



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**



**Департман за фитомедицину и заштиту
животне средине**

Александра Милинковић

дипл. инж. пољопривреде

**РЕПЕЛЕНТНО ДЕЛОВАЊЕ ДИЕТИЛТОЛУАМИДА НА
НИМФЕ КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS***

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2026.



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**Департман за фитомедицину и заштиту
животне средине**



Кандидат

дипл. инж. Александра Милинковић

Ментор

проф. др Александра Петровић

**РЕПЕЛЕНТНО ДЕЛОВАЊЕ ДИЕТИЛТОЛУАМИДА НА
НИМФЕ КРПЕЉА ВРСТЕ *IXODES RICINUS***

Мастер рад

Нови Сад, 2026.

КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА

др Александра Петровић, редовни професор

Ужа научна област: Зоологија

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

- Ментор -

др Јована Шућур Елез, 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. КРПЕЉИ И ЊИХОВА УЛОГА У ПРЕНОШЕЊУ ПАТОГЕНА	3
2.2. БИОЛОГИЈА, РАСПРОСТРАЊЕНОСТ И МОРФОЛОФИЈА КРПЕЉА ВРСТЕ <i>IXODES RICINUS</i>	5
2.3. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС, ПОТРАГА КРПЕЉА ЗА ДОМАЋИНОМ И ИСХРАНА	8
2.4. ЗНАЧАЈ КРПЕЉА И ЊИХОВ ВЕКТОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ.....	10
2.5. РЕПЕЛЕНТИ.....	11
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА.....	15
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	16
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	18
6. ЗАКЉУЧАК.....	28
7. ЛИТЕРАТУРА	30
8. ПРИЛОГ	37

Репелентно деловање диетилтолуамида на нимфе крпеља врсте *Ixodes ricinus*

РЕЗИМЕ

Задатак овог мастер рада је да се у лабораторијским условима утврди проценат репелентне ефикасности активне материје диетилтолуамид – ДЕЕТ у концентрацији од 25%, на нимфе крпеља врсте *Ixodes ricinus* у функцији времена од момента апликације препарата, а затим и након 1 сат, 2, 4 и 8 сати. Тестирање репелентне ефикасности је спроведено у два типа огледа: при примени препарата на филтер хартију у петри посудама и на кожу са унутрашње стране подлактице испитивача. Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа износила је 95,2% код тестова у петри посудама и 83,33% на подлактицама испитивача.

Кључне речи: репеленти, крпељи, *Ixodes ricinus*, ДЕЕТ

Repellent Efficacy of Diethyltoluamide on Nymphs of *Ixodes ricinus* Ticks

SUMMARY

The aim of this master's thesis was to determine, under laboratory conditions, the repellent efficacy of the active ingredient N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) at a concentration of 25% against nymphs of the tick *Ixodes ricinus* over time, immediately after application and at 1, 2, 4, and 8 hours post-application. Repellent efficacy was tested using two experimental setups: application on filter paper in Petri dishes and direct application on the inner forearm skin of volunteers. The average percentage of repellency throughout the duration of the experiments was 95.2% in the Petri dish tests and 83.33% on the volunteers' forearms.

Key words: repellents, ticks, *Ixodes ricinus*, Deet

1. УВОД

Крпељи (*Ixodida*) представљају облигаторне хематофагне организме који играју значајну улогу као преносиоци различитих патогена, посебно у умерено-континенталним климатским условима. У овим подручјима, крпељи су најактивнији од средине марта до средине октобра, што уједно представља период када је ризик највећи због контакта људи и кућних љубимаца са крпељима. Током свог животног циклуса, ови паразити проналазе домаћина, хране се крвљу, и након копулације женке полажу јаја, што омогућава развој јувенилних стадијума као што су ларве и нимфе. Након ових развојних фаза, крпељи се трансформишу у одрасле јединке, које затим завршавају репродуктивни циклус у истој или наредној години (Alkishe и сар., 2017).

Значајан утицај на учесталост контакта људи и животиња са крпељима имају карактеристике зелених површина које се налазе у њиховој околини. Ове површине, које обухватају паркове, травњаке, излетишта и ободне шума, представљају природна станишта крпеља и њихових прелазних домаћина, као што су птице, ситни сисари и други кичмењаци. Захваљујући микроклиматским условима и специфичном флористичком саставу вегетације, ове површине обезбеђују оптималне услове за опстанак и репродукцију крпеља (Randolph, 2009).

Врста *Ixodes ricinus* је најчешћи представник крпеља у Европи и потврђени је вектор узрочника бројних обољења, укључујући Лајмску болест и крпељски енцефалитис (Paulauskas, 2009). Ова врста паразитира на великом броју дивљих и домаћих кичмењака, као и на људима, чиме представља значајан ризик за здравље људи и животиња. С обзиром на овај ризик, од кључне је важности спровођење превентивних мера и развој ефикасних репелената и акарицида, како би се смањила вероватноћа контакта и преноса узрочника болести.

Са порастом учесталости обољења које преносе крпељи, све већа пажња се посвећује истраживањима која испитују репелентну ефикасност различитих хемијских и природних супстанци. Диетилтолуамид (DEET), као један од најпознатијих синтетичких репелената, безбојна, уљана течност истиче се по својој ефикасности у

одбијању крпеља и других ектопаразита (Pages и сар., 2014). Упркос постојећим репелентима, и даље је неопходно радити на проналажењу безбеднијих и ефикаснијих решења, која ће бити економски исплатива и сигурна за људе и животиње. У оквиру овог истраживања, посебна пажња биће посвећена репелентном деловању диетилтолуамида на нимфе крпеља врсте *Ixodes ricinus*, јер се управо ови развојни стадијуми често сматрају критичним за ширење болести у екосистемима који су у тесној интеракцији са људима.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. КРПЕЉИ И ЊИХОВА УЛОГА У ПРЕНОШЕЊУ ПАТОГЕНА

Крпељи су пауколики ектопаразити који се хране крвљу и припадају класи арахнида. Познати су по свом паразитском начину исхране, а на основу чврстине *scutum*-а деле се на меке (фамилија Argasidae) и тврде крпеље (фамилије Nuttalliellidae и Ixodidae) (Lazić, 2022). Крпељи су једни од најстаријих организама, са фосилним остацима који потичу из периода раног девона, пре око 400 милиона година. Данас је познато око 45.000 врста, а најпознатије врсте крпеља које се јављају у нашим крајевима укључују: *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) - најчешћи преносилац узрочника Лајмске болести, *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) - често присутан код стоке и дивљих животиња, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) - крпељ који најчешће напада псе, али и друге сисаре.

Животни век одређених врста крпеља може бити дужи од три године (Lindgren и Gustafson, 2001). Током топлих месеци, од средине јуна до краја августа, крпељи показују смањену активност због високих температура и ниске релативне влажности, што доводи до смањења густине популација на неким локалитетима. Међутим, то не значи да се смањује ризик од контакта са њима. Оптималне температуре за активност крпеља крећу се од 20 до 25°C, при чему је више од 40% адулта и 30% нимфи активно у овом опсегу. Релативна влажност ваздуха игра важну улогу, са оптималним вредностима од 45 до 80%, а фотопериод се такође сматра важним еколошким фактором који утиче на активност крпеља (Bartosik и сар., 2011).

Њихов добро развијени роstrум омогућава им да се прикаче за кожу домаћина, пробуше епител и хране се крвљу. Ово је од суштинског значаја за њихов животни циклус, јер без крвног obroка женке не би могле да полажу јаја, чиме би се прекинуо циклус развића. Током развоја, крпељи се хране крвљу паразитирајући на различитим домаћинима, што их чини честим преносиоцима патогена који узрокују озбиљне болести попут Лајмске болести, бабезиозе, менингоенцефалитиса, туларемије, и Q грознице. Присуство крпеља на домаћину често изазива запаљење коже, које се манифестује црвенилом и сврабом.

Лајмска болест може довести до озбиљних компликација ако се не лечи на време. Симптоми ове болести укључују флукуације у телесној температури, умор, бол у мишићима и зглобовима, и карактеристичан осип у облику "биковог ока" (*eritema migrans*). Бабезиоза, коју узрокују паразити рода *Babesia*, може довести до уништавања црвених крвних зрнаца и изазвати анемију код заражених домаћина. Крпељски менингоенцефалитис је још једна озбиљна болест коју преносе крпељи, а која може изазвати упалу мозга и мождане овојнице (менингитис), доводећи до неуролошких оштећења, па чак и смрти. Поред узрочника ових болести, крпељи су преносиоци и других опасних патогена који изазивају туларемију и Q грозницу, болести које могу имати озбиљне последице по људско здравље. Туларемија, позната и као "зечја грозница", узрокује симптоме као што су висока температура, чиреви на кожи и отечени лимфни чворови, док Q грозница може изазвати упалу плућа и јетре (Ivanović, 2014).

Према истраживању Tomanović и сар. (2011), Република Србија је ендемско подручје за неколико крпељско преносивих болести, као што су Лајмска болест, хумана гранулоцитна анаплазмоза, туларемија, Q грозница и рикетиозе. Аутори указују да је стварна епидемиолошка ситуација можда потцењена, јер се случајеви региструју спорадично и локализовано. У крпељима у Србији идентификовани су патогени као што су: *Anaplasma phagocytophilum*, *A. ovis*, *Francisella tularensis*, *Rickettsia sp.*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Babesia canis* и *Coxiella burnetii* (Tomanović и сар., 2011).

Током последњих 15 година, број случајева Лајм борелиозе значајно је порастао у Европи, а ово обољење је захваљујући ширењу географског ареала *Ixodes ricinus* регистровано и у новим областима (Stark и сар., 2023). Највиша инциденца забележена је у Естонији, Словенији, Швајцарској, Холандији и Норвешкој, где има преко 100 случајева на 100.000 становника (Eliassen и сар., 2017). Забрињавајуће, у Шведској је 2021. године пријављено 632 случаја на 100.000 становника, што указује на утицај глобалних климатских промена на популације крпеља (Vandekerckhove и сар., 2021; Alkische и сар., 2017).

Због свих ових ризика, изузетно је важно спроводити мере превенције, као што су избегавање подручја са густом вегетацијом, ношење заштитне одеће, редовно прегледање коже након боравка на отвореном, као и употреба репелената. Правовремено уклањање крпеља са тела домаћина може значајно смањити ризик од инфекције патогенима које преносе.

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

Систематски положај врсте *Ixodes ricinus* (Слика 1) према Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2022) је следећи:

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*



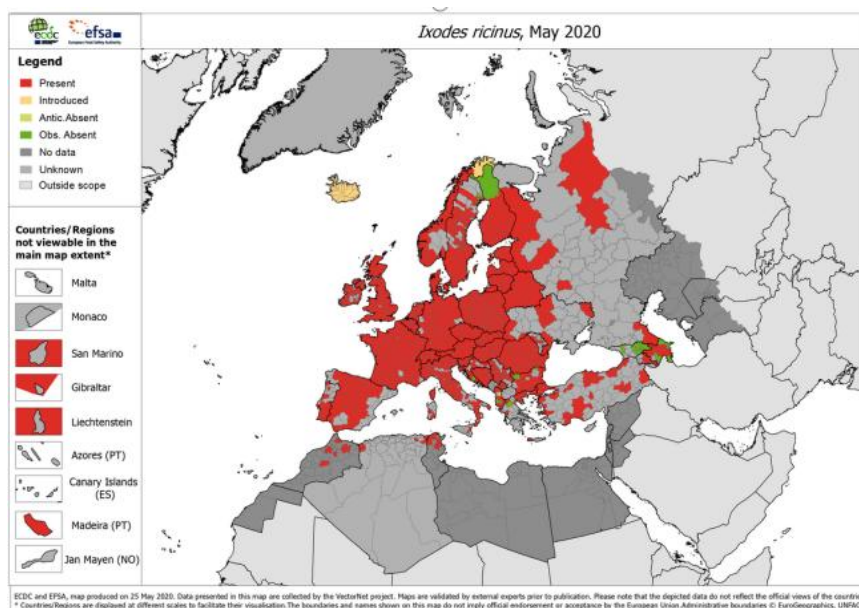
Слика 1. *Ixodes ricinus* (извор: <https://pixabay.com>)

Према Milutinović и сар. (2012), *I. ricinus* је најчешћа врста иксодидних крпеља у Србији, са највећим бројем убода код људи. У народу је познат као обични, овчији, јеленски, псећи или ричинусов крпељ. Ова врста је најфреквентнија и најбоље проучавана у Европи, посебно у регионима са умереном климом (Слика 2). Распрострањена је на различитим типовима станишта као што су шуме, ливаде, агроекосистеми и паркови. Milutinović и сар. (2012) су приметили да се ова врста

јавља на температурама од око 6°C и при релативној влажности од 73%, што одговара климатским условима Србије. Због тога, у Србији се примећују два максимума бројности крпеља – један у пролеће и један у јесен, што указује на присуство две генерације годишње. Утврђено је да се распон географског ареала ове врсте крпеља шири на нова подручја северне Европе услед утицаја климатских промена (Jaenson и сар., 2012; Medlock и сар., 2013; Millet и сар., 2019).

Климатске промене и урбана експанзија могу утицати на дистрибуцију *I. ricinus*, што изазива забринутост у погледу јавног здравља. Упркос ситним димензијама, ови крпељи представљају велики ризик за здравље, те је важно спровести мере превенције и едукације како би се смањила учесталост контаката између људи и ових потенцијалних преносилаца узрочника болести. Стога, разумевање биологије, морфологије и распрострањености *I. ricinus* не само да помаже у еколошким истраживањима, већ и у развоју стратегија за контролу и спречавање ширења болести које ови крпељи могу преносити.

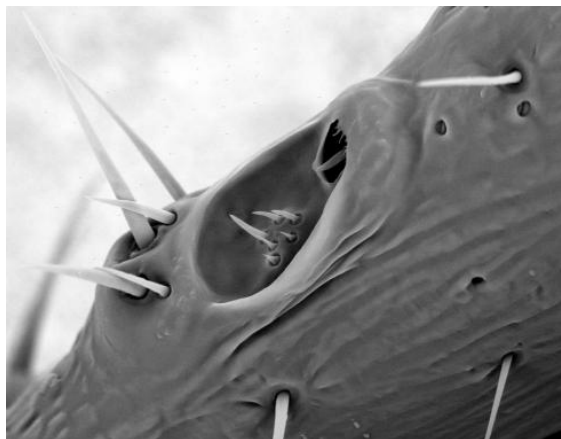
Стабилност популације на одређеном подручју један је од услова за појаву велике бројности *I. ricinus* (Laaksonen и сар., 2017; Alkische и сар., 2017).



Слика 2. Распрострањеност *Ixodes ricinus* (извор: www.ecdc.europa.eu)

Морфолошке карактеристике *I. ricinus* укључују присуство аналног жлеба у облику лука око аналног отвора, одсуство очију и орнаментације на скутуму (Estrada-Рења и сар., 2004). Недостак очију надомештен је сензорним органом тзв. Халеров орган (Слика 3) који има функцију да својим чулним ћелијама детектује сигнале тела који

емитије потенцијални домаћин (Blagojević, 2021). Крпељи могу да чекају на одговарајућег домаћина од неколико сати до десетак дана. Током овог периода су изложени неповољним абиотичким факторима који могу узроковати исушивање и губитак воде. Због тога, након одређеног времена, крпељи се спуштају у ниже слојеве вегетације како би надокнадили влагу. Ови периоди мировања могу трајати дуже, а у зависности од метеоролошких услова у микростаништу, могу потрајати и до неколико недеља (Milutinović и сар., 2012).



Слика 3. Халеров орган код *Ixodes ricinus* (извор: www.flickr.com)

I. ricinus пролази кроз четири стадијума развоја: јаје, ларва, нимфа и адултна јединка. Ларве имају три пара ногу, док нимфе и одрасли примерци имају четири пара. Ноге свих полова су тамно мрке боје, дуге и прекривене длачицама. Сви парови ногу имају спољашњи израштај на коксама, а дуги унутрашњи израштај на првом пару ногу протеже се до другог пара.

Женке *I. ricinus* (Слика 4) су крупније од мужјака и достижу дужину до 4 mm у ненасисаном стању, док након храњења могу досећи до 1,5 cm. Боја тела варира најчешће од сивкасте до црвенкасте. Добила је име по изгледу семена ричинуса, њен усни апарат је изразито дуг, а *scutum* има овалан облик и тамно мрку до црну боју, са добро развијеним скапулама. Он не покрива целу дорзалну страну тела, већ само нешто више од половине (Petrović, 2015).

Мужјаци *I. ricinus* (Слика 5) су мањи и дуги око 3 mm, овалног облика и тамно мрке до црне боје. Морфолошка одлика на основу које је олакшана детерминација ове врсте је анални жлеб који је у облику малог лука и заокружује анални отвор са предње стране.

Након што се оплођене женке нахране, полажу до 2.000 јаја на тлу, након чега угину. Комплетан развојни циклус може трајати од шест месеци до четири године, у зависности од климатских услова и доступности домаћина (Milutinović и сар., 2012).



Слика 4. Женка *Ixodes ricinus*
(извор: Springer и сар., 2021)



Слика 5. Мужјак *Ixodes ricinus*
(извор: Springer и сар., 2021)

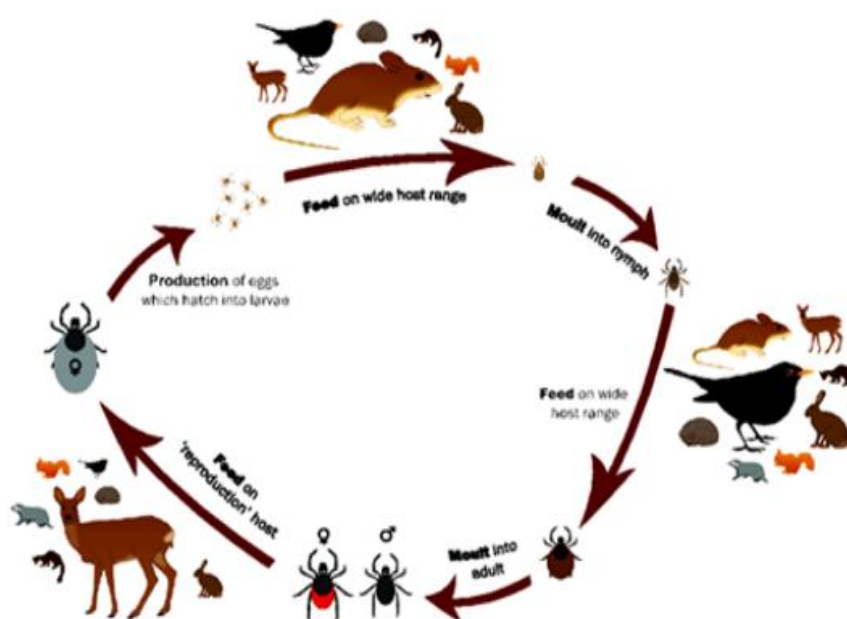
2.3. ЖИВОТНИ ЦИКЛУС, ПОТРАГА КРПЕЉА ЗА ДОМАЋИНОМ И ИСХРАНА

Крпељи представљају важне паразите који спадају у ред акарина и имају сложен животни циклус. Овај циклус обухвата четири стадијума: јаје, ларва, нимфа и адултна јединка. Свака фаза, осим јаја, захтева исхрану крвљу домаћина, што је кључно за њихов развој и репродукцију. *I. ricinus* је триксена врста, што значи да за исхрану и развој користе три различита типа домаћина. Током животног циклуса, крпељи се хране на различитим сисарима, птицама и другим животињама, а усвајање крвног obroка може трајати од неколико сати до неколико дана, у зависности од стадијума.

Крпељи проналазе своје домаћине путем технике познате као "заседа" (*questing*). Они се налазе на врховима жбуња и зељастих биљака, где чекају да пронађу потенцијалног домаћина. У том процесу, користе Haller-ов орган, који им омогућава да детектују разне сензорне сигнале, попут угљен-диоксида, температуре и влаге, што указује на присуство животиње.

Крпељи су најактивнији у пролеће и јесен, када температуре и влажност пружају повољне услове за исхрану и развој. Након што пронађу домаћина, крпељи се

приљубе и почињу да се хране. Исхрана крвљу је нарочито важна за женке, јер им омогућава да положије јаја. Животни циклус *I. ricinus* је приказан на Слици 6.



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

Исхрана крпеља зависи од стадијума. Ларве се обично хране ситнијим домаћинима, попут мишева, док нимфе и адултне јединке проналазе крупније домаћине, као што су свиње или јелени. Након исхране, женке крпеља могу полагати од 1.000 до 3.000 јаја на тлу. Ова јаја се развијају у ларве, које се пиле у повољним условима.

Након усвајања крвног оброка, адултне женке полажу јаја на тлу, где се легу ларве. Ове ларве затим проналазе нове домаћине, понављајући циклус. Нимфе и адулти могу се хранити више пута током свог животног века, што доприноси њиховом опстанку и ширењу.

Животни циклус крпеља представља сложену интеракцију између паразита и њихових домаћина. Разумевање ове динамике је важно за контролу популација крпеља и превенцију преношења болести. Пошто су крпељи значајни преносиоци патогена, као што су бактерије и вируси, проучавање њиховог живота, потраге за домаћинима и исхране остаје кључно за здравствене и еколошке истраживања.

Разумевање животног циклуса крпеља и њихових механизма потраге за домаћинима може значајно допринети превенцији болести. Постоји више фактора који утичу на потрагу крпеља за домаћинима, укључујући температуру, влажност и

присуство других животиња. Ова интеракција између крпеља и њихових домаћина је кључна за њихову способност да преносе патогене и може утицати на епидемиолошку слику неког подручја.

2.4. ЗНАЧАЈ КРПЕЉА И ЊИХОВ ВЕКТОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ

Крпељи представљају важан елемент у екосистему, јер не само да служе као резервоари и преносиоци разноврсних патогена, већ и утичу на динамику појаве обољења код људи и животиња, чиме значајно доприносе јавном здрављу и ветеринарској медицини. Векторски потенцијал односи се на способност одређених организама, као што су инсекати и крпељи, да преносе патогене агенсе, укључујући вирусе, бактерије и протозое, са једног домаћина на други. Према истраживањима Springer и сар. (2021), представници рода *Ixodes*, а посебно *I. ricinus*, *I. persulcatus* и *I. scapularis*, показују највиши векторски потенцијал међу крпељима. Ове врсте припадају комплексу *I. ricinus*, који укључује 14 различитих врста распрострањених готово на свим континентима (Keirans и сар., 1999; Xu и сар. 2003). Они су познати као преносиоци зоонотских протозоа, попут *Babesia* родова, бактерија *Borrelia* и *Rickettsia*, као и разних флавируса (Springer и сар. 2021).

Крпељи из комплекса *I. ricinus* играју кључну улогу у преносу инфекција, нарочито у Евроазији, Северној Африци и Северној Америци, што је резултат географске расподеле домаћина и крпеља (Springer и сар., 2021). Према Gray и сар. (2010), *Babesia spp.* су специфичне за одређене домаћине: на пример, *B. divergens* се обично јавља код домаћих говеда, *B. venatorum* код дивљих папкара, а *B. microti* код глодара. Иако *B. microti* постоји и у Европи и у Северној Америци, симптоматске инфекције код људи су до сада документоване само у Америци (Azagi и сар., 2020).

Поред протозоа, многе врсте крпеља су потврђени вектори и резервоари бактерија значајних за хуману и ветеринарску медицину. *I. ricinus* комплекс се сматра главним преносиоцем *Borrelia burgdorferi* s.l. (узрочник Лајмске болести) и *Anaplasma phagocytophilum* широм северне хемисфере (Springer и сар., 2021). Рикеције представљају још једну важну групу крпељски преносивих патогена, повезаних са тачкастим грозницама (Parola и сар., 2013). Неки облици рикеција, попут *Rickettsia rickettsii*, узрокује тешке хумане инфекције, укључујући тачкасту грозницу

Стеновитих планина, преношену од стране крпеља *Dermacentor andersoni*, *D. variabilis* и *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (Parola и сар., 2013).

Крпељи су познати и као преносиоци вируса, укључујући патогене који узрокују озбиљне болести код људи. Вирус Кримске - Конго хеморагичне грознице (СCHFV), преношен углавном крпељима из рода *Hyalomma*, показује широку дистрибуцију и регистрован је у Африци, Азији, као и у јужним и источним деловима Европе (EFSA, 2009). Насупрот томе, Омска хеморагична грозница, преношена од стране *D. marginatus* и *D. reticulatus*, јавља се на ограниченим подручјима у Русији и има спорадичан карактер (Růžek и сар., 2010). Вирус крпељског енцефалитиса (TBEV), који се најчешће преноси крпељима из комплекса *I. ricinus*, представља значајну здравствену опасност у Европи, Сибиру и Азији (Dobler и сар., 2012). Кроз анализу улоге крпеља у преношењу патогена, видимо да су они не само важни паразити већ и кључни играчи у динамици инфекција. Разумевање њиховог животног циклуса, начина потраге за домаћинима и механизма преноса инфекција може помоћи у развоју стратегија за контролу и превенцију болести које преносе.

2.5. РЕПЕЛЕНТИ

Историја коришћења репелената датира из античког доба, када су људи користили природне супстанце за заштиту од инсеката (Semmler и сар., 2011). Интензивна истраживања о синтетичким репелентима почела су након Другог светског рата, како би се заштитили војници од хематофагних инсеката (Moore и Debboun, 2007). Процеси урбанизације и повећање туристичких путовања довели су до већег ризика од контакта са паразитима и појаве зоонотских болести, што је интензивирало истраживања репелентних супстанци (Spach и сар., 1993; Gupta и Bhattacharjee, 2007).

Репеленти су супстанце, било природног или синтетског порекла, које својим испарљивим компонентама одбијају инсекте и крпеље од домаћина (Pagés и сар., 2014). Један од начина превентиве је употреба супстанци које се наносе на кожу или одећу, а које имају репелентно деловање (Bissinger и Roe, 2010; Piesman и Eisen, 2008).

У Србији и Европској унији, репеленти се сматрају козметичким производима, док у Сједињеним Америчким Државама имају статус лекова без рецепта. Синтетски

репеленти су ефикаснији од природних, јер делују дужи временски период и мање иритирају кожу (Abdel-Ghaffar и сар., 2015). Идеалан репелент треба да пружа заштиту најмање осам часова и да буде нетоксичан (Bissinger и Roe, 2010). Један од начина превентиве је употреба супстанци које се наносе на кожу или одећу, а које имају репелентно деловање (Bissinger и Roe, 2010; Piesman и Eisen, 2008).

Начин примене репелентних средстава зависи од форме препарата, која може бити у облику спреја, стика, гела, наруквица, крема или фластера. Репеленти се наносе директно или индиректно на кожу, одећу или друге површине, у зависности од типа непожељног организма. Идеална репелентна супстанца требало би да обезбеди заштиту од хематофагних артропода током најмање четири часа, да буде без мириса и да не буде токсична или иритирајућа (Bissinger и Roe, 2010). Ефикасност репелената зависи од више фактора, укључујући врсту репелента, концентрацију, знојење и атмосферске услове. За утврђивање ефикасности спроводе се различити тестови, који се деле на три групе: *in vitro* тестови без домаћина, *in vitro* тестови уз присуство стимулуса и *in vivo* тестови са живим домаћином.

Да би репеленти били максимално ефикасни и безопасни, важно је користити их према упутству за употребу, не наносити их на кожу прекривену одећом, лице, очи или повређену кожу, и наносити у танком слоју. Пре наношења репелента, прво треба применити производ за заштиту од Сунца, а након боравка напољу, репелент треба уклонити купањем. Одећу која је била изложена репеленту такође треба опрати, а у случају иритације, препарат треба одмах испрати са коже (Vukša и Šestović, 2003).

При примени репелената код деце, посебно је важно избегавати употребу код деце млађе од два месеца, док се код деце млађе од две године препоручују механичке методе заштите, као што су мрежице. Коришћење препарата одобрених за децу, као и наношење репелента на руке родитеља пре него што се нанесе на кожу детета, такође је кључно. Репелент не треба наносити на дланове детета, а препарат треба чувати ван домашаја деце и избегавати оне који садрже етанол (Bedeković, 2013).

За превенцију убода крпеља највише се користе следеће активне материје (Bissinger и Roe, 2010; Abdel-Ghaffar и сар., 2015):

- Merck-ov IR3535[®] (ЕВААР, 3-N-acetil-N-butylaminopropionat etilestar),
- DEPA (N,N-dimetilfenil-acetamid),
- DEET (N,N-dietil-m-toluamid), pp-mentan-3,8-diol, piperidin деривати (A-13-35765, A-13-372220) и

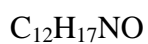
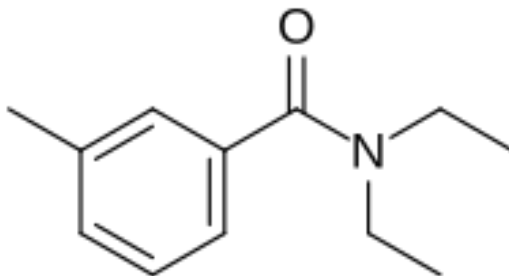
- ikaridin (Saltidin[®], 2-(2-hidroksietil)-1 piperidin karboksilna kiselina)-1-metil propil ester).

ДЕЕТ (N,N-dietil-meta-toluamid) (Слика 7) представља најстарији репелент доступан на тржишту, развијен 1940-их година у лабораторијама војске Сједињених Америчких Држава. Главна сврха његове употребе била је заштита војника током војних операција у тропским и субтропским подручјима, али и на територији Европе. Званичну дозволу за цивилну употребу добија тек 1957. године. ДЕЕТ је безбојна, уљана течност, која може бити агресивна према пластичним и синтетичким материјалима (Pages и сар., 2014). Када се наноси на кожу, ДЕЕТ се лако апсорбује, а око 5% производа има системичну дифузију, која може бити повећана ако се истовремено користе препарати за сунчање (Katz и сар., 2008). Микроенкапсулација препарата, према Kasting и сар. (2008), умањује потенцијалну токсичност ДЕЕТ-а код људи. Такође, развијена је формулација на бази ове активне материје под називом Ultrathon[™] (3М), која показује изражено перзистентно деловање, али се за сада користи само у војне сврхе (Katz et al., 2008). Додавање циклодекстрина, према Proniuk и сар. (2002), смањује испарљивост ДЕЕТ-а и продужава репелентну ефикасност, при чему није забележено да ова обogaћена формулација продире у епидермис коже. У концентрацијама од 10 до 30%, ДЕЕТ обезбеђује заштиту у трајању од четири до осам сати (Pages и сар., 2014). Висок степен репелентног деловања ДЕЕТ-а на крпеље различитих врста потврђен је у многим студијама (Büchel и сар., 2015; Ogawa и сар., 2016; Ferreira и сар., 2017; Koloski и сар., 2019; Kulma и сар., 2019; Koloski и сар., 2020; Burtis и сар., 2023; Burtis и сар., 2024).

Ефикасност ДЕЕТ-а против различитих врста крпеља потврђена је кроз бројне студије, које су показале да овај репелент успешно спречава крпеље да дођу у контакт са кожом. Научници као што су Büchel и сар. (2015), Ogawa и сар., (2016), Ferreira и сар., (2017), Koloski и сар. (2019, 2020), те Kulma и сар., (2019), допринели су значајном броју истраживања о његовом репелентном ефекту. Најновије студије, као што су оне од стране Burtis и сар., (2023, 2024), потврђују његову делотворност у различитим условима, што указује на значај ДЕЕТ-а у заштити од ових паразита.

Иако је ДЕЕТ један од најиспитанијих и најшире коришћених репелената, његова примена захтева опрез због потенцијалне токсичности. Нежељени ефекти могу укључивати иритацију коже и токсичност ако се неправилно користи, посебно у високим концентрацијама. Упркос тим ризицима, ДЕЕТ остаје један од најефикаснијих репелената на тржишту, пружајући дуготрајну заштиту и због тога се

често препоручује за употребу у подручјима са великим бројем хематофагних артропода, укључујући комарце и крпеље.



Слика 7. Структурна формула ДЕЕТ (N,N-diethyl-meta-toluamid)
(извор: <https://sr.wikipedia.org/wiki/N,N-Diethyl-meta-toluamid>)

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Задатак овог мастер рада је да се у лабораторијским условима утврди проценат репелентне ефикасности активне материје диетилтолуамид – ДЕЕТ у концентрацији од 25%, на нимфе крпеља врсте *Ixodes ricinus* у функцији времена од момента апликације препарата, а затим и након 1 сат, 2, 4 и 8 сати.

Тестирање репелентне ефикасности ће се спровести у два типа огледа:

- при примени препарата на филтер хартију у петри посудама и
- на кожу са унутрашње стране подлактице испитивача.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Нимфални стадијуми крпеља врсте *Ixodes ricinus* су прикупљани у шумским екосистемима у околини Новог Сада користећи методу флег-часа, према методологији описаној у раду Dantas-Torres и сар. (2013). Све прикупљене јединке су идентификоване до нивоа врсте, уз примену кључа који су развили Estrada-Pena и сар. (2004). За потребе огледа коришћене су искључиво нимфе врсте *I. ricinus*.

Ефикасност репелента на бази активне супстанце ДЕЕТ (25%) процењивала се према методама које су предложили Kröber и сар. (2013) и Adenubi и сар. (2018), у оквиру два типа експеримената. Први тип огледа је подразумевао коришћење петри посуда (90 x 14,5 mm), чије је дно прекривено филтер папиром, а горњи слој чинила памучна газа. На филтер папиру су исцртане зоне за тестирање, а у зависности од кретања крпеља у овим зонама, одређиван је проценат репелентне активности према критеријумима које су дефинисали Thorsell и сар. (2006) и Tunón и сар. (2006). На филтер хартији су графитном оловком исцртане три зоне: 1. зона без препарата, 2. почетна – неутрална зона и 3. зона са препаратом (Слика 8). По 10 нимфи врсте *I. ricinus* је постављено у доње делове 6 петри посуда (пет посуда са препаратом, док је шеста посуда била контролна посуда – 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).

Двадесет и четири сати пре тестирања на особама, издвојене су јединке из популације крпеља које су чуване у лабораторијским условима на температури од 21 до 23°C, са релативном влажношћу од 40 до 50% и природним светлосним режимом. Испитивање на људима спроводило се према методама предложеним од стране Kröber и сар. (2013) и Adenubi и сар. (2018). У експерименту је учествовало три испитивача различитог пола и старосне доби. На унутрашњој страни леве подлактице сваког испитивача маркером су означене зоне за тестирање, на које се

наноси препарат. Процент репелентне активности се израчунавао према методологији Thorsell и сар. (2006) и Tunón и сар. (2006)



Слика 8. Приказ зона на филтер хартији у петри посудама које су коришћене у тестовима (извор: [Lazić, 2022](#))

Статистичка анализа података је обухватала основне статистичке параметре, као што су анализа варијансе (ANOVA) и тестови значајности, употребом софтвера Statistica 14.0.0.15 (TIBCO, Универзитетска лиценца), за ниво значајности $p < 0,05$ статистички значајно и $p < 0,01$ статистички високо значајно.

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултати добијени испитивањем биолошке ефикасности репелента на бази активне супстанце ДЕЕТ (25%) у лабораторијским условима, изражен преко експонирања нимфи крпеља врсте *Ixodes ricinus* у петри посудама, приказани су у Табели 1.

Висок степен репелентне ефикасности регистрован је код нимфи крпеља врсте *I. ricinus* које су биле експонирани деловању препарата на бази активне материје ДЕЕТ (25%) у оценама до четири сата након постављања препарата у петри посуде (просечно 98,0%), када је код 49 крпеља (од 50) забележено кретање у смеру супротном од места на ком је примењен препарат. Једна нимфа се након четири сата налазила у стању мировања (Табела 1.).

Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је 8 сати након апликације препарата на бази активне материје ДЕЕТ (25%), када је регистрован просечан проценат репелентности од 84,0%. У овом периоду оцене, 42 нимфе се кретало у смеру супротном од места на ком је нанесен препарат, док је 8 јединки било у стању мировања, што се може тумачити физиолошком исцрпљеношћу тестираних организама.

Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од осам часова у петри посудама износила је 95,2%.

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.

Табела 1. Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ДЕЕТ (25%) експонирањем нимфи крпеља врсте *I. ricinus* у петри посудама

Понављање	Број нимфи у петри посуди пре третмана	Број нимфи одмах након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број нимфи 1 сат након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број нимфи 2 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број нимфи 4 сата након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %	Број нимфи 8 сати након nanoшења препарата са додељеном оценом кретања	Репелентност у %
I	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
II	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 В	90,0	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 Г	90,0
IV	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	8 А 2 Г	80,0
V	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
VI (контрола)	10	3 А 2 Б 4 В 1 Г	30,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	3 А 3 Б 3 В 1 Г	30,0	2 А 3 Б 5 В	20,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0
E_{sr} (%)			100,0		100,0		98,0		94,0		84,0

Резултати добијени испитивањем репелентног деловања препарата на бази активне материје ДЕЕТ (25%) нанешеног на подлактице испитивача приказани су у Табели 2. Висок степен репелентног деловања регистрован је код нимфи које су биле експониране деловању препарата на бази активне материје ДЕЕТ (25%) у оценама до 4 сата након стављања препарата на подлактицу испитивача (просечно 95,55%), када је код 86 (од 90) нимфи забележено кретање у смеру супротном од места аплицираног препарата, две нимфе које су биле у стању мировања и две које су ходале дуж неутралне зоне (Табела 2).

Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је осам часова након апликације препарата, када је регистрован просечан проценат репелентности од 83,33%. У овом периоду оцене, 75 нимфи се кретало се у смеру супротном од места на ком је нанешен препарат, шест нимфи је било у стању мировања, док је девет ходало дуж неутралне зоне.

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: испитивач ($p=0,842671$ за $p<0,05$) или време оцене огледа ($p=0,759334$, за $p<0,05$) нису показале постојање статистички значајних разлика.

Табела 2. Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ДЕЕТ (25%) експонирањем нимфи 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	9 А 1 Г	90,0
	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	3 А 2 Б 2 В 3 Г	30,0	3 А 3 Б 2 В 2 Г	30,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	3 А 3 Б 1 В 3 Г	30,0	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	9 А 1 Г	90,0	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	8 А 2 В	80,0
	III	10	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	10 А	100,0	9 А 1 Г	90,0
	контрола	10	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 4 В 2 Г	20,0	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	2 А 2 Б 2 В 4 Г	20,0	3 А 3 Б 2 В 2 Г	30,0

Табела 2. (наставак) Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ДЕЕТ (25%) експонирањем нимфи 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	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 В	80,0
	контрола	10	3 А 2 Б 2 В 3 Г	30,0	2 А 3 Б 3 В 2 Г	20,0	2 А 4 В 4 Г	20,0	2 А 3 Б 2 В 3 Г	20,0	3 А 2 Б 2 В 3 Г	30,0
контрола	E _{sr} (%)			26,67		23,33		20,00		23,33		26,67
третман	E _{sr} (%)			100,00		100,00		100,00		95,55		83,33

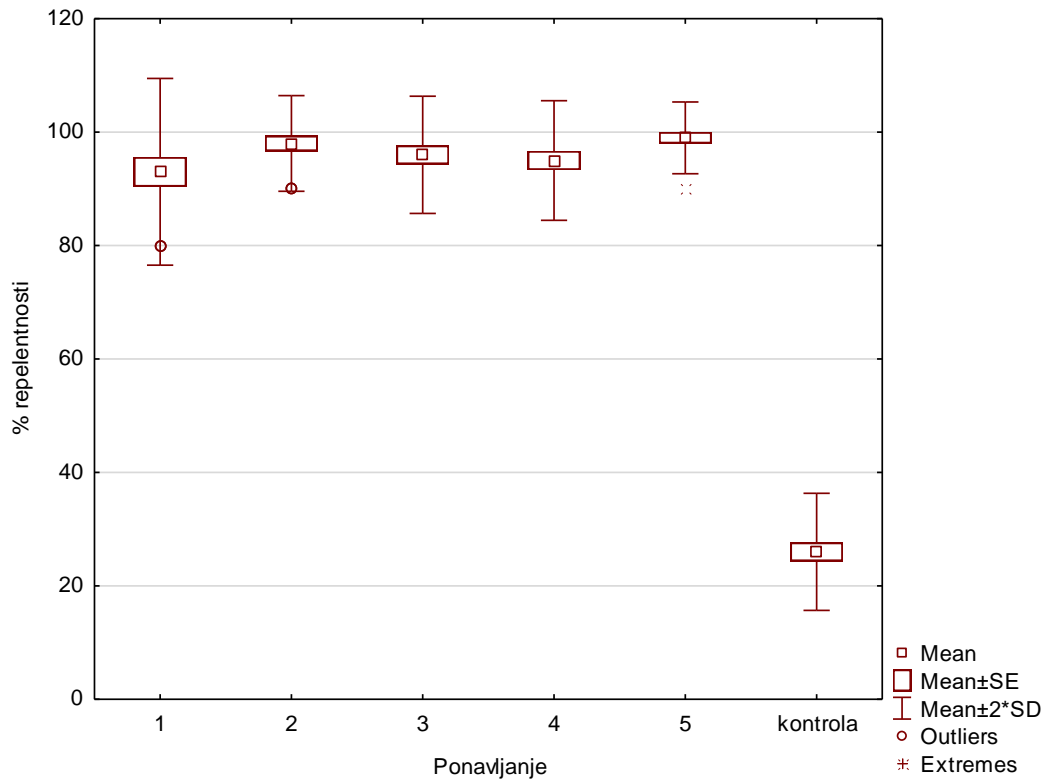


График 1. Просечна репелентност (%) током огледа са петри посудама

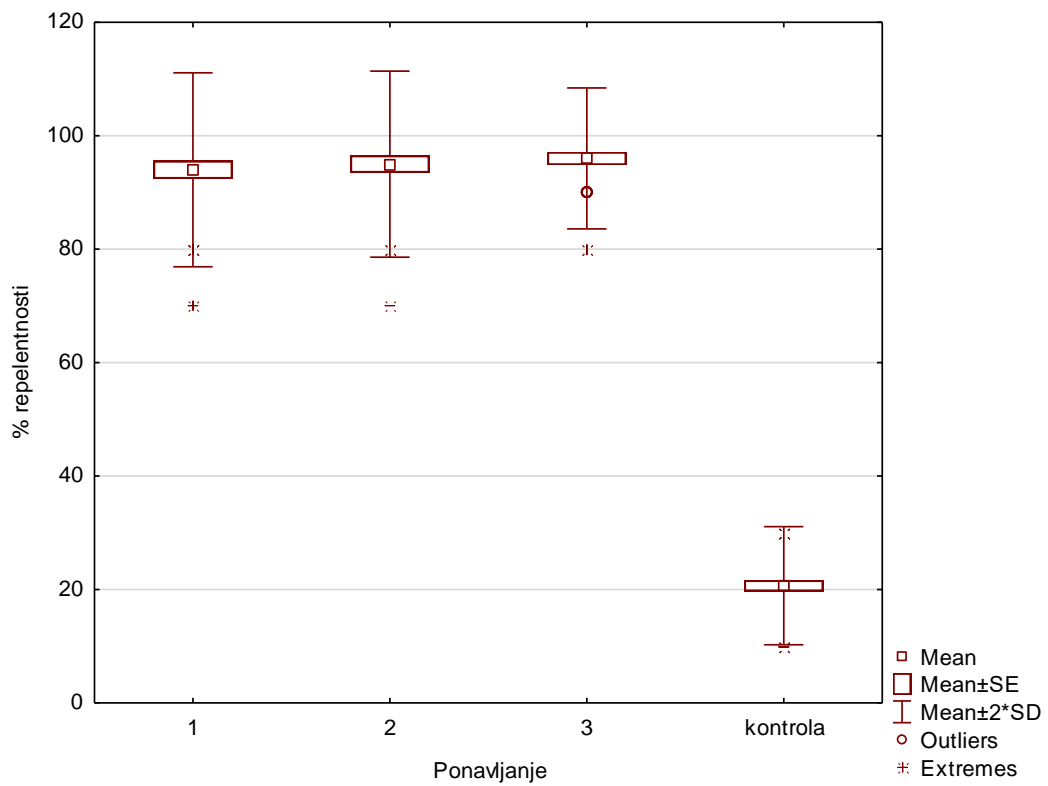


График 2. Просечна репелентност (%) током огледа на испитивачима

Ефикасност репелентних супстанци, укључујући ДЕЕТ, условљена је бројним факторима, као што су концентрација активне материје, формулација препарата, тип експерименталног теста, као и биолошке карактеристике тест организама. Према Abdel-Ghaffar и сар. (2015), репелентне активне материје се увек примењују у одређеним формулацијама које садрже носаче и додатне компоненте, па на укупну ефикасност утиче не само активна супстанца већ и састав препарата. Сходно томе, резултати огледа зависе од више фактора, укључујући концентрацију, начин апликације, врсту и развојни стадијум крпеља, као и њихово физиолошко стање. Иако лабораторијски тестови омогућавају контролисане услове, они не могу у потпуности репликовати сложене услове у природи, већ дају приближну процену трајања и интензитета репелентног деловања (Dautel, 2008).

У складу са тим, регулаторна тела, као што су Европска агенција за хемикалије (European Chemicals Agency, ЕЦНА) и Агенција за заштиту животне средине Сједињених Америчких Држава (United States Environmental Protection Agency, USEPA), препоручују употребу различитих развојних стадијума крпеља (нимфи и адулата) при процени ефикасности репелената, будући да се њихово понашање и осетљивост разликују (Kulma и сар., 2019). На пример, отпорност на исушивање се повећава током онтогенезе (Mejlon и Jaenson, 1997), што условљава различите стратегије преживљавања и активности. Такође, сезонска активност крпеља варира у зависности од стадијума (Daniel и сар., 2015), док нимфе имају шири спектар домаћина у односу на адулте, који преферирају крупније сисаре (Talleklint и Jaenson, 1994; Grech-Angelini и сар., 2016). Из тог разлога, нимфе се често показују као осетљивији индикатори при тестирању репелентних супстанци (Kulma и сар., 2019).

Када је реч о механизму деловања ДЕЕТ-а, иако је његова ефикасност широко потврђена, молекуларни механизми и даље нису у потпуности разјашњени (Koloski и сар., 2019). Досадашња истраживања указују на могућу улогу ензимских система, укључујући инхибицију цитохрома Р450 (Ramirez и сар., 2012; Abd-Ella и сар., 2015) и холинестеразе (Corbel и сар., 2009). Према Koloski и сар. (2019), постоје две доминантне хипотезе о деловању репелената: према првој, репеленти маскирају атрактивне сигнале домаћина, док према другој делују као иританти које артропode препознају као штетне и активно их избегавају.

Сензорни механизми који омогућавају крпељима да детектују ове супстанце су сложени и још увек недовољно разјашњени. Кључну улогу има Халеров орган,

смештен на тарзусу првог пара ногу, који учествује у детекцији домаћина, оријентацији у простору и другим понашајним реакцијама (Carr и сар., 2017; Josek и сар., 2018). Поред тога, педипалпе, локализоване у пределу усног апарата, такође имају значајну хемосензорну функцију (Renthal и сар., 2017). Ипак, упркос бројним истраживањима, улога појединачних рецептора у детекцији репелената још увек није у потпуности дефинисана (Bissinger и Roe, 2010; Sonenshine и Roe, 2013; Carr и сар., 2017).

Емпиријски подаци из литературе потврђују високу ефикасност ДЕЕТ-а у различитим условима. Тако су Ogawa и сар. (2016) показали да 12% ДЕЕТ препарат (Mushi-Pale PS) остварује репелентност од 84% на врстама *I. persulcatus* и *I. ovatus*, како у тестовима на људима тако и методом повлачења платна. Сличне резултате добили су и Solberg и сар. (1995), који су утврдили значајну ефикасност 25% ДЕЕТ-а на врсти *Amblyomma americanum*. Ови налази су у складу са ранијим истраживањима (Mount и Snoddy, 1983; Schreck и сар., 1986), у којима је утврђена висока репелентна ефикасност различитих концентрација ДЕЕТ-а, уз напомену да повећање концентрације не мора нужно довести до пропорционалног повећања ефикасности.

Даље, Ferreira и сар. (2017) су показали да репелентни ефекат зависи од врсте и концентрације, при чему је *A. sculptum* показала већу осетљивост на ДЕЕТ у односу на *R. sanguineus* s.l., док је β -цитронелол у неким случајевима био ефикаснији од ДЕЕТ-а. Ови резултати су у складу са налазима Borges и сар. (2015) и Soares и сар. (2010), који су у *in vitro* условима такође потврдили варијабилност одговора у зависности од врсте крпеља.

Слично томе, Büchel и сар. (2015) су показали да 20% ДЕЕТ обезбеђује заштиту у трајању од 4 до 5 сати код нимфи врста *I. ricinus* и *I. scapularis*, док је икаридин у неким случајевима имао продужено дејство. Насупрот томе, Kröber и сар. (2013) нису уочили значајне разлике у ефикасности између различитих репелената при ниским дозама, али су установили да веће концентрације доводе до јасно израженог избегавајућег понашања, укључујући рефлексно одвајање крпеља.

У истраживању које су спровели Koloski и сар. (2020), поред праћења преживљавања, анализирани су и промене у понашању и морфологији крпеља након излагања ДЕЕТ-у. Аутори су забележили да убрзо након третмана долази до изражене хиперактивности, која се манифестује континуираним кружним кретањем и некоординисаним покретима, познатим као „hot-foot“ ефекат.

Према њиховим резултатима, појава морталитета зависила је од концентрације ДЕЕТ препарата: код највише концентрације (75%) угинуће је забележено већ након 4 часа, док је код нижих концентрација било одложено и јављало се тек након 8 часова. Јединке у терминалној фази карактерисала је специфична позиција тела - лежање на скутуму уз савијене екстремитете. Посебно је занимљиво да су код врсте *Dermacentor variabilis*, при концентрацијама $\geq 30\%$ ДЕЕТ-а, уочене секреције у пределу скуталних пора и капитулума, што, према наводима аутора, до тада није било описано (Слика 9). Даљом анализом, уз примену скенинг електронске микроскопије, утврђено је присуство нагомиланог секрета у пределу сензорних структура, укључујући предње јамичасте сензиле и спољашњи део Халеровог органа, што потенцијално може утицати на нарушавање хемосензорних функција (Слика 9). Поред тога, аутори су уочили задржавање резидуалног материјала у скуталним порам и на гнатостоми, што указује на могућност механичког ометања физиолошких процеса.

Koloski и сар. (2020) такође истичу да су код изложених јединки забележене изражене физиолошке и неуролошке реакције, у складу са ранијим налазима (Schreck и сар., 1986; Soares и сар., 2010). Међутим, није у потпуности разјашњено да ли су ови ефекти директна последица деловања ДЕЕТ-а или индиректни ефекти. Као један од могућих механизма деловања, Koloski и сар. (2020) разматрају и утицај ДЕЕТ-а на респираторне органе крпеља, имајући у виду да спиракуларне плоче код *D. variabilis* имају хидрофобна својства која могу бити нарушена деловањем растварача као што је етанол. Са друге стране, постоје докази да ДЕЕТ може деловати и на неурофизиолошком нивоу, инхибицијом ацетилхолинестеразе (Koloski и сар., 2019), што се манифестује некоординисаним покретима и конвулзијама код третираних јединки. Слични обрасци понашања, пре свега изражена хиперактивност и избегавајуће реакције, уочени су и у оквиру овог истраживања, што додатно потврђује да ДЕЕТ, поред репелентног, испољава и значајан утицај на неурофизиолошке и понашајне одговоре крпеља.



Слика 9. Микроскопски приказ врсте *Dermacentor variabilis* након контактнoг излагања 75% ДЕЕТ-у. Присуство секрета уочено је у пределу скуталних пора (а, б) и усног апарата (с, d). Ови секретни нису забележени код контролних јединки изложених етанолу (извор: Koloski и сар., 2020)

Поред ефикасности, важан аспект примене ДЕЕТ-а је и безбедност. Dorman и сар. (1990) наглашавају да препарати који садрже ДЕЕТ не треба да се примењују на животињама које одржавају хигијену длаке лизањем, као што су пси и мачке, због могућности уноса и потенцијалних нежељених ефеката.

У целини посматрано, бројна истраживања потврђују да је ДЕЕТ један од најефикаснијих и најчешће коришћених репелената, али да његова ефикасност и начин деловања зависе од комплексне интеракције више фактора, укључујући биологију циљних организама, услове средине и карактеристике саме формулације.

6. ЗАКЉУЧАК

Након изведених огледа који су били задатак овог мастер рада, односно да се у лабораторијским условима, утврди проценат репелентне ефикасности активне материје ДЕЕТ 25% (диетилтолуамид) на нимфе крпеља врсте *Ixodes ricinus*, може се закључити следеће:

- ДЕЕТ (25%) показује висок степен репелентне ефикасности у оценама до четири сата након апликације препарата у петри посуде, просечно 98,0%, када је код 49 нимфи (од 50) забележено кретање у смеру супротном од места на ком је примењен препарат.
- Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је 8 сати након апликације, када је регистрован просечан проценат репелентности од 84,0%. У овом периоду оцене, 42 нимфе се кретало у смеру супротном од места на ком је нанешен препарат, док је 8 јединки било у стању мировања.
- Просечан проценат репелентности током трајања целог огледа од осам часова у петри посудама износила је 95,2%, а у свих пет петри посуда у којима се налазио препарат и у свих пет тестираних временских интервала није забележена ни једна нимфа која се приближавала зони са постављеним препаратом, за разлику од контролних група.
- У огледима када се ДЕЕТ (25%) примењивао на подлактицу испитивача такође је констатован висок проценат репелентног деловања у оценама до четири сата, у просеку 95,55%.
- Последња евалуација репелентног деловања препарата вршена је осам часова након апликације препарата, када је регистрован просечан проценат репелентности од 83,33%. У овом периоду оцене, 75 нимфи се кретало се у смеру супротном од места на ком је нанешен препарат, шест нимфи је било у стању мировања, док је девет ходало дуж неутралне зоне.
- 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 испитивач и време оцене огледа нису показале постојање статистички значајних разлика.
- Резултати овог мастер рада показују да ДЕЕТ (25%) делује као високо ефикасан репелент на нимфе крпеља врсте *I. ricinus*, изазивајући комплексне морфолошке, неуролошке и сензорне поремећаје који потврђују његов мултифакторски механизам деловања и истовремено истичу значај нимфи као тест организама за процену ефикасности репелената.

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[®]): tests on *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* placed on hands and clothes. *Parasitol. Res.*, 114: 3041-3045.
2. Abd-Ella A.A., Stankiewicz M., Mikulska K., Nowak W., Pennetier C., Goulu M., Fruchart-Gaillard C., Licznar P., Apaire-Marchais V., List O., Corbel V., Servent D., Lapied B. (2015): The Repellent DEET Potentiates Carbamate Effects via Insect Muscarinic Receptor Interactions: An Alternative Strategy to Control Insect Vector-Borne Diseases. *PLoS ONE*, 10
3. Adenubi O.T., McGaw L.J., Eloff 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.
4. 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.
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. Bartosik K.A., Wiśniowski L., Buczek A. (2011): Abundance and seasonal activity of adult *Dermacentor reticulatus* (Acari: Amblyommidae) in eastern Poland in relation to meteorological conditions and the photoperiod. *AAEM*, 18(2): 340-344.
7. Bedeković L. (2013): *Integrirana zaštita od glodavaca korištenjem mirisnih repelenata*. Diplomski rad, Šumarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
8. Bissinger B.W., Roe R.M. (2010): Tick repellents: past, present, and future. *Pestic. Biochem. Phys.*, 96: 63-79.
9. Blagojević N. (2021): Repelentno delovanje azadiraktina na mužjake *Ixodes ricinus*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
10. Borges L.M.F., Oliveira Filho J.G., Ferreira L.L., Louly C.C.B., Pickett J.A., Birkett M.A. (2015): Identification of non-host semiochemicals for the brown dog tick,

Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari:Ixodidae) from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. *Ticks Tick Borne Dis.*, 676–682.

11. 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). *TBD*, 6(4): 494-498.
12. Burtis J.C., Ford S.L., Parise C.M., Eisen R.J., Eisen L. (2024): Efficacy of unregulated minimum risk tick repellent products evaluated with *Ixodes scapularis* nymphs in a human skin bioassay. *Parasit. Vectors.*, 17(1): 50.
13. Burtis J.C., Ford S.L., Parise C.M., Foster E., Eisen R.J., Eisen L. (2023): Comparison of *in vitro* and *in vivo* repellency bioassay methods for *Ixodes scapularis* nymphs. *Parasit. Vectors.*, 16(1): 228.
14. Carr A., Mitchell R.D., Dhammi A., Bissinger B., Sonenshine D., Roe R. (2017): Tick Haller's Organ, a New Paradigm for Arthropod Olfaction: How Ticks Differ from Insects. *Int. J. Mol. Sci.*, 18
15. Corbel V., Stankiewicz M., Pennetier C., Fournier D., Stojan J., Girard E., Dimitrov M., Molgó J., Hougard J.-M., Lapied B. (2009): Evidence for inhibition of cholinesterases in insect and mammalian nervous systems by the insect repellent DEET. *BMC Biol.*, 7: 47
16. Daniel M., Maly M., Danielova V., Križ B., Nuttall P. (2015): Abiotic predictors and annual seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*, the major disease vector of Central Europe. *Parasit Vectors*, 8: 478.
17. 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.
18. Dautel H., Dippel C., Kämmer D., Werkhausen A., Kahl O. (2008): Winter activity of *Ixodes ricinus* in a Berlin forest. *Int. J. Med. Microbiol.*, 298: 50-54.
19. Dobler G., Gniel D., Petermann R., Pfeffer M. (2012): Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis. *Wien Med. Wochenschr.*, 162: 230-238.
20. Dorman D., Buck W., Trammel H., Jones R., Beasley V. (1990): Fenvalerate/N,N-diethyl-m-toluamide (Deet) toxicosis in two cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 196(1): 100-102
21. EFSA (2009): Scientific review on Crimean-Congo hemorrhagic fever. Support Publicat 6:19E. SCIENTIFIC REPORT submitted to EFSA Prepared by Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale".

22. Eliassen K.E., Berild D., Reiso H., Grude N., Christophersen K.S., Finckenhagen C., Lindbæk M. (2017): Incidence and antibiotic treatment of erythema migrans in Norway 2005-2009. *Ticks Tick Borne Dis.*, 8(1): 1-8.
23. Estrada-Pena A., Bouattour A., Camicas J.L., Walker A.R. (2004): *Ticks of domestic animals in Mediterranean Region. A guide to identification of species*. University of Zaragoza, Zaragoza, Spain.
24. Ferreira L.L., Oliveira Filho J.G., Mascarin G.M., León A.A.P., Borges L.M.F. (2017): *In vitro* repellency of DEET and β -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Amblyomma sculptum*. *Vet. Parasitol.*, 239: 42-45
25. Gray J., Zintl A., Hildebrandt A., Hunfeld K.P., Weiss L. (2010): Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. *Ticks Tick Borne Dis.*, 1: 3-10.
26. 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.
27. Gupta R.K., Bhattacharjee A.K. (2007): *Discovery and design of new arthropod/insect repellents by computer-aided molecular modeling*. Y: Debboun M., Frances S., Strickman D. (Eds.), *Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses*. CRC Press, Boca Raton, pp. 195-228.
28. Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2022): *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) Taxonomic Serial No.: 1117549. On-line database: www.itis.gov, CC0, <https://doi.org/10.5066/F7KH0KBK> (приступљено: 09.10.2024.).
29. Ivanović I. (2014): Prevalencija zaraženosti krpelja vrste *Ixodes ricinus* uzročnikom *Borrelia burgdorferi* u šumskim ekosistemima. Master rad. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
30. Jaenson T.G.T., Hjertqvist M., Bergström T., Lundkvist Å. (2012): Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasites Vectors*, 5: 184.
31. 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 Tick Borne Dis.*, 9(5): 1317-1327

32. Kasting G.B., Bhatt V.D., Speaker T.J. (2008): Microencapsulation decreases the skin absorption of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET). *Toxicol. In Vitro*, 22: 548-552.
33. Katz T.M., Miller J.H., Hebert A.A. (2008): Insect repellents: Historical perspectives and new developments. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 58: 865–871.
34. 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.
35. Koloski C.W., Duncan C.A.M., Rutherford P.L., Cassone B.J. (2020): Natural insensitivity and the effects of concentration on the repellency and survival of American dog ticks (*Dermacentor variabilis*) by DEET. *Exp. Appl. Acarol.*, 82(3): 379-395.
36. 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 Tick Borne Dis.*, 10(3): 515-522.
37. 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.
38. Kulma M., Kopecký O., Bubová T. (2019): Nymphs of *Ixodes ricinus* Are More Sensitive to Deet Than Adult Females. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 35(4): 279-284.
39. 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.
40. Lazić A. (2022): Repelentno delovanje IR3535 na mužjake *Ixodes ricinus*. Diplomski rad, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
41. Lindgren E., Gustafson R. (2001): Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet*, 358: 16-18.
42. Medlock J.M., Hansford K.M., Bormane A., Derdakova M., Estrada-Peña A., George J.-C., Golovljova I., Jaenson T.G.T., Jensen J.-K., Jensen P.M., Kazimirova M., Oteo J.A., Papa A., Pfister K., Plantard O., Randolph S.E., Rizzoli A., Santos-Silva M.M., Sprong H., Vial L., Hendrickx G., Zeller H., Van Bortel W. (2013): Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites Vectors*, 6: 1
43. Mejlou H.A., Jaenson T.G. (1997): Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 21(12): 747-754.

44. Millet I., Ragionieri M., Tomassone L., Trentin C., Mannelli A. (2019): Assessment of the Exposure of People to Questing Ticks Carrying Agents of Zoonoses in Aosta Valley, Italy. *Vet. Sci.*, 6.
45. Milutinović M., Radulović Ž., Tomanović S., Petrović Z. (2012): *Krpelji (Acari: Ixodidae, Argasidae) Srbije*. Srpska Akademija nauka i umetnosti, Beograd.
46. Moore S.J., Debboun M. (2007): *History of insect repellents*. У: Debboun M., Frances S., Strickman D. (Eds.), *Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses*. CRC Press, Boca Raton, pp. 3–29.
47. Mount G.A., Snoddy E.L. (1983): Pressurized sprays of permethrin and deet on clothing for personal protection against the lone star tick and the American dog tick (Acari: Ixodidae). *J. Econ. Entomol.*, 76: 529-531.
48. Ogawa K., Komagata O., Hayashi T., Itokawa K., Morikawa S., Sawabe K., Tomita T. (2016): Field and Laboratory Evaluations of the Efficacy of DEET Repellent against *Ixodes* Ticks. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 69(2): 131-134.
49. Pages F., Dautel H., Duvallet G., Kahl O., de Gentile L., Boulanger N. (2014): Tick repellents for human use: prevention of tick bites and tick-borne diseases. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 14(2): 85-93.
50. Parola P., Paddock C.D., Socolovski C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.E., Raoult D. (2013): Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.*, 26: 657-702.
51. 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.
52. 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 Novom Sadu, Novi Sad.
53. Piesman J., Eisen L. (2008): Prevention of tick-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.*, 53: 323-343.
54. Proniuk S., Liederer B.M., Dixon S.E., Rein J.A., Kallen M.A., Blanchard J. (2002): Topical formulation studies with DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide) and cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.*, 91(1): 101-110.
55. Ramirez G.I.J., Logan J.G., Loza-Reyes E., Stashenko E., Moores G.D. (2012): Repellents inhibit P450 enzymes in *Stegomyia (Aedes) aegypti*. *PLoS One*, 7: e48698.

56. Randolph S. E. (2009). Tick-borne encephalitis: Risk modeling and climate change. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166(1), 174-183.
57. Renthal 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.
58. Růžek D., Yakimenko V.V., Karan L.S., Tkachev S.E. (2010): Omsk haemorrhagic fever. *Lancet.*, 376: 2104-2113.
59. Schreck C.E., Snoddy E.L., Spielman A. (1986): Pressurized sprays of permethrin or deet on military clothing for personal protection against *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 23: 396-399.
60. Semmler M., Abdel-Ghaffar F., Al-Rasheid K.A., 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.
61. Soares S.F., Braga R.S., Ferreira L.L., Louly C.C.B., Sousa L.A.D., Silva A.C., Borges L.M.F. (2010): Repellent activity of DEET against *Amblyomma cajenense* (Acari: Ixodidae) nymphs submitted to different laboratory bioassays. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 19: 12-17
62. Solberg V.B., Klein T.A., McPherson K.R. (1995): Field evaluation of deet and a piperidine repellent (AI3-37220) against *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 32: 870-875.
63. Sonenshine D.E., Roe R.M. (2013): *Biology of Ticks, vol. 1*. Oxford University Press. UK.
64. Spach D.H., Liles W.C., Campbell G.L., Quick R.E., Anderson D.E., Fritsche T.R. (1993): Tick-borne diseases in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 329: 936-947.
65. Springer A., Glass A., Probst J., Strube C. (2021): Tick-borne zoonoses and commonly used diagnostic methods in human and veterinary medicine. *Parasitol Res.*, 120(12): 4075-4090.
66. Stark J.H., Pilz A., Jodar L., Moiši J.C. (2023): The Epidemiology of Lyme Borreliosis in Europe: An Updated Review on a Growing Public Health Issue. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 23(4): 139-141.

67. 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.
68. Thorsell W., Mikiver A., Tunón H. (2006): Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phytomedicine*, 13 (1-2): 132-134.
69. 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.
70. 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(4): 257-261.
71. Vandekerckhove O., De Buck E., Van Wijngaerden E. (2021): Lyme disease in Western Europe: an emerging problem? A systematic review. *Acta Clinica Belgica*, 76(3): 244-252.
72. Vukša P., Šestović M. (2003). Fungicides and zoocides for seed treatment. *Biljni lekar*, 31(6): 652-671.
73. 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

СПИСАК СЛИКА СА ИЗВОРИМА ОДАКЛЕ СУ ПРЕУЗЕТЕ:

- Слика 1. *Ixodes ricinus* (извор: <https://pixabay.com>)
- Слика 2. Распрострањеност *Ixodes ricinus* (извор: www.ecdc.europa.eu)
- Слика 3. Халеров орган код *Ixodes ricinus* (извор: www.flickr.com)
- Слика 4. Женка *Ixodes ricinus* (извор: Springer и сар., 2021)
- Слика 5. Мужјак *Ixodes ricinus* (извор: Springer и сар., 2021)
- Слика 6. Животни циклус *Ixodes ricinus* (извор: www.researchgate.net/figure)
- Слика 7. Структурна формула ДЕЕТ (N,N-diethyl-meta-toluamid) (извор: <https://sr.wikipedia.org/wiki/N,N-Diethyl-meta-toluamid>)
- Слика 8. Приказ зона на филтер хартији у петри посудама које су коришћене у тестовима (извор: Lazić, 2022)
- Слика 9. Микроскопски приказ врсте *Dermacentor variabilis* након контактеног излагања 75% ДЕЕТ-у. Присуство секрета уочено је у пределу скуталних пора (а, б) и усног апарата (с, д). Ови секретни нису забележени код контролних јединки изложених етанолу (извор: Koloski и сар., 2020)

СПИСАК ТАБЕЛА

- Табела 1. Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ДЕЕТ (25%) експонирањем нимфи крпеља врсте *I. ricinus* у петри посудама
- Табела 2. Репелентна ефикасност препарата (Е%) на бази активне материје ДЕЕТ (25%) експонирањем нимфи крпеља врсте *I. ricinus* на подлактици испитивача

СПИСАК ГРАФИКА

- График 1. Просечна репелентност (%) током огледа са петри посудама
- График 2. Просечна репелентност (%) током огледа на испитивачима