

Použití přírodních a syntetických repelentů v textiliích k ochraně před klíšťatou *Ixodes ricinus*

Repellency evaluation of natural essential oils and the synthetic repellent DEET used as a fabric treatment against the tick Ixodes ricinus

Terezie Bubová, Kateřina Imrichová, Zdeňka Galková, Martina Janíčková, Martin Kulma, František Rettich

Souhrn • Summary

V laboratorních podmínkách byly na klíšťatech (*Ixodes ricinus*) testovány některé přírodní rostlinné repelenty – esenciální oleje z eukalyptu (*Eucalyptus sp.*), levandule (*Lavandula officinalis*), pomerančovníku (*Citrus sinensis*), indického šeříku (*Melia azedarach*) ve srovnání se syntetickým repelentem DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamid). Látky byly aplikovány topikálně nebo využité při úpravě textilií impregnací či sprejovým postříkáním. Zatímco při horizontálně situovaném kruhovém testu na kartonu se počáteční účinnost DEETu a přírodních repelentů lišila maximálně pouze o 10 %, testy s vertikálně zavěšenými textiliemi (metoda Fall off) ošetřenými repelenty ukázaly jednoznačně vyšší účinnost syntetického repelentu. Vzhledem k nutnosti prodloužení funkčnosti textilií impregnovaných přírodními látkami např. mikroenkapsulací je další výzkum účinnosti přírodních repelentů proti klíšťatům nezbytný.

Four commercially available essential oils (Eucalyptus sp., Lavandula officinalis, Citrus sinensis, and Melia azedarach) were tested for repellency against the tick Ixodes ricinus in comparison with the synthetic repellent DEET (N,N-diethyl-meta-toluamide). The test substances were applied either topically or used directly in the process of fabric treatment (by spraying or impregnation). The horizontal circular test on the carton showed an initial difference in the repellency of not more than 10 % between the natural repellents and DEET; however, the fall off tests with vertical treated fabrics showed the synthetic repellent to be significantly superior to the four essential oils.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2016; 25(1): 24–26.

Klíčová slova: Přírodní repelenty, syntetický repelent DEET, multifunkční textilie, klíště obecné (*Ixodes ricinus*)

Keywords: Natural repellents, synthetic repellent DEET, multifunctional textiles, castor bean tick (*Ixodes ricinus*)

ÚVOD

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je v současnosti u nás nejnebezpečnější přenašeč (vektor) závažných zoonóz klíšťové encefalitidy (KE) a lymeské borreliózy (LB) a dalších onemocnění.

Přestože v současné době díky vyšší proočkovanosti proti KE nemocnost mírně klesá, i tak ročně onemocní touto závažnou chorobou několik stovek lidí, kteří se nakazili při pobytu v přírodě. Proti LB, druhé nejvýznamnější nemoci přenášené klíšťatou (přenos choroby jiným krevsajícím hmyzem není možný) účinné očkování dosud není k dispozici. Ročně LB onemocní několik tisícovek lidí. V celoevropském měřítku se odhaduje 85 tisíc případů LB, 16–20 tisíc případů v USA [1], celosvětově pak až 255 tisíc případů onemocnění ročně [2, 3]. LB lze léčit dobře antibiotiky, nemoc v některých případech zanechá vážné zdravotní následky.

Velkoplošné hubení klíšťat je málo účinné, nákladné a ekologicky nevhodné, z tohoto důvodu se prakticky neprovádí. Jedinou účinnou ochranou před napadením klíš-

ťaty při pobytu v přírodě je tak užití repelentů, tj. látek odpuzujících krevsající členovce (klíšťata a bodavý hmyz).

V minulých dobách se lidé chránili před dotěrným hmyzem kouřem z doutnajících ohňů nebo se potírali různými aromatickými rostlinami např. pelyňkem, vratičem, listy ořešáku a dalšími [4]. Nejznámější syntetický repelent je DEET (N,N-diethyltoluamid). Ten je používán na celém světě od padesátých let minulého století [5] a je považován za zlatý standard repelentů [6]. Později se objevily i další účinné syntetické repelenty např. IR3535 či Icaridin [7, 8]. Některé syntetické repelenty při nevhodném používání mohou negativně působit na lidské zdraví a životní prostředí. Je tedy zapotřebí věnovat pozornost testování bezpečnějších a efektivních variant [9]. Jako potenciální náhrada za syntetické repelenty jsou považovány některé přírodní esenciální oleje rostlinného původu [10]. Esenciální oleje jsou velmi těžké a tak délka jejich repelentního účinku je velmi krátká. Pro účely přípravy textilií s ochrannými vlastnostmi určené k ochraně před klíšťatou je třeba pro zásadní prodloužení účinnosti repelentu použít vhodné nosiče těchto aktivních látek (např. cyklodextrin) resp. využít metody mikroenkapsulace. Nevýhodou syntetických repelentů a zvláště pak repelentů přírodních aplikovaných přímo na kůži je rovněž jejich relativně krátká doba účinnosti. U DEETu v běžných uživatelských dávkách 0,2–0,3 mg (aktivní látka)/cm² je doba účinnosti u našich druhů komárů několik málo hodin [11], ve výjimečných podmínkách (např. v maximu komáří aktivity nebo při kalamitním výskytu) je ještě

po mnohem kratší např. 15 min [12]. U klíšťat se doporučuje aplikaci repelentu opakovat po dvou hodinách.

Dlouhodobou osobní ochranu poskytují ochranné oděvy impregnované buď repelenty nebo repelenty s přísadou insekticidů (např. permetrinu nebo deltametrinu) nebo přímo přípravkem určeným k impregnaci oděvů provedené svépomocně spotřebitelem nebo také oděvy vyrobené průmyslově z multifunkčních textilií s ochrannými vlastnostmi vůči klíšťatům. U textilií impregnovaných např. permetrinem je délka účinku velmi dlouhá (několik týdnů) a při průmyslové úpravě takto upravené textilie vydrží funkční mnoho cyklů praní [13]. Terénní testy průmyslově vyráběných vojenských oděvů, ošetřených permetrinem prokázaly až 95, 7% účinnost proti klíšťatům [14].

MATERIÁL A METODIKA

Klíšťata

Pro testování byly použity samice a samci klíšťat *Ixodes ricinus* z laboratorních chovů (České Budějovice, Berlín) a z volné přírody odchytávaných vlnkováním na lokalitě Petrovice u Humpolce. V laboratoři byla klíšťata skladována v exsikátoru o standardní teplotě a vlhkosti.

Materiál

- esenciální oleje: eukalyptus, levandule, pomeranč, indický šerík a syntetický repelent DEET
- textilie (100% bavlněná tkanina) impregnované ředěným levandulovým olejem a textilie impregnované ředěným levandulovým olejem, kde jako nosič byl použit cyklický oligosacharid - cyklodextrin,
- textilie impregnované ředěným eukalyptovým olejem a textilie impregnované ředěným eukalyptovým olejem s cyklodextrinem
- textilie impregnované ponořením do roztoku nebo nastříkané 10-50% roztokem DEETu, s cyklodextrinem nebo bez něj.

Všechny ošetřené textilie byly připraveny firmou Inotex. Textilie byly před testem skladovány v plastických sáčcích.

Metody

Kruhový test na kartónu

Test je založen na volném pohybu klíšťat na neošetřené ploše ohraničené plochou ošetřenou repelentní látkou. V přírodě jsou klíšťata motivována ke kontaktu s hostitelem a udržení se na něm. U kruhového testu je motivace pro vstup klíšťat na ošetřenou plochu poměrně malá a překonání rozhraní repelentem ošetřené a čisté plochy tak vypovídá o účinnosti testovaného repelentu [15]. V případě dostatečné repelentní účinnosti sledované látky klíšťata nepřekrojnají hranici tvořenou čistou plochou a plochou ošetřenou.

Na tvrdou podložku (papírový kartón) o velikosti A4 byly narysovány soustředné kružnice o průměrech 15 cm a 19 cm. Do mezikružší byl následně pipetou aplikován 1 ml testovaného repelentu. Zkoumané repelenty byly ředěny diethyletherem v poměru 1:9. Po 5 minutách po nanesení přípravku bylo doprostřed neošetřeného kruhu vloženo 5 samic klíšťat. Byl sledován čas, za který klíšťata překrojnají hranici ošetřeného prostoru. Klíšťata byla v kruhu po-

nechána maximálně po dobu deseti minut. Před každým pokusem byla nejprve provedena kontrola v s pokusnými klíšťaty v identickém prostoru, který byl ovšem ošetřen pouze diethyletherem. Tento postup byl opakován vždy čtyřikrát. Celkově bylo pro každý esenciální olej a repelent DEET testováno 20 různých klíšťat z laboratorních chovů (Berlín). Pomocí této metody stejným postupem byly otestovány esenciální oleje (eukalyptus, levandule, pomerančovník a indický šerík) a repelent DEET.

Vertikální test (metoda Fall Off)

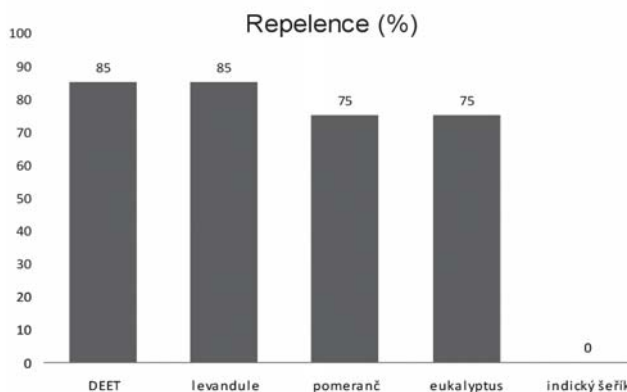
V případě tohoto testu je využito negativní geotropie klíšťat, tzn. při zachycení se na hostiteli lezou klíšťata přirozeně směrem nahoru, kde vyhledávají nejvhodnější místo k přísátí [16, 17]. Jestliže je repelent účinný, klíšťata z vertikální plochy brzy odpadnou (fall off). Tímto testem byla ověřována účinnost repelentem ošetřených textilií. Pruh testované textilie o velikosti 30x40 cm byl zavěšen na stojan. V tomto testu byla použita pouze klíšťata, která se bezprostředně před pokusem udržela na kontrolní (neošetřené) textilii déle než 5 minut. Poté byla klíšťata přiložena na spodní část ošetřené textilie a sledován byl pak čas, po který se na textilii udržela, než odpadla. Pokud se klíšťata udržela 5 minut, byl test ukončen s negativním výsledkem. U některých testů byla použita klíšťata z volné přírody či z laboratorních chovů (České Budějovice). U těchto testů byli použiti i samci.

Výsledky

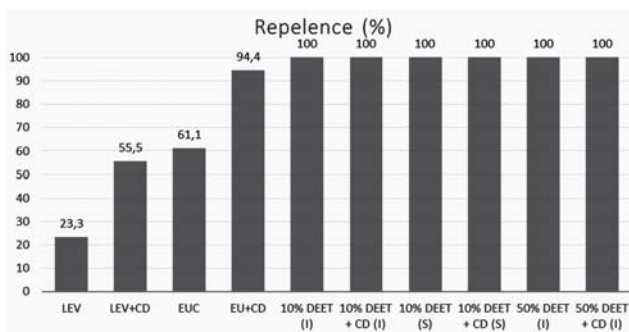
Kruhový test na kartónu prokázal dobré iniciální (15 minut po aplikaci) repelentní účinky všech testovaných přípravků s výjimkou indického šeríku. Nejvyšší účinnost 85 % byla zjištěna u levandulového oleje a u přípravku DEET. Repelence pomerančového a eukalyptového esenciálního oleje byla 75 %. Jediným produktem, který neprokáhal žádné repelentní účinky byl esenciální olej z indického šeríku. Podrobnější výsledky tohoto testu jsou uvedeny v Grafu 1.

Vertikální test prokázal repelentní účinky u všech testovaných přípravků (viz graf č. 2). Textilie ošetřené syntetickými preparáty DEET repelovaly všechna (100 %) klíšťata, zatímco textilie repelované esenciálními oleji z přírodních materiálů dosáhly repelence pouze 23,3 % (levandule) a 61,1 % (eukalyptus). Účinnost těchto přírodních látek byl navýšen přidáním cyklodextrinu na 55,5 resp. na 94,4 %.

Graf 1: VÝSLEDKY KRUHOVÉHO TESTU NA KARTONU



Graf 2: VÝSLEDKY VERTIKÁLNÍHO „FALL OFF“ TESTU



LEV = levandule, CD = cyklodextrin, EU = eukalyptus, I = impregnace, S = sprej

DISKUZE A ZÁVĚRY

Studiem repelentních účinků přírodních esenciálních olejů a syntetického repelentu DEET [18, 9] se již zabývaly práce některých autorů. Kromě eukalyptu [19], levandule [20] a pomerančovníku se jednalo mimo jiné také o geranium, oregano, hřebíček, vetiver, santal, cedr, tymián, zázvor nebo pepř [9]. Většina z výše uvedených autorů se shoduje ve zjištění, že mnoho testovaných přírodních preparátů má sice určité repelentní účinky, nicméně nedosahuje účinnosti DEETu.

V naší práci byl výrazný rozdíl mezi DEETem a přírodními esenciálními oleji zřetelný při vertikálním testu. Přestože repelence textilií s DEET byly ve všech užitých koncentracích 100 %, rozdíl v chování klíšťat byl však mezi nimi vizuálně patrný. Zatímco na textiliích ošetřených 10 % DEETem klíšťata držela průměrně 6,8 sekund, na textiliích ošetřených stejným přípravkem o koncentraci 50 % se udržela pouze 1,2 sekundy. Z testů byl také patrný pozitivní vliv cyklodextrinu a sprejové aplikace na repelenci textilií.

V testu kruhovém byl mezi účinnými přírodními a DEETem rozdíl maximálně 10 %. Tato skutečnost byla pravděpodobně způsobena krátkou dobou pokusu 10 minut, kdy ještě nedošlo k odpaření aktivních látek. Otestování dlouhodobějšího účinku esenciálních olejů bude součástí pokračujícího výzkumu na toto téma.

Tato práce byla podporována z projektu Eureka E 80083 TickoTex „Multifunkční textilie s ochrannými vlastnostmi vůči klíšťatům“.

LITERATURA

- [1] Lindgren E, Jaenson TGT. Lyme borreliosis in Europe: Influences of Climate Change. *Epidemiology, Ecology and Adaptation Measures (WHO)*. 2006. Report No. EUR/04/5046250. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe.
- [2] Campbell GL, Fritz CL, Fish D, et al. Estimation of the incidence of Lyme disease. *American Journal of Epidemiology*. 1998; 148(10): 1018-1026.
- [3] Steere AC, Coburn J, Glickstein L. Lyme borreliosis. In: Coodman JL, Dennis DT, Sonenshine DE (Eds), *Tick-borne Diseases of Humans*. ASM, Press, Washington, DC. 2005; 176-206.
- [4] Rosický M, Daniel M. *Lékařská entomologie a životní prostředí*. 1989. Academia. 437.
- [5] Gilbert IH, Gouck H K, Smith C N. New mosquito repellents. *J. of Econom. Entomology*. 1955; 48: 741-743.

- [6] Misni N, Sulaiman S, Othman H, et al. Repellency of essential oil of *Piper Aduncum* againsts *Aedes Albopictus* in the laboratory. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 2009; 25(4): 442-447.
- [7] Cisak E, Wójcik-Fatla A, Zajac V, et al. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2012; 19(4): 625-630.
- [8] Büchel K, Bendin J, Gharbi A, et al. Repellent efficacy of DEET, Icaridin, and EBAAP against *Ixodes ricinus* and *Ixodes scapularis* nymphs (Acari, Ixodidae). *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2015; 6(4): 494-498.
- [9] Meng H, Li AY, Junior LMC., et al. Evaluation of DEET and eight essential oils for repellency against nymphs of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*. 2016; 68(2): 241-249.
- [10] Curtis C, Lines J, Lu B, et al. Natural and synthetic repellents. In: Curtis CF, (Ed), *Appropriate Technology in Vector Control*. 1989. CRC Press, Florida. Chapter 4.
- [11] Rettich F. Laboratory and field evaluation of two new mosquito repellents. *Proceedings of the 13th European SOVE Meeting*. 2000; 121-125.
- [12] Rettich F. New repellents and insecticidal evaporators for personal protection against biting dipterans. *Folia Fac Sci Nat. Univ. Masarykianae Brunensis, Biologia*. 1997. 141-144.
- [13] Bernier M. U., Perry, K., Johnson U. L. Factors That Affect the Mosquito Repellency of Permethrin-Treated U. S. Military Uniforms. E – SOVE 2014 the 19th conference, Abstract Book 2014; p. 100.
- [14] Faulde M, Scharninghausen J, Tisch M. Preventive effect of permethrin-impregnated clothing to *Ixodes ricinus* ticks and associated *Borrelia burgdorferi* s. l. in Germany. *International Journal of Medical Microbiology*. 2008; 298(S1): 321-324.
- [15] Dautel H. Test systems for tick repellents. *International Journal of Medical Microbiology Supplements*. 2004; 293(37): 182-188.
- [16] Sonenshine DE. *Biology of ticks*. vol. II. Oxford University Press, New York. 1993; p.488.
- [17] Schreck CE, Fish D, McGovern TP. Activity of repellents applied to skin for protection against *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis* ticks (Acari, Ixodidae). *Journal of American Mosquito Control Association*. 1995; 11(1): 136-140.
- [18] Debboun M, Strickman DA, Klun JA. Repellents and the military: our first line of defense. 2005. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 2005; 21(4): 4-6.
- [19] Trigg JK. Evaluation of a eucalyptus-based repellent against *Anopheles* spp. in Tanzania. *Journal of the American Mosquito Control Association-Mosquito News*. 1996; 12(2): 243-246.
- [20] Jaenson TGT, Garbou S, Pålsson K. Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent MyggA natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *Journal of Medical Entomology*. 2006; 43(4): 731-736.

Ing. Terezie Bubová
Kateřina Imrichová
Mgr. Zdeňka Galková
Ing. Martin Kulma
RNDr. František Rettich, CSc.
Odd. NRL/DDD, CEM SZÚ

Ing. Martina Janičková
Inotex, Dvůr Králové nad Labem