

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 978 291**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61P 33/14 (2006.01)
A01N 1/00 (2006.01)
A01N 65/08 (2009.01)
A01K 51/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.12.2017** **PCT/PL2017/000135**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.07.2018** **WO18124896**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2017** **E 17842400 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2024** **EP 3562495**

54 Título: **Composición para la prevención y control de enfermedades de las abejas y uso de aceite de cáñamo para la preparación de la composición**

30 Prioridad:

29.12.2016 PL 42003616

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.09.2024

73 Titular/es:

BEEMMUNITY UNLIMITED SP. Z O.O. (100.0%)
Ul.Gen. Leopolda Okulickiego 14/26A
35-206 Rzeszów, PL

72 Inventor/es:

KANIEWSKI, RYSZARD;
BAJAS, DANIEL y
MODLINSKI, RAFA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 978 291 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

Composición para la prevención y control de enfermedades de las abejas y uso de aceite de cáñamo para la preparación de la composición

- 5 El objeto de la invención es una composición para la prevención y control de *varroosis*. Más detalladamente, la invención se refiere a una composición que comprende aceite esencial de cáñamo para la prevención y el control de enfermedades de las abejas, especialmente enfermedades parasitarias, incluida la *varroosis*.

Hay muchas especies de ácaros que invaden las colonias de abejas. La mayoría ocupan el fondo de las colmenas y se alimentan de los restos que producen las abejas. Sin embargo, pocas especies de ácaros llevan vida parásita y pueden causar la muerte de toda la colonia de abejas.

- 10 La *varroosis* es una enfermedad parasitaria que afecta tanto a las abejas adultas como a las crías. Sólo el tipo de ácaros coreano (ruso) *Varroa destructor* reside en Europa. Machos de *Varroa destructor* residen sólo en la cría cubierta o poco después de que la abeja emerge de su celda. Los ácaros hembra sólo se encuentran en las abejas adultas. La parte bucal de *Varroa destructor* es de tipo perforador y chupador, adaptado para adquirir hemolinfa, que es el único alimento para este parásito. Todo el ciclo de vida tiene lugar en la cría cubierta, obreras y la cría de zánganos. Los ácaros hembra penetran en la celda de cría justo antes de que se cubra. A continuación, pone unos pocos huevos, de 2 a 5, en la pared de la celda. El primer huevo puesto no es fertilizado y después de algunas mudas se desarrolla un macho. De los otros huevos nacen las hembras. El macho muere después de una relación sexual. El ciclo de vida masculino dura alrededor de 6,2 días y el ciclo de vida femenino alrededor de 6,9 días. El ciclo de vida de las abejas obreras bajo cubierta dura 12 días, los zánganos duran 14 días y, por lo tanto, no todas las hembras hijas de ácaros alcanzan la adolescencia completa y son fertilizadas. Se supone que el promedio de hembras hijas en la celda de cría de abejas asciende a 2-3 y en la celda de cría de zánganos asciende a 3-4 hembras hijas. Las hembras de los ácaros abandonan las celdas junto con las abejas emergentes y se transfieren a las abejas adultas de las que se alimentan (normalmente durante unos 14 días) y luego penetran en las siguientes celdas de cría para comenzar un nuevo ciclo de vida.

- 20 La hembra de los ácaros jóvenes no fertilizados también penetra en la celda y deposita solo un óvulo no fertilizado. El macho así desarrollado fecunda durante el coito a su propia madre, quien en el próximo ciclo de vida consigue sus propias hijas [1].

Los ácaros en las colonias de abejas generalmente se controlan con pesticidas, incluyendo, p. ej., Apiwarol basado en amitraz, fipronil, fluvalinato, cumafós y otros. Para el control de *Varroa destructor* se utilizan métodos farmacológicos y de cría que permiten reducir la población de ácaros en las colonias de abejas.

- 30 En Polonia también existe un método biológico para controlar *Varroa destructor* en forma de ácaros beneficiosos *Stratiolaelaps cimitus*, que se aplican a la colmena con las abejas durante la primavera y el otoño. Los ácaros son demasiado pequeños para comerse a *Varroa destructor*, pero luchar contra ellos los daña de tal manera que el ciclo de vida no puede continuar.

- 35 La investigación científica ha demostrado que el tipo coreano de *Varroa destructor* desarrolla muy rápidamente resistencia a los acaricidas, especialmente a los del grupo de los piretroides sintéticos. Por lo tanto, se produce una disminución de la eficacia de los fármacos basados especialmente en fulvalinato. *Varroa destructor* es muy resistente a la falta de alimento, sin el cual puede durar hasta 9 días. Los ácaros pueden sobrevivir en celdas con crías muertas hasta 30 días.

- 40 Los apicultores se enfrentan cada año al problema de la *varroosis*. Las colonias de abejas contaminadas mueren en otoño sin ayuda humana y basta con que la contaminación primaveral alcance el nivel de 10 ácaros. La base del funcionamiento del colmenar es "limpiar" cuidadosamente las colonias de abejas de estos parásitos, para que no se produzca una reinvasión desde los colmenares tratados.

Varroa destructor causa, entre otras cosas:

- pérdidas en las colonias de abejas causadas por *Varroa destructor*,
- 45 - muerte de las colonias de abejas durante el invierno,
- aumento de las pérdidas durante el invierno
- pobre desarrollo primaveral
- bajo rendimiento de miel
- debilitamiento repentino de las colonias después de buscar alimento
- 50 - deformaciones del desarrollo. [1]

Johannes Novak *et al.* en la publicación "Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. and their microbial

activity" describe el uso del aceite esencial de cáñamo por sus actividades antimicrobianas [6].

El documento PL217334 (publ. 02-09-2013) describe el uso de una mezcla de aceites esenciales, más específicamente, aceite de árbol de té mezclado con aceite de albahaca y/o aceite de abeto para la preparación de una formulación para controlar los ácaros en colonias de abejas, en donde los ácaros incluyen *Varroa destructor* o *Typhlodromus pyri* Sch.

La descripción de la patente PL186883 (publ. 18-12-1997) describe una formulación en gel de liberación lenta y un método para controlar invasiones de ácaros, mariposas, hongos y bacterias en colonias de abejas melíferas, que comprende como sustancia activa aceite esencial o ácido orgánico en una concentración de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 50 %, preferiblemente del 10 % al 40 % del peso total de la formulación, espesantes con agente aglutinante en concentraciones del 0,01 % al 1,5 %, preferiblemente del 0,1 % al 1,0 % del peso total de la formulación, excipiente y agua. La formulación de liberación lenta de la invención es eficaz contra invasiones de *Varroa jacobsoni* de colonias de abejas en comparación con colonias de control.

Una formulación basada en aceite de cáñamo para el control de plagas, especialmente insectos verdaderos, y preferiblemente pulgones, se conoce del documento PL214762 (publ. 28-03-2011). Un concentrado para la preparación de una emulsión acuosa basada en aceite de cáñamo está destinado al control del pulgón del manzano (*Aphis pomi* Deg.) y pulgón del manzano rosado (*Dysaphis plantaginea* Pass.).

Adicionalmente, la solicitud PL394918 (publ. 19-11-2012) describe una composición contra plagas, especialmente arañuelas, basada en aceite esencial de cáñamo para el control de plagas, principalmente arañuelas. El concentrado para la preparación de emulsión de aceite de cáñamo está destinado principalmente a arañuelas (*Tetranychus urticae* Koch) y arañas rojas (*Tetranychus cinnabarinus* Bois.).

Aunque se conoce el uso de una composición basada en aceite esencial de cáñamo para el control de las arañuelas, cabe llamar la atención sobre el hecho de que existen alrededor de 30.000 especies de ácaros, adaptados a diferentes entornos, lo que da como resultado la diferenciación de especies. La única característica común de los ácaros es la conjunción de cefalotórax y abdomen y la falta de signos de segmentación en el exterior. El uso de la composición basada en aceite esencial de cáñamo contra una especie particular de ácaros que son abejas invasoras no se conoce en la técnica anterior ni siquiera se sugiere.

Adicionalmente, aunque existen soluciones en la técnica anterior, existe una necesidad constante de adquirir una composición para la prevención y el control de los ácaros que invaden las abejas, especialmente porque las soluciones anteriores parecen insuficientes. Los ácaros ganan resistencia a los acaricidas. Los pesticidas debilitan el sistema inmunológico de muchos animales y plantas. Las formulaciones químicas influyen en la contaminación de la miel y la cera. El uso de ácidos orgánicos, tales como ácido fórmico, ácido láctico o ácido oxálico, por otro lado, no da como resultado que los ácaros adquieran resistencia a estos ácidos, sino que requiere mucho trabajo y depende de las condiciones atmosféricas y del estadio de desarrollo de las colonias de abejas y, por lo general, no son suficientes. Las formulaciones antivarroa no se pueden utilizar durante el período de producción de miel comercializada. Adicionalmente, es necesario respetar estrictamente los plazos de gracia exigidos para formulaciones específicas.

El objetivo de la invención es controlar *V. destructor* con el uso de aceite esencial de cannabis sativa (*Cannabis sativa* L.). Estas formulaciones son repelentes o tóxicas. Es importante que los ingredientes del aceite tengan un impacto significativo sobre el control de *Varroa destructor* y pueden convertirse en una buena alternativa para formulaciones químicas.

La especie de la que se podrían utilizar extractos o aceites para proteger a las abejas de los ácaros es cannabis sativa (*Cannabis sativa* L.). Estas especies pertenecen al género Cannabis, familia de las cannabáceas. Hay tres especies dentro del género Cannabis, que son Cannabis indica (*Cannabis indica* Lam.), cannabis sativa (*Cannabis sativa* L.) y cannabis ruderalis (*Cannabis ruderalis* Janisch.).

Las especies del género Cannabis contienen una sustancia narcótica llamada tetrahidrocannabinol (Δ^9 THC). Por la cantidad de este compuesto se encuentran el hachís (entre un 5 y un 20 % de THC) y el cannabis fibroso (por debajo del 0,2 % de THC). La patente utiliza únicamente aceites esenciales de cáñamo producidos a partir de especies polacas de cannabis: Beniko y Bialobrzeska de bajo porcentaje de cannabinoides (por debajo del 0,2 % del peso del cáñamo seco). Tales especies cumplen con los requisitos que determina la ley (de fecha 6 de septiembre de 2001, Journals of Law n.º 125, pos. 1367) y están autorizados para su cultivo en Polonia. De hecho, la cantidad media de THC en los aceites en los últimos 3 años equivale aproximadamente al 0,0237 %.

El aceite esencial de cáñamo ha sido descrito detalladamente en la solicitud de patente P-394918. Es un líquido transparente, de color amarillo brillante a verde oscuro. La densidad relativa a una temperatura de 20 °C equivale aproximadamente a 0,840 g/cm³. El aceite de cáñamo comprende aproximadamente 58 monoterprenos y 38 sesquiterpenos. Los más importantes de todos ellos son: α -pineno, β -pineno, Δ 3-careno, β -mirceno, limoneno, β -felandreno, cis-ocimeno, trans-ocimeno, α -terpineno, trans- α -bergamoteno, β -cariofileno, β -humuleno, β -farneseno, β -selineno, selina-3,7(11)-dieno.

El aceite se obtiene mediante destilación al vapor de agua de inflorescencias (paja de cáñamo) y hojas tiernas. Debido

a su aroma característico el aceite se utiliza para la fabricación de diferentes artículos entre los que se encuentran por ejemplo cosméticos, artículos alimenticios, incluidas bebidas alcohólicas. Adicionalmente, el aceite de cáñamo se utiliza también en aromaterapia y como pesticida, porque dos compuestos del aceite de cáñamo, limoneno y α -pineno, ahuyentan a los insectos con su aroma.

- 5 Se ha realizado una investigación sobre el uso del cáñamo por sí solo y sus extractos como repelente contra diferentes plagas. Adicionalmente, el aceite esencial de cáñamo tiene propiedades bacteriostáticas contra las bacterias Gram+ (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) y bacterias Gram- (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi*, *especies Shigella*).

- 10 Sorprendentemente, se descubrió que el aceite esencial de cáñamo puede utilizarse para la prevención y el control de las enfermedades de las abejas, especialmente enfermedades parasitarias, incluida la varroosis.

El objeto de la invención es una composición para la prevención y control de *varroosis*, caracterizado por que comprende aceite esencial de cáñamo en una concentración del 0,1 al 50 %.

- 15 Preferiblemente, la composición, además del aceite esencial de cáñamo, comprende un disolvente natural, incluyendo aceites como, pero sin limitación, aceites esenciales, cera, propóleo, extracto etanólico de propóleo (EEP), agua, queroseno, alcohol, glicerina.

Preferiblemente, la composición comprende además aceite de girasol, en donde la proporción de aceite esencial de cáñamo y aceite de girasol es igual a 1:20.

- 20 Preferiblemente, la composición se aplica a las abejas usando métodos convencionales seleccionados de ahumar con aceite usando dispositivos ahumadores, evaporación natural del aceite desde un pequeño recipiente colocado en una colmena, de cera, extracto de propóleo o etanol (EEP), infiltración de matriz de madera con aceite y colocación en la colmena, rociando con aceite los espacios de las abejas (espacio libre entre panales en la colmena) donde se ubican las abejas.

- 25 Preferiblemente, la composición se aplica a las abejas usando métodos convencionales seleccionados de ahumar con aceite usando dispositivos ahumadores, evaporación natural del aceite desde un pequeño recipiente colocado en una colmena, de cera, extracto de propóleo o etanol (EEP), infiltración de matriz de madera con aceite y colocación en la colmena, rociando con aceite los espacios de las abejas (espacio libre entre panales en la colmena) donde se ubican las abejas. Para una mejor comprensión de la invención, a continuación se muestran realizaciones de ejemplo.

Ejemplo 1

- 30 El aceite de cáñamo se utilizó en una concentración del 5 % disolviéndolo en aceite de girasol natural. La investigación se realizó en 10 colonias de abejas de la especie/línea Kwainka CTA6 en tipo colmena "Varsovia", de las cuales 5 eran grupo de ensayo, donde se utilizó el objeto de la invención y el resto fueron grupo control. Se evaluó un daño inicial a la colonia de abejas por *V. destructor* antes de la investigación.

Daño inicial a la colonia de abejas por *V. destructor*

Grupo de ensayo	
n.º de colmena	Cantidad de <i>V. destructor</i>
1	13
2	17
3	15
4	8
5	10
Total:	63
Grupo de control	
n.º de colmena	Cantidad de <i>V. destructor</i>
6	25
7	12
8	11
9	16
10	17
Total:	81

Se colocaron tiras de madera infiltradas con aceite de cáñamo entre los panales para controlar *V. destructor* en colmenas del grupo de ensayo. Se utilizaron tres tiras en cada colmena. Después de 48 horas se evaluó la letalidad del parásito. En el grupo de control se utilizó Apiwarol en una cantidad de 12,5 mg como compuesto de comparación. El tratamiento se realizó en dos repeticiones semanales (cada siete días) directamente sobre las colonias de abejas en el colmenar.

Letalidad del parásito *V. destructor*

	Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)	
	Aceite de cáñamo al 5 %	Apiwarol 12,5 mg
Primer tratamiento	50	54
Segundo tratamiento	28	17

Después de 48 horas desde el tratamiento, el aceite de cáñamo al 5 % mostró una eficacia similar en comparación con la formulación de Apiwarol. Durante el segundo tratamiento, aplicado después de siete días, se ha observado una eficacia un 60 % mayor para el aceite de cáñamo en comparación con la formulación antivarroa de Apiwarol.

Ejemplo 2

El aceite de cáñamo se utilizó en concentraciones de 0,5, 1 y 2,5 % disolviéndolo en queroseno purificado. La investigación se llevó a cabo en tres colonias seleccionadas de abejas de la especie/línea Kwainka CTA6 en colmenas del tipo "Gran Polonia" con fondo higiénico. El tratamiento se realizó en dos repeticiones con un intervalo de 3 días. Después de la investigación para determinar la efectividad del objeto de la invención, la formulación de control de Apiwarol se utilizó después de 7 días.

Ejemplo 2.1

Se disolvieron 0,5 ml de aceite de cáñamo en 99,5 ml de queroseno purificado para obtener una concentración del 0,5 %. La solución al 0,5 % se evaporó en la colmena utilizando un dispositivo electrónico para controlar *V. destructor* en la colonia de abejas. La letalidad del parásito se evaluó 12 horas después del tratamiento.

Ejemplo 2.2

Se disolvieron 1 ml de aceite de cáñamo en 99 ml de queroseno purificado para obtener una concentración del 1 %. La solución al 1 % se evaporó en la colmena mediante un dispositivo electrónico para controlar *V. destructor* en la colonia de abejas. La letalidad del parásito se evaluó 12 horas después del tratamiento.

Ejemplo 2.3

Se disolvieron 2,5 ml de aceite de cáñamo en 97,5 ml de queroseno purificado para obtener una concentración del 2,5 %. La solución al 2,5 % se evaporó en la colmena mediante un dispositivo electrónico para controlar *V. destructor* en la colonia de abejas. La letalidad del parásito se evaluó 12 horas después del tratamiento.

La eficacia del aceite de cáñamo en el control de las enfermedades parasitarias de las abejas, incluida *V. destructor* se confirmó después de realizar esta investigación.

Letalidad del parásito tras el uso del aceite de cáñamo

	Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)	
	Tratamiento 1	Tratamiento 2
n.º de colmena 1, aceite de cáñamo - 0,5 %	18	11
n.º de colmena 2, aceite de cáñamo - 1 %	38	13
n.º de colmena 3, aceite de cáñamo - 2,5 %	28	7

Letalidad del parásito después del uso de la formulación de control de Apiwarol después de siete días del uso de aceite de cáñamo.

	Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)
n.º de colmena 1	6
n.º de colmena 2	7
n.º de colmena 3	3

La cantidad del parásito *V. destructor* después del segundo tratamiento con evaporación del aceite de cáñamo en la colmena ha disminuido en:

- 39 % para la concentración del 0,5 %
- 64 % para la concentración del 1 %
- 75 % para la concentración del 2,5 %

Después del tratamiento de control con la formulación de comparación de Apiwarol, se comprobó que el aceite de cáñamo tiene una eficacia significativa. Las muertes de *V. destructor* después del uso del ensayo de control han disminuido en promedio un 75 % en comparación con las muertes determinadas después del primer tratamiento.

Ejemplo 3

El aceite de cáñamo se utilizó en una concentración del 50 % disolviéndolo en queroseno purificado. La investigación se llevó a cabo en 10 colonias de abejas de la especie/línea Kwainka CTA6 en el tipo de colmena "Varsovia", de las cuales 5 fueron el grupo de ensayo donde se utilizó el objeto de la invención y el resto fueron el grupo de control. Se evaluó un daño inicial a la colonia de abejas por *V. destructor* antes de la investigación.

Daño inicial a la colonia de abejas por *V. destructor*

Grupo de ensayo	
n.º de colmena	Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)
1	27
2	15
3	33
4	26
5	19
Total:	120
Grupo de control	
Colmena n.º	Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)
6	22
7	17
8	31
9	11
10	24
Total:	105

Se colocó un recipiente lleno con de aceite de cáñamo al 50 % en los bordes de las colmenas para controlar *V. destructor* en colmenas del grupo de ensayo. Se colocó una espuma floral en los recipientes para facilitar la evaporación de la formulación. La letalidad del parásito se evaluó después de 120 horas. En el grupo de control se utilizaron 12,5 mg de Apiwarol como formulación de comparación.

Letalidad del parásito *V. destructor*

	Aceite de cáñamo al 50 %	12,5 mg de Apiwarol
Muertes de parásitos <i>V. destructor</i> (uds.)	41	69

Después de 120 horas desde el tratamiento, el aceite de cáñamo al 50 % ha demostrado una eficacia del 59 % del aceite de cáñamo en comparación con la formulación de comparación de Apiwarol.

Referencias:

1. Pawet Chorbiński "Zapobieganie i zwalczanie chorób pszczół"
2. Krystyna Pohorecka "Zwalczanie warrozy - propozycja modelu postępowania w warunkach polskich"

Departamento de Parasitología y Enfermedades Invasivas, PIWet-PIB en Puławach

3. Paweł Chorbiński (2008) "Pokonaj warrozę"

4. Maksymiuk W., Konopacka Z., (1986) "Gospodarka pasieczna na terenach zagrożonych warrozą", WOPR Halasy z/s en Grabanowie.

5 5. Cybulski W., Dzierżanowski A., (2010) "Analiza statystyczna wyników skuteczności APIWAROLU AS en estudios realizados en 1981-2009"

6. Johannes Novak *et al.* "Essential oils of different cultivars of Cannabis sativa L. and their microbial activity", Flavour and fragrance Journal, vol. 16, n.º 4, 01-07-2001, pág. 259-262, ISSN: 0882-5734.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en la prevención y control de *varroosis*, caracterizada por que comprende aceite esencial de cáñamo en una concentración del 0,1 al 50 %.
- 5 2. Una composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la composición, además del aceite esencial de cáñamo, comprende un disolvente natural, que incluye aceites tales como aceites esenciales, cera, propóleo, extracto etanólico de propóleo (EEP), agua, queroseno, alcohol, glicerina.
3. Una composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la composición comprende adicionalmente aceite de girasol, en donde la proporción de aceite esencial de cáñamo y aceite de girasol es igual a 1:20.
- 10 4. Una composición para su uso según la reivindicación 1, en donde la composición se aplica a las abejas usando métodos convencionales seleccionados de ahumar con aceite usando dispositivos ahumadores, evaporación natural del aceite desde un pequeño recipiente colocado en una colmena, de cera, extracto de propóleo o etanol (EEP), infiltración de matriz de madera con aceite y colocación en la colmena, rociando con aceite los espacios de las abejas (espacio libre entre panales en la colmena) donde se ubican las abejas.