

ÖZET

EKTOPARAZİTLERİN KONTROLÜ

5 Evcil ve çiftlik hayvanlarına zarar veren ektoparazitlerin, hayvanlara, etkili bir miktarda 4-tert-butilfenetil kinazolin-4-il eter veya 4-kloro-5-etil-2-metil-N-[(4-tert-butilfenil)metil]pirazol-3-karboksamid veya 5-kloro-N-[2-[4-2-etoksietil]-2,3-dimetilfenoksi]etil]-6-etil-4-pirimidinamin veya 4-kloro-3-etil-1-metil-N-[4-(p-toliloksi)benzil]pirazol-5-karboksamid uygulanması yoluyla kontrol edilmesine yönelik bir yöntem açıklanır.

İSTEMLER

1. Bir farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, bir ektoparazitin zarar verdiği insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanım amacıyla, 5-kloro-*N*-[2-[4-(2-etoksietil)-2,3-dimetilfenoksi]etil]-6-etil-4-pirimidinamin veya bir birim dozaj formundaki aktif bileşik olarak bunların bir tuzundan oluşmasıdır, burada ektoparazit, *Boophilis spp*, *Rhipicephalus spp*, *Dermacentor spp*, *Hyalomma spp*, *Amblyomma spp*, *Otobius spp*, *Ornithodoros spp*, *Damalinia spp*, *Stomoxys spp*, *Bovicola spp*, Diptera takımı veya *Ctenocephalides spp*'den seçilir ve burada insan olmayan memeli hayvan, çiftlik hayvanları ve evcil memelilerden seçilir.
2. İstem 1'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, topikal uygulamaya yönelik olmasıdır.
3. İstem 1'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, parenteral uygulamaya yönelik olmasıdır.
4. İstemler 1-3'ten herhangi birine göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, bir katı olmasıdır.
5. İstemler 1-3'ten herhangi birine göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, bir sıvı veya jel olmasıdır.
6. İstem 1'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği bileşimin, insan olmayan memeliye, püskürtme, daldırma veya damlatma yoluyla uygulanmasıdır.
7. İstem 1'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği insan olmayan

memelinin, sığır, koyunlar, keçiler, domuzlar, köpekler, kediler ve atlardan seçilmesidir.

- 5 8. İstem 2'ye göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği topikal uygulamanın, insan olmayan memelinin, bileşimi içeren katı bir ürün ile uyum sağlamasını içermesidir.
- 10 9. İstem 8'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği katı ürünün, boyunluk, bir boyunluk etiketi, bir kulak etiketi, bir uzuv bandı veya bir yulardan seçilmesidir.
- 15 10. İstem 8'e göre bir ektoparazit ile zarar gören insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanıma yönelik farmasötik bileşim olup, özelliği katı ürünün, bir polimerik materyali içermesidir.

TARİFNAME

EKTOPARAZİTLERİN KONTROLÜ

ALTYAPI

5

Evcil hayvan ve çiftlik hayvanı gibi hayvanların yetiştirilmesinde, ektoparazitler, özellikle birçok ektoparazitin, hastalık taşıyıcı görevi görmesi nedeniyle, ekonomik kayıplar dahil olmak üzere çok büyük kayıplara yol açar. Hayvan ektoparazitlerinin kontrolü sürmekte olan bir sorundur. Örneğin birçok kene türü, bu bileşiklerin, çeşitli etki şekli ve ektoparazitte birkaç farklı birincil saldırı bölgesine sahip olmalarına rağmen, arsenik, heksaklorheksan, kampeklor, DDT, piretrinler, karbamatlar ve organofosforlu bileşikler gibi geniş çapta pestisite karşı direnç geliştirmiştir. Bu nedenle, ektoparazit kontrolüne yönelik ek aktif ajanların, yeni etki şekilleri ile geliştirilmesi ve ticarileştirilmesinin yüksek derecede istendiği kabul edilmektedir.

15

Bir kinazolin, pirazol veya pirimidin çekirdeği barındıran bileşikler, ekin kimya uygulamalarında mantar öldürücü, böcek öldürücü ve kene öldürücü kullanımları ile iyi bilinmektedir (örneğin US Patent No. 5,411,963 ve EP-A-196524). Bununla birlikte birçok rapor, fenazakuin ve tebufenpiradin, haşerelere karşı sınırlı tesir spektrumunun yanı sıra normal kullanım altında yararlı akar türlerine yönelik olarak nispeten düşük toksisiteye sahip olduğunu göstermiştir (*Pest Manag Sci* 2005 61(2):103-10). US 2003/114312, böcekler ve pirimidifen içeren bir listeden siklik ketoenoller ve bilinen diğer böcek öldürücü aktif bileşikler içeren istenmeyen akaridler gibi hayvan haşerelerinin kontrol edilmesine yönelik uygun sinerjik kombinasyonları açıklar. US 2007/020304, pirimidifenin yanı sıra bir böcek öldürücüyü içeren farmasötik köpürebilen bir böcek ilacı bileşimini açıklar. Formülasyon, böcekler, örümceğimsiler veya kabuklular gibi parazit eklem bacaklılar öldürmek veya büyümelerini önlemek üzere cilde, vücut yüzeyine veya insan veya hayvanın mukoza yüzeyine uygulanabilir. US2003/198659, pirimidifenin yanı sıra bir böcek ilacını içeren bir lifli bariyeri açıklar, söz konusu bariyer, sığır, atlar, koyunlar, keçiler, domuzlar, tavuklar, hindiler, kazlar, tavşanlar, köpekler veya kediler gibi omurgalı bir hayvanın, kene veya pire gibi omurgasız bir haşere tarafından ısırılması veya yaralanmasının engellenmesi amacıyla bir yöntemde kullanılır. JP-A-2007045818, inekler, koyunlar, keçiler, domuzlar, tavuklar, köpekler ve kediler gibi hayvanlarda akaridler ve ilaca karşı dirençli akarların

30

yol açtığı hasarın bastırılmasına yönelik bir bileşimi açıklar, söz konusu bileşim, etiprol ve pirimidifen içeren bir mitokondriya elektron taşıma inhibitörünü içerir.

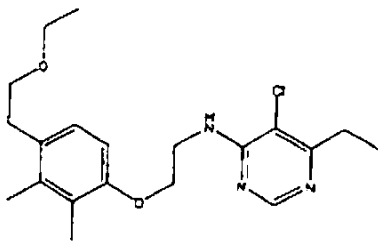
KISA AÇIKLAMA

5

Burada açıklanan bir bileşimdir, burada bileşim, bir ektoparazitin zarar verdiği insan olmayan bir memelinin tedavisinde kullanım amacıyla, 5-kloro-*N*-[2-[4-(2-etoksietil)-2,3-dimetilfenoksi]etil]-6-etil-4-pirimidinamin (pirimidifen) veya bir birim dozaj formundaki aktif bileşik olarak bunların bir tuzundan oluşur, burada ektoparazit, *Boophilis spp*,
10 *Rhipicephalus spp*, *Dermacentor spp*, *Hyalomma spp*, *Amblyomma spp*, *Otobius spp*,
Ornithodoros spp, *Damalinia spp*, *Stomoxys ssp*, *Bovicola spp*, Diptera takımından veya *Ctenocephalides spp*'den seçilir ve burada insan olmayan memeli hayvan, çiftlik hayvanları ve evcil memelilerden seçilir. Pirimidifenin, ko-enzim Q₀'da Kompleks I ile bağlanıp, mitokondriyal elektron taşıma zincirini engelleyerek metabolizmayı etkilediği
15 ve hayvan sağlığında ektoparazit kontrolüne yönelik yeni bir hareket tarzını temsil ettiği düşünülür.

Bazı mitokondriyal elektron transport inhibitörlerinin beklenmedik kene önleyici ve pire önleyici özellikleri, hayvanların ektoparazitlerine karşı etkili bir şekilde kullanılabilen
20 nispeten az sayıda tarımsal pestisit bulunması nedeniyle, oldukça büyük bir öneme sahiptir.

Hayvanların ektoparazitlerinin kontrolünde kullanıma yönelik farmasötik bileşim, keneler, akarlar, pireler, sinekler ve hayvanlara zarar veren bitler ile uygun olan 5-kloro-
25 *N*-[2-[4-(2-etoksietil)-2,3-dimetilfenoksi]etil]-6-etil-4-pirimidinaminden (Formül III) oluşur.



Formül III

Formül III'teki bileşim, örneğin sığır, koyunlar, keçiler, atlar, domuzlar, eşekler, develer,
30 bufalalar, tavşanlar, tavuklar, hindiler, ördekler, kazlar, köpekler, kediler, kafes kuşları,

akvaryum balıkları gibi diğer evcil hayvanlar ve örneğin hamsterlar, kobay fareleri, sıçanlar ve fareler gibi deney hayvanları olarak adlandırılan hayvanlar, tarımsal hayvanlara saldıran eklem bacaklıların kontrol edilmesine yönelik olarak uygundur. Bu eklem bacaklıları kontrol ederek, ölüm vakaları ve üretkenlikteki azalmalar (et, süt, yün, postlar, yumurtalar için) daha az hale getirilebilir, böylece daha ekonomik ve daha basit hayvancılık mümkün olur.

Burada açıklanan bileşimin çeşitli düzenlemelerinde: insan olmayan denek bir memelidir; uygulama, topikal uygulamayı içerir, uygulama, bağırsak dışı (örneğin oral) uygulamayı içerir ve insan olmayan denek, bir ektoparazit ile enfekte edilir veya bir ektoparazit ile istila riski altındadır. Çeşitli düzenlemelerde: ektoparazit bir eklem bacaklıdır; ektoparazit, Ixodidae, Argasidae, Psoroptidae, Sarcoptidae, Muscidae, Trichodectidae veya Pulicidae familyasından seçilir; ektoparazit, Boophilus spp, Rhipicephalus spp, Dermacentor spp, Hyalomma spp, Amblyomma spp, Otobius spp, Ornithodoros spp, Damalinia spp, Stomoxys spp, Bovicola spp veya Ctenocephalides spp'den seçilir.

Burada açıklanan bileşimin çeşitli düzenlemelerinde: bileşim bir katıdır; bileşim bir sıvı veya jeldir; uygulama, bileşiğin insan olmayan deneğe verilmesini kapsayan bir sıvı bileşimin uygulanmasını içerir; uygulama, bileşiğin insan olmayan deneğe verilmesini kapsayan bir katı bileşimin uygulanmasını içerir; uygulama, insan olmayan deneğe spreyleme, daldırma veya damlatma uygulanmasını içerir; bileşik, sıvı bileşim içinde ağırlıkça %0.01 ila %50.0 arasında mevcuttur; bileşik, sıvı bileşim içinde ağırlıkça %0.02 ila %10.0 arasında mevcuttur; insan olmayan denek bunlardan seçilir: sığır, koyunlar, keçiler, domuzlar, köpekler, kediler ve atlar; topikal uygulama, insan olmayan deneğin, bileşimi içeren katı bir ürün ile uyum sağlamasını içerir (örneğin bir etiket, bir boyunluk, bir boyunluk etiketi, bir kulak etiketi, bir kuyruk etiketi, bir uzuv bandı veya bir yular); katı madde bir polimerik materyali içerir.

Burada açıklanan, Formül III'ün bileşiğini veya bir tuzunu bir birim dozaj formunda içeren farmasötik bir bileşimdir.

Burada açıklanan, Formül III bileşiğini veya bunun bir tuzunu içeren bir bileşimdir, burada bileşim, insan olmayan bir deneğe topikal uygulamaya yönelik olarak uygundur.

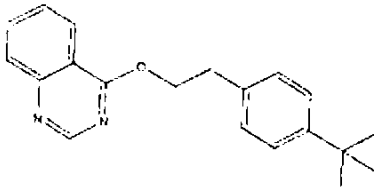
Çeşitli düzenlemelerde, bileşim bir tozdur.

- 5 Buluşun bir veya daha fazla düzenlemesinin detayları, aşağıda eşlik eden açıklamada ifade edilir. Buluşun diğer özellikleri, amaçları ve avantajları, açıklamadan ve istemlerden anlaşılır olacaktır.

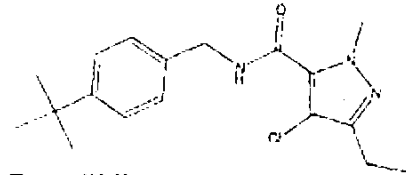
DETAYLI AÇIKLAMA

- 10 Mitokondriyal kompleks I inhibitörleri olarak tesire sahip çeşitli bileşikler, 1990'larda, ekinleri ve diğer bitkileri, örümcek akarları (örneğin benekli örümcek akarı) veya pas akarları (örneğin elma pas akarı) gibi bitki zararlıları tarafından korumak amacıyla ticarileştirilmiştir. Bu bileşikler, fenazakuin (4-tert-butilfenetil kinazolin-4-il eter; Formül I), tebufenpirad (4-kloro-5-etil-2-metil-N - [(4-tert-butilfenil)metil]pirazol-3-karboksamid; Formül II), pirimidifen (5-kloro-N-[2-[4-(2-etoksietil)-2,3-dimetilfenoksi] etil]-6-etil-4-pirimidinamin; Formül III), tolfenpirad (4-kloro-3-etil-1-metil-N-[4-(p-toliloksi)benzil]pirazol-5-karboksamid; Formül IV), fenpiroksimat (tert-bütül 4-[(1,3-dimetil-5-fenoksi-pirazol-4-il)metilidenamino]oksimetil]benzoat; Formül V) ve piridabeni (4-kloro-2-tert-bütül-5-[(4-tert-butilfenil)metilsülfanil]piridazin-3-on; Formül VI) içerir.

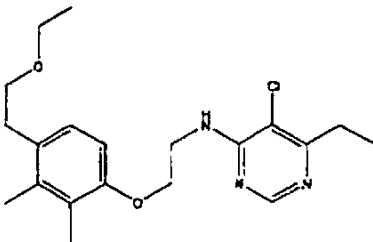
20



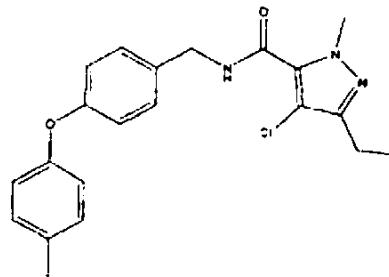
Formül I



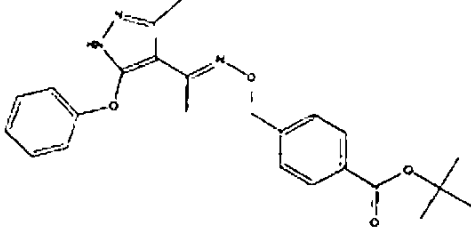
Formül II



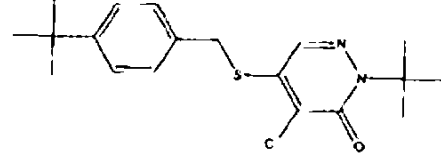
Formül III



Formül IV



Formül V (fenpiroksimat)



Formül VI (piridaben)

Korunan bir bölgede (Kompleks I'in koenzim Q₀'ı) görev yapmasına ve temel bir sürece (mitokondriyal elektron aktarımı) müdahale etmesine rağmen, bu pestisitler bununla birlikte şaşırtıcı ve öngörülemeyen tür seçiciliğini gösterir. Esasen bitki parazitik akarlar karşı akarisitler olarak kullanılmasına rağmen, bu bileşikler genellikle, tarla koşullarında yırtıcı akarlar ve birçok yararlı böcek üzerinde minimal etki gösterir (*Pest Manag Sci* 2005 61(2):103-10).

10

Hackler et al. tarafından yapılan bir çalışmada, fenazakuine yönelik kompleks I inhibitörlerinin kuvvetindeki büyük türlerin bağımlı farklılıklarının spesifik bir örneği görülür. Fenazakuin, pamuk yaprak bitleri (LC₅₀ 2.6 ppm) ve sivrisinek larvaya (LC₅₀ 0.725 ppm) karşı yüksek derecede etkindir ancak lahana güvesine karşı düşük kuvvete sahiptir (LC₅₀ 188 ppm) ve güney mısır kök kurdu ve tütün tomurcuğunun her ikisine karşı 400 ppm tesirden daha büyüktür (Hackler et al. 1998 Development of broad-spectrum insecticide activity from a miticide. In: *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals V* (Baker et al., eds), American Chemical Society, Washington DC, pp. 147-156). Bu türlerin duyarlılık farklılıkları, içsel tesir farklılıkları (başka bir deyişle aktif

20

bölge değişiklikleri), metabolizma farklılıkları ve/veya penetrasyon farklılıklarından kaynaklanabilir. Örneğin, fenazakuin, bu türlere karşı zayıf etkinliği açıklayabilen tütün kurdu ile geniş ölçüde metabolize edilir. Buna ek olarak, fenazakuin, sıçan karaciğeri mikrozomları ile, bileşiğin balıklara karşı memelilerden daha yüksek olan toksisitesini kısmen açıklayabilen, alabalık karaciğeri mikrozomlarından daha fazla ayrıştırılır.

25

Mevcut durumda, bileşiklerin aktif bölgeler ile etkileşimlerindeki bu türlere bağlı farklılıklar veya metabolizma veya penetrasyon farklılıkları, bir öncülün öngörülmesine yönelik olarak imkansızdır. Şaşırtıcı bir şekilde, fenazquin (4-*tert*-bütilfenetil kinazolin-4-il eter) ve bazı diğer mitokondriyal kompleks I inhibitörlerinin, hayvancılıkta ticari olarak önemli ektoparazitler olan iki uzak ilişkili eklem bacaklı grup olan pire ve keneler üzerinde aktif olduğu tarafımızca keşfedilmiştir.

30

5-kloro-*N*-[2-[4-(2-etoksietil)-2,3-dimetilfenoksi]etil]-6-etil-4-pirimidinamin bileşiği, sert keneler, yumuşak keneler, uyuz akarları, kadife akarları, bitler, saç bitleri, kuş bitleri ve pireler gibi hayvan parazitlerine (ektoparazitler) karşı aktif olduğu düşünülmektedir. Bu

5 parazitler, örneğin *Boophilus* spp gibi sığır keneleri, örneğin *Boophilus microplus*, *Boophilus decoloratus* ve *Boophilus annulatus*; *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus appendiculatus*, *Rhipicephalus pulchellus* ve *Rhipicephalus evertsi* gibi *Rhipicephalus* spp; *Hyalomma truncatum*, *Hyalomma rufipes*, *Hyalomma detritum*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma dromedarii* ve *Hyalomma anatolicum excavatum*

10 gibi *Hyalomma* spp; *Dermacentor variabilis* ve *Dermacentor andersoni* gibi *Dermacentor* türleri; *Amblyomma variegatum*, *Amblyomma herbraeum*, *Amblyomma pomposum*, *Amblyomma americanum*, *Amblyomma cayennense*, *Amblyomma maculatum*, *Amblyomma gemma* ve *Amblyomma lepidium* gibi *Amblyomma* spp; *Argasidae* familyasına ait, örneğin *Otobius megnini* gibi *Otobius* spp ve *Ornithodoros savignyi*, *Ornithodoros lahorensis* ve *Ornithodoros tholozani* gibi *Ornithodoros* spp;

15 *Psoroptidae* familyasına ait, örneğin *Psoroptes ovis* ve *Psoroptes equi*; ve *Sarcoptidae* familyasına ait örneğin *Sarcoptes bovis* veya *Sarcoptes scabiei*; ısırın ve kan emici sinekleri içeren *Diptera* ektoparazitleri takımı, kan emici ve çiğneyici bitleri içeren *Phthiraptera* ektoparazitleri takımı ve kedi piresi (*Ctenocephalides felis*) ve köpek piresini (*Ctenocephalides canis*) içeren *Siphonaptera* ektoparazitleri takımı, *Ixodidae* familyasına ait *Acari* ektoparazitleri takımı içerir.

20

Aktif bileşikler, örneğin tabletler, kapsüller, iksirler, drenler, granüller, macunlar, boluslar, kesintisiz besleme yöntemi, süpozituarlar şeklinde entegral olarak

25 uygulanabilir.

Bileşikler, örneğin enjeksiyonlar ile olduğu üzere parenteral olarak uygulanabilir (kas içi, deri altı, damar içi, intraperitoneal olarak). Bileşikler ayrıca, örneğin batırma veya daldırma, püskürtme, dökme, damlatma, yıkama, tozlama formunda, nazal uygulama,

30 dermal uygulama ile implantlar olarak ve boyunluklar, kulak etiketleri, kuyruk etiketleri, uzuv bantları, yularlar ve işaretleme cihazları gibi kalıplanmış ürünleri içeren aktif bileşik yardımıyla uygulanabilir.

Ticari olarak tedarik edilebilen formülasyonlardan hazırlanan kullanım formlarının aktif

35 bileşik bileşik içeriği, geniş sınırlar içinde değişebilir. Kullanım formlarının aktif bileşik

konsantrasyonu, ağırlıkça %0.0000001 ila 95 aktif bileşik, tercihen ağırlıkça %0.0001 ila 10 arasında olabilir.

5 Sığır, kümes hayvanları ve evcil hayvanlara yönelik olarak kullanıldığında, aktif bileşik kombinasyonları, doğrudan veya 100 ila 10.000 kat seyreltmeden sonra, aktif bileşikleri ağırlıkça %1 ila %80 miktarında içeren formülasyonlar olarak uygulanabilir (örneğin tozlar, emülsiyonlar, akıcılar) veya kimyasal daldırma olarak kullanılabilir.

10 Formül III'ün bileşikleri, serbest baz formunda veya tarımsal olarak kabul edilebilir asit ilaveli tuz formunda, örneğin tozlanarak, daldırma yoluyla veya seyreltik sulu formunda sprey ile işlem gören örneğin hidroklorür veya asetat olarak Acari takımının ektoparazitlerine uygulanır. Formül III'ün bileşikleri, tercihen serbest baz formunda kullanılır. Seyreltme derecesi, tercihen aktif maddenin ağırlıkça %0.01 ila 50.0, özellikle %0,02 ila 10 aralığındaki bir konsantrasyonda kullanılmasına rağmen değişebilir.

15 Tedavi, tercihen 7 ila 21 günlük aralıklar ile tekrarlanır.

Aktif madde, uygun olarak, bir toz, toz konsantresi, ıslatılabilir toz, konvansiyonel katı veya sıvı yardımcı maddeler ile, emülsiyon haline getirilebilir konsantre veya bir solüsyon halinde formüle edilebilir. Buluşun özellikle tercih edilen bileşimleri,

20 kullanılmadan önce su ile seyreltilmek üzere, özellikle ağırlıkça %3.0 ila 50 aktif madde içerenler olmak üzere sıvı konsantrelerdir. Bu tür bir sıvı konsantre tercihen, bir yüksek molekül ağırlıklı alkol, merkaptan veya bir alkilen okside sahip alkil fenolün yanı sıra ve bir sıvı aromatik hidrokarbon veya mineral yağ gibi bir seyrelticiden türetilen bir poliglikoleter gibi bir emülsifiye edici madde içerir.

25

Uygun katı taşıyıcılar, örneğin amonyum tuzları ve kaolinler, killer, talk, tebeşir, kuartz, attapulgit, montmorillonit veya diatomik toprak gibi doğal toprak mineralleri ve yüksek olarak dağıtılan silika, alümina ve silikatlar gibi sentetik toprak materyalleridir; granüllere yönelik uygun katı taşıyıcılar: örneğin kalsit, mermer, ponza, sepiyolit ve

30 dolomit gibi kırılmış ve parçalanmış doğal kayalar veya inorganik ve organik öğünlerin sentetik granülleri ve talaş, hindistancevizi kabukları, mısır koçanı gibi organik materyallerin granülleri ve tütün saplarıdır; uygun emülgatörler ve/veya köpük oluşturucular: örneğin polioksietilen yağ asidi esterleri, polioksietilen yağlı alkol eterleri, örneğin alkilaril poliglikol eterler, alkilsülfonatlar, alkil sülfatlar, arilsülfonatlar veya

protein hidrolizatlar gibi iyonik olmayan ve anyonik emülgatörlerdir; uygun dağıtıcılar: örneğin lignin-sülfat atık likörleri ve metilselülozdür.

5 Toz, granül veya kafes formundaki karboksimetilselüloz ve doğal ve sentetik polimerler, örneğin arap zıkkı, polivinil alkol ve polivinil asetat veya doğal fosfolipidler mesela sefalinler ve lesitinler ve sentetik fosfolipidler formülasyonlarda kullanılabilir. Diğer katkıları, mineral ve sebze yağları olabilir. İnorganik pigmentler, örneğin demir oksit, titanyum oksit ve Prusya Mavisini ve organik boyalar örneğin alizarin renklendiriciler, azo renklendiriciler ve metal ftalosiyaniyi renklendiriciler ve eser besleyici maddeler örneğin demir, manganez, boron, bakır, kobalt, molibden ve çinko tuzları gibi renklendiriciler kullanılması mümkündür.

Formülasyonlar genel olarak, ağırlıkça %0.1 ile 95 arasında, tercihen %0.5 ile 90 arasında aktif bileşimi içerir.

15 Formül III'teki bileşimin hayvan ektoparazitlerine karşı hareketi, aşağıdaki örneklerden görülebilir. İstemlerin kapsamı dahilinde olmayan örnekler örnek amaçlıdır.

20 **ÖRNEK 1: Bir daldırma sağ kalma analizinde *A. americanum* larvalarına karşı tesir.**

Alandaki yetişkin kenelere karşı bileşik gücünü etkili bir şekilde öngörebilen önceden tanımlanmış bir protokol kullanılarak (White, WH. et al., An *in vitro* larval immersion microassay for identifying and characterizing candidate acaricides. J Med Entomol. 25 2004 Nov;41(6):1034-42), bir dimetil sülfoksit (DMSO) stokundan veya tek başına %2 DMSO'dan test bileşikleri, yuvarlak tabanlı 96 gözlü bir plaka içine dağıtılmıştır ve %1 oranında etanol ve %0.2 oranında Triton X100'ü içeren aköz tampon ile karıştırılmıştır. Nihai DMSO konsantrasyonu, %2'yi aşmaz. Larva aşamasındaki tek yıldız keneleri (*Amblyomma americanum*), test bileşiklerini içeren gözlere dağıtılmıştır ve 30 dakika boyunca batırılmıştır. Keneler ardından 1 saat kurumaya bırakılan bir doku biyopsi torbasına dağıtılmıştır. Kurutma sonrasında, torbalar 24 saat boyunca %95 nem ile 25°'de kuluçkaya yatırılmıştır ve canlı ve ölü larva sayısı sayılmıştır. Bu çalışmaya ait sonuçlar Tablo 1'de görülür.

35 **Tablo 1: Tedaviden 24 saat sonra canlı/toplam kene larva sayısı**

Tedavi:	Konsantrasyon		
DMSO	%2		
	43/45		
Formül I	%0.05	%0.01	%0.001
	0/48	0/51	23/80
Formül II	%0.05	%0.01	%0.001
	0/69	0/77	38/85
Formül III	%0.05	%0.01	%0.001
	0/55	0/62	24/57
Formül IV	%0.05	%0.01	%0.001
	0/76	0/79	58/114

ÖRNEK 2: *C. felis* yumurtalarına karşı tesir

Test bileşiklerinin pire yumurtasına karşı değerlendirilmesi, bu böcek parazitlerine karşı ticari etkinliğin belirlenmesine yönelik olarak yaygın olarak kullanılan bir analizdir (McTier TL *et al.*, Evaluation of the effects of selamectin against adult and immature stages of fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs and cats. Vet Parasitol. 2000 Aug 23;91(3-4):201-12; Dryden M *et al.*, Efficacy of a topically applied formulation of metaflumizone on cats against the adult cat flea, flea egg production and hatch, and adult flea emergence. Vet Parasitol. 2007 Dec 15;150(3):263-7). Bileşikler, aseton içerisinde çözülmüştür ve her bir solüsyondan 100 µl, 5 ml'lik cam şişelere yerleştirilmiş ve hava ile kurumaya bırakılmıştır. 48 saatten az bir yaşam süresine sahip olan kırk kedi piresi (*Ctenocephalides felis*) yumurtasının yanı sıra pire pisliği (öncelikli olarak yetişkin pire dışkı materyali ve konak hayvan kepeği), şişelere yerleştirilmiştir. Şişeler hava değişimi sağlamak üzere kağıt havlu ile kaplanmıştır ve 5 gün boyunca %90 nem ile 25°'de kuluçkaya yatırılmıştır ve larva sayısı sayılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, Tablo 2'de gösterilir:

Tablo 2: 5 gün sonrasında 40 yumurtadan oluşan pire larva sayısı (toplam yumurtaların yüzdesi)

Tedavi: Şişe başına miktar

Aseton	8 (%20)		
Formül I	1 mg	100 µg	10 µg
	1 (%2.5)	1 (%2.5)	4 (%10)
Formül II	1 mg	100 µg	10 µg
	1 (%2.5)	1 (%2.5)	7 (%17.5)
Formül III	1 mg	100 µg	10 µg
	1 (%2.5)	0 (%0)	1 (%2.5)
Formül IV	1 mg	100 µg	10 µg
	0 (%0)	0 (%0)	6 (%15)