

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Laboratorní hodnocení účinnosti vybraných podomácku
vyrobených repelentů proti komárům**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Karin Rončáková

Obor: Rozvoj venkovského prostoru

Vedoucí práce: Ing. Martin Kulma, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Laboratorní hodnocení účinnosti vybraných podomácku vyrobených repelentů proti komárům" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 4. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Martinu Kulmovi, PhD., za odborné vedení mé práce, jeho čas, doporučení a za poskytnutí cenných rad. Taktéž bych chtěla poděkovat Mgr. Václavu Ševčíkovi za provedení chemických analýz testovaných přípravků. Poděkování také patří mému příteli a rodině za podporu a trpělivost.

Laboratorní hodnocení účinnosti vybraných podomácku vyrobených repelentů proti komárům

Souhrn

Tato práce se zabývá vyhodnocením účinnosti čtyř podomácku vyrobených repelentů proti komárům. Návodů na výrobu repelentů byly převzaty z českých médií. První dva repelenty byly kombinací Alpy Francovky s hřebíčkem (*Syzygium aromaticum*) a výluhem z listů ořešáku (*Juglans regia*). Zbývající dva repelenty byly směsí jablečného octa a výluhu z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*) a pelyňku lékařského (*Artemisia absinthium*). Pro testování byli vybráni komáři *Aedes aegypti*, kteří jsou chováni v Národní referenční laboratoři pro dezinfekci a deratizaci ve Státním zdravotním ústavu v Praze.

K testování přistoupilo 10 dobrovolníků, kteří repelenty testovali in-vivo po aplikaci repelentu na předloktí. Během testu bylo předloktí ošetřené repelentem i neošetřené předloktí vloženo po dobu 1 minuty do klecí o velikosti 25 x 25 x 30 cm, kde se nacházelo 50 nenakrmených samic komárů *Aedes aegypti*. Tento postup se opakoval vždy po 10, 30 a 60 minutách od aplikace repelentu, přičemž byl zaznamenáván počet bodnutí. Jestliže nebyl v průběhu testování zaznamenán rozdíl mezi ošetřeným a neošetřeným předloktím, byl test ukončen.

Vědecká hypotéza „Podomácku vyrobené repelenty mají určitý repelentní účinek, není ovšem tak stabilní jako u syntetických preparátů“ byla potvrzena u dvou z testovaných repelentů. Vyšší zaznamenaná repelentní účinnost byla u alternativního repelentu složeného z hřebíčku a Alpy Francovky. Po 10 minutách od aplikace vykazoval až 73,1% ochranu před komáry, ovšem po uplynutí této doby začala jeho účinnost výrazně klesat a po 60 minutách klesla na 30,3 %. Repelentní aktivita, téměř 50%, byla zaznamenána také u repelentu z výluhu ořešáku a Alpy Francovky. Později, stejně jako v případě prvního repelentu, se začala účinnost snižovat. V případě dvou zbývajících repelentů bylo testování po 10 minutách ukončeno, jelikož jejich účinnost nepřesáhla 10 %.

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že dva ze čtyř zkoumaných alternativních repelentů vykazovaly krátkodobý repelentní účinek, který navíc ve srovnání se syntetickými preparáty nedosáhl sto procent ochrany. Na základě výsledků této práce lze tedy konstatovat, že některé podomácku vyrobené repelenty lze užít ke snížení rizika pobodání komáry. Na druhou stranu je třeba vzít v úvahu nízký stupeň ochrany, který poskytují, a proto je nelze doporučit do míst s endemickým výskytem komáry přenášených chorob nebo do oblastí s vysokým náletem tohoto krevsajícího druhu hmyzu.

Klíčová slova: alternativní repelenty, *Aedes aegypti*, repelent proti hmyzu, osobní ochrana, test účinnosti

Laboratory evaluation of repellency effect of selected homemade repellents against mosquitoes

Summary

This work evaluate the effectiveness of four homemade mosquito repellents. Formulas for the repellents were taken from the Czech media. The first two repellents were a combination of Alpa Francovka and cloves (*Syzygium aromaticum*) and a walnut leaves (*Juglans regia*) extract. The remaining two were a mixture of apple vinegar and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract and sagebrush (*Artemisia absinthium*). *Aedes aegypti*, which are bred in the National Reference Laboratory for Vector Control in the National Institute of Public Health, were selected for testing.

Repellents were tested in-vivo with 10 volunteers by placing the repellents on their forearms. During the test, the forearm treated with repellent and the untreated forearm were placed for 1 minute in 25 x 25 x 30 cm cages containing 50 unfed female *Aedes aegypti* mosquitoes. This procedure was repeated every 10, 30 and 60 minutes after the application of the repellents and the number of bites was recorded. If no difference between the treated and untreated forearms was observed, the test was terminated.

The scientific hypothesis „Homemade repellents have a certain repellent effect, but it is not as stable as with synthetic preparations“ was confirmed in two of the tested repellents. A higher repellent efficiency was recorded for an alternative repellent consisting of cloves and Alpa Francovka. 10 minutes after application, the protection against mosquitoes was measured as up to 73,1 %, but after this time the effectiveness began to decline significantly and after 60 minutes, dropped to 30,3 %. The repellent consisting of walnut leaves extract and Alpa Francovka was also measured as having almost 50% protection effectiveness. Later, as in the case of the first repellent, the effectiveness decreased. For the two remaining repellents, testing was terminated after 10 minutes because their effectiveness did not exceed 10 %.

Based on these results, it can be concluded that two of the four alternative repellents showed short-term repellency effects which did not achieve one hundred percent protection, as is the case of synthetic repellents. Based on the results of this work, it can be concluded that some homemade repellents can be used to reduce the risk of mosquito bites. On the other hand, they provide a low level of protection and therefore cannot be recommended for use in places with endemic diseases transmitted by mosquitoes or in areas with a high infestation of this bloodsucking insect species.

Keywords: alternative repellents, *Aedes aegypti*, insect repellent, personal protection, efficacy test

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Komárovití	3
3.1.1	Taxonomie	3
3.1.2	Obecná charakteristika	3
3.1.3	Podčeleď Anophelinae	4
3.1.4	Podčeleď Culicinae	5
3.1.5	Morfologie dospělých komárů.....	8
3.2	Medicínský význam komárů	10
3.2.1	Nemoci přenášené komáry	10
3.3	Ochrana před komáry	14
3.3.1	Repelenty	15
4	Metodika	20
4.1	Komáři	20
4.1.1	Komáři <i>Aedes aegypti</i>	20
4.2	Repelenty	21
4.2.1	Příprava repelentů	22
4.2.2	Plynová chromatografie.....	22
4.3	Testování	23
4.4	Vyhodnocení výsledků	24
5	Výsledky	25
5.1	Tabulky s výsledky účinnosti repelentů	27
5.2	Grafické porovnání testovaných repelentů	30
5.3	Statistické vyhodnocení pokusu	32
5.3.1	Podrobné vyhodnocení účinnosti jednotlivých repelentů v čase	32
6	Diskuze	35
7	Závěr	38
8	Literatura	39

1 Úvod

Komár patří mezi dvoukřídlý hmyz, jehož samice mohou být vektory závažných onemocnění jak u lidí, tak zvířat. V České republice jsou komáři vnímáni především jako obtížný hmyz, který zejména při kalamitách, které se vyskytují hlavně v období po intenzivních srážkách či po povodních, může značně snížit kvalitu života místních obyvatel. V souvislosti s globalizací a výskytem invazivních druhů se v Evropě během posledních let zvýšila četnost výskytu epidemií původně tropických nemocí přenášených komáry.

Z tohoto důvodu se osobní ochrana před přímým kontaktem mezi komárem a hostitelem jeví jako velice vhodná prevence. Nejrozšířenější a často jedinou možnou ochranu představuje používání repelentů. Nejvyužívanější jsou repelenty syntetické, které jsou k dostání prakticky kdekoliv. Mimo negativní dopad na životní prostředí, představují ale také určitá zdravotní rizika pro spotřebitele. Z tohoto důvodu se zvyšuje poptávka po přírodních alternativách. Jsou levné, přirozené a snadno aplikovatelné. Na druhou stranu, účinnost, perzistence ani toxikologická bezpečnost těchto repelentů není vědecky podložena. Receptů na různé formy přírodních repelentů se v médiích objevuje velké množství, nicméně otázkou zůstává, zdali se na ně lze opravdu spolehnout.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit účinnost podomácku vyrobených repelentů proti komárům. Návody na jejich výrobu byly převzaty z českých médií. Celkem byly zkoumány čtyři druhy přírodních repelentů – kdy první dva byly kombinací Alpy Francovky s hřebíčkem (*Syzygium aromaticum*) a výluhem z listů ořešáku (*Juglans regia*). Zbývající dva repelenty byly směsí jablečného octa a výluhu z rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*) a pelyňku lékařského (*Artemisia absinthium*). Kromě účinnosti jsme se v práci věnovali i bezpečnosti z hlediska obsahu potencionálních alergenů.

Pro tento test byli vybráni komáři tropičtí (*Aedes aegypti*), kteří jsou chováni v Národní referenční laboratoři pro dezinfekci a deratizaci ve Státním zdravotním ústavu v Praze. *Aedes aegypti* je vektorem mnoha virů včetně horečky dengue, chikungunya, zika a žluté zimnice. Jedná se o antropofilní druh komára s denní aktivitou, jehož použití pro účely laboratorního stanovení je doporučováno Evropskou agenturou pro chemické látky (ECHA) a Agenturou pro ochranu životního prostředí (USEPA).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je provedením laboratorního testu zjistit repelentní účinek vybraných repelentů, které byly připraveny podle receptur doporučených v českých médiích, proti komárům. V rámci diskuze budou výsledky porovnány s ostatními alternativními i komerčně dostupnými syntetickými repelenty.

Hypotéza: Podomácku vyrobené repelenty mají určitý repelentní účinek, není ovšem tak stabilní jako u syntetických preparátů.

3 Literární řešerše

3.1 Komárovití

3.1.1 Taxonomie

říše:	živočichové (Animalia)
podříše:	mnohobuněční (Metazoa)
kmen:	členovci (Arthropoda)
podkmen:	šestinozí (Hexapoda)
třída:	hmyz (Insecta)
podtřída:	křídlatí (Pterygota)
řád:	dvoukřídlí (Diptera)
čeleď:	komárovití (Culicidae)

3.1.2 Obecná charakteristika

Komárovití se řadí do čeledi Culicidae, která se dělí na dvě podčeledi - Anophelinae a Culicinae. Čeleď Culicidae tvoří 41 rodů, zahrnujících zhruba 3 500 druhů, které jsou celosvětově rozšířené. Nejhojněji zastoupenými rody jsou *Aedes*, *Culex* a *Anopheles* (viz Obr. 1) (Foster & Walker 2019). Přestože většina druhů žije v rámci tropů celého světa, na území České republiky se v rámci 45 druhů komárů (Blažejová et al. 2018) vyskytují zástupci všech tří rodů zmíněných výše.

Tento dvoukřídlý hmyz již po staletí představuje významný problém pro humánní i veterinární medicínu. Patří mezi vektory patogenů lidských i zvířecích onemocnění, způsobených nebezpečnými viry, bakteriemi či cizopasnými prvky (Volf & Horák et al. 2007). Komáři patří mezi tzv. trapiče, kdy bodáním, často za doprovodu nepříjemného zvuku, znepokojují své hostitele. Jejich bodnutí způsobuje alergické reakce a ve větším počtu, mohou menším obratlovcům způsobit významnou, až fatální ztrátu krve (Foster & Walker 2019).

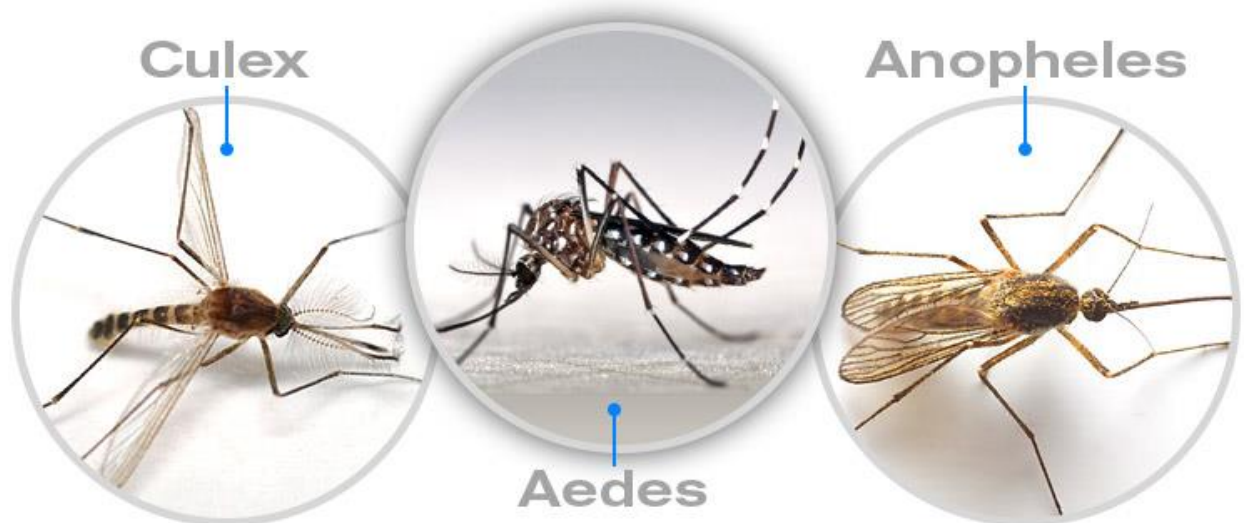
Během vývojového cyklu prochází komár proměnou dokonalou, která má čtyři stádia – vajíčko, larva, kukla, imago (dospělý jedinec), kdy první tři z nich absolvuje ve vodním prostředí. Komáři proto žijí prakticky kdekoli, kde se vyskytuje voda. Dospělí jedinci se živí rostlinným cukrem, krev sají pouze samice, které ji následně použijí pro správný vývoj vajíček (Rios & Connelly 2007). V případě nízké energetické hladiny komára laboratorní pokusy prokázaly preferenci nektaru (Lupi et al. 2013).

Komáři vybírají své hostitele dle koncentrace lidských a rostlinných pachů. Čich je pravděpodobně nejvýznamnějším smyslem ve výběru zdrojů krve. Preference sání komára na určité části těla je dána koncentrací oxid uhličitýho v kombinaci s tělesnou teplotou. Např. druh *Anopheles gambiae* je silně přitahován lidským potem a proto nejpravděpodobněji zaútočí v oblasti nohou a kotníků. Druhy komárů, které nejčastěji útočí v oblasti obličeje, jsou nejspíše přitahováni oxidem uhličitým, který je expirován z úst. Vizuální podněty a těkavé látky

komáři detekují na dálku, zatímco teplo, vlhkost vzduchu, pohyb a používání repelentů hraje klíčovou roli ve vzdálenosti, na kterou se komár ke svému hostiteli přiblíží a zda zaútočí. Samice dokážou hostitele lokalizovat na více než 100 metrů na základě jeho pohybu a barvy oděvu, přičemž více jsou přitahovány tmavšími barvami (Lupi et al. 2013).

Samice komárů v přírodě s největší pravděpodobností nepřežívají déle než dva týdny (Rios & Connelly 2007).

Metody využívané k eliminaci populací komárů a následnému přerušení přenosu patogenů jsou velmi rozmanité. Patří mezi ně modifikace stanovišť, genetické modifikace, využití predátorů, patogenů, ochranných sítěk, použití insekticidů, repelentů atd. Tyto metody jsou neustále předmětem mnoha vědeckých výzkumů (Foster & Walker 2019).



Obrázek č. 1: Nejhojněji zastoupené rody komárovitých (Zdroj: healthgenie.in)

3.1.3 Podčeleď Anophelinae

V rámci podčeledi Anophelinae jsou zastoupeni pouze komáři rodu *Bironella*, *Chagasia* a nejhojněji *Anopheles* (Volf & Horák et al. 2007).

Rod *Anopheles*

Dospělé samice tohoto druhu jsou poměrně snadno rozeznatelné. Mají nápadně dlouhá makadla, které vedou až na konec jejich sosáku. Jsou tmavě hnědě zbarvené a jejich tělo pokrývají tmavě hnědé, až černé štetinky. Na křídlech mohou mít tmavé šupiny, které tvoří charakteristické tmavé skvrny. Samice vajíčka, která jsou specifická, pokládají jednotlivě na vodní hladinu sladkovodních toků (Rios & Connelly 2007). Vajíčka mají po obou stranách plovací lišty se vzdušnými komůrkami. Larvy postrádají tzv. dýchací sifo a musejí ležet s vodní hladinou rovnoběžně (Volf & Horák et al. 2007). Zde dochází k přijímání kyslíku a filtraci potravy, kterou představuje drobná živočišná či rostlinná hmota a další organický materiál.

Kukly se na rozdíl od kukel jiného hmyzu dokáží pohybovat. Mezi další odlišnosti dospělých jedinců patří tzv. „áčkovitý postoj“ se zdviženým abdomenem při odpočinku, kdy mají hlavu silně skloněnou či kolmo k povrchu. Ostatní druhy drží svá těla rovnoběžně s povrchem (viz Obr. 2) (Rios & Connelly 2007).

Tento rod komára je jediným, o kterém je známo, že je přenašečem malárie, která se řadí mezi nejnebezpečnější onemocnění na světě. Kromě ni jsou vektory dalších onemocnění, jako je filarióza a encefalitida (Neasfey et al. 2015).

3.1.4 Podčeleď Culicinae

V rámci podčeledi Culicinae se nejčastěji vyskytují rody *Culex* a *Aedes*.

Rod *Culex*

V rámci celého světa se vyskytuje zhruba 550 druhů tohoto rodu (Lupi et al. 2013). Vajíčka jsou samicemi na hladinu vody kladena po jednom, kde se v počtu sto až tři sta slepí dohromady a vytvoří tak útvar připomínající člun, který plave na hladině (viz Obr. 2) (CDC 2020). Vajíčka jsou nečinná a larvy se líhnou v závislosti na teplotě, přičemž při 30° C se líhnou již po jednom dni, naproti tomu při teplotě pod 7° C nelze embryonální vývoj dokončit. Larvy velice dobře snášejí i značně organicky znečištěnou vodu. Nejčastěji se vyskytují v umělých vodních útvarech, jako jsou vodní sudy, nádrže, zatopené sklepy, kovové nádrže, okrasná jezírka, kontejnery apod. Dokáží dokonce tolerovat také menší množství slanosti (např. pobřežní bažiny) (ECDC 2020). Komáři rodu *Culex* létají na kratší vzdálenosti, kdy dosahují rychlosti něco přes tři kilometry v hodině. Samice si jako své hostitele nejčastěji volí ptáky, ovšem když nejsou v dosahu, napadají také savce, včetně lidí. Z tohoto důvodu také žijí i v blízkosti obydlí (CDC 2020).

Mezi nejznámější zástupce rodu patří druhový komplex *Culex pipiens* (komár pisklavý), který se vyskytuje ve dvou formách – *Culex pipiens pipiens* a *Culex pipiens molestus* (Volf & Horák et al. 2007).

Culex pipiens se řadí mezi středně velké komáry, dorůstající délky 4 - 10 mm a je známým škůdcem především v prostředí měst. Je zbarven do hněda a na rozdíl od ostatních druhů nemá žádný zjevný charakteristický vzor. Proboscis má pokryt tmavými šupinami a makadla bez výraznějšího pokrytí. Tento druh má několik generací ročně, což závisí na klimatických podmínkách. Larvy se vyskytují od jara do prvních mrazů (ECDC 2020).

Existuje zde několik rozdílů mezi samicemi *Culex pipiens pipiens* a *Culex pipiens molestus*. Především rozdíly v jejich chování mohou ovlivnit jejich roli jako vektorů virů (Gomes et al. 2013). Samice *C. p. pipiens* jsou exofilní - sají i odpočívají venku. Jsou ornitofilní druh a jejich hostitele představují především volně žijící ptáci. Krev nezbytně potřebují k položení první dávky vajíček a larvy se vyskytují především v místech s čistou vodou. Dospělé samice potřebují zimní diapauzu (ECDC 2020). Do dospělé reprodukční diapauzy vstupují v reakci na krátké dny. V tomto stavu zastavují vývoj vaječných folikulů a zvyšují obsah tuku (Chang & Meuti 2020). Oproti tomu samice *C. p. molestus* jsou endofilní. Odpočívají

v interiérech, krev sají venku či uvnitř a hostitele převážně představují lidé a další savci. Svou první dávku vajec jsou schopné položit bez sání krve a bez diapauzy. Larvy velice dobře snáší vodu obsahující vysoké množství organických látek – kanalizace, zatopené sklepy, nádrže na odpadní vodu apod. Tato forma se vyskytuje častěji v blízkosti lidských příbytků, kdy přezimují např. ve sklepních místnostech. Dospělí jedinci se zpravidla nerozptylují dál než 500 metrů od místa rozmnožování (ECDC 2020).

Původně byl *Culex pipiens* rozšířen v rámci Evropy, Asie a Afriky, přičemž v dnešní době je široce rozšířen a vyskytuje se také v oblastech Jižní a Severní Ameriky a Austrálie, což bylo historicky způsobeno pomocí lodní přepravy. Nachází se ve všech evropských zemích, s výjimkou Islandu a Faerských ostrovů (ECDC 2020). V rámci České republiky se tento druh vyskytuje poměrně hojně a rod *C. p. molestus* má u nás 3 - 4 generace během jednoho roku (Volf & Horák et al. 2007).

Vzhledem k tomu, že jsou komáři *C. pipiens* celosvětově rozšířeni a napadají širokou škálu hostitelů, jsou vektory mnoha patogenů, kdy mezi nejznámější patří virus západonilské horečky. V jižní a střední Evropě se tento virus každoročně pravidelně objevuje. V oblasti severní Evropy nebyl zjištěn (Vogels 2017). Dále jsou tito komáři přenašeči několika dalších arbovirů, filárií a ptačí malárie (ECDC 2020).

Rod Aedes

Komáři rodu *Aedes* se morfologicky od rodu *Culex* odlišují především zakončením zadečku, které je zašpičatělé a jsou na něm znatelné cerky. Vajíčka jsou kladena do vlhkého substrátu na místech, která byla zatopená vodou, například vlivem záplav. Tyto místa představují dokonalá líhniště a často dochází ke kalamitnímu výskytu komárů, především během jarního a letního období. Délka vývoje larev závisí na teplotě vody a obvykle se pohybuje mezi dvěma až čtyřmi týdny (Volf & Horák et al. 2007). Dospělí jedinci jsou charakterističtí svým úzkým, černě zbarveným tělem, jedinečnými vzory šupin na bříše a světle-tmavými pruhy na nohou. Při sání svá těla drží nízko a rovnoběžně s povrchem. Nejčastěji napadají lidskou populaci a to jak během dne, tak za soumraku (Rogers 2019).

Druhy *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus* jsou nejznámějšími zástupci tohoto rodu, vyskytující se převážně v tropech a subtropích. Tyto dva druhy představují vážnou zdravotní hrozbu v několika zemích po celém světě. Jsou vektory arbovirů zodpovědných za virus zika, žluté zimnice, horečky dengue, mikrocefalie a chikungunya (Oliveira de Moraes et al. 2019). V rámci České republiky nejhojněji napadají lidi komáři druhu *Aedes cantans* či *Aedes vexans* (komár útočný), kteří mohou být vektory virových onemocnění (Volf & Horák et al. 2007).

Aedes aegypti je jedním z nejrozšířenějších druhů komárů po celém světě, jemuž se nejlépe daří v urbánních oblastech. V rámci adaptace na městské prostředí jako stanoviště využívají nejrůznější nádoby na vodu, umělé nádoby či pneumatiky. Stejně dobře jako vnitřním prostorům se přizpůsobuje také venkovním prostorům, proto se jeho populace neustále rozrůstá. Navíc jsou samičí vajíčka velmi odolná proti vysychání (ECDC 2016). Samci k přežití a reprodukci potřebují přístup ke zdrojům cukru, které identifikují pomocí čichových, vizuálních

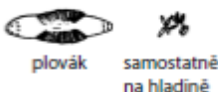
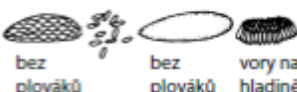

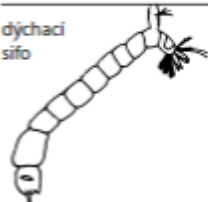







a chuťových podnětů. I u samic je rostlinný nektar běžným zdrojem energie, avšak při jeho nedostatku jim k přežití postačí větší a častější přísun krve (Barredo & DeGennaro 2020).

Dospělí komáři se zpravidla nenachází dále než 100 metrů od lidských obydlí. Samice během jednoho genotrofního cyklu napadá více hostitelů, které aktivně vyhledávají jak během dne, tak noci. *Aedes aegypti* moc dobře nesnáší zimní období, avšak kvůli klimatických změnám se očekává jeho další rozšíření. Historicky byla ohniska onemocnění šetřena eradikačními programy, které ovšem nebyly úspěšné. Mezi další eliminující metody patří např. využití klanonožců, geneticky modifikovaných komárů či bakterií *Wolbachia* (ECDC 2016).

Aedes albopictus je invazní druh komára, který se vyskytuje na všech kontinentech (Paupy et al. 2009). Jedinci vyskytující se v tropických a subtropických oblastech (na rozdíl od těch, kteří se vyskytují v oblasti mírného pásu) jsou aktivní během celého roku, bez nutné diapauzy. Larvální vývoj trvá mezi třemi až osmi týdny, přičemž vyšší teploty jejich vývoj zrychlují. Samice přežívají zhruba tři týdny, kdy se jejich hojnost odvíjí od teploty a dostupnosti potravy (ECDC 2016).

Aedes albopictus napadá širokou škálu hostitelů – lidskou populaci, domácí a divoká zvířata, ptáky, plazy i obojživelníky, přičemž laboratorní studie ukázaly preferenci lidské krve. Samice jsou exofilní, ale přibývá případů, kdy zaútočí na hostitele také v interiéru. Vykazuje velmi dobrou adaptaci na chladnější podnebí, což nejspíše povede k dalšímu šíření původně tropických patogenů. Mimo přímého ohrožení zdraví, v oblastech zvýšeného výskytu, snižuje kvalitu života postižených jedinců a je také spojován se zkrácením času pro venkovní fyzickou aktivitu dětí, což má za následek dětskou obezitu (ECDC 2016).

V oblasti veřejného zdraví tento druh představuje velmi diskutovaný problém. Jeho rychlá expanze a vektorová kapacita pro různé arboviry ovlivňuje stále větší část světové populace. Odborníci velmi intenzivně pracují na rozšíření biologických a ekologických znalostí ohledně tohoto druhu komára ve snaze potlačit hrozby pro veřejné zdraví (Bonizzoni et al. 2013).

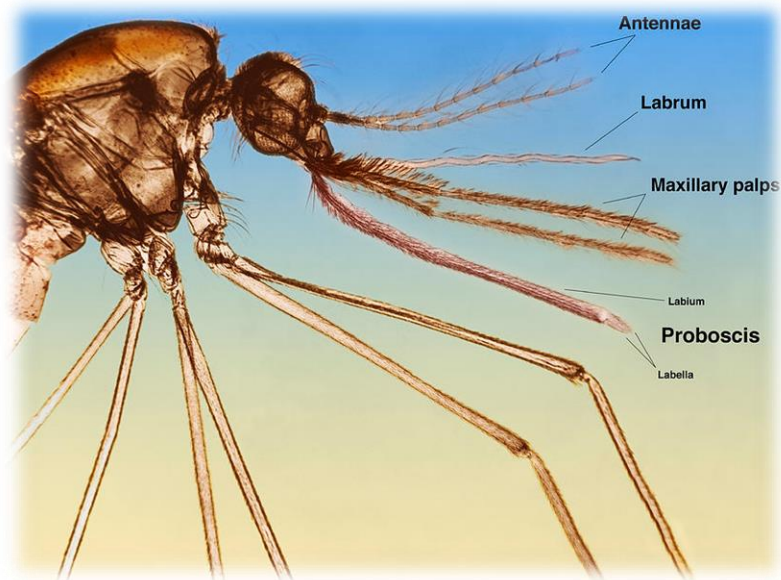
	Anophelinae	Culicinae
Vejce	<p><i>Anopheles</i></p>  <p>plovák samostatně na hladině</p>	<p><i>Aedes</i> <i>Culex</i></p>  <p>bez plováků bez plováků vory na hladině</p>
Larvy	 <p>bez sífa</p>	 <p>dýchací sífo</p>
Kukly	 <p>dýchací nálevky trny</p>	 <p>dýchací nálevky</p>
Dospělci	<p>poloha při odpočinku (s výjimkou sání a hybernace)</p> 	
Samice	 <p>palpy dlouhé</p>	 <p>palpy krátké</p>
Samci	 <p>palpy kyjovité</p>	 <p>palpy tenké</p>

Obrázek č. 2: Srovnání vývojového cyklu podčeledi Anophelinae a podčeledi Culicinae (Zdroj: Volf P., Horák P.)

3.1.5 Morfologie dospělých komárů

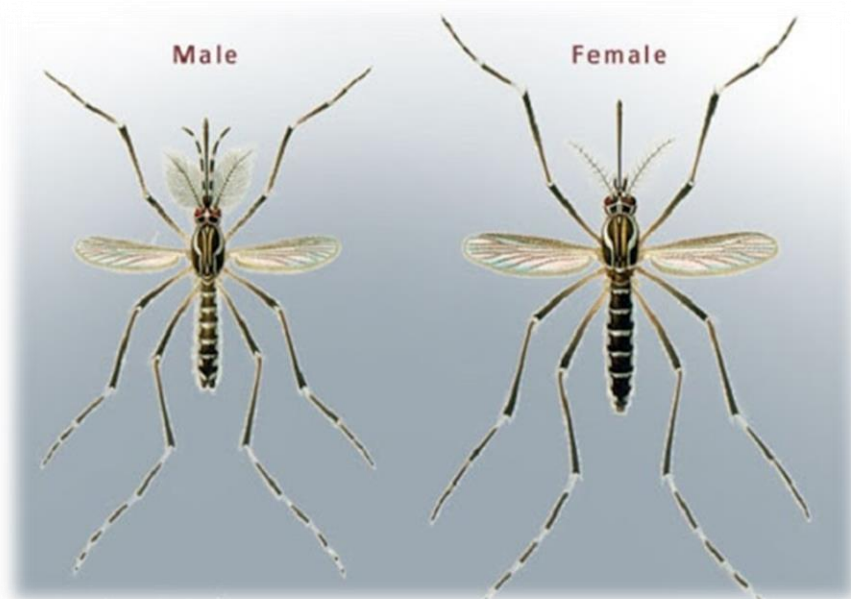
Tělo komárů, je stejně jako u všech zástupců řádu Diptera, tvořeno hlavou, hrudí, jedním párem křídel a zadečkem. Druhý, zadní, pár křídel se přeměnil v tzv. kyvadélka, která jim pomáhají s držením rovnováhy. Nejvyužívanějším smyslem komárů je čich, který je při hledání vhodného hostitele rozhodující. Na jejich tykadlech se nachází Johnstonův orgán, který bezpečně rozezná změny v koncentraci CO₂ a nejrůznější pachy (Volf & Horák et al. 2007). Johnstonův orgán dále slouží ke zjišťování polohy komára a také jako sluchový orgán. Při zkoumání bylo zjištěno, že samci mají sluch citlivější než samice a také to, že komár jednoho pohlaví mění frekvenci kmitů svých křídel v reakci na frekvenci kmitů opačného pohlaví a během několika sekund je jejich letová frekvence téměř synchronní (Gibson & Russell 2006). Bodavě sací ústní ústrojí komára je tvořeno tenkým dlouhým sosákem (proboscis) (viz Obr. 3). Samice komára mají speciálně vyvinutý sosák, který jim umožňuje téměř bezbolestné

proniknutí skrz hostitelovu kůži. Sací orgán je složen z dlouhých, zužujících se styletů a velkého šupinatého pysku (labium). Při sání krve skrz povrch dochází pouze k průniku styletů, kdy labium zůstává na povrchu (Kong & Wu 2010). Tento princip sání řadí komáry mezi tzv. solenofágní hmyz, kdy při sání krve dochází k napichování vlasečnic, přičemž nedochází ke vzniku hematomů (Volf & Horák et al. 2007).



Obrázek č. 3: Smyslové orgány rodu *Anopheles* (Zdroj: fineartamerica.com)

Dospělí jedinci, kteří jsou charakterističtí svými dlouhými končetinami, dosahují velikosti od 3 mm do 16 mm. Rozdíl mezi samicí a samcem je zřejmý při pohledu na tykadla a makadla, kdy u samců jsou tykadla nápadně ochlupená (viz Obr. 4).



Obrázek č. 4: Samec a samice komára (Zdroj: animasmosquito.com)

3.2 Medicínský význam komárů

Komáři jsou považováni za nejsmrtejnější zvířata na světě a to i navzdory dlouholetým snahám o kontrolu nad vektory široké škály onemocnění. Jsou zodpovědni za přenos mnoha lékařsky významných patogenů a parazitů, jako jsou viry, bakterie, prvoci a hlístice, které způsobují závažná onemocnění lidí i zvířat (Becker et al. 2010).

Samice komárů patří mezi hematofágní vektory, kteří zavádějí patogeny přímo do krve hostitele - pomocí proboscisu nasají do slinných žláz patogeny infikovaných hostitelů, které zavede přímo do krevního oběhu neinfikovaným hostitelům (Shrestha & Lee 2020). Sání může mít za následek také kožní alergické reakce či jiné dermatologické potíže.

3.2.1 Nemoci přenášené komáry

Vztahy mezi vektory a hostitelskými nemocemi jsou mapovány již od 18. století. *Culex pipiens fatigans* byl zaznamenán jako první přenašeč onemocnění a to v souvislosti s přenosem *Wuchereria bancrofti* (vlasovec mízní), což je parazitický červ, který způsobuje lymfatickou filariózu. O něco později bylo zjištěno, že komáři podčeledi Anophelinae přenášejí tzv. texaskou horečku skotu a malárii (Shrestha & Lee 2020).

Malárie

Malárie se řadí mezi nejvíce život ohrožující choroby přenášené vektory na celém světě. Je rozšířena v tropických a subtropických oblastech a navzdory velkému úspěchu programů kontroly malárie v minulosti v některých zemích stále přetrvává jako hlavní problém veřejného zdraví (Raghavendra et al. 2011). Dle údajů Světové zdravotnické organizace žije cca 40 % světové populace v rizikových oblastech (Stejskal 2019). Zhruba půl milionu úmrtí v souvislosti s malárií se vyskytuje v Africe, přičemž Světová zdravotnická organizace zaznamenala 67 % všech úmrtí na malárii u dětí mladších pěti let (Shrestha & Lee 2020).

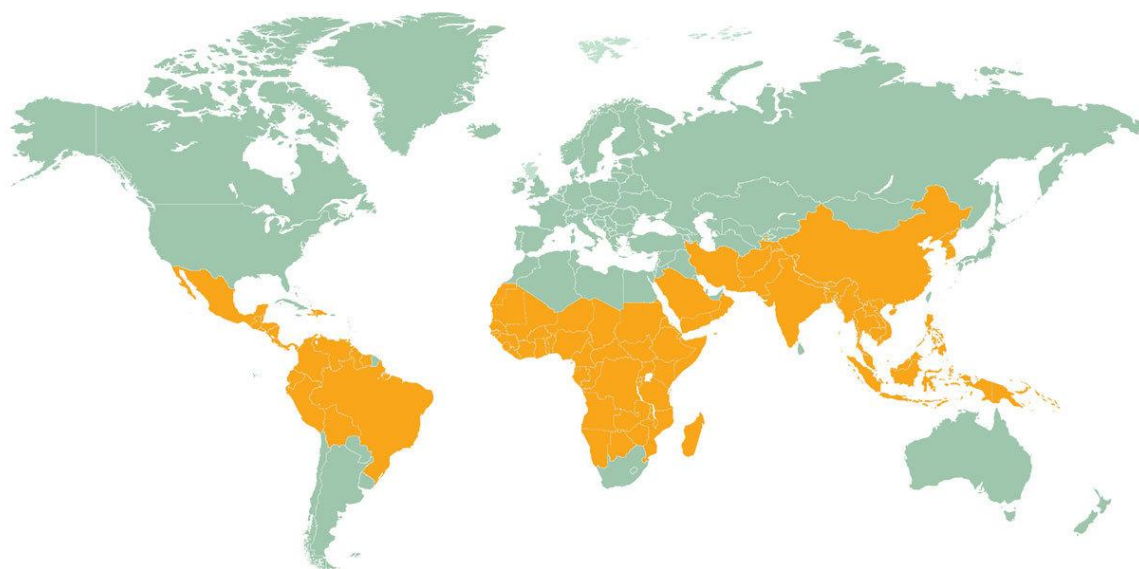
Za hlavního vektora malárie je považován *Anopheles gambiae*, který se vyskytuje v tropické Africe (Holt et al. 2002). Mezi nejznámější přenašeče v rámci Severní Ameriky patří *Anopheles quadrimaculatus*, jehož výskyt je zaznamenán především v oblasti východní části. Ve Spojených státech představovala malárie závažnou epidemii až do konce padesátých let. Přestože se eradikace tohoto onemocnění považovala za úspěšnou, autochtonní přenosy jsou výjimečně zaznamenány i ve 21. století (Rios & Connelly 2007). V oblasti tropické Asie se jako přenašeč malárie označuje *Anopheles maculipennis* (Volf & Horák et al. 2007). Výskyt malárie je zaznamenáván v oblíbených tropických turistických destinacích, jako je např. Thajsko, Kambodža nebo Bali (Stejskal 2019).

Co se týče našeho území, poslední autochtonní případy v rámci Československa byly zaznamenány v roce 1958, kdy roku 1963 bylo Světovou zdravotnickou organizací prohlášeno za území malárie prosté. Od té doby se zde vyskytuje zhruba 30 importovaných případů ročně. Skutečnost, že tato choroba u neimunních cestovatelů bez účinné léčby může být smrtelná, je

velmi často opomíjena. To dokazuje velké množství českých turistů či pracovníků, kteří do rizikových oblastí odjíždějí bez dostatečných informací a antimalarické profylaxe (Stejskal 2019).

Z různých strategií, které jsou pro hubení vektorů k dispozici, se jako nejúčinnější ukázaly vnitřní reziduální postřiky a ochranné sítě ošetřené insekticidy (Raghavendra et al. 2011).

Nedávné případy malárie v několika evropských zemích zvýšily povědomí o hrozbě znovuzavlečení této nemoci do Evropy. K rostoucímu počtu importovaných případů malárie dochází v důsledku mezinárodního cestování a migračních toků z endemických zemí. Další faktory, jako např. zvyšující se teplota, může vést k opětovnému výskytu této choroby v zemích, kde byla již dříve eliminována. Pokud nebudou přijata vhodná preventivní opatření, může také v rámci Evropy nastat velký problém v oblasti veřejného zdraví v souvislosti s tímto onemocněním (Fischer et al. 2020).



Obrázek č. 5: Mapa výskytu malárie na základě dat z roku 2017 (Zdroj: careplus.eu)

Horečka dengue

To, že propuknutí nemocí přenášených komáry v posledních desetiletích silně vzrostlo, dokládá třicetinásobný nárůst horečky dengue za posledních 30 let. Nárůst ohnisek onemocnění může souviset s chováním člověka prostřednictvím odlesňování, změny klimatu, urbanizace a globalizace (Grison et al. 2020). Horečka dengue je tropické a subtropické onemocnění, které během posledních let zaznamenalo výrazné rozšíření v rámci městských oblastí asijských zemí a zemí Latinské Ameriky (Shrestha & Lee 2020). Autochtonní přenos se recentně pravidelně objevuje také v rámci Evropy (Salami et al. 2020). Na území České republiky je každoročně nahlášeno několik desítek importovaných chorob. Konkrétně do konce září v roce 2019 bylo hlášeno 41 případů, kdy u všech občanů České republiky došlo k nákaze v tropických oblastech, zejména v Thajsku, Indonésii a Srí Lance (SZÚ 2019).

V případě horečky dengue jde o flavivirovou infekci, kterou přenášejí *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus* (Lupi et al. 2013). Typickými příznaky jsou bolesti hlavy, vyčerpaní, artralgie, astenie apod. Pro toto onemocnění neexistuje specifická léčba, a proto počet úmrtí dosahuje vysokého čísla. Studie Silvéria et al. (2020) odhaduje, že v roce 2080 bude zhruba 60 % světové populace tímto onemocněním ohroženo. Toto onemocnění představuje hlavní výzkumné téma kvůli nekontrolovatelným trendům urbanizace a globálnímu oteplování během posledních let (Shrestha & Lee 2020).

Také na území České republiky byl během posledních let *Aedes albopictus* několikrát zachycen. Vždy se jednalo o zavlečené případy, což monitorují pracovníci především Státního zdravotního ústavu a Akademie věd (SZÚ 2019). Pracovníci provádějí výzkumy pomocí tzv. ovitrap v oblasti dálnic, které propojují Českou republiku s okolními státy a je zde velká pravděpodobnost zavlečení *Ae. albopictus* silniční dopravou (Rettich & Kulma 2018). V České republice není prozatím prokázáno rozšíření tohoto druhu komára, avšak vzhledem ke klimatickým změnám a jejich možnému transportu silniční dopravou na naše území je zde jejich usídlení v budoucnu možné (SZÚ 2019).

Žlutá zimnice

Žlutá zimnice, původní virová hemoragická horečka, byla před vývojem účinné vakcíny jednou z nejobávanějších smrtelných chorob (Monath 2001; Shrestha & Lee 2020). Je přenášena především komáry rodu *Aedes* a *Haemagogus* a epidemiologicky se vyskytuje v Africe, Střední a Jižní Americe. Očkování proti žluté zimnici je dle Světové zdravotnické organizace před cestou do některých rizikových zemích povinné. Seznam těchto států se každoročně aktualizuje. Účinná vakcína jedince chrání po dobu minimálně 10 let (Kümpel & Petráš 2006). Žlutá zimnice postihuje zhruba 200 000 osob ročně a pro neočkované cestovatele do rizikových oblastí představuje významné zdravotní riziko, protože neexistuje žádná speciální léčba (Monath 2001). Na území České republiky se toto onemocnění historicky poprvé objevilo v roce 2018, kdy bylo importováno z Brazílie. V rámci celé Evropy se každoročně žlutá zimnice projeví zhruba u desítky osob ročně, kteří jsou nakaženi v rizikových oblastech (Drahošová & Želazko 2018).

Virus zika

S viry žluté zimnice a horečky dengue je úzce spjat virus zika, který byl v letech 2015 - 2016 rozšířen téměř do celého světa. Tento virus matka v době těhotenství přenáší na plod, což může způsobit závažné vrozené vady, např. mikrocefálii (Shrestha & Lee 2020). Za hlavního vektora viru zika je považován *Aedes aegypti*. Příznaky tohoto onemocnění nejsou jasně specifikovány a mohou být zaměněny s jinými arbovirovými chorobami. Virus se vyskytuje na území Ameriky, Evropy, Asie a Tichomoří (Silvério et al. 2020). V České republice byly první případy, které jsou spjaty s pobytem v Latinské Americe, zaznamenány v roce 2016 (Trojáněk et al. 2016).

Západonilská horečka

Virus západonilské horečky je původem z Afriky, Asie, Evropy a Austrálie, kdy ale v minulosti způsobil epidemie v mnoha zemích světa. Ptáci jsou rezervoárovými hostiteli a virus v přírodě cirkuluje mezi ptáky a komáry, kdy primárně zahrnuje komáry rodu *Culex*. K dispozici není žádná specifická léčba ani vakcína. Prevence závisí na trvalé kontrole vektorů a veřejném vzdělávání. Tento arbovirus je již celosvětově rozšířen a konečnými hostiteli jsou lidé a koně (Campbell et al. 2002).

Česká republika je také zařazena na seznamu zemí s endemickým výskytem tohoto onemocnění. Na tomto území se virus poprvé objevil po povodních roku 1997 na Břeclavsku. Později během let byly zaznamenány případy autochtonních přenosů v různých místech České republiky (Rettich et al. 2019). Jihomoravský kraj je oblastí, kde byl prokázán největší výskyt tohoto viru. Během roku 2018 byl také poprvé detekován v komárech v oblasti rybníků jižních Čech, a proto se Jihočeský kraj stal další rizikovou zónou autochtonního výskytu západonilské horečky (Rudolf et al. 2019).

Horečka Chikungunya

V případě viru Chikungunya se jedná o alphavirus, který je přenášen komáry *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus*, obvykle v rámci subsaharské Afriky, Indie a jihovýchodní Asie (Lupi et al. 2013). O viru je známo, že se během infekce zaměřuje na různé typy lidských buněk, vč. epiteliálních a endotelových (Valdés et al. 2020). Před pár lety Chikungunya expandovala také do Evropy (Lupi et al. 2013). V roce 2007 došlo v Itálii k propuknutí autochtonních infekcí tímto virem a v letech 2010 - 2014 byly také autochtonní případy hlášeny ve Francii (ECDC 2020). Tato choroba během posledních 50 let způsobila několik ohnisek nákazy v tropických a subtropických oblastech po celém světě (Valdés et al. 2020). V souvislosti s tímto onemocněním byly v České republice zaznamenány první tři importované případy v roce 2006 (Kubíniová & Kynčl 2007).

Japonská encefalitida

Japonská encefalitida patří mezi flavivirové zoonotické onemocnění přenášené komáry a je jednou z hlavních příčin encefalitidy u dětí (Dhanze et al. 2020). Virus se vyskytuje ve východní a jižní Asii a v Tichomoří, kde je přirozeně přenášen mezi ptáky a prasaty prostřednictvím komárů rodu *Culex*. Ptáci mohou být zodpovědní také za rozšíření viru do nových zeměpisných oblastí. Jelikož prasata často pobývají v blízkosti člověka, jsou nejdůležitějším rezervoárem pro přenos viru na lidskou populaci (Solomon et al. 2000). Včasná detekce viru nebo protilátek u prasat je nezbytná k zabránění šíření infekce na člověka (Dhanze et al. 2020). Proti tomuto viru existuje účinná vakcína, kdy perzistence protilátek byla prokázána zhruba na 3 roky od aplikace. Vakcína je doporučena pro obyvatele epidemiologických oblastí a turistům, kteří v rizikových oblastech plánují zůstat na více než 30 dní a to především ve venkovských oblastech (Solomon et al. 2000). První dokumentovaný importovaný případ Japonské encefalitidy do České republiky pochází z roku 2017 (Stebel et al. 2018).

3.3 Ochrana před komáry

Vzhledem k celosvětovému zdravotnímu problému, který komáři představují, se využívá několik postupů, které mohou vést ke snížení jejich populací. Jelikož všichni komáři potřebují k rozmnožování vodu, zahrnuje snaha o jejich vymýcení management či ošetření vodních ploch, které slouží jako líhniště (Cilek et al. 2004). Takový management tradičně zahrnuje použití larvicidů, nejčastěji s obsahem *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI), který je selektivní a kromě larev komárů není jiným živočichům nebezpečný (Boyce et al. 2013). V případě hubení dospělců se nejčastěji používá syntetických insekticidů, které jsou experimentálně nahrazovány metodami biologického managementu.

Mezi chemické metody ochrany patří insekticidy a antifeedanty. Chemické sloučeniny využívané k hubení hmyzu se klasifikují především podle toho, jaké smysly hmyzu ovlivňují. Všechny tyto sloučeniny jsou užitečnými nástroji, které pomáhají s bojem proti přenosu smrtelných chorob a inhibují kontaktu mezi komárem a hostitelem. Nejběžnější ochranné opatření proti komárům je primárně založeno na používání insekticidů (Grison et al. 2020). Vysoce toxické syntetické insekticidy, jako jsou např. organofosfáty nebo karbamáty, se v minulosti využívaly hlavně na larvy. V současnosti se užívají méně toxické formy, které jsou méně perzistentní v životním prostředí. Nicméně tyto stále široce využívané preparáty jsou škodlivé pro živé organismy a životní prostředí (Silvério et al. 2020). Mezi další nevýhody patří zvýšení rezistence komárů vůči insekticidům.

Biologický boj s dospělci komárů je založen na vypouštění geneticky modifikovaného hmyzu, který nese smrtící dominantní gen (RIDL). Všichni potomci tohoto hmyzu tento gen zdědí a umírají již ve fázi larvy nebo kukly, což má drtivý dopad na jejich populaci. Tato technika se používá pro druh *Aedes aegypti*. Dále se využívá technika sterilního hmyzu (SIT), kdy jsou hmyzí samci ozařováni sterilizováním a poté vypuštěni. Poté se spáří se samicemi, které snášejí nežitelná vajíčka. Prostřednictvím Světového programu proti komárům se v současné době na různých místech po celém světě aplikuje kmen bakterií *Wolbachia* na laboratorní kmeny komárů *Aedes aegypti*, kteří jsou poté vypouštěni do místní populace *Ae. aegypti*, kde je během reprodukce tato bakterie přenášena. Přítomnost bakterie v komárech snižuje možnost přenosu arbovirů na lidskou populaci (Silvério et al. 2020).

Z pohledu osobní ochrany pracovníci ve zdravotnictví doporučují nošení ochranného oděvu, dlouhých rukávů a nohavic, vyhýbání se oblastem zvýšeným výskytem komárů a jimi přenášených nemocí, zvláště potom s ohledem na období, kdy jsou nejaktivnější (Cilek et al. 2004). Další variantou ochrany v místě pravděpodobného výskytu komárů je použití repelentních látek nebo ochranných sítí (moskytiér) proti hmyzu. Z hlediska zaručené dlouhodobé ochrany je v současné době vyvinuta účinná vakcína pouze proti žluté zimnici a japonské encefalitidě (Grison et al. 2020).

3.3.1 Repelenty

Repelenty jsou látky, které působí lokálně nebo na dálku a odrazují hmyz od letu, přistání či bodnutí do lidské nebo zvířecí kůže (Choochote et al. 2007). V ideálním případě by repelenty měly chránit před co největším množstvím hmyzu, na delší dobu a nezpůsobovat žádné nežádoucí reakce. Vyrábějí se v různých formách, jako jsou spreje, krémy, oleje, pleťové vody apod. Jejich složení hraje důležitou roli z pohledu účinnosti, kdy doba účinku závisí na několika faktorech. Pro správné fungování je potřeba repelent aplikovat rovnoměrně, kdy tato bariéra mezi hmyzem a lidskou pokožkou sahá několik centimetrů od pokožky. Mezi vnější faktory, které ovlivňují účinnost repelentů, patří teplota, vlhkost a proudění vzduchu. Teplé, vlhké podnebí a vysoká rychlost větru účinek repelentů obecně snižují a jsou nutné opakované aplikace. Ztráta účinnosti je také dána mírou odpařování daného repelentu, omýváním kůže či stíráním oděvu. Kromě toho pot, který komáry přitahuje, preparát ředí a sloučeniny obsahující alkohol pronikají hlouběji do pokožky, což má za následek rychlejší ztrátu účinnosti (Lupi et al. 2013). Některé přísady mohou prodloužit délku účinnosti repelentu tím, že zabrání ztrátě repelentních těkavých látek, či ztrátě pocením nebo otíráním. Zpočátku se pro tento účel používal olivový nebo minerální olej. Byly zkoumány také fixační přísady, jako je tibeten a vanilin, které významně zvyšují životnost repelentů a to o 29 %, respektive o 95 %, pokud jsou aplikovány v poměru 1:1 s diethyltoluamidem (DEETem) (Debboun et al. 2007).

Aby důsledky přenášených patogenů nebyly tak fatální, jsou repelenty proti hmyzu již dlouho hlavním pilířem prevence proti jejich bodnutí (Shrestha & Lee 2020).

Historie

Je velmi pravděpodobné, že používání repelentů proti členovcům bylo praktikováno již před více než tisíci, možná miliony let. Bylo pozorováno, že se primáti potírali různými rostlinami, vč. citrusu (*Citrus spp.*), pepřovníku (*Piper marginatum*) a plaménku (*Clematis dioica*). Během období maximální aktivity komárů si o kůži otírali také stonožky (*Orthoporus dorsovittatus*), které obsahují sloučeninu benzochynon (Debboun et al. 2007), u které byly později prokázány repelentní účinky (Weldon et al. 2003).

První zaznamenané použití repelentu lze nalézt mezi spisy řeckého historika Hérodota, který pozoroval egyptské rybáře, kteří k repelentním účelům využívali olej získaný z ricinovníku a v noci k osobní ochraně využívali sítě, pod kterými spali. Římané zaznamenali další formy repelentů a to konkrétně směs octa s různými éterickými oleji. Přírodní octy obsahují kyselinu octovou, menší množství kyseliny vinné a kyseliny citrónové, které mohly mít mírný antibakteriální účinek, což mělo za následek snížení produkce bakteriálních metabolitů. Tyto metabolity komáři využívají k lokalizaci lidských hostitelů (Debboun et al. 2007).

Další metodu ochrany před komáry, pomocí kouře, lze nalézt v knižní sbírce „Geoponika“ z 10. století, popisující zemědělskou praxi, která tkví ve spalování bylin jako je černucha setá (*Nigella sativa*), vavřík (*Laurus nobilis*), ločidlo (*Ferula gummosa*) nebo oregano (*Origanum vulgare*). Kromě bylin se spalovaly také ryby, mušle, různé kosti, hadí kůže apod., kdy hustý kouř sice vytvořil dočasnou bariéru mezi komáry a hostiteli, ale na člověka měl

škodlivé účinky. Kouř může maskovat lidské kairomony, pomocí kterých komár detekuje hostitele a také snižuje vlhkost, což má za následek větší náchylnost komárů k vysychání. V Severní Americe se původní kultury, které se pohybovaly především na lodích a žily v blízkosti řek, chránily proti extrémně velkému množství komárů potíráním bolševníku (*Heracleum maximum*) po těle a především spalováním listů a stonků řebříčku obecného (*Achillea millefolium*) (Debboun et al. 2007).

Kouř se stále využívá v některých venkovských tropických oblastech jako prostředek na ochranu proti komárům, kdy dochází např. ke spalování kokosových slupek, mangového dřeva, zázvorových listů či listů papáji. I když bylo zjištěno, že tato metoda je účinná, vyžaduje nepřetržitou produkci a spalování biomasy ve vnitřních prostorách má vážné zdravotní následky. Proto jsou žádoucí bezpečnější a modernější formy ochrany (Debboun et al. 2007).

Syntetické repelenty

DEET (N, N-diethyl-3-methylmenzamid)

DEET je nejvyužívanější repelentní látkou na světě a jeho účinnost je obecně velice vysoká (Grison et al. 2020). Několik studií ukázalo, že DEET je nejúčinnější repelent a je považován za jakýsi zlatý standart, se kterým jsou ostatní repelenty porovnávány (Cilek et al. 2004). Bylo prokázáno, že poskytuje ochranu proti přímému kontaktu s *Aedes albopictus* po dobu 7 - 8 hodin (Grison et al. 2020). Předpokládá se, že funguje tak, že blokuje čichové receptory hmyzu, které detekují 1-okten-3-ol, který se přirozeně nachází v lidském potu i dechu a hmyz silně přitahuje (Lee 2018). Ovšem během posledního desetiletí několik studií odhalilo možné nepřímé účinky na lidské zdraví i životní prostředí. Používání DEETu u lidí prokázalo neurotoxické i pro-angiogenní účinky. Kromě toho mohou zejména u citlivějších jedinců způsobit podráždění pokožky (Grison et al. 2020). Nedoporučuje se pro děti do 6 měsíců a těhotné ženy (Tavares et al. 2018). Dalšími nežádoucími účinky této látky jsou nepříjemný zápach, mastný nebo lepkavý pocit a rozpouštění plastů (Choochote et al. 2007). V poslední době byly také zaznamenány jasné znaky odolnosti komárů vůči DEETu (Grison et al. 2020).

IR3535 (3-N-acetyl-N-butylamino-propionový ethylester)

IR3535 je účinný repelent proti komárům. Bylo zjištěno, že proti druhům *Culex* a *Aedes* poskytuje ochranu po dobu 7 - 10 hodin a proti druhům *Anopheles* po dobu 3 - 4 hodin. IR3535 může způsobit vážné podráždění očí a podobně jako DEET může rozpouštět či poškodit syntetické materiály (Grison et al. 2020). Oproti DEETu je méně toxický a mohou ho používat děti starší 6 měsíců i těhotné ženy (Tavares et al. 2018).

Na rozdíl od jiných syntetických repelentů, by tato látka neměla být toxická pro vodní organismy. Není z přírodních zdrojů, ale výrobci je často prezentována jako přírodní a ve Spojených státech je dokonce IR3535 považován za biopesticid. Ve skutečnosti je jeho chemická struktura inspirována aminokyselinou - β -alanin, která se přirozeně vyskytuje, ale

nevychází z něj. Vyvinutá chemická syntéza nespĺňuje žádná ekologická kritéria, a proto nemůž být považován za repelent biologického původu (Grison et al. 2020).

Icaridin (1- 2-2 hydroxyethyl-1-methylester piperidinkarboxylové kyseliny)

Těž známý jako Picaridin, mezi jehož výhody patří to, že je bez zápachu, není lepivý nebo mastný a nepoškozuje plasty (Lupi et al. 2013). Jeho účinky jsou srovnatelné s DEETem (Tavares et al. 2018). Dle studie Lupi et al. (2013) poskytuje ochranu po dobu 1 - 6 hodin proti druhu *Aedes*, 6 - 8 hodin proti *Anopheles* a 8 hodin proti *Culex*. V případě picaridinu bylo potvrzeno, že u senzitivních jedinců může způsobit dermatitidu (Grison et al. 2020).

Permethrin (3-fenoxybenzyl-[3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyklopropan-1-karboxylát)

Permethrin je insekticid, který se může využívat jako kontaktní repelent. Je klasifikován jako syntetický, i když je jeho chemická struktura do značné míry obohacena o pyrethryny, které se přirozeně vyskytují v chryzantémách (*Chrysanthemum sp.*). Repelentní účinky permethrinu jsou slabé a častěji se využívá jako insekticid. Byly u něj také zjištěny neurotoxické účinky a proto je vhodnější jej aplikovat na oděv či ochranné sítě. Bylo také zjištěno, že komáři jsou proti permethrinu relativně odolní. Dále je vysoce toxický pro vodní organismy a extrémně toxický pro včely (Grison et al. 2020).

Přírodní repelenty

Časté užívání syntetických repelentů chemického původu narušilo přirozené ekosystémy a vyústilo v rezistenci komárů proti těmto přípravkům (Asadollahi et al. 2019). Většina repelentů, které nepochází z přírodních zdrojů, se nejeví jako bezpečné pro dlouhodobé používání (Grison et al. 2020). Vzhledem k poměrně velkým zdravotním rizikům a vážného dopadu na životní prostředí lidé čím dál častěji volí přírodní alternativy repelentů.

Repelenty z přírodních zdrojů představují alternativní nástroj osobní ochrany před chorobami přenášenými vektory. Vzhledem ke složitosti chemorecepce komárů a nervové reakci s ní spjaté, je složité vyvinout nové ekologické repelenty. Multidisciplinární výzkum, který kombinuje neurobiologii hmyzu a zelenou chemii má pro tento problém zásadní význam (Grison et al. 2020). Botanické insekticidy jsou velmi výhodné, jelikož jsou ekologicky bezpečné a netoxické pro živé organismy (Silvério et al. 2020).

PMD (p-mentan-3, 8-diol)

PMD je považován za přírodní a bezpečnou alternativu DEETu (Grison et al. 2020). Molekula PMD se nachází v destilovaném oleji z listů australského stromu s názvem korymbie citroníková (*Corymbie citriodory*). Ve srovnání s DEETem vykazuje nízkou penetraci pokožkou, tudíž poskytuje dlouhodobější ochranu (Carroll et al. 2019). Studie Govera et al. (2008) prokázala 90 – 100% účinnost ochrany PMD před komáry až po dobu šesti hodin. Nebyly u něj zjištěny žádné nežádoucí účinky, má nízkou toxicitu, může pouze vyvolat podrážděnost očí. Grison et al. (2020) tvrdí, že repelentní účinek PMD lze zvýšit přidáním vanilinu či jiných

aromatických aldehydů. PDM je tedy velmi důležitá sloučenina pro pokračující výzkum a vývoj dlouhodobě účinných rostlinných repelentů (Carroll et al. 2019).

Éterické oleje

Již od středověku byly éterické oleje široce používány pro své baktericidní, virucidní, fungicidní, antiparazitické, insekticidní, léčivé a kosmetické vlastnosti. V dnešní době jsou využívány zejména ve farmaceutickém, sanitárním, kosmetickém, zemědělském a potravinářském průmyslu. Esenciální oleje obsahují různé těkavé molekuly, jako jsou terpeny, terpenoidy a aromatické složky. Fyzikálně-chemické testy in vitro charakterizují většinu z nich jako antioxidanty. Dle testů v závislosti na typu koncentrace vykazují cytotoxické účinky na živé buňky, ale obvykle nejsou genotoxické (Bakkali et al. 2008).

Éterické oleje se získávají z aromatických rostlin, kterých existuje více než 3 000 druhů (Silvério et al. 2020). V přírodě tyto oleje hrají velmi důležitou roli při ochraně rostlin, kdy je chrání před bakteriemi, plísněmi, hmyzem a také před býložravci, pro které nejsou chuťově lákavé (Kalita et al. 2013). Přibližně 10% z nich se ve velkém množství využívá pro jiné účely, jako jsou např. aromatizační látky. Získávají se destilací vodní párou nebo hydrodestilací. Z procesu extrakce mají výtěžek 0,5 – 2 %, obsahují vysokou koncentraci sekundárních metabolitů a obecně představují silnou aktivitu k synergickému účinku složek. Surové extrakty rostlin se získávají pomocí různých extrakčních metod (Silvério et al. 2020).

Obecně jsou éterické oleje považovány za bezpečné a vykazují velmi nízkou nebo žádnou toxicitu pro savce (Silvério et al. 2020). Některé z nich ale mohou mít nežádoucí vedlejší účinky, jako je podráždění pokožky, kontaktní dermatitida či astma (Lee 2018).

Odhaduje se, že existuje více než 100 tisíc rostlinných metabolitů, přičemž stovky z nich vykazují určité repelentní účinky proti členovcům včetně hmyzu (Silvério et al. 2020). Zejména citronellol, citronellal, alfa-pinen a limonen jsou běžnými složkami různých éterických olejů vykazující repelentní účinky. Bylo popsáno mnoho metod pro zlepšení repelentní účinnosti. Nejčastěji využívanou metodou je kombinace několika éterických olejů z různých rostlin, což vede k synergickému účinku poskytující vyšší repelentní aktivitu (Lee 2018). Obecně ale platí, že éterické oleje z rostlin jsou špatně rozpustné ve vodě, což komplikuje jejich aplikaci, snižuje jejich účinnost (Silvério et al. 2020) a z důvodu vysoké těkavosti poskytují ochranu před komáry na kratší dobu, která obvykle netrvá déle než 2 hodiny (Choochote et al. 2007). Např. citronelový olej je vysoce těkavý a proto je nutné repelenty, které obsahují tento olej jako hlavní složku, znovu aplikovat každých 20 – 60 minut. Nevýhodu krátké doby ochrany lze zlepšit pomocí technologických úprav, kdy se např. krémové formy na pokožce udrží delší dobu. Zvýšení účinnosti repelentů bylo také zaznamenáno použitím fixačních prostředků vč. vanilinu, tekutého parafinu či kyseliny salicylové. Smícháním vanilinu s oleji byla doba repelentní účinnosti proti *Ae. aegypti* prodloužena až na 4, 8 hodiny (Lee 2018).

Většina rostlinných repelentů proti hmyzu, které jsou k dostání na trhu, obsahuje éterické oleje nejčastěji z jedné nebo více následujících rostlin: citronella (*Cymbopogon nardus*), jalovec (*Juniper virginiana*), eukalyptus (*Eucalyptus maculata*), pelargonie

(*Pelargonium reniforme*), citrónová tráva (*Cymbopogon excavatus*), máta peprná (*Mentha piperita*), neet (*Azadirachta indica*), sója (*Neonotonia wightii*) apod. (Choochote et al. 2007).

Dle rozsáhlého zkoumání Asadollahiho et al. (2019) bylo zjištěno, že nejsilnější repelentní účinek proti komárům *Anopheles* vykazuje extrakt koprničku čínského (*Ligusticum sinense*), následovaného oleji z citronelly (*Cymbopogon nardus*), borovice (*Pinus*), dalbergie šišam (*Dalbergia sisso*), máty peprné (*Mentha piperita*) a kořenovníku (*Rhizophora mucronata*), s celkovou dobou ochrany v rozmezí od 9,1 do 11,5 hodin. Dále éterické oleje z rostlin jako je např. levandule (*Lavandula*), pelargonie (*Pelargonium reniforme*), jasmín (*Jasminum*), citrónová tráva (*Cymbopogon excavatus*), eukalyptus (*Eucalyptus maculata*), heřmánek (*Matricaria chamomilla*), rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*) nebo jalovec (*Juniper virginiana*), vykazovaly také dobrou ochranu před těmito komáry a to až po dobu 8 hodin.

Esenciální oleje jsou tedy slibnými možnostmi produkce přírodních repelentů a insekticidů z několika důvodů - jsou méně škodlivé pro lidi i životní prostředí, levné, snadno dostupné v mnoha částech světa, mohou být použity ve spojení se syntetickými repelenty a insekticidy a producenti je mohou vytrvale vytvářet pomocí subproduktů z rostlinného průmyslu (de Souza et al. 2019).

Podomácku vyrobené repelenty

Receptů na výrobu domácích repelentů je k dostání poměrně velké množství. Avšak málokdy jsou vyzkoušené a jejich účinnost je navzdory prohlášením o dlouhodobé spolehlivosti ve většině případů neznámá. Pro jejich výrobu lze využít širokou škálu dostupných produktů.

Hřebíček (*Syzygium aromaticum*) je často prezentován jako všelék. Tato rostlina je původem z Indonésie a představuje jeden z nejbohatších zdrojů fenolických sloučenin, jako je eugenol, eugenol-acetát a kyselina gallová (Cortés-Rojas et al. 2014). Byly u něj prokázány antibakteriální, antioxidační, antipyretické a afrodiziakální účinky. Je také často využíván k výrobě domácích repelentů, kdy je smíchán např. s ethanolem a dětským olejem. Dle rozsáhlého testování Asadollahiho et al. (2019), byl tento repelent testován v různých koncentracích a vykazoval maximální dobu ochrany proti různým druhům *Anopheles* po dobu 4,5 hodin. Další repelent, složený z hřebíčku (*Syzygium aromaticum*), alkoholu a mandlového oleje, na základě informací zveřejněných Miotem et al. (2011), nevykazoval prakticky žádné repelentní účinky.

Další léčivou rostlinou, která se využívá pro své repelentní účinky, je máta peprná (*Mentha piperita*). Je široce pěstována v mírných oblastech, přičemž dnes se pěstuje ve všech regionech. Obsahuje 0,1 – 1 % těkavého oleje složeného převážně z mentolu, mentonu, menthofuranu a menthylacetátu. Koncentrace látek se liší v závislosti na podnebí, kultivaru a geografické poloze (Singh et al. 2015). Proti různým druhům komárů *Anopheles* byla ovšem prokázána až 11 hodinová ochrana (Asadollahi et al. 2019).

Také citronella, což je éterický olej extrahovaný z listů a stonků různých druhů citrónových trav, vykazuje dlouhou dobu ochrany před komáry *Anopheles* a to konkrétně v rozmezí mezi 6 – 11 hodinami (Asadollahi et al. 2019).

Především v oblasti jihovýchodní Nigérie, je hojně jako repelent využívaná bazalka (*Ocimum gratissimum L.*), kterou místní obyvatelé pěstují kolem svých obydlí. Mimo jiné se tato bylina používá jako koření, při nachlazení a bolesti žaludku. Dle etnofarmakologického výzkumu bazalka obsahuje léčivé látky jako je antipyretikum, diuretikum a hepatoprotektivum. Zkoumání repelentní účinnosti se provádělo v oblasti deštného pralesa s typickým tropickým podnebím, kdy byly testovány účinky bazalky s olivovým olejem a palmovým olejem v různé koncentraci. Směs s olivovým olejem v 30% koncentraci zaznamenala až 97% ochranu proti komárům *Anopheles* (Oparaocha et al. 2010).

Dle testování Conti et al. (2012) významnou ochranu před napadením komárů *Aedes albopictus* poskytuje ovocná šalvěj (*Salvia dorisiana*). Pro výzkum byl použit esenciální olej extrahovaný ze sušených listů rostliny pomocí vzduchu, kdy poskytoval více než 95% ochranu po dobu 90 minut. Výsledky ukázaly, že tento esenciální olej je vhodný k výrobě alternativních repelentů.

V případě skořicovníku (*Cinnamomum*), tymiánu (*Thymus serpyllum*), olivovníku evropského (*Olea europaea*), eukalyptu (*Eucalyptus maculata*), myrty obecné (*Myrtus communis*), aksamitníku menšího (*Tagetes minuta*), rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*) a kurkumy (*Curcuma longa*) se maximální doba repelentního účinku proti komárům *Anopheles* pohybovala od 5,5 hodin do 10 hodin od jejich aplikace (Asadollahi et al. 2019).

Při zkoumání Choocoteho et al. (2007) repeletních účinků éterických olejů z rostlin žlutodrevu pepného (*Zanthoxylum piperitum*), kopru vonného (*Anethum graveolens*) a Maraby galengové (*Kaempferia galanga*), byla zjištěna jejich větší účinnost přidáním vanilinu. Vanilin je jednou z nejdůležitějších aromatických sloučenin používaných v potravinách, nápojích, parfémtech a farmaceutických výrobcích. V průmyslové výrobě je vyráběn v rozsahu více než 10 tisíc tun ročně (Priefert et al. 2001).

4 Metodika

4.1 Komáři

4.1.1 Komáři *Aedes aegypti*

Pro testování podomácku vyrobených repelentů byli vybráni komáři *Aedes aegypti*, kteří jsou pro laboratorní účely chováni v Národní referenční laboratoři pro dezinfekci a deratizaci ve Státním zdravotním ústavu v Praze.

Komáři jsou udržováni při teplotě 27 ± 2 ° C s relativní vlhkostí ≥ 80 % a larvy komárů jsou krmeny peletami pro všežravá laboratorní zvířata.

Dospělí komáři vybráni pro test byli staří 7 – 10 dní a před testováním jim byl podán 10% vodný roztok glukózy (viz Obr. 6).



Obrázek č. 6: Klec s komáry *Aedes aegypti* (Zdroj: autorka práce)

4.2 Repelenty

Návody na přípravu alternativních repelentů byly hledány na internetových stránkách a v místních periodikách. První repelent byl vybrán na stránce iDnes.cz (2014), kde se recept skládá z 10 – 20 g celých kusů hřebíčku a lihového rozpouštědla. Druhý byl převzat ze stránky Bylinářství Maya (2014), kde je doporučován repelent složený ze 100 g sušeného ořešáku v kombinaci s lihovým roztokem. Třetí repelent byl vyroben dle návodu na bylinnou repelentní směs z pelyňku lékařského a octa na stránce Herbalista.cz (2019). Poslední repelent byl ze stránky Slunečný život (2016), kde je složený ze sušeného rozmarýnu a jablečného octa.

Všechny hlavní složky repelentů pro testování - hřebíček (*Syzygium aromaticum*), ořešák (*Juglans regia*), pelyněk lékařský (*Artemisia absinthium*) a rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*) byly získány v suché formě z komerčního zdroje (Bylík, s.r.o., Vrchlabí, Česká republika). Dále byla použita Alpa Francovka, což je lihový bylinný roztok vyráběný místní společností (Alpa, Velké Meziříčí, Česká republika). Výrobce uvádí následující složení: 60% alkohol, mentol, voda, etyl-acetát, ethyl-formiát, parfém, cinnamal, eugenol. Alpa Francovka

se používá jako dezinfekce, proti kloubním bolestem, bolestem zubů, při masážích apod. Poslední použitou surovinou pro přípravu repelentů byl jablečný ocet. Ten je známý především jako ochucovadlo při přípravě pokrmů, má ale také příznivé účinky na lidské zdraví (detoxikační účinky, likviduje nežádoucí střevní bakterie a zrychluje metabolismus).

4.2.1 Příprava repelentů

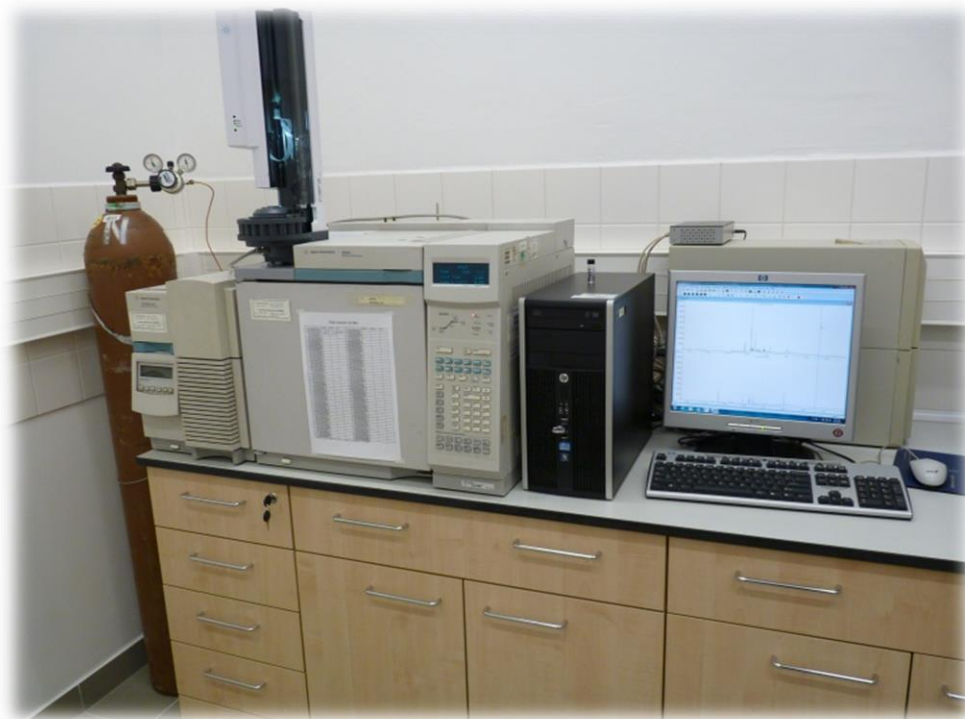
Z listů pelyňku, ořešáku a rozmarýnu byly připraveny tři výluhy. Z každé rostliny bylo použito 100 g listů na 1 litr vroucí vody. Listy se povařily po dobu pěti minut a poté se louhovaly další 4 hodiny, až se teplota směsi ustálila na pokojovou teplotu. V dalším kroku byly odstraněny zbylé pevné části bylin a do roztoku z pelyňku a rozmarýnu byly přidány 4 ml jablečného octa. Výluh z listů ořešáku byl smíchán s Alpou v poměru 1:3.

Při přípravě posledního alternativního repelentu bylo po dobu 7 dní vloženo 20 g celých plodů hřebíčku do 200 ml Alpy. Po vylouhování byly kusy hřebíčku odstraněny. Tento repelent kromě laické veřejnosti propaguje také výrobce francovky - společnost Alpa, a.s.

Všechny připravené repelenty byly skladovány při teplotě 5° C, až do doby zahájení testování.

4.2.2 Plynová chromatografie

Z hlediska zjištění chemického složení daných repelentů a možných alergenů obsažených ve zvolených surovinách byla použita plynová chromatografie (viz Obr. 7). Je to metoda, při které jsou látky separovány mezi dvě fáze, kdy jedná je plynná a mobilní a druhá je kapalná nebo pevná a stacionární. Chromatografie byla provedena v laboratoři na Oddělení pro chemickou bezpečnost výrobků ve Státním zdravotním ústavu.



Obrázek č. 7: Plynová chromatografie (Zdroj: SZÚ)

4.3 Testování

K samotnému testování přistoupilo 10 dobrovolníků – 5 žen a 5 mužů. Před aplikací repelentů si dobrovolníci omyli předloktí neparfémovaným mýdlem, opláchli vodou, poté ošetřili 70% vodným roztokem ethanolu a osušili ručníkem.

Připravené repelenty byly aplikovány ve 2 ml dávkách na kůži v oblasti jednoho předloktí všech zúčastněných. Druhé předloktí zůstalo bez aplikace repelentu. Během testu byly vloženy obě předloktí po dobu 1 minuty do klecí o velikosti 25 x 25 x 30 cm (viz Obr. 8), kde se nacházelo 50 nenakrmených samic komárů *Aedes aegypti*, přičemž byl zaznamenán počet bodnutí (viz Obr. 8). Tento postup se opakoval vždy po 10, 30 a 60 minutách od aplikace repelentu a každý repelent byl jednotlivými dobrovolníky testován dvakrát. Jestliže nebyl v průběhu testování zaznamenán výraznější rozdíl mezi ošetřeným a neošetřeným předloktím, byl test ukončen. Každý repelent byl testován v jiný den a žádný dobrovolník netestoval více než jeden repelent denně.



Obrázek č. 8: Testování repelentů (Zdroj: autorka práce)

4.4 Vyhodnocení výsledků

Po uplynutí dané doby byly zaznamenány výsledky a procentuální účinnost byla vypočtena jako rozdíl mezi ošetřeným předloktí (OP) repelentem a neošetřeným předloktí (NP) dle daného vzorce (viz Vzor. 1). Ke statistickým výpočtům byl použit program Statistica (StatSoft, Praha), kdy byla zvolena jednofaktorová analýza rozptylu Anova a pro podrobnější vyhodnocení Scheffého post hoc test.

$$\text{Účinnost (\%)} = \frac{\text{počet bodnutí NP} - \text{počet bodnutí OP}}{\text{počet bodnutí NP}} \times 100$$

Vzorec č. 1: Procentuální výpočet účinnosti repelentů



Obrázek č. 8: Bodnutí na předloktí od komárů *Aedes aegypti* (Zdroj: autorka práce)

5 Výsledky

Z hlediska chemického složení vykazoval nejbohatší obsah sloučenin vzorec hřebíčku s Alpou (viz Tab. 1), přičemž u vzorku pelyňku v kombinaci s jablečným octem nebyly zjištěny žádné hlavní látky. Pomocí plynové chromatografie bylo zjištěno 7 – 8 složek, které mohou působit jako alergen. Sloučeniny limonen, linalool, benzylalkohol a eugenol byly objeveny ve všech testovaných repelentech (viz Tab. 2).

Tabulka č. 1: Chemické složení repelentů

hřebíček (<i>Syzygium aromaticum</i>) + Alpa Francovka	rozmarýn (<i>Rosmarinus officinalis</i>) + jablečný ocet	ořešák (<i>Juglans regia</i>) + Alpa Francovka
eukalyptol	eukalyptol	eukalyptol
isopulegol	camphol	isopulegol
levomenthol	kafr	terpinylacetát
methylsalicylát	verbenon	mentol
bornylacetát	terpineol	-
copaene	koniferol	-
chavikol	-	-
terpinylacetát	-	-
vanilin	-	-
caryophyllen oxid	-	-
eugenolacetát	-	-
humulen	-	-
caryophyllen	-	-
mentol	-	-

Tabulka č. 2: Obsah alergenů v testovaných vzorcích

Alergen	Repelent			
	hřebíček (<i>Syzygium a.</i>) + Alpa Francovka	rozmarýn (<i>Rosmarinus o.</i>) + jablečný ocet	ořešák (<i>Juglans r.</i>) + Alpa Francovka	pelyněk I. (<i>Artemisia a.</i>) + jablečný ocet
limonen	✓	✓	✓	✓
linalool	✓	✓	✓	✓
benzylalkohol	✓	✓	✓	✓
cinnamaldehyd	✓	✓		
anise alcohol			✓	
eugenol	✓	✓	✓	✓
isoeugenol	✓		✓	✓
kumarin			✓	✓
benzyl benzoát	✓	✓		
benzyl salicylát	✓	✓		

5.1 Tabulky s výsledky účinnosti repelentů

Následující tabulky ukazují výsledky testování jednotlivých, podomácku vyrobených repelentů po uplynutí doby 10, 30 a 60 minut.

Výsledky testu prokázaly repelentní účinek pouze u směsí hřebíčku a listů ořešáku s lihovým bylinným roztokem Alpa (viz Tab. 3, 4). Tyto repelenty po deseti minutách od aplikace vykazovaly počáteční účinek 49,0 % respektive 73,1 %. Další dva vzorky (výluhy z pelyňku a rozmarýnu) neprokázaly významnější repelentní účinek, a proto bylo jejich testování po 10 minutách ukončeno (viz Tab. 5, 6).

Tabulka č. 3: Repelentní účinnost hřebíčku (*Syzygium aromaticum*) a Alpy Francovky proti komárům *Aedes aegypti* a celkový počet bodnutí na ošetřeném předloktí (OP) a neošetřeném předloktí (NP).

Doba od aplikace repelentu (min.)	Počet bodnutí (OP / NP)	Repelentní účinek (%)
10	71/263	73,1±18,6
30	122/240	46,5±24,4
60	186/268	30,3±17,2

Tabulka č. 4: Repelentní účinnost výluhu z listů ořešáku (*Juglans regia*) a Alpy Francovky proti komárům *Aedes aegypti* a celkový počet bodnutí na ošetřeném předloktí (OP) a neošetřeném předloktí (NP).

Doba od aplikace repelentu (min.)	Počet bodnutí (OP / NP)	Repelentní účinek (%)
10	127/249	49,0±19,2
30	198/301	34,3±17,0
60	255/275	18,2±17,4

Tabulka č. 5: Repelentní účinnost rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*) a jablečného octa proti komárům *Aedes aegypti* a celkový počet bodnutí na ošetřeném předloktí (OP) a neošetřeném předloktí (NP).

Doba od aplikace repelentu (min.)	Počet bodnutí (OP / NP)	Repelentní účinek (%)
10	232/234	≤10
30	X	X
60	X	X

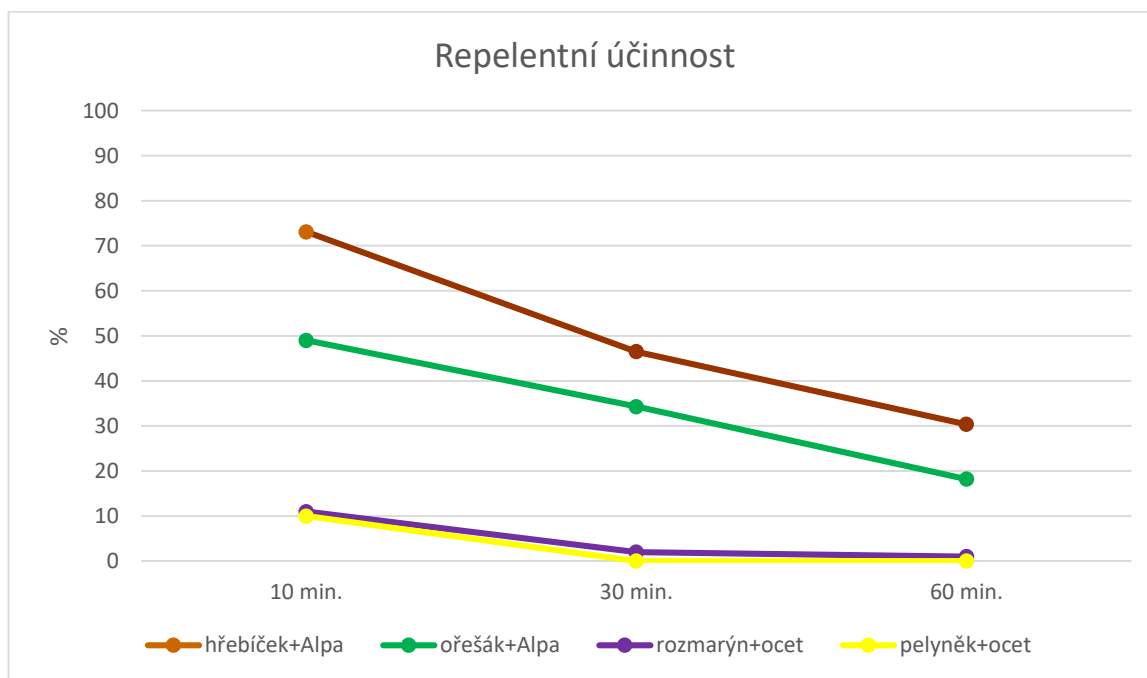
Tabulka č. 6: Repelentní účinnost pelyňku lékařského (*Artemisia absinthium*) a jablečného octa proti komárům *Aedes aegypti* a celkový počet bodnutí na ošetřeném předloktí (OP) a neošetřeném předloktí (NP).

Doba od aplikace repelentu (min.)	Počet bodnutí (OP / NP)	Repelentní účinek (%)
10	184/202	≤10
30	X	X
60	X	X

5.2 Grafické porovnání testovaných repelentů

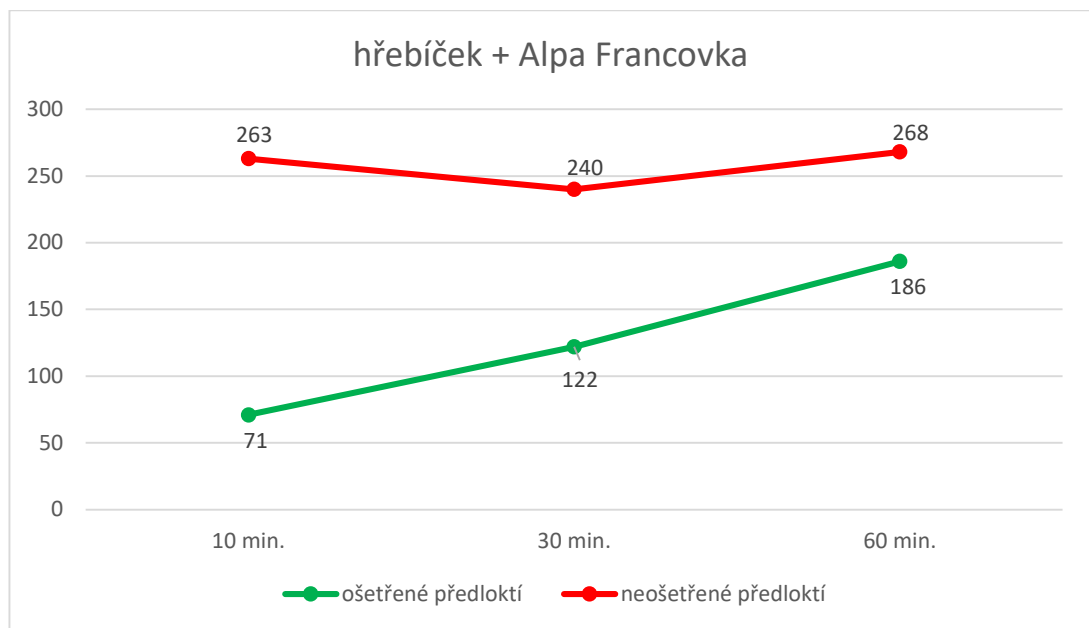
Výsledky pokusu byly pro lepší orientaci vyzobrazeny také v grafické podobě.

Graf č. 1: Porovnání účinnosti repelentů proti komárům *Aedes aegypti*.



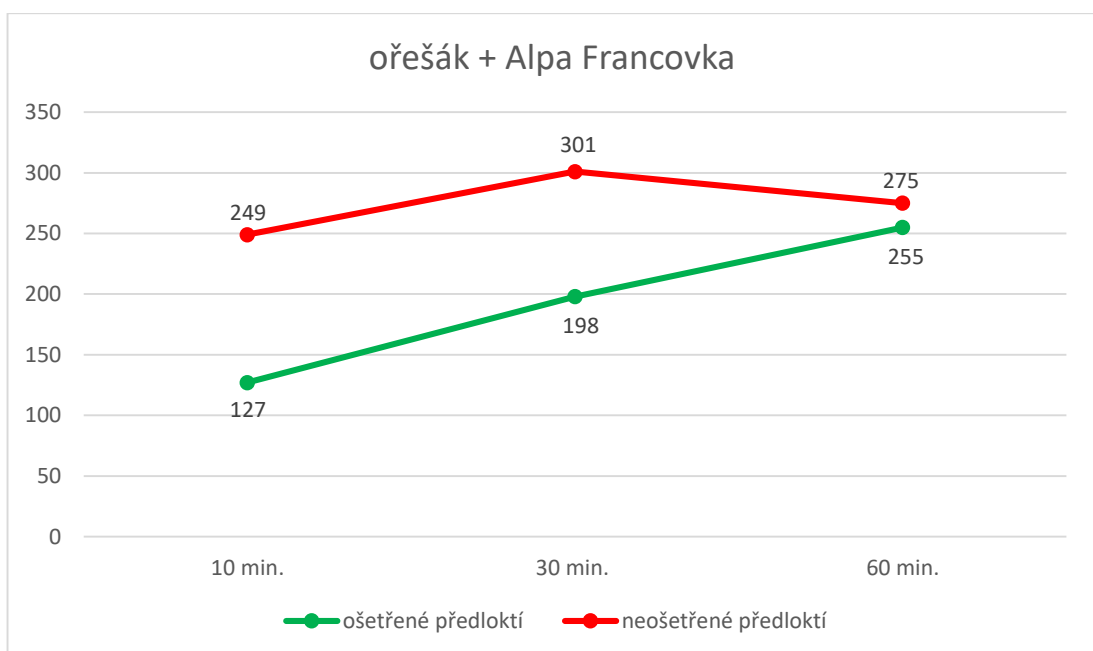
V grafu č. 1 byla zaznačena vždy nejvyšší zaznamenaná účinnost jednotlivých repelentů. Dle zaznamenaných výsledků bylo zjištěno, že největší repelentní účinek má alternativní repelent složen z hřebíčku a Alpy. Ovšem po uplynutí třiceti minut začala jeho účinnost výrazně klesat a z původní ochrany přes 70 %, po šedesáti minutách klesla na 30 %. Druhý nejvyšší účinek byl zaznamenan u směsi výluhu z ořešáku a Alpy, kdy z počátku byl téměř 50% a poté, podobně jako u prvního repelentu, se začal účinek snižovat. Zbývající dva repelenty (směs rozmarýnu s jabl. octem a pelyňku s jabl. octem) byly prakticky od samého začátku bez repelentních vlastností, kdy po deseti minutách nevykazovaly účinnost vyšší než 10 %, a proto bylo jejich další testování ukončeno.

Graf č. 2: Celkový počet bodnutí na ošetřeném a neošetřeném předloktí repelentem (n = 10).



V grafu č. 2 jsou zaznačeny údaje o celkovém počtu bodnutí *Aedes aegypti* při testování alternativního repelentu složeného z hřebíčku a Alpy Francovky. Po deseti minutách od aplikace repelentu byl rozdíl mezi ošetřeným a neošetřeným předloktí znatelný. Po třiceti minutách začal počet bodnutí na ošetřeném předloktí výrazně stoupat a po šedesáti minutách se zvýšil téměř na dvojnásobek.

Graf č. 3: Celkový počet bodnutí na ošetřeném a neošetřeném předloktí repelentem (n = 10).



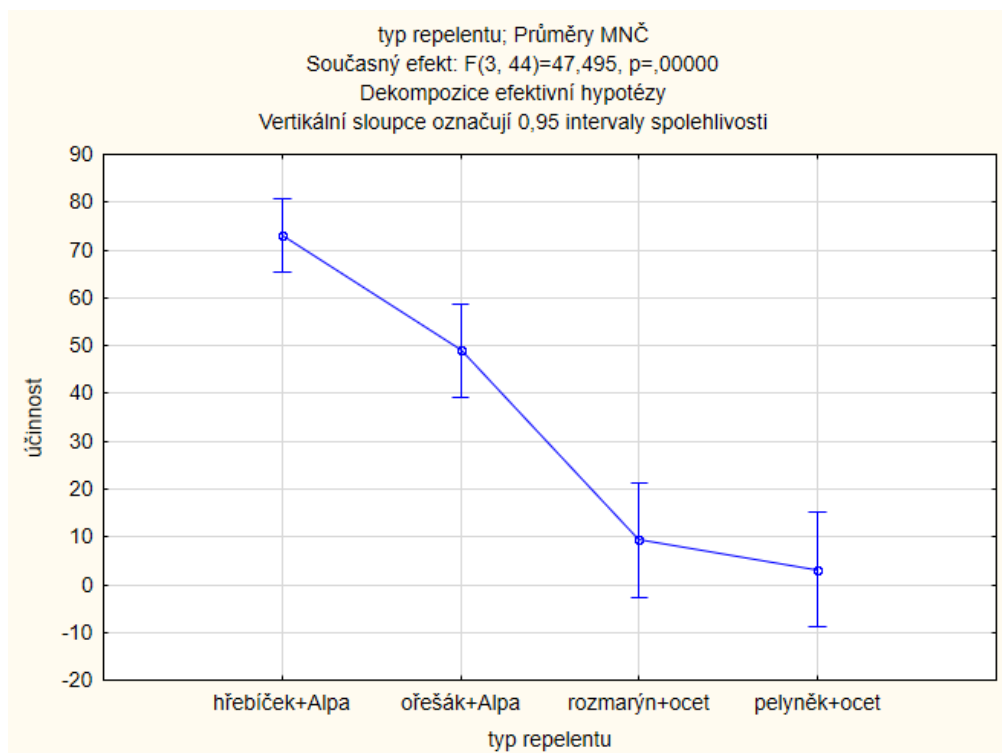
Graf č. 3 ukazuje rozdíl mezi počtem bodnutí samicemi *Aedes aegypti* na předloktí ošetřených repelentem z ořešáku a Alpy a neošetřených předloktí. Po deseti minutách od aplikace repelentu byl jeho účinek zaznamenán, po šedesáti minutách počet bodnutí ale výrazně stoupl a byl téměř totožný jako na předloktí bez aplikace repelentu.

5.3 Statistické vyhodnocení pokusu

5.3.1 Podrobné vyhodnocení účinnosti jednotlivých repelentů v čase

Po uplynutí deseti minut od aplikace repelentu byla nejslabší repelentní účinnost zjištěna u rozmarýnu a pelyňku lékařského v kombinaci s jablečným octem (viz Graf 4), kdy ani jeden z nich nevykazoval účinnost vyšší než 10 % a oba se od výsledků zbývajících repelentů významně lišily. Statisticky významný rozdíl byl i mezi repelenty připravenými v kombinaci s Alpou Francovkou (viz Tab. 7).

Graf č. 4: Analýza účinnosti testovaných repelentů po 10 minutách.

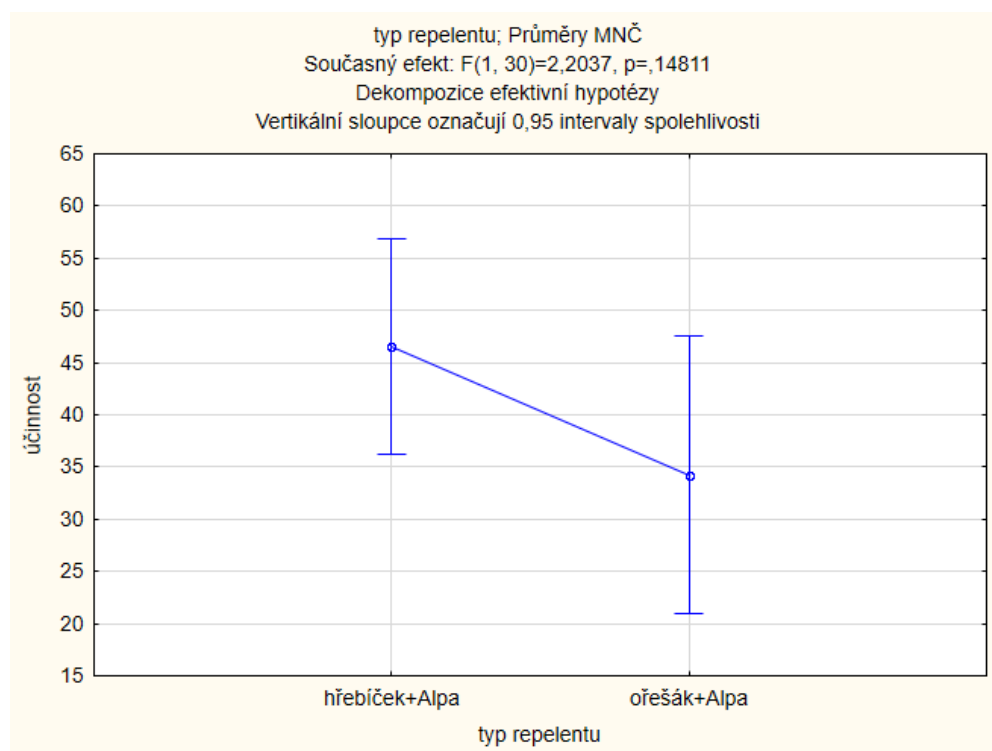


Tabulka č. 7: Vliv jednotlivých typů repelentů na účinnost testovaných přípravků 10 minut po aplikaci.

Scheffeho test; proměnná účinnost (Výsledky všechny)					
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy					
Chyba: meziskup. PČ = 282,04, sv = 44,000					
Č. buňky	typ repelentu	{1}	{2}	{3}	{4}
		73,123	48,983	9,3750	3,1250
1	hřebíček+Alpa		0,003810	0,000000	0,000000
2	ořešák+Alpa	0,003810		0,000101	0,000008
3	rozmarýn+ocet	0,000000	0,000101		0,906263
4	pelyněk+ocet	0,000000	0,000008	0,906263	

V dalších časových intervalech byly porovnávány pouze repelenty z hřebíčku a ořešáku v kombinaci s Alpa, ale také u nich nastal po 30 minutách od jejich aplikace pokles účinnosti. V tomto intervale neexistoval v účinnosti těchto repelentů statisticky významný rozdíl (viz Graf 5, Tab. 8).

Graf č. 5: Analýza účinnosti testovaných repelentů po 30 minutách.

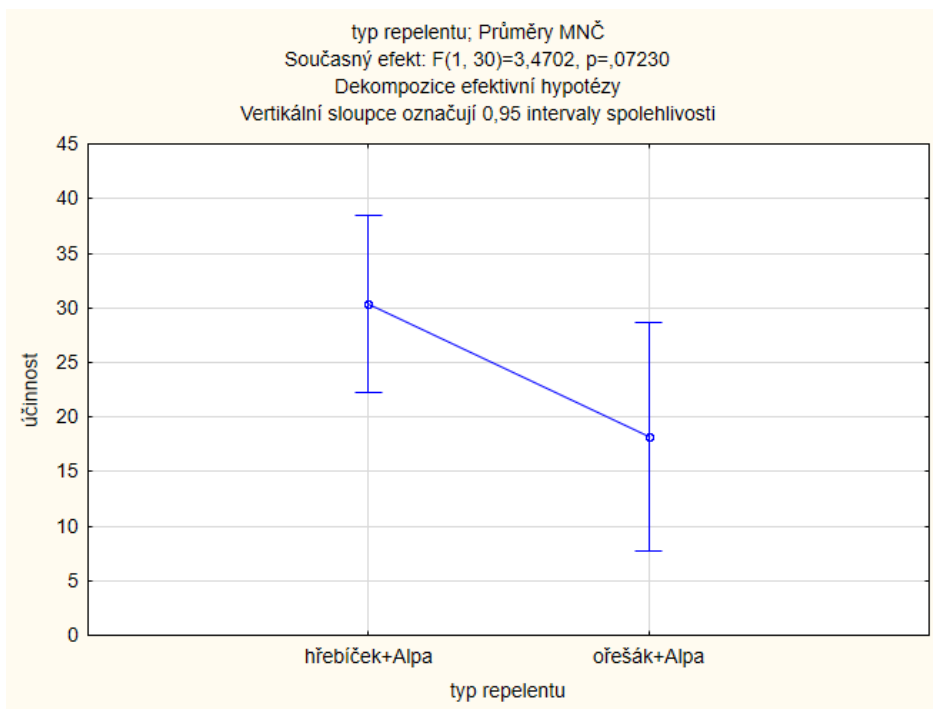


Tabulka č. 8: Vliv jednotlivých typů repelentů na účinnost testovaných přípravků 30 minut po aplikaci.

Scheffeho test; proměnná účinnost (Výsledky všechny) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 512,62, sv = 30,000			
Č. buňky	typ repelentu	{1}	{2}
1	hřebíček+Alpa	46,539	34,267
2	ořešák+Alpa	0,148109	

Po uplynutí šedesáti minut byl zaznamenán další pokles účinnosti repelentů (viz Graf 6) zmíněných výše, přičemž statisticky se mezi sebou repelenty z hřebíčku a Alpy a ořešáku a Alpy opět nelišily (viz Tab. 9).

Graf č. 6: Analýza účinnosti testovaných repelentů po 60 minutách.



Tabulka č. 9: Vliv jednotlivých typů repelentů na účinnost testovaných přípravků 60 minut po aplikaci.

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná účinnost (Výsledky všechny) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 315,14, sv = 30,000		
	typ repelentu	{1}	{2}
1	hřebíček+Alpa	30,317	18,242
2	ořešák+Alpa	0,072301	0,072301

6 Diskuze

V rámci této práce byly zkoumány repelentní účinky podomácku vyrobených repelentů proti komárům *Aedes aegypti*. Repelenty byly složeny z hřebíčku a Alpy Francovky, nálevu z listů ořešáku a Alpy Francovky, výluhu rozmarýnu a jablečného octa a výluhu pelyňku lékařského a jablečného octa. Laboratorní testování probíhalo po aplikaci jednotlivých repelentů na předloktí dobrovolníků, kdy bylo vloženo do klece se samicemi *Aedes aegypti* a poté byl porovnán počet bodnutí na předloktí ošetřeném repelentem a neošetřeném předloktí („arm-in-cage“). Měření probíhalo vždy po deseti minutách od aplikace repelentu, a pokud vykazoval významnější účinnost, pokračovalo se dále v jeho testování po třiceti a šedesáti minutách, poté bylo ukončeno. Jednotlivé měření trvalo vždy po dobu jedné minuty.

Výsledky ukázaly repelentní účinnost u hřebíčku a ořešáku, oba v kombinaci s Alpou Francovkou. U repelentů z rozmarýnu a pelyňku v kombinaci s jablečným octem nebyl po deseti minutách zaznamenán významnější účinek, a proto se v testování těchto repelentů dále nepokračovalo. Oproti syntetickým repelentům vykazovaly alternativní repelenty krátkodobou ochranu a nižší účinnost, čímž se potvrdil předpoklad, že alternativní podomácku vyrobené repelenty nejsou příliš stabilní.

Hřebíček a Alpa Francovka

Mezi testovanými podomácku vyrobenými repelenty v rámci této práce měl tento repelent nejvyšší účinek. Po deseti minutách od aplikace vykazoval 73,1% repelentní účinek, který byl ale krátkodobý a po šedesáti minutách byl již pouze 30,3%. Proto tento repelent nelze doporučit k dlouhodobé a spolehlivé ochraně před komáry.

Navzdory těmto výsledkům patří hřebíček mezi nejdoporučovanější surovinu pro výrobu alternativních repelentů. Asadollahi et al. (2019) popsal rozsáhlé testování hřebíčku v různých koncentracích proti druhům *Anopheles*, kdy bylo zjištěno, že nejdelší ochranu poskytoval 20% gel z hřebíčku a to až po dobu 4,5 hodin. Dále 100% hřebíčkový éterický olej poskytl úplnou ochranu před komáry na 3,55 hodin. Ostatní výsledky testování prokázaly

kratší dobu ochrany s nižší dosaženou účinností, což ve shodě s výsledky této práce potvrzuje, že hřebíček lze považovat za repelent, ovšem s omezenými možnostmi využití.

Toto tvrzení podporuje ve své studii i Tan et al. (2019), který porovnával účinnost alkoholového extraktu z hřebíčku s DEETem. K výrobě extraktu použil 5x větší množství surovin, než je doporučováno a poté přidal dětský olej, aby se zabránilo vsakování do kůže. Výsledky ukázaly významně nižší repelentní ochranu repelentu z hřebíčku v porovnání s 1-% DEETem.

Porovnání repelentu z hřebíčku, alkoholu a madlového oleje se syntetickým repelentem picaridin provedl také Miot et al. (2011), jehož výsledky ukázaly, že alternativní repelent nevykazoval prakticky žádné repelentní účinky a tudíž jej nelze považovat za alternativu k picaridinu.

Dle zkoumání Cortés-Rojase et al. (2014) a Tana et al. (2019) je repelentní účinek způsoben eugenolem, který je hlavní složkou hřebíčku.

Na základě všech testů je patrné, že hřebíček má repelentní účinky, ale není vhodným řešením jej louhovat v alkoholu.

Ořešák a Alpa Francovka

Alternativní repelent složek z ořešáku a Alpy Francovky vykazoval mírný repelentní účinek. Vzhledem k tomu, že o repelentním účinku ořešákového mixu s Alpou není v odborné literatuře zmínka, lze v tomto případě diskutovat pouze jiné biorepelenty s podobnými účinnými látkami.

Významnou složkou tohoto testovaného repelentu je eukalyptol, který je hlavní složkou eukalyptu (*Eucalyptus maculata*). Asadollahi et al. (2019) popsal účinek různých poddruhů eukalyptu, kdy proti komárům *Anopheles* nejlepší ochranu poskytnul eukalyptus úzkolistý, eukalyptus citrónový a eukalyptus širokolistý, která trvala až po dobu 8 hodin.

Další významnou složkou tohoto přípravku je mentol, který je obsažen v oleji máty peprné (*Mentha piperita*). Na základě zkoumání Kumara et al. (2011) byl kromě larvicidního účinku extrahovaného esenciálního oleje z máty prokázán také repelentní účinek, který poskytnul 100% ochranu proti komárům *Aedes aegypti* do 150 minut od aplikace. Podobné výsledky prokázalo testování Ansariho et al. (2000) proti komárům *Anopheles* a *Culex*. Nejdelší ochranu proti komárům *Anopheles* při zkoumání repelentních účinků máty peprné zaznamenal Asadollahi et al. (2019) a to až po dobu 11 hodin.

Rozmarýn a jablečný ocet

Limonen a kafr jsou podle Gillije et al. (2008) složkami rozmarýnu, které jsou odpovědné za repelentní účinky proti komárům. Další významnou složkou rozmarýnu, je stejně jako v případě ořešáku, eukalyptol, který vykazuje repelentní účinky.

Pratiwi & Purwati (2021) zkoumali účinky gelového přípravku získaného z éterického oleje rozmarýnu proti komárům *Aedes aegypti*. Přípravek v 24% koncentraci měl průměrnou repelentní účinnost 92,15 % až po dobu 4 hodin. Tento výsledek testování se výrazně liší s výsledky této práce, kdy repelent z výluhu rozmarýnu v kombinaci s jablečným octem

prakticky nevykazoval žádné repelentní účinky. Repelent ve formě gelu patrně vydrží déle na pokožce a neztrácí svou účinnost tak rychle, jako když je naředěný s octem.

Jak ukazuje např. studie Laojuna & Chaiphongpachary (2020), rozmarýnový olej vykazuje také larvicidní účinky.

Pelyněk lékařský a jablečný ocet

Podobně jako repelent z rozmarýnu ani repelent složený z pelyňku lékařského a jablečného octa nevykazoval repelentní účinky. Účinek po 10 minutách od aplikace nepřesáhl 10 %, a proto bylo další testování bezpředmětné.

Dle laboratorního rozboru chemického složení nebyly u pelyňku lékařského zjištěny žádné majoritní chemické látky, a tudíž nelze stanovit potenciální látky s repelentními účinky.

Pelyněk lékařský dle zkoumání Govindarajana & Benelliho (2016) vykazuje významnou larvicidní aktivitu u komárů *Aedes* a *Anopheles*.

Syntetické repelenty

Oproti alternativním repelentům, syntetické preparáty poskytují dlouhodobou a spolehlivou ochranu proti různým druhům komárů. Účinnost DEETu, který je považován za nejúčinnější repelent, je předmětem mnoha testování. Např. dle zkoumání Mbuby et al. (2021) 20% DEET poskytuje ochranu proti komárům *Aedes aegypti* delší než 7 hodin. Rozsáhlé testování DEETu v různých koncentracích provedl Lupi et al. (2013), které prokázalo dobu repelentní účinnosti proti *Aedes aegypti* při nízkých koncentracích (4 % - 15 %) mezi 1 – 7,5 hodinami. Oproti tomu DEET v koncentracích mezi 19 % - 25 % repeloval tento druh komárů až po dobu 9,7 hodin. Účinek 10% DEETu zkoumal Misni et al. (2008), kde byla prokázána jeho 100% ochrana na dobu 4 hodin proti samicím *A. aegypti*.

Dalším účinným syntetickým repelentem je IR3535, který zpravidla vykazuje podobnou dobu ochrany jako DEET. Výsledky testování Grisona et al. (2020) potvrzují, že 20% koncentrace IR3535 poskytuje úplnou ochranu před komáry *Aedes aegypti* 7 – 10 hodin od jeho aplikace. Také zkoumání Nauckeho et al. (2007) ukazuje dlouhodobou ochranu před těmito komáry, kdy IR3535 v koncentracích 10 % a 20 % repeloval v průměru 6 hodin. Téměř shodné výsledky popisuje Fauser et al. (2020), kdy 15% IR3535 dokázal ochránit před *A. aegypti* po dobu 6 hodin a 10% po dobu 5,9 hodin.

Za alternativu DEETu a IR3535 je považován picaridin. Dle Fausera et al. (2020) poskytl ochranu v 20% koncentraci před komáry *Aedes aegypti* až po dobu 6,8 hodin a v 10% koncentraci o hodinu méně. Rozsáhlé porovnávání účinnosti DEETu a picaridinu, které provedli Goodyer & Schofield (2018), ukázalo, že doba jejich účinku je srovnatelná.

Přestože tato studie ukázala, že dvě ze čtyř testovaných směsí se chovají jako repelenty (tzn. odpuzují členovce od jejich úmyslu sát na člověku), je z výše uvedených odstavců patrné, že syntetické repelenty mají vysokou a stabilní repelentní účinnost proti komárům, ke které se efektivita podomácku vyrobených repelentů testovaných v této studii nepřiblížila.

7 Závěr

Dva ze čtyř testovaných repelentů vykazovaly určitou repelentní účinnost, což dokazuje rozdíl mezi počtem bodnutí samic komárů *Aedes aegypti* na ošetřeném předloktí repelentem zúčastněných dobrovolníků oproti neošetřenému předloktí.

Nejvyšší účinek byl zaznamenán u repelentu složeného z hřebíčku a Alpy Francovky, který také obsahoval nejvyšší množství bioaktivních látek. Repelentní účinek vykazoval také repelent složen z ořešáku a Alpy Francovky. Oproti syntetickým přípravkům, které při laboratorních testech běžně dosahují účinnosti v řádu hodin, je repelence těchto alternativních repelentů nízká a doba působení je výrazně kratší.

Na základě výsledků testování lze konstatovat, že hypotéza „Podomácku vyrobené repelenty mají určitý repelentní účinek, není ovšem tak stabilní jako u syntetických preparátů“ byla potvrzena. Z diskuze výsledků se studii jiných autorů bylo dále zjištěno, že všechny testované rostliny mají potenciál být alternativami v oblasti osobní ochrany, ovšem aby byly dostatečně funkční, vyžadují jinou technologii přípravy, než je popisována v dostupných návodech propagovaných českými médii.

Repelent, který jako hlavní složku obsahuje výluh z ořešáku, a především ten, s obsahem hřebíčkového extraktu lze považovat za alternativní krátkodobou ochranu proti komárům. Nejde ale o spolehlivou ochranu a jejich použití není vhodné v rizikových oblastech z hlediska přenosu patogenů komáry.

Citlivější jedinci k dermatologickým potížím by měli zvážit aplikaci těchto repelentů z důvodu prokázané přítomnosti potenciálních alergenů.

8 Literatura

- Ansari MA, Vasudevan P, Tandon M, Razdan RK. 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology* **71(3)**: 267-271.
- Asadollahi A, Khoobdel M, Zahraei-Ramazani A, Azarmi S, Mosawi SH. 2019. Effectiveness of plant-based repellents against different *Anopheles* species: a systematic review. *Malaria Journal* **18(1)**: 1-20.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology* **46(2)**: 446-475.
- Barredo E, DeGennaro M. 2020. Not Just from Blood: Mosquito Nutrient Acquisition from Nectar Sources. *Trends in Parasitology* **36(5)**: 473-484.
- Becker N, Petrić D, Zgomba M, Boase C, Minoo M, Dahl Ch, Kaiser A. 2010. Medical importance of Mosquitoes. Pages 25-42 in Becker N, editor. *Mosquitoes and their control*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Blažejová H, Šebesta O, Rettich F, Mendel J, Čabanová V, Miterpáková M, Betášová L, Peško J, Hubálek Z, Kampen H, Rudolf I. 2018. Cryptic species *Anopheles daciae* (Diptera: Culicidae) found in Czech republic and Slovakia. *Parasitology Research* **117**: 315-321.
- Bonizzoni M, Gasperi G, Chen X, James AA. 2013. The invasive mosquito species *Aedes Albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends in Parasitology* **29(9)**: 460-468.
- Boyce R, Lenhart A, Kroeger A, Velayudhan R, Roberts B, Horstick O. 2013. *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* for the control of dengue vectors: systematic literature review. *Tropical medicine & International Health* **18(5)**: 564-577.
- Bylinářství Maya. 2014. Domácí repelenty proti komárům, klíšťatům apod. Available from <https://www.bylinarstvi-maya.cz/news/domaci-repelent-proti-komarum-klisatam-apod/>.
- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. 2002. West Nile virus. *THE LANCET Infectious Diseases* **2(9)**: 519-529.
- Carroll SP, Venturino J, Davies JH. 2019. A Milestone In Botanical Mosquito Repellents: Novel PMD-Based Formulation Protects More Than Twice As Long As High-Concentration Deet and Other Leading Products. *Journal of the American Mosquito Control Association* **35(3)**: 186–191.

- CDC. 2020. Life Cycle of *Culex* Species Mosquitoes. Centers for Disease Control and Prevention. Available from <https://www.cdc.gov/mosquitoes/about/life-cycles/culex.html>.
- Cilek JE, Petersen JL, Hallmon CF. 2004. Comparative Efficacy of IR3535 and DEET as Repellents against Adult *Aedes aegypti* and *Culex Quinquefasciatus*. Journal of the American Mosquito Control Association **20(3)**: 299-304.
- Conti B, Benelli G, Leonardi M, Afifi FU, Cervelli C, Profeti R, Pistelli L, Canale A. 2012. Repellent effects of *Salvia dorisiana*, *S. longifolia*, and *S. sclarea* (Lamiaceae) essential oils against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). Parasitology Research **111**: 291-299.
- Cortés-Rojas DF, Fernandes de Souza CR, Pereira Oliveira W. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine **4(2)**: 90-96.
- Debboun M, Frances SP, Strickman D. 2007. Insect repellents: Principles, Methods, and Uses. CRC Press. USA.
- de Souza MA, da Silva L, Macêdo MJF, Lacerda-Neto LJ, dos Santos MAC, Coutinho HDM, Cunha FAB. 2019. Adulticide and repellent activity of essential oils against *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) – A review. South African Journal of Botany **124**: 160-165.
- Dhanze H, Suman Kumar M, Singh V, Gupta M, Bhilegaonkar KN, Kumar A, Mishra BP, Singh RK. 2020. Detection of recent infection of Japanese encephalitis virus in swine population using IgM ELISA: A suitable sentinel to predict infection in humans. Journal of Immunological Methods **486**: 112848.
- Drahošová L, Želazko T. 2018. Žlutá zimnice poprvé v Česku. AGEL a.s. Available from <https://www.nasagel.cz/ze-skupiny/zdravotni-tema/1806-zluta-zimnice.html>.
- ECDC. 2016. *Aedes aegypti* – factsheet for experts. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-aegypti>.
- ECDC. 2016. *Aedes albopictus* - factsheet for experts. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/aedes-albopictus>.
- ECDC. 2020. *Culex Pipiens* – factsheet for experts. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/disease-vectors/facts/mosquito-factsheets/culex-pipiens-factsheet-experts>.
- ECDC. 2020. Factsheet about chikungunya. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from <https://www.ecdc.europa.eu/en/chikungunya/facts/factsheet>.

- Edwin-Wosu NL, Okiwelu SN, Noutcha MAE. 2013. Traditional sources of mosquito repellents in southeast Nigeria. *JBiopest* **6(2)**: 104-107.
- Fauser ZP, Colonetti T, Grande AJ, Rodrigues Uggioni ML, Roever L, da Rosa MI. 2020. Efficacy of the DEET, IR3535, and Picaridin Topical Use Against *Aedes Aegypti*. *Infectious Diseases in Clinical Practice* **28(6)**: 327-341.
- Fischer L, Gültekin N, Kaelin MB, Fehr J, Schlagenhauf P. 2020. Rising temperature and its impact on receptivity to malaria transmission in Europe: A systematic review. *Travel Medicine and Infectious Disease* **36**: 101815.
- Foster WA, Walker ED. 2019. Chapter 15 – Mosquitoes (Culicidae). *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)* 261-325.
- Gibson G, Russell I. 2006. Flying in Tune: Sexual Recognition in Mosquitoes. *Current Biology* **16(13)**: 1311-1316.
- Gillij YG, Gleiser RM, Zygadlo JA. 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology* **99(7)**: 2507-2515.
- Gomes B, Sousa CA, Vicente JL, Pinho L, Calderón I, Arez E, Almeida APG, Donnelly MJ, Pinto J. 2013. Feeding patterns of molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in a region of high hybridization. *Parasites & Vectors* **6(93)**. DOI: 10.1186/1756-3305-6-93.
- Goodyer L, Schofield S. 2018. Mosquito repellents for the traveller: does picaridin provide longer protection than DEET? *Journal of Travel Medicine* **25(1)**: S10-S15.
- Govere J, Durrheim DN, Baker L, Hunt R, Coetzee M. 2008. Efficacy of three insect repellents against the malaria vector *Anopheles arabiensis*. *Medical and Veterinary Entomology* **14(4)**: 441-444.
- Govindarajan M, Benelli G. 2016. *Artemisia absinthium*-borne compounds as novel larvicides: effectiveness against six mosquito vectors and acute toxicity on non-target aquatic organisms. *Parasitology Research* **115**: 4649-4661.
- Grison C, Carrasco D, Pelissier F, Moderc A. 2020. Reflexion on Bio-Sourced Mosquito Repellents: Nature, Activity, and Preparation. *Frontiers in Ecology Evolution* DOI: 10.3389/fevo.2020.00008.
- Holt RA, Subramanian GM, Halpern A, Sutton GG, Charlab R, Nusskern DR. 2002. The Genome Sequence of the Malaria Mosquito *Anopheles gambiae*. *Science* **298(5591)**: 129-149.

- Chang V, Meuti ME. 2020. Circadian transcription factors differentially regulate features of the adult overwintering diapause in the Northern house mosquito, *Culex pipiens*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **121**: 103365.
- Choochote W, Chaithong U, Kamsuk K, Jitpakdi A, Tippawangkosol P, Tuetun B, Champakaew D, Pitasawat B. 2007. *Fitoterapia* **78(5)**: 359-364.
- iDnes.cz. 2014. Otestovali jsme domácí repelenty a nechali se poštípat za vás. Available from https://www.idnes.cz/hobby/domov/recepty-na-domaci-repelenty.A140728_131312_hobby-domov_mce.
- Kalita B, Bora S, Sharma AK. 2013. Plant Essential Oils as Mosquito Repellent-A Review. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences* **3(1)**: 715-721.
- Kong XQ, Wu CW. 2010. Mosquito proboscis: An elegant biomicroelectromechanical system. *Physical Review* **82(1)**: 011910.
- Kubínyiová M, Kynčl J. 2007. Aktuálně o výskytu onemocnění Chikungunya. *Zprávy CEM* **16(9)**: 407-409.
- Kumar S, Wahab N, Warikoo R. 2011. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **1(2)**: 85-88.
- Kümpel P, Petráš M. 2006. Očkování před cestou do zahraničí. *Medicína pro praxi* **3**: 115-117.
- Laojun S, Chaiphongpachara T. 2020. Comparative study of larvicidal activity of commercial essential oils from aromatic rosemary, vanilla, and spearmint against the mosquito *Aedes aegypti*. *Biodiversitas* **21(6)**: 2383-2389.
- Lee MY. 2018. Essential Oils as Repellents against Arthropods. *BioMed Research International* (6860271) DOI: 10.1155/2018/6860271.
- Lupi E, Hatz CH, Schlagenhaut P. 2013. The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. – A literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease* **11(6)**: 374-411.
- Naucke TJ, Kröpke R, Benner G, Schulz J, Wittern KP, Rose A, Kröckel U, Grünewald HW. 2007. Field evaluation of the efficacy of proprietary repellent formulations with IR3535® and Picaridin against *Aedes aegypti*. *Parasitology Research* **101(1)**: 169-177.
- Neasfey DE, Waterhouse RM, Abai MR, Aganezov SS, Alekseyev MA. 2015. Highly evolvable malaria vectors: The genomes of 16 *Anopheles* mosquitoes. *Science* **347(6217)**: 1258522.

- Mbuba E, Odufuwa OG, Tenywa FC, Philipo R, Tambwe MM, Swai JK, Moore JD, Moore SJ. 2021. Single blinded semi-field evaluation of MAÏA® topical repellent ointment compared to unformulated 20% DEET against *Anopheles gambiae*, *Anopheles arabiensis* and *Aedes aegypti* in Tanzania. *Malaria Journal* **20(12)** DOI: 10.1186/s12936-020-03461-9.
- Misni N, Sulaiman S, Othman H. 2008. The Repellent Activity of *Piper aduncum* Linn (Family: Piperaceae) Essential Oil against *Aedes Aegypti* Using Human Volunteers. *The Journal of Tropical Medicine and Parasitology* **31(2)**: 63-69.
- Miot AH, Lauterbach G, Ribeiro FAH, Júnior ELF, Hercos GN, Madeira NG, Junior VH. 2011. Scielo. Comparison among homemade repellents made with cloves, picaridin, andiroba, and soybean oil against *Aedes aegypti* bites. *Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **44(6)**: 793-794.
- Monath TP. 2001. Yellow fever: an update. *THE LANCET Infectious Diseases* **1(1)**: 11-20.
- Oliveira de Morais LM, Jussiani EI, Zequi JAC, Reis PJ, Andrello AC. 2019. Morphological study of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) eggs by X-ray computed microtomography. *Micron* **126**: 102734.
- Oparaocha ET, Iwu I, Ahanaku JE. 2010. Preliminary study on mosquito repellent and mosquitocidal activities of *Ocimum gratissimum* (L.) grown in eastern Nigeria. *Journal of vector borne diseases* **47(1)**: 45–50.
- Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D. 2009. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. *Microbes and Infection* **11(14-15)**: 1177-1185.
- Pratiwi MAM, Purwati. 2021. The Repellent Activity Test of Rosemary Leaf (*Rosmarinus officinalis* L) Essential Oil Gel Preparations Influence on *Aedes aegypti* Mosquito. *Journal of Physics: Conference series* **1788**: 012016.
- Priefert H, Rabenhorst J, Steinbüchel A. 2001. Biotechnological production of vanillin. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**: 296-314.
- Raghavendra K, Barik TK, Reddy BPN, Sharma P, Dash AP. 2011. Malaria vector control: from past to future. *Parasitology Research* **108**: 757-779.
- Rettich F, Kulma M. 2018. The invasive mosquito *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) firstly recorded in Bohemia, Czech republic. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie: casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii Ceske lekarske spolecnosti J.E. Purkyne* **67(1)**: 32-35.

- Rettich F, Imrichová K, Rudolf I, Betášová L, Mendel J, Hubálek Z, Šikutová S. 2019. Virus západonilské horečky (linie 2) zjištěn v komárech *Culex modestus* na Třeboňsku. Zprávy CEM **28(2)**: 64-66.
- Rios LM, Connelly CR. 2007. Common name: common malaria mosquito scientific name: *Anopheles quadrimaculatus* Say (Insecta: Diptera: Culicidae). Available from http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/Anopheles_quadrimaculatus.htm.
- Rogers K. 2019. Zika fever. Encyclopedia Britannica. Available from <https://www.britannica.com/science/Zika-fever>.
- Rudolf I, Rettich F, Betášová L, Imrichová K, Mendel J, Hubálek Z, Šikutová S. 2019. West Nile virus (lineage 2) detected for the first time in mosquitoes in Southern Bohemia: new WNV endemic area? Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie: Casopis Spolecnosti pro Epidemiologii a Mikrobiologii Ceske Lekarske Spolecnosti J.E. Purkyne **68(3)**: 150-153.
- Tan K, Fainerstein GB, Xu P, Barbosa RMR, Buss GK, Leal WS. 2019. A popular Indian clove-based mosquito repellent is less effective against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* than DEET. PLOS ONE (e224810) DOI: 10.1371/journal.pone.0224810.
- Salami D, Capinha C, Martins MRO, Sousa CA. 2020. Dengue importation into Europe: A network connectivity-based approach. PLOS ONE (e230274) DOI: 10.1371/journal.pone.0230274.
- Shrestha B, Lee Y. 2020. Cellular and molecular mechanisms of DEET toxicity and disease-carrying insect vectors: a review. Genes & Genomics **42**: 1131-1144.
- Silvério MRS, Espindola LS, Lopes NP, Vieira PC. 2020. Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. Molecules **25(15)**: 3484.
- Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry **8(3)**: 322-328.
- Solomon T, Dung NM, Kneen R, Gainsborough M, Vaughn DW, Khanh VT. 2000. Japanese encephalitis. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry **68(4)**: 405-415.
- Stebel R, Pýchová M, Freiburgerová M, Pařízková R, Zelená H, Husa P. 2018. První dokumentovaný případ japonské encefalidity importované do České republiky. Česká a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie **81/114(5)**: 593-595.
- Stejskal F, 2019. Neurologické komplikace malárie. Neurologie pro praxi **20(2)**: 102-106.
- SZÚ. 2019. Horečka Dengue s místním přenosem ve Španělsku a ve Francii, 2019. Státní zdravotní ústav. Praha. Available from <http://www.szu.cz/tema/prevence/horecka-dengue-s-mistnim-prenosem-ve-spanelsku-a-ve-francii>.

- Tavares M, Mattos da Silva MR, Oliveira de Siqueira LB, Rodrigues RAS, Bodjolle-d'Almeida L, Pereira dos Santos E, Ricci-Júnior E. 2018. Trends in insect repellent formulations: A review. *International Journal of Pharmaceutics* **539(1-2)**: 190-209.
- Trojánek M, Roháčová H, Zelená H, Stejskal F. 2016. První infekce virem Zika byly prokázány v České republice. *Zprávy CEM* **25(2)**: 57-58.
- Valdés LJF, Velilla PA, Urcuqui-Inchima S. 2020. Chikungunya virus infection induces differential inflammatory and antiviral responses in human monocytes and monocyte-derived macrophages. *Acta Tropica* **211**: 105619.
- Vogels CBF. 2017. The role of *Culex pipiens* mosquitoes in transmission of West Nile virus in Europe. Wageningen university DOI: 10.18174/418217.
- Volf P, Horák P. 2007. *Paraziti a jejich biologie*. Triton, Praha.
- Vork D, Conelly R. 2016. Common name: a mosquito scientific name: *Culex (Melanoconion) pilosus* (Dyar and Knab) (Insecta: Diptera: Culicidae). EENY-521. Available from http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/flies/culex_pilosus.htm.
- Weissová M. 2016. Nejúčinnější přírodní repelenty proti klíšťatům, komárům, blechám a mouchám. *Slunečný život*. Available from <https://slunecnyzivot.cz/2016/05/nejucinnejsi-prirodni-repelenty-proti-klisatam-komarum-blecham-a-moucham/>.
- Weldon PJ, Aldrich JR, Klun JA, Oliver JE, Debboun M. 2003. Benzoquinones from millipedes deter mosquitoes and elicit self-anointing in capuchin monkeys (*Cebus* spp.). *Naturwissenschaften* **90**: 301–304.

