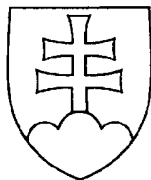


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

283 054

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁷:

A01N 37/02

A01N 37/04

A01N 65/00

- (21) Číslo prihlášky: **1692-98**
(22) Dátum podania prihlášky: **12. 6. 1997**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **4. 2. 2003**
Vestník ÚPV SR č.: **2/2003**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **9612403.7**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **13. 6. 1996**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **GB**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **12. 7. 1999**
Vestník ÚPV SR č.: **07/1999**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **27. 12. 2002**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP97/03078**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO97/47193**

(73) Majiteľ: **VITA (EUROPE) LIMITED, Odiham, Hampshire, GB;**

(72) Pôvodca: **Watkins Max, Gamberley, Surrey, GB;**

(74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Spôsob potlačenia akaridového, lepidopteranového, plesňového a bakteriálneho zamorenia škodcami kolónií medonosných včiel a gélový prostriedok s pomalým uvoľňovaním účinnej látky**

(57) Anotácia:
Spôsob potlačenia akaridového, lepidopteranového, plesňového a bakteriálneho zamorenia škodcami kolónií medonosných včiel, ktorým sa aplikuje do centra kolónií medonosných včiel účinné množstvo éterického oleja alebo organickej kyseliny vo forme prostriedku s pomalým uvoľňovaním účinnej látky a gélový prostriedok s pomalým uvoľňovaním účinnej látky na potlačenie tohto zamorenia, ktorý obsahuje najmenej 10 % hmotnostných éterického oleja alebo organickej kyseliny na riadenie účinných hladín éterického oleja alebo organickej kyseliny počas najmenej jedného reprodukčného cyklu varroa roztočov. Olej môže byť vybraný zo skupiny: monoterpény, ako mentol, geraniol, tymol, myrcén, citral, limonén, karén, gáfor, eugenol alebo cineol (eukalyptol); prírodné oleje, ako citrónový olej, eukalyptový olej alebo z Azadirachta indica; alebo organické kyseliny, ako sú kyselina mravčia, kyselina octová alebo kyselina šťaveľová. Najvýhodnejšie sú monoterpény, ako tymol alebo mentol. Z nich je najvýhodnejší tymol.

Oblasť techniky

Predkladaný vynález sa týka spôsobu potlačenia akaridového, lepidopterového, plesňového a bakteriálneho zamorenia škodcami kolónií medonosných včiel a gélových prostriedkov s účinkom zabraňujúcim tomuto zamoreniu.

Doterajší stav techniky

Varroáza je zamorenie kolónií európskych včiel (*Apis mellifera*) ektoparazitárnymi roztočmi patriacimi do radu acaricides (Varroa jacobsoni).

Varroa roztoče pochádzajú z Ázie a odtiaľ sa rozšírili prakticky do všetkých krajín, kde sa chovajú včely *A. mellifera*.

Okrem toho, roztočové zamorenia, ako sú napríklad zamorenia spôsobené *Acarapis woodii* (tracheálny roztoč) a *Tropilaelaps clareae*; zamorenia spôsobené motýľovitým hmyzom, ako napríklad zamorenia spôsobené väčšími alebo menšími voskovitými moľami, *Galleria mellonella* a *Achroia grisella*; zamorenia spôsobené dvojkrídlovcami, ako sú zamorenia spôsobené *Braula caeca*; plesňové zamorenia, ako sú zamorenia vajíčok a potomstva včiel, *Ascopthera apis* a bakteriálne infekcie, ako sú tie u amerických a európskych liahní vajíčok, *Bacillus larvae* a *Melissococcus*, môžu zapríčiniť významné poškodenie zdravia včelích kolónií.

Varroa roztoče upotrebovávajú hemolymfu vyvíjajúcich sa včiel, ako aj dospelých včiel a toto môže mať za následok zakrpatený rast včiel, infekcie a smrť kolónií včiel. V skutočnosti dnes Varroa zamorenie predstavuje pre včelárstvo najväčšiu hrozbu v celosvetovom meradle.

Na zabránenie tomuto zamoreniu sú dostupné rôzne liečebné postupy. Napriek tomu v určitých oblastiach južnej Európy sa vyvinula rezistencia Varroa roztočov proti aktívnym zložkám niektorých týchto liečebných postupov, najmä proti látkam pyretroidnej povahy, flumetrínu, fluvalinátu a akrinatrínu, ale tiež proti kumafosu, amitrazu, malatiónu, hydrochloridu cymiazolu, chlorfenvinfosu, brómpropylátu, fenpyroximátu a príbuzným molekulám.

Teraz sa zistilo, že rôznym ochoreniam včelínov možno účinne zabrániť podávaním účinného množstva éterického oleja v prípravku s pomalým uvoľňovaním do včelína.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je spôsob potlačenia akaridového, lepidopterového, plesňového a bakteriálneho zamorenia kolónií medonosných včiel, ktorý zahŕňa podávanie účinného množstva éterického oleja v podobe gélového prostriedku s pomalým uvoľňovaním do centra kolónií medonosných včiel.

Na potreby tohto vynálezu sa pod centrom kolónií včiel rozumie, ale bez ohraničenia, včelín alebo podobné miesto, kde kolónie medonosných včiel stavajú miesta na množenie a uchovávať zásoby potravy, ako sú plásty.

Pod pojmom éterický olej sa rozumie oleje extrahovateľné z rastliny alebo ich éterická zložka, ktorá niekedy môže byť tuhá a organické kyseliny. Príkladmi takýchto olejov sú monoterpény, ako mentol, geraniol, tymol, myrcén, citral, limonén, karén, gáfor, eugenol alebo cineol (eukalyptol); prírodné oleje, ako citrónový olej, eukalyptový olej alebo olej z *Azadirachia indica*; alebo organické kyseliny, ako sú kyselina mravčia, kyselina octová alebo kyselina

šťaveľová. Najvýhodnejšie sú monoterpény, ako tymol alebo mentol. Z nich je najvýhodnejší tymol.

V tomto vynáleze sa pod pojmom prostriedok s pomalým uvoľňovaním rozumie prostriedok vyvinutý špecificky tak, aby sa prejavoval určitým spôsobom za určitých podmienok, charakterizovaný viac regulovaným podávaním účinnej látky v určitom čase, ako je to v prípade surovej účinnej látky. Takéto prostriedky, najmä v spojení s prchavými éterickými olejmi, sú schopné udržiavať konštantnú koncentráciu pary éterického oleja v atmosfére prostredia včiel, t.j. vo včelíne. Navrhovaný prostriedok s pomalým uvoľňovaním je preto schopný uvoľňovať regulovanú dávku konštantnou rýchlosťou, výhodne uvoľňuje definované množstvo éterického oleja do včelína v určenom čase, napríklad v období 4 až 6 týždňov, toto obdobie predstavuje aspoň jeden reprodukčný cyklus varroa roztočov.

Účinná látka (éterický olej alebo organická kyselina) je transportovaná pomocou parnej fázy do cieľového škodcu. V praxi sa éterický olej odparuje alebo sublimuje z prostriedku v regulovanej koncentrácii do atmosféry prostredia včiel (t.j. včelína) a táto koncentrácia sa udržiava najmenej počas 4 až 6 týždňov. Hoci atmosféra vo včelíne nie je hermeticky uzavretá, je možné účinne zabrániť rôznym škodcom v uvedenom prostredí, uvoľňovaním éterického oleja z prostriedku s pomalým uvoľňovaním. Prostriedok možno tiež použiť na pôsobenie na škodcov napádajúcich včelie larvy v liahňových komôrkach, ktoré týmto spôsobom možno účinne chrániť.

Spôsob potlačenia Varroa zamorenia podľa predkladaného vynálezu je účinný tak proti kmeňom roztočov Varroa vo včelínach rezistentným, ako aj citlivým proti pyretroidom.

Spôsob použitia tymolu v prostriedkoch s pomalým uvoľňovaním na dosiahnutie zabránenia Varroa nákaz je známy z literatúry. Tymol bol tiež navrhnutý ako látka na zabránenie včelieho tracheálneho roztoča *Acarapis woodii*. Ale stupeň zabránenia dosiahnutý ošetrením včelínov touto surovinou je nízky, v najlepšom prípade premenlivý. Pri použití suroviny je prirodzená rýchlosť odparovania z kryštalickej, práškovej alebo tekutej formy veľmi závislá od okolitej teploty, t.j. dávka podávaná do včelína nemôže byť primerane regulovaná v podobe surového produktu. Napríklad ošetrenie kolónií včiel proti varroa tymolom si vyžaduje mnohopočetné aplikácie alebo vysoké podávané dávky, pričom oba takéto stavy spôsobujú, že včely odmietajú včelíny. Vysoké dávky sú tiež toxické pre senzitívne včelie larvy.

Spomenutým nevýhodám možno zabrániť spôsobom navrhovaným v tomto vynáleze. Nový spôsob je účinný nielen proti Varroa, ale zabraňuje tiež ďalším ochoreniam spôsobeným organizmami už spomenutými.

Príkladmi prostriedku s pomalým uvoľňovaním podľa predkladaného vynálezu sú gélové prostriedky, samostatne alebo v prostriedkoch prijateľných pre včely; impregovaných látkach; polymérových matriciach, kde sú včlenené spomenuté éterické oleje alebo organické kyseliny. Ošetrovanie zamorených kolónií včiel sa uskutočňuje pomocou gélu, gélového prúžku, gélových peliet, gélových tabliet alebo dokonca dávkovacích misiek naplnených ktoroukoľvek spomenutou formou, alebo iným druhom dávkovacieho systému s pomalým uvoľňovaním.

Matricové prostriedky s pomalým uvoľňovaním môžu predstavovať akýkoľvek druh dávkovacieho systému, napríklad plytkú plastovú dávkovaciu misku s hermetickým uzáverom z plastu alebo hliníka. Prostriedky s pomalým uvoľňovaním, použité spôsobom podľa tohto vynálezu, sa vyrábajú podľa spôsobov známych per se odborníkom v

oblasti. Ale, prostriedky s pomalým uvoľňovaním podľa predkladaného vynálezu sú výhodne vo forme matricotvorných gélov, ktoré obsahujú éterický olej alebo organickú kyselinu v čistej forme alebo ako tekutý prostriedok a gélotvorné množstvo zahusťovacej zložky a nosič prijateľný pre včely. Takýto prostriedok je vhodný aj pre tuhé, aj pre éterické oleje.

Ako zahusťovacie zložky možno zvlášť výhodne použiť polyméry kyseliny akrylovej. Komerčné produkty dostupné na tento účel zahŕňajú: karboxypolymetylény, karboxyvinylpolyméry alebo karboméry ako CARBOPOL® (B. F. Goodrich Corp., Cleveland, Ohio). Ďalšími vhodnými zahusťovacími zložkami sú napríklad karboxymetylcelulózy, polyvinylacetátové alkoholy ako MOWIOL® (HOECHST AG, Frankfurt, Nemecko), amóniové soli s dlhým reťazcom ako BENTONE (RHEOX GmbH, Leverkusen, Nemecko), hydrofilné polysacharidy ako RHODOPOL® (RHONE-POULENC, Paríž) alebo KELZAN® (KELCO COMP., San Diego) alebo deriváty celulózy ako TYLOSE (HOECHST AG, Frankfurt, Nemecko).

Výhodné formy prostriedkov s pomalým uvoľňovaním podľa predkladaného vynálezu obsahujú účinnú látku (éterický olej alebo organickú kyselinu), zahusťovadlo so zosieťovacím činidlom a vodu, ale nevyžadujú prítomnosť žiadneho ďalšieho detergentného činidla.

Bežné koncentrácie zahusťovadla v prostriedku s pomalým uvoľňovaním sú v rozmedzí od 0,01 do 1,5 % hmotnostných celkovej hmotnosti prostriedku, výhodne od 0,1 do 1,0 % hmotnostných, napríklad 0,3 %, 0,4 % alebo 0,5 % hmotnostných. Skutočná koncentrácia sa však dá odborníkom ľahko stanoviť, podľa požadovanej koncentrácie éterického oleja v prostredí včiel a veľkosti tohto priestoru.

Koncentrácia éterického oleja nie je striktné stanovená, ale vo všeobecnosti je medzi 5 a 50 % hmotnostnými celkovej hmotnosti prostriedku. Koncentrácia je výhodne medzi 10 % a 40 %, napríklad 20 %, 25 % alebo 30 % hmotnostných.

Zmesný pomer éterického oleja k zahusťovadlu závisí najmä od množstva zahusťovadla požadovaného na transformáciu éterického oleja alebo organickej kyseliny a nosičovej zmesi do gélu. V danom rozmedzí zložiek je medzi 3 : 1 a 5000 : 1, výhodne medzi 30 : 1 a 90 : 1, napríklad 40 : 1, 50 : 1, 60 : 1 alebo 70 : 1.

V bežnom prostriedku s pomalým uvoľňovaním tekutého alebo tuhého éterického oleja sa pridáva disperzia zahusťovadla typu kyseliny polyakrylovej (napríklad CARBOPOL® EZ1) vo vode a potom sa zmes zosieť pridaním primeraného množstva terciárneho alebo sekundárneho aminu, ako je 0,01 % až 2 % trietanolamín.

Zosieťovaním kyseliny polyakrylovej s mnohofunkčným aminom vznikne pri získanom géli matricová štruktúra.

Získaný prostriedok s pomalým uvoľňovaním poskytuje uvoľnenie účinného množstva éterického oleja alebo organickej kyseliny počas určeného času ošetrovania. Pod pojmom účinné množstvo sa rozumie dostatočné množstvo éterického oleja alebo organickej kyseliny, ktoré spôsobí aspoň 80 % potlačenie zamorenia parazitom/patogénom bez toho, aby v kolónii včiel došlo k významnej mortalite. Skutočne dosiahnutú a požadovanú koncentráciu vo včelíne možno jednoducho stanoviť v rutinnom experimente.

Takto získané nové prostriedky majú nasledovné výhodné vlastnosti:

1. Prostriedok zabezpečuje regulované uvoľňovanie účinnej látky (éterického oleja alebo organickej kyseliny) do včeliny v určenom časovom období a rozmedzí teplôt 10 až 40 °C.

2. Prostriedok je vysokoúčinný na potlačenie zamorenia spôsobeného pyretroid-rezistentnými, ako aj citlivými roztočmi *Varroa jacobsoni*, parazitujúcimi vo včelínach.

3. Prostriedok je účinný aj proti tracheálnemu roztoču *A. woodii*; väčším a menším moľom vosku, *Galleria mellonella* a *Achroia grisella*; dipteranovému škodcovi *Braula caeca*; plesňovým infekciám ako zamorenia vajíčok, *Ascophaera apis* a bakteriálnym infekciám, ako sú tie, ktoré zapríčínujú americké a európske škodce liahni vajíčok, *Bacillus larvae* a *Melissococcus pluton*.

Spôsob podľa predkladaného vynálezu sa výhodne a ideálne používa pri populácii včiel alebo v ich prostredí počas skorej jari a neskorého leta, t. j. pred alebo po hlavnej sezóne produkovania medu, nie je však na tieto obdobia ohraničený.

Prostriedok s pomalým uvoľňovaním je potrebné zaviesť dovnútra včelína a ponechať ho tam určený čas, čas ošetrovania nemá byť kratší ako 4 týždne a nie dlhší ako 6 týždňov, keď sa má prípravok zo včelína odstrániť.

V závislosti od klimatickej oblasti môže byť nevyhnutné takéto ošetrovanie zopakovať v neskoršom období roka, kvôli rozdielom v možnosti zopakovania zamorenia.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1:

Výroba prostriedku s pomalým uvoľňovaním tymolu

0,38 dielov CARBAPOLu® EZ1 sa pomaly pridáva k 73,86 dielom vody za miešania. 25 dielov tymolu sa jemne rozdrví a pridá sa k miešanej zmesi. K získanej disperzii sa pridá 0,76 dielov 50 % vodného roztoku trietanolamínu kvôli zosieťovaniu, za vytvorenia gélu.

Gélová zmes sa rozdelí na 50 dávok a vloží sa do plytkej plastovej dávkovacej misky. Povrch misky sa hermeticky uzavrie hliníkovou alebo plastovou fóliou. Alternatívne možno plytké hliníkové misky naplniť gélom a uzavrieť viečkom z plastovej fólie.

Príklad 2:

Disperzné prostriedky

Postupujúce podľa postupu v príklade 1 majú prostriedky s pomalým uvoľňovaním éterického oleja nasledovné látkové zloženie:

Éterický olej	CARBAPOL® EZ1	Trietanolamín (50% roztok)	Voda
Tymol 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Tymol 20 %	0,38 %	0,76 %	78,86 %
Tymol 15 %	0,48 %	0,96 %	83,56 %
Tymol 10 %	0,48 %	0,96 %	88,56 %
Tymol 30 %	0,38 %	0,76 %	68,86 %
Tymol 35 %	0,38 %	0,76 %	63,86 %
Tymol 40 %	0,38 %	0,76 %	58,86 %
Gáfor 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Oxalát vápenatý Do 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %

Príklad 3:

Suspenzné prostriedky

0,38 dielov CARBAPOLu® EZ1 sa pomaly pridáva k 73,86 dielom vody za miešania. 25 dielov cineolu (eukalyptolu) sa jemne rozdrví a pridá sa k miešanej zmesi. K získanej disperzii sa pridá 0,76 dielov 50 % vodného roztoku trietanolamínu kvôli zosieťovaniu za vytvorenia gélu.

Gélová zmes sa rozdelí na 50 dávok a vloží sa do plytkej plastovej dávkovacej misky. Povrch misky sa hermeticky uzavrie hliníkovou alebo plastovou fóliou.

ky uzavrie hliníkovou alebo plastovou fóliou. Alternatívne možno plytké hliníkové misky naplniť gélom a uzavrieť viečkom z plastovej fólie.

Podobným spôsobom sa vyrobia nasledovné prípravky s éterickým olejom:

Éterický olej	CARBA-POL® EZ1	Trietanolamín (50% roztok)	voda
Cineol 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Limonén 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Mentol 25 %*	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Neemový olej 25 %	0,38 %	0,76 %	73,86 %
Kyselina octová 30 %	0,48 %	0,96 %	68,56 %
Kyselina mravčia 25 %	0,48 %	0,96 %	73,56 %

* postup prebieha pri 40 °C

Príklad 4:

Biologický test

Dve misky s prostriedkom 25 % tymolu s pomalým uvoľňovaním získané z príkladu 1, každá obsahujúca 50 g gélu s pomalým uvoľňovaním, sa otvoria odstránením fóliového viečka a umiestnia sa na povrch širokých mriežok. Test sa začína umiestnením misiek do včelínov a pokračuje 6 týždňov. Zaznamenáva sa priemerná teplota vnútri a mimo včelína. Priemerná teplota vnútri včelína bola 33 až 34 °C, zatiaľ čo vonku sa pohybovala medzi 17 a 35 °C (noc/deň).

Po 4 až 6 týždňoch sa porovnal výskyt nákazy v ošetrovaných včelínach a pri neošetrovaných kontrolách spočítaním celkového počtu roztočov usmrtených počas ošetrovania a vydal sa tým istým celkovým množstvom plus počtom roztočov po konečnom ošetrení akaridínom, ktorý usmrtil všetky prežívajúce roztoče.

Výsledky sú nasledovné:

Ošetrovanie	Zamorenie na začiatku	Zamorenie po 4 týždňoch	Zníženie zamorenia v %
Tymol			
1 miska na včelín	3240	1675	48,3 %
2 misky na včelín	2446	557	77,2 %
kontrola	2873	2502	12,9 %

Záver

Testovaný prostriedok s pomalým uvoľňovaním je účinný proti zamoreniam spôsobeným *Varroa jacobsoni* vo včelínach, ako vidno z porovnania s kontrolou (neošetrované včely).

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob potlačenia akaridového, lepidopterového, plesňového a bakteriálneho zamorenia škodcami kolónií medonosných včiel, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa aplikuje do centra kolónií medonosných včiel účinné množstvo éterického oleja alebo organickej kyseliny vo forme prostriedku s pomalým uvoľňovaním účinnej látky.

2. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že škodce sú vybrané zo skupiny: *Varroa jacobsoni*, *Acarapis woodii* a *Tropilaelaps clareae*; *Galleria mellonella* a *Achroia grisella*; *Braula ceaca*; *Ascophaera apis*; *Bacillus larvae* a *Melissococcus pluton*.

3. Spôsob podľa nároku 1 alebo 2, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že škodcom je *Varroa jacobsoni*.

4. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 2, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že koncentrácia éterického oleja alebo organickej kyseliny je taká, aby zamorenie škodcom varroa bolo menšie ako 20 %-né počas obdobia najmenej jedného reprodukčného cyklu varroa.

5. Spôsob podľa nároku 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že koncentrácia éterického oleja alebo organickej kyseliny v prostredí kolónií medonosných včiel sa udržiava na hladine účinnosti dlhšie ako počas 4 až 6 týždňov.

6. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že éterický olej alebo organická kyselina je vybraná z monoterpénov, prírodných olejov alebo organických kyselín.

7. Spôsob podľa nároku 6, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že éterický olej alebo organická kyselina je vybraná z mentolu, geraniolu, tymolu, myrcénu, citralu, limonénu, karénu, gáfru, eugenolu, cineolu, citrónového oleja, eukalyptového oleja alebo oleja z *Azadirachta indica*, kyseliny mravčej, kyseliny octovej alebo kyseliny šťaveľovej, výhodne tymolu.

8. Gélový prostriedok s pomalým uvoľňovaním účinnej látky na potlačenie akaridového, lepidopterového, plesňového a bakteriálneho zamorenia škodcami kolónií medonosných včiel, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že obsahuje najmenej 10 % hmotnostných éterického oleja alebo organickej kyseliny na riadenie účinných hladín éterického oleja alebo organickej kyseliny počas najmenej jedného reprodukčného cyklu varroa roztočov.

9. Gélový prostriedok podľa nároku 8, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že je vo forme plytkej misky s hermetickým viečkovým uzáverom, gélových prúžkov, gélových peliet, gélových tabliet alebo dávkovacej misky naplnenej týmito formami.

10. Gélový prostriedok podľa nároku 8 alebo 9, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že éterický olej alebo organická kyselina je vybraná z monoterpénov, prírodných olejov alebo organických kyselín.

Koniec dokumentu