pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 1, pp. 17~23 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.1.17

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

편백정유와 계피정유를 주성분으로 한 닭진드기 살비제에 대한 피부 자극성 및 감작성 평가

송준호 · 황두현 · 김의경 · 김 석 · 이후장*
경상대학교 수의과대학 동물의학연구소

Evaluation of Skin Irritation and Sensitization on an Acaricide Containing Essential Oils of *Chamaecyparis obtusa* and *Cinnamomum camphora* for Control of Poultry Red Mite (*Dermanyssus gallinae*)

Jun-Ho Song, Du Hyeon Hwang, Euikyung Kim, Suk Kim, Hu-Jang Lee*
Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju, Korea

(Received October 23, 2020/Revised November 27, 2020/Accepted December 16, 2020)

ABSTRACT - This evaluation tested the skin irritation and sensitization of an acaricide (Wagoojabi II®, WGJB) for the control of poultry red mite, containing 20% *Chamaecyparis obtusa* oil and 56% *Cinnamomum camphora* oil. In a primary skin irritation test, rabbits were dermally treated with WGJB for 24 h. The acaricide did not induce any adverse reactions such as erythema and edema on intact skin sites, but on abraded skin sites, some rabbits showed very slight erythema and edema 24 h after topical application. So, the acaricide was classified as a practically mild-irritating material based on a 0.625 primary irritation index score. In the skin sensitization test, guinea pigs were sensitized with intradermal injection of 0.1mL WGJB for 24 h. After 1 week, The WGJB was treated on the site of injection, and challenged 2 weeks later. The WGJB did not induce any allergic reactions. Therefore, the WGJB was graded as a weak material at '0' in both sensitization score and rate. From the results of this study, it is suggested that WGJB does not cause contact irritation and sensitization.

Key words : Acaricide, *Chamaecyparis obtusa* oil, *Cinnamomum camphora* oil, Skin irritation, Skin sensitization

2017년 7월, 네덜란드와 벨기에의 일부 계란 중 살충제 농약 성분인 피프로닐(fipronil)의 검출이 보고되면서, 이 살충제에 오염된 계란을 수입한 독일, 스웨덴, 스위스, 영국, 프랑스 등에서도 계란에서 피프로닐이 검출되었다[1]. 한국에서도 8월부터 계란 중 잔류 농약 실태를 파악한 결과 DDT, bifenthrin, etoxazole, flufenoxuron, pyridaben, 피프로닐 등이 검출되었다[2]. 이 중 bifenthrin을 제외한 DDT, etoxazole, flufenoxuron, pyridaben, 피프로닐은 식품의 기준 및 규격[3]에서 계란에 대한 잔류허용기준이 설정되어 있지 않은 농약들이었으나, 이후에 한국에서도 계란에 대한 잔류허용기준을 설정하였다. 특히 피프로닐은 닭 진드기 방제를 위한 살충제로 사용되었으나, 현재 강한 독성으로 인해 축산물에서의 사용이 금지된 물질이다[4].

닭 진드기(*Dermanyssus gallinae*)는 가금류에 기생하여 흡혈하는 외부 기생충으로서 전 세계적으로 분포하며 각종 가금질병들을 매개하는 해충이다[5]. 많은 산란계 농가가 사육 방식에 관계없이 닭 진드기에 감염된 것으로 보고되고 있으며, 특히 유럽연합(약 83%)[6]과 일본(약 85%)[7]에서는 산란계 농가의 닭 진드기 감염률이 높은 것으로 추정되고 있다. 한국의 경우에는 2017년 조사에서 약 94% 정도가 닭 진드기에 감염이 된 것으로 확인되었다[8].

닭 진드기로 인한 피해로는 산란계에서 흡혈로 인한 스트레스[9], 산란율 저하, 세균 및 바이러스성 질병 전파[8,10], 농장 관리자의 소양증 및 알레르기성 피부염 야기[11] 등이 있다. 닭 진드기는 늦은 밤 30분에서 1시간 30분 정도로 짧은 시간 동안 흡혈한 후, 계사의 틈이나 계란 운반용 벨

*Correspondence to: Hu-Jang Lee, Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea
Tel: +82-55-751-6642, Fax: +82-55-751-5803
E-mail: hujang@gnu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

트, 케이지 등에 숨어 있기에 방제하기가 매우 까다로우며, 흡혈하지 않고도 4-5개월 동안 생존이 가능하기 때문에 재발생 확률이 매우 높다[12].

닭 진드기는 주로 카바메이트계, 유기인계, 피레스로이드계 등의 화학적 방제에 의존해 왔으나 무분별하고 반복적인 살비제의 사용으로 각종 방제제에 대한 내성이 형성되면서 닭 진드기 방제에 문제가 발생하고 있다[8,13]. 2015년 일본의 양계농가에서 fenitrothion, permethrin, carbaryl 등 유기인계, 피레스로이드계, 카바메이트계 약제에 대한 내성이 보고되었고, 스웨덴에서는 permethrin에 대한 내성이 발현되었다는 보고가 있었다[13,14]. 또한, 이러한 살비제의 무분별한 사용은 내성 발현 뿐만 아니라 닭과 계란에서 잔류됨으로서 공중보건학적 문제를 야기하였다[15].

이에 많은 국가에서 닭 진드기 방제를 위해 농약 잔류위험이 없는 천연 살비제의 개발을 추진하였고 essential oil[16], silca[17], 식물추출물[18] 등을 이용한 닭 진드기 제어 연구들이 진행되었다.

본 연구에서는 편백유와 계피유를 주성분으로 한 닭 진드기 구제 살비제와 관련하여, 산란계와 작업자의 피부접촉으로 인한 안전성을 확인하기 위해 농림축산검역본부 고시 제2016-22호 “동물용의약품등 독성시험지침”[19] 및 식품의약품안전청 고시 제2017-71호 “의약품 등의 독성시험기준”[20]에 따라 각각 피부자극성 및 감작성 평가를 수행하였다.

Materials and Methods

실험물질

본 시험에 사용된 시험물질은 ㈜칼텍바이오(Pocheon, Korea)에서 공급받은 주성분이 편백유(20%)와 계피유(56%)인 와구잡이 II® 용액(WGJB)을 사용하였다. 물질은 투명한 갈색의 액체로서 사용기간 동안 실온에 보관하였고, 투여 시, 올리브 오일(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)을 사용하여 농도를 조절하였다.

실험동물

피부자극성 평가와 피부감작성 평가를 위해, 건강한 수컷 New Zealand White Rabbit (1.9-2.2 kg) 6마리와 건강한 수컷 Dunkin-Hartley guinea pigs (330-400 g) 17마리를 (주)샘타코바이오코리아(Sam-taco Bio Korea, Osan, Korea)에서 구입하여 시험에 사용하였다. 실험동물은 사육실 및 실험실 환경에서 2주간 적응시킨 후 시험에 사용하였다. 동물실험은 경상대학교 동물실험윤리위원회의 사전 승인를 받아 동물실험윤리위원회의 규정에 따라 수행하였다(GNU-200316-G0013).

사육환경

온도는 25 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간 12시간(오전 7시 점등 오후 7시 소등), 환기횟수 10-13회/h 및 조도 150-200 Lux로 설정된 경상대학교 부설 중앙동물실험실에서 사육하였다. 사육환경 모니터링을 위하여 온·습도는 매시간 측정하였으며, 기타 환경은 정기적으로 측정하였다. 사료는 실험동물용 토끼사료 및 기니픽사료 (㈜애그리브랜드 퓨리나코리아, 서울)를 자유 급여하였고, 기니픽에는 vitamin C의 공급을 위해 ascorbic acid (220 mg/L) 함유 살균 정제수와 양배추를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 토끼는 3단 사육상자대에 배열된 스테인레스 스틸 사육케이지(42 × 50 × 31 cm)에서 사육상자 당 1마리씩 수용하여 사육하였으며, 기니픽은 스테인레스 스틸 사육케이지(26 × 42 × 18 cm)에서 사육상자 당 1마리씩 수용하여 사육하였다.

피부자극성 평가

시험개시 24시간 전에 토끼의 등에 상처가 생기지 않도록 전기제모기와 면도기를 이용하여 털을 제거하였다. 시험 당일 제모한 등에 척추의 좌우 약 2 cm 떨어진 부위에 전후 약 4 cm 거리를 두고 각각 두 부위씩 2.5 × 2.5 cm의 사각형을 그려 표시해 두었다. 표시된 네 부위 중 오른쪽 두 부위를 주사기 바늘을 이용하여 대각선 방향으로 각질층만 손상되고 진피는 손상되지 않으며 피가 나지 않을 정도의 찰과상을 내었다(Fig. 1).

토끼의 앞쪽 두 부위(찰과 및 비찰과 부위)는 증류수를 도포하고 대조 부위로 하였고, 나머지 두 부위는 WGJB 0.5 mL을 피부에 골고루 도포하고, 시험 부위 전체를 3겹의 거즈로 덮고, 탄력붕대로 감싼 다음 3M 종이테이프로 가장자리를 잘 고정하였다.

시험물질 도포 24시간 후 거즈를 제거하고 피부에 영향을 미치지 않도록 잔류 시험물질을 미온수로 씻어내었다. 시험물질 도포 부위를 세정한 후, 24시간, 48시간 및 72시간 후에 피부반응을 “동물용의약품등 독성시험지침”의

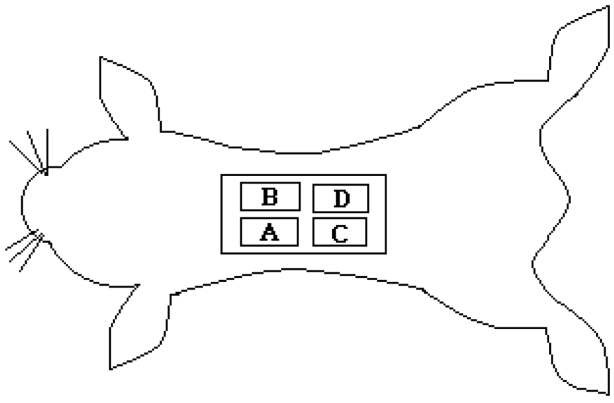

Fig. 1. Compartment of rabbit skin according to treatment of Wagoojabi II® (WGJB). A, control site, intact skin; B, control site, abraded skin; C, WGJB-treatment site, intact skin; D, WGJB-treatment site, abraded skin.

Table 1. Grading scale of skin irritation

Description score	
Erythema and eschar formation	
No erythema	0
Very slight erythema (barely perceptible)	1
Well-defined erythema	2
Moderate to severe erythema	3
Severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth)	4
Edema	
No edema	0
Very slight edema (barely perceptible)	1
Slight edema (edge of area well defined by definite raising)	2
Moderate edema (raised approximately 1 mm)	3
Severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond the area of exposure)	4

Table 2. Irritation rating for primary dermal reaction

Category P.I.I	
0.0 ≤ P.I.I. ≤ 0.5	Non irritant
0.5 < P.I.I. ≤ 2.0	Mild irritant
2.0 < P.I.I. ≤ 5.0	Moderate irritant
5.0 < P.I.I. ≤ 8.0	Severe irritant

P.I.I., primary irritation index.

"피부자극반응 평가표"(Table 1)에 따라 평가하여[19], 피부 1차 자극지수(primary irritation index, P.I.I.)를 산출하여 (Table 2), 자극성을 판정하였다.

피부감작성 평가

기니픽 10마리씩을 사용하여 1군으로 구성하여, 시험물질 투여군과 용매 대조군(올리브 오일 처리)으로 구성하여 실험을 수행하였다. 시험개시 전 기니픽의 등을 상처가 나지 않도록 4 × 4 cm의 크기로 전기제모기와 면도기를 이용하여 털을 제거하여 두었다. 1차 감작노출을 위해 제모한 기니픽의 등 부위 피부(2 × 4 cm)에 Fig. 2와 같은 3종의 시료를 좌우 대칭으로 0.1 mL씩 피내주사 하였다.

시험물질은 5단계(50, 25, 12.5, 6.25, 3.125%)로 희석하여 사용하였으며, 각각의 농도에 대하여 2마리씩의 기니픽을 사용하였다. 피내주사 24시간 후에 주사부위를 관찰하여 2마리 기니픽 모두에서 피부 괴사가 나타나지 않은 최고농도를 감작 항원량으로 하였다. 2차 감작노출은 1차 감작 1주 후 시험물질을 피내주사 했던 부위에 시험물질을 포함하는 패취(patch, 2 × 4 cm)를 부착하여 48시간 동안 폐색첩포하였다. 폐색첩포 후, 2마리 기니픽 모두에서 괴사가 나타나지 않는 최대농도를 감작항원량으로 하였으며, 홍반이 나타나지 않는 최대 농도를 야기항원량으로 사용하였다.

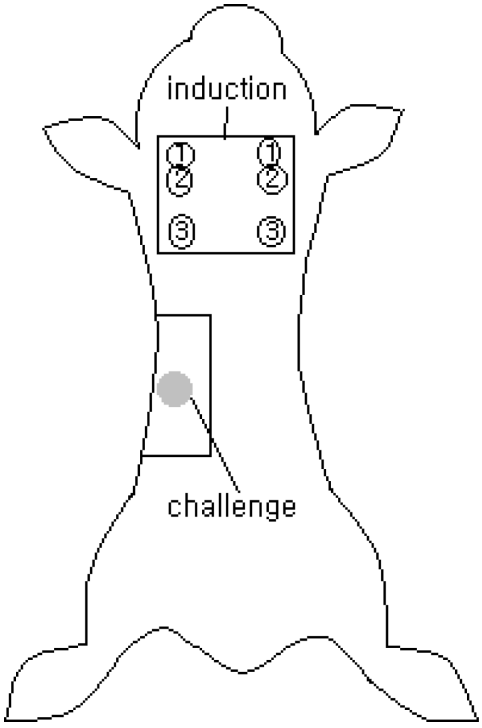

Fig. 2. Induction of skin sensitization and skin reaction in guinea pig. ①, intradermal injection of 0.1ml distilled water + Freund's complete adjuvant emulsion (1:1); ②, intradermal injection of 0.1 mL Wagoojabi II® (WGJB); ③, intradermal injection of 0.1 mL WGJB + Freund's complete adjuvant emulsion (1:1).

Table 3. Score of sensitization

Score	Skin reaction
0	No reaction
1	Scattered mild redness
2	Moderate & diffuse redness
3	Intense redness & swelling

감작 야기는 폐색첩포 2주 후에 시험동물의 측복부를 제모하고 시험물질을 포함하는 패취(patch, 2 × 2 cm)를 Fig. 2와 같이 부착하여 24시간 동안 폐색첩포하여 감작을 야기시켰다. 감작항원량은 3%로 나타났으며, 감작 야기항원량은 2차 감작에서 홍반이 나타나지 않은 최대농도인 2%를 사용하였다.

패취(patch)를 제거하고 피부감작성 평가 3시간 전에 미온수로 피부에 남아 있는 시험물질을 깨끗이 닦아 내었다. 감작 야기 후 24시간 및 72시간에 "의약품 등의 독성시험기준"의 "피부감작반응 평가표"(Table 3)에 따라 반응을 평가하였으며[20], 반응이 나타난 개체를 양성동물수로 하여 감작률을 구하고(Table 4), 피부감작 등급을 판정하였다[20].

Table 4. Rate and grade of sensitization

Sensitization rate (%)	Grade	Classification
0 - 8	I	Weak
9 - 28	II	Mild
29 - 64	III	Moderate
79 - 80	IV	Strong
81 - 100	V	Extreme

Results and Discussion

피부자극성 평가

WGJB 도포 24시간 후, 거즈를 제거하고 피부에 영향을 미치지 않도록 잔류 시험물질을 미온수로 씻어낸 다음, 3일간의 관찰기간 동안 시험물질 도포로 인한 특이한 일반증상 및 사망 예는 관찰되지 않았다(Data not shown).

WGJB 도포 후 도포부위의 잔류 시험물질을 미온수로 씻어낸 다음 24시간 후 관찰결과, 1마리는 심한 홍반, 2마리는 분명한 홍반, 1마리는 아주 가벼운 홍반이 관찰되었다. 48시간 후 관찰결과, 시험물질처리 실험동물의 찰과부위에서, 2마리는 분명한 홍반, 2마리는 아주 가벼운 홍반이 관찰되었다. 72시간 후 관찰결과, 시험물질처리 실험동물 1마리의 찰과부위에서 아주 가벼운 홍반이 관찰되었다(Table 5).

이러한 관찰결과로부터 피부 1차자극지수(P.I.I.)를 산출한 결과, WGJB의 P.I.I.는 “0.625”로 “약한 자극성 물질”로 평가되었다.

앞선 연구[21]에서, 편백정유에 대하여 피부자극성 평가를 수행한 결과, P.I.I.이 0.17로 피부자극성을 없었다고 보고하였다. 이는 본 연구에서 사용한 WGJB의 편백정유 함

Table 5. The evaluation on skin irritation of Wagoojabi II®

	Skin reaction			Animal						Total score	Mean score	Total of mean	P.I.I.
				1	2	3	4	5	6				
Control sites	Erythema & eschar	A	24[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
		B	24	0	0	0	0	0	0	0	0		
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Edema	A	24	0	0	0	0	0	0	0	0		
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
		B	24	0	0	0	0	0	0	0	0		
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
Treated sites	Erythema & eschar	A	24	0	0	0	0	0	0	0	0	2.50	0.625
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
		B	24	3	2	0	2	0	1	8	1.33		
			48	2	1	0	2	0	1	6	1.00		
			72	1	0	0	0	0	0	1	0.17		
	Edema	A	24	0	0	0	0	0	0	0	0		
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		
		B	24	0	0	0	0	0	0	0	0		
			48	0	0	0	0	0	0	0	0		
			72	0	0	0	0	0	0	0	0		

A, intact; B, abraded.

[a] Time after topical application.

Table 6. Sensitization score and rate of challenge reaction 24 hr after topical application with Wagoojabi II®

Group	Skin reaction		Animal No.	Sensitization score		Mean score	Sensitization rate %)	Evaluation grade (class)
	Induction	Challenge		24h	48h			
Negative control	olive oil 5%	olive oil 2%	1	0	0	0	0	I (weak)
			2	0	0			
			3	0	0			
			4	0	0			
			5	0	0			
Positive control	1% DNCB[2)]	0.1% DNCB	1	3	3	3	100	V (extreme)
			2	3	3			
			3	3	3			
			4	3	3			
			5	3	3			
Wagoojabi II® treatment[1)]	3%	2%	1	0	0	0	0	I (weak)
			2	0	0			
			3	0	0			
			4	0	0			
			5	0	0			

[1)]Wagoojabi II contained 20% *Chamaecyparis obtusa* essential oil and 56% *Cinnamomum camphora* essential oil.
[2)]DNCB, 2,4,-dinitrochlorobenzene.

량이 20%인 점을 고려하면 5배 정도 높은 농도에 해당된다. 한편, 계피정유를 이용한 피부자극성 평가에서는 계피정유의 P.I.I.가 4.0으로 중등도의 피부자극성 물질이라고 보고하였는데[22], 이는 계피정유 성분 중 65-80%를 차지하고 있는 cinnamaldehyde에 의한 것으로 보고되고 있다[23,24]. 본 시험에 사용한 WGJB의 조성(편백정유 : 계피정유 = 20 : 56)을 고려했을 때, WGJB의 약한 피부자극성은 앞선 연구결과들과 유사한 경향성을 보이고 있는 것으로 판단된다.

피부감작성 평가

1, 2차 감작 및 감작야기 기간 동안 용매대조군(올리브오일)과 시험물질인 WGJB 투여군에서 일반증상이 관찰되지 않았으며, 체중변화에서도 용매대조군에 비해 시험물질 투여군에서 유의성 있는 차이는 관찰되지 않았다. 또한 용매대조군과 시험물질 투여군 모두에서 사망한 실험동물은 없었다(Data not shown).

감작 야기 후 피부감작성 평가기준에 따른 용매대조군과 실험물질 투여군의 24시간 및 48시간째의 감작점수는 모두 0점(무반응)이었고, 피부감작률 또한 24시간 및 48시간째 용매대조군과 시험물질 투여군 모두 등급 'I(매우 약함)'로 판정되었다(Table 6).

Hwang 등[25)]의 편백정유에 대한 피부감작성 평가 결과에 따르면, 편백정유는 감작야기 후 24시간과 48시간에 피부반응 점수는 모두 0점(무반응)으로 나타났으며, 피부감작률도 모두 0%로 나타나 편백정유가 'I(매우 약함)'등급으로 분류되었다고 보고하였다. 한편, 계피정유에 의한 피부감작성은 보고된 바가 없으나, 신선한 계피정유 성분 중 80% 이상을 차지하고 있는 cinnamaldehyde에 의한 피부감작성들이 보고되고 있다[26,27]. 본 시험에서 사용한 WGJB의 구성 성분 중 56%를 차지하는 계피정유가 피부감작성을 유발하므로 본 연구에서 WGJB의 피부감작성은 'II(약함)' 등급 이상을 나타내어야 할 것으로 판단되나, 'I(매우 약함) 등급을 나타낸 것은 계피정유 성분 중 cinnamaldehyde의 함량이 낮았던 것으로 사료된다. 이는 산지에 따라 계피 성분들의 함량이 차이를 보이기 때문이다[28].

이상의 연구 결과를 종합해 볼 때, 편백정유와 계피정유를 주성분으로 하는 WGJB는 임상 적용 시 본 약제에 의한 자극성 및 면역반응에 의한 감작성 부작용을 유발하지 않을 것으로 판단된다.

국문요약

본 연구는 닭 진드기 구제를 목적으로 개발된 살비제인 와구잡이 II® (WGJB, 편백정유 : 계피정유 = 20 : 56)에 대하여 토끼와 기니픽을 이용하여 피부 자극성 및 감작성 평가를 각각 수행하였다. 일차피부자극시험에서 토끼의 피부에 WGJB를 24시간 동안 처리한 후 피부 자극성을 확인한 결과, WGJB는 비찰과 부위에서 홍반과 부종과 같은 어떠한 부작용도 일으키지 않았으나, 몇몇 토끼의 찰

과 부위에서 매우 약한 홍반과 부종을 나타내어 WGJB의 1차 피부자극 지수는 0.625이었다. 따라서 WGJB는 약한 자극성이 있는 물질로 분류되었다. 피부감작성 시험에서 기니픽에 0.1 mL의 WGJB을 피내주사한 후 24시간 동안 감작시켰다. 감작 1주일 후 WGJB를 함유한 패취를 주사 부위에 부착하여 48시간 동안 처리한 다음, 2주 후에 WGJB를 함유한 패취를 부착하여 감작을 야기시켰다. WGJB는 어떠한 알러지 반응도 나타내지 않았다. 따라서, 본 연구를 통하여 WGJB는 약한 피부 자극성을 가지며 감작성을 야기하지 않는 물질로 평가되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jun-Ho Song https://orcid.org/0000-0003-2361-2141
Du Hyeon Hwang https://orcid.org/0000-0002-7228-3340
Euikyung Kim https://orcid.org/0000-0003-3356-3072
Suk Kim https://orcid.org/0000-0001-5795-2019
Hu-Jang Lee https://orcid.org/0000-0002-7552-6416

References

1. Nam, S.H., Kwak, J.I., Kim, D., An, Y.J., A comparative study of management system of unregulated agricultural pesticides in Korea, the European Union, and the United States of America: a review. *J. Appl. Biol. Chem*., **61**, 195-204 (2018).
2. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2017. Press release. Result on collection and inspection for extended application of inspection substances for eggs distributed on the market. MFDS, Osong.
3. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2018. Amendment on criteria and standard for food. Notification No. 2018-18. MFDS, Osong.
4. Kang, S.M., Lee, C.H., Park, O.J., Leem, J.H., Yoon, H.J., Kweon, O.K., Efficacy of fipronil-applied canine hair against house dust mites. *J. Vet. Clin.*, **19**, 215-218 (2002).
5. Moro, C.V., De Luna, C.J., Tod, A., Guy, J.H., Sparagano, O.A., Zenner, L., The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents. *Exp. Appl. Acarol*., **48**, 93-104 (2009).
6. Flochlay, A.S., Thomas, E., Sparagano, O., Poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a significant challenge for the egg-laying industry in Europe. *Parasite. Vector*., **10**, 357 (2017).
7. Bartley, K., Turnbul, F., Wright, H.W., Huntley, J.F., Palarea-Albaladejo, J., Nath, M., Nisbeta, A.J., Field evaluation of poultry red mite (*Dermanysus gallinae*) native and recombinant prototype vaccines. *Vet. Parasitol*., **24**, 25-34 (2017).
8. Hong, E, Park, K.T., Kang, B.S., Kang, H.K., Jeon, J.J., Kim, H.S. Son, J., Kim, C.H., Acaricidal efect of mixtures of hydrated lime and ethanol on poultry red mite (*Dermanysus gallinae*). *Korean J. Poult. Sci*., **47**, 21-27 (2020).
9. George, D.R., Fin, R.D., Graham, K.M., Mul, M.F., Maurer, V., Moro, C.V., Sparagano, O.A.E., Should the poultry red mite *Dermanysus gallinae* be of wider concern for veterinary and medical science? *Parasite. Vector*., **8**, 178-187 (2015).
10. Valiente-Moro, C., Chauve, C., Zenner, L., Experimental infection of *Salmonella enteritidis* by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Vet. Parasitol.*, **146**, 329-336 (2007).
11. Abdigoudarzi, M., Mirafzali, M.S., Belgheiszadeh, H., Human infestation with *Dermanysus gallinae* (Acari: *Dermanysidae*) in a family refered with pruritus and skin lesions. *J. Arthropod. Borne Dis*., **8**, 19-123 (2013).
12. Wang, C., Huang, Y., Ma, Y., Xu, X., Wan, Q., Li, H., Yu, H., Pan, B., First record of Aspergilus oryzae as an entomopathogenic fungus against the poultry red mite *Dermanysus gallinae*. *Vet. Parasitol*., **271**, 57-63 (2019).
13. Nordenfors, H., Höglund, J., Tauson R., Chirico, J., Effect of permethrin impregnated plastic strips on *Dermanyssus gallinae* in loose-housing systems for laying hens. *Vet. Parasitol*., **102**, 121-131 (2001).
14. Murano, T., Namiki, K., Shina K., Yasukawa H., Resistance development of *Dermanyssus gallinae* against commercial acaricides in poultry farms in Japan. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc*., **68**, 509-514 (2015).
15. Sarwar, M., The dangers of pesticides associated with public health and preventing of the risks. *Int. J. Bioinform. Res. Appl*., **1**, 130-136 (2015).
16. Tabari, M.A., Youssefi, M.R., Bnelli, G., Eco-friendly control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (*Dermanyssidae*), using the α-thujone-rich essential oil of *Artemisia sieberi* (*Asteraceae*): toxic and repellent potential. *Parasitol. Res*., **116**, 1545-1551 (2017).
17. Ulrichs, C., Han, Y.J., Abdelhamid, M.T., Mewis, I., Management of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, using silica-based acaricides. *Exp. Appl. Acarol*., **82**, 243-254 (2020).
18. Gorji, S.F., Gorji, S.F., Rajabloo, M., The field efficacy of garlic extract against *Dermanyssus gallinae* in layer farms of Babol, Iran. *Parasitol. Res*., **113**, 1209-1213 (2014).
19. Animal and Plant Quarantine Agency (APQA), 2016. Regulations on toxicity test for veterinary drugs. APQA Notice No. 2016-23. APQA, Gimcheon, Korea.
20. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2017. Standard for toxicity study of pharmaceuticals. MFDS Notice No. 2017-71. MFDS, Cheongju, Korea.
21. Lim, C.W., 2018. A study on acute oral toxicity, skin and ocular irritation tests of *Chamaecyparis obtusa* essential oil. MS Thesis Gyeongsang National University, Jinju, Korea, pp. 29-30.
22. Jeong, M., Kwon, M.J., Park, S.J., Hong, S.S., Park, K.H.,

Park, J.E, Yeon, S.H., Evaluation of acute toxicity of plant extracts, lavender, lemon eucalyptus and cassia essential oil. *Korean J. Pestic. Sci*., **14**, 339-346 (2010).
23. Lauriola, M.M., De Bitonto, A., Sena, P., Allergic contact dermatitis due to cinnamon oil in galenic vaginal suppositories. *Acta Derm. Venereol*., **90**, 187-188 (2010).
24. Olsen, R.V., Andersen, H.H., Møller, H.G., Eskelund, P.W., Arendt-Nielsen, L., Somatosensory and vasomotor manifestations of individual and combined stimulation of TRPM8 and TRPA1 using topical L-menthol and trans-cinnamaldehyde in healthy volunteers. *Eur. J. Pain*., **18**, 1333-1342 (2014).
25. Hwang, D.H., Park, E.K., Yoo, C.Y., Kim, S., Kim, E., Lee, H.J., Skin sensitization test of *Chamaecyparis obtusa* essential oil in guinea pigs. *J. Prev. Vet. Med*., **43**, 101-106 (2019).
26. Woolf, A., Essential oil poisoning. *J. Toxicol. Clin*., **37**, 721-727 (1999).
27. Bickers, D., Calow, P., Greim, H., Hanifin, J.M., Rogers, A.E., Saurat, J.H., Sipes, I.G., Smith, R.L., Tagami, H., A toxicologic and dermatologic assessment of cinnamyl alcohol, cinnamaldehyde and cinnamic acid when used as fragrance ingredients. *Food Chem. Toxicol*., **43**, 799-836 (2005).
28. Lee, J.S., Lee, S.D., Hwang, K.H., Kim, H.S., Yoo, I.S., Han, K.Y., Chae, Y.Z., Analysis of cinnamic acid, cinnamaldehyde and 2-methoxycinnamaldehyde in *Cinnamomi ramulus* on the market in Seoul by HPLC. *Yakhak Hoeji*, **57**, 235-240 (2013).