen agua entubada (un factor de riesgo del dengue) generalmente tampoco tienen acceso a un sistema de alcantarillado centralizado.lxxvi[76].

En un estudio en Estados Unidos, los genes de resistencia a las concentraciones de tetraciclina en las bacterias -medidos en efluentes de fosas sépticas modernas- fueron algunas veces mayores que aquellos presentes en las aguas residuales tratadas en la red municipal; sin embargo no se reportaron las concentraciones de tetraciclina en las fosas sépticas.lxxvii[77]. Se han encontrado concentraciones de tetraciclina de hasta 65,2 µg/L han sido encontradas en un alcantarillado municipal en un estudio hecho en China.lxxviii[78]. Este nivel es más alto que los 10 µg/L que Oxitec establece como el “umbral” para la sobrevivencia de los mosquitos (información basada en datos no publicados).lxxix[79]. No se sabe si podrían existir concentraciones similares en los sitios de reproducción de *Aedes aegypti* (como fosas sépticas, cloacas o áreas contaminadas con desechos de alimentos o agrícolas) porque esta importante investigación aún no ha sido llevada a cabo.

La dependencia de la tecnología de Oxitec RIDL en la tetraciclina constituye una de las fallas fundamentales debido a que la tetraciclina es ampliamente utilizada en prácticas médicas y veterinarias y se encuentra frecuentemente en el alcantarillado, los excrementos, los animales criados industrialmente y los alimentos industriales. Oxitec no ha entregado la información suficiente para poder establecer las tasas de sobrevivencia de sus mosquitos modificados genéticamente en ambientes contaminados con tetraciclina como son los pozos sépticos. Una alta tasa de sobrevivencia de las crías de mosquitos transgénicos haría que la tecnología de Oxitec no sea efectiva a la hora de eliminar la población de mosquitos silvestres. Además, grandes cantidades de mosquitos hembra transgénicas (que pican y pueden transmitir las enfermedades) podrían sobrevivir y reproducirse tal vez durante varias generaciones.

-
- i[1] A Oxitec se le ha concedido la patente EP1624749 (“Dilución de Rasgos Genéticos”) que contiene más de 50 especies de insectos que esta compañía espera modificar genéticamente: <https://register.epo.org/espacenet/application?number=EP04732350>. Sin embargo, su patente principal EP1690247 (“Sistemas de expresión para el control de las plagas de insectos”) aún se encuentra en discusión en la Oficina Europea de Patentes: <https://register.epo.org/espacenet/application?number=EP04743590&lng=en&tab=doclist>. Una patente anterior de la tecnología presentada por Isis Innovation (la compañía de Oxitec que nació en la Universidad Oxford) parece que ha caducado: <https://register.epo.org/espacenet/application?number=EP00979774>
- ii[2] Una lista está disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_sterile_insect_technique_trials
- iii[3] Klassen W (2005) Area-wide integrated pest management and the Sterile Insect Technique. In: Dyck VA, Hendrichs J, Robinson AS (eds.) *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- iv[4] Spielman A (2003) Release ratios employed for genetically modifying populations of mosquitoes. In: Takken W, Scott TW (eds.) *Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes*. Wageningen UR Frontis Series, Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- v[5] Asman SM, McDonald PT, Prout T (1981) Field Studies of Genetic Control Systems for Mosquitoes. *Annual Review of Entomology*, 26(1), 289-318.
- vi[6] McDonald PT, Häusermann W, Lorimer N (1977) Sterility introduced by release of genetically altered males to a domestic population of *Aedes aegypti* at the Kenya coast. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26(3), 553-561.
- vii[7] McDonald PT, Häusermann W, Lorimer N (1977) Sterility introduced by release of genetically altered males to a domestic population of *Aedes aegypti* at the Kenya coast. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26(3), 553-561.
- viii[8] Lorimer N (1981) Long-term survival of introduced genes in a natural population of *Aedes Aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research*, 71(1), 129-132.
- ix[9] Hassan MM, El-Motasim WM, Ahmed RT, El-Sayed BB (2010) Prolonged colonisation, irradiation, and transportation do not impede mating vigour and competitiveness of male *Anopheles arabiensis* mosquitoes under semi-field conditions in Northern Sudan. *Malaria World Journal*, 1, 2. http://www.malariaworld.org/sites/default/files/MWJ_2010_1_2.pdf

-
- x[10] Bellini R, Calvitti M, Medici A, Carrieri M, Celli G, Maini S (2007) Use of the Sterile Insect Technique Against *Aedes albopictus* in Italy: First Results of a Pilot Trial. In: Vreysen MJB, Robinson AS, Hendrichs J (eds.) *Area-Wide Control of Insect Pests*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- xi[11] Balestrino F, Medici A, Candini G, Carrieri M, MacCagnani B, Calvitti M, Maini S, Bellini R (2010) Gamma Ray Dosimetry and Mating Capacity Studies in the Laboratory on *Aedes albopictus* Males. *Journal of Medical Entomology*, 47(4), 581-591.
- xii[12] Juliano, SA (2007) Population Dynamics. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(2 Suppl), 265-275.
- xiii[13] Gould F, Schliekelman P (2004) Population genetics of autocidal control and strain replacement. *Annual Reviews in Entomology*, 49, 193-217.
- xiv[14] Walsh RK, Facchinelli L, Ramsey JM, Bond JG, Gould F (2011) Assessing the impact of density dependence in field populations of *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Ecology*, 36(2), 300-307. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1948-7134.2011.00170.x/pdf>
- xv[15] Walsh RK, Bradley C, Apperson CS, Gould F (2012) An Experimental Field Study of Delayed Density Dependence in Natural Populations of *Aedes albopictus*. *PLoS ONE*, 7(4): e35959. doi:10.1371/journal.pone.0035959. <http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0035959>
- xvi[16] Barclay HJ (2001) Modeling incomplete sterility in a sterile release program: interactions with other factors. *Population Ecology*, 43(3), 197-206.
- xvii[17] Reiter P, Amador MA, Anderson RA, Clark CG (1995) Short Report: Dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52(2), 177-179.
- xviii[18] CDC (undated) Dengue: Entomology & Ecology. <http://www.cdc.gov/dengue/entomologyEcology/index.html>
- xix[19] Atkinson MP, Su Z, Alphey N, Alphey LS, Coleman PG, Wein LM (2007) Analyzing the control of mosquito-borne diseases by a dominant lethal genetic system. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104, 9540-9545.
- xx[20] Yakob L, Alphey L, Bonsall MB (2008) *Aedes aegypti* control: the concomitant role of competition, space and transgenic technologies. *Journal of Applied Ecology*, 45, 1258-1265.
- xxi[21] White SM, Rohani P, Sait SM (2010) Modelling pulsed releases for sterile insect techniques: fitness costs of sterile and transgenic males and the effects on mosquito dynamics. *Journal of Applied Ecology*, 47(6), 1329-1339.
- xxii[22] Phuc HK, Andreasen MH, Burton RS, Vass C, Epton MJ et al. (2007) Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. *BMC Biology*, 5: 11. doi:10.1186/1741-7007-5-1. <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/5/11>
- xxiii[23] Dye C (1984) Models for the Population Dynamics of the Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Animal Ecology*, 53(1), 247-268.
- xxiv[24] Juliano SA (2009) Species interactions among larval mosquitoes: context dependence across habitat gradients. *Annu. Rev. Entomol.*, 54, 37-56.
- xxv[25] For example, Slides 16 and 17 in: Oxitec (2011) Potential UK trial of “genetically sterile” (RIDL®) diamondback moth (*Plutella xylostella*). PowerPoint presentation to Health and Safety Executive (HSE) Scientific Advisory Committee on Genetic Modification (SACGM).

-
- xxvi[26] Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 1034-1037.
- xxvii[27] Shelly T, McInnis D (2011) Road test for genetically modified mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 984-985.
- xxviii[28] Enserink M (2011) GM Mosquito Release in Malaysia Surprises Opponents and Scientists – Again. *Science Insider*, 27 January 2011. <http://news.sciencemag.org/scienceinsider/2011/01/gm-mosquito-release-in-malaysia.html?ref=ra>
- xxix[29] Harris AF, McKemey AR, Nimmo D, Curtis Z, Black I, Morgan SA, Oviedo MN, Lacroix R, Naish N, Morrison NI, Collado A, Stevenson J, Scaife S, Dafa'alla T, Fu G, Phillips C, Miles A, Raduan N, Kelly N, Beech C, Donnelly CA, Petrie WD, Alphey L (2012) Successful suppression of a field mosquito population by sustained release of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 30(9), 828-830.
- xxx[30] Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 1034-1037.
- xxxi[31] Bialeck M (2012) Mosquito Control in the Florida Keys. *Scientific American*, 11 April 2012. <http://blogs.scientificamerican.com/guest-blog/2012/04/11/mosquito-control-in-the-florida-keys/>
- xxxii[32] PAT (2012) Transgenic Aedes Project Progress Report, Feb 2011-Mar 2012.
- xxxiii[33] da Silveira E (2011) Solução genética. *FAPESP Pesquisa*, February 2011.
- xxxiv[34] Scott TM, Takken W, Knols BGJ, Boëte C (2002) The ecology of genetically modified mosquitoes. *Science*, 298, 117-119.
- xxxv[35] Morrison AC, Minnick SL, Rocha C, Forshey BM, Stoddard ST, Getis A, Focks DA, Russell KL, Olson JG, Blair PJ, Watts DM, Sihuincha M, Scott TW, Kochel TJ (2010) Epidemiology of dengue virus in Iquitos, Peru 1999 to 2005: interepidemic and epidemic patterns of transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 4(5): e670.
- xxxvi[36] Câmara FP, Theophilo RL, Santos GT, Pereira SR, Câmara DC, Matos RR (2007) Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. [Regional and dynamics characteristics of dengue in Brazil: a retrospective study] *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(2), 192-196. <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/kidengue/epidemiologia/textos/estudorestropectivodengue.pdf>
- xxxvii[37] Díaz-Quijano FA, Waldman EA (2012) Factors Associated with Dengue Mortality in Latin America and the Caribbean, 1995-2009: An Ecological Study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(2), 328-334.
- xxxviii[38] Raghwanji J, Rambaut A, Holmes EC, Hang VT, Hien TT et al. (2011) Endemic Dengue Associated with the Co-Circulation of Multiple Viral Lineages and Localized Density-Dependent Transmission. *PLoS Pathog.*, 7(6): e1002064. doi:10.1371/journal.ppat.1002064
- xxxix[39] Schmidt W-P, Suzuki M, Dinh Thiem V, White RG, Tsuzuki A et al. (2011) Population Density, Water Supply, and the Risk of Dengue Fever in Vietnam: Cohort Study and Spatial Analysis. *PLoS Med.*, 8(8): e1001082. doi:10.1371/journal.pmed.1001082. <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.1001082>
- xl[40] Thammapalo S, Nagao Y, Sakamoto W, Saengtharapit S, Tsujitani M, Nakamura Y, Coleman PG, Davies C (2008) Relationship between Transmission Intensity and Incidence of Dengue Hemorrhagic Fever in Thailand. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2(7): e263. doi:10.1371/journal.pntd.0000263
- xli[41] MacKenzie D (2008) When acquiring mosquito-borne disease is a good thing. *New Scientist*, 16 July 2008. <http://www.newscientist.com/article/dn14329-when-acquiring-mosquitoborne-disease-is-a-good-thing.html>
- xlii[42] Nagao Y, Koelle K (2008) Decreases in dengue transmission may act to increase the incidence of dengue hemorrhagic fever. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(6), 2238-2243.

xliv[43] Yakob L, Alphey L, Bonsall MB (2008) *Aedes aegypti* control: the concomitant role of competition, space and transgenic technologies. *Journal of Applied Ecology*, 45, 1258-1265.

xliv[44] Alphey N, Alphey L, Bonsall MB (2011) A Model Framework to Estimate Impact and Cost of Genetics-Based Sterile Insect Methods for Dengue Vector Control. *PLoS ONE*, 6(10): e25384.
<http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0025384#s5>

xliv[45] Curtis CF (2003) Measuring public-health outcomes of release of transgenic mosquitoes. In: Takken W, Scott TW (eds.) *Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes*. Wageningen UR Frontis Series, Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

xlvi[46] Scott TW, Morrison AC (2003) *Aedes aegypti* density and the risk of dengue-virus transmission. In: Takken W, Scott TW (eds.) *Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes*. Wageningen UR Frontis Series, Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

xlvi[47] Egger JR et al. (2008) Reconstructing historical changes in the force of infection of dengue fever in Singapore: implications for surveillance and control. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(3), 187-196.

xlvi[48] Medlock J, Luz PM, Struchiner CJ, Galvani AP (2009) The Impact of Transgenic Mosquitoes on Dengue Virulence to Humans and Mosquitoes. *The American Naturalist*, 174, 565-577.

xliv[49] Alto BW, Reiskind MH, Lounibos LP (2008) Size Alters Susceptibility of Vectors to Dengue Virus Infection and Dissemination. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(5), 688-695.

lv[50] Medlock J, Luz PM, Struchiner CJ, Galvani AP (2009) The Impact of Transgenic Mosquitoes on Dengue Virulence to Humans and Mosquitoes. *The American Naturalist*, 174, 565-577.

lv[51] James S, Simmons CP, James AA (2011) Mosquito Trials. *Science*, 334(6057), 771-772.

lv[52] Phuc HK, Andreassen MH, Burton RS, Vass C, Epton MJ, et al. (2007) Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. *BMC Biology*, 5: 11. doi:10.1186/1741-7007-5-1.
<http://www.biomedcentral.com/1741-7007/5/11>

lv[53] Patil P et al. (2010) Discussion on the proposed hypothetical risks in relation to open field release of a self-limiting transgenic *Aedes aegypti* mosquito strains to combat dengue. *As. Pac. J. Mol. Biol. & Biotech.*, 18(2), 241-246.

lv[54] Nimmo D, Gray P, Labbé G (undated) Eliminating tetracycline contamination. Internal report from Oxitec.
<http://libcloud.s3.amazonaws.com/93/de/e/986/MosquitoDocOriginal.pdf>

lv[55] House of Lords Hansard, 25 January 2012, c235W. <http://www.theyworkforyou.com/wrans/?id=2012-01-25a.235.3&s=oxitec#g235.4>

lv[56] Una copia del documento está disponible en:

<http://libcloud.s3.amazonaws.com/93/73/9/985/MosquitoDocRedacted.pdf>

lv[57] Auerbach EA, Seyfried EE, McMahon KD (2006) Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants. Water Environment Foundation. <http://www.environmental-expert.com/Files%5C5306%5Carticles%5C8866%5C117.pdf>

lv[58] Abasi MM et al. (2009) Levels of tetracycline residues in cattle meat, liver, and kidney from a slaughterhouse in Tabriz, Iran. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 33(4), 345-349.

lv[59] Masawat P, Mekprayoon S, Liawruangrath S, Upalee S, Youngvives N (2008) On-line preconcentration and determination of tetracycline residues in milk using solid-phase extraction in conjunction with flow injection spectrophotometry. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 2(02), 418-430.

-
- lx[60] Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R (2010) Multiresidue determination of antibiotics in fish samples by immunoassay. Safety control in cultivated fish. International Conference on Food Innovation, Universidad Politécnica de Valencia, 25-29 October 2010. <http://www.foodinnova.com/foodInnova/docu2/21.pdf>
- lxi[61] Jeon M, Paeng IR (2008) Quantitative detection of tetracycline residues in honey by a simple sensitive immunoassay. *Analytica Chimica Acta*, 626, 180-185.
- lxii[62] Agersø Y, Wulff G, Vaclavik E, Halling-Sørensen B, Jensen LB (2006) Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in soil microcosms. *Environment International*, 32, 876-882.
- lxiii[63] Liu H, Zhang G, Liu C-Q, Li L, Xiang M (2009) The occurrence of chloramphenicol and tetracyclines in municipal sewage and the Nanming River, Guiyang City, China. *J. Environ. Monit.*, 11, 1199-1205.
- lxiv[64] Oxitec (2012) Statement in response to NGO allegations. On: <http://www.oxitec.com/2012/01/press-release-oxitec-statement-in-response-to-ngo-allegations/#more-3170>
- lxv[65] A letter to Oxitec from Paul Reiter, MPhil, DPhil, FRES. 31 January 2012. On: <http://www.oxitec.com/2012/01/a-letter-to-oxitec-from-paul-reiter-mphil-dphil-fres/>
- lxvi[66] Oxitec FAQs: It's been reported that 3% of RIDL mosquitoes survive, and some studies have reported 15% – is this true? <http://www.oxitec.com/faqs/its-been-reported-that-3-of-ridl-mosquitoes-survive-and-some-studies-have-reported-15-is-this-true/>
- lxvii[67] Rodriguez-Beltran C (2012) GM mosquitoes: Survival in the presence of tetracycline contamination. TWN Biosafety Briefing, March 2012. <http://www.biosafety-info.net/article.php?aid=878>
- lxviii[68] Irving-Bell RJ, Okoli EI, Diyelong DY, Lyimo EO, Onyia OC (1987). Septic tank mosquitoes: competition between species in central Nigeria. *Medical and Veterinary Entomology*, 1, 243-250.
- lxix[69] Barrera R, Amador M, Diaz A, Smit J, Munoz-Jordan JL, Rosario Y (2008). Unusual productivity of *Aedes aegypti* in septic tanks and its implications for dengue control. *Medical and Veterinary Entomology*, 22, 62-69.
- lxx[70] Beserra EB, Fernandes CRM, de Sousa JT, de Freitas EM, Santos KD (2010). Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, 39, 1016-1023.
- lxxi[71] Burke R, Barrera R, Lewis M, Kluchinsky T, Claborn D (2010). Septic tanks as larval habitats for the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Playa-Playita, Puerto Rico. *Medical and Veterinary Entomology*, 24, 117-123.
- lxxii[72] Hribar L, Vlach J, DeMay D, James S, Fahey J and Fussell E (2004). Mosquito larvae (Culicidae) and other Diptera associated with containers, storm drains, and sewage treatment plants in the Florida Keys, Monroe County, Florida. *Florida Entomologist*, 87, 199-203.
- lxxiii[73] Barrera R, Amador M, Diaz A, Smit J, Munoz-Jordan JL, Rosario Y (2008). Unusual productivity of *Aedes aegypti* in septic tanks and its implications for dengue control. *Medical and Veterinary Entomology*, 22, 62-69.
- lxxiv[74] Griffin DW (2004) Florida's Geology Makes Wastewater Disposal a Potential Threat to Ecosystem Health in the Florida Keys. *Sound Waves*, October 2004. <http://soundwaves.usgs.gov/2004/10/research.html>
- lxxv[75] IWA Water Wiki: Brazil Overview. <http://www.iwaterwiki.org/xwiki/bin/view/Articles/Brazil+Overview>
- lxxvi[76] Abiko AK, Almeida MAP (undated) Environmental sanitation indicators for upgraded slums: The case of Jardim Floresta slum (favela) in the City of São Paulo. *Human Settlement Development – Volume 3. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. ISBN: 978-1-84826-046-7 (eBook). <http://www.eolss.net/Sample-Chapters/C14/EI-18-06-05.pdf>

lxxvii[77] McMahon KD, Seyfried EE (2007) Evaluation of On-Site Wastewater Treatment as a Source of Antibiotic Resistance Genes in Groundwater. The University of Wisconsin System Groundwater Research Program. http://wri.wisc.edu/Downloads/Projects/Final_WR05R006.pdf

lxxviii[78] Liu H, Zhang G, Liu C-Q, Li L, Xiang M (2009) The occurrence of chloramphenicol and tetracyclines in municipal sewage and the Nanming River, Guiyang City, China. *J. Environ. Monit.*, 11, 1199-1205.

lxxix[79] Oxitec (2012) Tetracycline in the environment (unpublished data).

Mosquitos Genéticamente Modificados: Preocupaciones actuales

TWN Biotechnology & Biosafety Series No. 15

Helen Wallace

SEGUNDA PARTE

CAPÍTULO 5.

IMPACTOS DE LOS CAMBIOS DE LA POBLACIÓN EN OTRAS ESPECIES DE MOSQUITOS

La fiebre del dengue también es transmitida por el mosquito tigre asiático *Aedes albopictus*, al igual que algunos otros virus^{lxxix[i]}. *Aedes aegypti* es originario de África y se dispersó en muchas otras áreas de los trópicos a través del comercio de esclavos. *Aedes albopictus* es originario del Sureste Asiático pero se ha expandido ampliamente a muchas regiones tropicales, subtropicales y templadas, tanto en las áreas urbanas como rurales alrededor del mundo. Las dos especies pueden dispersarse extremadamente rápido y pueden interactuar con la otra y desplazarla: por ejemplo, *Aedes albopictus* ha reemplazado a *Aedes aegypti* en gran parte de Florida y Bermuda.^{lxxix[ii]}^{lxxix[iii]}

Si la liberación de mosquitos genéticamente modificados *Aedes aegypti* es exitosa al eliminar las poblaciones silvestres de estas especies, es posible que los números de *Aedes albopictus* se incrementen debido a la disminución de la competencia en los sitios de reproducción y alimento. Este riesgo ha sido calificado como “medio” en el reporte NRE UNDP GEF durante el taller de Evaluación de Riegos de los Insectos Transgénicos en Malasia en Noviembre del 2008 como lo reveló una publicación del Director de Asuntos Regulatorios de Oxitec, Camilla Beech y otros.^{lxxix[iv]} La mayoría de otros métodos utilizados para reducir las poblaciones de mosquitos (por ejemplo el eliminar los sitios de reproducción, trampas de mosquitos, fumigaciones, larvicidas) no son específicos para cada especie, por ello este problema comúnmente no se presenta. Sin embargo, ya que RIDL está dirigida sólo a una especie, existe el riesgo de que los números de *Aedes aegypti* se reduzcan, pero los números de *Aedes albopictus* se incrementen o se establezcan en áreas donde antes no causaban problemas.^{lxxix[v]}^{lxxix[vi]}^{lxxix[vii]}.

Aedes aegypti y *Aedes albopictus* son especies diferentes con comportamientos diferentes, pero los hábitats de las dos especies se sobreponen parcialmente; pueden reproducirse en los mismos lugares y la competencia entre sus larvas puede afectar su abundancia relativa [viii]. [ix] [x]. *Aedes albopictus* ha sido remplazado por *Aedes aegypti* en las principales ciudades del Sur-este Asiático, donde *Aedes aegypti* es considerado como el principal vector del virus del dengue [xi], sin embargo las dos especies pueden jugar un rol importante en la transmisión de la enfermedad [xii]. *Aedes albopictus* ha sido responsable de las concurrentes epidemias de dengue y chikungunya en Gabón, [xiii] la fiebre de dengue hemorrágico en Dhaka, Bangladesh, [xiv] y el reaparecimiento del dengue en el sur de China [xv].

En China, *Aedes aegypti* es generalmente el vector del dengue en las áreas costeras y *Aedes albopictus* es el vector en las regiones internas. [xvi] Aunque diferentes cepas existen en diferentes países y varían en su capacidad de transmitir la enfermedad, *Aedes albopictus* puede ser un vector del dengue muy competente [xvii]. Su rol en la transmisión de la enfermedad en Sudamérica es poco conocida, aunque esta especie parece que jugó un papel importante en los brotes de dengue en Colombia. [xviii] [xix] Un estudio sugiere que *Aedes albopictus* constituye una amenaza inquietante para el control del dengue en Brasil y que podría ser además el vínculo entre las áreas selváticas y las áreas urbanas de la fiebre amarilla [xx]. Parece que es una especie más invasiva que *Aedes aegypti* [xxi] y existe evidencia de que puede ser menos susceptible a algunos insecticidas [xxii]. El incremento de *Aedes albopictus* puede ser dañino para la salud y su incremento o establecimiento en una nueva área podría ser difícil de controlar.

En algunas áreas de Estados Unidos, *Aedes albopictus* ha desplazado a *Aedes aegypti* pero en algunas áreas del sur de Florida ellos coexisten: un estudio en el 2004 encontró a la especie *Aedes albopictus* en Florida Keys aunque *Aedes aegypti* es la especie más extendida [xxiii]. La esterilidad causada por la reproducción cruzada entre *Aedes albopictus* y *Aedes aegypti* puede haber contribuido inicialmente para la reducción de *Aedes aegypti* en muchas áreas de la Florida [xxiv].

La competencia entre las larvas puede también afectar la probabilidad de transmisión del virus, lo que a su vez puede tener importantes consecuencias para la enfermedad del dengue [xxv]. La competencia incrementa la probabilidad de adquirir infecciones para *Aedes albopictus*, mas no para *Aedes aegypti* debido a los arbovirus. Si la invasión de *Aedes albopictus* reemplaza competitivamente a *Aedes aegypti*, y las dos especies pueden coexistir, entonces este efecto competitivo puede incrementar las capacidades de vector de *Aedes albopictus* comparadas a las de *Aedes aegypti*. Entonces, *Aedes albopictus* podría asumir un papel más importante en la transmisión del dengue, porque aumentaría no sólo en número sino en su habilidad para transmitir el virus.

Oxitec ha publicado un estudio que pretende modelar las interacciones entre *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, reconociendo que no compiten por recursos; ese modelo incluye solo los efectos de los números de mosquitos, no la transmisión de enfermedades [xxvi]. El modelo produce muchos resultados posibles, dependiendo de los supuestos. En otras declaraciones, Oxitec ha aceptado que es posible que pueda haber un incremento en el número o rango de *Aedes albopictus*, pero manifiesta que esta situación lo único que causará es una pequeña reducción en el efecto neto beneficioso

que producirá el controlar a *Aedes aegypti*” y que en todo caso los programas de control de las dos especies podrían combinarse lxxix[xxvii]. Oxitec publicó recientemente un estudio sobre *Aedes albopictus* transgénico (una versión hembra no voladora de esta tecnología) aunque se encuentra aún en una etapa muy temprana de desarrollo lxxix[xxviii]. El boletín de prensa de este estudio recalca las dificultades encontradas a la hora de intentar detener el esparcimiento del dengue que porta *Aedes albopictus* lxxix[xxix].

En África del Oeste y Malasia la situación puede complicarse aún más debido a la existencia de ciclos de la transmisión de dengue que involucran a monos y otras especies de mosquitos *Aedes* selváticos. lxxix[xxx] El dengue selvático es -sin embargo- genéticamente distinto del dengue urbano y las variedades domésticas de *Aedes aegypti* no son buenos vectores del dengue selvático.

Existen varios problemas potenciales si se elige utilizar un método que es especie - específico; es decir dirigido hacia una sola especie - en una enfermedad que es transmitida por más de una especie de mosquito. Si Oxitec elimina las poblaciones de *Aedes aegypti*, podría causar un incremento de *Aedes albopictus* que también es un vector del dengue y otras enfermedades.

CAPÍTULO 6.

INTRODUCCIÓN DE NUEVAS CEPAS DE MOSQUITOS Y TRANSMISIÓN DE OTRAS ENFERMEDADES

Las diferentes cepas de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* varían en su habilidad de transmitir la fiebre del dengue, la fiebre amarilla y el virus chikungunya lxxix[xxxi] lxxix[xxxii] lxxix[xxxiii] lxxix[xxxiv] lxxix[xxxv]. Por ejemplo, los -aparentemente distintos- linajes de *Aedes aegypti* en Brasil podría mostrar diferencias en lo referente a la propensión de transmitir la enfermedad del dengue y la fiebre amarilla lxxix[xxxvi] lxxix[xxxvii].

El introducir nuevas cepas modificadas genéticamente puede alterar la transmisión de una o más de estas enfermedades, especialmente si la cepa liberada difiere de la cepa silvestre presente en el área en estudio. Por ejemplo, el riesgo de un brote de fiebre amarilla en el futuro podría incrementarse si se introduce una cepa que transmite la fiebre amarilla en un área donde las cepas locales no lo hacen. La resistencia a los insecticidas también puede variar y la introducción de una cepa parental potencialmente resistente debería obviamente evitarse lxxix[xxxviii] lxxix[xxxix].

Existen tres tipos de ciclos de transmisión de la fiebre amarilla: selvática, intermedia y urbana. En África existen los tres ciclos pero en Sudamérica, existen únicamente la selvática y la urbana. lxxix[xl] La fiebre amarilla selvática (o de la selva) ocurre en los

bosques tropicales lluviosos donde los monos infectados por los mosquitos selváticos, pasan el virus a otros mosquitos que se alimentan de los anteriores; estos mosquitos luego pican e infectan a los humanos que ingresan a la selva, produciendo así casos esporádicos. La fiebre amarilla urbana se vuelve una epidemia cuando los viajeros de áreas rurales introducen el virus en áreas con una alta densidad de población humana. Los mosquitos domésticos y especialmente *Aedes aegypti* pueden acarrear los virus de una persona a otra. Estos brotes tienden a expandirse y así cubrir áreas más extensas. Un brote de este tipo ocurrió en Brasil en el 2008. lxxix[xli]

Oxitec dice que OX513A tiene su origen genético en Asia y Latinoaméricaxlix[xlii]. En las Islas Caimán, la inserción de OX513A en *Aedes aegypti* (inicialmente desarrollado a partir de una cepa Rockefellerlxxix[xliii]) fue el producto de una introgresión en una sepa con antecedentes genéticos de México mediante cinco generaciones de retrocruzamientoslxxix[xliv]. Parece que esta misma cepa fue utilizada posteriormente en Brasil. En Malasia el organismo parental fue nuevamente la cepa transformada de *Aedes aegypti* Rockefeller, que luego fue cruzada con una cepa más resistente de *Aedes aegypti* adquirida en Asia en el Instituto Malayo de Investigación Médica (IMR), lo que dio como resultado la creación de la cepa OX513A(My1)lxxix[xlv]lxxix[xlvi]. Esta cepa ha sido probada para resistir a los insecticidas. lxxix[xlvii]

La cepa Rockefeller de *Aedes aegypti* parece que se derivó de una cepa establecida en Habana, Cuba por Carlos J. Finlay en 1881, que fue utilizada en los experimentos iniciales que establecieron que *Aedes aegypti* era el mosquito vector de la fiebre amarilla lxxix[xlviii]lxxix[xlix]. Tal parece que Oxitec no ha publicado información sobre los orígenes de la cepa mexicana que se retrocruzó con la cepa genéticamente modificada Rockefeller, previo a su liberación en las Islas Caimán y Brasil. Además, parece que ni las cepas asiáticas ni las latinoamericanas de OX513A han sido estudiadas para determinar sus propiedades en relación a la transmisión de enfermedades.

El uso de las cepas no nativas en los experimentos de liberación de Oxitec - que incluyeron cepas que pueden en teoría ser más efectivas que las cepas locales en la transmisión de la fiebre amarilla - plantea la posibilidad de que tales cepas puedan establecerse en los sitios donde se liberan los mosquitos y por lo tanto crear nuevos riesgos para la salud pública. El que esto se convierta en un problema en la práctica dependerá de las propiedades de transmisión de las enfermedades de las cepas retrocruzadas y la medida en la que los mosquitos transgénicos puedan sobrevivir y reproducirse (debido a la sobrevivencia de un pequeño porcentaje de la progenie de los mosquitos transgénicos, que puede incrementar en la presencia de contaminación con tetraciclina o si la resistencia se desarrolla con el tiempo). De darse este problema, el riesgo sería mayor en Brasil ya que allí aún existe la fiebre amarilla selvática y se podrían dar brotes de fiebre amarilla urbana.

Oxitec ha entregado información insuficiente sobre las cepas de mosquitos que ha liberado y el impacto potencial que éstas tienen en lo referente a la transmisión de virus

-incluyendo el dengue, chikungunya y la fiebre amarilla - si estas cepas llegasen a establecerse en el ambiente silvestre.

CAPÍTULO 7.

¿PODRÍA DESARROLLARSE RESISTENCIA Y DEBIDO A ESO, MÁS MOSQUITOS SOBREVIVIRÍAN Y SE REPRODUCIRÍAN, O LA CAPACIDAD DE LOS MOSQUITOS TRANSGÉNICOS SE REDUCIRÍA CON EL TIEMPO?

Una diferencia clave entre la Técnica de Esterilización de Insectos (TIE) utilizando insectos irradiados y la liberación de insectos modificados genéticamente es que la esterilidad inducida por radiaciones involucra varios rompimientos de cromosomas, mientras que el sistema RIDL se basa en una modificación genética específica. Por lo tanto, la esterilidad inducida por radiación son redundantes, lo que no sucede con los métodos que aplican la genética molecular^[1]. Algunos autores han especulado sobre el hecho de que cualquier evento genético o molecular que permita la sobrevivencia y reproducción exitosa de los mosquitos transgénicos podría entonces ser rápidamente seleccionado durante una producción masiva ^[1]. Si esto sucede, el efecto de letalidad condicionada puede desaparecer rápidamente ya que se desarrollaría una resistencia en las instalaciones de producción o en el campo.

Las mutaciones ocurren al azar en cualquier población de mosquitos. La producción a gran escala de los mosquitos genéticamente modificados puede producir cambios genéticos inesperados e inestables ^[1] aunque Oxitec ha desarrollado un método que afirma que mejora su estabilidad ^[4].

Oxitec ha publicado algunos de los modelos informáticos sobre cómo se podría desarrollar la resistencia a RIDL: si la resistencia se desarrolla o no en la práctica depende de una combinación compleja de factores ^[4]. Oxitec acepta que la resistencia puede ocurrir pero argumenta que puede ser monitoreada y detectada antes de que ocurra una pérdida significativa de eficacia y que pueda ser sustituida una nueva línea de RIDL. No está claro cuán realista es esta afirmación en la práctica.

Los cambios genéticos no son los únicos mecanismos a través de los cuales se puede desarrollar la resistencia: en un programa convencional TIE en Japón, parecía que las hembras silvestres no se mostraban receptivas a aparearse con los machos irradiados. ^[6]

En un estudio reciente en México, 14% de las hembras *Aedes aegypti* recibieron semen de más de un macho en un periodo de 48 horas, incrementando la probabilidad de que el apareo con un macho transgénico no prevenga su reproducción ^[7]. Sin embargo, este estudio no pudo distinguir entre semen y fluido seminal por lo tanto la incidencia de apareo múltiple puede haber sido sobre –estimada.

La reproducción masiva de mosquitos puede dar como resultado la pérdida de capacidad física en el tiempo (debido a la endogamia conocida como el “efecto de colonia”) lxxix[lviii]. La pérdida de capacidad significa que menos machos se aparearán con las hembras silvestres y por lo tanto se reducirá la efectividad. En la técnica TIE, nuevos insectos silvestres pueden añadirse a la colonia antes de la irradiación para incrementar su capacidad. Con la técnica RIDL, se deben crear periódicamente nuevos retrocruzamientos entre la línea parental de los mosquitos transgénicos y los nuevos mosquitos silvestres que luego deberán introducirse en la colonia para incrementar su capacidad.

Aunque la tecnología de Oxitec fuera exitosa en el corto plazo, existen muchas formas en las que la resistencia podría desarrollarse; esto haría que la tecnología sea menos efectiva y por lo tanto incrementarían las preocupaciones sobre bioseguridad si más mosquitos transgénicos sobreviven y se reproducen por varias generaciones. La pérdida de capacidad y el apareamiento múltiple pueden también reducir la efectividad. En las áreas endémicas de dengue, la pérdida de efectividad podría causar un rebrote de casos si en primer lugar la transmisión del dengue y la inmunidad humana disminuyen con el uso de esta tecnología.

CAPÍTULO 8.

COMPATIBILIDAD CON LOS MÉTODOS DE CONTROL TRADICIONALES

Los métodos tradicionales de control de mosquitos podrían limitar aún más la efectividad de la tecnología de Oxitec, ya que éstos eliminarían a los machos transgénicos antes de que se apareen con las hembras silvestres. Esto podría suceder si se utilizan insecticidas para adultos y aunque éste no es un método de control rutinario, es común en las epidemias. Los mosquitos adultos son frecuentemente atrapados en trampas y la gente también los fumiga en sus casas o jardines. El eliminar los sitios de reproducción de los mosquitos o utilizar larvicidas al mismo tiempo que la técnica de liberar los mosquitos modificados genéticamente podría causar que las larvas modificadas genéticamente en estos sitios de reproducción no jugarán el rol que deben en las poblaciones silvestres de mosquitos; es decir de competencia entre larvas transgénicas y no transgénicas. Por otro lado, el no usar estos métodos de control podría exponer a la población a un riesgo innecesario de contraer dengue u otras enfermedades.

En Malasia, se pidió a la gente que no apliquen insecticidas durante los experimentos de Oxitec, para que no interfieran con los resultados lxxix[lix]. En las Islas Caimán, se atrapó altos niveles de mosquitos durante el primer ensayo en el campo, ya que aparentemente no se utilizó ningún otro método para reducir los números de mosquitos. De hecho Oxitec escogió sitios donde no se aplicaba ningún método de control de mosquitos para que éstos no interfieran con sus experimentos. lxxix[lx] Esto resultó en graves preocupaciones éticas sobre si la gente estaba adecuadamente protegida (utilizando los métodos existentes) durante los ensayos de Oxitec y si esto debilitaría los métodos de control comunitarios que se enfocan en la eliminación de los sitios de reproducción.

El uso de los mosquitos genéticamente modificados puede también desviar los recursos económicos de otros métodos (ver capítulo 13). El modelo de negocio de Oxitec se basa

en pagos repetitivos para las liberaciones continuas de grandes cantidades de mosquitos genéticamente modificados con el objetivo de eliminar las poblaciones de mosquitos silvestres^{lxxix[lxi]}.

El uso de la tecnología de Oxitec puede debilitar otros métodos de control, a través del desvío de recursos económicos o debido a que puede ser necesario suspender el uso de otros métodos para permitir la sobrevivencia y reproducción de los mosquitos transgénicos de Oxitec.

lxxix[i] Hansford K, Bennett E, Medlock JM (2010) Public health importance of the invasive mosquitoes of Europe. ECDC, 21 January 2010. http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvce/Lists/ECDC%20Reviews/ECDC_DispForm.aspx?List=512ff74f-77d4-4ad8-b6d6-bf0f23083f30&ID=759&RootFolder=/en/activities/sciadvce/Lists/ECDC%20Reviews&MasterPage=1

lxxix[ii] Britch SC, Linthicum KJ, Anyamba A, Tucker CJ, Pak EW; Mosquito Surveillance Team (2008) Long-term surveillance data and patterns of invasion by *Aedes albopictus* in Florida. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 24(1), 115-120.

lxxix[iii] Kaplan L, Kendell D, Robertson D, Livdahl T, Khatchikian C (2010) *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Bermuda: extinction, invasion, invasion and extinction. *Biological Invasions*, 12(9), 3277-3288.

lxxix[iv] Beech CJ, Nagaraju J, Vasani SS, Rose RI, Othman RY, Pillai V, Saraswathy TS (2009) Risk analysis of a hypothetical open field release of a self-limiting transgenic *Aedes aegypti* mosquito strain to combat dengue. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 17, 99-111.

lxxix[v] Reiskind MH, Lounibos LP (2009) Effects of intraspecific larval competition on adult longevity in the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.*, 23(1), 62-68.

lxxix[vi] Lounibos LP (2007) Competitive displacement and reduction. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(2 Suppl), 276-282.

lxxix[vii] Chen CD, Nazni WA, Lee HL, Seleena B, Mohd Masri S, Chiang YF, Sofian-Azirun M (2006) Mixed breeding of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse in four dengue endemic areas in Kuala Lumpur and Selangor, Malaysia. *Trop. Biomed.*, 23(2), 224-227.

lxxix[viii] Reiskind MH, Lounibos LP (2009) Effects of intraspecific larval competition on adult longevity in the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.*, 23(1), 62-68.

lxxix[ix] Lounibos LP (2007) Competitive displacement and reduction. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(2 Suppl), 276-282.

lxxix[x] Chen CD, Nazni WA, Lee HL, Seleena B, Mohd Masri S, Chiang YF, Sofian-Azirun M (2006) Mixed breeding of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse in four dengue endemic areas in Kuala Lumpur and Selangor, Malaysia. *Trop. Biomed.*, 23(2), 224-227.

lxxix[xi] Vazeille M et al. (2003) Low Oral Receptivity for Dengue Type 2 Viruses of *Aedes Albopictus* from Southeast Asia Compared with That of *Aedes Aegypti*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68(2), 203-208.

lxxix[xii] Chow VTK et al. (1998) Monitoring of Dengue Viruses in Field-Caught *Aedes Aegypti* and *Aedes Albopictus* Mosquitoes by a Type-Specific Polymerase Chain Reaction and Cycle Sequencing. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58(5), 578-586.

lxxix[xiii] Paupy C et al. (2010) Comparative role of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the emergence of Dengue and Chikungunya in central Africa. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 10(3), 259-266.

lxxix[xiv] Ali M et al. (2003) Use of a Geographic Information System for Defining Spatial Risk for Dengue Transmission in Bangladesh: Role for *Aedes Albopictus* in an Urban Outbreak. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69(6), 634-640.

lxxix[xv] Rezza G (2012) *Aedes albopictus* and the reemergence of Dengue. *BMC Public Health*, 12(1), 72.

lxxix[xvi] Xu G et al. (2007) An Outbreak of Dengue Virus Serotype 1 Infection in Cixi, Ningbo, People's Republic of China, 2004, Associated with a Traveller from Thailand and High Density of *Aedes Albopictus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(6), 1182-1188.

lxxix[xvii] Zhang M et al. (2010) Quantitative Analysis of Replication and Tropisms of Dengue Virus Type 2 in *Aedes Albopictus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(3), 700-707.

lxxix[xviii] Vezzani D, Carbajo AE (2008) *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and dengue in Argentina: current knowledge and future directions. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(1), 66-74.

lxxix[xix] Méndez F, Barreto M, Arias JF, Rengifo G, Muñoz J, Burbano ME, Parra B (2006) Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue-endemic region of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74(4), 678-683.

lxxix[xx] de Oliveira RL, Vazeille M, de Filippis AMB, Failloux A-B (2003) Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69(1), 105-114.

lxxix[xxi] Britch SC et al. (2008) Long-term surveillance data and patterns of invasion by *Aedes albopictus* in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(1), 115-120.

lxxix[xxii] Gómez A et al. (2011) Comparison of the insecticide susceptibilities of laboratory strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(8), 993-996.

lxxix[xxiii] Hribar L, Vlach J, DeMay D, James S, Fahey J and Fussell E (2004) Mosquito larvae (Culicidae) and other Diptera associated with containers, storm drains, and sewage treatment plants in the Florida Keys, Monroe County, Florida. *Florida Entomologist*, 87, 199-203.

lxxix[xxiv] Tripet F, Lounibos LP, Robbins D, Moran J, Nishimura N, Blosser EM (2011) Competitive Reduction by Satyrization? Evidence for Interspecific Mating in Nature and Asymmetric Reproductive Competition between Invasive Mosquito Vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85(2), 265-270.

lxxix[xxv] Juliano SA (2009) Species interactions among larval mosquitoes: context dependence across habitat gradients. *Annu. Rev. Entomol.*, 54, 37-56.

lxxix[xxvi] Bonsall MB, Yakob L, Alphey N, Alphey L (2010) Transgenic control of vectors: The effects of inter-specific interactions. *Israel Journal of Ecology and Evolution*, 56, 353-370.

lxxix[xxvii] Alphey L, Benedict M, Bellini R, Clark GG, Dame DA, Service MW, Dobson SL (2010) Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 10(3), 295-311.

lxxix[xxviii] Labbé GMC, Scaife S, Morgan SA, Curtis ZH, Alphey L (2012) Female-Specific Flightless (fsRIDL) Phenotype for Control of *Aedes albopictus*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(7): e1724. <http://www.plosntds.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pntd.0001724>

lxxix[xxix] Oxitec (2012) Oxitec Scientists Clip Wings of the Asian Tiger Mosquito. Press release, 18 July 2012. <http://www.sacbee.com/2012/07/18/4639317/oxitec-scientists-clip-wings-of.html>

lxxix[xxx] Diallo M et al. (2005) Potential Role of Sylvatic and Domestic African Mosquito Species in Dengue Emergence. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(2), 445-449.

lxxix[xxxi] Bonizzoni M, Dunn WA, Campbell L, Olson KE, Marinotti O, James AA (2012) Strain Variation in the Transcriptome of the Dengue Fever Vector, *Aedes aegypti*. *G3*, 2(1), 103-114. <http://www.g3journal.org/content/2/1/103.full>

lxxix[xxxii] Van Den Hurk AF et al. (2011) Vector Competence of Australian Mosquitoes for Yellow Fever Virus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(3), 446-451.

lxxix[xxxiii] Aitken TH, Downs WG, Shope RE (1977) *Aedes aegypti* strain fitness for yellow fever virus transmission. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26(5 Pt 1), 985-989.

lxxix[xxxiv] Tabachnick WJ et al. (1985) Oral Infection of *Aedes Aegypti* with Yellow Fever Virus: Geographic Variation and Genetic Considerations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34(6), 1219-1224.

lxxix[xxxv] de Oliveira RL et al. (2003) Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 69(1), 105-114.

lxxix[xxxvi] Lima RS Jr, Scarpassa VM (2009) Evidence of two lineages of the dengue vector *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon, based on mitochondrial DNA ND4 gene sequences. *Genetics and Molecular Biology*, 32(2), 414-422.

lxxix[xxxvii] Scarpassa VM, Cardoza TB, Cardoso RP (2008) Population Genetics and Phylogeography of *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) from Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78(6), 895-903.

lxxix[xxxviii] Martins AJ et al. (2009) Voltage-Gated Sodium Channel Polymorphism and Metabolic Resistance in Pyrethroid-Resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(1), 108-115.

lxxix[xxxix] Ocampo CB, Wesson DM (2004) Population Dynamics of *Aedes aegypti* from a Dengue Hyperendemic Urban Setting in Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71(4), 506-513.

lxxix[xl] WHO (undated) Yellow Fever. <http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/index.html>

lxxix[xli] WHO (2008) Yellow Fever in Brazil. 5 February 2008. http://www.who.int/csr/don/2008_02_07/en/index.html

lxxix[xlii] <http://www.oxitec.com/health/our-products/aedes-agypti-ox513a/>

lxxix[xliiii] Phuc HK, Andreasen MH, Burton RS, Vass C, Epton MJ et al. (2007) Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. *BMC Biology*, 5: 11. doi:10.1186/1741-7007-5-1. <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/5/11>

lxxix[xliv] Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 1034-1037.

lxxix[xlv] Genetic Modification Advisory Committee Malaysia (2010) Risk assessment report of the Genetic Modification Advisory Committee (GMAC) for an application to conduct a limited mark-release-recapture of *Aedes aegypti* (L.) wild type and OX513A strains. NRE(S)609-2/1/3. <http://bch.cbd.int/database/record-v4.shtml?documentid=101480>

lxxix[xlvi] Bargielowski I, Nimmo D et al. (2011) Comparison of life history characteristics of the genetically modified OX513A line and a wild type strain of *Aedes aegypti*. *PloS One*, 6(6): e20699.

lxxix[xlvii] Naznia WA, Selvia S, Lee HL, Sadiyah I, Azaharia H, Derric N, Vasan SS (2009) Susceptibility status of transgenic *Aedes aegypti* (L.) against insecticides. *Dengue Bulletin*, 33, 124-129.

lxxix[xlviii] Kuno G (2010) Early History of Laboratory Breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Focusing on the Origins and Use of Selected Strains. *Journal of Medical Entomology*, 47(6), 957-971.

lxxix[xlix] Yellow Fever and the Reed Commission 1898-1901. University of Virginia Claude Moore Health Sciences Library. Historical Collection. http://www.hsl.virginia.edu/historical/medical_history/yellow_fever/index.cfm

lxxix[l] Benedict MQ, Robinson AS (2003) The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. *Trends in Parasitology*, 19(8), 349-355.

lxxix[ii] Robinson AS, Franz G, Atkinson PW (2004) Insect transgenesis and its potential role in agriculture and human health. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(2), 113-120.

lxxix[iii] Adelman ZN et al. (2004) Formation and loss of large, unstable tandem arrays of the piggyBac transposable element in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Transgenic Research*, 13(5), 411-425.

lxxix[liii] Alphey L et al. (2002) Malaria control with genetically manipulated insect vectors. *Science*, 298(5591), 119-121.

lxxix[liv] Dafa'alla TH et al. (2006) Transposon-free insertions for insect genetic engineering. *Nature Biotechnology*, 24(7), 820-821.

lxxix[lv] Alphey N, Bonsall B, Alphey A (2011) Modeling resistance to genetic control of insects. *Journal of Theoretical Biology*, 270, 42-55.

lxxix[lvi] Hibino Y, Iwahashi O (1991) Appearance of wild females unreceptive to sterilized males on Okinawa Is. in the eradication program of the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). *Applied Entomology and Zoology*, 26(2), 265-270.

lxxix[lvii] Helinski MEH, Valerio L, Facchinelli L, Scott TW, Ramsey J, Harrington LC (2012) Evidence of Polyandry for *Aedes aegypti* in Semifield Enclosures. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, 635-641.

lxxix[lviii] IAEA (undated) Sterile Insect Technology – Research and Development. http://www.iaea.org/About/Policy/GC/GC50/GC50InfDocuments/English/gc50inf-3-att4_en.pdf

lxxix[lix] Preguntas frecuentes 8: ¿Podemos seguir utilizando el insecticida (Ridsect) durante el ensayo? Pueden si así lo desean. Sin embargo, nosotros preferimos que no se utilice un insecticida durante el ensayo ya que esto nos permitirá obtener estadísticas más precisas sobre la reducción de la población del mosquito *Aedes aegypti*

Institute for Medical Research. GM *Aedes aegypti* Research. On: <http://www.imr.gov.my/highlights-featured-articles/1119-gm-aedes-aegypti-research-v2>

lxxix[lx] Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 1034-1037.

lxxix[lxi] GeneWatch UK (2010) Oxitec's genetically-modified mosquitoes. December 2010. http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Oxitecbrief_fin.pdf

Abril 2013