

**Mosquitos Genéticamente
Modificados de Oxitec:
¿Un enfoque creíble para abordar
el problema del dengue?**



Marzo 2015

La compañía británica Oxitec ha realizado experimentos en los cuales ha liberado mosquitos genéticamente modificados (GM) en las Islas Caimán, Malasia, Brasil y Panamá. Los experimentos de Oxitec de liberación de mosquitos GM en las Islas Caimán y Malasia han cesado, pero en Brasil han continuado desde el año 2011 y comenzaron en Panamá en el 2014. Actualmente se ha suspendido en ambos países cualquier experimento propuesto. Este documento resume las inquietudes acerca de las liberaciones realizadas hasta la fecha.

La técnica patentada de Oxitec para modificar insectos genéticamente se conoce como RIDL (por sus siglas en inglés – Liberación de Insectos portadores de un sistema genético Dominante Letal). Todos los experimentos en el campo realizados por la compañía hasta la fecha involucran la cepa OX513A del mosquito *Aedes aegypti*, el cual está genéticamente modificado de modo que contiene un marcador rojo fluorescente y la característica RIDL de 'mortalidad condicional'. Los mosquitos están programados genéticamente para morir en su estado larval en ausencia del antibiótico tetraciclina, el cual funciona como un switch genético que permite su reproducción en laboratorio.

La intención es que los mosquitos macho GM de la cepa OX513A de Oxitec se crucen con hembras silvestres y produzcan crías que mueren en la fase larval. Se supone que la liberación de muchos millones o billones de machos GM, superando de lejos la población de mosquitos macho silvestres, deben reducir la población de mosquitos adultos con el pasar del tiempo, ya que muchas de las crías GM no sobreviven hasta edad adulta. Los mosquitos GM liberados en los experimentos son de la especie *Aedes aegypti*, la cual transmite la enfermedad tropical del dengue. Hasta la fecha no existe evidencia en ningún país de que la liberación de mosquitos GM pueda reducir la incidencia de dengue.

Las inquietudes entorno a la liberación de los mosquitos GM de Oxitec se detallan abajo.

Las alegaciones en cuanto a la supresión de la población de mosquitos silvestres se basan principalmente en resultados no publicados.

Oxitec no ha publicado los resultados de sus experimentos en Brasil en publicaciones científicas, a pesar de que está realizando estos experimentos desde el año 2011 y que frecuentemente han publicado sus alegaciones sobre el éxito de dichos experimentos en declaraciones de prensa. Los resultados obtenidos en las Islas Caimán sugieren que esta tecnología es muy ineficaz en la reducción de las cifras de la población de mosquitos silvestres, ya que se requiere la liberación de 2.8 billones de mosquitos macho GM adultos por semana para suprimir una población de silvestre de solamente 20,000 mosquitos (10,000 machos).¹ El monitoreo de las poblaciones en muchos casos ha sido insuficiente para establecer si los machos silvestres simplemente se están desplazando

hacia las áreas de control cercanas a las de liberación. En las Islas Caimán, se observó que la población de mosquitos aumentó en el área de control mientras que la población en el área de liberación disminuyó, y esto también se observó en la muy limitada información disponible del Brasil.^{2,3,4} En Malasia la única prueba que se realizó no examinó la supresión de población ya que la cantidad de mosquitos GM liberados fue demasiado pequeña.

No se ha monitoreado el impacto sobre la incidencia de dengue y las liberaciones de mosquitos podrían empeorar la enfermedad en áreas endémicas

No se han monitoreado los impactos de la liberación de mosquitos GM sobre la incidencia de dengue en ningún país, a pesar del consenso científico de que evaluar el impacto sobre la enfermedad es esencial para valorar la eficacia de las nuevas tecnologías.^{5,6} Tanto Oxitec como sus socios de investigación en Brasil han admitido que los experimentos allí (los más grandes que se realizaron) son inadecuados para evaluar el impacto sobre la enfermedad.^{7,8} En febrero de 2014, se declaró una emergencia por el dengue en Jacobina, Brasil, una de las áreas donde Oxitec realizó sus experimentos.⁹

Existen varios mecanismos a través de los cuales la liberación de mosquitos GM podría hacer que el impacto sobre el virus del dengue fuera peor, incluyendo:

- (i) En áreas de gran abundancia de mosquitos, en donde el dengue es endémico, reducir la frecuencia de mordidas puede aumentar la incidencia de una forma más seria frecuentemente fatal de la enfermedad, el dengue hemorrágico (DH), al reducir la inmunidad cruzada de los cuatro distintos serotipos del virus del dengue, o al aumentar la incidencia de dengue debido a los efectos relacionados con la edad (conocido como 'estabilidad endémica').^{10,11}
- (ii) Permitir el aumento o expansión del territorio ocupado por la especie rival *Aedes albopictus*, un vector importante para el dengue y la chikungunya en muchos países que podría ser más difícil de erradicar que el *Aedes aegypti*.^{12,13,14} Los expertos en Brasil han advertido que el dengue podría sufrir mutaciones de modo que el *Aedes albopictus* pudiera convertirse en un vector para el dengue más importante bajo esas circunstancias.¹⁵ El efecto potencialmente devastador de una sola mutación en el virus ya se ha observado con la chikungunya.¹⁶ *Aedes albopictus* ha sido responsable de epidemias concurrentes de dengue y chikungunya en algunos países y su presencia también puede alargar la temporada del dengue y posiblemente introducir nuevos virus.^{17,18,19,20,21,22}

Por otro lado, se espera que esté prontamente disponible una nueva vacuna que no proporciona total protección contra todos los serotipos del dengue pero que en pruebas clínicas ha demostrado su capacidad de reducir la incidencia de la enfermedad en su forma más severa (DH) en niños vacunados en un 81%. Esto está sujeto a ser confirmado mediante más investigaciones que actualmente se están realizando.²³ Malasia abandonó los experimentos con los mosquitos GM de Oxitec y pretende utilizar la vacuna.^{24,25,26,27} Según la Organización Mundial de la Salud, por lo menos cinco vacunas más se están desarrollando, algunas de las cuales podrían demostrar mayor protección. Existe una gran variedad de investigación adicional, incluyendo tratamientos.²⁸

Evaluaciones de riesgo pobres o inexistentes

Oxitec tiene un mal historial de antecedentes en cuanto a su cumplimiento con los requisitos regulatorios. En particular, bajo las leyes de la Unión Europea (UE) debería

proporcionar una evaluación de riesgos que estuviera disponible públicamente, la cual cumpla con las normas europeas antes de exportar huevos de mosquitos GM a otros países, sin embargo repetidamente no lo ha hecho.^{29,30,31} La empresa ha sido criticada por científicos independientes por la mala calidad de sus evaluaciones de riesgo en las Islas Caimán y en Malasia y por la falta de transparencia y consulta pública.³²

El Departamento del Reino Unido para el Ambiente, Alimentos y Asuntos Rurales (Defra) ha admitido que Oxitec violó la reglamentación Británica y de la UE que implementa el Protocolo de Cartagena sobre la Bioseguridad cuando no presentó una evaluación de riesgos a las autoridades panameñas antes de exportar los huevos de mosquitos GM a Panamá para ser liberados, pero Defra dice que no ejecutará dicha reglamentación porque Panamá no quería la evaluación de riesgos.³³ El Departamento ha recibido notificación de las autoridades de la UE acerca de la importancia de la reglamentación.³⁴ El Instituto Gorgas, el cual funge como socio de Oxitec para sus experimentos en Panamá, ha producido una evaluación de riesgos, pero está claramente marcado como “Uso confinado” y no cumple con los estándares de la UE ni los internacionales relacionados con la liberación de insectos GM.³⁵ Panamá no ha presentado ningún documento de evaluación de riesgos ante la Cámara de Aprobación del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad.

En Brasil, la evaluación de riesgos incluida en los documentos cuando se exportaron mosquitos GM para ser liberados en dicho país fue producida por el socio de Oxitec – la Universidad de Sao Paulo, no por el exportador mismo, y omite la mayoría de los temas relevantes necesarios previos a la exportación bajo las leyes de la UE.³⁶ Esto también constituye una violación de los requisitos legales del Reino Unido y la UE. Brasil presentó documentos de evaluación de riesgos ante la Cámara de Aprobación del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad recién en agosto de 2014, más de tres años después de iniciar los experimentos de liberación de insectos.³⁷ La evaluación de riesgos resumida está relacionada con la decisión del regulador de bioseguridad del Brasil CTNBio de aprobar liberaciones comerciales, a pesar de que las mismas aún no han sido aprobadas por la autoridad brasileña de supervisión de la salud, ANVISA. Se incluye una breve opinión disidente, la cual resalta la falta de consenso sobre algunos temas, y la Asociación Brasileña de Salud Pública, ABRASCO, también ha criticado el abordaje de Oxitec.³⁸ Se han suspendido los intentos de realizar liberaciones en Brasil sin la aprobación de ANVISA.³⁹

Es ampliamente reconocido que se requiere el consentimiento de un público plenamente informado para liberar mosquitos genéticamente modificados.^{40,41} Sin embargo, en ausencia de una evaluación de riesgo completa publicada, los participantes de los experimentos con mosquitos GM no pueden tener pleno conocimiento de los riesgos involucrados.

Liberación, sobrevivencia y dispersión de insectos GM, incluyendo hembras, que son las que muerden

Hay varios mecanismos a través de los cuales los mosquitos GM de Oxitec pueden sobrevivir y diseminarse, incluyendo el que se alimenten en áreas contaminadas con el antibiótico tetraciclina, el cual es ampliamente utilizado en medicina y en la agricultura. En el laboratorio 3% de las crías de los mosquitos GM de Oxitec sobreviven hasta la adultez, aún en ausencia del antídoto tetraciclina.⁴² Cuando los mosquitos GM fueron alimentados con alimento de gato que contiene pollo de cría industrial, el cual contiene el antibiótico tetraciclina, la tasa de sobrevivencia aumentó hasta 15-18%. Oxitec

originalmente escondió esta información⁴³, pero más adelante admitió la tasa de sobrevivencia de 18% para las larvas que comían alimento para gatos en un ensayo publicado.⁴⁴ Oxitec alega que esa tasa de sobrevivencia no sucederá en el campo porque las larvas GM solamente se crían en agua limpia. Sin embargo, varios estudios han encontrado que los mosquitos *Aedes aegypti* pueden reproducirse en tanques sépticos donde puede haber altos niveles de contaminación con antibióticos como la tetraciclina.^{45,46,47,48,49,50} Además, los mosquitos *Ae. Aegypti* también suelen vivir en áreas donde la comida rápida desechada muy probablemente contiene carnes contaminadas con tetraciclina.

También es inevitable que algunos mosquitos GM hembra (que muerden) serán liberados y otros sobrevivirán y se reproducirán. En las Islas Caimán, una clasificación mecánica condujo a la identificación de aproximadamente 5,000 mosquitos hembra por cada millón de machos (se realizó una separación adicional manualmente previo a la liberación de los insectos).⁵¹ En Brasil, Oxitec informó que la contaminación con hembras fue en promedio 0.02%, es decir que se liberaron unos 200 mosquitos GM hembra mordedores por cada millón de machos.⁵² El porcentaje de insectos GM sobrevivientes, incluyendo hembras mordedoras, también aumentaría si la resistencia al mecanismo genético para matarlos evolucionara con el pasar del tiempo: por ejemplo mutaciones genéticas en los insectos que permitieran que los insectos GM pudieran sobrevivir y reproducirse exitosamente pudieran ser rápidamente seleccionadas durante producciones masivas.^{53,54}

Potenciales efectos tóxicos o alérgicos, que puedan impactar humanos, animales o la naturaleza

Además del riesgo de ser mordido por mosquitos GM hembra, los periodistas han reportado que en Brasil “... es imposible hablar durante las sesiones de liberación sin tragar algunos por error...” debido al gran número de mosquitos GM liberados para intentar inundar la población silvestre.⁵⁵ Las evaluaciones de riesgos en Panamá y en Brasil han incluido alegaciones de que las proteínas producidas por los mosquitos GM no causan reacciones tóxicas ni alérgicas cuando son ingeridos y que no se expresan en la saliva de los mosquitos, por lo que no pueden ser transmitidos por mordidas de mosquitos GM hembra que son liberadas por error o que sobreviven hasta la adultez. Sin embargo, hay poca información pública que sustente estas alegaciones y Oxitec no ha proporcionado datos que demuestren que la proteína tTA expresada por sus mosquitos GM no podría ser dañina para humanos o animales. Se han observado muestras de toxicidad⁵⁶ y neurotoxicidad⁵⁷ en ratones que expresan la proteína tTA, sin embargo estos estudios no están citados en las evaluaciones de riesgo. En España, Oxitec ha retractado su solicitud de liberar moscas del olivo GM mientras realiza más pruebas requeridas por los reguladores, incluyendo pruebas de toxicidad en otras especies que podrían comerse a estos insectos.⁵⁸

La diseminación de una resistencia antibiótica en el ambiente

El uso de tetraciclina para reproducir los mosquitos GM en el laboratorio o en fábricas para una producción a gran escala conlleva el riesgo de diseminar una resistencia al antibiótico, lo cual podría representar un riesgo significativo para la salud humana y animal.⁵⁹ Los intestinos de los insectos son reservorios para los genes de resistencia a los antibióticos con un gran potencial de diseminación.^{60,61} La producción de insectos en fábricas expuestas a antibióticos podría llevar a la resistencia a drogas en su microbiota de modo que los insectos mismos diseminen la resistencia a antibióticos cuando son liberados al entorno.^{62,63} Por ejemplo, tragar o recibir una mordida de un mosquito GM podría transferir resistencia antibiótica de las bacterias en los intestinos del insecto y sus

glándulas salivales a las bacterias en los intestinos o la sangre de humanos y animales, que causan enfermedades. Si estas bacterias también se hicieran resistentes a la tetraciclina como producto de esta transferencia, algunas enfermedades en humanos y animales podrían ser difíciles de tratar. Este tema no ha sido considerado en las evaluaciones de riesgo ni en Panamá ni en Brasil.

El uso de cepas no-nativas

Los mosquitos GM de Oxitec han sido desarrollados a partir de una cepa no nativa. En las Islas Caimán la inserción de OX513A en el *Aedes aegypti* (originalmente creado a partir de una cepa Rockefeller⁶⁴) fue realizada por introgresión en un historial genético derivado de México mediante cinco generaciones de retrocruzamientos;⁶⁵ parece ser que esta misma cepa fue utilizada en Brasil y probablemente también en Panamá. Oxitec no ha publicado ninguna información sobre los orígenes de la cepa mexicana y no parece haber realizado pruebas en la cepa retrocruzada en cuanto a sus propiedades de resistencia a insecticidas o de transmisión de enfermedades. Si la cepa genéticamente modificada es un vector para enfermedades más efectivo que la cepa establecida al momento de su introducción, eso podría representar un riesgo.

GeneWatch UK

60 Lightwood Road, Buxton, Derbyshire, SK17 7BB

Teléfono: 01298 24300

Email: mail@genewatch.org Sitio web: www.genewatch.org

Registrado en Inglaterra y Gales con el Número de Compañía 3556885

¹ Winskill P, Harris AF, Morgan SA, *et al.* (2014) Genetic control of *Aedes aegypti*: data-driven modelling to assess the effect of releasing different life stages and the potential for long-term suppression. *Parasites & Vectors* 7(1):68.

² 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.

³ PAT (2012) Transgenic Aedes Project Progress Report, Feb 2011-Mar 2012.

⁴ Dengue Fever: The Fastest Growing Mosquito Borne Disease. Oxitec. October 2013.

<http://www.oxitec.com/wpcms/wp-content/uploads/OXITEC-Dengue-booklet1.pdf>

⁵ James S, Simmons CP, James AA (2011) Mosquito Trials. *Science*, 334(6057), 771-772.

⁶ Wolbers, M., Kleinschmidt, I., Simmons, C. P., & Donnelly, C. A. (2012). Considerations in the Design of Clinical Trials to Test Novel Entomological Approaches to Dengue Control. *PLoS Negl Trop Dis*, 6(11), e1937.

⁷ Brazil to unleash GM-mosquito swarms to fight dengue. *New Scientist*. 23rd July 2014.

<http://www.newscientist.com/article/dn25936-brazil-to-unleash-gmmosquito-swarms-to-fight-dengue.html#.U-s4o2NeKSr>

⁸ Engineering Mosquitoes to Spread Health. *The Atlantic*. 13th September 2014.

<http://www.theatlantic.com/health/archive/2014/09/engineering-mosquitoes-to-stop-disease/379247/>

⁹ DECRETO No. 089 de 10 de fevereiro de 2014 <http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2014/05/Decreto-Jacobina2014.pdf>

¹⁰ 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.

¹¹ Thavara, U., Tawatsin, A., & Nagao, Y. (2014). Simulations to compare efficacies of tetravalent dengue vaccines and mosquito vector control. *Epidemiology & Infection*, 142(06), 1245–1258.

-
- ¹² Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, Lounibos LP (2007) Spread of the Tiger: Global Risk of Invasion by the Mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **7**(1):76–85.
- ¹³ Vega-Rúa, A., Zouache, K., Girod, R., Failloux, A.-B., & Lourenço-de-Oliveira, R. (2014). High Level of Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya Virus. *Journal of Virology*, **88**(11), 6294–6306.
- ¹⁴ Miller MJ, Loaiza JR (2015) Geographic Expansion of the Invasive Mosquito *Aedes albopictus* across Panama - Implications for Control of Dengue and Chikungunya Viruses. *PLoS Negl Trop Dis*, **9**(1), e0003383.
- ¹⁵ Technical Opinion on Examination Request presented at the 171st Plenary Meeting of the National Technical Commission on Biosafety (CTNBio), held on April 10th, 2014 Procedure: 01200.002919/2013-77 Applicant: Oxitec do Brasil Participações Ltd. <http://aspta.org.br/wp-content/uploads/2014/08/Critical-vote-GM-Mosquito-jul2014.pdf>
- ¹⁶ Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE, Higgs S (2007) A Single Mutation in Chikungunya Virus Affects Vector Specificity and Epidemic Potential. *PLoS Pathog*, **3**(12), e201.
- ¹⁷ 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.
- ¹⁸ 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.
- ¹⁹ Rezza G (2012) *Aedes albopictus* and the reemergence of Dengue. *BMC Public Health*, **12**(1), 72.
- ²⁰ Duncombe J, Espino F, Marollano K, et al. (2013) Characterising the spatial dynamics of sympatric *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* populations in the Philippines. *Geospat Health*. **8**(1):255–265.
- ²¹ Sirisena PDNN, Noordeen F (2014) Evolution of dengue in Sri Lanka-changes in the virus, vector, and climate. *Int J Infect Dis*. **19**:6–12.
- ²² Grard G, Caron M, Mombo IM, et al. (2014) Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis*. **8**(2):e2681.
- ²³ World Health Organisation (WHO) Questions and Answers on Dengue Vaccines: Phase III study of CYD-TDV. July 2014. http://www.who.int/immunization/research/development/WHO_dengue_vaccine_QA_July2014.pdf?ua=1
- ²⁴ Malacca won't release GMO mosquitoes. The Rakyat Post. 14th July 2014. <http://www.therakyatpost.com/news/2014/07/14/malacca-wont-release-gmo-mosquitoes/>
- ²⁵ World's first dengue vaccine may be ready by mid-2015. The Rakyat Post. 4th December 2014. <http://www.therakyatpost.com/news/2014/12/04/worlds-first-dengue-vaccine-may-ready-mid-2015/>
- ²⁶ GM mosquito project shelved. The Star. 6th March 2015. <http://www.thestar.com.my/News/Nation/2015/03/06/GM-mosquito-project-shelved-Plan-not-cost-effective-for-implementation-says-Health-DG/>
- ²⁷ French-made dengue vaccine available by mid-2015. The Star. 12th February 2015. <http://www.thestar.com.my/News/Nation/2015/02/12/French-Hilmi-Dengue-Vaccine/>
- ²⁸ Potential new active substances for treating dengue virus. Medical News. 11th December 2014. <http://www.news-medical.net/news/20141211/Potential-new-active-substances-for-treating-dengue-virus.aspx>
- ²⁹ Wallace HM (2013) Genetically Modified Mosquitoes: Ongoing Concerns. Third World Network. TWN Biotechnology & Biosafety Series 15. <http://twinside.org.sg/title2/biosafety/bio15.htm>
- ³⁰ Lack of risk assessment for GM mosquito experiments is negligent, says GeneWatch. GeneWatch UK Press Release. 12th February 2014. [http://www.genewatch.org/article.shtml?als\[ciid\]=566989&als\[itemid\]=574224](http://www.genewatch.org/article.shtml?als[ciid]=566989&als[itemid]=574224)
- ³¹ Failures of the transboundary notification process for living genetically modified insects. GeneWatch UK Briefing. August 2014. http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/CPB_insects_sub_Aug14_v2.pdf
- ³² Reeves RG et al. (2012) Scientific Standards and the Regulation of Genetically Modified Insects. Lehane MJ, ed. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **6**(1), p.e1502.

-
- ³³ Letter from Lord de Mauley, Parliamentary Under Secretary of State for Natural Environment and Science, to GeneWatch UK. Defra Ref PO355857/FA. 2nd October 2014.
- ³⁴ Letter from Director DG SANCO to GeneWatch UK. 13th March 2015.
- ³⁵ GeneWatch UK comments on Environmental Risk Assessment (ERA) of GM mosquitoes in Panama. February 2014.
http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/GWcommentsERA_Feb_14.pdf
- ³⁶ Failures of the transboundary notification process for living genetically modified insects. GeneWatch UK Briefing. August 2014.
http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/CPB_insects_sub_Aug14_v2.pdf
- ³⁷ Commercial Release of strain OX513A of *Aedes aegypti* - Technical Report 3964/2014- Process 01200.002919/2013-77. <https://bch.cbd.int/database/record.shtml?documentid=105833>
- ³⁸ Nota Técnica da Abrasco frente à liberação comercial de mosquitos transgênicos pela CTNBio. ABRASCO. 19th September 2014. <http://www.abrasco.org.br/site/2014/09/nota-tecnica-da-abrasco-frente-a-liberacao-comercial-de-mosquitos-transgenicos-pela-ctnbio/>
- ³⁹ Brazilian state wants to stop release of GM mosquitoes. Turkish Weekly. 18th March 2015.
<http://www.turkishweekly.net/news/181938/brazilian-state-wants-to-stop-release-of-gm-mosquitoes.html>
- ⁴⁰ Macer, D. Ethical, legal and social issues of genetically modified disease vectors in public health. TDR (2003). http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/seb_topic1/en/index.html
- ⁴¹ Macer D (2005) Ethical, legal and social issues of genetically modifying insect vectors for public health. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **35**, 649-660.
- ⁴² 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. <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/5/11>
- ⁴³ GeneWatch, Friends of the Earth, Third World Network PR: Company conceals evidence that genetically modified mosquitoes may have high survival rate in wild (12th January 2012)
[http://www.genewatch.org/article.shtml?als\[ciid\]=492860&als\[itemid\]=569476](http://www.genewatch.org/article.shtml?als[ciid]=492860&als[itemid]=569476)
- ⁴⁴ Massonnet-Bruneel B, Corre-Catelin N, Lacroix R, et al. (2013) Fitness of Transgenic Mosquito *Aedes aegypti* Males Carrying a Dominant Lethal Genetic System. *PLoS ONE*. **8**(5):e62711.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3653897/>
- ⁴⁵ 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.
- ⁴⁶ 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.
- ⁴⁷ 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.
- ⁴⁸ 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.
- ⁴⁹ 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.
- ⁵⁰ 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.
- ⁵¹ Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, **29**(11), 1034-1037.
- ⁵² Carvalho DO, Nimmo D, Naish N, et al. (2014) Mass Production of Genetically Modified *Aedes aegypti* for Field Releases in Brazil. *Journal of Visualized Experiments*. (83). doi:10.3791/3579.
<http://www.jove.com/video/3579/mass-production-genetically-modified-aedes-aegypti-for-field-releases>

-
- ⁵³ 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.
- ⁵⁴ Alphey N, Bonsall B, Alphey A (2011) Modeling resistance to genetic control of insects. *Journal of Theoretical Biology*, 270, 42-55.
- ⁵⁵ Dengue, where is thy sting? LA Times. 1st November 2012.
<http://articles.latimes.com/2012/nov/01/world/la-fg-brazil-mutant-mosquitoes-20121102>
- ⁵⁶ Whitsett JA, Perl A-KT. Conditional Control of Gene Expression in the Respiratory Epithelium: A Cautionary Note. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 34(5):519–520.
<http://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1165/rcmb.F310>
- ⁵⁷ Han HJ, Allen CC, Buchovecky CM, et al. (2012) Strain background influences neurotoxicity and behavioral abnormalities in mice expressing the tetracycline transactivator. *J Neurosci*. 32(31):10574–10586. doi:10.1523/JNEUROSCI.0893-12.2012.
- ⁵⁸ La liberación de moscas transgénicas en España tendrá que esperar. ABC. 12th December 2013. <http://www.abc.es/ciencia/20131212/abci-liberacion-moscas-transgenicas-espana-201312121050.html>
- ⁵⁹ Genetically Modified Insect Factories: A New Source of Superbugs? GeneWatch UK Report. 4th February 2015.
http://www.genewatch.org/uploads/f03c6d66a9b354535738483c1c3d49e4/Antibiotic_GWbrief_fin.pdf
- ⁶⁰ Zurek, L. and A. Ghosh (2014) Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits. *Appl Environ Microbiol*. 80(12): 3562-7.
- ⁶¹ Allen, H.K., et al. (2009) Resident microbiota of the gypsy moth midgut harbors antibiotic resistance determinants. *DNA Cell Biol*. 28(3): p. 109-17.
- ⁶² Tian, B., et al. (2012) Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. *mBio*, 3(6) :e00377-12.
- ⁶³ Levy, S.B. and B.M. Marshall (2013) Honeybees and tetracycline resistance. *mBio*, 4(1): e00045-13.
- ⁶⁴ 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>
- ⁶⁵ Harris AF et al. (2011) Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat. Biotech.*, 29(11), 1034-1037.