



Bescherming tegen insectenbeten: zijn er nieuwe ontwikkelingen?

door M. Simons

Samenvatting

Internationaal geaccepteerde maatregelen om militair personeel te beschermen tegen ziekten, die door insecten worden overgebracht, zijn het gebruik van DEET op de onbedekte huid in combinatie met permethrine-geïmpregneerde kleding en klamboes. Hoewel deze combinatie in de meeste gevallen effectief is en geen gezondheidsrisico's oplevert bij normaal gebruik, kunnen zich bij het gebruik door militairen in extreme omstandigheden een aantal problemen voordoen, die het preventieve effect nadelig beïnvloeden. Ervaringen van de US Army wijzen op onvoldoende compliantie van het personeel, onvoldoende vaardigheid om zelf kleding te impregneren en korter effect van DEET bij overmatig zweten. Zorgen voor de toekomst betreffen resistentie van insecten tegen permethrine. Er werd onderzocht welke alternatieven of maatregelen kansrijk zijn om de compliantie van militair personeel en/of de effectiviteit van de preventieve maatregelen ook in de toekomst te garanderen. Picaridine is een kansrijke vervanger van DEET. De effectiviteit van permethrine zou verhoogd kunnen worden door uniformen in de fabriek te laten impregneren. Met het oog op mogelijke toekomstige resistentieproblemen, zou men onderzoek naar alternatieven, zoals allomonen, moeten stimuleren. Door de inferieure effectiviteit t.o.v. DEET, picaridine of permethrine, komt geen van de plantaardige repellents in aanmerking als alternatief voor de huidige beschermingsmaatregelen binnen het militaire bedrijf.

Inleiding

Bijtende en stekende insecten en andere arthropoden, kunnen ziekten verwekken en/of overbrengen. Bekende voorbeelden van ernstige ziekten, die worden overgebracht door verschillende muggen-, vliegen-, of tekensoorten, zijn een aantal virale encephalitis, dengue, gele koorts, malaria, leishmaniasis, filariasis, trypanosomiasis en ziekte van Lyme. Voor de gezondheid en inzetbaarheid van de militair is het, zeker bij uitzendingen naar gebieden waar deze ziekten endemisch zijn, noodzakelijk om een adequate bescherming te bieden. Dat gebeurt door vaccinaties (bijv. gele koorts), profylactisch medicatiegebruik (bijv. malaria), het aanbrengen van insectwerende middelen, zoals DEET (N,N-diethyl-m-toluamide of N,N-diethyl-3-methylbenzamide) op de huid, of permethrine op kleding, schoenen en klamboes en het naleven van kleedregels, zoals het dragen van lange mouwen en een lange broek, waarvan de pijpen in de sokken worden gestopt. Voorschriften voor adequaat gebruik van deze middelen en kledingvoorschriften worden om verschillende redenen in de praktijk niet altijd nageleefd, waardoor "arthropod-borne" ziekten een belangrijk risico kunnen blijven vormen voor uitgezonden militairen.

In een artikel, dat in 2001 in dit tijdschrift verscheen, hebben Schouten

en Van Ingen op heldere wijze uiteengezet dat gebruik van DEET en impregnatie van kleding en klamboes met permethrine momenteel de meest effectieve en veilige methoden zijn om bijtende en stekende arthropoden te weren¹. Het is echter een ervaringsfeit dat manschappen deze middelen niet altijd toepassen. Deze ervaring wordt ondersteund door een onderzoek van Coleman et al.², die de outbreak van cutane leishmaniasis (overbrenger: phlebotomus zandvlieg) bij de Amerikaanse troepen in Irak hebben onderzocht. Zij vonden dat, ondanks strikte voorschriften van de legerleiding, slechts 5% van de legereenheden en 10-15% van de luchtmachteenheden was uitgerust met de materialen voor Personal Preventive Measures (PPM) bestaande uit DEET plus met permethrine geïmpregneerde uniformen en klamboes. Zelfs als alle middelen voor PPM aanwezig waren, was de compliantie van het personeel slecht. Coleman et al. vonden hiervoor de volgende redenen:

- wegens de hitte droeg het personeel in hun vrije tijd T-shirts en korte broeken en sliep alléén in een korte broek. Bovendien werden niet altijd klamboes gebruikt.
- de meeste soldaten slaagden er niet in hun uniformen en klamboes adequaat te impregneren met permethrine.
- veel soldaten wisten niet hoe ze de klamboes moesten aanbrengen,

sliepen met hun lichaam in contact met de klamboe of hadden grote gaten in de klamboe.

- soldaten wilden de door het Department of Defense voorgeschreven Extended Duration Topical Insect and Arthropod Repellent (EDTIAR, een polymeer formule die 33% DEET bevat) niet gebruiken. De redenen daarvoor waren in het algemeen 1) het geloof dat het product niet veilig is voor de gezondheid, 2) het product een nare geur heeft, 3) de dikke lotion op de huid een vervelend gevoel geeft en er zand aan blijft kleven en 4) het geloof dat het middel niet effectief is tegen zandvliegen. Wat dit laatste betreft, klaagden veel soldaten dat zij zich insmeerden met DEET als ze naar bed gingen, maar dat ze dan toch 's morgens wakker werden met veel beten. Het bleek hierbij dat 1) veel soldaten niet alle onbedekte delen van de huid met DEET insmeerden en 2) de DEET van de huid was "afgezweet" gedurende de nacht en ze daardoor konden worden aangevallen voordat ze ontwaakten. De algemene conclusie was dat de Extended Duration Topical Insect and Arthropod Repellent geen 12-uurs bescherming bood onder de barre klimaatomstandigheden ter plekke².

Amerikaanse militairen in Irak bleken nogal eens geneigd door familie meegegeven of gezonden "biologische" of plantaardige producten te verkiezen boven het voorgeschreven DEET. Het is zelfs voorgekomen dat vlooiën- of tekenbanden, bedoeld voor huisdieren, werden gedragen met ernstige huidafwijkingen als gevolg (zie afb. 1)³.

Ook de Nederlandse troepen in Afghanistan kennen problemen met cutane leishmaniasis en er zijn anekdotische meldingen dat regels voor adequate bescherming d.m.v. DEET en geïmpregneerde kleding niet altijd worden nageleefd, mede doordat soldaten zien dat buitenlandse

De auteur is senior arts-onderzoeker, TNO Defensie en Veiligheid - Human Factors, Postbus 23, 3769 ZG Soesterberg. Het artikel werd geschreven in het kader van het TNO Defensie Programma V403: "Verbetering Militaire Gezondheidszorg". Artikel ontvangen april 2007.



Afb. 1: De effecten van het gebruik van vlooiendoeken bij een Amerikaanse soldaat in Irak.

Bron: USACHPPM (2006).

collega's het ook niet naleven en geloven dat het gevaarlijk voor de gezondheid is.

Gezien het bovenstaande, werd in het kader van het TNO Defensieprogramma "Verbetering Militaire Gezondheidszorg" (V403) nagegaan of er ontwikkelingen zijn die betere alternatieven bieden op het gebied van bescherming tegen ziekte-overbrengende arthropoden. Het gaat hierbij om middelen of methoden, die effectiever zijn, of gemakkelijker zijn na te leven, of minder aanleiding geven tot angst voor (vermeende) gezondheidsrisico's.

Historisch worden twee strategieën gevolgd om "arthropod-borne" ziekten tegen te gaan: habitat controle (d.m.v. chemische en biologische middelen) en het gebruik van persoonlijke bescherming in de vorm van insectenwerende (repellents) en/of insectendodende middelen (insecticiden). In dit artikel worden bestaande methoden en ontwikkelingen op beide gebieden besproken en zal worden aangegeven welke middelen of methoden in aanmerking zouden kunnen komen voor toekomstige toepassing of ontwikkeling.

Wat trekt insecten aan in mensen: semiochemicals

De factoren die de aantrekkingskracht van de gastheer voor muggen bepalen, zijn zeer complex en worden nog niet geheel begrepen. Muggen gebruiken visuele, thermale en geurstimuli om een gastheer te

lokalisieren. Waarschijnlijk zijn de geurstimuli het belangrijkste⁴. Qiu et al. toonden aan dat de aantrekkingskracht van vluchtige stoffen uit de huid zeer lang aanbleef; na 8 weken bewaren van de monsters bij -20°C bleken ze nog, zij het verminderde, aantrekkingskracht op muggen te hebben⁴. Malaria-muggen bleken nog aangetrokken door voetengeur in sokken, die 8 dagen in het laboratorium bewaard waren⁵. Veel vluchtige stoffen, afkomstig uit huidsmeer en zweet, of de microflora van de huid blijken muggen te kunnen aantrekken⁶. De "totale" geur van de gastheer, is aantrekkelijker dan van de verschillende separate componenten, zoals kooldioxide en melkzuur. Bloemengeuren van parfum, zeep, lotion of shampoo kunnen ook muggen aantrekken⁷.

Voor muggen die zich overdag voeden (zoals de verwekker van dengue) zijn bewegingen van de gastheer en donkere kleding ook belangrijke oriënterende stimuli⁸. Mogelijk scheiden actieve mensen meer attractieve geurstoffen uit. Visuele stimuli lijken voor insecten belangrijk te zijn voor de in-flight oriëntatie op grote afstand, terwijl geurstimuli belangrijk worden als de gastheer dichterbij is. Op de korte afstand zijn ook huidtemperatuur en huidvochtigheid belangrijke aantrekkende factoren. Verschillende soorten muggen vertonen in hun steekgedrag sterke voorkeuren voor verschillende lichaamsdelen, die mogelijk gerelateerd zijn aan lokale huidtemperatuur en zweetproductie^{9,10}.

Anhydroten, mensen die niet kunnen zweeten, zijn duidelijk minder attractief voor muggen¹¹.

De aantrekkingskracht van verschillende soorten insecten kan flink variëren. In het algemeen zijn kinderen en bejaarden minder aantrekkelijk voor insecten dan andere mensen en zijn mannen vaker slachtoffer dan vrouwen^{11,12}. Grotere mensen trekken meer muggen aan dan kleine. Dit komt waarschijnlijk door hun grotere relatieve warmte of hogere kooldioxide uitstoot¹³.

Semiochemicals: kairomonen, feromonen en allomonen

Semiochemicals (Grieks: semeon=signaal) zijn door organismen uitgescheiden natuurlijke chemische stoffen die het gedrag van andere organismen beïnvloeden. Ze kunnen insecten aantrekken (feromonen, kairomonen) of afweren (allomonen). Deze stoffen zitten in de vluchtige stoffen die mens, dier, insect, en plant afscheiden.

Het aantal (vluchtige) stoffen dat de mens als bijproduct van zijn metabolisme afscheidt wordt geschat op 300 tot 400 en meer dan 100 vluchtige stoffen kunnen worden gedetecteerd in de menselijke adem¹⁴. Van de menselijke geurstoffen is slechts een fractie geïsoleerd of bekend. Kooldioxide en melkzuur zijn de twee best bestudeerde stoffen die muggen aantrekken. Kooldioxide, dat vrijkomt via de adem en huid, dient als een lange-afstands aantrekkingsmiddel voor muggen en kan door muggen op 36 meter afstand worden waargenomen^{15,16}. Melkzuur trekt muggen aan in combinatie met kooldioxide en kairomonen. Menselijke geurstoffen bevatten kairomonen, dat zijn semiochemicals die de gastheer tot zijn nadeel uitscheidt, d.w.z. kairomonen trekken insecten aan, die nadelig zijn voor de gastheer. Kairomonen trekken waarschijnlijk alleen insecten aan in combinatie met kooldioxide^{17,18}. Kooldioxide wordt zelf ook tot de kairomonen gerekend. De geurstoffen zijn gastheerspecifiek, hetgeen het verschil in aantrekkelijkheid van verschillende mensen voor insecten o.a. verklaart⁴. Muggen hebben chemoreceptoren op hun antennae, die o.a. gestimuleerd worden door melkzuur en kairomonen. Diezelfde receptoren worden waarschijnlijk geremd door op N,N-diethyl-3-methyl-benzamide (DEET)-gebaseerde insect repellents¹⁹. Rebollar-Tellez et al. toonden in een gecontroleerd

experiment aan dat menselijke huidgeurstoffen zandvliegen (overbrengers van leishmaniasis) aantrekken²⁰.

Het onderzoek naar kairomonen en andere geurstoffen is de laatste jaren zeer geïntensiveerd. Met geavanceerde technieken, o.a. electro-antennografie van de antennes van insecten, probeert men de kairomonen die insecten aantrekken te inventariseren met het doel deze stoffen te gebruiken om insecten weg te lokken van de plaats waar zich mensen ophouden. Dit is habitat controle, die o.a. belangrijk is voor de controle van malaria²¹. Het Laboratorium voor Entomologie van de Universiteit van Wageningen speelt op dit gebied een belangrijke rol. Voor habitat controle worden ook feromonen gebruikt. Feromonen zijn soort-specifieke semiochemicals die door het insect worden afgescheiden om bijv. een partner te lokken. Met name in de landbouw is men met de ontwikkeling van synthetische feromonen al ver en worden lokdozen gemaakt om schadelijke insecten bij gewassen weg te lokken en en masse te verdelgen. Zowel kairomonen als feromonen worden hiervoor in de landbouw gebruikt²²⁻²⁴. Er wordt in het kader van habitat controle ook gewerkt aan semiochemicals, die het copulatiegedrag van insecten remmen. Er is bijv. een stof ontwikkeld, die het copulatiegedrag van teken remt²⁵. Er is echter nog maar mondjesmaat onderzoek in gang naar stoffen, die de tegengestelde werking van kairomonen hebben, d.w.z. geurstoffen waarmee de individuele gastheer zich kan beschermen door indringers af te stoten. Hiervoor zouden allomonen in aanmerking kunnen komen. Allomonen zijn semiochemicals die o.a. door insecten uitgescheiden worden om competitief voordeel te behalen, bijv. als het gaat om wie er een voedingsbron mag bezetten. Allomonen jagen concurrenten op de vlucht en hebben dus een repellent effect. Ook de mens blijkt die stoffen in de ademlucht uit te scheiden⁵.

De kairomonen en feromonen, die gebruikt worden voor habitat controle komen in het kader van de individuele bescherming niet in aanmerking, omdat ze juist insecten aantrekken. Habitat controle met deze stoffen zou echter voor het weren van insecten goed kunnen werken om een militaire basis vrij te houden van bijv. phlebotomus zandvliegen die cutane leishmaniasis veroorzaken.

Voor individuele bescherming zouden allomonen mogelijk tot biologische repellent kunnen worden ontwikkeld. Men zou daartoe de meest effectieve allomonen kunnen inventariseren en in hogere concentraties synthetiseren. Te denken valt aan een combinatie van allomonen, die wordt verdampt door een "tweede huid". Een andere mogelijkheid is, een "tweede huid" ondoordringbaar te maken voor menselijke kairomonen. De achilleshiel blijft dan echter de ademlucht, waarin belangrijke kairomonen voorkomen, zoals kooldioxide. Als men denkt aan de mogelijkheden van een "tweede huid" zouden eventueel de zweet- en temperatuurfactoren mogelijkheden bieden, al lijkt zweetremming in combinatie met een lage temperatuur geen garantie voor voldoende bescherming te kunnen geven. Bovendien is zweetremming meestal niet wenselijk vanwege de thermofysiologische nadelen die daar aan verbonden zijn.

"Repellents" en insecticiden
Commercieel verkrijgbare insect repellents kunnen verdeeld worden in twee categorieën: synthetische chemische middelen en essentiële plantenoliën. De werking van insect repellents is niet precies bekend; de meest gangbare theorie is dat de chemicaliën de functie van de receptoren in de antennae van het insect verstoren, waardoor het zijn gastheer niet meer kan lokaliseren.

Het ideale middel moet:

- 100% bescherming bieden tegen een breed spectrum van gevaarlijke arthropoden;
- voldoende lang effectief blijven; voor huis-, tuin- en keukengebruik is de norm minstens 8 uur, maar voor bijv. militaire operaties kunnen langere perioden gewenst zijn;
- geen irritatie van huid of slijmvliezen veroorzaken;
- geen systemische toxiciteit veroorzaken en niet mutageen of carcinogeen zijn;
- resistent zijn tegen transpireren, schuren en wrijven
- reukloos zijn.

Er is momenteel geen enkel middel dat aan al deze eisen voldoet. De ontwikkeling van het ideale middel wordt gehinderd door het feit dat het werkingsmechanisme op de insecten niet goed bekend is en doordat verschillende soorten insecten verschillend reageren op dezelfde repellent²⁶. Om effectief te zijn moet een repellent

een optimale vluchtigheid hebben, die het mogelijk maakt een effectieve repellent-dampconcentratie boven de huid te handhaven, zonder dat het zo snel verdampt dat het middel te snel zijn effectiviteit verliest. Er is een aantal factoren dat de effectiviteit van een repellent bepaalt: de concentratie van het middel, frequentie en uniformiteit van het aanbrengen, het aantal muggen en het soort dat probeert te steken en de activiteit en aantrekkelijkheid van de gebruiker voor bloedzuigende arthropoden⁸. Elke 10°C verhoging van de omgevingstemperatuur kan leiden tot 50% reductie van de beschermingstijd¹². Met de huidige repellents moet ieder stukje blootgestelde huid worden behandeld; onbeschermde huid kan al op enkele centimeters van een behandeld deel een prooi worden voor hongerige muggen⁸.

Als de insectendichtheid en de bijtkans zeer groot zijn, zoals in een aantal malaria-endemische gebieden, kan zelfs een 99% effectieve bescherming niet genoeg zijn. Als men bijv. 1000 maal gebeten zou kunnen worden, zal men met 99% bescherming, toch nog 10 maal gebeten worden. Het ideale middel (of middelen) zal daarom 100% effectief moeten zijn tegen een breed spectrum aan insecten. Tot nu toe is de hoogste effectiviteit (99,9%) bereikt met een combinatie van 35% DEET (polymeer formule; EDTIAR) op de huid en met permethrine geïmpregneerde kleding²⁷.

Chemische Insect Repellents en Insecticiden

De geregistreerde ingrediënten zijn DEET, Picaridine (KBR 3023), Di-n-propyl Isocinchomeronate (MGK-326), N-octyl bicycloheptene dicarboximide (MGK-264), Ethyl Butylactetyl-aminopropionate (IR 3535), citronella olie met p-Menthane 3,8-diole (Oil of Lemon Eucalyptus) en Permethrine (insecticide). Alle geregistreerde middelen zijn meer of minder actief tegen insecten, maar de meeste autoriteiten, waaronder Centers for Disease Control (USA) bevelen DEET en picaridine (repellents) en permethrine (insecticide) aan als de meest effectieve middelen²⁸.

DEET

De goud standaard van de huidig beschikbare insect repellents is N,N-Diethyl-3-Methylbenzamide (DEET, vroeger genaamd N,N-diethyl-m-toluamide). DEET beschermt tegen

muggen, teken en andere arthropoden als het op de huid of kleding wordt aangebracht. Dit middel werd door Schouten en van Ingen in dit tijdschrift reeds uitvoerig beschreven¹. DEET kan direct op de huid worden aangebracht of op kleding, raamhorren, klamboes, tenten of slaapzakken. Als met DEET behandelde kleding wordt opgeborgen in een plastic zak, kan het beschermende effect vele weken bewaard blijven. DEET-bevattende repellents moeten zorgvuldig worden aangebracht, omdat ze plastic (bijv. brilmonturen), rayon, spandex en andere synthetische stoffen, leer en geverfde oppervlakken kunnen aantasten. DEET is ongevaarlijk voor natuurlijke stoffen, zoals katoen of wol en heeft geen effect op nylon. DEET kan de effectiviteit van een aantal anti-zonnebrandmiddelen verminderen. Er zijn veel producten in de handel met concentraties DEET die variëren van 6 tot 35%. Algemeen geldt dat hogere concentraties DEET een langer beschermend effect hebben. Uit mathematische modellen blijkt dat de tijd waarin de repellent volledige bescherming biedt overeenkomt met de logaritme van de dosis (concentratie). De curve vertoont een plateau bij een concentratie van 50% DEET. Nog hogere concentraties blijken relatief weinig extra winst op te leveren²⁹⁻³¹. Micro-encapsulated, sustained-release formules zijn bij dezelfde concentraties langer effectief dan vloeibare formules. De duur van de bescherming hangt ook af van de omgevingstemperatuur, hoeveelheid transpiratievocht, blootstelling aan water en wrijven of schuren van de huid of kleding³².

Effectiviteit

DEET is een breed-spectrum repellent, die effectief is tegen muggen, steekvliegen, mijten, vlooiën en teken. Twintig jaar testen van meer dan 20.000 andere stoffen heeft geen ander middel opgeleverd met een betere werkingsduur en breed-spectrum effectiviteit dan DEET^{8,33,34}. Er zijn echter recente aanwijzingen dat DEET een lagere effectiviteit heeft dan picaridine (zie hieronder) tegen enkele muggensoorten die malaria overbrengen³⁵ en tegen *Aedes Aegypti*, de overbrenger van o.a. dengue³⁶. Tegen Australische muggen, die arbovirus overbrengen bleek DEET in een concentratie van 80% echter effectiever dan picaridine³⁷. Dit soort effectiviteitsstudies zijn onderling slecht vergelijkbaar omdat er verschillende concentraties repellent worden

gebruikt bij verschillende insectensoorten. In een crossover studie met 15 proefpersonen vergeleken Fradin en Day³² de relatieve effectiviteit van 7 botanische insect repellents, een ethyl butylacetylaminopropionate (IR3535) bevattend product en 3 repellent-geïmpregneerde polsbanden met 4 DEET bevattende producten. De testen vonden plaats onder gecontroleerde laboratoriumomstandigheden, waarin de muggensoort, hun leeftijd, hun hongerniveau, de luchtvochtigheid, temperatuur en de licht-donker cyclus constant werden gehouden. De conclusie was dat de huidig beschikbare non-DEET repellents in vergelijking met DEET bevattende producten korter werkten en minder betrouwbare bescherming boden³². In deze trial werd DEET helaas niet vergeleken met picaridine.

Tot 1989, bestond de standaard insect repellent van het Amerikaanse leger uit 75% DEET in een alcohol base. Zorgen over de potentiële toxiciteit bij langdurig gebruik hebben geleid tot onderzoek naar een andere formule, waarbij een slow-release product op polymeer basis werd ontwikkeld dat 35% DEET bevat (3M Company, St. Paul, Minnesota). Dit product is nu de standaard insect repellent van het Amerikaanse leger: U.S. Army Extended Duration Topical Insect and Arthropod Repellent (EDTIAR). De 35% DEET polymeer formule geeft meer dan 95% bescherming gedurende 12 uur, afhankelijk van de omgevingscondities en geteste muggensoort^{31,38}. Bij Amerikaanse militairen in Irak bleek de werkingsduur duidelijk bekort te worden door overmatig zweten².

Veiligheid

De farmacokinetiek en gezondheidsrisico's van DEET werden reeds uitvoerig besproken in dit tijdschrift¹. Na 40 jaar gebruik en 8 biljoen applicaties blijkt dat DEET een veilig middel is, als het volgens de regels wordt aangebracht (niet in ogen, mond, of wonden). DEET kan irritatie van ogen en slijmvliezen geven, daarom moet men voorzichtig zijn bij het aanbrengen op het gezicht. Er zijn sinds 1960 minder dan 50 gevallen van ernstige toxische effecten gedocumenteerd, waarvan 75% spontaan genas zonder restverschijnselen^{39,40}. De meeste van deze gevallen betroffen langdurig gebruik en frequente applicatie op het hele lichaam. DEET is toxisch als het wordt ingeslikt en kan huidirritatie

geven bij gevoelige personen. Hoge concentraties kunnen op de huid leiden tot blaarvorming. Studies met hoge doses DEET oraal toegediend aan muizen en ratten gaven geen duidelijke aanwijzingen dat het middel teratogeen of kankerverwekkend is⁸. Er zijn 14 case reports, waarin oraal gebruik van DEET mogelijk heeft geleid tot encefalopathie en/of epileptische insulten. De gevallen zijn matig gedocumenteerd en betroffen op één na allen kinderen⁴¹. Er is één geval psychose gerapporteerd bij een volwassene, die 70% DEET op de huid had gebruikt⁴².

In studies met ratten n.a.v. "Golffoorlog syndroom" werden aanwijzingen gevonden dat een combinatie van DEET, pyridostigmine, permethrine en stress, maar ook de drie stoffen afzonderlijk, hersenschade zou kunnen veroorzaken⁴³⁻⁴⁶. Deze studies kregen veel kritiek wegens de gebruikte methodologie, eindpunten en vertaling van de resultaten naar de mens^{47,48}. Een recente studie met 64 proefpersonen, die blootgesteld werden aan dezelfde combinatie van pyridostigmine (per os), DEET (op de huid) en permethrine (uniform) weerlegde de resultaten die gevonden werden in de rattenstudies door aan te tonen dat er bij mensen geen aanwijzingen waren voor lichamelijke of neurocognitieve effecten van deze combinatie⁴⁹. Recent werden enige aanwijzingen gevonden dat DEET in combinatie met permethrine DNA schade zou kunnen veroorzaken aan menselijke lymfocyten in vitro⁵⁰. Vertaling van deze in vitro resultaten naar de "in vivo praktijk" noopt echter tot voorzichtigheid.

Conclusie

Er kan geconcludeerd worden dat DEET het tot nu toe best onderzochte en meest gebruikte middel is. Het werkingsspectrum is breed; het beschermt tegen de meeste gevaarlijke insecten, al is picaridine waarschijnlijk effectiever bij enkele soorten malariamuggen en *Aedes Aegypti* soorten. Een slow-release DEET product op polymeer basis is voor militair gebruik te verkiezen i.v.m. de langere werkzaamheid. Een nadeel van DEET is dat het plastics en andere synthetische producten kan beschadigen. Publicaties over een mogelijke associatie van een combinatie van DEET, pyridostigmine en permethrine met het Golf oorlog syndroom en de nare geur van het preparaat² hebben mogelijk geleid tot twijfels bij soldaten, waardoor zij het

gebruik van DEET zouden willen vermijden. Een recente studie toonde echter geen aanwijzingen dat deze twijfels gerechtvaardigd zouden zijn⁴⁹.

Picaridine (KBR3023)

Het Centers for Disease Control (Atlanta, USA), de officiële Amerikaanse informatiebron op het gebied van reizigersgeneeskunde, stelt dat van alle in Amerika geregistreerde repellents er maar twee middelen zijn, waarvan uit peer-reviewed wetenschappelijke literatuur blijkt dat ze voldoende effectief beschermen: DEET en Picaridine, ook bekend als KBR3023 of Bayrepel^{®28}. Het middel wordt sinds 1998 gebruikt, m.n. in Europa en Australië en wordt door de Wereldgezondheidsorganisatie, naast DEET, aanbevolen als bescherming tegen met malaria besmette muggen⁵¹. Het zit onder de naam Icaridin in de nieuwe formule Autan. De generische naam is 2-(2-hydroxyethyl)-1-piperidinecarboxylzuur 1-methylpropyl ester en is door Bayer gepatenteerd.

Effectiviteit

Picaridine is in veld- en laboratoriumstudies getest tegen muggen, vliegen en teken, waarbij 10% picaridine dezelfde effectiviteit had als 15% DEET voor de bescherming tegen een aantal muggensoorten⁵². In een veldstudie in Burkina Fasso bleek picaridine effectiever tegen malariamuggen dan een zelfde concentratie DEET³⁵. In het laboratorium bleek picaridine ook effectief tegen teken. In de Verenigde Staten is het middel nog niet zo vaak getest, omdat het daar pas recent op de markt is verschenen. De effectiviteit van 19,2% picaridine is gelijk aan die van de langwerkende U.S. Army Extended Duration Topical Insect and Arthropod Repellent (EDTIAR), die 35% DEET bevat⁵³. Bij een veldtest in Noord Australië werden drie repellents vergeleken op hun effectiviteit tegen muggen uit het regenwoud: gedurende de nacht 9,3% picaridine en 35% DEET gel; overdag 19,2% picaridine, 20% DEET in een controlled release formule en EDTIAR. EDTIAR en 19,2% picaridine waren zowel 's nachts als overdag superieur aan de overige middelen en gaven beiden evenveel bescherming gedurende 8 uur⁵⁴. De 9,3% picaridine formule gaf meer dan 95% bescherming voor slechts 2 uur en gaf slechts 60% bescherming voor 9 uur. Een hogere concentratie picaridine (19,2%) lijkt dus te verkiezen.

Veiligheid

Picaridine is nagenoeg reukloos, geeft geen huidirritatie, is vrijwel niet toxisch bij inhalatie of inslikken en is niet mutageen of carcinogeen⁵⁵. Er wordt door de fabrikant gesteld dat picaridine minder irriterend is voor de huid en slijmvliezen dan DEET⁵⁶. Bij een Australische studie onder 150 soldaten, gelegerd in Oost-Timor, werd gevonden dat significant meer soldaten discomfort en irritatie melden bij het gebruik 35% DEET (gel formule) dan bij gebruik van 19,2% picaridine gedurende twee weken⁵⁷. Picaridine heeft als bijkomend voordeel dat het, i.t.t. DEET, geen effect heeft op plastics en andere synthetische stoffen.

Conclusie

Er kan geconcludeerd worden dat picaridine een goed alternatief is voor DEET. Het werkingspectrum is breed en het is, bij uitzendingen naar gebieden waar malaria endemisch is, waarschijnlijk te verkiezen boven DEET. Voordelen zijn dat het vrijwel niet toxisch is, minder irriteert dan DEET, reukloos is en dat het geen plastics etc. aantast.

Ethyl Butylacetyl-aminopropionate IR3535

IR3535 is al 20 jaar in Europa in de handel. Het is niet toxisch bij inslikken, inhalatie of gebruik op de huid⁵⁸. Het wordt meestal verwerkt in crèmes of lotions. Een bekend product is Skin so Soft Bug Guard Plus IR3535 Insect Repellent Moisturizing Sunblock Lotion (Avon, New York). Het is geclassificeerd als biopesticide vanwege zijn structurele gelijkenis met het aminozuur beta-alanine. I.t.t. DEET tast het geen plastics aan. Het heeft echter een matig beschermende werking. In de studie van Fradin en Day bleek IR3535 een totale protectietijd te hebben die een kwart was van de totale protectietijd van de laagste concentratie (4,75%) DEET producten (23 tegen 88 minuten)³². In de veldstudie van Costantini et al. bleek het inferieur aan picaridine en DEET³⁵.

Er kan geconcludeerd worden dat IR3535 geen kandidaat is om militairen te beschermen tegen insecten, omdat de effectiviteit ver achterblijft bij die van DEET, picaridine of permethrine.

Di-n-propyl Isocinchomeronate (MGK-326) en N-octyl bicycloheptene dicarboximide (MGK-264) MGK-326 en MGK-264 zijn geregistreerd voor veterinaire gebruik

en worden ook gebruikt in huizen en tuinen. De producten zijn weinig toxisch en worden meestal in combinaties gebruikt. MGK 264 is naast een repellent een synergist. Synergisten zijn stoffen die zelf geen pesticide eigenschappen hebben, maar de pesticide-effectiviteit van andere actieve ingrediënten, zoals permethrine, kunnen versterken. Voor de mens zijn MGK-326 en MGK-264 in combinatie met DEET gebruikt. Onderzoek wees echter uit dat de effectiviteit niet hoger werd dan die van DEET alleen. Daarom is deze combinatie voor de mens niet meer geregistreerd⁵⁹. Er kan geconcludeerd worden dat MGK-326 en MGK-264 geen toegevoegde waarde hebben, wanneer het om bescherming van militairen gaat.

Plantaardige Repellents

Er zijn duizenden planten getest als potentiële bron voor insect repellents. De tot nu toe geteste plantaardige repellents benaderen geen van allen de breed-spectrum effectiviteit en werkingsduur van DEET³². Planten, waarvan de essentiële oliën enige beschermende activiteit tegen insecten hebben, zijn citronella, ceder, verbena, geranium, lavendel, pijnboom, cajeputi, kaneel, rozemarijn, basislicum, thijm, knoflook en pepermunt⁶⁰⁻⁶². I.t.t. de synthetische insect repellents, zijn de plantaardige stoffen nauwelijks onderzocht. De plantaardige stoffen, die getest zijn, gaven echter slechts een kortdurende bescherming, in het algemeen korter dan 2 uur³².

Citronella

Citronella is de meest gebruikte actieve ingrediënt in "natuurlijke" of "plantaardige" insect repellents. De actieve ingrediënten, p-menthane-3,8-diol isomeren, komen voor in de citroen-eucalyptus plant (Cymbopogon nardus). Het is niet toxisch, maar geeft wel oogirritatie, daarom geeft de registratie aan dat het niet in buurt van de ogen mag worden aangebracht. Er zijn weinig data beschikbaar uit gecontroleerde studies waarin citronella werd vergeleken met DEET. Enkele studies toonden aan dat citronella effectief kan zijn, maar een veel kortere protectietijd heeft dan DEET^{63,64}. Alleen Barnard en Xue vonden een gelijke protectietijd van 26% citronella vergeleken met 15% DEET⁵². Citronella wordt meestal geadverteerd om muggen uit huis en tuin te houden (citronella kaarsen, cirtoengeraniums). In een studie werd echter geen verschil in effect gevonden tussen citronella-kaarsen en

gewone kaarsen⁶⁵. Van citroengeraniums werd geen effect gevonden^{66,67}. Citridiol, ook voornamelijk bestaande uit p-menthane-3,8-diol isomeren, bleek gedurende 6 uur zeer effectief tegen bloedzuigers als het werd aangebracht op schoenen en sokken⁶⁸. Bloedzuigers brengen echter geen gevaarlijke ziekten over; ze geven voornamelijk ongemak omdat de aangedane huid lang blijft bloeden en jeukt als de wond geneest. Mensen hebben echter meestal een grotere aversie tegen bloedzuigers dan tegen de veel gevaarlijkere muggen. Bloedzuigers op de benen kunnen het moreel aantasten. Het is daarom belangrijk om een adequate bescherming tegen bloedzuigers te bieden. DEET geeft overigens ook voldoende bescherming tegen bloedzuigers. Er zijn wat dat betreft geen data bekend m.b.t. permethrine en picaridine.

Er kan geconcludeerd worden dat Citronella op zich geen kandidaat is om militairen te beschermen, omdat de effectiviteit achterblijft bij die van DEET, picaridine of permethrine. Het is niet toxisch en daarom heeft het mogelijk nog enige waarde als toevoeging in een combinatie met andere stoffen. Het beschermt met name redelijk tegen bloedzuigers, maar DEET is ook voor bloedzuigers effectiever. Voor de effectiviteit van permethrine en picaridine m.b.t. bloedzuigers zijn er geen data, maar het is op grond van de chemische structuur aannemelijk dat in ieder geval ook permethrine effectief is.

Sojaolie - "Bite Blocker"

Het product Bite Blocker is een combinatie van soja-olie (2%), geraniumolie en kokosnootolie. Het meest werkzame bestanddeel is sojaolie. In een door de fabrikant gesponsord onderzoek bleek dit product onder veldcondities 97% bescherming te geven tegen Aedes soorten (de muggenfamilie die dengue overbrengt) tot 3.5 uur na de applicatie, terwijl een 6,65% DEET-spray gedurende dezelfde tijd 86% en een citronella repellent slechts 40% bescherming gaf⁶⁹. Een tweede gesponsorde studie toonde aan dat Bite Blocker gemiddeld 200 minuten (\pm SD 30 min) volledige bescherming gaf tegen muggenbeten⁷⁰. In de studies van Fradin en Day en Barnard en Xue was Bite Blocker de beste van de plantaardige middelen, maar de effectiviteit was duidelijk inferieur t.o.v. DEET en picaridine^{32,52}.

Ook dit product kan geen alternatief bieden voor de momenteel gebruikte methoden om militairen te beschermen. De effectiviteit blijft achter bij die van DEET, picaridine of permethrine. Het is niet toxisch en daarom kan het mogelijk nog enige waarde hebben als toevoeging in een combinatie met andere stoffen. Overigens bleek dat Amerikaanse militairen vaak dergelijke producten gebruikten i.p.v. DEET, omdat ze "biologisch" zijn en door familie werden meegegeven of opgestuurd.

Permethrine

Pyrethrum is een krachtig en snel werkend insecticide, dat uit de gedroogde en fijngemaakte bloemen van de Chrysanthemum cinerariifolium gewonnen werd. Permethrine is daarvan afgeleid als synthetisch pyrethroid. In tegenstelling tot de repellents is dit een contact insecticide, dat toxisch is voor het zenuwstelsel van het insect. Het leidt tot de dood of een "knockdown" (uit de lucht vallen) van het insect en is zeer effectief tegen muggen, vliegen, teken en mijten. Permethrine heeft geen nadelige effecten op de huid, maar moet niet op de huid gebruikt worden, want het wordt door huidcontact binnen 15 minuten gedeactiveerd. Het moet direct op de kleding of ander textiel (zoals schoenen, tentzeil, slaapzakken of klamboes) worden aangebracht. De spray formule geeft geen vlekken, is vrijwel reukloos en is resistent tegen degradatie door hitte of zonlicht. Permethrine moet aan beide kanten van de textiel worden aangebracht (30-45 seconden sprayen) en de kleding moet daarna 2-4 uur drogen, alvorens men het gaat dragen.

Effectiviteit

De effectiviteit blijft minstens twee weken in stand, ook na herhaald wassen van de kleding^{71,72}. Men kan de kleding ook in permethrine dopen en dan blijft de effectiviteit nog langer in stand. Kleding en klamboes kunnen ook geïmpregneerd worden met DEET, maar dat blijft veel minder lang actief dan permethrine en daarom zou DEET impregnatie veel vaker herhaald moeten worden om dezelfde bescherming te kunnen blijven bieden⁷³. De combinatie van met permethrine behandelde kleding en een op de huid aangebrachte repellent op DEET-basis geeft een zeer hoge graad van bescherming tegen muggenbeten^{74,75}. Bij een veldstudie in Alaska bleek dat militairen, die met permethrine behandelde uniformen

droegen in combinatie met 35% DEET polymer product, gedurende 8 uur voor 99,9% beschermd waren (1 beet/uur), terwijl onbeschermd proefpersonen 1188 maal per uur werden gebeten²⁷. Een reden tot zorg is dat insecten resistent kunnen worden tegen permethrine. Vaak is dit een kruisresistentie met DDT (dichloor-diphenyl-trichloorethaan), dat gebruikt is (wordt) om de omgeving vrij te houden van insecten. Na de Tsunami bleek bijvoorbeeld dat Aedes aegypti in de provincie Phuket volledig resistent was tegen permethrine⁷⁶ en in Afrika wordt reeds jarenlang resistentie van verschillende soorten malariamuggen tegen permethrine gevonden^{77,78}. Gelukkig blijken tot nu toe de met permethrine geïmpregneerde klamboes nog effectief voor individuele bescherming, ondanks de resistentie. Maar o.a. de WHO heeft zorgen voor de toekomst⁷⁸.

Veiligheid

Permethrine heeft geen nadelige effecten op de huid en heeft een matige toxiciteit bij inhalatie door zoogdieren, wordt slecht geresorbeerd door de huid en wordt snel geïnactiveerd door ester hydrolyse⁷⁹. De farmacokinetiek en veiligheid van dit middel werden in dit tijdschrift eerder uitvoerig beschreven¹. M.b.t. permethrine werden door publicaties over rattenstudies dezelfde twijfels over de veiligheid opgeroepen die in het voorgaande bij DEET werden genoemd (zie studies bij DEET genoemd). Ook hier gold dezelfde kritiek^{47,48} en toonde Roy⁴⁹ dat een humane studie geen aanwijzingen gaf voor lichamelijke of neurocognitieve risico's wanneer DEET of permethrine volgens voorschrift worden gebruikt.

Problemen

Manschappen blijken moeite te hebben met het zelf impregneren van de uniformen met verstrekte permethrine kit, omdat ze de techniek niet goed uitvoeren of omdat ze bang zijn voor gezondheidsrisico's bij inademing. Dit leidt tot een onvoldoende bescherming, hetgeen als belangrijke oorzaak werd geduid in de 660 gevallen van cutane leishmaniasis, 71 gevallen van malaria, 9 gevallen met Lyme Disease en 112 andere arthropod-borne ziektegevallen, die zich bij missies van de US Army tussen januari 2003 en oktober 2004 voordeden⁸⁰. Daarom heeft de US Army besloten om alle Battle Dress Uniforms (BDUs), Desert Camouflage Uniforms (DCUs) en Army Combat Uniforms (ACUs), met uitzondering

van de "maternity uniforms", door de fabrikant af-fabriek te laten impregneren⁶⁰. Ze stelden daarbij dat in de fabriek geïmpregneerde uniformen voldoende bescherming blijven bieden tot 50 wasbeurten, hetgeen meestal langer is dan het leven van een uniform. De logistiek meest handige methode om zelf ter plekke de kleding te impregneren (de aerosol methode) gaat slechts 6 wasbeurten mee, is moeilijk te controleren en kan een afvalprobleem veroorzaken. De voorgestelde methode is wat duurder (± 8 USD) dan wanneer men het aan de manschappen overlaat, maar het effect is groter en dat bespaart veel kosten voor behandeling van de overgebrachte ziekten⁶⁰. Het is aan te bevelen dit advies over te nemen voor alle situaties waarin troepen worden blootgesteld aan een verhoogd risico op ziekten die door arthropoden worden overgebracht.

Conclusie

Er kan geconcludeerd worden dat met permethrine geïmpregneerde kleding en klamboes nog steeds zeer effectief zijn tegen de meeste gevaarlijke insecten en ook tegen luizen en scabiës beschermt. Matige compliantie en gebrek aan vaardigheid van manschappen, die zelf hun kleding moeten impregneren, hebben een nadelig effect op de effectiviteit. Het verdient daarom aanbeveling om uniformen door de leverancier af-fabriek geïmpregneerd te laten leveren. Resistentie van insecten tegen permethrine is een probleem dat aandacht verdient en onderzoek naar alternatieven is daarom gerechtvaardigd. Momenteel is er echter nog geen effectiever en veiliger alternatief voor het gebruik van permethrine.

Ondoordringbare "tweede huid"

Historisch is steeds geprobeerd 100% bescherming tegen gevaarlijke insecten te verkrijgen door gebruik te maken van chemische middelen en - recenter - semiochemicals. De daaraan inherente problematiek betreft meestal het werkingsspectrum (welke insecten zijn gevoelig), effectiviteit bij verschillende omgevingsfactoren (hoge temperatuur en luchtvochtigheid), werkingsduur en toxiciteit voor de gebruiker of omgeving. Men zou niet met deze problematiek te maken hebben, wanneer men erin slaagt een voor alle insecten ondoordringbare tweede huid te maken. De drager is dan onaantastbaar voor insectenbeten en

ziekten kunnen niet worden overgebracht. Hierbij doen zich echter de vragen voor 1) hoe de volkomen ondoordringbaarheid van de huid zich verhoudt met de huid(patho)fysiologie ("huid moet ademen", gevaar voor decubitus) en de thermofysiologie (we moeten zweet kunnen verdampen, omgevingstemperatuur kunnen voelen) en 2) of er een huid ontworpen kan worden, die alle blootgestelde huid en organen (ogen, gehoorgang, neus, mond) afdoende kan bedekken, zonder dat zintuiglijke functies en ademhaling daaronder zullen leiden. Het is een uitdaging om na te gaan welke materialen de benodigde eigenschappen kunnen hebben (bijv. ondoordringbaar en toch zweet-doorlatend, etc.) en welke hulpmiddelen bruikbaar zijn om de zintuiglijke en ademhalingsfuncties te garanderen, zonder de operationele inzetbaarheid te schaden. In de naaste toekomst lijkt een succesvolle ontwikkeling van een ondoordringbare "tweede huid" echter nog ver weg.

Discussie en conclusies

De momenteel internationaal geaccepteerde maatregelen om militair personeel te beschermen tegen ziekten, die door insecten worden overgebracht, zijn het gebruik van DEET op de onbedekte huid en met permethrine geïmpregneerde kleding en klamboes. Hoewel deze combinatie in de meeste gevallen effectief is en geen gezondheidsrisico's oplevert bij normaal gebruik, kunnen zich bij het gebruik door militairen in extreme omstandigheden een aantal problemen voordoen, die het preventieve effect nadelig beïnvloeden:

- door twijfels over veiligheid, werkzaamheid, nare geur en huidirritatie blijkt de compliantie van militair personeel met het gebruik van de voorgeschreven maatregelen vaak te wensen over te laten.
- door overmatig transpireren kan de werkzaamheid van m.n. DEET bekort worden.
- DEET kan plastics en andere synthetische producten aantasten.
- manschappen blijken moeite te hebben met het zelf impregneren van uniformen met permethrine.
- hoewel met permethrine geïmpregneerde klamboes nog steeds effectief zijn tegen malariamuggen, zijn er zorgen over resistentie van insecten tegen permethrine in Afrika. Resistentie is ook vastgesteld m.b.t. *Aedes aegypti* in delen van Zuid-Oost Azië.

Gezien het bovenstaande is het nuttig om te onderzoeken of er alternatieven zijn te ontwikkelen, die de compliantie van militair personeel en/of de effectiviteit van de preventieve maatregelen verhogen. In dat kader is het volgende te overwegen:

- Picaridine in een concentratie van 19,2% lijkt een kansrijke vervanger van DEET. Het is even effectief als DEET en m.n. voor enkele soorten malariamuggen effectiever. Het is niet toxisch, mutageen of carcinogeen, het is nagenoeg reukloos en geeft waarschijnlijk minder huid en slijmvliesirritatie dan DEET, hetgeen de compliantie van manschappen kan doen toenemen. Bovendien tast het plastics en andere synthetische stoffen niet aan. Een onderzoek naar de optimale concentratie en naar de effectiviteit van picaridine t.o.v. DEET bij militairen die in de hitte werken (transpiratie) zou nuttig zijn.
- Voor permethrine, als meest effectieve en veilige middel voor het impregneren van uniformen en klamboes, dient zich nog geen alternatief aan. Optimale effectiviteit en veiligheid zouden bereikt kunnen worden door de uniformen standaard door de fabrikant te laten impregneren. Daardoor is men niet meer afhankelijk van de compliantie en vaardigheid van het personeel. Met het oog op mogelijke toekomstige resistentieproblemen, zou men onderzoek naar alternatieven moeten stimuleren.
- Allomonen, de natuurlijke repellents die door organismen worden uitgescheiden via huid en adem, kunnen kandidaten voor zijn voor de toekomstige bescherming van militairen. Toevoeging van allomonen aan bestaande methoden zou mogelijk de effectiviteit kunnen verhogen. Er moet op dit gebied echter nog veel onderzoek plaatsvinden t.b.v. identificatie en isolatie van deze stoffen. Tevens moet het werkingsspectrum bepaald worden om een succesvolle combinatie van allomonen te definiëren.
- Tot nu toe richtte het meeste semiochemisch onderzoek zich op het gebruik van kairomonen en feromonen voor habitat controle. Habitat controle met deze in de landbouw reeds veel gebruikte biologische methoden kan zeker een goede methode zijn om insecten zoveel mogelijk te weren uit militaire kampen, maar biedt geen soelaas voor individuele bescherming.

- Door de inferieure effectiviteit t.o.v. DEET, picaridine of permethrine, komt geen van de plantaardige producten in aanmerking als alternatief voor de internationaal geaccepteerde methode in het militaire bedrijf.

SUMMARY

PROTECTION AGAINST INSECT BITES: PROMISING DEVELOPMENTS?

Internationally accepted measures to protect military personnel against arthropod-borne diseases are the use of DEET on the skin in combination with permethrin impregnated uniforms and bednets. Although this combination bears no health risks and is highly effective in most cases, effectiveness can be impaired by insufficient compliance and/or skill of military crew, and a shorter effect of DEET due to excessive perspiration. Possible resistance of insects to permethrin is a concern for the future. Alternative methods have been studied on their potential to enhance crew compliance and guarantee effectiveness in the future. Picaridin is a good alternative for DEET. The effectiveness of permethrin can be increased by having uniforms impregnated by the manufacturer. In the context of possible resistance problems in the future, research of alternatives, such as allomones, should be stimulated. "Biological" or plant-derived repellents provide no alternative for the measures currently used in military health care, because their effectiveness is inferior to that of DEET, picaridin, or permethrin.

Literatuur:

1. Schouten W.J., Van Ingen H.W.T.J.T.: DEET en Permethrine, bescherming tegen bijtende en stekende geleedpotigen. *Nederl Mil Geneesk T* 2001; 54:133-172.
2. Coleman R.E., Burkett D.A., Putnam J.L., et al.: Impact of phlebotomine sand flies on U.S. Military operations at Tallil Air Base, Iraq: 1. background, military situation, and development of a "Leishmaniasis Control Program". *J Med Entomol.* 2006; 43(4):647-662.
3. USACHPPMT: Animal Flea and Tick Collars are not for human use. US Army Center for Health Promotion and Preventive Medicine, March 2006. http://chppm-www.apgea.army.mil/documents/FACT/18-009-0306Flea_and_TickCollarsJTF-March2006.pdf
4. Qiu Y.T., Smallegange R.C., Van Loon J.J.A., Ter Braak C.J.F., Takken W.: Interindividual variation in the attractiveness of human odours to the malaria mosquito *Anopheles gambiae* s. s. *Medical and Veterinary Entomology* 2006; e-pub ahead of publication.
5. Mukabana W.R., Takken W., Killeen G.F., Knols B.G. Allomonal effect of breath contributes to differential attractiveness of humans to the African malaria vector *Anopheles gambiae*. *Malar J* 2004; 3(1):1.
6. Knols B.G., De Jong R., Takken W.: Trapping system for testing olfactory responses of the malarial mosquito *Anopheles gambiae* in a wind tunnel. *Med Vet Entomol* 1994; 8:386-388.
7. Foster W.A., Hancock R.G.: Nectar-related olfactory and visual attractants for mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 1994; 10:288-296.
8. Fradin M.S. Protection from blood-feeding arthropods. In: Auerbach PS, ed. *Wilderness Medicine: Management of Wilderness and Environmental Emergencies*. 4th Ped. St. Louis: Mosby; 2001:754-768.
9. De Jong R., Knols B.G.: Selection of biting sites by mosquitoes. *Ciba Found Symp.* 1996; 200:89-100.
10. Costantini C., Birkett M.A., Gibson G., et al.: Electroantennogram and behavioural responses of the malaria vector *Anopheles gambiae* to human-specific sweat components. *Medical & Veterinary Entomology* 2001; 15 (3):259-266.
11. Maibach H.I., Skinner W.A., Strauss W.G., Khan A.A.: Factors that attract and repel mosquitoes in human skin. *JAMA* 1966; 196:263-266.
12. Khan A.A., Maibach H.I., Skidmore D.L.: A study of insect repellents: effect of temperature on protection time. *J Econ Entomol* 1972; 66: 437-438.
13. Port G.R., Boreham P.F.L.: The relationship of host size to feeding by mosquitoes of the *Anopheles gambiae* Giles complex (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research* 1980; 70:133-144.
14. Bock G.R., Cardew G., eds.: *Olfaction in Mosquito-Host Interactions*. New York: J Wiley, 1996.
15. Clements A.N.: *The Physiology of Mosquitoes*. Oxford: Pergamon Press, 1963.
16. Gillies M.T.: The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera: Culicidae): a review. *Bulletin of Entomological Research* 1980; 70:525-532.
17. Pinto M.C., Campbell-Lendrum D.H., Lozovei A.L., Teodoro U., Davies C.R.: Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Medical & Veterinary Entomology* 2001; 15 (2):132-139.
18. Smallegange R.C., Qiu Y.T., Van Loon J.J., Takken W.: Synergism between ammonia, lactic acid and carboxylic acids as kairomones in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae). *Chem Senses* 2005; 30(2):145-152.
19. Davis E.E., Sokolove P.G.: Lactic acid-sensitive receptors on the antennae of the mosquito, *Aedes aegypti*. *J Comp Physiol* 1976; 105:43-54.
20. Rebollar-Tellez E.A., Hamilton J.G.C., Ward R.D.: Response of female *Lutzomyia longipalpis* to host odour kairomones from human skin. *Physiological Entomology* 1999; 24 (3):220-226.
21. Njiru B.N., Mukabana W.R., Takken W., Knols B.G.: Trapping of the malaria vector *Anopheles gambiae* with odour-baited MM-X traps in semi-field conditions in western Kenya. *Malar J* 2006; 5:39.
22. Norin T.: Pheromones and kairomones for control of pest insects. Some current results from a Swedish research program. *Pure Appl Chem* 2001; 73(3):607-612.
23. Hummel H.E., Shaw J.T., Hein D.F.: (2005). A promising biotechnical approach to pest management of *Diabrotica virgifera virgifera* in Illinois maize fields under kairomonal shielding with the new MSD technique. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2005; 70(4):625-632.
24. Torr S.J., Mangwiro T.N., Hall D.R.: The effects of host physiology on the attraction of tsetse (Diptera: Glossinidae) and *Stomoxys* (Diptera: Muscidae) to cattle. *Bull Entomol Res* 2006; 96(1):71-84.
25. Bouman E.A.P., Dusbábek F., Šimek P., Zahradníčková H.: Methyl 3-chloro-4-methoxybenzoate, a new candidate semiochemical inhibiting copulation behaviour of *Ixodes ricinus* (L.) males. *Physiological Entomology* 2003; 28 (4):276-282.
26. Rutledge L.C., Collister D.M., Meixsell V.E., Eisenberg G.H.: Comparative sensitivity of representative mosquitoes (Diptera: Culicidae) to repellents. *J Med Entomol* 1983; 20:506-510.
27. Lillie T.H., Schreck C.E., Rahe A.J.: Effectiveness of personal protection against mosquitoes in Alaska. *J Med Entomol* 1988; 25:475-478.
28. CDC: Centers for Disease Control (Atlanta, USA). Updated Information regarding Mosquito Repellents April 18, 2006, <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/RepellentUpdates.htm> (geraadpleegd op 10-08-2006).
29. Rutledge L.C., Wirtz R.A., Buescher M.D., Mehr Z.A.: Mathematical models of the effectiveness and persistence of mosquito repellents. *J Am Mosq Control Assoc* 1985; 1:56-61.
30. Buescher M.D., Rutledge L.C., Wirtz R.A., Nelson J.H.: The dose-persistence relationship of deet against *Aedes aegypti*. *Mosquito News* 1983; 43:364-366.
31. Schreck C.E., McGovern T.P.: Repellents and other personal protection strategies against *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 1989; 5:247-250.
32. Fradin M.S., Day J.F.: Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *N Engl J Med* 2002; 347:13-18.
33. Curtis C.F., Lines J.D., Ijumba J., Callaghan A., Hill N., Karimzad M.A.: The relative efficacy of repellents against mosquito vectors of disease. *Med. Vet. Entomol.* 1987; 1:109-119.
34. Frances S.P., Eikarat N., Sripongsoi B., Eamsila C.: Response of *Anopheles dirus* and *Aedes albopictus* to repellents in the laboratory. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 1993; 9:474-476.
35. Costantini C., Badolo A., Ilboudo-Sanogo E.: Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR 3023 against *Anopheles gambiae* complex and other Afrotropical vector mosquitoes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004; 98(11):644-652.
36. Badolo A., Ilboudo-Sanogo E., Ouedraogo A.P., Costantini C.: Evaluation of the sensitivity of *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes to two insect repellents: DEET and KBR 3023. *Trop Med Int Health* 2004; 9(3): 330-334.
37. Frances S.P., Waterson D.G., Beebe N.W., Cooper R.D.: Field evaluation of commercial repellent formulations against mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Northern Territory, Australia. *J Am Mosq Control Assoc* 2005; 21(4):480-482.
38. Gupta R.K., Rutledge L.C.: Controlled release repellent formulations on human volunteers under three climatic regimens. *J Am Mosq Control Assoc* 1991; 7:490-493.
39. Fradin M.S.: Mosquitoes and mosquito repellents: a clinician's guide. *Ann Intern Med* 1998; 128:931-940.
40. Osimitz T.G., Grothaus R.H.: The present safety assessment of deet. *J Am Mosq Control Assoc* 1995; 11:274-278.
41. Osimitz T.G., Murphy J.V.: Neurological effects associated with use of the insect repellent N, N-diethyl-m-toluamide (DEET). *J Toxicol Clin Toxicol* 1997; 35:435-441.
42. Koren G., Matsui D., Bailey B.: DEET-based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. *Can. Med. Assoc. J* 2003; 169:209-212.

43. Van Haaren F., Haworth S.C., Bennett S.M., et al.: The effects of pyridostigmine bromide, permethrin, and DEET alone, or in combination, on fixed-ratio and fixed-interval behavior in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001;69(1-2):23-33.
44. Abou-Donia M.B., Goldstein L.B., Jones K.H., Abdel-Rahman A.A., Damodaran T.V., Dechkovskaia A.M., Bullman S.L., Amir B.E., Khan W.A.: Locomotor and sensorimotor performance deficit in rats following exposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin, alone and in combination. *Toxicol Sci.* 2001;60(2):305-14.
45. Abu-Qare A.W., Abou-Donia M.B.: Combined exposure to DEET (N,N-diethyl-m-toluamide) and permethrin: pharmacokinetics and toxicological effects. *J Toxicol Environ Health Crit Rev* 2003; 6(1):41-53.
46. Abdel-Rahman A., Abou-Donia S., El-Masry E., Shetty A., Abou-Donia M.: Stress and combined exposure to low doses of pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin produce neurochemical and neuropathological alterations in cerebral cortex, hippocampus, and cerebellum. *J Toxicol Environ Health* 2004; 67(2):163-192.
47. Schoenig G.P.: Locomotor and sensorimotor performance deficit in rats following exposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin. Alone and in combination. *Toxicol Sci* 2002; 68(2):516-517.
48. Jortner B.S.: The return of the dark neuron. A histological artifact complicating contemporary neurotoxicologic evaluation. *Neurotoxicology* 2006; 27(4):628-34.
49. Roy M.J., Kraus P.L., Seegers C.A., et al.: Pyridostigmine, diethyltoluamide, permethrin, and stress: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial to assess safety. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(10):1303-1310.
50. Undeger U., Basaran N.: Effects of pesticides on human peripheral lymphocytes in vitro: induction of DNA damage. *Arch Toxicol* 2005; 79(3): 169-176.
51. WHO: 2001. Report of the Fourth WHOPES Working Group Meeting. World Health Organization, Geneva, WHO/CDS/WHOPES/2001.2.
52. Barnard D.R., Xue R.D.: Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 2004; 41(4):726-730.
53. Insect Repellents. *The Medical Letter on Drugs and Therapeutics* 2003; 45:41-42.
54. Frances S.P., Van Dung N., Beebe N.W., Deboun M.: Field evaluation of repellent formulations against daytime and nighttime biting mosquitoes in a tropical rainforest in northern Australia. *J Med Entomol* 2002; 39:541-544.
55. EPA: New pesticide Fact Sheet - Picaridin. US Environmental Protection Agency, 2005. www.epa.gov/oppbpp1/biopesticides/ingredients/factsheets (geraadpleegd op 07-07-2006).
56. Bayer: Brochure Bayrepel. www.autan.com/objekte/bayrepel_brosch.pdf (geraadpleegd 07-07-2006).
57. Frances S.P., Cooper R.D.: Personal protection measures against mosquitoes: A brief history and current use of repellents by the Australian Defence Forces. *ADF Health* September 2002; 3(2):58-63.
58. EPA: IR3535 Fact Sheet. US Environmental Protection Agency, 2006. www.epa.gov/oppbpp1/biopesticides/ingredients/factsheets (geraadpleegd op 07-07-2006).
59. PMRA: Re-evaluation Decision Document RRD2001-01. Pest Management Regulatory Agency, Canada, 2001. www.pmr-arla.gc.ca (geraadpleegd 10-08-2006).
60. Quarles W.: Botanical mosquito repellents. *Common Sense Pest Control* 1996; 12:12-19.
61. Brown M., Hebert A.A.: Insect repellents: an overview. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 243-249.
62. Duke J.: USDA Agricultural Research Service - Phytochemical and Ethnobotanical Databases, 2002. (<http://www.ars-grin.gov/ngrlsb/>).
63. Jaenson T.G., Garbouli S., Palsson K.: Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent MyggA natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *J Med Entomol* 2006; 43(4):731-736.
64. Trongtokit Y., Curtis C.F., Rongsriyam Y.: Efficacy of repellent products against caged and free flying *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36(6):1423-1431.
65. Lindsay R.L., Surgeoner G.A., Heal J.D., Gallivan G.J.: Evaluation of the efficacy of 3% citronella candles and 5% citronella incense for protection against field populations of *Aedes* mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 1996; 12:293-294.
66. Matsuda B.M., Surgeoner G.A., Heal J.D., Tucker A.O., Maciarelo M.J.: Essential oil analysis and field evaluation of the citrus plant "*Pelargonium citrosum*" as a repellent against populations of *Aedes* mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 1996; 12:69-74.
67. Cilek J.E., Schreiber E.T.: Failure of the "mosquito plant", *Pelargonium x citrosum* "van Leenii", to repel adult *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* in Florida. *J Am Mosq Control Assoc* 1994; 10:473-476.
68. Kirton L.G.: Laboratory and field tests of the effectiveness of the lemon-eucalyptus extract, Citridiol, as a repellent against land leeches of the genus *Haemadipsa* (Haemadipsidae). *Ann Trop Med Parasitol* 2005; 99(7):695-714.
69. Lindsay R.L., Heal J.D., Surgeoner G.A.: Evaluation of Bite Blocker as a repellent against spring *Aedes* spp. mosquitoes. Guelph, Ontario: Department of Environmental Biology, University of Guelph; 1996. Sponsored by Chemfree Environment, Inc.
70. Lindsay R.L., Heal J.D., Surgeoner G.A.: Comparative evaluation of the efficacy of Bite Blocker, Off! Skintastic, and Avon Skin-So-Soft to protect against *Aedes* species mosquitoes in Ontario. Guelph, Ontario: Department of Environmental Biology, University of Guelph; 1996. Sponsored by Chemfree Environment, Inc.
71. Schreck C.E., Posey K., Smith D.: Durability of permethrin as a potential clothing treatment to protect against blood-feeding arthropods. *J Econ Entomol* 1978; 71:397-400.
72. Schreck C.E., Carlson D.A., Weidhass D.E., Posey K., Smith D.: Wear and aging tests with permethrin-treated cotton-polyester fabric. *J Econ Entomol* 1980; 73:451-453.
73. Curtis C.F., Lines J.D., Baolin L., Renz A.: Natural and synthetic repellents, In: Curtis, C.F., (Ed.), *Control of Disease Vectors in the Community*. Wolfe Publishing Ltd, London, 1991. pp. 75-92.
74. Gupta R.K., Sweeney A.W., Rutledge L.C., Cooper R.D., Frances S.P., Westrom D.R.: Effectiveness of controlled-release personal-use arthropod repellents and permethrin-impregnated clothing in the field. *J Am Mosq Control Assoc* 1987; 3:556-560.
75. Sholdt L.L., Schreck C.E., Qureshi A., Mammino S., Aziz A., Iqbal M.: Field bioassays of permethrin-treated uniforms and a new extended duration repellent against mosquitoes in Pakistan. *J Am Mosq Control Assoc* 1988; 4: 233-236.
76. Paeporn P., Supaphathom K., Sathantriphop S., Mukkhun P., Sankitporn S.: Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* in Tsunami-affected areas in Thailand. *Dengue Bulletin* 2005; Vol 29:210-213. WHO, Geneva.
77. Kristan M., Fleischmann H., Della Torre A., Stich A., Curtis C.F.: Pyrethroid resistance/susceptibility and differential urban/rural distribution of *Anopheles arabiensis* and *An. gambiae* s.s. malaria vectors in Nigeria and Ghana. *Med Vet Entomol.* 2003; 17(3):326-332.
78. WHO: Regional Office for Africa. Atlas of insecticide resistance in malaria vectors of the WHO African region. African Network for Vector Resistance. Harare October 2005. http://www.afro.who.int/des/phe/publications/atlas_final_version.pdf
79. Medical Letters on Drugs Therapy. Insect repellents. *Med Lett Drugs Ther* 1989; 31:45-7.
80. Byrnes K.P.: Memorandum for General Richard A. Cody, Vice Chief of Staff US Army. Subject: Recommendation for manufacturer-treated Battle Dress Uniforms (BDUs), Desert Camouflage Uniforms (DCUs), and Army Combat Uniforms (ACUs) with permethrin. Department of the Army, 10 December 2004. http://usachppm.apgea.army.mil/DODIRS/assets/Factory_Treatment_TRADOC_Dec_2004.pdf

