



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 335 024**

51 Int. Cl.:
A61K 31/616 (2006.01)
A61P 33/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05745024 .9**
96 Fecha de presentación : **13.05.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1747002**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.01.2007**

54 Título: **Nueva composición veterinaria para abejas.**

30 Prioridad: **17.05.2004 HU 0400982**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.03.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.03.2010

73 Titular/es:
Chemor Kutato, Fejlesztő és Kereskedő Kft.
Alkotmány u. 3
7100 Szekszárd, HU

72 Inventor/es: **Orbán, Gyula**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 335 024 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nueva composición veterinaria para abejas.

5 El sujeto de la invención es una nueva composición veterinaria para abejas, para uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad nosemosis (*Nosemosis apis*) en abejas (*Apis mellifera*).

Se sabe que esta enfermedad extremadamente peligrosa para las abejas (*Apis mellifera*) está causada por una ameba de spora denominada *Nosema apis*. La principal época de la enfermedad es la primavera, aunque la enfermedad en sí misma puede producirse también en otros periodos. El contenido del recto de abejas de invierno sanas aumenta sólo de forma lenta en la primera mitad del invierno. Durante el último tercio del invierno se produce un aumento repentino debido a que la aparición de la nueva generación fuerza a las abejas sanas a aumentar su metabolismo. El contenido de las abejas infectadas con nosemosis aumenta gradualmente, ya que el contenido en agua del intestino aumenta, y esto se suma al contenido tenso del recto y por consiguiente los individuos enfermos comienzan a defecar dentro de la colmena. Los excrementos caen sobre las abejas, las paredes de las celdas, las tapas de las celdas, el polen y la miel. Los miembros sanos de la colonia se infectan por su instinto de limpieza. Las abejas limpiadoras succionan el excremento fino y también chupan el excremento seco tras humedecerlo previamente. Durante esta actividad las abejas son infectadas con enormes cantidades de esporas de *Nosema apis*.

Estas esporas mantienen sus funciones vitales dentro de los excrementos defecados por las abejas durante al menos un año. Por consiguiente, los residuos de excrementos secos sobre la colmena infectan a las abejas un año después. El efecto mortal de la ameba se muestra principalmente a través de la destrucción del epitelio del medio vientre de las abejas, pero también provoca otras anomalías. Por ejemplo, la glándula faríngea de las abejas se desarrolla vestigialmente, y mientras que en el caso de colonias sanas sólo el 6% de las abejas presentan glándulas faríngeas vestigiales, en el caso de abejas con nosemosis dicha proporción puede alcanzar el 41%. La glándula faríngea vestigial no es capaz de producir suficiente jalea real y por lo tanto se produce una malnutrición de la nueva generación, que incluso puede morir de hambre, y las abejas no desarrolladas eclosionan con alas incompletas. Como las proteínas para las nuevas generaciones proceden de la glándula faríngea, puede entenderse que la infección con *Nosema apis* tiene efectos sobre el crecimiento de la prole. Las colonias no tratadas son destruidas completamente en la mayoría de los casos, y por tanto la prevención o el tratamiento de las colonias infectadas se hacen indispensables.

La enfermedad no es fácil de diagnosticar en base a los síntomas, pero el especialista experimentado es capaz de observar los síntomas típicos. (Por ejemplo, en la primavera se pueden ver abejas caminando, que son incapaces de volar y hacen vibrar sus alas atrofiadas. El zángano enfermo camina débilmente sobre la tabla de vuelo y se cae fácilmente al suelo delante de la colmena. Trepa sobre el césped haciendo vibrar las alas e intenta volar, pero vuelve a caer con debilidad. En la colmena, sobre el panal y en la madera de los marcos se pueden observar varias marcas de excrementos. La colmena desierta también es abandonada por la reina, y estos casos graves la propia reina puede ser vista caminando por el suelo. Si la reina es infectada con nosemosis deja de poner huevos y muere en una o dos semanas). El diagnóstico seguro de la enfermedad implica un examen en laboratorio, basado en la determinación de las esporas. La determinación con éxito del patógeno se ve enormemente influida por el método de toma de muestra empleado.

Debido a la gravedad de la enfermedad de la nosemosis se conocen métodos más protectores. Un método complementario demostrado es la desinfección de la colmena y del panal con ácido acético. Para la desinfección debe usarse ácido acético técnico. Éste tiene una concentración del 80%, por lo que es fluido por debajo de la temperatura de 15°C. Por el contrario, el ácido acético glacial concentrado al 100% se vuelve sólido por debajo de 15°C. Durante la desinfección la cantidad calculada de ácido acético técnico se vierte en un bol de porcelana y se coloca dentro de la colmena que se quiere desinfectar. La principal desventaja del método es que los panales desinfectados deben ventilarse durante varios días después del uso, ya que sino los vapores ácidos producirán la destrucción de la prole y de las abejas. Otra desventaja es que el vapor del ácido acético tendrá un efecto negativo sobre los objetos metálicos. De este modo se reduce significativamente la vida útil de los mismos en la colmena y en accesorios.

En el pasado se usaron ampliamente composiciones con contenido en mercurio para el tratamiento de *Nosemosis apis*. El contenido en mercurio de dichas composiciones ponía en peligro la miel, como composición alimenticia, y por consiguiente dichas sustancias con contenido en mercurio fueron retiradas de uso completamente.

Con la retirada de las composiciones que contenían mercurio la introducción de una composición mucho más efectiva cobró protagonismo, a saber el antibiótico que se introdujo en Hungría con el nombre Fumagillin DCH. Este antibiótico fue usado por vez primera por investigadores canadienses para el tratamiento de la nosemosis. El ingrediente activo de la medicina es el antibiótico obtenido del moho *Aspergillus fumigatus*, que se usaba básicamente para el tratamiento de la disentería humana provocada por amebas en países tropicales. Tras descubrir su eficacia en el tratamiento de *Nosema apis*, su uso se extendió rápidamente por todo el mundo.

El polvo de Fumagillin DCH producido por Sanofi-Chinoin Drug Manufacturing Company Budapest, Hungría, se comercializa en botellas que contienen 20 g. Una botella contiene 0,5 g de sustancia activa pura. De acuerdo con las instrucciones de utilización, el contenido de una botella es suficiente para el tratamiento de 10 colonias infectadas moderadamente o de 5 colonias infectadas gravemente. Antes de usarse, el contenido de la botella debe disolverse en 0,5 litros de agua tibia, a continuación se mezcla homogéneamente en 5 litros de jarabe de glucosa en una proporción

1:1, se enfría a 40°C y entonces se diluye la mezcla a 25 litros con jarabe de glucosa. Las colonias enfermas son alimentadas con 0,5 litros de la mezcla al día. El uso de composiciones que contienen antibióticos está cada vez más y más restringido, e incluso ha sido prohibido por las autoridades de determinados países.

- 5 El objetivo de la invención es la producción de una composición medicinal efectiva, y si es posible que contenga ingredientes naturales, con la que se puedan superar las anteriores desventajas y se pueda tratar la nosemosis con una buena eficacia, o que se pueda prevenir.

10 La invención se basa en la observación de que de acuerdo con las experiencias con abejas, la nosemosis disminuye e incluso cesa en caso de visita a pastos de abejas con alta presencia de sauces. Tras examinar otros varios tipos de plantas y flores, éstos atrajeron mi atención. Determiné que de acuerdo con la bibliografía en el sauce blanco (*Salix alba*), pero especialmente en los brotes de álamo negro (*Populus nigra*), se puede encontrar una importante cantidad de 2-hidroxibencil- β -D-glucopiranozid (salicina). Este compuesto puede considerarse un precursor del ácido salicílico. Esto es debido a que supongo que la salicina se transforma en ácido salicílico en el tórax de la abeja (por efecto de 15 ácido, de una enzima o de la temperatura), y así es como se produce su efecto anti-nosemosis.

Sorprendentemente, la suposición quedó completamente demostrada por varias series de experimentos *in vivo*. La cantidad efectiva de concentración de ácido salicílico, como sustancia activa, se determinó nuevamente empleando más series de experimentos. La deducción extraída fue que una composición que contiene una determinada concentración 20 de ácido salicílico o de derivado de ácido salicílico, completada con una sustancia vehicular adecuada era efectiva incluso en el caso de infecciones extremas de nosemosis en colonias de abejas. Este reconocimiento no podría haber sido previsto mediante medio alguno, ya que entre las formas multilaterales de utilización del ácido salicílico y del ácido acetil salicílico (por ejemplo por su efecto antibacteriano, antiséptico e incluso anti-reumático) no se menciona en ningún sitio su uso con abejas.

25 En base a lo anterior, la invención es una composición veterinaria destinada a uso para el tratamiento y/o prevención de nosemosis (*Nosemosis apium*) en abejas, y que contiene como sustancia activa ácido 2-hidroxi-benzoico (ácido salicílico) ó ácido 2-acetoxi-benzoico (ácido acetil salicílico), o la sal de los mismos.

30 La composición de acuerdo con la invención contiene de forma ventajosa melaza de la industria azucarera como materia vehicular (extracto acuoso concentrado de *Beta vulgaris cv altissima*), y si es necesario, otra sustancia vehicular y auxiliar conocida.

35 La composición en su forma ventajosa contiene básicamente dos componentes principales. La principal sustancia activa es el ácido 2-hidroxi-benzoico (ácido salicílico), que mata la ameba espora parásito. El otro componente es el vehículo *Beta vulgaris cv altissima* en extracto acuoso fraccionado concentrado (melazas de la industria azucarera), que contiene componentes naturales (macro y micro elementos, vitaminas), que disminuye parcialmente los inconvenientes provocados el alimento de azúcar (sacarina alimentaria), de tal modo que las colonias protegidas pueden defenderse de una forma más eficaz contra las enfermedades, así como contra la nosemosis.

40 Mis experimentos también muestran que el efecto de la composición basada en la invención está presente 4 semanas después del tratamiento, y además de acuerdo con los ensayos de laboratorio realizados durante la siguiente primavera las colonias tratadas el otoño previo estaban limpias de las esporas nosema que provocan la infección.

45 Los ensayos realizados con la composición basada en la invención produjeron resultados excelentes y la composición demostró ser eficaz en todas las fases de la enfermedad (en las categorías de infección baja, media, alta y muy alta). Los resultados experimentales comparativos se muestran entre los ejemplos. Es importante resaltar que debido a sus componentes, la sustancia vehículo ventajosa (extracto acuoso fraccionado concentrado de *Beta vulgaris cv altissima*, melaza de la industria azucarera) actúa de suplemento contra las deficiencias inducidas por la alimentación con 50 azúcar habitual (macro y micro elementos, vitaminas).

55 La composición basada en la invención, más allá de su efecto principal, potencia determinadas actividades vitales de las colonias, por ejemplo el flujo de miel y la disposición a la limpieza, junto con la disposición de la prole, ayudando de este modo de forma indirecta a la prevención y a la lucha contra enfermedades. Este efecto secundario positivo fue observado por los granjeros de abejas que usaron la composición basada en la invención.

La composición basada en la invención, su uso y efectos ventajosos se muestran a continuación:

60 Ejemplo 1

50,0 mL de extracto acuoso fraccionado concentrado de *Beta vulgaris cv altissima* (melaza de la industria azucarera); sustancia vehículo,

65 10,0 g de sal sódica de ácido 2-hidroxi-benzoico (ácido salicílico sódico); sustancia activa,

y 100,0 mL de agua destilada, esterilizada posteriormente con rayos ultravioletas. La forma de fármaco industrial, es decir en disolución acuosa.

ES 2 335 024 T3

El fabricante posee un sistema de control de calidad y su laboratorio comprueba la calidad de la composición regularmente.

5 *Breve descripción del empaquetamiento*

Botella de plástico con tapón de seguridad (la botella es blanca, el tapón es verde, el material usado es polietileno de alta presión).

10 Cantidad: mínimo 900 mL, máximo 1010 mL.

En la lateral de la botella a una etiqueta impresa.

15 El nombre comercial de la composición: NONOS.

(Tabla pasa página siguiente)

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Ejemplo 2

Tabla 1. Tabla Acumulativa

De los experimentos in vivo relacionados con la composición experimental adecuada para la prevención y tratamiento de la nosemosis (<i>Nosemosis apis</i>) instalada en abejas (<i>Apis mellifera</i>)										
Fecha: 16 Marzo, 2003 – 3 Abril, 2003										
Colonias implicadas en el experimento:										
Marcado y signo y cantidad de la sustancia usada en el experimento	K ₁ NONOS 50 mL	K ₆ NONOS 50 mL	K ₇ NONOS 50 mL	K ₈ NONOS 50 mL	K ₁₃ NONOS 50 mL	K ₁₄ NONOS 50 mL	K ₁₆ NONOS 50 mL	K ₁₇ NONOS 50 mL	K ₁₉ NONOS 50 mL	K ₂₀ NONOS 50 mL
Estado antes del experimento	Número muy alto de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis
Estado después del experimento	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Estado 4 semanas después del experimento	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo

Tabla 2. Tabla Acumulativa

De los experimentos in vivo relacionados con la composición experimental adecuada para la prevención y tratamiento de la nosemosis (Nosemosis apis) instalada en abejas (Apis mellifera)										
Fecha: 16 Marzo, 2003 – 3 Abril, 2003										
Colonias implicadas en el experimento:										
Marcado y signo y cantidad de la sustancia usada en el experimento	S ₂₂ Fumagillin DCH 2 g	S ₂₃ Fumagillin DCH 4 g	S ₂₄ Fumagillin DCH 4 g	S ₂₅ Fumagillin DCH 4 g	S ₂₈ Fumagillin DCH 4 g	S ₂₉ Fumagillin DCH 2 g	S ₃₁ Fumagillin DCH 4 g	S ₃₂ Fumagillin DCH 2 g	S ₃₄ Fumagillin DCH 4 g	S ₃₅ Fumagillin DCH 4 g
Estado antes del experimento	Número bajo de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número bajo de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número muy alto de esporas Nosema apis	Número bajo de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número bajo de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis
Estado después del experimento	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Estado 4 semanas después del experimento	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo

Tabla 3. Tabla Acumulativa

<u>De los experimentos in vivo relacionados con la composición experimental adecuada para la prevención y tratamiento de la nosemosis (Nosemosis apis) instalada en abejas (Apis mellifera)</u>										
Fecha: 16 Marzo, 2003 – 3 Abril, 2003										
Colonias implicadas en el experimento:										
Marcado y signo y cantidad de la sustancia usada en el experimento	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅	K ₉	K ₁₀	K ₁₁	K ₁₂	K ₁₅	K ₁₈
	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada	Colonia no tratada
	Número bajo de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número bajo de esporas Nosema apis	Número bajo de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis
Estado después del experimento	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número muy alto de esporas Nosema apis	Número muy alto de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número medio de esporas Nosema apis	Número alto de esporas Nosema apis	Número muy alto de esporas Nosema apis	Número muy alto de esporas Nosema apis
Estado 4 semanas después del experimento	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió	La colonia murió

ES 2 335 024 T3

Ejemplo 3

Las colonias acceden a macro y micro elementos. Tratamiento de acuerdo con el Ejemplo 1 para 10 días, y durante 10 días de alimentación con miel.

	Tratamiento según el Ejemplo 1 (50 mL)	Alimento con miel durante 10 días (5 Kg de miel) 100%
K	1 g (100%)	1 g
Ca	0,1 g (10%)	0,25 g
Na	0,2 g (200%)	0,1 g
Mg	0,01 g (10%)	0,1 g
P	0,01 g (5,6%)	0,18 g
Fe	0,002 g (20%)	0,01 g
Mn	0,001 g (50%)	0,002 g
Cu	0,001 g (50%)	0,002 g

Ejemplo 4

Las colonias acceden a vitaminas con el tratamiento de acuerdo con el Ejemplo 1 durante 10 días, y de acuerdo con las cantidades propuestas en bibliografía.

	Tratamiento según el Ejemplo 1 (50 mL)	Necesidad (según bibliografía) 100%
Vitamina B ₁	0,1 mg (5,6%)	1,8 mg
Vitamina B ₆	0,2 mg (20%)	1,0 mg
Ácido nicotínico	1,2 mg (3,3%)	36 mg
Ácido fólico	0,5 mg (100%)	0,5 mg
Biotina	0,01 mg (20%)	0,05 mg

De acuerdo con los anteriores ejemplos (véanse los Ejemplos 3 y 4), se puede observar que después del tratamiento con NONOS las colonias de abejas consiguen una importante cantidad de macro y micro elementos, junto con vitaminas, lo que aumenta su capacidad para defenderse contra enfermedades, y por tanto la eficacia del producto mejora.

Ejemplo 5

Repetimos el Ejemplo 1 con la única diferencia de que en lugar de 10,0 g de sal sódica de ácido 2-hidroxi-benzoico utilizamos 12,6 g de ácido acetilsalicílico sódico.

REIVINDICACIONES

1. El uso de ácido 2-hidroxi-benzoico (ácido salicílico), ácido 2-acetoxi-benzoico (ácido acetilsalicílico), o las sales de los mismos, en la preparación de composiciones para el tratamiento y/o la prevención de nosemosis en abejas (*Nosemosis apium*).

2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición comprende melazas de la industria azucarera (un extracto acuoso concentrado de *Beta vulgaris cv altissima*) y, opcionalmente, aditivos y vehículos opcionales.