

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

A2

K I V O N A T

Emamectin alkalmazása halak paraziták elleni kezelésére, és
haltakarmány előállítására szolgáló készlet

A találmány ^{szerinti} ~~(tárgy)~~ eljárás parazita-fertőzések felszámolásá-
ra, mérséklésére vagy megelőzésére ^{szóval} ~~(halpopulációban)~~. ^{Az} ~~(amely)~~ eljá-
rás magában foglalja az emamectin vagy egy sója etetését az em-
lített halpopulációval 25-400 µg/kg hal-biomassza napi dózisban,
naponta, 3-14 napon át. A találmány tárgyához tartozik továbbá
egy készlet ~~egy~~ gyógyszerezett haltakarmány előállításához, ami
parazita-fertőzések felszámolására, mérséklésére vagy megelőzé-
sére szolgál egy halpopulációban, amely készlet emamectint vagy
egy sóját és nyomtatott utasításokat tartalmaz arról, hogy az
emamectint vagy sóját 25-400 µg/kg hal-biomassza napi dózisban,
naponta, 3-14 napon át kell etetni a halpopulációval.

el

02104/17

Emamectin alkalmazása halak paraziták elleni kezelésére és

haltelepítéskor előállítására szolgáló
létesít

A halnyűg-fertőzések, így a *Lepeophtheirus salmonis* (lazacnyűg) és a *Caligus elongatus* elleni védekezésre az árutermelő lazacgazdaságokban ma is főleg vegyszeres kezeléseket alkalmaznak [Roth és munkatársai, *J. Fish Diseases* 16, 1-26 (1993)]. Az ektoparazita evezőlábú rákok (kopepodák) járványszerű fellépéseit jelenleg bemerítéses fürdetéssel, szerves foszforsav-észterek, így diklórfosz (Aquagard[®], Novartis) vagy azametifosz (Salmosan[®], Novartis), hidrogén-peroxid (Salartect[®], Brenntag vagy Paramove[®], Solvay-Interox), vagy szintetikus piretroidok, így cipermetrin (Excis[®], Vericore) vagy deltametrin (Alphamax[®], Alparma) alkalmazásával kezelik. A bemerítéses eljárások azonban nagyon munkaigényesek, költségesek és jelentős stresszt okoznak a halaknak. Ráadásul az ilyen kezelések nem kivitelezhetetlenek a fertőzés helyén és rossz időjárási körülmények között.

A cipermetrin kivételével [Jakobsen és Holm, *Norsk Fiskeoppdrett*, január, 16-18 (1990)] a bemerítő kezelések csak a halnyűgök adult (kifejlett) és preadult (utolsó lárvaállapot) fejlődési alakjai ellen hatásosak, ami lehetőséget ad a chalimus (nauplius) lárváknak a túlélésre és a fertőzési ciklus fenntartására. Emiatt az ilyen kezelések csak akkor ajánlottak, ha a halnyűg-populáció elérte a preadult és adult fejlődési fázist, és gyakran meg kell ismételni azokat a jó eredmény érdekében. A szerves foszforsav-észter diklórfosszal szemben rezisztenciát is megfigyeltek a halnyűgök egyes populációiban [Jones és munkatársai, *J. Fish Diseases* 15, 197-202 (1992)]. A hidrogén-peroxid a

halak kopoltyúját károsíthatja és használatát nyáron korlátozni kell, mert toxicitása a víz hőmérsékletével fokozódik [Thomassen, J.M., in „*Pathogens of Wild and Farmed Salmon: Sea Lice*“ (Boxshall, G. és Defaye, D. eds.), Ellis Horwood Ltd., London, 1993].

A lazactenyésztésben hasznos lenne egy olyan szer, amely a halnyűgök és más paraziták minden fejlődési alakja ellen hatásos, a takarmányban adható be és mentes a fürdetéses kezelésekkel járó hátrányoktól. A takarmányon keresztül történő kezelés megvalósítható rossz időjárásban és a fertőzés helyén, valamint lehetővé teszi az adott helyen lévő összes rekeszték, egy tórendszer összes helye vagy egy egész öböl egyidőben történő kezelését, amivel megelőzhető a keresztbe fertőzés, ami felléphet a fürdetéses kezeléshez szükséges több nap alatt. A takarmányon keresztül végzett kezeléshez jelenleg rovar-növekedésszabályozók, így a diflubenzuron (Lepsidon[®], Ewos) és a teflubenzuron (Calicide[®], Nutreco) állnak rendelkezésre [Erdal, *Fish Farming International* 24, (2) (1997)]. Mivel hatásmechanizmusuk a kitinszintézis gátlása, hatásuk a halnyűgök vedlő fejlődési alakjaira korlátozódik [Horst és Walker, *J. Crustacean Biol.* 15, 401-408 (1996)].

Az avermectinek, amelyeket a *Streptomyces avermilitis* tenyésztésével állítanak elő, igen erős féreg- és rovarölő hatással rendelkeznek. Egy kémiaileg módosított származékukat, az ivermectint (22,23-dihidroavermectin-B₁) 1981 óta világszerte forgalmazzák széles spektrumú antiparazitikumként szarvasmarhák, juhok, lovak és sertések kezelésére [Sutherland, *Acta Leidensia*

59, 211-216 (1990)]. Az ivermectint számos humán parazitózis kezelésére is használják [Ottesen és Campbell, *J. Antimicrob. Chemother.* 34, 195-203 (1994)]. Miután felfedezték a halnyűg rezisztenciáját a foszforsav-észterrel szemben (Jones és munkatársai, *id. közl.*), az ivermectint tartották az alternatív gyógymódnak, amely új hatásmechanizmusa mellett még azzal az előnnyel is rendelkezett, hogy megfelelő volt a takarmányban való alkalmazásra. Noha az ivermectin nem kapta meg az engedélyt a lazacon való rendszeres alkalmazásra, az Egyesült Királyságban az állatorvosok felírhatják az úgynevezett kaszkád-eljárásban való használatra [Anon., *Amelia* No. 7, Veterinary Medicines Directorate (1998)], ha az engedélyezett termékek nem biztosítják a halnyűgfertőzés elleni hatásos fellépést. Az ivermectin számos éven át való használata során tisztázták, hogy bizonyos védő hatása van az általánosan elfogadott, 25 µg/kg biomassa dózisban, hetente kétszer alkalmazva (Rae, *Scottish Salmon Growers Association*, 1996). A 25 µg/kg biomassa értéket meghaladó koncentrációkban azonban az ivermectin toxikus a halakra [Johnson és munkatársai, *Diseases of Aquatic Organisms* 17, 107-112 (1993)].

Az emamectint [4"-dezoxi-4"-epi(metil-amino)-avermectin-B₁] jelenleg élelmiszernövények ültetvényeinek kezelésére használják [Leibee és munkatársai, *Florida Entomologist.* 78, 82-96 (1995)].

A találmány tárgyát egy eljárás képezi parazita-fertőzések felszámolására, mérséklésére vagy megelőzésére egy halpopulációban, amely eljárás magában foglalja az emamectin vagy egy sója etetését az említett halpopulációval 25-400 µg/kg hal-biomassa napi dózisban, naponta, 3-14 napon át.

Találmányunk tárgyához tartozik továbbá egy készlet egy gyógyszerezett haltakarmány előállításához, ami parazita-fertőzések felszámolására, mérséklésére vagy megelőzésére szolgál egy halpopulációban, amely készlet emamectint vagy egy sóját és nyomtatott utasításokat tartalmaz arról, hogy az emamectint vagy sóját 25-400 µg/kg hal-biomassza napi dózisban, naponta, 3-14 napon át kell etetni a halpopulációval.

Az ábrák rövid leírása

1. ábra. Diagramm, amely a halanként talált, különböző (I., II., III. és IV.) fejlődési állapotú chalimus-lárvák átlagos számát tünteti fel a kontroll és az 50 µg/kg napi dózissal kezelt csoportban, a 7. napon (1. példa).

2. ábra. Az 1. ábrának megfelelő diagramm a kezelés 14. napján.

3. ábra. Az 1. ábrának megfelelő diagramm a dózismegerősítő vizsgálat 7. napján.

4. ábra. A 3. ábrának megfelelő diagramm a kezelés 14. napján.

Az emamectin [4"-dezoxi-4"-epi(metil-amino)-avermectin-B₁] az US 5,288,710 vagy 5,399,717 számú szabadalmi iratok leírásai szerint állítható elő, és két homológ, a 4"-dezoxi-4"-epi(metil-amino)-avermectin-B_{1a} és -B_{1b} keveréke. Előnyösen az emamectin egy sóját használjuk. Az emamectinnek találmányunkban használható sóira nem korlátozó példaként említjük az US 5,288,710 számú szabadalmi iratban leírt sókat, köztük a benzooesavval, szubsztituált benzooesavakkal, benzolszulfonsavval, citromsavval, foszforsavval, borkősavval, maleinsavval és hasonlókkal képezett sókat. A találmányunk szerint legelőnyösebben használható emamectin-só az emamectin-benzoát.

Meglepő módon azt tapasztaltuk, hogy az emamectin – ha a találmány szerinti dózis-szinteken és adagolásmóddal használjuk – nem toxikus a halpopulációra. Ez különösen meglepő felfedezés annak tükrében, hogy az ivermectint már viszonylag kis koncentrációban is toxikusnak találták. Mivel az ivermectint a toxicitása miatt nem lehet egymást követő napokon alkalmazni, fennáll az a jelentős veszély, hogy az adott populációból nem minden hal kapja meg a megfelelő adagot az agresszívebben táplálkozó egyedek miatt. Az emamectinnek az a tulajdonsága, hogy legalább néhány napon át folyamatosan adható, lényeges előnyt jelent az ivermectinnel szemben, mert a napokon át folytatott etetés növeli annak valószínűségét, hogy egy adott halpopulációból több hal fogja elfogyasztani.

Az emamectin és sói találmányunk szerint arra használhatók, hogy felszámoljunk vagy csökkentünk velük minden fajta halparazita-fertőzést, akár ekto-, akár endoparaziták okozzák azokat. A felszámolható vagy csökkenthető endoparazitákra példaként említjük a *Platyhelminthes* (Laposférgek) törzs *Trematoda* (Szívóférgek) osztálya *Monogenea* és *Digenea* alosztályába, valamint a *Cestoda* (Galandférgek) osztályába, és a *Nemathelminthes* (Hengeresférgek) törzsének *Nematoda* (Fonalférgek) osztályába tartozó férgeket; illetve protozoonokat a *Myxozoa*, *Microspora*, *Apicomplexa* és *Ciliophora* törzsekből; a felsorolás nem korlátozó. A felszámolható vagy csökkenthető ektoparaziták közé tartoznak – nem kizárólag – az *Arthropoda* (Ízeltlábúak) törzs *Crustacea* (Rákok) osztálya *Copepoda* (Evezőlábú rákok) és *Branchiura* (Haltetvek) alosztályaiba, különösen a *Cyclopoidea* (Kandicsok), *Caligoidea*

(Élősvi evezőlábú rákok) és *Lernaeoidea* (Szívógyökerű evezőlábú rákok) rendekbe tartozó élősködők (különös jelentőségűek az *Argulus*-fajok), valamint az *Isopoda* (Ászkák) rendjébe tartozó paraziták.

A találmány szerinti emamectin-kezelést különösen hatásosnak találtuk a *Copepoda* alosztály *Caligoidea* rendjébe tartozó halnyűgök, speciálisan a *Lepeophtheirus* és *Caligus* nemzetségek fajai ellen.

Bármely édesvízi vagy tengeri halfaj kezelhető emamectinnel a parazita-fertőzések felszámolása vagy csökkentése céljából. A kezelés alá vonható halfajokra nem korlátozó példaként említjük a következőket: lazac, pisztráng, tengeri süllő, tonhal, óriás laposhal, sarki szaibling, tok, nagy rombuszhal, lepényhal, nyelvhal, ponty, szájköltő sügerek, csíkos süllő, harcsa, angolna, tengeri keszeg, érdesfarkú hal, tuskésmakréla, fűrészkes sügér és indiai hering.

A parazita-fertőzés csökkentéséhez, felszámolásához vagy megelőzéséhez szükséges emamectin-dózist egy állatorvos rutinszerűen képes megállapítani, noha az változhat a kezelendő halfajtól, az adott parazitától és a fertőzés súlyosságától függően. Az emamectint vagy egy sóját előnyösen naponta 25-400 µg/kg hal-biomassza, előnyösebben 25-100 µg/kg és legelőnyösebben 50-75 µg/kg hal-biomassza dózisban etetjük a halakkal.

Az emamectin-kezelést naponta alkalmazzuk 3-14 napon át, előnyösen 7-14 napon át, és legelőnyösebben 1 héten keresztül. Meglepetéssel tapasztaltuk, hogy az emamectin a kezelés után 8-10 héten át tartó elnyújtott hatást biztosít. Így tehát az ema-

mectint megelőző kezelésként, a paraziták fellépését megakadályozandó is alkalmazhatjuk.

A találmány szerinti készlet bármilyen formájú lehet, amely alkalmas arra, hogy az emamectint legalább 7 napon át biztosítsa és tartalmazza az írott utasításokat a fent leírt dózisok és adagolásmód betartására. A készletre nem korlátozó példaként említjük a különböző tartályokat (például palackok, dobozok, buborékcsomagolások vagy ampullák), amelyekhez egy, az adagolási utasításokat tartalmazó betét van mellékelve, vagy ahol az adagolási utasítások a tartályra vannak nyomtatva vagy ahhoz erősítve. Az emamectin vagy sója egy premix formájában lehet jelen a készletben, ahol a premix egy vagy több hígítószerrel és 0,01-1 tömeg % emamectint vagy emamectin-sót tartalmaz.

A gyógyszerrel kiegészített haltakarmány úgy állítható elő, hogy a megfelelő mennyiségű emamectint vagy sóját belekeverjük egy kereskedelemben kapható haltakarmányba, hogy a kívánt dózisszintet elérjük. A haltakarmányba belekeverendő emamectin mennyisége attól függ, hogy milyen takarmány-aránnyal etetjük a halakat. Az olyan halak esetében, amelyeknél a takarmány aránya 0,2-0,4 tömeg % naponta a halak biomasszájára vonatkoztatva, a takarmány 0,5-100 mg, előnyösebben 1-50 mg, és legelőnyösebben 5-15 mg emamectint vagy sóját tartalmaz a gyógyszerkezelt takarmány 1 kg-jában.

Bár az emamectint a takarmánykeverékhez adhatjuk még a pelletálás előtt, a gyógyszerkezelt takarmányt előnyösen úgy állítjuk elő, hogy a takarmánypelletet bevonjuk az emamectinnel. A bevont pellet elkészítéséhez előnyös az alábbi összetételű

premix használata:

- a) 0,1-1 tömeg % emamectin vagy sója;
- b) 0,01-2 tömeg % tartósítószer;
- c) 1-4 tömeg % propilénglikol vagy polietilénglikol; és
- d) szükség szerint hígítószer.

A tartósítószer előnyösen 2+3-*terc*-butil-4-metoxi-fenol (butilezett hidroxianizol, BHA). Előnyösen propilénglikolt használunk. A hígítószer bármilyen közönségesen használt hígítószer, például laktóz, maltodextrin, kukoricakeményítő, kalcium-karbonát, mikrokristályos cellulóz, rizspelyva vagy kukoricacsutka lehet. Előnyös hígítószer a maltodextrin, a kukoricakeményítő, vagy ezek keverékei. Egy különösen előnyös premix 0,2 tömeg % emamectin-benzoátot, 0,1 tömeg % BHA-t, 2,5 tömeg % propilénglikolt, 49,8 tömeg % kukoricakeményítőt és szükség szerinti mennyiségű M-100 maltodextrint tartalmaz. A premixet előnyösen egy nagy nyírósebességű granuláló keverőberendezéssel állítjuk elő az alábbi módon. A BHA-t keverés segítségével feloldjuk a propilénglikolban. A keményítőt betöltjük a keverőberendezésbe. A BHA-oldatot keverés közben lassan a keményítőre csorgatjuk. A keverést 20-40 percen át (a cél 30 perc) folytatjuk, hogy a keményítő abszorbeálhassa az oldatot. A keverőüst faláról lekaparjuk a rátapadt anyagot. Egy 20-as csomószámú szitával a keverőüstbe szórjuk a hatóanyagot. A vibrátort bekapcsoljuk és a keverést 10 percen át folytatjuk. Betöltjük a maltodextrint és a vibrálva keverést újabb 10 percen át folytatjuk. Ezután a kész premixet csomagoljuk.

Más megoldásként használhatjuk az alábbi, spirálkeverős el-

járást is. Feloldjuk a BHA-t propilénglikolban. Betöltjük a keményítőt egy kisebb spirálszalagos keverőbe (körülbelül a tétel-méret fele). Beindítjuk a keverőt, és a BHA-oldatot lassan a keményítőre csorgatjuk. Addig keverjük, amíg egynemű nem lesz. Megállítjuk a keverőt és a keveréket 30-60 percen át állni hagyjuk benne. Egy kis mennyiséget (a tétel-térfogat 1-5 %-át) kivesszünk belőle és egy kis síkkeverőbe töltjük. Hozzáadjuk a hatóanyagot és 5 percen át keverjük. A hatóanyagot tartalmazó elegyet a spirálkeverőbe tesszük és 10-30 percen át keverjük. A keveréket kiürítjük a spirálkeverőből és átvezetjük egy aprító malmon a csomók széttörése céljából. A megőrölt anyagot egy másik spirálszalagos keverőbe tesszük. Hozzáadjuk a maltodextrint és 10-30 percen át keverjük, majd csomagoljuk.

A takarmánypelletet száraz vagy olajos eljárással vonhatjuk be a premixszel. A száraz bevonó eljárás során a premixet összekeverjük a pellettel úgy, hogy az egyenletesen eloszoljon a szemek felületén, majd meleg hal- vagy növényi olajat adunk a keverékhez, hogy teljesen bevonja a szemeket. Az olajos bevonó eljárás során a premixet először kis térfogatú, meleg hal- vagy növényi olajjal keverjük össze, ezt keverjük a pellethez, hogy egyenletesen eloszoljon a szemek felszínén, majd további meleg olajat adunk hozzá, amíg a szemek felszíne egyenletesen be nincs vonva.

Az alábbi példák találmányunk bemutatását szolgálják, és nem korlátozzák annak oltalmi körét.

Példák

Három vizsgálatot végeztünk a Insitute of Aquaculture Marine Environmental Research Laboratory-ban (Machrihanish, Skócia). A két évesnél idősebb nemes lazacokat egy betegségmentes tenyészetből szereztük be és a kísérlet helyén akklimatizáltuk.

A halakat az ismétléseknek megfelelő csoportokra osztva műanyag tartályokban tartjuk, amelyek térfogata 0,54 m³. A tartályokat környezeti hőmérsékletű (7-14 °C) és sótartalmú (3,0-3,5 ‰), természetes tengervízzel áramoltatjuk át 18 l/perc sebességgel. A tartályokat szűrőhálószerűen látjuk el a kiömlőnyílás fölött, hogy visszatartsuk az el nem fogyasztott takarmányszemeket. Feljegyezzük a halak pusztulását és a halnyűgök által okozott durva károsodásokat is.

A fertőzéshez használt halnyűgöket kereskedelmi lazacfarmokon, lehalászás során gyűjtjük Skócia nyugati partvidékén. A megtermékenyített tojásfonalakat nőtényekről választjuk le, és tengervízben, környezeti hőmérsékleten és sótartalom mellett inkubáljuk. Amikor a kikelt lárvák eléri a copepodit-állapotot, akkor halanként 38-170 copepoditot juttatunk a 4 halas tartályba, amelyek vízellátását körülbelül három órára megszüntetjük, hogy a lárvák a halakra tapadhassanak. Ezt 3-5 naponként, összesen 4-5 alkalommal megismételjük, amíg meg nem jelennek az I., II., III. és IV. stádiumú chalimus-lárvák. A chalimusok számát egy vagy két nappal a kezelés előtt határozzuk meg a tartályokból vett mintán (n = 6-9 tartályonként). Ezen a ponton a halakat preadult és adult halnyűgökkel fertőzzük úgy, hogy halanként 5-10 halnyűgöt teszünk minden tartályba. A vízellátást körülbelül

egy órára megszüntetjük, amíg az összes halnyűg fel nem tapad a halakra. A kezelés előtti halnyűg-számot a tartályokból vett mintákon határozzuk meg és a halakon talált chalimus-lárva-átlagát adjuk meg. Ezután a halakat véletlenszerűen szétosztjuk a négy eredeti tartályból a kontroll és kezelési tartályokba – ahogy az egyes kísérletek elrendezésénél van leírva – és nem végzünk további fertőzést a kísérlet folyamán.

Az alaptakarmány a Fulmar™ 3,5 vagy 5 mm-es szemméretű lactáp (BOCM Pauls, Ltd.). Az emamectin-benzoátot propilén-glikolban oldjuk fel és halolajjal keverjük össze a pellet bevonása előtt. A kontroll-takarmányt hasonló módon vonjuk be halolaj és propilén-glikol keverékével. A kezelés során a hatóanyagból névlegesen 0, 25, 50 és 100 µg-ot adunk naponta a hal-biomassza 1 kg-jára számítva, 0,5 % takarmányadagolási arány mellett, hét egymást követő napon át (0-6. napok). A tényleges napi takarmányfogyasztást úgy határozzuk meg, hogy a tartályokból körülbelül 30 perccel a beszórás után visszanyerjük az el nem fogyasztott takarmányszemeket, és azok számát kivonjuk a napi adagból. Az átlagos elfogyasztott dózist az egyes csoportokra az alábbi módon számítjuk ki:

$$\text{átlagos takarmányfogyasztás (\%)} = \frac{\text{napi \% -os takarmányfogyasztások összege}}{7 \text{ nap}}$$

$$\begin{aligned} \text{átlagos elfogyasztott dózis (\mu\text{g}/\text{kg})} &= \\ &= \text{átl. takarmányfogyasztás (\%)} \times \text{névleges takarmányadagolási arány (\mu\text{g}/\text{kg})} \end{aligned}$$

A halnyűgök számát a 7., 14. és 21. napon határozzuk meg. A halakat 40 mg/l etil-(4-amino-benzoát)-tal (benzokain) elkábít-

juk, és minden halat megvizsgálunk kis nagyítású mikroszkóp alatt. A halnyűgöket chalimus I.-IV., preadult I.-II. és adult csoportokba soroljuk. A preadult és adult halnyűgöket tovább csoportosítjuk ivaruk szerint. Feljegyezzük az egyes fejlődési alakok számát. A vizsgálat során a halakról levált halnyűgöket a számlálásba bevonjuk és visszahelyezzük a halra a friss vízbe való visszaeresztés után. A halakat visszatesszük a tartályaikba és ugyanazon halakat vizsgáljuk a 7., 14, és 21. napon.

1. példa:

Dózistitrálásos vizsgálat

A víz hőmérséklete 7-10 °C, sótartalma 3,3-3,4 %. A halak átlagos testtömege a kezelés előtt 192 ± 30 g. Az emamectin-benzoátot 0, 25, 50 és 100 µg/kg hal-biomassza névleges napi dózisban adagoljuk. Kezelésenként két ismétlést állítunk be 19-20 hallal tartályonként. A kísérlet eredményét az 1. táblázatban foglaljuk össze.

1. táblázat

Dózistitrálásos kísérlet: Emamectin-benzoát hatásossága a *Lepeophtheirus salmonis* kísérletes fertőzése ellen nemes lazacon (*Salmo salar*). A halak a biomassa 0,5 tömeg %-ának megfelelő mennyiségű gyógyszerezett takarmányt kapnak naponta, 7 egymást követő napon át (0-6. napok). A halnyűgök átlagos számát a 7., 14. és 21. napokon határozzuk meg. Az átlagok és szórásaik a két ismétlés összesített adataiból vannak kiszámítva (n = 19 vagy 20 hal/tartály).

Idő	Névleges dózis µg/kg	Átlagos dózis* µg/kg	Halnyűgök átlagos száma	Chalimusok átlagos száma	Mozgó alakok átlagos száma	Csökkenés kontrollhoz képest (%)
7. nap	0	0	51,1±15,1	24,3±8,8	26,7±7,8	/
	25	21,5	32,6±10,7	20,9±8,6	17,7±6,0	36,2
	50	45,0	31,9±11,4	24,8±10,3	7,1±4,1	37,2
	100	91,0	33,0±10,7	29,0±9,8	4,0±3,6	35,4
14. nap	0		44,9±11,1	3,2±2,0	41,7±10,5	/
	25		13,1±6,9	9,7±3,9	3,4±6,4	70,8
	50		13,4±5,9	12,4±3,5	1,0±1,3	70,3
	100		15,1±5,8	14,1±5,5	1,0±3,2	66,4
21. nap	0		34,5±9,3	0,03±0,2	34,5±9,3	/
	25		3,5±2,7	2,4±1,9	1,1±2,2	89,8
	50		1,7±1,3	1,6±1,5	0,1±0,3	95,2
	100		1,5±1,6	1,2±1,2	0,3±1,0	95,8

*Az átlagos elfogyasztott dózist a kezelés alatt ténylegesen elfogyasztott takarmány %-os arányából számítjuk ki.

2. példa:**Dózismegerősítő vizsgálat I.**

A víz hőmérséklete 12-14 °C, sótartalma 3,3-3,5 %. A halak átlagos testtömege a kezelés előtt 224 ± 43 g. Az emamectin-benzoátot 0, 25 és 50 µg/kg hal-biomassza névleges napi dózisban adagoljuk. Kezelésenként 3 ismétlést állítunk be 15 hallal tartályonként. Ebben a vizsgálatban azonban a pusztulás miatt a halak száma a kísérlet végére 9, 10 és 14 volt a 25 µg/kg-os csoportban, 10, 12 és 13 volt az 50 µg/kg-os csoportban, és csak 2, 5 és 5 volt a kontroll-csoportban. Emiatt egy második dózismegerősítő vizsgálatot is beállítottunk (3. példa). A kísérlet eredményeit a 2. táblázatban foglaljuk össze.

2. táblázat

Dózismegerősítő kísérlet I.: az emamectin-benzoát hatásossága a *Lepeophtheirus salmonis* kísérletes fertőzése ellen nemes lazacon (*Salmo salar*). A halak a biomassa 0,5 tömeg %-ának megfelelő mennyiségű gyógyszererezett takarmányt kapnak naponta, 7 egymást követő napon át (0-6. napok). A halnyűgök átlagos számát a 7., 14. és 21. napokon határozzuk meg. Az átlagok és szórásaik a három ismétlés összesített adataiból vannak kiszámítva (n = 2-15 hal/tartály).

Idő	Névleges dózis µg/kg	Átlagos dózis* µg/kg	Halnyűgök átlagos száma	Chalimusok átlagos száma	Mozgó alakok átlagos száma	Csökkenés kontrollhoz képest (%)
7. nap	0	0	60,9±15,1	1,9±1,6	59,0±14,9	/
	25	20,2	34,2±15,8	1,8±1,7	32,4±15,4	43,8
	50	44,3	28,1±13,1	3,2±2,2	24,9±13,2	53,8
14. nap	0		40,9±14,4	0	40,9±14,4	/
	25		9,8±4,4	0,30	9,5±4,4	76,0
	50		4,9±2,7	0,6	4,3±2,6	88,0
21. nap	0		27,3±9,7	0	27,3±9,7	/
	25		4,9±3,1	0	4,9±3,1	81,9
	50		1,6±1,3	0	1,6±1,4	94,3

*Az átlagos elfogyasztott dózist a kezelés alatt ténylegesen elfogyasztott takarmány %-os arányából számítjuk ki.

3. példa:

Dózismegerősítő kísérlet II.

A víz hőmérséklete 9-12 °C, sótartalma 3,0-3,4 %. A halak átlagos testtömege a kezelés előtt 418,2 ± 49 g. Az emamectin-benzoátot 0 és 50 µg/kg hal-biomassa névleges dózisban adagol-

jük. Kezelésenként 3 ismétlést állítunk be 15-16 hallal tartályonként. A kísérlet eredményét a 3. táblázatban foglaljuk össze.

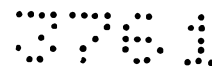
3. táblázat

Dózismegerősítő kísérlet II.: az emamectin-benzoát hatásossága a *Lepeophtheirus salmonis* kísérletes fertőzése ellen nemes lazacon (*Salmo salar*). A halak a biomassza 0,5 tömeg %-ának megfelelő mennyiségű gyógyszerezett takarmányt kapnak naponta, 7 egymást követő napon át (0-6. napok). A halnyűgök átlagos számát a 7., 14. és 21. napokon határozzuk meg. Az átlagok és szórásaik a három ismétlés összesített adataiból vannak kiszámítva (n = 15-16 hal/tartály).

Idő	Névleges dózis µg/kg	Átlagos dózis* µg/kg	Halnyűgök átlagos száma	Chalimusok átlagos száma	Mozgó alakok átlagos száma	Csökkenés kontrollhoz képest (%)
7. nap	0	0	74,9±17,1	22,7±8,8	52,2±13,4	/
	50	45,7	40,5±12,2	30,0±11,8	10,5±8,1	45,9
14. nap	0		50,2±10,3	0,6±0,8	49,5±10,3	/
	50		14,4±5,9	12,7±5,7	2,0±3,2	70,7
21. nap	0		38,1±8,6	0,1±0,3	38,1±8,7	/
	50		2,1±2,1	1,5±1,7	0,6±1,1	94,6

*Az átlagos elfogyasztott dózist a kezelés alatt ténylegesen elfogyasztott takarmány %-os arányából számítjuk ki.

Az adatokat az alábbi csoportosításban összegezzük: I.-IV. chalimus-lárvák, mozgó alakok (preadult és adult), és összes halnyűg (chalimus és mozgó alakok összege). A halanként talált



halnyűgök száma esetében a szórás homogenitását F-próbával, az eloszlás normalitását korreláció-analízissel ellenőrizzük. A halak tömegét és a kezelés előtti halnyűg-számot egyoldalú variancia-analízissel vizsgáljuk. Ha az adatok varianciája a heterogéntől vagy eloszlása a normáltól eltérő, akkor a kezelés után talált halnyűgök számát a nem-paraméteres Dunn-próbával elemezzük.

A három vizsgálat egyikében sem találtunk szignifikáns ($p > 0,05$) különbséget a chalimus-lárvák vagy a mozgó alakok számában az ismétlések között, sem a kontroll, sem a kezelt csoportokban, sem a különböző időpontokban. Ez lehetővé tett, hogy az I., II. és III. táblázatokban az ismétlések adatait összevonva kezeljük. Emellett természetesen az egyes ismétlések adatait külön is elemeztük.

Az átlagos halnyűg-szám százalékos csökkenését a kontrollcsoporthoz képest az alábbi képlettel számítjuk ki:

$$\text{csökkenés (\%)} = 100 \frac{\text{kezelt ismétlések átlaga}}{\text{kontroll ismétlések átlaga}} \times 100$$

A három kísérlet összesített eredményét a 4. táblázatban mutatjuk be.

4. táblázat

A dózistitrálásos, illetve a dózismegerősítési I- és II. kísérletek összefoglalt eredményei: az emamectin-benzoát hatásossága a *Lepeophtheirus salmonis* kísérletes fertőzése ellen nemes lazaccon (*Salmo salar*). A halak a biomassza 0,5 tömeg %-ának megfelelő mennyiségű gyógyszerezett takarmányt kapnak naponta, 7 egymást követő napon át (0-6. napok).

Kísérlet	Névleges dózis µg/kg	Átlagos dózis µg/kg	Csökkenés (összes parazita) (%)	Parazita-mentes halak (%)	Mozgó alaktól mentes halak (%)	Elhullás* (%)
Dózis-	0	0	/	0	0	5
titrá-	25	21,5	89,8	13,8	55,0	0
lás	50	45,0	95,2	22,5	87,5	0
	100	91,0	95,8	28,2	87,0	2,5
Megerő-	0	0	/	0	0	75
sítés	25	20,2	81,9	3,0	6,1	31
I.	50	44,3	94,3	28,6	28,6	27
Megerő-	0	0	/	0	0	6
sítés	50	45,7	94,6	27	66,3	0
II.						

Az összes parazitaszám %-os csökkenését a kontrollcsoporthoz képest az egyes kezelési csoportok ismétléseinek összeszont adataiból számítottuk ki.

*Az adatok a halnyűgök által okozott elhullást tartalmazzák, kivéve a II. megerősítő vizsgálatot, ahol a kontroll halak pusztulásának 2 %-a nem írható a parazita terhére. Az adatok a kislejtezett halakat is tartalmazzák.



A kísérleteket áttekintve látható, hogy a takarmányfogyasztás a kezelt csoportokban 81-92 % volt. A ténylegesen elfogyasztott dózisok átlagait minden csoportra kiszámítottuk, és az I., II. és III. táblázatokban közöljük a névleges dózisokkal együtt. A kontroll-csoportok takarmányfogyasztása 77-90 %-os volt. A táplálkozási viselkedést és aktivitást a kontroll-csoportok néhányában csökkenőnek találtuk a vizsgálat ideje alatt. Ez a kontroll halakon található nagyobb halnyűg-számmal függ össze, és kifejezettebb volt, amikor a chalimus-lárvák átalakultak a jóval károsabb mozgó formákká. A kísérlet végére nem volt szignifikáns ($p > 0,05$) különbség a kezelt és a kontroll csoportok halainak átlagos testtömege között.

Az emamectin-benzoátos kezelés egyik dózisánál sem figyeltünk meg káros hatásokat vagy elhullást. Néhány hal elpusztult a dózistitrálási és a II. dózismegerősítő vizsgálatban a halnyűgök nagy száma miatt, míg az I. dózismegerősítő vizsgálatban számos hal elpusztult vagy ki kellett selejtezni azokat (IV. táblázat).

A dózistitrálási vizsgálat kezdetén a chalimus-lárvák átlagos száma halanként $58,1 \pm 21,9$ volt (tartályonként 10 halat vizsgáltunk). A tartályok között nem volt szignifikáns különbség ($F_{3,36} = 1,70$; $p > 0,05$) a fertőzés mértékében a halak szétosztása és kezelése előtt. A halnyűgök (ide számítva a mozgó formákat is) átlagos száma 63-68 volt halanként.

A dózistitrálási vizsgálat eredménye az 1. táblázatban látható. Már a 7. napra a halnyűgök átlagos száma 35,4 - 37,5 %-kal csökkent minden kezelt csoportban a kontroll-csoporthoz képest. A 21. napra a halankénti halnyűg-szám rendre 89,8, 95,2 és 95,8

%-kal csökkent a 25, 50 és 100 µg/kg dózissal kezelt csoportokban. A kontroll-csoportban egy halon átlagosan 34,5 halnyűg volt, míg az 50 µg/kg dózissal kezeltben csak 1,7. A halnyűgök száma szignifikánsan csökkent mind az 50, mind a 100 µg/kg dózissal kezelt csoportokban a kontrollhoz képest a 7. és 14. napokra ($p < 0,05$), illetve a 21. napra ($p < 0,001$) a kezelés megkezdésétől. Nem volt azonban szignifikáns különbség az 50 és 100 µg/kg dózissal kezelt csoportok között.

Külön elemeztük a chalimus-lárvák és a mozgó alakok adatait is, és kimutattuk, hogy a 7.-től a 21. napig 26,7-ről 34,5-re növekszik a mozgó alakok átlagos száma halanként a chalimus-lárvák fejlődésével (I. táblázat). Ezzel szemben a mozgó alakok átlagos száma 0,1-1,1-re esik vissza a 21. napra.

A chalimus-lárvák átlagos száma a kontroll-csoportban is csökken a fejlődésükkel, és ezzel párhuzamosan növekszik a mozgó alakok száma (1. táblázat). Ezzel szemben a három kezelt csoport mindegyikében lassabban csökken a chalimus-lárvák száma és elmarad a mozgó alakok számának megfelelő növekedése is. A 14. és 21. napokon a chalimus-lárvák száma az összes kezelt csoportban nagyobb, mint a kontroll-csoportban. Azonban a kezelt halakon található chalimus-lárvák közül sok a normálistól eltérően nézett ki, és döglöttek vagy életképtelennek látszott. A 7. napon több I. és II. stádiumú chalimus-lárva volt a kezelt halakon, mint a kontrollon, amelyeken viszont nagyobb arányban találtunk III. és IV. stádiumú lárvákat (1. ábra). A 14. napon (2. ábra) a kezelt halakon még mindig voltak I. és II. stádiumú chalimusok, míg a kontroll halakon ilyenek nem voltak, és csak néhány III. és IV.



stádiumú chalimus-lárva maradt vissza.

A 21. napon a kezelt halak többségén nem voltak jelen mozgó alakú halnyűgök és néhány hal teljesen mentes volt mind a mozgó alakoktól, mind a chalimus-lárváktól. Ezzel szemben egyetlen kontroll hal sem volt mentes a mozgó halnyűgöktől (4. táblázat).

Az I. dózismegerősítő vizsgálat kezdetén a chalimus-lárvák átlagos száma halanként $82,3 \pm 36,6$ volt (tartályonként 9 halat vizsgáltunk). A tartályok között nem volt szignifikáns különbség ($F_{3,36} = 0,55$; $p > 0,05$) a fertőzés mértékében a halak szétosztása és kezelése előtt. A halnyűgök átlagos száma (ide számítva a mozgó formákat is) 87-92 volt halanként.

Ebben a kísérletben számos hal pusztult el vagy lett kiselejtezve nagy fertőzöttség miatt. A kontroll-csoportokban, ahol a halnyűgök száma magas maradt, a halak 75 %-a elpusztult vagy ki lett selejtezve, míg ugyanez az arány az 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dózissal kezelt csoportban csak 27 % (4. táblázat). A kontroll elpusztult halainak vizsgálatakor kiderült, hogy igen sok rajtuk a mozgó halnyűg, és a kontroll-csoportokban valószínűleg azok a halak érték meg a 21. napot, amelyeken kevesebb halnyűg volt. Ennél fogva a halnyűgök halankénti száma jóval magasabb lett volna, ha az összes kontroll hal életben marad. Az összes elhullás és selejtezés a halnyűgök aktivitásából eredő károsodásoknak tulajdonítható. A halnyűgök károsítása mind a kezelt, mind a kontroll halakon erodált bőrterületekként jelenik meg a fejen és a háton, amihez csökkenő táplálkozási aktivitás társul. A 21. napra a kezelt csoportok halainak általános kinézete és táplálkozási aktivitása kifejezetten javult. Ezzel szemben a kontroll-csoportok

néhány túlélő hala károsodott volt és továbbra is csökkent táplálkozási aktivitást mutatott.

Az I. dózismegerősítő vizsgálat eredményei a II. táblázatban láthatók. A kezelt csoportokban a teljes halnyűg-szám átlaga 44-54 %-kal csökkent már a 7. napra a kontrollhoz viszonyítva, és a kísérlet végén, a 21. napra 82 %-kal csökkent a 25 µg/kg, és 94 %-kal az 50 µg/kg dózissal kezelt csoportokban. A nagyobb, 50 µg/kg dózissal kezelt csoportokban a halnyűgök átlagos számának csökkenése szignifikáns volt ($p < 0,05$) a 3 kontroll-csoport közül kettőhöz viszonyítva, a 14. napon. A kontroll harmadik ismétlésében csak két hal maradt a kísérlet végére és ezért azt kizártuk a vizsgálatból. Bár nem volt szignifikáns különbség a kontroll és a 25 µg/kg dózissal kezelt csoport egyes ismétlései között, az adatok egyesítésével kapott nagyobb mintaszám miatt a különbség a két kezelés között szignifikáns volt ($p < 0,001$). Ugyancsak nem találtunk szignifikáns különbségeket a 25 µg/kg dózissal kezelt csoport ismétlései és az 50 µg/kg-os csoport két ismétlése között, de az adatok összevonása újra szignifikáns különbséget eredményezett a két csoport között ($p < 0,001$). A 21. napon a halnyűgök összesített átlagos száma 27,3 volt a kontroll, 4,9 a 25 µg/kg és 1,6 az 50 µg/kg dózissal kezelt csoportban.

Noha a kísérlet kezdetén viszonylag kevés preadult és adult, mozgó alak volt jelen, számuk minden csoportban növekedett a 7. napra, ahogy a chalimus-lárvák fejlődtek (2. táblázat). A mozgó alakok számának növekedése a halakon a két kezelt csoportban kisebb fokú volt, mint a kontrollban. A 7. és 21. napok között az átlagos számuk visszaesett a természetes elhullás miatt, és –

ebben a kísérletben – a súlyosan fertőzött halak pusztulása vagy kiselejtezése miatt. A kezelt csoportokban az átlagos halnyűg-szám csökkenése még nagyobb volt az idő haladtával, és a 21. napra a teljes halnyűg-populáció 82-94 %-kal volt kisebb, mint a kontroll-csoportban.

A 2. táblázatban látható, hogy a chalimus-lárvák száma csökken a kontrollban és a 25 µg/kg dózissal kezelt csoportban a vizsgálat kezdetétől a 14. napig. A 7. és 14. napokon a chalimusok száma kissé nagyobb volt az 50 µg/kg dózissal kezelt csoportban, de a kezelt halakon lévő lárvákat itt is élettelennek találtuk, így tehát a 21. napon egyetlen chalimus-lárva sem volt a vizsgált halakon.

A 21. napon az 50 µg/kg dózissal kezelt halak 28,6 %-a teljesen mentes volt mind a chalimus-lárváktól, mind a mozgó halnyűgöktől (4. táblázat). Ezzel szemben a 25 µg/kg dózissal kezelt halak közül csak 3 %, míg a kontroll halak közül egy sem volt mentes a halnyűg-fertőzéstől.

A II. dózismegerősítő vizsgálat kezdetén nem volt szignifikáns különbség ($F_{3,20} = 0,428$; $p > 0,05$) a chalimus-fertőzöttség fokában a tartályok között, a halak szétosztása és kezelése előtt. A halnyűgök átlagos száma (a mozgó formákkal együtt) 79-84 volt halanként.

Az összevont eredményeket a 3. táblázatban mutatjuk be. Látható, hogy már a 7. napra a halnyűgök átlagos száma a kontrollhoz képest 46 %-kal, a 21. napra pedig 95 %-kal csökkent az 50 µg/kg dózissal kezelt csoportban. A 21. napon a kontrollállatokon lévő halnyűgök átlagos száma 38,1, az 50 µg/kg-os cso-

portban csak 2,1. A halnyűgök száma mindhárom 50 µg/kg dózissal kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb ($p < 0,001$), mint a három kontroll-csoportban a vizsgálat 7., 14. és 21. napján egyaránt.

A mozgó alakok átlagos száma a kontroll-csoportokban a 7. napi 52,2-ről 38,1-re csökkent a 21. napra (3. táblázat). Ugyanezen idő alatt a mozgó alakok száma sokkal gyorsabban csökkent az 50 µg/kg-os csoportban, és a 21. napon csak 0,6 volt halanként. A chalimus-lárvák átlagos száma a fejlődés miatt csökkent a kontroll-csoportokban annyira, hogy a 14. napon már látszólag nem is voltak jelen (3. táblázat). Részletes vizsgálattal több chalimust találtunk a kezelt, mint a kontroll halakon, és ez a különbség a 14. napon szignifikáns volt ($p > 0,001$). A 21. napon a kezelt halakon maradt chalimus-lárvákat degeneráltak, fejlődésükben megakadtnak és életképtelennek találtuk. A 3. és 4. ábrákon látható az egyes chalimus-stádiumok aránya a kontroll és a kezelt csoportban, a 7. és 14. napon. A 7. napon nagyobb arányban voltak jelen az I. és II. stádiumú lárvák a kezelt halakon, míg a kontrollokon a III. és IV. stádium volt többségben (3. ábra). A 14. napon a kezelt halakon még mindig zömmel III. és IV. stádiumú chalimusok vannak néhány I. és II. stádiumú mellett, míg a kontroll halakon átlagosan csak 0,4 IV. stádiumú chalimus van (4. ábra).

A kísérlet végére a kezelt halak 27 %-a mentes volt a halnyűgök minden formájától, és a halak 66 %-án nem volt mozgó alak. Ezzel szemben a kontroll halak egyike sem volt mentes a halnyűg valamilyen formájától (4. táblázat). A 21. napra a kont-

roll halak 21 %-án voltak fejtáji léziók a halnyűgök aktivitása következtében. Nem láttunk ilyet az 50 µg/kg-os dózissal kezelt halakon és elhullás sem volt a kezelt csoportokban, viszont a kontroll halak 4 %-át ki kellett selejtezni a halnyűgök okozta károsodás miatt.

A nemes lazac orális kezelése emamectin-benzoáttal igen jó hatást mutatott a *L. salmonis* lazac-halnyűg mozgó alakjai és chalimus-lárvái ellen mindhárom vizsgálatban. A paraziták számának csökkenése fokozódott a kísérlet 21 napja alatt. Az emamectin-benzoát 50 µg/kg dózist ugyanolyan hatásúnak találtuk, mint a 100 µg/kg dózist a halnyűg-szám csökkentésére. Annak ellenére, hogy a 25 µg/kg dózis a legtöbb esetben hatásosnak bizonyult, a legnagyobb, 94-95 %-os csökkenést következetesen az 50 µg/kg dózissal értük el. Az I. dózismegerősítő vizsgálatban a 25 µg/kg dózissal kezelt halakon látható halnyűgök átlagos száma nem különbözött szignifikánsan a kontroll-csoportétól, míg az 50 µg/kg dózissal kezelt állatokon szignifikánsan kevesebb halnyűg volt, mint a 25 µg/kg dózissal kezelt halakon. Ebben a kísérletben a 25 µg/kg dózissal kezelt csoport ténylegesen felvett dózisa csak 18,7-22,0 µg/kg volt a takarmányfogyasztás arányából számolva. A vizsgálat kezdetén már súlyosan fertőzött egyedek nagyon valószínűen kevesebb takarmányt és ezzel gyógyszert fogyasztottak, és így nem voltak képesek hasznosítani a gyógyszerelést. Ez okozta a viszonylag nagy elhullást és selejtezési arányt ebben a csoportban, ami minden esetben a halnyűgök káros hatásának tulajdonítható. Noha a chalimus-lárvák száma nagyobb maradt a kezelt halakon, mint a kontrollokon, a mozgó alakok számának stag-

nálása és a különböző chalimus-stádiumok fejlődésének késleltetése világosan jelzi, hogy az emamectin-benzoáttal végzett kezelés nagyon hatásos az éretlen chalimus-lárvák ellen.

Az 50 µg/kg emamectin-benzoáttal folytatott kezelés esetén a halak 87 %-án nem volt mozgó halnyűg-alak. Bár azon halak aránya, amelyeken a halnyűg egyik fejlődési formája sincs jelen, csak 20-30 %, a legtöbb fertőzött halon csak chalimus-lárva volt. Emellett a kezelt halakon lévő chalimusok többsége a normálistól eltérő megjelenésű, döglött vagy életképtelen volt, és csak addig maradtak a halakon, amíg rögzítő készülékük, az elülső fonal, el nem szakadt és le nem váltak róluk. Bár a chalimus-lárvák elleni hatás előnyös, mert megakadályozza a sokkal kártékonyabb mozgó alakokká való fejlődésüket, fontos a mozgó alakok számának gyors csökkentése is, mert aktuálisan ezek károsítják inkább a gazdaállatot. A kezelés megkezdésétől számított 7. napra a mozgó alakok száma 58-80 %-kal csökkent az 50 µg/kg dózissal kezelt halakon.

A halnyűgök eltávolítása az emamectin-benzoáttal végzett kezelés után a parazita által okozott bőrléziók csökkenését eredményezte. Az I. dózismegerősítő vizsgálatban a halnyűgök károsítása számos hal elpusztulását és kiselejtezését okozta, ami csökkentette a kísérlet megbízhatóságát. Emiatt a kísérletet megismételtük, és az eredmények igazolták az emamectin-kezelés védő hatását.

A halnyűg-fertőzések kezelésére engedélyezett eljárások többsége nem hatásos egyszerre az éretlen chalimus-lárvák és az érett, mozgó alakok ellen (Roth, Richards és Sommerville, 1993),

ezért a kezelést gondosan időzíteni kell, hogy a halnyűgök zöme akkor legyen az érzékeny fejlődési állapotban. A lárvák folyamatosan elérhetik a reprodukív adult állapotot, így a populációk állandóan regenerálódnak. Az olyan kezelés, amely az összes parazita fejlődési alak ellen hatásos, képes az életciklus bármely pontján beavatkozni és megakadályozni a reprodukciót. A takarmánnyal végzett kezelés egyidejűleg végezhető minden rekesztékben, a teljes helyen vagy területen, ezáltal csökkenthető a kezelések gyakorisága.

Bár találmányunkat a specifikus megvalósításokkal együtt leírtuk, a szakemberek számára nyilvánvaló, hogy számos alternatív megoldás, módosítás és változtatás létezik. Ezért az összes alternatív megoldást, módosítást és változtatást találmányunk szelleméhez és oltalmi köréhez tartozónak tekintjük.

S Z A B A D A L M I I G É N Y P O N T O K

1. Eljárás parazita-fertőzések felszámolására, mérséklésére vagy megelőzésére egy halpopulációban, azzal jellemezve, hogy az említett eljárás magában foglalja az emamectin vagy egy sója etetését az említett halpopulációval 25-400 µg/kg hal-biomassza napi dózisban, naponta, 3-14 napon át.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett parazita-fertőzést endoparaziták okozzák.

3. A 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy emamectin-benzoátot alkalmazunk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az említett parazita-fertőzést ektoparaziták okozzák.

5. A 4. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy emamectin-benzoátot alkalmazunk.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emamectin-benzoátot 25-100 µg/kg hal-biomassza arányban etetjük naponta, legalább 7 napon át.

7. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emamectin-benzoátot 50-75 µg/kg hal-biomassza arányban etetjük naponta, legalább 7 napon át.

8. Az 5. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a paraziták halnyűgök, és a napi dózist legalább 7 napon át alkalmazzuk.

9. A 8. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emamectin-benzoátot 25-100 µg/kg hal-biomassza arányban etetjük naponta.

10. A 9. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy az emamectin-benzoátot 50-75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hal-biomassza arányban etetjük naponta.

11. Egy készlet gyógyszerezett haltakarmány előállításához, ami parazita-fertőzések felszámolására, mérséklésére vagy megelőzésére szolgál egy halpopulációban, amely készlet emamectint vagy egy sóját és nyomtatott utasításokat tartalmaz arról, hogy az emamectint vagy sóját 25-400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hal-biomassza napi dózisban, naponta, 3-14 napon át kell etetni a halpopulációval.

12. A 11. igénypont szerinti készlet, amelyben az emamectin az emamectin-benzoát, és az utasítás azt közli, hogy a napi dózis 25-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hal-biomassza, amit naponta, 7-14 napon át kell etetni a halpopulációval.

13. A 11. igénypont szerinti készlet, amelyben az utasítás azt közli, hogy a napi dózis 50-75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hal-biomassza, amit naponta, 7-14 napon át kell etetni a halpopulációval.

14. A 11. igénypont szerinti készlet, amelyben az utasítás azt közli, hogy a napi dózis 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hal-biomassza, amit naponta, egy héten át kell etetni a halpopulációval.

15. A 14. igénypont szerinti készlet, amelyben az emamectin-benzoát egy premixben van jelen, ami 0,01-1 tömeg % emamectin-benzoátot tartalmaz.

16. A 15. igénypont szerinti készlet, amelyben a premix az alábbiakat tartalmazza:

- a) 0,01-1 tömeg % emamectin-benzoát,
- b) 0,001-0,2 tömeg % tartósítószer,
- c) 1-4 tömeg % propilén-glikol vagy polietilén-glikol, és

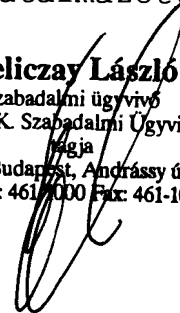
d) szükség szerint hígítószer.

17. A 16. igénypont szerinti készlet, amelyben a premix az alábbiakat tartalmazza:

- a) 0,2 tömeg % emamectin-benzoát,
- b) 0,01 tömeg % butilezett hidroxianizol,
- c) 2,5 tömeg % propilén-glikol,
- d) 49,8 tömeg % kukoricakeményítő, és
- e) szükség szerint M-100 maltodextrin.

A meghatalmazott:

Beliczay László
szabadalmi ügyvivő
az S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
Kft.
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1000 Fax: 461-1099



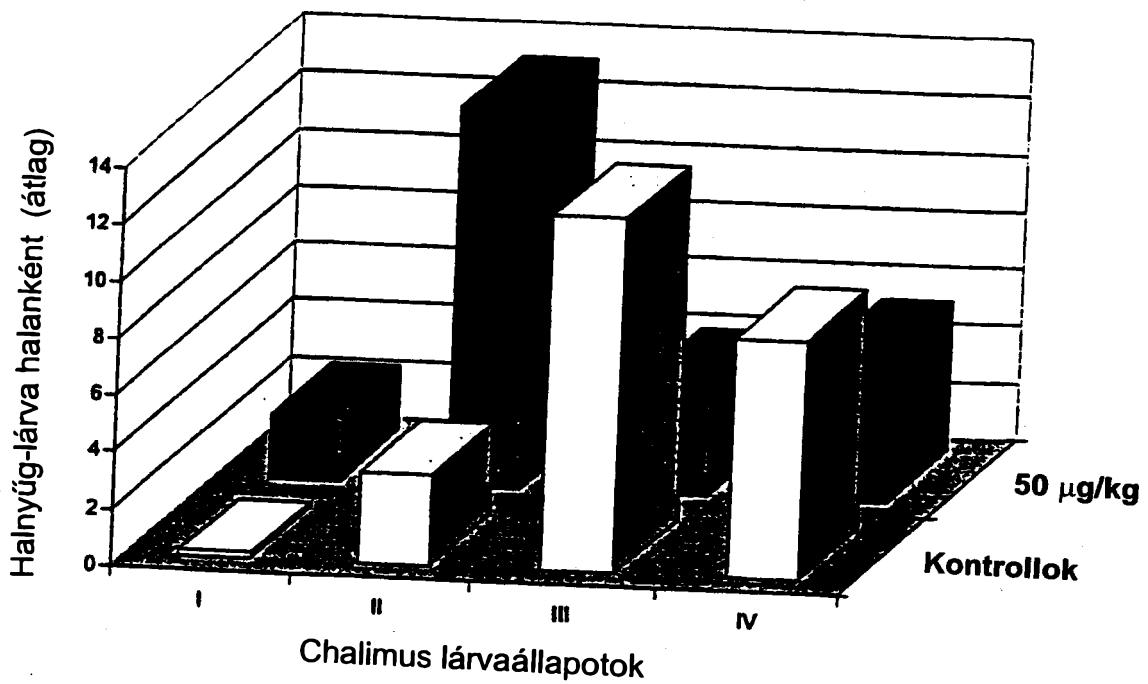
+ 4 rajt oldal

02604/17

KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY

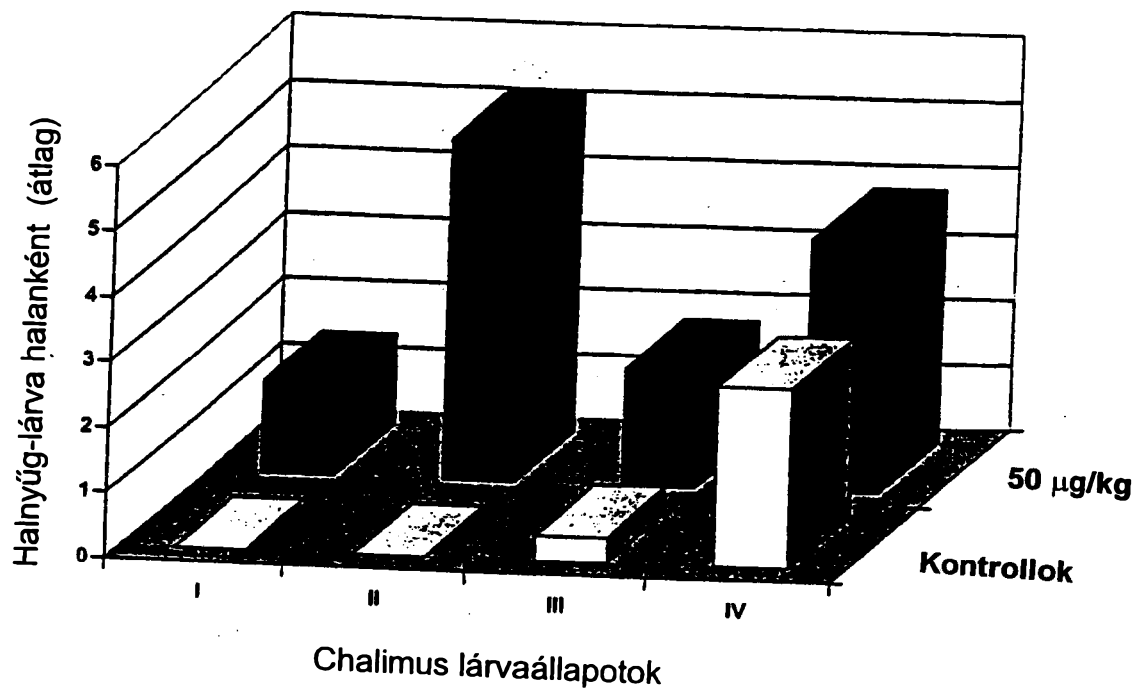
A2

A halanként talált halnyűg-lárvák átlagos száma a 7. napon



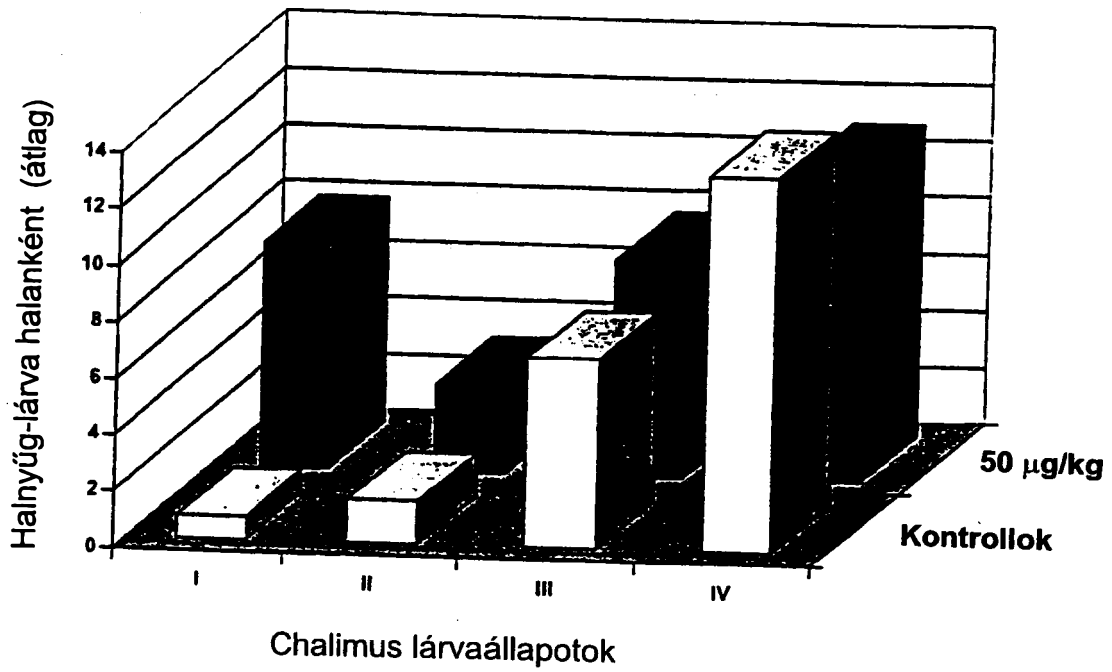
1. ábra

A halanként talált halnyűg-lárvák átlagos száma a 14. napon



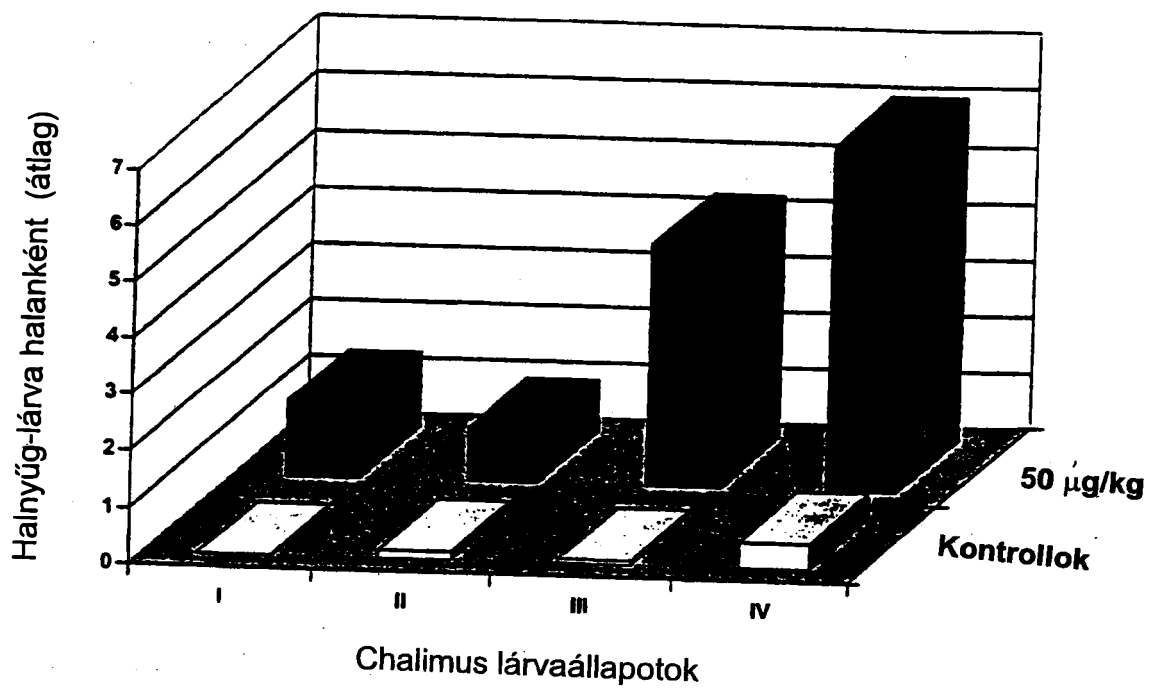
2. ábra

A halanként talált halnyűg-lárvák átlagos száma a 7. napon



3. ábra

A halanként talált halnyűg-lárvák átlagos száma a 14. napon



4. ábra