



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**



**Департман за фитомедицину и заштиту  
животне средине**

**Ана Лазић**

дипл. инж. пољопривреде

**РЕПЕЛЕНТНО ДЕЛОВАЊЕ БИОЦИДА НА АДУЛТЕ  
КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS***

МАСТЕР РАД

**Нови Сад, 2024.**



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**



**Департман за фитомедицину и  
заштиту животне средине**

**Кандидат**

дипл. инж. Ана Лазих

**Ментор**

проф. др Александра Петрових

**РЕПЕЛЕНТНО ДЕЛОВАЊЕ БИОЦИДА НА АДУЛТЕ  
КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS***

Мастер рад

**Нови Сад, 2024.**

# **КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА**

**др Александра Петровић, ванредни професор**

Ужа научна област: Зоологија

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

**- Ментор -**

---

**др Дејан Првуловић, ванредни професор**

Ужа научна област: Хемија и биохемија

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

**- Председник -**

---

**др Ивана Ивановић, доцент**

Ужа научна област: Зоологија

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

**- Члан -**

---

## Садржај

1. УВОД.....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	3
2.1. БИОЛОГИЈА И ЕКОЛОГИЈА КРПЕЉА.....	3
2.2. БИОЛОГИЈА, МОРФОЛОФИЈА И РАСПРОСТРАЊЕНОСТ КРПЕЉА ВРСТЕ <i>Ixodes ricinus</i> .....	4
2.3. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС, ПОТРАГА КРПЕЉА ЗА ДОМАЋИНОМ И ИСХРАНА.....	7
2.4. ЗНАЧАЈ КРПЕЉА И ЊИХОВ ВЕКТОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ.....	10
2.5. БИОЦИДИ.....	11
2.6. РЕПЕЛЕНТИ.....	12
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА.....	18
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА.....	19
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	21
6. ЗАКЉУЧАК.....	35
7. ЛИТЕРАТУРА.....	37
8. ПРИЛОГ.....	42

# РЕПЕЛЕНТНО ДЕЛОВАЊЕ БИОЦИДА НА АДУЛТНЕ ЈЕДИНКЕ КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS*

## РЕЗИМЕ

Задатак овог мастер рада је да се у лабораторијским условима, утврди проценат репелентне ефикасности активне материје 25% ЕБААП (етил-бутил-ацетил-аминопропионат, IR3535<sup>®</sup>) на адулте оба пола (мужјаке и женке) крпеља врсте *Ixodes ricinus* у функцији времена од момента наношења препарата, а у два типа огледа: при примени препарата на филтер хартију у петри посудама и на кожу са унутрашње стране подлактице испитивача. Циљ рада је да се упореди репелентна ефикасност препарата на бази активне материје ЕБААП у зависности од типа огледа и у функцији времена. Резултати огледа са петри посудама показују да ЕБААП показује висок степен репелентне ефикасности током трајања целог огледа од осам часова (96,8% код женки и 95,6% код мужјака *I. ricinus*). У огледима када се IR3535<sup>®</sup> примењивао на подлактицу испитивача такође је констатован висок проценат репелентног деловања, 95,55% за женке и 94,44% за мужјаке.

**Кључне речи:** репеленти, биоциди, крпељи, *Ixodes ricinus*, ЕБААП

## REPELLENCY EFFECTS OF BIOCIDES ON *IXODES RICINUS* ADULTS TICKS

### SUMMARY

The aim of this master thesis is to determine the repellent efficacy percentage of the active substance 25% EBAAP (ethyl-butyl-acetyl-aminopropionate, IR3535<sup>®</sup>) on adult ticks (males and females) of the *Ixodes ricinus* species, in function of time from the moment of the preparation application, and regarding two types of tests: when applying the preparation to the filter paper in petri dishes and to the skin of the examiner's forearm. The aim of the work is to compare the EBAAP preparation repellent efficiency, depending on the type of the applied test and in a function of time. The results of the petri dish test showed that EBAAP had a high repellent efficiency during the entire eight-hour test (96.8% in females and 95.6% in males of *I. ricinus*). In the experiments when IR3535<sup>®</sup> was applied to the examiner's forearm, a high percentage of repellent action was also noted, 95.55% for females and 94.44% for males.

**Key words:** repellents, biocides, ticks, *Ixodes ricinus*, EBAAP

## 1. УВОД

Последњих пар декада 21. века обележиле су климатске промене које данас представљају комплексан глобални феномен са свеопштим утицајем на екосистеме и људско здравље. Један од изазова које ове промене доносе јесте и значајан утицај на биолошке процесе, укључујући ширење и померање зоогеографских ареала векторских организама. Многобројне врсте мигрирају северније, на некарактеристичне ареале, потискујући и наносећи штету аутохтоним популацијама. Рапидно увећање бројности и учесталости појаве обољења које преносе крпељи (Лајмска болест, бабезиозе, анаплазмозе, крпељски менингоенцефалитис и друге) обележило је последње две деценије, те ова обољења тренутно представљају главни здравствени проблем у многим деловима Европе и Северне Америке (Paulauskas, 2009).

Савремени човек је својим начином живота у урбаној или руралној средини, окружен изобиљем зелених површина и различитим вегетацијским структурама (паркови, терени за спорт и рекреацију, травњаци простори за истрчавање паса, излетишта, ливаде, ободи шума, приобаље река), које представљају потенцијално станиште хематофагних ектопаразита и тиме је он (укључујући кућне љубимце, домаће и дивље животиње) свакодневно изложен ризику од патогених обољења чији су преносици управо крпељи. Један од најзаступљенијих и најпознатијих родова крпеља је *Ixodes*, а унутар овог рода, врста *Ixodes ricinus* је једна од најраспрострањенијих у Европи. Ови облигатни паразити срећу се у условима умерено-континенталне климе, а најчешће су активни од средине марта до средине октобра. У том периоду крпељи проналазе свог потенцијалног домаћина како би довршили циклус развића, те је неопходно да становништво обрати посебну пажњу на употребу одговарајућих репелената, као и превентивне мере заштите (одабир одговарајуће одеће) и на тај начин додатно осигура своју безбедност у природи. Процењује се да је ризик од настанка патогених инфекција код људи у урбаним

подручјима, које су преношене крпељима као векторима, висок као у шумским подручјима.

Имајући у виду наведено, примарно је истаћи значај ефикасне употребе репелената и превентивних мера заштите, али потребно је и подстаћи даљи развој у области репелентних биоцида, с циљем унапређења постојећих формулација и развоја нових стратегија које ће повећати дужину трајања репелентног препарата, те га учинити још ефикаснијим, економичнијим, безбеднијим и прихватљивијим за свакодневну примену. Како су данас болести преношене крпељима у експанзији, употреба репелената је од суштинског значаја за колективну безбедности и јавно здравље.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. БИОЛОГИЈА И ЕКОЛОГИЈА КРПЕЉА

Крпељи представљају пауколике, хематофагне, облигатне ектопаразите из класе арахнидних организама који су познати по свом паразитском начину исхране. На основу чврстине *scutum*-а они су подељени на меке (фамилија Argasidae) и тврде (фамилије Nuttalliellidae и Ixodidae) крпеље (Lazić, 2022). Обзиром да фосилни остаци ових акарина датирају из периода раног девона, односно периода пре око 400 милиона година, крпељи припадају групи најстаријих животиња. Данас је описан велики број врста (око 45.000), а најзначаније врсте које се срећу на нашем поднебљу су (Ivanović, 2022):

- *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758)
- *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776
- *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)

У зависности од врсте којој припадају, крпељи могу бити различитих боја и најчешће су овалног облика тела. Ови паразити најчешће из заседе проналазе свог потенцијалног домаћина (дивље, домаће животиње или људи), затим се добро развијеним рострумом каче за кожу домаћина, па својим хелицерама пробадају епител коже и праве канал кроз који пролази крв, као и антикоагулантни секрет плувачних жлезда. Узимање крвог оброка је од круцијалног значаја за животни циклус развића крпеља и уопштено њихову егзистенцију, јер без крвног оброка женка не би могла да положи јаја, а самим тим би се прекинуо животни циклус. Обзиром да се сваки развојни стадијум (осим јаја) храни крвљу на истом или различитом домаћину (услед промене, преласком са ситних шумских животиња - гмизаваца и глодара на крупније топлокрвне животиње, а потом и човека) крпељи представљају честе преносиоце патогених организама која узрокују озбиљна



обољења као што су: Лајмска грозница, бабезиоза, крпељски менингоенцефалитис, туларемија, пироплазмоза, вирусни крпељски енцефалитис, Q грозница. Присуство крпеља на домаћину углавном је испраћено карактеристичном појавом запаљења коже домаћина у виду мањег или већег црвенила (еритема) и свраба.

## 2.2. БИОЛОГИЈА, МОРФОЛОФИЈА И РАСПРОСТРАЊЕНОСТ КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS*

### Класификација врсте

У наставку је дата систематика и таксономско место ове врсте према Myers (2024):

**Regnum:** Animalia  
**Phylum:** Arthropoda  
**Subphylum:** Chelicerata  
**Class:** Arachnida  
**Subclassis:** Micrura  
**Infraclassis:** Acari  
**Superorder:** Anactinotrichida  
**Order:** Ixodida  
**Familia:** Ixodidae  
**Subfamilia:** Ixodinae  
**Genus:** *Ixodes*  
**Species:** *Ixodes ricinus* (Слика 1.)



Слика 1. *Ixodes ricinus* (извор: [www.pixabay.com](http://www.pixabay.com))

Најзаступљенији иксоидни крпељ на простору Европе и Србије јесте *Ixodes ricinus*. У народу је овај паразит познат као обични, псећи, овчији, јеленски или ричинусов крпељ. Припаднике ове врсте тврдих крпеља одликује изостанак очију, фестона и орнаментације скутума. Недостатак очију надомештен је сензорним органом, који се назива Haller-ов орган и има функцију да својим чулним ћелијама детектује сигнале тела које емитује потенцијални домаћин, као што су промене концентрација издахнутог CO<sub>2</sub>, температура тела, различите састојке зноја, као и промене у окружењу попут влажности и вибрација. Детекција различитих стимулуса код крпеља одвија се у око 20 сензила на зидним порамa које се налазе на тарзусима

првог пара ногу (Blagojević, 2021), а који служе као функционални органи хемосензорног апарата помоћу којег крпељи перципирају мирисне и друге хемијске стимулусе. *Rostrum* је снажно развијен и важан у причвршћивању крпеља за домаћина, а уједно је и једини део тела крпеља који улази у кожу домаћина. Дорзална плоча је добро склеротизована, па крпеље штити од исушивања или оштећења и чини основу полног диморфизма. Јединке *I. ricinus* су одвојених полова, а женке су углавном нешто веће од мужјака.

*I. ricinus* има четири развојна стадијума: јаје, ларва, нимфа и адултна јединка. Ларве одликују три пара ногу, док нимфе и адулти имају четири пара ногу. Код припадника оба пола ноге су тамно мрке боје, дуге и обрасле длачицама. Код свих парова ногу, коксе носе спољашњи израштај, а дуги унутрашњи израштај на првом пару ногу допире све до другог пара.

Животни циклус *I. ricinus* обично траје од две до четири године, али може бити краћи уколико то дозвољавају оптимални климатски услови и присуство већег броја компатибилних домаћина. Сви развојни стадијуми презимљавају на земљи или у стељи.

Женка *I. ricinus* (Слика 2.) је у ненасисаном стању дуга око 4 mm и широка око 3 mm. Боја тела варира, али је најчешће сивкаста или црвенкаста. У насисаном стању достиже дужину 12-14 mm и ширину око 8 mm. Има изглед семена рицинуса, по чему је врста и добила име. Усни апарат је изразито дуг. *Scutum* је овалан и тамно мрке до црне боје, са добро развијеним скапулама (Petrović, 2015) и не прекрива читаву дорзалну страну већ нешто више од половине тела.

Тело мужјака *I. ricinus* (Слика 3.) је мање у односу на ненасисану женку, овалног облика и тамно мрке до црне боје, дуго око 3 mm, широко око 1,5 mm, дугог усног апарата. *Scutum* прекрива читаву дорзалну страну тела, за разлику код женки. Морфолошка одлика на основу које је олакшана детерминација врсте *I. ricinus* јесте анални жлеб који је у облику малог лука и заокружује анални отвор са предње стране.



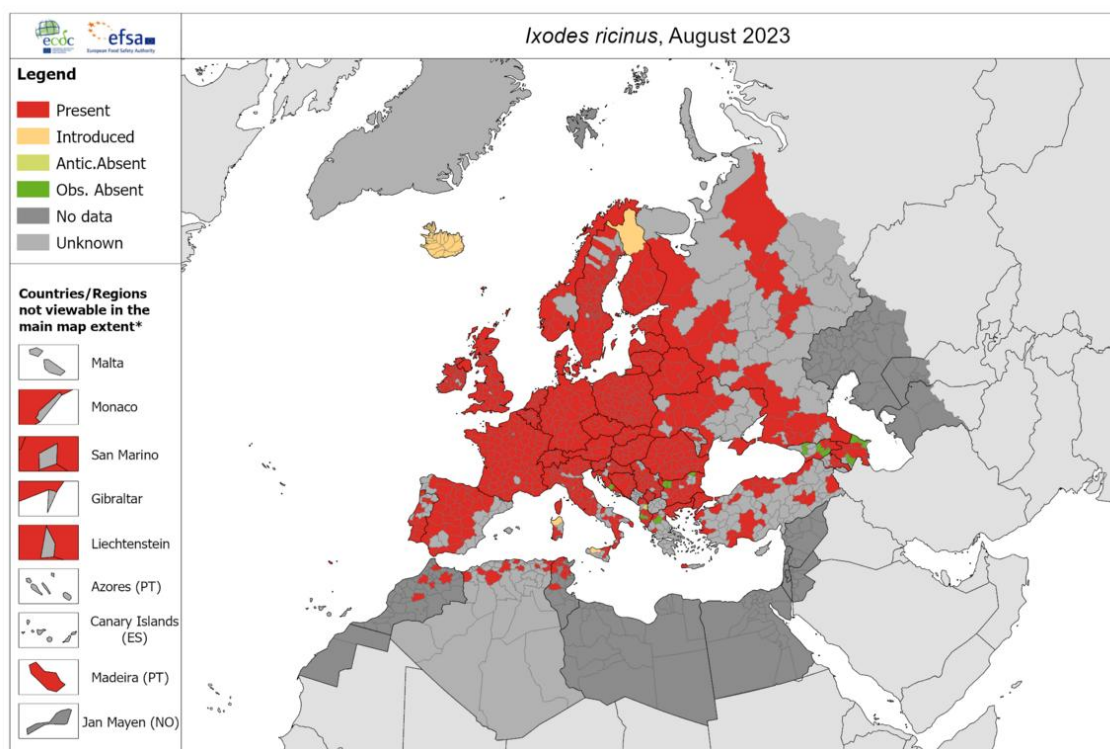
Слика 2. Женка *Ixodes ricinus*  
(извор: [www.reddit.com](http://www.reddit.com))

*I. ricinus* је космоплотска врста, широке еколошке валенце (Слика 4.). На континенту Европе се претежно јавља у подручјима влажнијег климата, односно у четинарским и листопадним шумама, опалом лишћу и растињу, ливадама и пашњацима, травњацима, вресиштима, на надморским висинама преко 1500 m и на локалитетима који су изложени директном утицају људи (паркови, спортски терени, игралишта).

Оптимална влажност ваздуха која погодује масовној појави *I. ricinus* износи 73%, док је оптимална температура од 20-25°C, а оптимум средњих дневних температура од 6°C.



Слика 3. Мужјак *Ixodes ricinus* (извор: [www.influenzialpoints.com](http://www.influenzialpoints.com))



Слика 4. Ареал распрострањења *Ixodes ricinus* (извор: [www.ecdc.europa.eu/en](http://www.ecdc.europa.eu/en))

Међутим, ове опште податке треба узети с резервом, јер је утврђено да се распон крпеља годишње шири на нова подручја приликом чега настају нова жаришта (ширење ка северу Европе) садејством различитих фактора: глобалних промена, животне средине и економског утицаја. Присуство стабилних популација прелазних домаћина је један од услова и важних фактора за појаву и велику бројност *I. ricinus*

на одређеној територији (Laaksonen и сар., 2017; Alkische и сар., 2017). Ипак, моделирање података сугерише да ће *I. ricinus* постати распрострањен у Норвешкој, Финској и Шведској до 2071-2100, а такође да би се листопадне шуме могле проширити на север у Финској и Норвешкој што ће помоћи у даљем ширењу *I. ricinus* (Laaksonen и сар., 2017; Alkische и сар., 2017). У Републици Србији појављују се два пика активности популације крпеља *I. ricinus*, односно појављују се два максимума бројности који су запажени у пролеће и јесен, што указује да овај ектопаразит продукује две генерације у току једне године (Milutinović и сар.).

### 2.3. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС, ПОТРАГА КРПЕЉА ЗА ДОМАЋИНОМ И ИСХРАНА

*Ixodes ricinus* има четири развојна стадијума: јаје, ларва, нимфа и адултна јединка. Сви развојни стадијуми се осим јајета, хране хематофагно односно крвљу потенцијалног домаћина. *I. ricinus* је триксена врста која има широк спектар домаћина као што су ситни глодари (мишеви, веверице), различите врсте сисара (јежеви, зечеви, дивље свиње, срндаћи, јелени, мачке, пси, овце, козе), гмизаваца (гуштери) и птица, а потом и људи где ова иксодина врста показује изразито висок афинитет. Свака развојна фаза се везује за једног домаћина и храни се крвљу неколико дана пре него што се одвоји од истог, а затим се одиграва један од процеса: пиљења ларви, пресвлачења у нимфе или овипозиције. Док се јувенилни развојни стадијуми (ларва и нимфа) хране ситнијим домаћинима као што су шумски мишеви, адулти се хране крупнијим домаћинима попут говеда и јелена. Управо су крупнији домаћини од суштинског значаја за одржавање популација крпеља, с тим да популације имају тенденцију да буду мање бројности у одсуству крупнијих домаћина. Одрасли крпељи се обично не налазе у потрази за храном током топлих летњих месеци (од средине јуна до августа), јер високе температуре и ниска релативна влажност ваздуха доводе до исушивања ових организама, те је смртност изузетно висока. Ларве, касније праћене нимфама, се у потрази за храном могу срести од почетка априла, па надаље, за разлику од адулта.

Крпељи проналазе свог домаћина техником такозване „заседе“, када се налазе у специфичном положају који се означава као „questing“, где се у току дана најчешће налазе на самом врху зељастих или жбунастих биљака како би се лакше прикачили за свог домаћина приликом њиховог проласка. Овај специфичан положај омогућава најбољи положај *Haller*-овог органа (Слика 5.) како би могао да детектује и најмање промене у околини. Такође за детекцију различитих стимулуса код крпеља задужено је око 20 сензила које су смештене у оквиру кутикуларних пора на тарзусима првог пара ногу и служе као функционални органи хемосензорног апарата помоћу којег крпељи перципирају миришне и друге хемијске стимулусе.



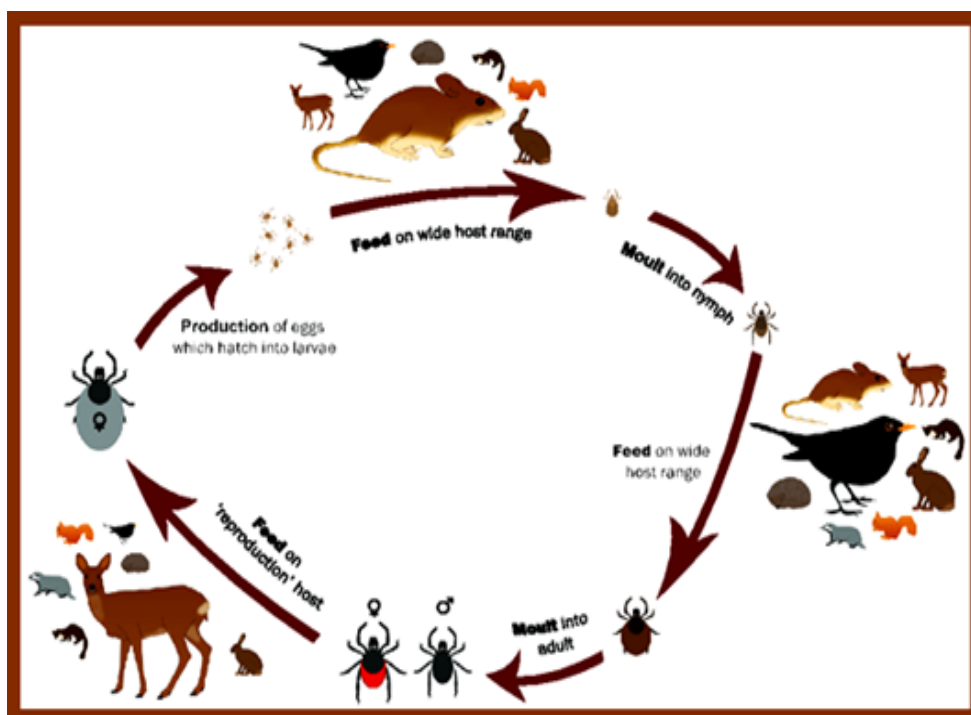
Слика 5. Микроскопски приказ Haller-овог органа код *Ixodes ricinus* (извор: [www.flickr.com](http://www.flickr.com))

Абиотички фактори попут влажности и температуре ваздуха имају значајан утицај на проналазак потенцијалног домаћина, јер како дан одмиче крпељи губе влажност, па су приморани да се спусте у ниже слојеве вегетацијских структура како би надокнадили влажност, што директно утиче на дужину трајања потраге за домаћином. Адекватан домаћин неће бити сваки топлокрвни организам већ само онај који емитује одговарајуће атрактанте (одговарајуће температуре тела, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> или млечна киселина на кожи) које ће регистровати сензорни органи крпеља, те ће их они на тај начин лако детектовати, препознати и ићи право ка извору који их емитује.

Када пронађу свог домаћина, исхрана може да траје од неколико минута до неколико дана, у зависности од врсте крпеља и стадијума животног циклуса. Након усвајања крвног оброка, женке напуштају свог домаћина и падају на тло, где на трави или испод опалог лишћа полажу око 2.000 јаја. Након овипозиције женке умињавају. Инкубација јаја траје од 25 до 400 дана што зависи од климатских фактора.

Из јаја се пиле ларве које, уколико су услови спољашње средине повољни почињу активну потрагу за домаћином. Ларве се хране на домаћину три до пет дана, након чега га напуштају и падају на тло.

Уколико су се храниле у јесен, ларве презимљавају у стељи (Милутиновић и сар., 2012). Након пресвлачења ларви, развијају се нимфе које се активно хране на домаћину три до шест дана. Такође, напуштају домаћина и падају на земљу, а из њих се развијају адулти. Код мужјака исхрана траје знатно краће у односу на женке, којима је неопходна довољна количина хране како би стекле довољно енергије за процес овипозиције. Једном када женка крпеља положи јаја, циклус почиње изнова. Цеокупни животни циклус развића (Слика 6.) може да траје од шест месеци до четири године, што искључиво зависи од деловања више фактора као што су: еколошких услови, односно температуре на првом месту и присуства или одсуства прелазних домаћина.



Слика 6. Животни циклус *Ixodes ricinus* (извор: [www.researchgate.net/figure](http://www.researchgate.net/figure))

Уобичајено место налажења крпеља *I. ricinus* на домаћинима је често око предела уста, ушију, капака оваца, паса и мачака или око вимена и пазушне регије говеда и на њима се могу задржати и лако пронаћи неколико дана све док траје исхрана.

## 2.4. ЗНАЧАЈ КРПЕЉА И ЊИХОВ ВЕКТОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ

Како би комплетирали циклус развића, крпељи ступају у честе контакте са великим бројем домаћина у којем путем хематофагне исхране долази до размене и преношења различитих инфективних агенаса (бактерија, вируса, спирохета, протоза, пироплазми, анаплазми, рикеција.) ризичних по здравље људи и животиња. Приликом исхране иксоидни крпељи луче вишак воде добијене из крвног obroка назад у домаћина преко њихових пљувачних жлезда. Из тог разлога, неопходно је нагласити значај њихове улоге вектора, јер на тај начин крпељи директно и индиректно наносе штете како људима, тако и осталим топлокрвним животињама. У последњих десет година на европском тлу је регистровано више од 15 патогена, узročника зооноза и векторски преносивих болести, од којих је најмање шест искључиво крпељски преносиво: *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Francisella tularensis*, вирус Кримске-Конго хеморагичне грознице и вирус крпељског енцефалитиса (Vogou и сар., 2007). У Европи и Сједињеним Америчким Државама (САД) су крпељски преносива јединицења веома честа појава о чему сведоче подаци да на годишњем нивоу од Лајмске борелиозе оболи око 65.000 људи у Европи и чак 300.000 људи у САД.

Управо највиши векторски потенцијал и изразити афинитет према људима показују врсте из рода *Ixodes*, а нарочито врсте: *I. ricinus*, *I. persulcatus* (Schulze, 1930) и *I. scapularis* Say, 1821 (Azagi и сар., 2020). Поред набројаних, *Ixodes* комплекс чини укупно 14 врста распрострањених скоро на свим континентима (Keirans и сар., 1999; Хи и сар., 2003). Обзиром на велики број прелазних домаћина, ово је вектор који преноси и одржава трансмисију великог броја патогена, а на подручју Републике Србије може да буде преносилац узročника обољења као што су: Лајмска болест, хумана гранулоцитна анаплазмоза, туларемија, Q грозница, рикециозе и бабезиозе (Tomanić и сар., 2011). Патогени се код крпеља одржавају трансваријалним и трансстадијалним преносом, као и могућим хоризонталним преносом из непосредне близине (Petrović, 2015).

Обољевање људи и животиња, поред убода зараженог крпеља, могу настати и пијењем инфестираног непастеризованог млека, или ређе преко повређене коже или слузокоже. Због тога је на местима жаришта, као и у урбаним срединама, неопходно увођење употребе репелената, превентивних мера у свакодневни програм и начин живота грађана као и сталан мониторинг методом „флег-часа“ код нижих вегетација

или применом CO<sub>2</sub> клопки код виших вегетација. На тај начин заштитне мере безбедности би се дигле на виши ниво, а јавно здравље изложило минималном ризику.

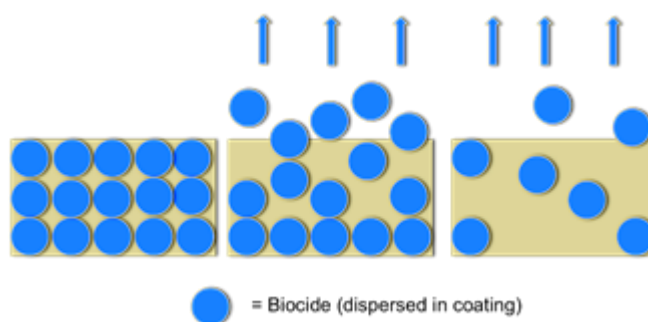
## 2.5. БИОЦИДИ

Биоциди представљају производе који се састоје од једне или више активних супстанци и намењени су да (хемијски или биолошки) онеспособе, спрече деловање, одврате, униште или контролишу непожељне организме. На свим оним местима на којима се непожељни организми јављају масовно, угрожавајући јавно здравље и здравље људи и животиња, при чему испољавају негативан ефекат на животну околину, примарно се примењују биоцидни производи. У биоциде се убрајају различите врсте конзерванаса-успоривача и пестицида: бактерициди, фунгициди, инсектициди, акарициди, вироциди, зооциди, репеленти и атрактанти.

Два кључна елемента која одређују биоцидни производ су:

- садржај производа: производ мора да садржи биоцидну активну супстанцу - супстанца која је дозвољена за такву намену и носилац је биоцидне активности (Слика 7.), чија активност изазива биоцидно деловање производа, и
- намена производа: производ мора бити способан да уништи, одврати, учини безопасним, спречи деловање или контролише непожељне организме

Уколико недостаје један од ова два елемента, производ се не сматра биоцидом.



Слика 7. Процес ослобађања биоцида током времена из биоцидног производа (извор: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))



Тек када се утврди да је употреба новоформулисаних биоцида безбедна по здравље људи, животиња и животну средину одобрава се њихов промет и коришћење. Стављање у промет биоцидних производа усклађује се са Законом о биоцидним производима у свим земљама света, за сваку земљу понаособ. У Србији ту контролу обавља Агенција за хемикалије Владе Републике Србије. Такође, прописима је регулисано које су све активне супстанце дозвољене за употребу приликом стварања нових формулација биоцида.

## 2.6. РЕПЕЛЕНТИ

Репеленти представљају биоциде сачињене од супстанци природног или синтетичког порекла, које делују директно на ометање сензора инсеката или крпеља и маскирају присуство потенцијалног домаћина. Ове материје не убијају инсекте и крпеље него делују тако што их одбијају, и на тај начин ометају њихов сензорни систем, што доводи до онемогућености детекције емитовања сигнала потенцијалног домаћина. Репеленти су од великог значаја обзиром да утичу на директну заштиту потенцијалног домаћина (човека или животиње) од проузроковача озбиљних обољења које крпељи као вектори могу да пренесу (Lazić, 2022).

Репелентни препарати у Србији и земљама Европске Уније, припадају категорији козметичких производа, док су у САД регистровани као лекови који се продају искључиво у апотекама и издају без лекарског рецепта. У зависности од порекла и начина производње репеленти се деле на природне и синтетске. На тржишту и свакодневној примени преовладавају репеленти синтетског порекла који представљају супстанце различите хемијске структуре и налазе се у великом броју препарата (Табела 1.).

**Табела 1.** Најчешће примењивани синтетски репеленти

	Назив по IUPAC-у
Икаридин	2(2-хидроксиетил)-1пиперидин карбоксилна киселина 1-метилпропил естар
Имидаклоприд	N-{1-[(6-хлоро-3-пиридил)метил]-4,5-дихидроимидазол-2-ил}нитрамид
ДЕЕТ	N,N-диетил- <i>meta</i> -толуамид; N,N-диетил- <i>m</i> -толуамид
ЕБААП, ИР3535	Етилбутилацетиламинопроприонат; 3-(N-ацетил-N-бутил) аминопропионска киселина, етил естер
Перметрин	Пхенохубензул (1RS)- <i>cis</i> , <i>trans</i> -3-(2,2-дицхлоровинул) - 2,2-диметхулицуцлопропанекарбохулате

У односу на природне репеленте, синтетски репеленти имају предност, јер имају дужи период деловања, користе се у значајно нижим концентрацијама од концентрација природних репелентних супстанци, имају ефикаснији и шири спектар употребе, нису штетни по здравље и изазивају мање иритације коже.

Начин апликовања самог репелентног средства зависи искључиво од форме репелентног препарата, која може да буде у облику спреја, стика, гела, наруквица, крема или фластера, те се репелентни производи у зависности од формулације наносе директно или индиректно на кожу, одећу или неке друге површине. У зависности од врсте непожељног организма врши се одабир одговарајућег репелентног средства који би правилним начином примене требао да у оквиру предвиђеног времена, означеног на амбалажи производа, испољи свој репелентни ефекат. Идеалана репелентна супстанца би требало да обезбеди заштиту од великог броја врста хематофагних артропода током најмање 4 часа, да је без мириса, а са друге стране да није токсична, иритирајућа, лепљива или масна нити апсорбована од стране коже (Bissinger и Roe, 2010).

Репеленти су на собној температури испарљиве супстанце, карактеристичног мириса, чија ефикасност и дужина трајања зависе од врсте самог репелента, његове концентрације у препарату, обима знојења и излагања тела (на које се апликује репелент) води и атмосферских прилика (температуре, струјања и влажности ваздуха). Да би се утврдила ефикасност сваког постојећег и новиформулисаниог

репелнтног препарата спроводе се различите методе, а једна од њих су тестови за процену репелнтне ефикасности, који су подељени у три групе:

1. *in vitro* тестови који се изводе без присуства домаћина за крпеље и без атрактаната и / или стимулуса који би се повезали са неким од домаћина,
2. *in vitro* тестови у којима се тестира репелент уз употребу неког хемијског или физичког стимулуса или атрактанта,
3. *in vivo* тестови у којима се користи жив домаћин.

Да би репеленти испољили свој максимални ефекат и били безбедни по корисника, постоје следећа правила коришћења репелената која олакшавају и дају смернице људима у њиховој свакодневној употреби:

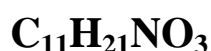
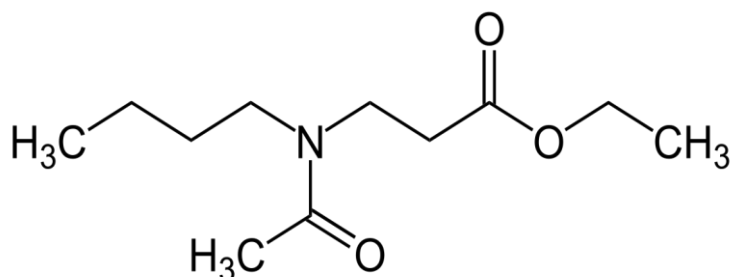
- репеленти треба да се користе искључиво према упутству за употребу,
- да се не наносе на кожу прекривену одећом, директно на лице, очи, уста, нити на повређену или иритирану кожу,
- да се наносе у танком слоју на кожу,
- уколико се истовремено користи и производ за заштиту од Сунца, прво њега нанети па потом репелент,
- након доласка из природе, репелент уклонити купањем,
- одећа која је била изложена репеленту треба да се опере,
- уколико се јави иритација коже или осип, одмах испрати препарат са коже (Vukša и Šestović, 2003).

За примену репелената код деце, пажња се обраћа на следеће:

- код деце млађе од 2 месеца не користити репелентне препарате,
- код деце млађе од 2 године предност треба дати механичким методама заштите (мрежице за заштиту од инсеката преко носилки и колица),
- користити препарате на којима је означено да се смеју примењивати код деце,
- препарат би требало да наносе родитељи, тако да препарат најпре нанесу на своје руке па тек онда на кожу детета,
- не наносити препарат на дланове детета,
- држати препарат ван домашаја деце,
- не користити препарат који садржи етанол (Bedeković, 2013).

### Етил-бутил-ацетил-аминопропионат (ЕБААП)

ЕБААП (етилбутилацетиламинопропионат) (Слика 8.) или IR3535<sup>®</sup> представљаа аналог аминокиселине β-аланин и користи се у Европи више од 30 година. Развијен је и комерцијализован од стране Merck KGaA у Немачкој, као алтернатива фамозном гиганту ДЕЕТ-у. На тржиште у Сједињеним Америчким Државама уведен је 1999. године, а класификован је од стране ЕПА (Агенција за заштиту животне средине) као биопестицид, ефикасан против комараца, крпеља и мува. У продаји се налази у оквиру производа произвођачких кућа Avon и Sawyer у концентрацијама од 7,5% до 20%, у препаратима са и без креме за сунчање. У зависности од концентрације тестираног производа, врсте комараца и методологије тестирања, овај репелент је показао веома променљиву ефикасност, са потпуним временом заштите у распону од 23 минута до преко 10 сати (Луо и сар., 2023). IR3535<sup>®</sup> код крпеља може да обезбеди и до 12 сати заштите.



Слика 8. Структурна формула ЕБААП (извор: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))

У многим земљама је познат као високо поуздано средство за одбијање крпеља, комараца и других хематофагних инсеката (такође мува и ваши), где пружа вишесатну заштиту без ризика по здравље људи и животиња или животну средину. Има одличан токсиколошки и екотоксиколошки профил односно није токсичан за водене организме као што су рибе или алге. Ефикасност IR3535<sup>®</sup> потврђују препоруке званичних тела као што су ЦДЦ (Центар за контролу болести), ЕПА

(Агенција за заштиту животне средине), а од стране Светске здравствене организације (СЗО) укључен је у препоруку за подручја са маларијом.

ЕБААП представља дериват непротеиногене аминокиселине бета-аланина која садржи 11 атома угљеника. Механизам деловања овог биоцида се заснива на нетолеранцији примарно крпеља и комараца на мирис репелента, где је управо бета-аланин модификован да интензивира сигнал за одвраћање инсеката. Такав ефекат се назива „ефекат одбијања“. Због тога репелент ЕБААП узрокује удаљавање инсеката од третиране коже, текстила и косе. Међутим, овај репелент само даје поруку за одбијање, те не напада инсекте, није агресиван и не показује никакав потенцијал да их убије.

У питању је уљава формулација, без боје и мириса са добрим осећајем на кожи приликом намене финалних производа и биоразградив је. IR3535<sup>®</sup> је умерено испарљив, умерено растворљив у води, а веома растворљив у широком низу органских растварача, али није класификован као растворљив у мастима. Не апсорбује УВ светлост на таласним дужинама >250 nm и стога не би требало да дође до фотолизе.

IR3535<sup>®</sup> нема ни кисела ни базна својства, иако има рН 4,7, није мастан, не раствара полиетилен и полипропилен и не представља ризик од канцерогености. Овај биоцид може да доведе до иритације очију, али има ниску укупну токсичност за све путеве излагања, а чак је нетоксичан када се прогута или удахне.

Примењује се локално у виду различитих формулација као што су лосиони, спрејеви, аеросоли, ролони, штапићи, пудери, гелови, креме, влажне марамнице, на кожу људи или животиња и спречава убоде комараца и крпеља који могу пренети узрочнике изазвати озбиљних обољења, као што су денга, маларија, зика, вирус Западног Нила и Лајмска болест (Слика 9.). Овај репелент је ефикасан и веома добро делује против инсеката у европским и северноамеричким срединама.

Поред тога, погодан је за кожу и показује одличан безбедносни профил. О томе сведочи чињеница да се ЕБААП налази у многим специфичним репелентним производима за децу и труднице широм света.

IR3535<sup>®</sup> је нежан према кожи људи, безбедан за бебе, децу, труднице и кућне љубимце и не акумулира се у животној средини. Тест дифузије диска открио је да ЕБААП показује изузетна антибактеријска (против грам позитивних и негативних бактерија), антикандидална, антифунгална и антивирусна својства против две врсте вируса (полиовирус и аденовирус) (Lazić, 2022).



Слика 9. Производи на бази ЕБААП  
(извор: [www.google.com/search?q=ir3535+repellent&sc=](http://www.google.com/search?q=ir3535+repellent&sc=))

### 3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Задатак овог мастер рада је да се у лабораторијским условима - *in vitro*, утврди проценат репеленте ефикасности активне материје 25% ЕБААП (етил-бутил-ацетил-аминопропионат) на адулте оба пола (мушјаци и женке) крпеља врсте *Ixodes ricinus* у функцији времена од момента наношења препарата, а при примени препарата на филтер хартију у петри посудама и на кожу са унутрашње стране подлактице испитивача.

Циљ рада је да се упореди репелентна ефикасност препарата на бази активне материје ЕБААП у зависности од типа огледа и у функцији времена.

#### 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Како би се оглед извео, извршено је прикупљање адултних јединки крпеља врсте *Ixodes ricinus* у шумама и парковима на Фрушкој гори и другим локалитетима околине Новог Сада током пролећа 2023. године, методом флег-часа према Dantas-Torres и сар. (2013). Узорковање је вршено између 9 и 14 h, у зависности од временских услова, од стране три узорковача.

Метода прикупљања крпеља заснива на употреби памучних тканина димензија 90 x 125 cm (за ниску вегетацију) и 90 x 65 cm (за високу, жбунасту вегетацију, висине од 30 до 100 cm). Сакупљени крпељи су, обзиром да су подложни десикацији, олдагани у пластичне посуде са перфорираним поклопцима и комадом вате натопљеном водом. На тај начин обезбеђена је довољна количина влажност и ваздуха, а искључен ризик од исушивања, те су обезбеђени оптимални услови за преживљавање крпеља током транспорта до лабораторије и почетка експеримента. Прикупљене врсте крпеља и њихови развојни стадијуми су детерминисани до нивоа врсте на основу идентификационих кључева према Walker и сар. (2007) и Estrada-Pena и сар. (2004). Репелентно деловање ЕБААП (25%) је утврђено према методама предложеним од стране Kröber и сар. (2013) и Adenubi и сар. (2018), а усвојеним и верификованим од стране Светске здравствене организације (WHO, 2013). За потребе експеримента препарат је примењен на адулте оба пола крпеља врсте *I. ricinus* у пет понављања, док је контролна група третирана дестилованом водом.

Петри посуде (дијаметра 90 x 14,5 mm) су коришћене у експерименту, где је филтер хартија постављена тако да прекрива дно посуде, а са горње стране је постављена памучна газе и заштићена са свих страна парафилмом како би се спречио излазак крпеља из посуде. У доњем делу петри посуде на којем се налази филтер хартија, графитном оловком су исцртане три зоне: 1. зона без препарата, 2. почетна – неутрална зона и 3. зона са препаратом (Слика 10.). По 10 одраслих мужјака и женки крпеља врсте *I. ricinus* је постављено у доње делове 6 петри посуде (пет посуде са препаратом, док је шеста посуде била контролна посуде – без препарата) у почетну –



неутралну зону, одакле се посматрао смер кретања крпеља и додељене су оцене (у заградама) на основу смера њиховог кретања:

- удаљавање од зоне у којој је препарат – репелент (А),
- приближавање зони у којој је препарат – репелент (Б),
- ходање дуж неутралне зоне (В),
- стање мировања (Г).



**Слика 10.** Приказ зона на филтер хартији у петри посудама које су коришћене у тестовима (извор: [Lazić, 2022](#))

Након обрађивања оцена, репелентно деловање је изражено у процентима према формули предложеној од стране Thorsell и сар. (2006) и Tupón и сар. (2006). Одмах након постављања препарата у петри посуде, крпељи су се нанесеном препарату излагали 3 минута (мерено штоперницом), а потом је посматрано и њихово кретање у временским интервалима од једног, два, четири и осам сати од апликације препарата. После сваког циклуса теста од 3 минута, крпељи су уклањани, а петри посуде су чуване у лабораторији, при константној температури од 20-22°C и релативној влажности ваздуха од 40-43%.

Добијени резултати су статистички обрађени анализом варијансе (ANOVA) и post hoc Fisher-овим НЗР тестом, коришћењем програма Statistica 14.0.0 (TIBCO, Универзитетска лиценца) и приказани табеларно и графички.

## 5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултати добијени испитивањем биолошке ефикасности кроз репелентно деловање препарата на бази активне материје ЕБААП (25%) у лабораторијским условима, изражен преко експонирања адултих јединки крпеља врсте *Ixodes ricinus* у петри посудама у различито време, приказани су у Табелама 2. и 3.

Висок степен репелентне ефикасности регистрован је код женки крпеља врсте *I. ricinus* које су биле експонирани деловању препарата на бази активне материје ЕБААП (25%) у оценама до четири сата након постављања препарата у петри посуде (просечно 96,0%), када је код 48 крпеља (од 50) забележено кретање у смеру супротном од места на ком је примењен препарат. Једна женка се након четири сата налазила у стању мировања, а једна се кретала дуж неутралне зоне са преференцом према месту на ком није било препарата (Табела 2.).

У истом временском интервалу, четири сата након апликације препарата, констатован је нешто нижи проценат репелентне ефикасности код мужјака (просечно 94,0%), када се у оцени огледа 47 (од 50) мужјака кретало удаљавајући се од места примене, једна јединка се налазила у стању мировања, а две су се кретале дуж неутралне зоне (Табела 3.).

С обзиром на израђунате проценте, овакав ниво репелентне ефикасности може се сматрати високом код оба пола, а постигнута ефикасност оцене у овом временском интервалу деловања аплицираног препарата веома добром.

Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је 8 сати након апликације препарата на бази активне материје ЕБААП (25%), када је регистрован просечан проценат репелентности од 90,0% код женки и 88,0% код мужјака. У овом периоду оцене, 45 женки и 44 мужјака (од 50) крпеља врсте *I. ricinus* се кретало у смеру супротном од места на ком је нанесен препарат. Четири женке и пет мужјака су се након осам часова налазила у стању мировања, што се може објаснити физиолошком исцрпљеношћу тестираних организама.

**Табела 2.** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем женки крпеља врсте *I. ricinus* у петри посудама

Понављање	Број крпеља у петри посуди пре третмана	Број крпеља одмах након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 1 сат након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 2 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 4 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 8 сати након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %
<b>I</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 Г	90,0	8 А 2 Г	80,0
<b>II</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
<b>III</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
<b>IV</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 В	90,0
<b>V</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0
<b>VI (контрола)</b>	10	3 А 3 Б 4 В	30,0	2 А 4 Б 3 В 1 Г	20,0	2 А 3 Б 4 В 1 Г	20,0	2 А 4 Б 4 В	20,0	3 А 3 Б 3 В 1 Г	30,0
<b>E<sub>sr</sub> (%)</b>			<b>100,0</b>		<b>100,0</b>		<b>98,0</b>		<b>96,0</b>		<b>90,0</b>

**Табела 3.** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем мужјака крпеља врсте *I. ricinus* у петри посудама

Понављање	Број крпеља у петри посуде пре третмана	Број крпеља одмах након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 1 сат након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 2 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 4 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 8 сати након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %
<b>I</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	8 А 2 Г	80,0
<b>II</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
<b>III</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 Г	90,0	9 А 1 В	90,0
<b>IV</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 Г	90,0
<b>V</b>	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
<b>VI (контрола)</b>	10	3 А 2 Б 3 В 2 Г	30,0	2 А 2 Б 4 В 2 Г	20,0	3 А 3 Б 3 В 1 Г	30,0	3 А 3 Б 2 В 2 Г	30,0	3 А 2 Б 2 В 3 Г	30,0
<b>E<sub>sr</sub> (%)</b>			<b>100,0</b>		<b>100,0</b>		<b>96,0</b>		<b>94,0</b>		<b>88,0</b>

Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од осам часова у петри посудама износила је 96,8% код женки и 95,6% код мужјака *I. ricinus*, односно у укупном просеку 96,2% (Табела 4.).

**Табела 4.** Просечан проценат репелентности (%) у зависности од времена читавања резултата огледа у петри посудама

	Време					Просек
	3 минута	1 сат	2 сата	4 сата	8 сати	
<b>женке</b>	100,00	100,00	98,00	96,00	90,00	96,80
<b>мужјаци</b>	100,00	100,00	96,00	94,00	88,00	95,60
<b>просек</b>	100,00	100,00	97,00	95,00	89,00	96,20
<b>контрола - просек</b>	30,00	20,00	25,00	25,00	30,00	262,00

У свих пет петри посуда у којима се налазио препарат и у свих пет тестираних временских интервала није забележен ни један крпељ са оценом Б – што би значило да се приближава зони са постављеним препаратом, за разлику од контролних група мужјака и женки.

Резултати добијени испитивањем репелентног деловања препарата на бази активне материје ЕБААП (25%) нанешеног на подлактице испитивача приказани су у Табелама 5. и 6.

Висок степен репелентног деловања регистрован је код женки крпеља *I. ricinus* које су биле експонирани деловању препарата на бази активне материје ЕБААП (25%) у оценама до 4 сата након стављања препарата на подлактицу испитивача (просечно 95,55%), када је код 86 (од 90) женки забележено кретање у смеру супротном од места аплицираног препарата, две женке које су биле у стању мировања и две које су ходале дуж неутралне зоне (Табела 5.).

За разлику од женки, код мужјака је у периоду оцене од четири сата након апликације препарата констатована нижа репелентна ефикасност (у просеку 90,0%), када је код 81 једнике укључене у оглед констатовано удаљавање од места на подлактицима на којима се налазио препарат, док су се пет јединки налазиле у стању мировања, а четири кретале дуж исцртане неутралне зоне (Табела 6.).

Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је осам часова након апликације препарата, када је регистрован просечан проценат репелентности од 82,22% код женки и 84,44% код мужјака.

**Табела 5.** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем женки крпеља врсте *I. ricinus* на подлактици испитивача

Испитивач	Понављање	Број крпеља пре третмана	Број крпеља одмах након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентносту %	Број крпеља 1 сат након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентносту %	Број крпеља 2 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентносту %	Број крпеља 4 сата након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентносту %	Број крпеља 8 сати након наношења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентносту %
I	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	8 А 1 В 1 Г	80,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0
	контрола	10	2 А 2 Б 3 В 3 Г	20,0	3 А 3 Б 4 В	30,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	2 А 3 Б 1 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 3 В 3 Г	20,0
II	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	7 А 2 В 1 Г	70,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0	9 А 1 Г	90,0
	контрола	10	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0	3 А 2 Б 4 В 1 Г	30,0	2 А 2 Б 4 В 2 Г	30,0	1 А 2 Б 2 В 5 Г	10,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0

**Табела 5. (наставак)** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем женки крпеља врсте *I. ricinus* на подлактици испитивача

Испитивач	Понављање	Број крпеља пре третмана	Број крпеља одмах након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања		Број крпеља 1 сат након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања		Број крпеља 2 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања		Број крпеља 4 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања		Број крпеља 8 сати након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	
			Репелентност у %	Репелентност у %	Репелентност у %	Репелентност у %	Репелентност у %	Репелентност у %				
III	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	8 А 1 В 1 Г	80,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0	7 А 2 В 1 Г	70,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	8 А 2 Г	80,0
	контрола	10	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0	1 А 1 Б 4 В 4 Г	10,0	2 А 2 Б 3 В 3 Г	20,0	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0
контрола	$E_{ST}$ (%)			<b>20,00</b>		<b>26,67</b>		<b>20,00</b>		<b>16,67</b>		<b>20,00</b>
третман	$E_{ST}$ (%)			<b>100,00</b>		<b>100,00</b>		<b>100,00</b>		<b>95,55</b>		<b>82,22</b>

**Табела 6.** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем мужјака крпеља врсте *I. ricinus* на подлактици испитивача

Испитивач	Понављање	Број крпеља пре третмана	Број крпеља одмах након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 1 сат након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 2 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 4 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 8 сати након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %
I	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	8 А 2 Г	80,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0	9 А 1 В	90,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0
	контрола	10	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	3 А 2 Б 2 В 3 Г	30,0	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0	2 А 3 Б 4 В 1 Г	20,0
II	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 В	90,0	8 А 1 В 1 Г	80,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	8 А 2 Г	80,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0	9 А 1 В	90,0
	контрола	10	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 3 В 3 Г	20,0	1 А 3 Б 3 В 3 Г	10,0



**Табела 6. (наставак)** Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ЕБААП (25%) експонирањем мужјака крпеља врсте *I. ricinus* на подлактици испитивача

Испитивач	Понављање	Број крпеља пре третмана	Број крпеља одмах након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 1 сат након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 2 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 4 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број крпеља 8 сати након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %
III	I	10	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 В	90,0	9 А 1 Г	90,0
	II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	8 А 2 Г	80,0	8 А 2 Г	80,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0	8 А 2 Г	80,0
	контрола	10	2 А 4 Б 2 В 2 Г	20,0	3 А 2 Б 3 В 2 Г	30,0	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 3 В 3 Г	20,0	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0
контрола	$E_{sr}$ (%)			<b>20,00</b>		<b>23,33</b>		<b>23,33</b>		<b>20,00</b>		<b>16,67</b>
третман	$E_{sr}$ (%)			<b>100,00</b>		<b>100,00</b>		<b>97,77</b>		<b>90,00</b>		<b>84,44</b>

У овом периоду оцене, 74 женке и 76 мужјака крпеља врсте *I. ricinus* кретало се у смеру супротном од места на ком је нанесен препарат. Осам женки и десет мужјака су се налазила у стању мировања, док су осам женке и четири мужјак ходали дуж неутралне зоне.

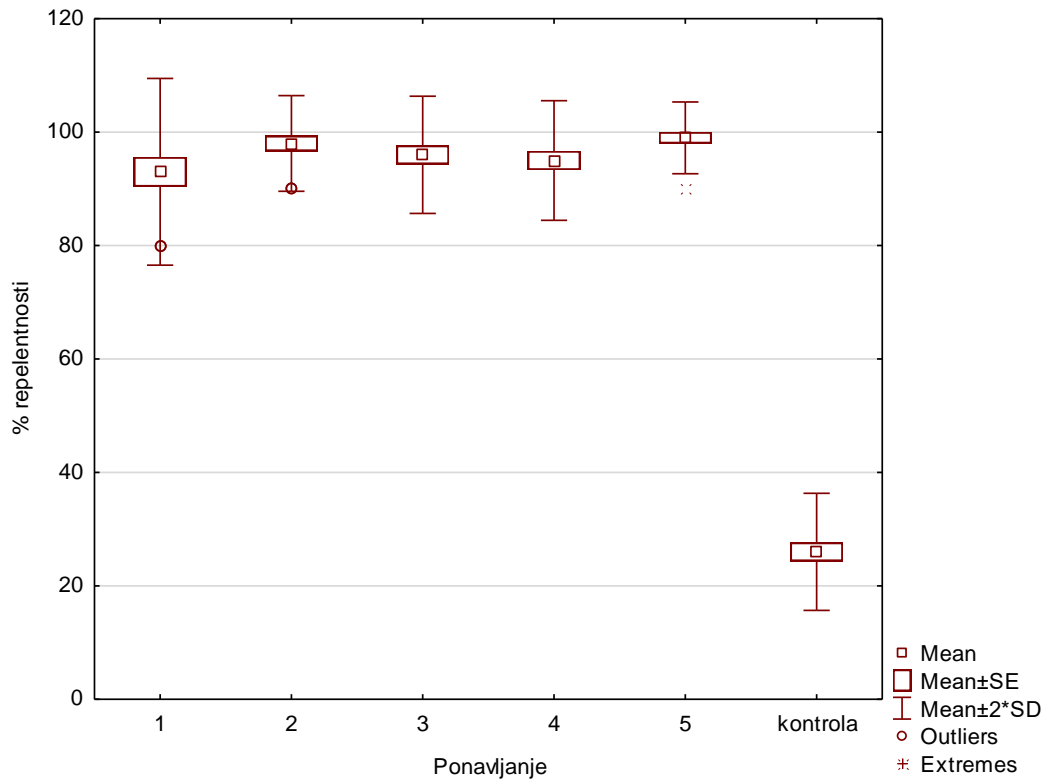
Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од 8 часова, износила је 95,55% за женке и 94,44% за мужјаке, односно у укупном просеку 94,99% (Табела 7.).

**Табела 7.** Просечан проценат репелентности (%) у зависности од времена читавања резултата огледа на подлактицама испитивача

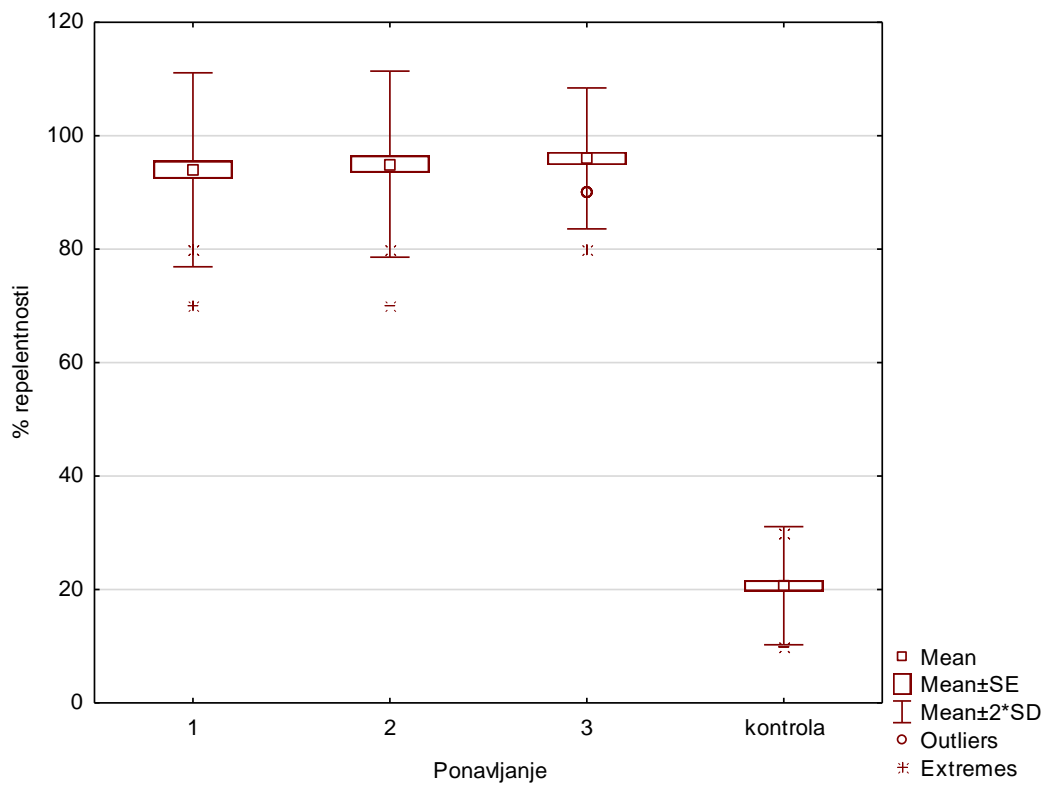
	Време					Просек
	3 минута	1 сат	2 сата	4 сата	8 сати	
<b>женке</b>	100,00	100,00	100,00	95,55	82,22	95,55
<b>мужјаци</b>	100,00	100,00	97,77	90,00	84,44	94,44
<b>просек</b>	100,00	100,00	98,88	92,77	83,33	94,99
<b>контрола - просек</b>	20,00	25,00	21,67	18,33	18,33	20,67

Као и у огледима вршеним у петри посудама, ни код испитивача нису примећене јединке крпеља које су се приближавале исцртаном месту на кожи подлактице на ком је аплициран препарат, што указује на високу и перзистентну репелентност.

Применом једнофакторијалне АНОВА и Fisher-овог LSD post hoc теста, израчунато је да постоји висока статистичка значајност у проценту репелентности између понављања током огледа и контролне групе ( $p=0,000000$  за  $p<0,01$ ), како код теста у петри посудама (График 1.), тако и на подлактицама испитивача (График 2.). Остале независне детерминанте као што су пол крпеља (у случају огледа са петри посудама:  $p=0,962295$ , а у случају огледа на подлактицама испитивача:  $p=0,890999$ , за  $p<0,05$ ), испитивач ( $p=0,921657$  за  $p<0,05$ ) или време оцене огледа (у случају огледа са петри посудама:  $p=0,941102$ , а у случају огледа на подлактицама испитивача:  $p=0,558842$ , за  $p<0,05$ ) нису показале постојање статистички значајних разлика.



**График 1.** Просечна репелентност (%) током огледа са петри посудама



**График 2.** Просечна репелентност (%) током огледа на испитивачима

Слично добијеним резултатима, висок степен репелентног деловања ЕБААП или IR3535<sup>®</sup> на крпеље различитих врста потврђен је од стране великог броја аутора: Carroll и сар. (2010), Lupi и сар. (2013), Büchel и сар. (2015); Alpern и сар. (2016), Gliniewicz и сар. (2019), Iyigundogdu и сар. (2019), Luker и сар. (2021).

Добијени резултати у овом огледу су у складу са резултатима које представљају Lazić (2022) и Crvenkov (2022). Наиме, током два засебна огледа у којима је тестирано репелентно деловање IR3535<sup>®</sup> на 60 мужјака и 60 женки крпеља врсте *I. ricinus*, из пет понављања израчунат је просек репелентне ефикасности који је износио 97,2% за мужјаке (Lazić, 2022), односно 95,6% за женке Crvenkov (2022). Обе студије истичу да је овај препарат показао изузетно високу репелентну ефикасност од 100% у свим понављањима до два сата након наношења препарата на филтер хартију (Lazić, 2022; Crvenkov, 2022). Међутим, оба аутора истичу да се репелентност смањивала у функцији времена услед испаравања препарата, а самим тим и активне материје, те је након четири сата износила у просеку 96%, а након осам сати 90% код оба пола (Lazić, 2022; Crvenkov, 2022).

Carroll и сар. (2010) су поредили репелентно деловање 20% пикаридина и 20% IR3535<sup>®</sup> у спреју, 20% пикаридин и 10% IR3535<sup>®</sup> у формулацији лосиона и 33% диетилтолуамид (DEET) у формулацији креме, на нимфе крпеља врсте *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758), читавајући добијене резултате на свака два сата током дванаесточасовног огледа. Том приликом, користили су тестове на испитивачима, тако што су препарате аплицирали на траке залепљене на ножне зглобове испитивача, на које су затим постављали нимфе крпеља и током десет минута пратили њихово кретање. Carroll и сар. (2010) су закључили да сви препарати који су садржавали активне материје у концентрацијама 20% и више, показују високу репеленту ефикасност током свих 12 сати колико је трајао оглед, с тим што је 20% IR3535<sup>®</sup> у спреју демонстрирао већи проценат репелентне ефикасности од 10% IR3535<sup>®</sup> на нимфе *A. americanum*.

Међутим, у огледу који су извели Kröber и сар. (2013), тестирајући DEET, ЕВААР (IR3535<sup>®</sup>) и икаридин растворене у етанолу, а примењене у тестовима на потколеницама испитивача и са топлим петри посудама, овакве разлике нису констатоване. Студија ових аутора је показала да минималне ефикасне дозе тестираних репелената од 0,1 mg/cm<sup>2</sup> узоркују рефлексну реакцију код крпеља врсте *I. ricinus* који савијају ноге и на тај начин падају са коже испитивача. Са друге

стране, више дозе у потпуности одбијају крпеље са третираних површина, те показују модел понашања који је описан у овом раду када је додељивана оцена А, односно кретање крпеља у правцу који је супротан од места на ком се налази нанесен препарат.

Добијену високу репелентну ефикасност IR3535<sup>®</sup> у овом огледу, потврђују и резултати студије коју су спровели Büchel и сар (2015). Ови аутори су вршили испитивање репелентног деловања 10% ЕВААР, 20% ДЕЕТ и 10% икаридина, на нимфе крпеља врста *I. ricinus* и *I. scapularis* и том приликом закључили да је просечно време заштите коју пружају 20% ДЕЕТ и 10% ЕВААР слично и износи 4 до 5 сати код обе врсте крпеља, а да је 10% икаридин демонстрирао дужи временски период ефикасности, и то од 5 часова код нимфи *I. scapularis* и 8 часова код нимфи *I. ricinus*.

Према наводима Luri и сар. (2013), IR3535<sup>®</sup> показује добру вишечасовну репелентну ефикасност према комарцима из родова *Aedes*, *Anopheles* и *Culex*, као и крпељима из рода *Ixodes*. Semmler и сар. (2011) закључују да на дужину трајања ефикасне репелентне активности утиче концентрација активне материје у биоцидном производу, али и додатих компоненти које поспешују перформансе репелентних супстанци, те указују да ЕБААП пружа ефикасну заштиту од крпеља рода *Rhipicephalus* четири сата, а *Dermacentor* до шест сати када се примењује на кожу. У случају да се примењује на одећу, у овом случају на панталоне, дужина трајања репелентне активности износи три до четири сада за крпеље рода *Rhipicephalus* и само три сата за крпеље рода *Dermacentor*. При извођењу тестова у којима је коришћена бакарна плоча причвршћена за кожу испитивача, ЕБААП је показао трајање репелентне ефикасности од само један и по час када су биле у питању нимфе крпеља врсте *I. ricinus* (Semmler и сар., 2011).

Koloski и сар. (2019) наводе да постоје две теорије које дају могуће објашњење о начину на који функционишу репелентне супстанце. Према првој теорији репеленти делују тако што делују збуњујуће на инсекте и крпеље, јер маскирају атрактанте које емитује домаћин, а према другој да делују тако што артропode ове активне материје региструју као штетне и опасне и настоје да се што пре удаље од њих. Како је раније наведено, тврди крпељи имају специфичан сензорни орган који им омогућава детекцију потенцијалних адекватних домаћина, који се назива Халеров орган. Он је смештен је на тарзусу првог пара ногу, а има вишеструку улогу: потрага за

домаћином, инфрацрвена детекција, положај тела у простору и парење (Carr и сар., 2017; Josek и сар., 2018; Mitchell и сар., 2017). Међутим, према Renthall и сар. (2017), педицалпе крпеља које се налазе у региону усног апарата такође имају хемосензорну функцију и вероватно играју значајну улогу одговору на детектовану репелентну супстанцу. Иако се врше бројна истраживања, и даље не постоји адекватно и детаљно објашњење како крпељи откривају репеленте, као ни сам значај хеморецептора у овом процесу (Sonenshine и Roe, 2013; Bissinger и Roe, 2014; Carr и сар., 2017).

Како наводе Kulma и сар. (2019), ЕЧА (European Chemicals Agency) и USEPA (United States Environmental Protection Agency) су објавиле смернице за тестирање биоцидних производа у којима се препоручује употреба нимфи и адулта крпеља као тест организама за процену ефикасности репелената, јер је доказано да се различити стадијуми развића различито и понашају. Наиме, према Mejlou и Jaenson (1997) отпорност према исушивању се током животног циклуса крпеља повећава, а то доводи до различитих модела понашања у зависности од стадијума, те адулти могу да преживе на вишој вегетацији од нимфи. Са друге стране, Daniel и сар. (2015) наглашавају да период највеће активности крпеља такође варира, што се свакако мор узети у обзир. Даље, нимфе могу да усвајају крвни оброк хранећи се на више различитих врста домаћина, док адулти најчешће преферирају крупне сисаре (Talleklint и Jaenson, 1994; Gern и сар., 1998; Grech-Angelini и сар., 2016), те из тог разлога Kulma и сар. (2019) наглашавају да развојни стадијуми значајно утичу на резултате огледа приликом тестирања репелената, јер су се нимфе показале као знатно осетљивије. Од лабораторијских тестова у којима се тестирају репелентне материје се очекује да научнике и кориснике информише о приближном трајању ефеката репелената, јер овакви огледи никада не могу у потпуности да симулирају стварне услове у природи (Dautel, 2004).

Како наводе Abdel-Ghaffar и сар. (2015), с обзиром да се репелентне активне материје увек налазе у посебно формулисаним растворима са додатком носача, других компоненти и козметичких састојака, на проценат репелентне активности и дужину трајања репелентности утичу не само природа и концентрација активне материје, него и формулација у којој се препарат налази, нарочито ако се ради о препаратима који се примењују и тестирају на кожи испитивача. С тога се може закључити да резултати огледа који се изводе како би се проценило репелентна

ефикасност појединих активних материја зависе од бројних фактора као што су: начин и тип теста, формулација производа, концентрација активне материје, врсте и стадијума развића крпеља, физиолошког стања и кондиционалних способности јединки крпеља и количине/дозе производа који се тестира.

## 6. ЗАКЉУЧАК

Након изведених огледа који су били задатак овог мастер рада, односно да се у лабораторијским условима, утврди проценат репелентне ефикасности активне материје 25% ЕБААП (етил-бутил-ацетил-аминопропионат, IR3535<sup>®</sup>) на мужјаке и женке крпеља врсте *Ixodes ricinus* у функцији времена, од момента наношења препарата, а при примени препарата на филтер хартију у петри посудама и на кожу са унутрашње стране подлактице испитивача, може се закључити следеће:

- IR3535<sup>®</sup> показује висок степен репелентне ефикасности у оценама до четири сата након апликације препарата у петри посуде код оба пола крпеља врсте *I. ricinus*, код женки 96,0%, а код мужјака 94,0%.
- У последњем читавању, осам сати након апликације препарата регистрован је просечан проценат репелентности од 90,0% код женки и 88,0% код мужјака.
- Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од осам часова у петри посудама износила је 96,8% код женки и 95,6% код мужјака *I. ricinus*, односно у укупном просеку 96,2%.
- У свих пет петри посуда у којима се налазио препарат и у свих пет тестираних временских интервала није забележен ни један крпељ који се приближавао зони са постављеним препаратом, за разлику од контролних група.
- У огледима када се IR3535<sup>®</sup> примењивао на подлактицу испитивача такође је констатован висок проценат репелентног деловања у оценама до четири сата, код женки у просеку 95,55%, а код мужјака 90,0%.
- Последња евалуација у овом типу огледа вршена је осам часова након апликације препарата, када је регистрован просечан проценат репелентности од 82,22% код женки и 84,44% код мужјака.
- Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од 8 часова, износила је 95,55% за женке и 94,44% за мужјаке, односно у укупном просеку 94,99%.



- Као и у огледима вршеним у петри посудама, ни код испитивача нису примећене јединке крпеља које су се приближавале исцртаном месту на кожи подлактице на ком је аплициран препарат, што указује на високу и перзистентну репелентност.
- Применом једнофакторијалне анализе варијансе и Фишеровог НЗР теста, израчунато је да постоји висока статистичка значајност у проценту репелентности између понављања током огледа и контролне групе како код теста у петри посудама, тако и на подлактицама испитивача. Независне детерминанте као што су пол, испитивач и време оцене огледа нису показале постојање статистички значајних разлика.
- Узимајући у обзир неизвесност у вези са климатским променама и њихов утицај на ширење зоогеографских ареала појединих врста крпеља, као и узрочника обољења која они преносе, истраживања репелентних препарата, њихове ефикасности и нешкодљивости су приоритет који има научни и практични значај како би се допринело развоју нових биоцидних препарата или њихових формулација.

## 7. ЛИТЕРАТУРА

1. Abdel-Ghaffar F., Al-Quraishy S., Mehlhorn H. (2015): Length of tick repellency depends on formulation of the repellent compound (Icaridin = Saltidin<sup>®</sup>): tests on *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* placed on hands and clothes. *Parasitol. Res.*, 114: 3041-3045.
2. Adenubi O.T., McGawa L.J., Eloffa J.N., Naidoo V. (2018): *In vitro* bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. *Vet. Parasitol.*, 254: 160-171.
3. Alkische A.A., Peterson A.T., Samy A.M. (2017): Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*. *PLoS One*, 12 (12): e0189092.
4. Alpern J.D., Dunlop S., Dolan B.J., Stauffer W., Boulware D. (2016): Personal Protection Measures Against Mosquitoes, Ticks, and Other Arthropods. *The Medical clinics of North America*, 100(2): 303-316.
5. Azagi T., Hoornstra D., Kremer K., Hovius J.W.R., Sprong H. (2020): Evaluation of disease causality of rare *Ixodes ricinus*-borne infections in Europe. *Pathogens*, 9: 150.
6. Bedeković L. (2013): Integrirana zaštita od glodavaca korištenjem mirisnih repelenata. Diplomski rad, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
7. Bissinger B.W., Roe R.M. (2010): Tick repellents: past, present, and future. *Pestic. Biochem. Phys.*, 96: 63-79.
8. Blagojević N. (2021): Repelentno delovanje azadiraktina na mužjake *Ixodes ricinus*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
9. Büchel K., Bendin J., Gharbi A., Rahlenbeck S.I., Dautel H. (2015): Repellent efficacy of DEET, Icaridin, and EBAAP against *Ixodes ricinus* and *Ixodes scapularis* nymphs (Acari, Ixodidae). *Ticks and tick-borne diseases*, 6 (4): 494-498.

10. Carr A.L., Salgado V.L. (2019): Ticks home in on body heat: a new understanding of Haller's organ and repellent action. *PLOS ONE*, 14: e0221659.
11. Carroll J.F., Benante J.P., Kramer M., Lohmeyer K.H., Lawrence K. (2010): Formulations of DEET, picaridine, and IR3535 applied to skin repel nymphs of the lone star tick (Acari: Ixodidae) for 12 hours. *J. Med. Entomol.*, 47: 699–704.
12. Crvenkov V. (2022): Repelentno delovanje IR 3535 na ženke *Ixodes ricinus*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
13. Dantas-Torres F., Paolo Lia R., Capelli G., Otranto D. (2013): Efficiency of flagging and dragging for tick collection. *Exp. Appl. Acarol.*, 61(1): 119-127.
14. Dautel H. (2004): Test systems for tick repellents. Mini Review. *Int. J. Med. Microbiol.*, 293(S37): 182–188.
15. Estrada-Peña A., Bouattour A., Camicas J.L., Walker A.R. (2004): *Ticks of domestic animals in the Mediterranean Region. A guide to identification of species*. University of Zaragoza, Spain.
16. Gern L, Estrada-Pena A, Frandsen F, Gray J, Jaenson T, Jongejan F, Kahl O, Korenberg E, Mehl R, Nuttall P. (1998): European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Zentral bl. Bakteriolog. B*, 287: 196-204.
17. Gliniewicz A., Borecká A., Przygodzka M., Mikulak E. (2019): Susceptibility of *Dermacentor reticulatus* tick to repellents containing different active ingredients. *Przegląd epidemiologiczny*, 73(1): 117-125.
18. Grech-Angelini S, Stachurski F, Lancelot R, Boissier J, Allienne JF, Marco S, Maestrini O, Uilenberg G. (2016): Ticks (Acari: Ixodidae) infesting cattle and some other domestic and wild hosts on the French Mediterranean island of Corsica. *Parasit. Vectors*, 9: 582.
19. Ivanović I. (2022): Monitoring i vektorski potencijal krpelja (Acari: Ixodidae) Fruške gore – procena rizika za zdravlje ljudi i životinja. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
20. Iyigundogdu Z., Kalaycı S., Asutay A.B., Şahin F. (2019): Determination of antimicrobial and antiviral properties of IR3535. *Molecular Biology Reports*, 46: 1819-1824.

21. Josek T., Walden K.K., Allan B., Alleyne M., Robertson H. (2018): A foreleg transcriptome for *Ixodes scapularis* ticks: Candidates for chemoreceptors and binding proteins that might be expressed in the sensory Haller's organ. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(5): 1317-1327.
22. Keirans J., Needham G., Oliver J. Jr (1999): The *Ixodes ricinus* complex worldwide: diagnosis of the species in the complex, hosts and distribution. *Acarology IX Proceedings*, 2: 341–347.
23. Koloski C.W., LeMoine C.M.R., Klonowski A.R., Smith C.M., Cassone B.J. (2019): Molecular evidence for the inhibition of cytochrome p450s and cholinesterases in ticks by the repellent DEET. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(3): 515-522
24. Kröber T., Bourquin M., Guerin P.M. (2013): A standardised *in vivo* and *in vitro* test method for evaluating tick repellents. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 107: 160–168.
25. Kulma M., Kopecký O., Bubová T. (2019): Nymphs of *Ixodes ricinus* Are More Sensitive to Deet Than Adult Females. *JAMCA*, 35(4): 279-284.
26. Laaksonen M., Sajanti E., Sormunen J.J., Penttinen R., Hänninen J., Ruohomäki K., Sääksjärvi I., Vesterinen E.J., Vuorinen I., Hytönen J., Klemola T. (2017): Crowdsourcing-based nationwide tick collection reveals the distribution of *Ixodes ricinus* and *I. persulcatus* and associated pathogens in Finland. *Emerg. Microbes. Infect.*, 6: 31.
27. Lazić A. (2022): Repelentno delovanje IR 3535 na mužjake *Ixodes ricinus*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
28. Luker H.A., Rodriguez S.D., Kandel Y., Vulcan J., Hansen I. (2021): A novel Tick Carousel Assay for testing efficacy of repellents on *Amblyomma americanum* L. *PeerJ*, 9.
29. Luo Q, Ai L, Tang S, Zhang H, Ma J, Xiao X, Zhong K, Tian G, Cheng B, Xiong C, Chen X, Lu H. (2023): Developmental and cardiac toxicity assessment of Ethyl 3-(N-butylacetamido) propanoate (EBAAP) in zebrafish embryos. *Aquat. Toxicol.*, 261: 106572.
30. Lupi E., Hatz C., Schlagenhauf P. (2013): The efficacy of repellents against *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* and *Ixodes* spp. - a literature review. *Travel Med. Infect. Dis.*, 11(6): 374-411.

31. Mejlson H.A., Jaenson T.G. (1997): Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 21(12): 747-754.
32. Milutinović M., Radulović Ž., Tomanović S., Petrović Z. (2012): *Krpelji (Acari: Ixodidae, Argasidae) Srbije*. Srpska Akademija nauka i umetnosti, Beograd.
33. Mitchell R.D., Zhu J., Carr A.L., Dhammi A., Cave G., Sonenshine D.E., Roe R.M. (2017): Infrared light detection by the Haller's organ of adult american dog ticks, *Dermacentor variabilis* (Ixodida: Ixodidae). *Ticks Tick-Borne Dis.*, 8: 764-771.
34. Myers P., Espinosa R., Parr C. S., Jones T., Hammond G. S., Dewey T. A. (2024): The Animal Diversity Web (online). (dostupno na <https://animaldiversity.org>, pristupljeno 17.01.2024.).
35. Paulauskas A, Radzijeuskaja J, Rosef O. (2009): Anaplasma in ticks feeding on migrating birds and questing ticks in Lithuania and Norway. *Clin. Microbiol. Infect.* 2: 34-36.
36. Petrović A. (2015): Sezonske fluktuacije voluharica i miševa (Rodentia: Muridae) i njihova uloga kao vektora iksodidnih krpelja (Acari: Ixodidae). Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u NovomSadu, Novi Sad.
37. Renthall R., Manghnani L., Bernal S., Qu Y., Griffith W.P., Lohmeyer K., Guerrero F.D., Borges L.M., Pérez de León A. (2017): The chemosensory appendage proteome of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) reveals putative odorant binding and other chemoreception related proteins. *Insect Sci.*, 24: 730-742.
38. Semmler M, Abdel-Ghaffar F, Al-Rasheid KA, Mehlhorn H. (2011): Comparison of the tick repellent efficacy of chemical and biological products originating from Europe and the USA. *Parasitol. Res.*, 108(4): 899-904.
39. Sonenshine D.E., Roe R.M. (2013): *Biology of Ticks, vol. 1*. Oxford University Press. UK.
40. Talleklint L., Jaenson TG. (1994): Transmission of *Borrelia burgdorferi* s.l. from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in Sweden. *J. Med. Entomol.*, 31: 880-886.
41. Thorsell W., Mikiver A., Tunón H. (2006): Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phytomedicine*, 13: 132-134.

42. Tomanović S., Milutinović M., Radulović Ž., Čakić S., Mihaljica D. (2011): Krpelji kao vektori uzročnika zaraznih bolesti. Zbornik radova Simpozijum entomologa Srbije 2011. Donji Milanovac, Srbija, 21-25 septembar, pp:14-17.
43. Tunón H., Thorsell W., Mikiver A., Malander I. (2006): Arthropod repellency, especially tick (*Ixodes ricinus*), exerted by extract from *Artemisia abrotanum* and essential oil from flowers of *Dianthus caryophyllum*. *Fitoterapia*, 77: 257-261.
44. Vorou R.M., Papavassiliou V.G., Tsiodras S. (2007): Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiol. Infect.*, 135: 1231-1247.
45. Vukša P., Šestović M. (2003). Fungicides and zoocides for seed treatment. *Biljni lekar*, 31(6): 652-671.
46. Walker A.R., Bouattour A., Camicas J.L., Estrada-Peña A., Horak I.G., Latif A.A., Pegram R.G., Preston P.M. (2007): *Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species*. Bioscience Reports, Edinburgh.
47. WHO (2013): *Guidelines for efficacy testing of spatial repellents*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
48. Xu G., Fang Q.Q., Keirans J.E., Durden L.A. (2003): Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. *J. Parasitol.*, 89: 452-457.

## 8. ПРИЛОГ

### ИЗВОРИ СЛИКА:

Слика 1. *Ixodes ricinus* (извор: [www.pixabay.com](http://www.pixabay.com))

Слика 2. Женка *Ixodes ricinus* (извор: [www.reddit.com](http://www.reddit.com))

Слика 3. Мужјак *Ixodes ricinus* (извор: [www.influentialpoints.com](http://www.influentialpoints.com))

Слика 4. Ареал распрострањења *Ixodes ricinus* (извор: [www.ecdc.europa.eu/en](http://www.ecdc.europa.eu/en))

Слика 5. Микроскопски приказ Haller-овог органа код *Ixodes ricinus* (извор: [www.flickr.com](http://www.flickr.com))

Слика 6. Животни циклус *Ixodes ricinus* (извор: [www.researchgate.net/figure](http://www.researchgate.net/figure))

Слика 7. Процес ослобађања биоцида током времена из биоцидног производа (извор: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))

Слика 8. Структурна формула ЕБААП (извор: [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com))

Слика 9. Производи на бази ЕБААП (извор: [www.google.com/search?q=ir3535+repellent&sca](http://www.google.com/search?q=ir3535+repellent&sca))

Слика 10. Приказ зона на филтер хартији у петри посудама које су коришћене у тестовима (извор: Lazić, 2022)