

(19) **DANMARK**

(10) **DK 179072 B1**



(12) **PATENTSKRIFT**

Patent- og
Varemærkestyrelsen

-
- (51) Int.Cl.: **A 01 N 47/34 (2006.01)** **A 01 P 7/04 (2006.01)** **A 61 K 31/17 (2006.01)**
A 61 P 33/14 (2006.01)
- (21) Ansøgningsnummer: **PA 2013 00268**
- (22) Indleveringsdato: **2013-05-07**
- (24) Løbedag: **2013-05-07**
- (41) Alm. tilgængelig: **2013-11-09**
- (45) Patentets meddelelse bkg. den: **2017-10-09**
- (30) Prioritet: **2012-05-08 EP 12167101.0**
- (73) Patenthaver: **Novartis Tiergesundheit AG, Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel, Schweiz**
- (72) Opfinder: **David Blaser, Novartis Animal Health Inc., Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel, Schweiz**
Jacques Bouvier, c/o Novartis Centre de Recherche Santé Animale SA, Route de la petite Glâne, CH-1566 St-Aubin, Schweiz
Martin Fink, c/o Novartis Pharma AG, Lichtstrasse 35, CH- 4056 Basel, Schweiz
John Gerard Mchenery, C/O Novartis Animal Vaccines Limited, 4 Warner Drive Springwood Industrial Estate, GB-Braintree, Essex CM7 YM, Storbritannien
Steve Nanchen, Novartis Animal Health Inc., Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel, Schweiz
- (74) Fuldmægtig: **Budde Schou A/S, Hausergade 3, 1128 København K, Danmark**
- (54) Benævnelse: **Ny Behandling**
- (56) Fremdragne publikationer:
EP A2 1759692
WO A2 9963824
- (57) Sammendrag:
Den foreliggende opfindelse angår anvendelsen af lufenuron til bekæmpelse af fiskelus i en fiskebestand, ved hvilken lufenuron gives i foder til fiskebestanden i overensstemmelse med en særlig forskrift som skitseret i beskrivelsen og kravene. Fremgangsmåden er særlig egnet til behandling af laks og tilvejebringer langvarig effektiv beskyttelse mod fiskelus i havet.

Den foreliggende opfindelse angår bekæmpelse af angreb af fiskelus, f.eks. *Lepeophtheirus salmonis*, *Caligus elongatus* og *Caligus rogercresseyi*, i fiskefarme, herunder anvendelsen af den kendte chitinsynteseinhibitor lufenuron i form af et særligt præparat og i overensstemmelse med en særlig behandlingsplan.

5

Grundlaget for fiskelusebekæmpelse i kommercielle laksefiskefarme er stort set stadig en behandling med kemikalier, såsom organophosphater, syntetiske pyrethroider, chitinsynteseinhibitorer, hydrogenperoxid eller makrocycliske lactoner, såsom emamectinbenzoat. Udvikling af resistens hos fiskelus over for kommercielle
10 produkter, der indeholder forbindelser fra de nævnte stofklasser, frembyder en stor trussel mod fiskeindustrien; på den ene side kan der anvendes højere doser af forbindelserne, hvilket fremskynder problemet med udvikling af resistens og desuden har muligheden for at skabe problemer med miljøtoksikologi. På denne anden side er der en desperat søgning efter nye kemikalier og behandlingsplaner med dem.

15

WO 99/063824 omtaler anvendelsen af lufenuron, som hører til stofklassen benzoylurinstoffer, ved bekæmpelsen af fiskeluseangreb. Lufenuron foreslås udelukkende til behandling som injektionsmiddel, og der berettes om beskyttelse mod fiskeluseangreb i 128 dage efter injektionen. Ikke desto mindre er intet kommercielt
20 lufenuronprodukt blevet frigivet af flere grunde. For det første anses injektion af et stort antal fisk til havs som meget besværligt for farmpersonalet og giver desuden fiskene meget stress. Desuden anses 4 måneders effektiv fiskelusebekæmpelse ikke længere som tilstrækkelig, da hele lakseudviklingens cyklus varer fra 18 måneder til ca. 47 måneder, idet en indledende fase foregår i ferskvand, og en efterfølgende fase, der
25 f.eks. varer fra 6 til 23 måneder, foregår i havvand med udsættelse for fiskelus.

Overraskende har det nu vist sig, at der kan opnås en meget langvarig og bekvem bekæmpelse af fiskelus, der angriber fisk og især laks, ved behandling af fisk med lufenuron i foderet inden overførsel til havet, eller medens fisken er i havet.

30

Ifølge ét aspekt af den foreliggende opfindelse foreskrives lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ved bekæmpelse af fiskelus i en fiskebestand ved oral indgivelse, hvor den samlede påførte mængde lufenuron ligger fra 7 til 350 mg/kg fiskebiomasse.

35

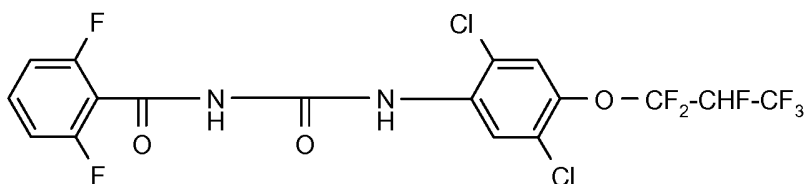
Ifølge et yderligere aspekt af opfindelsen foreskrives lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ved bekæmpelse af fiskelus i en fiskebestand ved oral indgivelse af en daglig dosis på 1 til 30 mg lufenuron/kg fiskebiomasse i et tidsrum fra 3 til 14 dage, hvor den samlede påførte mængde lufenuron i det tidsrum ligger fra 7 til 350 mg/kg fiskebiomasse.

Den foreliggende opfindelse angår ifølge et yderligere aspekt en fremgangsmåde til bekæmpelse af fiskelus i en fiskebestand, som omfatter tilførsel af lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til fiskebestanden i en daglig dosis på 1 til 30 mg lufenuron/kg fiskebiomasse i et tidsrum på 3 til 14 dage, hvor den samlede påførte mængde lufenuron i det tidsrum ligger fra 7 til 350 mg/kg fiskebiomasse.

Når en behandlingsplan ifølge den foreliggende opfindelsen anvendes, kan terapeutisk effektive lufenuronkoncentrationer i fiskenes blod, filet og skind opnås i mindst 5 måneder (150 dage), hvilket således viser en effektiv beskyttelse af fisken mod fiskelus i et langstrakt tidsrum.

Detaljeret beskrivelse

Lufenuron, *N*-{[2,5-dichlor-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluorpropoxy)phenyl]carbamoyl}-2,6-difluorbenzamid, har den kemiske formel



og kan påføres i fri form eller i form af et veterinært acceptabelt salt. Som følge af et asymmetrisk carbonatom i molekylet findes der to enantiomere. Inden for den foreliggende opfindelse foretrækkes anvendelsen af lufenuron i form af den racemiske blanding af de to enantiomere. Desuden kan racemisk lufenuron findes i forskellige polymorfe former, f.eks. som polymorf A, B, C eller D. Inden for den foreliggende opfindelse foretrækkes anvendelsen af den termodynamisk mest stabile polymorfe A.

Ifølge en udførelsesform for opfindelsen angår lufenuronbehandlingen laks og udføres under den indledende ferskvandsfase inden overførsel til havet. Ifølge en yderligere

udførelsesform for opfindelsen angår behandlingen laks og udføres, medens fisken allerede er i havet.

5 Generelt tjener lufenuronbehandlingen ifølge den foreliggende opfindelse til at fjerne, nedbringe eller forebygge, især nedbringe eller forebygge, angreb af fiskelus i en fiskebestand. Fortrinsvis finder behandlingen sted, inden fisken er blevet angrebet med fiskelus og er modnet. Med hensyn til lufenuronbehandling af laks udføres behandlingen fortrinsvis ved slutningen af ferskvandsfasen eller ved begyndelsen af havvandsfasen.

10

Det samlede tidsrum for behandling af fiskelus er f.eks. fra 3 til 14 dage, fortrinsvis fra 5 til 14 dage, mere foretrukket fra 5 til 10 dage og især i 7 dage (1 uge). I hele behandlingstiden udføres tilførsel af lufenuron, f.eks. dagligt eller én gang hver anden dag, især dagligt.

15

Den samlede mængde lufenuron, der påføres under behandlingen, ligger fortrinsvis fra 14 til 175 mg/kg fiskebiomasse, mere foretrukket fra 20 til 140 mg/kg fiskebiomasse, endnu mere foretrukket fra 20 til 105 mg/kg fiskebiomasse og især fra 20 til 84 mg/kg fiskebiomasse. Ifølge en yderligere foretrukken udførelsesform for opfindelsen ligger
20 den samlede mængde lufenuron, der påføres under behandlingen, fra 7 til 175 mg/kg fiskebiomasse, fortrinsvis fra 7 til 140 mg/kg fiskebiomasse, mere foretrukket fra 7 til 105 mg/kg fiskebiomasse og især fra 7 til 70 mg/kg fiskebiomasse.

Ifølge en foretrukken udførelsesform for opfindelsen indgives lufenuron dagligt i et
25 tidsrum på 3 til 14 dage, fortrinsvis 5 til 14 dage, mere foretrukket 5 til 10 dage og især 7 dage (1 uge), hvor den daglige dosis ligger fra 2 til 25 mg/kg fiskebiomasse, f.eks. fra 3 til 20 mg/kg fiskebiomasse, og mere foretrukket fra 3 til 15 mg/kg fiskebiomasse. Én særlig foretrukken behandling omfatter indgivelse af lufenuron i 7 på hinanden følgende dage med en daglig dosis på 3 til 6 mg (samlet mængde 21 til 42 mg/kg
30 fiskebiomasse), især 3 til 5 mg (samlet mængde 21 til 35 mg/kg fiskebiomasse) lufenuron/kg fiskebiomasse. En anden særlig foretrukken behandling omfatter indgivelse af lufenuron i 7 på hinanden følgende dage med en daglig dosis på 6 til 15 mg lufenuron/kg fiskebiomasse (samlet mængde 42 til 105 mg/kg fiskebiomasse) og især 6 til 12 mg lufenuron/kg fiskebiomasse (samlet mængde 42 til 84 mg/kg
35 fiskebiomasse).

- Ifølge en anden foretrukken udførelsesform for opfindelsen indgives lufenuron daglig i et tidsrum på 3 til 14 dage, fortrinsvis 5 til 14 dage, mere foretrukket 5 til 10 dage og især 7 dage (1 uge), hvor den daglige dosis ligger fra 1 til 25 mg/kg fiskebiomasse, fortrinsvis fra 1 til 20 mg/kg fiskebiomasse og mere foretrukket fra 1 til 15 mg/kg fiskebiomasse. Én særlig foretrukken behandling omfatter indgivelse af lufenuron i 7 på hinanden følgende dage med en daglig dosis på 1 til 10 mg (samlet mængde 7 til 70 mg/kg fiskebiomasse), især 1 til 5 mg (samlet mængde 7 til 35 mg/kg fiskebiomasse) lufenuron/kg fiskebiomasse.
- 10 Ifølge en anden udførelsesform for opfindelsen indgives lufenuron én gang hver anden dag i et tidsrum på fortrinsvis 5 til 13 dage, mere foretrukket 5 til 9 dage og især 7 dage. En særlig behandling omfatter behandling af fisken i et tidsrum på 7 dage ved indgivelse af det foder, der omfatter lufenuron, på dag 1, 3, 5 og 7 og tilbageholde ethvert foder dagen før behandlingen og på dag 2, 4 og 6 i behandlingsperioden.
- 15 Lufenuronkoncentrationen indstilles til at sikre, at den samme gennemsnitlige dosis pr. kg fiskebiomasse indgives i hele behandlingsperioden som ved en daglig behandling. Med hensyn til den samlede påførte mængde lufenuron ved denne pulserede behandling gælder de ovenfor givne områder, herunder de foretrukne.
- 20 Som eksempel på en 7-dags behandling med lufenuron på dag 1, 3, 5 og 7 ligger lufenurondosen på hver af de nævnte dage f.eks. fra 2 til 44 mg/kg fiskebiomasse (samlet mængde fra 8 til 176 mg/kg fiskebiomasse), fordelagtigt fra 3 til 44 mg/kg fiskebiomasse (samlet mængde fra 12 til 176 mg/kg fiskebiomasse), fortrinsvis fra 5 til 35 mg/kg fiskebiomasse (samlet mængde fra 20 til 140 mg/kg fiskebiomasse) og
- 25 endnu mere foretrukket fra 5 til 26 mg/kg fiskebiomasse (samlet mængde fra 20 til 104 mg/kg fiskebiomasse).

Lufenuron påføres hensigtsmæssigt i form af et medicinbehandlet fiskefoder. Fiskefoder foreligger typisk i form af granulat eller piller; sædvanlige bestanddele i pillerne eller granulatene er f.eks. fiskemel, fiskeolie, vegetabiliske proteiner, saccharider, såsom typiske mono- eller disaccharider, polysaccharider, såsom mannaner, glucaner eller alginater, og/eller andre typiske excipienser, såsom pigmenter, vitaminer, mineraler, bindemidler og lignende. Et lufenuron-medicinbehandlet fiskefoder kan fremstilles ved indarbejdning af en egnet mængde lufenuron eller et salt deraf i fiskefoderproduktet. Lufenuronet kan indarbejdes i foderblandingen inden pelletering. Imidlertid foretrækkes det at overtrække pillerne

eller granulatet med lufenuron. Eksempelvis overtrækkes kommercielt tilgængelige fiskepiller eller -granulater med lufenuron eller fortrinsvis med en forblanding, der indeholder lufenuron og ét eller flere veterinært acceptable excipienser, såsom en stivelse, brændt kisel (Aerosil®), mikrokrySTALLINSK cellulose, lactose eller lignende.

- 5 Desuden kan et typisk konserveringsmiddel være til stede. Lufenuronkoncentrationen i forblandingen kan vælges inden for et bredt område; eksempelvis har en lufenuronkoncentration fra 0,001 til 90 vægt%, fortrinsvis fra 1 til 50 vægt% og mere foretrukket 5 til 15 vægt%, ifølge en yderligere udførelsesform fra 0,001 til 10 vægt%, fortrinsvis fra 0,05 til 5 vægt% og især fra 0,15 til 2,5 vægt%, i hvert tilfælde på
- 10 grundlag af hele forblandings vægt, vist sig værdifuld. Foderpillerne kan overtrækkes med forblandingen ved en tør dæklagsfremgangsmåde. Hertil sættes forblandingen til pillerne, og den fremkomne blanding omrøres/blandes for at fordele lufenuronet ensartet på pillerne. Ifølge en alternativ dæklagsfremgangsmåde med yderligere oliebehandling sættes fiskeolie eller vegetabilsk olie til produktet fra den
- 15 ovenfor beskrevne tørre dæklagsfremgangsmåde under kontinuerlig blanding, indtil pillerne er fuldstændigt overtrukket. Ifølge endnu en udførelsesform, der kaldes vakuumovertrækningsmetoden, opløses/suspenderes forblandingen først i fiskeolie eller vegetabilsk olie, inden den forstøves på pillerne under vakuum.
- 20 Efter tilsætning af det aktive stof til fiskefoderet omfatter pillerne eller granulatet f.eks. fra 0,0005 til 5 vægt%, fortrinsvis fra 0,001 til 2,5 vægt% og især fra 0,0025 til 1,25 vægt% lufenuron i forhold til fiskefoderets samlede vægt.

- I overensstemmelse med denne opfindelse er lufenuron udmærket egnet til
- 25 bekæmpelse af fiskeparasitiske krebsdyr. Disse omfatter familien Caligidae med de repræsentative slægter *Dissonus*, *Caligus* (dvs. *C. curtus*, *C. elongatus*, *C. clemensi*, *C. rogercresseyi*) og *Lepeophtheirus* (dvs. *L. salmonis*); Familierne Cecropidae, Dichelethiidae, Lernaeopodidae med den repræsentative slægt *Salmincola*; Familierne Pandaridae, Pennellidae med de repræsentative slægter *Lernaeocera* og
- 30 *Pennella*; og Familien Sphyrriidae; Familien Lernaeidae med den repræsentative slægt *Lernaea*; Familierne Bomolochidae, Chondracanthidae, Ergasilidae og Philichthyidae; Familien *Argulidae* med den repræsentative slægt *Argulus* (dvs. *A. foliaceus*).

- Fiskene omfatter spisefisk, moderfisk, akvariefisk, damfisk, flodfisk, bassinfisk af alle
- 35 aldre, der forekommer i ferskvand, havvand og brakvand, f.eks. bars, brasen, karpe, havkat, ørred, skalle, cichlide, torsk, ål, flynder, gourami, stalling, havaborre,

helleflynder, multe, rødspætte, trachinotus, skalle, rudskalle, laks, tunge, stør, tilapia, ørred, tun, helt, makrelfisk.

Lufenuron er særlig egnet til behandling af laks. Udtrykket "laks" skal inden for denne
5 opfindelses omfang forstås som omfattende alle repræsentanter for familien
Salmonidae, især af underfamilien salmoninae og fortrinsvis atlantisk laks (*Salmo
salar*), regnbueørred (*Oncorhynchus mykiss*), ørred eller havørred (*S. trutta*),
kirsebærlaks eller masulaks (*O. masou*), formosa-laks (*O. masou formosanum*),
kongelaks (*O. tshawytscha*), ketalaks (*O. keta*), søvlaks (*O. kisutch*), pukkellaks (*O.*
10 *gorbuscha*), rødlaks (*O. nerka*), kunstigt forplantede arter, såsom *Salmo clarkii*, og
Salvelinus-arter, såsom kildeørred (*S. fontinalis*).

Foretrukne genstande for den foreliggende opfindelse er atlantisk laks, masulaks og
havørred, herunder ørredarter, som holdes i havet, men ikke traditionelt kaldes
15 "havørred".

Når lufenuron påføres i overensstemmelse med en plan ifølge den foreliggende
opfindelse, vil fisken absorbere lufenuronet, således at en terapeutisk effektiv
koncentration af det aktive stof opretholdes i et langstrakt tidsrum, f.eks. i mindst 5
20 måneder, fortrinsvis i mindst 6 måneder og især i mindst 9 måneder. Forsøg har vist,
at fiskenes beskyttelsesperiode mod fiskelus svarer meget godt til de iagttagne
lufenuronniveauer i fiskefileten eller -blodet.

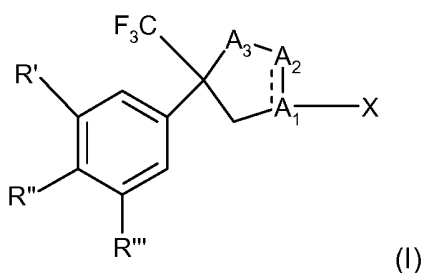
Medens behandlingen med lufenuron alene i overensstemmelse med
25 behandlingsplanen ifølge den foreliggende opfindelse generelt tilvejebringer
fuldstændig beskyttelse mod fiskelus i langstrakte tidsrum, kan behandlingen under
visse omstændigheder forbedres yderligere ved anvendelse af lufenuron i kombination
med enten et andet fiskelusebekæmpelsesmiddel eller en vaccinekomponent, der
indeholder immunforstærkende midler, eller en foderbestanddel, der indeholder
30 immunmodificerende midler. Sådanne kombinationsbehandlinger kan være
nødvendige, når fiskene allerede er blevet angrebet af parasitter, som er modnet før
lufenuronbehandlingen, eller i det tilfælde, at hurtig frigørelse for parasitterne ønskes.

Egnede yderligere fiskelusebekæmpelsesmidler er f.eks. hydrogenperoxid;
35 formaldehyd; et organophosphat, såsom trichlorfon, malathion, dichlorvos eller
azamethiphos; en makrocyclisk lacton, såsom ivermectin, emamectinbenzoat eller

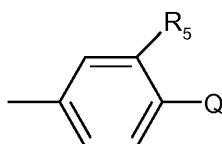
moxidectin; et pyrethroid, såsom cypermethrin, især cypermethrin *cis*-40 : *trans*-60 eller cypermethrin med højt *cis*-indhold, såsom *cis*-80 : *trans*-20, eller deltamethrin; et
 5 neonicotinoid, såsom imidacloprid, nitenpyram, thiamethoxam eller thiacloprid; en spinosyn, såsom spinosad; en insektjuvenilhormonanalogue, såsom epofenonan, tripren, methopren, hydrogren eller kinopren; eller et carbamat, såsom phenoxycarb.

Hvis lufenuron anvendes i kombination med en anden forbindelse, der er aktiv ved bekæmpelse af fiskelus, er kombinationspartneren fortrinsvis et organophosphat, et
 10 pyrethroid, såsom cypermethrin eller deltamethrin, en makrocyclisk lacton, såsom emamectinbenzoat; hydrogenperoxid; eller et neonicotinoid, såsom thiacloprid.

Desuden foretrækkes det at påføre lufenuron i overensstemmelse med en plan ifølge den foreliggende opfindelse i fravær af et yderligere fiskelusebekæmpelsesmiddel valgt fra gruppen bestående af en forbindelse med formlen
 15



herunder alle geometriske isomere og stereoisomere, N-oxider, S-oxider og salte deraf ifølge WO 2011/157733, hvori A_1 , A_2 , A_3 , R' , R'' , R''' og X hver især har den på side 1
 20 og 2 i det nævnte WO 2011/157733 angivne betydning; og især hvori R' , R'' og R''' hver især indbyrdes uafhængigt er hydrogen, halogen, cyano, C_1 - C_2 -alkyl, halogen- C_1 - C_2 -alkyl, C_1 - C_2 -alkoxy eller C_1 - C_2 -halogenalkoxy med det forbehold, at mindst én af R' , R'' og R''' ikke er hydrogen;
 A_1 er C, A_2 er N, A_3 er O, CH_2 eller $NR_{1'}$, og bindingen mellem A_1 og A_2 er en
 25 dobbeltbinding; eller A_1 er N, A_2 og A_3 hver især er CH_2 , og bindingen mellem A_1 og A_2 er en enkeltbinding;
 $R_{1'}$ indbyrdes uafhængigt er som defineret for R_1 nedenfor; og X er
 (a) en gruppe med formlen



hvor R_5 er H, C_1 - C_2 -alkyl, C_1 - C_2 -halogenalkyl, halogen, nitro eller cyano, og Q er

(i) en 5- eller 6-leddet heteroaromatisk ring omfattende 1 til 3 ens eller forskellige heteroatomer valgt fra gruppen bestående af O, S og N; eller er

(ii) en gruppe $-C(O)N(R_1)-T$, hvori R_1 er H, C_1 - C_4 -alkyl, C_2 - C_4 -alkylcarbonyl eller C_2 - C_4 -

5 alkoxycarbonyl, og T er C_1 - C_6 -alkyl, som er usubstitueret eller substitueret med C_3 - C_6 -

cycloalkyl, halogen, cyano, nitro, amino, hydroxy, C_1 - C_6 -alkoxy, C_1 - C_6 -halogenalkoxy,

C_1 - C_6 -alkylthio, C_1 - C_6 -halogenalkylthio, C_1 - C_6 -alkylsulfinyl, C_1 - C_6 -halogenalkylsulfinyl,

C_1 - C_6 -alkylsulfonyl, C_1 - C_6 -halogenalkylsulfonyl, carboxy, carbamoyl, C_1 - C_6 -

alkylcarbonylamino, C_1 - C_6 -halogenalkylcarbonylamino, C_1 - C_6 -alkoxycarbonyl,

10 sulfonamido, N-mono- eller N,N-di- C_1 - C_4 -alkylsulfonamido, C_2 - C_6 -alkanoyl,

usubstitueret eller i alkylidenen med halogen, cyano, ethenyl eller ethynyl substitueret

N- C_1 - C_6 -alkylaminocarbonyl, eller usubstitueret eller halogen-, C_1 - C_2 -alkyl-, C_1 - C_2 -

halogenalkyl eller cyano-substitueret 4- til 6-leddet heterocyclyl; eller T er C_3 - C_6 -

cycloalkyl eller 4- til 6-leddet heterocyclyl, som hver især er usubstitueret eller

15 substitueret med halogen, C_1 - C_2 -alkyl, C_1 - C_2 -halogenalkyl eller cyano; eller er

(iii) en gruppe $-C(O)NH-C=N-O-C_1-C_2$ -alkyl, en gruppe $-C(O)N=C-N$ -di- C_1 - C_2 -alkyl

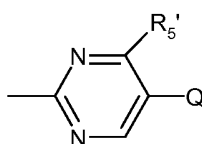
eller en gruppe $-C(O)N=C(NH_2)-O-C_1-C_2$ -alkyl; eller er

(iv) en gruppe $-CH(R_3)-N(R_4)-C(O)-T_1$, hvori R_3 er H, C_1 - C_6 -alkyl, C_1 - C_6 -halogenalkyl,

halogen eller cyano, R_4 er H; C_1 - C_4 -alkyl, C_2 - C_4 -alkylcarbonyl eller C_2 - C_4 -

20 alkoxycarbonyl, og T_1 uafhængigt er defineret som T ovenfor;

(b) en gruppe med formlen

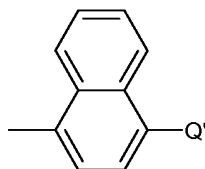


(III),

hvor R_5' er H, C_1 - C_2 -alkyl, C_1 - C_2 -halogenalkyl, halogen, nitro eller cyano, og Q er som

25 defineret ovenfor;

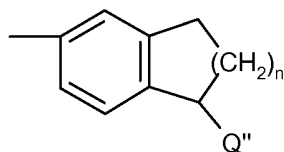
(c) en gruppe med formlen



(IV),

hvor Q' er en gruppe som defineret i udførelsesform (ii), (iii) og (iv) for Q ovenfor; eller

30 (d) en gruppe med formlen



(V),

hvor n er 1 eller 2, og Q'' er en gruppe $-N(R_4)-C(O)-T_2$, hvor T_2 indbyrdes uafhængigt har betydningen for T ovenfor og R_4 er som defineret ovenfor.

5

En egnet kombinationsbeholdning med lufenuron og et andet fiskelusebekæmpelsesmiddel kan eksempelvis udføres ved behandling af fisken, især laksen, indledningsvis med lufenuron i overensstemmelse med fremgangsmåden i foderet og systemet som beskrevet ovenfor og derefter i f.eks. 3 måneder, fortrinsvis 5 måneder, mere foretrukket 6 måneder og især 9 måneder efter afslutning af behandlingen med lufenuron i foderet at udføre en blanding med det yderligere fiskelusebekæmpelsesmiddel; den anden behandling kan være en badbehandling, en behandling i foderet eller fortrinsvis en behandling ved injektion af det yderligere fiskelusebekæmpelsesmiddel i fisken. I overensstemmelse med en foretrukket udførelsesform for denne kombinationsbehandling foregår denne behandling med lufenuron i foderet ved slutningen af ferskvandsfasen i lakseudviklingen eller ved begyndelsen af deres havvandsfase.

En yderligere kombinationsbehandling omfatter først og fremmest behandling af fisken, især laksen, med det yderligere fiskelusebekæmpelsesmiddel og derefter, f.eks. 1 time til 2 måneder derefter, fortrinsvis 1 time til 1 måned derefter eller især 1 uge til 1 måned derefter at udføre en behandling med lufenuron i foderet i overensstemmelse med den foreliggende opfindelse som beskrevet ovenfor. Ifølge en foretrukket udførelsesform for denne kombinationsbehandling er behandlingen med det yderligere fiskelusebekæmpelsesmiddel en badbehandling, en behandling i foderet eller en injektionsbehandling, som foregår ved begyndelsen af havvandsfasen, f.eks. 1 time til 3 måneder, fortrinsvis 6 timer til 2 måneder og især 12 timer til 1 måned efter frigivelsen af fisken til havvand.

Ifølge en yderligere udførelsesform for opfindelsen kombineres behandlingen med lufenuron i foderet med en vaccination af fisken mod typiske bakterie- eller virusinfektioner. Typiske bakteriesygdomme, der skal behandles ved vaccination, er f.eks. vibrose, furunculose, sårsygdomme, atypisk aeromonas salmonicida, fiskerickettsiose eller ERM/yersiniose. Eksempler på virussygdomme, der skal

30

behandles, er pankreassygdom/PDV, smitsom pankreatisk nekrose/IPNV eller smitsom lakseanæmi/ISAV. Vaccinen påføres generelt med et bad eller ved behandling i foderet eller fortrinsvis ved injektion. Vaccinationen kan foregå enten kort før, under eller efter behandlingen af fisken med lufenuron i foderet.

5

Ifølge endnu en udførelsesform for opfindelsen kombineres behandlingen med lufenuron i foderet med en foderbestanddel, som har modulerende virkning på fiskens biologi, fysiologi, biokemi og især immunologi. Typiske funktioner kan være forøget afsondring af slim eller ændringer i slimens egenskaber, således at parasiternes udsættelse for lufenuron forøges, eller de lus, der udsættes for lufenuron, er mindre i stand til at hæfte sig til den behandlede fisk. Anvendelsen af den modulerende foderbestanddel kan finde sted over langstrakte tidsrum i fiskens produktionscyklus eller kan finde sted før, under eller efter behandlingen med lufenuron. Eksempler på sådanne modulerende bestanddele er glucaner, mannaner eller alginater, enten anvendt alene eller i kombination med vitaminer og/eller mineraler.

10
15

De følgende eksempler illustrerer opfindelsen yderligere.

Eksempel 1

Tre grupper på 150 laks (atlantisk laks, *S. salar*) med en gennemsnitsvægt på 238 g behandlede med medicinbehandlede piller, der indeholdt lufenuron i en dosis på hhv. 3, 5 og 10 mg/kg/dag, i 7 på hinanden følgende dage. De medicinbehandlede piller fremstilledes ved tørbelægning af kommercielt tilgængelige fiskepiller med en lufenuronholdig forblanding til at nå et indhold på 0,03, 0,05 og 0,1 vægt% lufenuron i fiskefoderet og blev indgivet med 1% i forhold til foderet. Behandlingen udførtes i havvand.

20
25

Hver gruppe holdtes i et særskilt bur. Et fjerde bur, der indeholdt 150 laks med en gennemsnitsvægt på 238 g, føjedes til undersøgelsen som ubehandlet kontrolgruppe.

30

Efter behandlingen udsattes fiskene for naturligt fiskeluseangreb i et tidsrum på 9 måneder. Under undersøgelsen varierede vandtemperaturen mellem 4 og 12°C. Fiskenes vægt og antallet af fiskelus bedømtes 1 dag efter behandlingen, 1 uge efter behandlingen og derefter månedligt indtil måned 9. Tællinger udførtes på 10 fisk i hver prøvegruppe. Antallet af chalimus, unge og voksne hanlige, mobile og modne hunlige

35

L. salmonis registreredes for hver fisk. Der skelnedes ikke mellem chalimusstadierne I-IV eller mellem unge og voksne stadier for hanner.

Virkingen beregnedes med formlen:

$$5 \quad \% \text{ virkning} = 100 - (100 \times \text{gennemsnit for behandlingsgruppen} / \text{gennemsnit for kontrol}).$$

Som vist i tabel 1 beskyttede behandlingen med 3 mg/kg fiskene mod fiskeluseangreb indtil 5 måneder efter behandlingen. Chalimus og unge stadier bekæmpedes, og
10 hindrede atter en ophobning af voksne stadier. Ved måned 6 faldt virkingen mod unge lus til under virkingen for doseringerne 5 mg/kg/dag og 10 mg/kg/dag.

Tabel 1: Gennemsnitlige antal *L. salmonis* for gruppen med 3 mg/kg

Gruppe 3 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Tid	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
1 dag	263	0,10	0,10	0,10	0,00	n/a
1 uge	283	0,10	0,40	0,10	0,00	n/a
1 måned	409	0,00	1,00	0,00	1,00	100
2 måneder	600	0,30	2,90	0,10	1,90	95
3 måneder	915	0,20	3,10	0,10	2,20	95
4 måneder	n/a	0,00	2,50	0,00	2,40	100
5 måneder	1410	0,10	3,60	0,10	3,60	97
6 måneder	1797	1,30	2,60	1,30	2,60	50

15 Som vist i tabel 2 beskyttede behandlingen med 5 mg/kg fiskene mod fiskeluseangreb indtil 9 måneder efter behandlingen. Chalimus og unge og voksne stadier bekæmpedes.

Tabel 2: Gennemsnitlige antal *L. salmonis* for gruppen med 5 mg/kg

Gruppe 5 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Tid	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
1 dag	253	0,00	0,10	0,00	0,00	n/a
1 uge	294	0,00	0,40	0,00	0,00	n/a
1 måned	407	1,90	1,00	0,10	1,00	90
2 måneder	701	0,00	2,90	0,00	1,90	100
3 måneder	1000	0,20	3,10	0,20	2,20	91
4 måneder	1241	0,10	2,50	0,10	2,40	96
5 måneder	1593	0,10	3,60	0,10	3,60	97
6 måneder	1655	0,60	2,60	0,60	2,60	77
7 måneder	1995	1,80	5,30	0,60	5,10	88
8 måneder	1980	0,50	5,40	0,50	5,10	90
9 måneder	2290	0,40	6,80	0,40	6,80	94

- Som vist i tabel 3 beskyttede behandlingen med 10 mg/kg fiskene mod fiskeluseangreb indtil slutningen af undersøgelsen, hvilket var 9 måneder efter
- 5 behandlingen. Chalimus, unge og voksne stadier bekæmpedes. Virkningen på gruppen med 10 mg/kg var overlegen i forhold til gruppen med 5 mg/kg, da virkningen mod fiskelus på alle tidspunkter var højere end 95%.

Tabel 3: Gennemsnitlige antal *L. salmonis* for gruppen med 10 mg/kg

Gruppe 10 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Tid	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
1 dag	256	0,00	0,10	0,00	0,00	n/a
1 uge	296	0,20	0,40	0,00	0,00	n/a
1 måned	423	3,10	1,00	0,00	1,00	100
2 måneder	644	0,00	2,90	0,00	1,90	100
3 måneder	974	0,10	3,10	0,10	2,20	95
4 måneder	1161	0,00	2,50	0,00	2,40	100
5 måneder	1440	0,00	3,60	0,00	3,60	100
6 måneder	1628	0,30	2,60	0,10	2,60	96
7 måneder	1905	0,80	5,30	0,10	5,10	98
8 måneder	2091	0,10	5,40	0,10	5,10	98
9 måneder	2065	0,00	6,80	0,00	6,80	100

Eksempel 2

Tre grupper på 400 atlantiske laks (*Salmo salar*) med en gennemsnitsvægt på 80 g behandles med medicinbehandlede piller, der indeholdt lufenuron, til at afgive doser, som var ækvivalente med 1, 5 og 10 mg/kg/dag, i 7 på hinanden følgende dage. En fjerde gruppe, der indeholdt 400 laks med en gennemsnitsvægt på 80 g, tilføjedes til undersøgelsen som en ubehandlet kontrolgruppe. De medicinbehandlede piller fremstilledes ved overtrækning af kommercielt tilgængelige fiskefoderpiller med lufenuronholdig forblanding for at nå et indhold på 0,005, 0,025 og 0,05 vægt% lufenuron i fiskefoderet. Grupperne fordeltes tilfældigt, og fodernes identitet skjultes for stedets personale. Behandlingen udførtes i en ferskvandsudklækningsanstalt, og fiskene overførtes til havvand inden for 7 dage efter afsluttet behandling.

Ved overførslen til havvand opdelttes hver gruppe i to bure, og alle burgrupper holdtes i særskilte randomiserede bure.

15

Efter behandlingen udsattes fiskene for naturligt fiskeluseangreb. Under undersøgelsen varierede temperaturen mellem 1,9 og 8,1°C. Fiskenes vægte bedømtes ved allokeringen i burene, igen ca. 2 uger efter overførsel til havvand og derpå med 4 ugentlige intervaller. Antallet af fiskelus bedømtes ca. 2 uger efter overførsel til havvand og derpå med 4 ugers intervaller. Antallet af chalimus, unge og voksne hanlige, mobile og modne hunlige *L. salmonis* registreredes for hver fisk. Der gjordes ingen forskel mellem chalimusstadierne I-IV eller mellem unge og voksne stadier for hanner. Det samlede antal *Caligus elongatus* registreredes også, men intet signifikant angreb blev fastslået, som kunne muliggøre en bedømmelse af virkningen.

25

Virksomheden beregnes med formlen:
$$\% \text{ virkning} = 100 - (100 \times \text{gennemsnit for behandlingsgruppen} / \text{gennemsnit for kontrol}).$$

Tabel 4: Antal *L. salmonis* på gruppen med 1 mg/kg

Gruppe 1 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Dage efter overførsel til havet	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
5	109					
15	98	0	0,4	0	0,25	100
42	135	0	1,25	0	0,9	100
76	196	0,1	2,7	0,1	2,65	96,2
98	258	0,8	4,15	0,45	2,8	83,9
125	303	0,4	4,9	0,3	4,25	92,9
154	358	0,3	4,2	0,3	4,15	92,8

Som vist i tabel 4 kan det konkluderes, at behandlingen med 1 mg/kg beskyttede fisken mod fiskeluseangreb indtil mindst 5 måneder efter behandlingen med ca. 90%
5 virkning. Chalimus, unge og voksne stadier bekæmpedes.

Tabel 5: Antal *L. salmonis* på gruppen med 5 mg/kg

Gruppe 5 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Dage efter overførsel til havet	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
5	106					
15	107	0,1	0,4	0	0,25	100
76	201	0	2,7	0	2,65	100
98	277	0,1	4,15	0,1	2,8	96,4
125	318	0	4,9	0	4,25	100
154	371	0	4,2	0	4,15	100

Som vist i tabel 5 kan det konkluderes, at behandlingen med 5 mg/kg beskyttede
10 fiskene mod fiskeluseangreb indtil 5 måneder efter behandlingen. Undersøgelsen fortsætter. Det er muligt, at beskyttelsen vil vare længere. Chalimus, unge og voksne stadier bekæmpedes.

Table 6: Antal *L. salmonis* på gruppen med 10 mg/kg

Gruppe 10 mg/kg		<i>L. salmonis</i> : alle stadier		<i>L. salmonis</i> : unge & voksne		
Dage efter overførsel til havet	Vægt [g]	Behandlet	Kontrol	Behandlet	Kontrol	Virkning %
5	110					
15	115	0,5	0,4	0	0,25	100
76	208	0	2,7	0	2,65	100
98	291	0	4,15	0	2,8	100
125	316	0	4,9	0	4,25	100
154	384	0	4,2	0	4,15	100

Som vist i tabel 6 kan det konkluderes, at behandlingen med 10 mg/kg beskyttede fiskene mod fiskeluseangreb indtil 5 måneder efter behandlingen. Undersøgelsen fortsætter. Det er muligt, at beskyttelsen vil vare længere. Chalimus, unge og voksne stadier bekæmpedes.

PA 2013 00268

146707

16

PATENTKRAV

1. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ved bekæmpelse af fiskelus i en fiskebestand ved oral indgivelse af en daglig dosis på 1 til 30 mg lufenuron/kg fiskebiomasse i et tidsrum på 3 til 14 dage, hvor den samlede påførte mængde lufenuron i det tidsrum ligger fra 7 til 350 mg/kg fiskebiomasse.
2. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge krav 1, ved hvilken den orale indgivelse omfatter indgivelse af et medicinbehandlet fiskefoder, der omfatter lufenuron, til fiskebestanden.
3. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge et hvilket som helst af kravene 1 eller 2, ved hvilken lufenuron indgives dagligt til fiskebestanden i 5 til 10 dage.
4. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge krav 3, ved hvilken lufenuronet indgives dagligt til fiskebestanden i 7 dage.
5. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge et hvilket som helst af kravene 1 til 4, ved hvilken lufenuron indgives til fiskebestanden i en daglig dosis fra 1 til 20 mg/kg fiskebiomasse.
6. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge krav 5, ved hvilken lufenuron indgives til fiskebestanden i en daglig dosis fra 1 til 15 mg/kg fiskebiomasse.
7. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge et hvilket som helst af kravene 1 eller 2, ved hvilken lufenuron indgives dagligt til fiskebestanden i 7 dage i en dosis fra 1 til 10 mg/kg fiskebiomasse.
8. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge et hvilket som helst af kravene 2 til 7, ved hvilken det medicinbehandlede fiskefoder foreligger i form af fiskefodergranulat eller -piller, som er overtrukket med lufenuron.
9. Lufenuron eller et veterinært acceptabelt salt deraf til anvendelse ifølge et hvilket som helst af kravene 1 til 8, ved hvilken fiskebestanden omfatter laks.

NYHEDSUNDERSØGELSESRAPPORT - PATENT		Ansøgningsnummer PA 2013 00268
1. <input type="checkbox"/> Ikke-søgbare krav (se boks nr. I).		
2. <input type="checkbox"/> Opfinderisk enhed mangler før nyhedsundersøgelsen (se boks nr. II).		
A. KLASSIFIKATION A 01 N 47/34 (2006.01); A 01 P 7/04 (2006.01); A 61 K 31/17 (2006.01); A 61 P 33/14 (2006.01) Ifølge International Patent Classification (IPC)		
B. UNDERSØGELSESMOMRÅDE		
PCT-minimumsdokumentation undersøgt (klassifikationssystem efterfulgt af klassifikationssymboler) Søgerapport for WO 2013/167640 er anvendt, se denne for detaljer		
Undersøgt dokumentation ud over PCT-minimum		
Anvendte elektroniske databaser (navnet på database og evt. søgetermer) Søgerapport for WO 2013/167640 er anvendt, se denne for detaljer		
C. RELEVANTE DOKUMENTER		
Kategori*	Citerede dokumenter evt. med angivelse af relevante afsnit	Relevant for krav nr.
X	EP 1759692 A2 (NOVARTIS AG) 7. marts 2007 Se paragrafferne [0011], [0021], [0023], [0037-0043], [0049], [0055-0058]	13-14
Y	WO 9963824 A2 (ALPHARMA AS) 16. december 1999 Se side 9, linje 1-10; side 19, linje 20-22; eksempel 6	1-12
Y	GRANT A N, "Medicines for sea lice", PEST MANAGEMENT SCIENCE, 2002, vol. 58, sider 521-527 Se side 524, afsnit 3.5	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Yderligere dokumenter er listet i fortsættelse af Box C.		
*	Kategori af citerede dokumenter:	"P" Dokument, der er publiceret i perioden mellem prioritets- og indleveringsdatoen.
"A"	Dokument, der repræsenterer den kendte teknik (teknikkens stadi) uden at foregribe nyhed eller væsentlig adskillelse.	"T" Dokument, som ikke er i konflikt med ansøgningen, men som er citeret for at forstå det grundlæggende princip eller teorien bag opfindelsen.
"D"	Dokument citeret i ansøgningen.	"X" Særlig relevant dokument; opfindelsen har ikke nyhed eller adskiller sig ikke væsentligt fra kendt teknik, når dokumentet vurderes alene.
"E"	Dokument, der har indleverings- eller prioritetsdato, der ligger før indleveringsdatoen for den behandlede ansøgning, men som er offentliggjort senere end indleveringsdatoen.	"Y" Særlig relevant dokument; opfindelsen adskiller sig ikke væsentligt fra kendt teknik, når dokumentet kombineres med ét eller flere dokumenter af samme art, og kombinationen af disse er nærliggende for fagmanden.
"L"	Dokument, som kan kaste tvivl over et påstået prioritetskrav, eller som citeres for at fastlægge offentliggørelsesdatoen for et andet dokument, eller citeret af andre årsager (som specificeret).	"&" Dokument i samme patentfamilie.
"O"	Dokument, der omhandler ikke-skriftlig offentliggørelse, fx foredrag, udstillinger eller film.	
Patent- og Varemærkestyrelsen Helgeshøj Allé 81 2630 Taastrup		Dato for færdiggørelsen af nyhedsundersøgelsen 9. februar 2016
Telefon nr. +45 4350 8000 Fax nr. +45 4350 8001		Nyhedsundersøgelsen er udført af Line Sørensen Telefon nr. +45 4350 8058

NYHEDSUNDERSØGELSESRAPPORT - PATENT		Ansøgningsnummer PA 2013 00268
C (Fortsættelse). RELEVANTE DOKUMENTER		
Kategori*	Citerede dokumenter med angivelse af relevante afsnit	Relevant for krav nr.
Y	<p>EMA: "Diflubenzuron", November 1998, sider 1-8 Hentet på Internettet 8. februar 2016: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500013852.pdf Se side 1, første og andet afsnit</p>	1-12

Boks nr. I Ikke-søgbare krav

Nyhedsundersøgelsen er ikke udført for følgende krav:

1. Krav nr.:
fordi indholdet af det/de krav ikke anses for at angå en opfindelse:

2. Krav nr.:
fordi en meningsfyldt undersøgelse ikke kan foretages, nemlig:

3. Krav nr.:
af andre grunde:

Boks nr. II Opfinderisk enhed mangler før nyhedsundersøgelsen

Der er konstateret flere opfindelser i ansøgningen:

SUPPLERENDE BOKS

Fortsættelse af boks nr. [.]