

Nghiên cứu tác dụng xua muỗi *Aedes aegypti* của dịch chiết húng quế *Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae* trên thực nghiệm

STUDY ON REPELLENT EFFECT OF BASIL EXTRACT (*OCIMUM BASILICUM* L. *LAMIACEAE*) ON *Aedes Aegypti* IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Nguyễn Thị Minh Thu¹, Đoàn Minh Khiết²

¹Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam

²Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 06 đến tháng 8 năm 2020, tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương.

Mục tiêu: Thử tác dụng xua muỗi *Aedes aegypti* của dịch chiết nước Húng quế (*Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*) trên động vật thí nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu: Tiến hành thử tác dụng xua muỗi theo phương pháp của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), với môi là chuột lang. Chín trăm (900) muỗi *Aedes aegypti* được chia thành 9 lô, mỗi lô 100 con; trong đó có 3 lô chứng (muỗi được nhốt trong ống tunnel với màn không tẩm dịch thử), 3 lô thử với dịch chiết húng quế nồng độ 100 g/100 mL và 3 lô thử với dịch chiết húng quế nồng độ 200 g/100 mL. Đánh giá tỷ lệ muỗi chết và tỷ lệ muỗi bị ức chế hút máu ở các lô chứng và lô thử nghiệm sau 15 giờ tiếp xúc với màn tẩm dịch thử.

Kết quả: Dịch chiết húng quế ở các nồng độ 100 g/100 mL và 200 g/100 mL có tác dụng xua trung bình lần lượt là 62,71% và 76,12% muỗi *Aedes aegypti*.

Từ khóa: Húng quế, *Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*, muỗi *Aedes aegypti*, dịch chiết nước, tác dụng xua, tỷ lệ chết, tỷ lệ ức chế hút máu.

ABSTRACT

This study was carried out between June and August, 2020 at National Institute of Malariology, Parasitology and Entomology, Hanoi, Vietnam.

Objective: To test repellent effect of basil extract (*Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*) on *Aedes aegypti* mosquitoes in experimental animals.

Methods: Repellent effect of basil extract on *Aedes aegypti* was assessed according to WHO method in guinea pigs. Total of 900 *Aedes aegypti* mosquitoes were selected and divided in 9 groups, in which each group had 100

Ngày nhận bài: 5/3/2021

Ngày phản biện: 9/3/2021

Ngày chấp nhận đăng: 12/4/2021



mosquitoes. Three groups were considered as the control ones that were kept respectively in a tunnel with blank nets. Three others were caged in turn at the same tunnel with the net which had been soaked in the basil extract at the concentration of 100 g/100 mL, while the rest were confined in the tunnel in succession with 200 g/100 mL basil-extract-dipped net. Then, the rates of dead mosquitoes and sucking blood inhibition were evaluated after exposing 15 hours to basil-extract nets.

Results: At the concentrations of 100 g/100 mL and 200 g/100 mL, basil extracts revealed average repellent effects on *Aedes aegypti* with the rates of 62.71% and 76.12%, respectively.

Key words: Basil, *Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*, *Aedes aegypti*, mosquito, water extract, repellent effect, rate of dead mosquitoes, rate of sucking blood inhibition.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Muỗi là một trong những loài động vật gây tử vong ở người lớn nhất trên thế giới. Chúng có khả năng mang và truyền bệnh cho người, đồng thời gây hàng triệu ca tử vong mỗi năm. Nhiều bệnh nguy hiểm có khả năng lây nhiễm do muỗi đốt, như: Sốt xuất huyết, sốt do virus Tây sông Nile, sốt rét, sốt vàng da, sốt thung lũng Rift, sốt Chikungunya, viêm não Nhật Bản, virus viêm não ngựa và virus Zika, ... Trong đó, bệnh lây nhiễm cao nhất và có tỷ lệ lớn nhất là sốt xuất huyết [6], [8]. Vì thế, việc phòng chống các bệnh do muỗi truyền, ngăn ngừa muỗi đốt và diệt muỗi là các biện pháp rất cần thiết và cấp bách.

Từ lâu, việc sử dụng các dược liệu để phòng tránh muỗi đã được nhiều nước trên thế giới quan tâm nghiên cứu và áp dụng. Nhiều loại cây thể hiện tác dụng chống muỗi tốt như: Bạc hà, sả chanh, oải hương, tỏi, cúc vạn thọ, đinh hương, khuynh diệp, trà trà... Húng quế (*Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*) được dùng chủ yếu ở nước ta làm gia vị cho các món ăn (lá và ngọn) hoặc để uống cho mát (hạt é) [1]. Ở một số nước trên thế giới, húng quế được trồng để lấy tinh dầu, sắc thuốc uống để chữa sốt, làm ra mồ hôi, chữa đau dạ dày, ăn uống không tiêu, lấy nước súc miệng và chữa đau răng. Ngoài ra, húng quế còn có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, giảm căng thẳng và chữa

bệnh tiểu đường [3], [4], [5]. Một số nghiên cứu thực địa tại Kenya cho thấy, cây húng quế trồng trong chậu có thể xua 40% muỗi *Anopheles*; tinh dầu húng quế có tác dụng bảo vệ 100% khỏi muỗi *Aedes* trong vòng 6 giờ [7]. Chưa thấy nghiên cứu nào trong nước tiến hành thử tác dụng dược lý của húng quế; đặc biệt các nghiên cứu về tác dụng chống muỗi của loại cây này cả trên thế giới và Việt Nam đều còn rất ít.

Do đó, để phát triển thuốc có nguồn gốc dược liệu và tạo ra các dạng chế phẩm có tác dụng phòng chống muỗi, ngăn ngừa bệnh do muỗi truyền, đề tài này được tiến hành với mục tiêu đánh giá tác dụng xua muỗi *Aedes aegypti* của dịch chiết húng quế (*Ocimum basilicum* L. *Lamiaceae*) trên thực nghiệm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 6-8 năm 2020, tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương.

Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu

Phần trên mặt đất của cây húng quế còn tươi được thu hái từ tháng 6-8/2020 tại Yên Xá, Tân Triều, Thanh Trì, Hà Nội. Mẫu thu hái được xác định bởi TS. Hoàng Quỳnh Hoa, Phó Chủ nhiệm



Bộ môn Thực vật, Trường Đại học Dược Hà Nội.

Mẫu sau thu hái được rửa sạch, thái nhỏ và được chiết nóng với nước như sau. Lấy 1 kg húng quế, thêm 2 lít nước, đun nhỏ lửa trong 30 phút. Sau đó lọc lấy dịch chiết. Thêm tiếp 1 lít nước vào và đun nhỏ lửa tiếp trong 30 phút nữa. Sau đó lọc lấy dịch chiết lần 2. Gộp dịch chiết lần 1 và lần 2 lại, cô cách thủy cho tới khi được dịch chiết tỷ lệ 1:1 (100 g/100 ml). Lấy riêng 300 – 400 mL dịch chiết này để thử nghiệm. Số còn lại cô cách thủy để được dịch chiết có nồng độ 200 g/100 mL. Các mẫu này được dùng để thử nghiệm tác dụng của muỗi *Aedes aegypti*.

Muỗi dùng trong nghiên cứu

Muỗi cái *Aedes aegypti* (hình 1): 900 con, 5 - 8 ngày tuổi, khỏe mạnh, đủ 6 chân, đủ 2 cánh, có tư thế đậu bình thường, chưa hút máu.

Muỗi được nuôi tại Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương trong điều kiện thí nghiệm. Chọn những con được nuôi ăn vừa phải, không quá no hoặc quá đói.



Hình 1. Muỗi *Aedes aegypti*

Động vật mồi dùng trong nghiên cứu

Chuột hamster, 10 con, 110,0 ± 10 g, trưởng thành, khỏe mạnh, không phân biệt giống, do Học viện Nông nghiệp Việt Nam cung cấp, được nuôi trong điều kiện thí nghiệm từ 5-7 ngày trước khi tiến hành nghiên cứu.

Nguyên liệu, dụng cụ dùng trong nghiên cứu

- Ống tunnel hình hộp chữ nhật bằng thủy tinh dài 60 cm, chiều rộng 25 cm, chiều cao 25 cm: 04 ống.

- Khung nhựa, kích thước trong 20 cm x 20 cm để giữ màn thử nghiệm đặt ở vị trí 1/3 chiều dài của ống tunnel.

- Mảnh vải thử nghiệm và mảnh vải đối chứng kích thước 21 cm x 21 cm. Mỗi mảnh cắt 9 lỗ đường kính 1 cm, một lỗ ở tâm mảnh màn, 8 lỗ còn lại cách viền màn 6 cm và cách đều nhau 5 cm theo hàng ngang và hàng dọc.

- Kẹp để kẹp chuột.

- Lồng màn kích thước 30 cm x 30 cm.

- Ống hút bằng thủy tinh, đường kính ngoài 1 - 1,2 cm, một đầu ống uốn cong giúp cho việc bắt chuyển muỗi từ phễu nhựa vào cốc nghi một cách dễ dàng. Ống hút này được nối với một ống cao su hoặc một ống nhựa mềm có chiều dài 60 cm có gắn đầu ngậm hút.

- Tuýp bắt muỗi bằng thủy tinh thủng hai đầu, đường kính 1,2 cm; chiều dài 18 cm - 20 cm.

Phòng thử nghiệm

Hai phòng riêng biệt, có diện tích tối thiểu 12 m²/phòng, duy trì điều kiện nhiệt độ 27°C ± 2°C và độ ẩm 75% ± 10%, đủ tối khi tiến hành thử nghiệm.

Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị muỗi thử

Chuẩn bị mỗi lô thử nghiệm và lô chứng 100 muỗi cái 5-8 ngày tuổi, chưa hút máu, chia thành các lô như sau:

- Lô 1: 100 muỗi cái *Aedes aegypti* được nhốt trong ống tunnel với màn không tẩm dịch thử;

- Lô 2: 100 muỗi cái *Aedes aegypti* được nhốt trong ống tunnel với màn tẩm dịch thử 100 g/100 mL;

- Lô 3: 100 muỗi cái *Aedes aegypti* được nhốt trong ống tunnel với màn tẩm dịch thử 200 g/100 mL.



Dùng tuýp bắt muỗi, mỗi tuýp bắt 5 muỗi / lần. Thí nghiệm được tiến hành 3 lần, mỗi lần chia thành 3 lô như trên.

Tiến hành (theo phương pháp của WHO [9])

- Dùng băng dính cố định miếng vải vào khung nhựa, đặt vào khe ở vị trí 1/3 chiều dài của ống tunnel (hình 2). Với các lô chứng: Miếng vải không được tẩm dịch chiết húng quế. Với các lô thử nghiệm còn lại, miếng vải sẽ được tẩm dịch chiết với các nồng độ khác nhau ở mỗi lần.

- Cố định 1 con chuột vào tunnel bằng kẹp chuột, sau đó đưa vào phần ngắn hơn của tunnel, buộc đầu màn ở phần ngắn hơn của ống tunnel lại

- Mỗi lần, thả 100 muỗi cái đã chuẩn bị ở trên vào phần dài hơn của ống tunnel, buộc đầu màn ở phần dài hơn của ống tunnel lại.

- Sau thời gian tiếp xúc 15 giờ, muỗi được hút từ mỗi phần của tunnel vào các lồng muỗi khác nhau



Hình 2. Bộ thử tunnel

bằng ống hút muỗi, ghi lại tỷ lệ muỗi chết (nếu có) và tỷ lệ muỗi bị ức chế hút máu, tỷ lệ muỗi no máu.

Những con muỗi được đánh giá là chết khi chúng không bay lên được.

Chỉ tiêu đánh giá

Đánh giá tỷ lệ muỗi chết và tỷ lệ muỗi bị ức chế hút máu ở các lô theo các tình huống sau đây (bảng 1).

Bảng 1. Một số tình huống nghiên cứu và xử trí

STT	Tình huống	Xử lý
1	- Nếu tỷ lệ muỗi chết trong lô đối chứng > 10%	- Hủy bỏ kết quả và làm lại thí nghiệm (TN).
2	- Nếu tỷ lệ muỗi đối chứng chết trong khoảng 0%- 10%	- Tỷ lệ muỗi chết được điều chỉnh theo công thức Abbott
3	- Nếu tỷ lệ muỗi chết trong lô đối chứng 0%	- Giữ nguyên tỷ lệ chết quan sát mà không cần điều chỉnh

Công thức Abbott:

Tỷ lệ % muỗi chết = $((\text{Số muỗi chết ở lô thí nghiệm} - \text{số muỗi chết ở lô chứng}) \times 100) / (100 - \text{số muỗi chết ở lô đối chứng})$

% muỗi bị ức chế hút máu = $((\text{Số muỗi bị ức chế ở lô TN} - \text{số muỗi bị ức chế ở lô chứng}) \times 100) / (100 - \text{số muỗi bị ức chế ở lô chứng})$

Xử lý số liệu

Bảng 2. Ảnh hưởng của dịch chiết húng quế với *Aedes aegypti* (Lần 1)

Lô	Số muỗi chết	Số muỗi no máu	Số muỗi ngã/ bị ức chế hút máu	% muỗi chết	% muỗi bị ức chế hút máu	Tỷ lệ muỗi chết + bị ức chế hút máu (%)
(1)-chứng (L1)	0	100	0	0	0	0

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê y học. Tỷ lệ muỗi chết và bị ức chế hút máu được tính trung bình của 3 lần thí nghiệm.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Dịch chiết húng quế ở 2 nồng độ 100 g/ 100 ml và 200 g/ 100 ml đã được thử nghiệm với 900 muỗi *Aedes aegypti*. Kết quả được mô tả ở bảng 2-5 sau.

(2)- Dịch chiết 100g/100ml (L1)	11	37	52	11	52	63
(3)- Dịch chiết 200 g/100ml (L1)	35	22	43	35	43	78
$p(2-1), p(3-1)$	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01

Bảng 2 cho thấy, dịch chiết húng quế 100 g/100 mL và 200 g/100 mL theo thứ tự có tác dụng ức chế hút máu với 63% và 78% muỗi *Aedes aegypti* ở lần thử nghiệm thứ nhất. Lô chứng không có muỗi nào chết hoặc bị ức chế hút máu.

Bảng 3. Ảnh hưởng của dịch chiết húng quế với *Aedes aegypti* (Lần 2)

Lô	Số muỗi chết	Số muỗi no máu	Số muỗi ngã/ bị ức chế hút máu	% muỗi chết	% muỗi bị ức chế hút máu	Tỷ lệ muỗi chết + bị ức chế hút máu (%)
(1)-chứng (L2)	0	100	0	0	0	0
(2)- Dịch chiết 100g/100ml (L2)	13	36	51	13	51	64
(3)- Dịch chiết 200 g/100ml (L2)	33	24	43	33	43	76
$p(2-1), p(3-1)$	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01

Kết quả từ bảng 3 cho thấy, ở lần thử nghiệm thứ 2, tỷ lệ muỗi *Aedes aegypti* bị ức chế hút máu và chết lần lượt là 64% và 76% tương ứng với các dịch chiết húng quế nồng độ 100 g/100 mL và 200 g/100 mL.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch chiết húng quế với *Aedes aegypti* (Lần 3)

Lô	Số muỗi chết	Số muỗi no máu	Số muỗi ngã/ bị ức chế hút máu	% muỗi chết (Abbott)	% muỗi bị ức chế hút máu	Tỷ lệ muỗi chết + bị ức chế hút máu (%)
(1)-chứng (L3)	1	99	0	1	0	1
(2)- Dịch chiết 100g/100ml (L3)	13	38	49	12,12	49	61,12
(3)- Dịch chiết 200g/100ml (L3)	36	25	39	35,35	39	74,35
$p(2-1), p(3-1)$	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01

Ở lần thử nghiệm thứ 3, lô chứng có 1 muỗi chết (1%), hai lô còn lại có số muỗi chết và ức chế hút máu lần lượt là 61,12% và 74,35%, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$).

Sau 3 lần thử nghiệm, kết quả trung bình của các lô thử nghiệm được tổng hợp ở bảng 5.



Bảng 5. Ảnh hưởng của dịch chiết húng quế với *Aedes aegypti* ($n = 300/\text{lô}$)

Lô	Tỷ lệ trung bình muỗi chết (%) (Abbott)	Tỷ lệ trung bình muỗi bị ức chế hút máu (%)	Tỷ lệ trung bình muỗi chết + ức chế hút máu (%)
(1)-chúng (TB)	0,33	0	0,33
(2)- Dịch chiết 100g/100ml (TB)	12,04	50,67	62,71
(3)- Dịch chiết 200g/100ml (TB)	34,45	41,67	76,12
p (2-1), p (3-1)	< 0,05	< 0,01	< 0,01

Như vậy, kết quả sau 3 lần thử nghiệm cho thấy, dịch chiết húng quế nồng độ 100 g/100 mL và 200 g/100 mL có tác dụng xua 62,71% và 76,12% muỗi *Aedes aegypti*, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chúng ($p < 0,01$).

BÀN LUẬN

Aedes, *Anopheles* và *Culex* là 3 loài muỗi chính lan truyền bệnh ở người trong số hơn 2700 loài muỗi. Trong đó, *Aedes aegypti* là vector truyền rất nhiều bệnh nguy hiểm sang người như: sốt xuất huyết, sốt vàng da, Chikungunya và virus Zika,... [2], [8]. Việt Nam là nước nhiệt đới, có khí hậu nóng ẩm gió mùa, rất thích hợp cho các loài muỗi trên phát triển và lan truyền bệnh. Vì thế, bên cạnh việc phát triển các thuốc chữa bệnh do muỗi truyền, nghiên cứu các thuốc có tác dụng xua hay diệt muỗi cũng rất cần thiết và cấp bách.

Trong nghiên cứu này, dịch chiết húng quế với 2 nồng độ 100 g/100 mL và 200 g/100 mL đã được thử nghiệm 3 lần trên 900 muỗi *Aedes aegypti* để lấy giá trị trung bình. Kết quả cho thấy, các dịch chiết trên có tác dụng xua trung bình lần lượt là 62,71% và 76,12% muỗi *Aedes aegypti*, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với lô chúng ($p < 0,01$). Ở hai lần đầu, lô chúng không có muỗi nào chết hoặc ngã, tất cả muỗi ở lô chúng (100%) đều no máu. Nhưng ở lần

thử nghiệm thứ ba, lô chúng có 01 muỗi chết, chưa hút máu, tỷ lệ 1%; còn lại 99/100 muỗi (99%) no máu. Vì thế, tỷ lệ muỗi chết ở các lô còn lại được tính hiệu chỉnh theo công thức Abbott.

Cả ba lần thí nghiệm cho thấy, muỗi được chọn vào nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn thí nghiệm. Việc có 01 muỗi ở lô chúng chết là hoàn toàn ngẫu nhiên, mang tính sinh học và không ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu. Ở nồng độ 200 g/100 mL, dịch chiết húng quế có tác dụng gây chết muỗi *Aedes aegypti* cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nồng độ 100 g/100 mL ($p < 0,05$) ở cả 3 lần thí nghiệm cho thấy các thành phần của húng quế có tác dụng diệt muỗi và nồng độ càng cao thì tác dụng này thể hiện càng rõ rệt.

Tuy nhiên, lô thử nghiệm dịch chiết có nồng độ 100 g/100 mL lại có tác dụng ức chế hút máu cao hơn lô 3 nhưng tổng giá trị gây chết và ức chế hút máu lại thấp hơn so với lô 3 (lô có nồng độ 200 g/100 mL). Sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trong đánh giá tác dụng xua và diệt muỗi nói chung, người ta sẽ xác định giá trị tổng số muỗi bị ức chế hút máu cộng với số muỗi chết để đánh giá và kết luận về tác dụng của mẫu thử. Do đó, việc lô 2 có tác dụng ức chế hút máu cao hơn lô 3 không ảnh hưởng đến kết quả đánh giá và tổng giá trị của số muỗi chết cùng với số muỗi bị



ức chế hút máu của lô 2 thấp hơn lô 3 là hợp lý. Kết quả của nghiên cứu cũng cho thấy cần tiến hành các nghiên cứu tiếp theo với nồng độ thử nghiệm cao hơn để xem các nồng độ cao đó có ảnh hưởng khác biệt thống kê hay không.

Một nghiên cứu ở Kenya cho thấy, tinh dầu húng quế có tác dụng bảo vệ 100% khỏi muỗi *Aedes aegypti* [7] cho thấy tinh dầu có tác dụng xua muỗi rất tốt. Trong nghiên cứu này, dịch chiết húng quế ở cả hai nồng độ chỉ có tác dụng xua 62,71% và 76,12% muỗi *Aedes aegypti*. Điều này chứng tỏ, ngoài tinh dầu thì các thành phần khác trong dịch chiết cũng có tác dụng xua muỗi. Tuy nhiên, cần nhiều nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ vấn đề trên.

Nghiên cứu này mới chỉ dừng ở mức độ thử tác dụng xua muỗi của hai nồng độ dịch chiết húng quế là 100 g/100 mL và 200 g/100 mL. Nồng độ 200 g/100 mL thể hiện tác dụng xua muỗi tốt hơn nồng độ 100 g/100 mL có ý nghĩa thống kê. Do đó,

cần tiến hành thử nghiệm tác dụng xua ở nồng độ cao hơn để đánh giá rõ hơn về tác dụng xua muỗi của dịch chiết húng quế.

KẾT QUẢ

Đã nghiên cứu tác dụng xua muỗi của dịch chiết húng quế ở các nồng độ 100 g/100 mL và 200 g/100 mL. Kết quả cho thấy: Hai nồng độ trên có tác dụng xua trung bình lần lượt là: 62,71% và 76,12% muỗi *Aedes aegypti*.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được sự tài trợ của Chương trình Phòng chống sốt rét Quốc gia và Học viện Y Dược học cổ truyền Việt Nam. Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn sự phối hợp của cán bộ Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Trung ương trong công tác thử nghiệm mẫu. Cảm ơn TS. Hoàng Quỳnh Hoa, Trường Đại học Dược Hà Nội trong việc thẩm định mẫu thu thập.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Thanh Kỳ (Chủ biên) (2015)**, *Dược liệu học, tập II*, Sách đào tạo Dược sĩ Đại học, tái bản lần thứ I, Nhà Xuất bản Y học, tr. 243-244.
2. **EPA (2018)**, “General Information about Mosquitoes”, United States Environmental Protection Agency.
3. **Camila Martins Güz, Raul Oliveira de Souza, Paula Fischer et al (2017)**, “Evaluation of basil extract (*Ocimum basilicum* L.) on oxidative, antigenotoxic and anti-inflammatory effects in human leukocytes cell cultures exposed to challenging agents”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(1), 12 pages.
4. **D. Lupton, M. Mumtaz Khan, R.A. Al-Yahyai, M. Asif Hanif (2016)**, “Basil: A natural source of antioxidants and nutraceuticals”, chapter 3, *Leafy Medicinal Herbs: Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses*, p. 27-41.
5. **G. Opalchenova, D. Obreshkova (2003)**, “Comparative studies on the activity of basil - an essential oil from *Ocimum basilicum* L. - against multidrug resistant clinical isolates of the of genera *Staphylococcus*, *Enterococcus*, and *Pseudomonas* by using different test methods”, *Journal of Microbiological methods*, Volume 54, Issue 1, p. 105-110.
6. **Science direct (2019)**, “Mosquito – an overview”, *Science direct*, 12 pages.