

Repelentní účinek levandulového, eukalyptového a pomerančového esenciálního oleje proti klíštěti obecnému (*Ixodes ricinus*)

Repellency of lavender, eucalyptus, and orange essential oils against the common tick (Ixodes ricinus)

Martin Kulma, František Rettich, Terezie Bubová, Oldřich Kopecký

Souhrn • Summary

V této studii jsme zhodnotili a porovnali repelentní účinek tří esenciálních olejů, které jsou často považovány za šetrnou a ekologickou alternativu k syntetickým repelentům. Jejich účinnost na klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je ale negativně ovlivněna vysokou těkavostí. Účinnost jsme porovnali se syntetickým repelentem DEET (N,N-diethyl-m-toluamid). Repelentní účinek byl zjištěn u všech testovaných látek, ale v průběhu pokusu se účinek ukázal jako časově nestabilní. 5 minut po aplikaci se repelentní efekt pohyboval v rozmezí 65–85 %, po 80 minutách, kdy byl pokus ukončen, byla repelence levandulového oleje 45 % a eukalyptového oleje 15 %. Pomerančový esenciální olej byl proti klíšťatům neúčinný již po 20 minutách od aplikace. Naopak účinek syntetického DEETu byl po celou dobu studie vysoký (95–100 %). V případě levandulového esenciálního oleje se ukázalo, že může být považován za vhodný repelent pro pobyt v terénu trvající kratší dobu.

This study evaluated the repellent effect of three essential oils against females of Ixodes ricinus, which is considered the main arthropod disease vector in Europe. The essential oils could be regarded to be ecological and healthy alternatives to synthetic repellents, whose effect is unfortunately negatively influenced by high volatility. As a comparison sample, 10% DEET was used. The tested essential oils exhibited a moderate to high initial repellency of 65%–85% five minutes after application. The bioassay was terminated after 80 min, when the repellent effects of lavender and eucalyptus oils were 45% and 15%, respectively. No effect of orange oil was observed after a 20-min mark. Conversely, the effect of DEET was determined to be high and stable (95–100%) throughout the experiment. This study found that the oils tested are not as effective as DEET. On the other hand, lavender oil has shown an interesting potential as an alternative repellent for outdoor activities of shorter duration.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2017; 26(9): 330–333.

Klíčová slova: klíště obecné, alternativní repelenty, DEET, vektor

Keywords: sheep tick, alternative repellents, DEET, vector.

ÚVOD

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je dlouhodobě považováno za jednoho z nejnebezpečnějších členovců pro lidské zdraví [1, 2]. V rámci Evropy je klíště zodpovědné za více než 60 000 případů lymeské boreliózy [3] a až 12 000 onemocnění klíšťovou encefalitidou (KE) [4]. Dále se také potvrdilo, že klíště obecné je schopno přenášet i vzácnější onemocnění jako babeziózu, bartonelózu či anaplazmózu [5, 6]. S výjimkou KE proti těmto nemocem neexistuje možnost očkování, proto jsou repelentní přípravky v tomto případě v podstatě jedinou možnou prevencí [7].

Repelenty jsou obecně definovány jako látky, které donutí cílový organismus – klíšťata, komáry aj., – nedosednout na ošetřenou kůži (textilii) nebo takto ošetřenou plochu opustit [8]. Zatímco do první poloviny 20. století byly využívány hlavně látky přírodní, po druhé světové válce byly, díky intenzivnímu výzkumu v USA, vyvinuty velice účinné syntetické repelenty. V současné době je za nejčastěji využívanou aktivní látku považován DEET (N,N-diethyl-m-toluamid), který v repelentních přípravcích o kon-

centraci 10–35 % využije ročně více než 200 milionů lidí [9]. Vysoký stupeň ochrany a dlouhodobý účinek jsou nesporné výhody této látky. Na druhou stranu existují určité pochybnosti o úplné zdravotní nezávadnosti repelentních přípravků obsahujících DEET. Mezi nejčastější zdravotní komplikace patří ty vyvolané nesprávnou aplikací, jako je např. intoxikace po pozření, vdechnutí či zásahu očí [10]. Nicméně v těchto souvislostech se hovoří také o vzniku nemocí centrální nervové soustavy [11], kardiovaskulárních a dermatologických potíží [12]. Dalším negativem využití repelentu DEET může být jeho nepříjemný zápach a lepkavá konzistence [13]. Ve vztahu k životnímu prostředí, kvůli dlouhému poločasu rozpadu je DEET jedním z kontaminantů, zejména vodního prostředí [14]. Vzhledem k těmto důvodům je stále aktuální potřeba hledat alternativy, které by se mohly přiblížit ideálu kombinujícímu účinnost, zdravotní nezávadnost a šetrnost repelentu.

Za potenciální alternativu k syntetickým repelentům jsou často považovány esenciální oleje, tedy aromatické a těkavé sekundární metabolity rostlin. V kontextu ochrany proti různým druhům obtížných členovců, včetně klíštěte obecného [1, 15, 16] byly již některé oleje takto testovány. Jejich účinek je dle dostupných zdrojů považován za dobrý, ale pouze krátkodobý. Navíc, přestože jsou obecně přírodní repelenty považovány za bezpečné z pohledu lidského zdraví, u některých olejů byla zjištěna zvýšená koncentrace alergenů a přítomnost mutagenů [15]. Vzhledem

k tomu, že některé lidské činnosti v přírodě s předpokládaným výskytem klíšťat nemusí být vždy dlouhodobého charakteru, a několikahodinová ochrana tak není nezbytná, zaměřili jsme se v tomto článku na krátkodobý účinek repelentů, které jsou navíc dle dostupných zdrojů bezpečné.

METODIKA

Pro testování byly použity samice klíštěte obecného (*I. ricinus*) zakoupené z SPF laboratorního chovu (Insect Services, Berlín). Do začátku analýz byly po dobu 7 dní uchovávány v polypropylenových epruvětách v exsikátoru při pokojové teplotě a vlhkosti 100 %. Esenciální oleje a jejich chromatografické profily pro účely této studie byly poskytnuty laboratoří firmy Hofigal v rámci spolupráce na projektu EUREKA. Pro možnost srovnání byla také stanovena účinnost syntetického přípravku DEET (Vertellus, UK). Všechny testované repelenty byly před testováním zředěny diethyletherem v poměru 1:9.

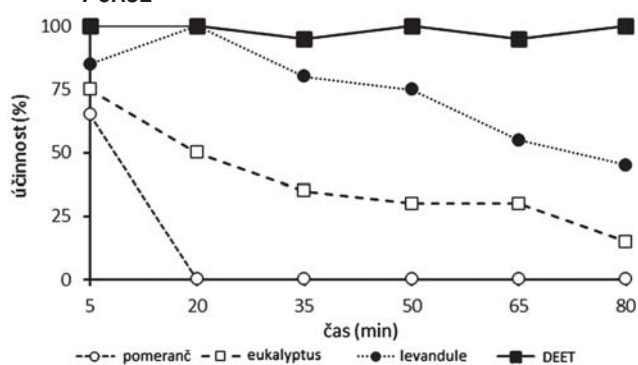
Test je založen na volném pohybu klíšťat na neošetřené ploše ohraničené plochou ošetřenou repelentní látkou. Stimulem pro zvýšení aktivity klíšťat a motivací pro překonání bariery je přítomnost a dech osoby provádějící pokus. Na tvrdou podložku (papírový kartón) o velikosti A4 byly narysovány soustředné kružnice o průměrech 15 cm a 19 cm. Do mezikruží byl následně pipetou aplikován 1 ml testovaného repelentu. Po 5, 20, 35, 50, 65 a 80 minutách od aplikace přípravku bylo doprostřed na neošetřenou plochu kruhu vypuštěno 5 samic klíšťat. Sledovali jsme čas, za který klíšťata překonají hranici ošetřeného prostoru. Pokud klíšťata nepřešla ošetřenou bariéru do 5 minut, byla považována za repelovaná. K vyloučení neaktivních klíšťat byla před každým testem provedena kontrola s pokusnými klíšťaty v identickém prostoru, kde mezikruží bylo ovšem ošetřeno pouze diethyletherem. Za aktivní byly považovány samice, které opustily kontrolní arénu do 1 minuty. Tento postup byl pro každý čas a repelent proveden ve 4 opakováních, kdy každé klíště bylo použito pouze jednou. Celkem tak bylo použito 120 samic klíšťat pro každý repelent.

Pro vyhodnocení účinnosti testovaných repelentů byla použita analýza GLM (zobecněný lineární model) s binomickou distribucí s čase a typem repelentu jako fixními faktory. GLM byla následována *post-hoc* Tukeyho testem. Všechny statistické analýzy byly provedeny za využití softwaru R.

VÝSLEDKY

Zjistili jsme, že účinnost repelentů se významně liší mezi všemi testovanými přípravky ($P < 0,001$ pro všechny testy). Co se týče esenciálních olejů, celkově se jako nejsilnější jeví repelentní efekt levandulového oleje, který během 80 minut odradil od cíle celkem 73,3 % klíšťat. Eukalyptový olej pak repeloval celkem 39,2 % klíšťat. Nejslabší účinek byl pak determinován v případě oleje z pomerančovníku a to pouze 10,8 % testovaných samic. Repelence všech esenciálních olejů klesala v čase (viz graf 1). Naopak účinek DEETu se ukázal být po celou dobu velice silný (během pokusu celkem repeloval 98,3 % klíšťat) a stabilní (viz graf 1).

Graf 1: REPELENTNÍ ÚČINNOST TESTOVANÝCH PŘÍPRAVKŮ V ČASE



DISKUZE A ZÁVĚR

Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že iniciální repelence testovaných esenciálních olejů je střední až vysoká 65–80 %, nicméně pro všechny oleje bylo potvrzeno významné snížení v čase až na 0–45 %. Také bylo potvrzeno, že se jedná o *pravé* repelenty ve smyslu toho, že cílové organismy odrazují, nikoli pouze překrývají pach těla hostitele, jak bylo zjištěno pro některé esenciální oleje [1]. Při chromatografickém rozboru testovaných esenciálních olejů byly detekovány substance, jejichž repelentní efekt je již znám [17], jako např. limonen, linalool (viz tab. 1). Jaenson et al. [1] stejně jako např. Garboui et al. [18] se shodují s našimi výsledky a popisují efekt přírodních repelentů proti klíštěti *I. ricinus* jako silný, nicméně krátkodobý. Naopak El-Seedi et al. [16] zaznamenal proti stejnému druhu klíštěte repelenci delší než 24 hodin, ovšem jednalo se o terénní test, kdy koncentrace a aktivita klíšťat nemusí být tak vysoká, a repelent byl aplikován na látku, jejíž evaporační vlastnosti se významně liší od lidské kůže, filtračního papíru nebo kartonu na kterých se běžně testy účinnosti repelentů provádí [16].

Zatímco pomerančový olej byl v této studii z hlediska repelence proti klíštěti obecnému testován poprvé, esen-

Tabulka 1: CHROMATOGRFICKÉ PROFILY TESTOVANÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ

Esenciální olej	látka	množství (%)
pomerančovník	limonen	18,5–24,0
	cineol	5,0–8,0
eukalyptus	α -pinen	0,05–10
	β -pinen	0,05–1,5
	limonen	0,05–15,0
	1,8-cineol	> 60,0
levandule	limonen	> 1,0
	cineol	> 2,5
	3-octanon	> 2,5
	camphor	> 1,2
	linalool	20,0–45,0
	linalyn acetát	25,0–46,0
	terpinen-4-ol	0,1–6,0
	lavandulyl acetát	> 0,2
	lavandulol	> 0,1
	α -terpineol	< 2,0

ciální oleje z levandule a eukalyptu již v této souvislosti byly použity v rámci testu dlouhodobého účinku repelentů proti *I. ricinus*, kdy Thorsell et al. [15] nezjistil po 4 hodinách žádný účinek. Nicméně, při krátce trvajících pobytech či procházkách v prostředí s rizikem výskytu klíšťat, kdy není dlouhodobá ochrana nezbytně nutná, se použití syntetických repelentů jeví jako nadbytečné.

Nejúčinnějším a také časově nejstabilnějším repelentem proti klíštěti obecnému v rámci této studie byl levandulový esenciální olej. Za velice účinný je tento olej považován také proti dalším hospodářským škůdcům jako je červotoč tabákový (*Lasioderma serricome*) [19] či dřevokazná svítilka *Lycorma delicatula* [20]. Co se týče eukalyptového oleje, byl již testován proti klíštěti *Hyalomma marginatum rufipes* a na rozdíl od naší studie je jeho efekt popisován jako srovnatelný s DEETem [21]. Pirali-Kheirabadi et al. [22] považují eukalyptový olej dokonce za potenciální akaricid. Tyto skutečnosti mohou být ovlivněny použitou koncentrací a také výběrem konkrétního druhu rostliny, který by mohl ovlivnit množství obsažených repelentních složek. Repelentní efekt esenciálního oleje z pomerančovníku se navzdory obsahu limonenu a cineolu ukázal jako velice slabý. Vzhledem k velmi rychlé evaporaci byl po 15 minutách již nulový.

Účinnost vybraných esenciálních olejů byla nižší a méně stabilní než DEET, nicméně další výzkumy týkající se možného pozitivního ovlivnění repelentní efektivity pomocí zvýšení dávky či koncentrace účinných složek [23], synergických efektů [24] či výrobních postupů [25] naznačují, že v budoucnu by esenciální oleje - zejména levandulový - mohly přinést kýžený kompromis mezi účinností, bezpečností a šetrností k životnímu prostředí.

Autoři děkují Kateřině Imrichové za pomoc při laboratorních testech účinnosti.

LITERATURA

1. Jaenson TG, Garboui S, Pålsson K, 2006. 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*, 43: 731-6.
2. Hartemink N, Takken W, 2016. Trends in tick population dynamics and pathogen transmission in emerging tick-borne pathogens in Europe: an introduction. *Experimental and Applied Acarology*, 68: 269-78.
3. Rizzoli A, Hauffe HC, Carpi G, Vourc'h G, Neteler M, Rosa R, 2011. Lyme borreliosis in Europe. *Eurosurveillance*, 16: 19906.
4. ECDC. Emerging and vector-borne diseases - Annual Epidemiological Report. Stockholm 2014.
5. Dietrich F, Schmidgen T, Maggi RG, Richter D, Matuschka F-R, Vonthein R, et al., 2010. Prevalence of *Bartonella henselae* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* DNA in *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 1395-8.
6. Schorn S, Pfister K, Reulen H, Mahling M, Silaghi C, 2011. Occurrence of *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. and *Bartonella* spp. in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Parasites & vectors*, 4: 135.
7. Del Fabbro S, Nazzi F, 2008. Repellent effect of sweet basil compounds on *Ixodes ricinus* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 45: 219-28.
8. Dautel H, Dippel C, Werkhausen A, Diller R, 2013. Efficacy testing of several *Ixodes ricinus* tick repellents: Different results with different assays. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4: 256-63.
9. Chen-Hussey V, Behrens R, Logan JG, 2014. Assessment of methods used to determine the safety of the topical insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Parasites & Vectors*, 7: 173.
10. Goodyer L, Behrens RH, 1998. The safety and toxicity of insect repellents. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 323-4.
11. Osimitz T, Murphy J, Fell L, Page B, 2010. Adverse events associated with the use of insect repellents containing N, N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56: 93-9.
12. Stajković N, Milutinović R, 2013. Insect repellents-transmissible disease vectors prevention. *Vojnosanitetski pregled*, 70: 854-60.
13. Semmler M, Abdel-Ghaffar F, Al-Rasheid KA, Mehlhorn H, 2011. Comparison of the tick repellent efficacy of chemical and biological products originating from Europe and the USA. *Parasitology research*, 108: 899-904.
14. Costanzo S, Watkinson A, Murby E, Kolpin D, Sandstrom M, 2007. Is there a risk associated with the insect repellent DEET (N, N-diethyl-m-toluamide) commonly found in aquatic environments? *Science of the Total Environment*, 384: 214-20.
15. Thorsell W, Mikiver A, Tunon H, 2006. Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phyto-medicine*, 13: 132-4.
16. El-Seedi HR, Khalil NS, Azeem M, Taher EA, Göransson U, Pålsson K, et al., 2012. Chemical composition and repellency of essential oils from four medicinal plants against *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 49: 1067-75.
17. Maia MF, Moore SJ, 2011. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal*, 10: S11.
18. Garboui SS, Jaenson TG, Borg-Karlson A-K, Pålsson K, 2007. Repellency of methyl jasmonate to *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 42: 209-15.
19. Hori M, 2003. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius)(Coleoptera: Anobiidae). *Applied Entomology and Zoology*, 38: 467-73.
20. Yoon C, Moon S-R, Jeong J-W, Shin Y-H, Cho S-R, Ahn K-S, et al., 2011. Repellency of lavender oil and linalool against spot clothing wax cicada, *Lycorma delicatula* (Hemiptera: Fulgoridae) and their electrophysiological responses. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14: 411-6.
21. Magano S, Mkolo M, Shai L, 2011. Repellent properties of *Nicotiana tabacum* and *Eucalyptus globoidea* against adults of *Hyalomma marginatum rufipes*. *African Journal of Microbiology Research*, 5: 4800-4.
22. Pirali-Kheirabadi K, Razzaghi-Abyaneh M, Halajian A, 2009. Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globulus* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. *Veterinary Parasitology*, 162: 346-9.
23. Meng H, Li AY, Junior LMC, Castro-Arellano I, Liu J, 2016. Evaluation of DEET and eight essential oils for repellency against nymphs of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 68: 241-9.
24. Reegan AD, Kannan RV, Paulraj MG, Ignacimuthu S, 2014. Synergistic effects of essential oil-based cream formulations against *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17: 327-31.
25. Faulde M, Albiez G, Nehring O, 2012. Novel long-lasting impregnation technique transferred from clothing to bednets: extended efficacy and residual activity of different pyre-

throids against *Aedes aegypti* as shown by EN ISO 6330-standardized machine laundering. *Parasitology Research*, 110: 2341-50.

Článek byl původně otištěn anglicky v časopise *Scientia Agricultura Bohemica* 2017; 48 (2): 76–81 pod názvem Lavender, Eucalyptus, and Orange Essential Oils as Repellents Against *Ixodes ricinus* Females.

Martin Kulma
František Rettich
Terezie Bubová
Národní referenční laboratoř
pro desinsekcii a deratizaci
CEM - SZÚ, Praha

Oldřich Kopecký
Katedra zoologie a rybářství
ČZU, Praha