

INFORME TECNICO FINAL

Cláusula de confidencialidad	SI
Nombre del proyecto	Producto farmacéutico para uso en <i>Apis mellífera</i> , en base a extracto vegetal, para el control de la infección causada por el patógeno de distribución mundial <i>Nosema ceranae</i> .
Código del proyecto	PYT-2019-0215
Nombre coordinador	Jessica Martínez
Firma coordinador	

INSTRUCCIONES PARA COMPLETAR Y PRESENTAR EL INFORME

- I. **Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.**
- II. **Para completar el informe se debe tener en consideración el Manual de apoyo a Ejecutores para elaborar Informes Técnicos Finales.**
- III. **Sobre la presentación a FIA del informe**
 - La presentación de los informes técnicos se realizará mediante la entrega de 2 copias digitales idénticas y sus anexos, en la siguiente forma:
 - a) Un documento "Informe Técnico Final", en formato word.
 - b) Un documento "Informe Técnico Final", en formato pdf.
 - c) Los anexos identificando el número y nombre, en formato que corresponda.
 - La entrega de los documentos antes mencionados debe hacerse mediante correo electrónico dirigido a la Oficina de Partes de FIA (oficina.partes@fia.cl). La fecha válida de ingreso corresponderá al día, mes y año en que es recepcionado el correo electrónico en la Oficina de Partes de FIA. Es responsabilidad del Ejecutor asegurarse que FIA haya recepcionado oportunamente los informes presentados.
 - Para facilitar los procesos administrativos, se debe indicar en el "Asunto" del correo de envío: **"Informe Técnico Final PYT-XXXX-YYYY"**.
 - La fecha de presentación debe ser la establecida en la sección detalle administrativo del Plan Operativo del proyecto o en el contrato de ejecución respectivo.
 - El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.

CONTENIDO DEL INFORME TÉCNICO FINAL

1. ANTECEDENTES GENERALES	4
2. RESUMEN EJECUTIVO	5
3. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO	7
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE) DEL PROYECTO.....	7
5. RESULTADOS ESPERADOS (RE) DEL PROYECTO.....	8
8. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO	32
9. ACTIVIDADES REALIZADAS Y NO REALIZADAS DEL PROYECTO.....	33
10. POTENCIAL IMPACTO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.....	36
11. CAMBIOS EN EL ENTORNO	37
12. PRODUCTORES PARTICIPANTES DURANTE LA EJECUCIÓN	38
13. DIFUSIÓN	39
14. CONCLUSIONES	40
15. RECOMENDACIONES.....	41
16. MENCIONE OTROS ASPECTOS QUE CONSIDERE RELEVANTE INFORMAR, SI LOS HUBIERE.	42
17. ANEXOS.....	43
18. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	44

1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre ejecutor:	Jessica Martínez
Nombre(s) asociado(s):	Apiquality SpA
Fecha de inicio proyecto:	15-07-2019
Fecha término proyecto:	30-06-2022
Duración total (meses):	42
Versión del Plan Operativo Vigente:	V4.0
Tipo de proyecto	Bien de Interés Privado

2. RESUMEN EJECUTIVO

2.1 RESUMEN DEL PERÍODO NO INFORMADO

El resumen debe ser integrador del avance general del proyecto, con énfasis en los resultados obtenidos durante el **período no informado** de la etapa correspondiente, fundamentando con datos cuantitativos y cualitativos que lo respalden.

(El texto debe contener máximo 3.000 caracteres con espacios incluidos.)

Se realizó un ensayo profiláctico de campo, en el cual se obtuvo un factor de reducción del nivel de infección (recuento de colmenas tratadas / colmenas no tratadas) de 0,136 (**OE5:RE11**) alcanzando la meta del indicador. Se identificó la concentración de producto que inhibe la carga de esporas de *N. ceranae* en un 66% comparado al control sin tratamiento (**OE5:RE13**).

Se realizaron los ensayos de campo asociados a la validación del PMV, en el cual hubo algunas dificultades asociadas a cambios ambientales, que retrasaron el inicio del ensayo en 6 de los 8 apiarios seleccionados. En el apiario PMV N°1 no fue posible obtener muestras del tiempo final y se vio afectado el consumo por las bajas temperaturas, mientras que en el apiario PMV N°4 se logró identificar que el 60% de las colmenas superan la infección (**OE6:RE14**). Se continúa con la validación de los 6 apiarios PMV restantes a medida que lo permiten las condiciones climáticas de cada localidad. Con estos ensayos se obtuvo retroalimentación de los apicultores y se validó el instructivo de uso de aplicación del formulado HO21-F (**OE6:RE15**) y el protocolo de fabricación para el escalamiento (**OE6:RE16**).

Se inició el registro de marca internacional mediante el convenio **Protocolo de Madrid** para 12 países de interés comercial (Turquía, España, Rumania, Polonia, Francia, Italia, Bulgaria, Inglaterra, México, Estados Unidos, Canadá y China) (**OE7:RE17**), y se elaboró una carpeta para la solicitud de registro para ser presentada en el SAG (**OE7:RE18**). Se han prospectado socios internacionales en los países de interés para la distribución el producto.

2.2 RESUMEN DEL PROYECTO

El resumen debe ser integrador del avance general del proyecto, con énfasis en los resultados obtenidos **durante todo el período de ejecución del proyecto**, fundamentando con datos cuantitativos y cualitativos que lo respalden.

(El texto debe contener máximo 3.000 caracteres con espacios incluidos.)

El desarrollo de este proyecto permitió la fabricación a escala piloto y validación de la formulación HO21-F como antifúngico para el control de Nosemosis.

Ensayos terapéuticos y profilácticos en laboratorio

Los ensayos fueron realizados considerando abejas criadas en laboratorio e infectadas individualmente con esporas de *N. ceranae*. La formulación fue dada en el alimento y se

registró su consumo, el efecto en la sobrevida y en el grado de infección de las abejas. Los resultados indicaron que el tratamiento terapéutico con HO21-F permite reducir el nivel de infección en un 85% y 88%, mientras que el tratamiento profiláctico reduce en un 72,9% y 86,8% el nivel de infección a las concentraciones de 0,5 y 1 g/L, para ambos tratamientos respectivamente.

Ensayos terapéuticos y profilácticos en campo

Se realizó un diseño que consideró la aplicación del formulado en el alimento a una concentración de 2,5 g/L. Se evaluó el nivel de infección pre y post tratamiento, determinándose que HO21-F tiene efecto terapéutico y profiláctico en campo, reduce el recuento de esporas en un 82% y un factor de reducción de 0,136, respectivamente. En base a la experiencia de campo y los resultados obtenidos, se elaboró un protocolo de uso terapéutico y profiláctico del formulado. El formulado además generó beneficios en la fortaleza de la colonia.

Caracterización de HO21-F

Se definieron los **parámetros de fabricación** del formulado, los cuales fueron 7 cualitativos y cuantitativos. Estos parámetros fueron considerados en los estudios de estabilidad y control de calidad. Junto con poner a punto las técnicas analíticas, se elaboró un protocolo de fabricación. Se determinó que el formulado a una concentración de 2,5 g/L tiene una concentración de fenoles totales de 800 µg/mL, lo que equivale a 320 mg EAG / g de HO21. Respecto a la actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* se definió un MBC de 2 mg/mL de HO21-F y una concentración de 20,1 µg de oleuropeína /mg de formulado como cohorte para el control de calidad del producto final.

A través del **estudio de estabilidad acelerada**, se pudo establecer que de 3 distintos empaques prototipo evaluados, para la fabricación del formulado a escala piloto, el empaque más apropiado para el escalamiento corresponde a doypack de aluminio.

La **evaluación del PMV** la realizaron apicultores seleccionados por el equipo de trabajo. Evaluaron la presentación del producto, el instructivo de uso y aplicación y su efecto en ensayos de campo.

Se inició el registro de marca N°1496373 nacional e internacional y se elaboró dossier de presentación para registro farmacéutico. El marketing científico contempló la construcción de un sitio web, presentación en congresos y publicación científica en relevante revista del área *J. of Parasitology Research*. Se han prospectado socios internacionales en los países de interés para la distribución del producto.

3. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Obtener a escala piloto un producto farmacéutico para uso en *Apis melífera*, en base a extracto vegetal, con propiedades antifúngicas para control de infección causada por el patógeno *Nosema ceranae*.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE) DEL PROYECTO

N° OE	Objetivos específicos (OE)
1	Evaluar el efecto terapéutico del formulado en el laboratorio, para determinar la dosis efectiva
2	Evaluar el efecto profiláctico del formulado en el laboratorio, para determinar la dosis efectiva
3	Desarrollar el formulado (HO21-F) a escala piloto y establecer los controles de calidad asociados
4	Evaluar el efecto terapéutico del formulado en ensayos de campo para ajustar la dosis efectiva del tratamiento
5	Evaluar el efecto profiláctico del formulado en ensayos de campo para ajustar la dosis efectiva del tratamiento.
6	Evaluar el producto mínimo viable (PMV) con apicultores, en aspectos terapéuticos, de uso/aplicación y empaquetado
7	Desarrollar el modelo de negocios en los mercados de interés

5. RESULTADOS ESPERADOS (RE) DEL PROYECTO

*Repetir el cuadro tantas veces como Resultados Esperados (RE) tenga el proyecto (**Un cuadro por cada Resultado**)

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
1	RE1: Se espera que el recuento de esporas de Nosema en abejas con tratamiento sea 75% menor al recuento de esporas en abejas sin tratamiento terapéutico.	(Nº esporas en abejas infectadas sin tratamiento - Nº de esporas en abejas infectadas con tratamiento) / Nº esporas en abejas infectadas sin tratamiento x 100	100% (ambos grupos parten infectándose con igual concentración de esporas)	Al menos un 75%	30-11-2019	88%	31-12-2019	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
<p>Para determinar el efecto terapéutico del formulado en laboratorio se realizaron 3 ensayos experimentales. Como se observa en la tabla 1, en el primer ensayo se obtuvieron reducciones del nivel de infección del 54% y un 53% para los días 7 y 14 post-infección (dpi) en las abejas tratadas con formulado (HO21-F) a la concentración de 0,5 g/L. En el segundo ensayo se testearon 2 concentraciones del formulado 0,5 y 1 g/L, donde la mayor reducción en el nivel de infección se alcanzó a 1 g/L a 14 dpi con un 92,3% (valor p = 0,2867). Sin embargo, esta diferencia no alcanzó resultados estadísticamente significativos debido a la dispersión de los datos (ver anexo 2). En el tercer ensayo a los 14 dpi se obtuvo una reducción del nivel de infección a la concentración de 1 g/L de un 88,0% (valor p = 0,0017) resultado estadísticamente significativo. Por lo que se consideró como el valor del indicador para el ensayo terapéutico al término del proyecto.</p>									

Tabla 1. Porcentaje de reducción de los niveles de infección de *N. ceranae* en ensayos terapéuticos de laboratorio

Experimento terapéutico en laboratorio	Reducción del nivel de infección (%)			
	7 dpi		14 dpi	
	HO21-F (g/L)			
	0,5	1	0,5	1
1° Octubre 2019	53,5	-	52,6	-
2° Diciembre 2019	68,3	89,7	79,1	92,3
3° Enero 2020	63,8	85,4	72,2	88,0

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 2. Bitácora de ensayos de laboratorio con formulado (HO21-F)

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
1	RE2: Dosis terapéutica efectiva del formulado a aplicar en los estudios de campo	Dosis terapéutica efectiva (g/L)	Desconocida	Conocida	Enero / 2019	Conocida (0,5 g/L)	Diciembre / 2019	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Los resultados reportados en RE1 indican que el formulado puede ser efectivo en disminuir los niveles de infección de forma significativa desde la concentración de 0,5 g/L.									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 2. Bitácora de ensayos de laboratorio con formulado (HO21-F)									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
2	RE3: Se espera que en abejas que consumieron HO21-F previo a la infección el recuento de esporos germinados en el periodo de evaluación sea menor que en aquellas abejas que no fueron expuestas al formulado profiláctico	(N° de esporas en abejas infectadas sin tratamiento - N° de esporas en abejas infectadas con tratamiento profiláctico)/ N° Esporas en abejas infectadas sin tratamiento x 100	Indeterminado (no hay esporas presentes)	66%	Diciembre / 2019	72,9%	Enero / 2020	100	100

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.

En el plan operativo se ha indicado que la meta indicador es una razón de 1/3, con el objetivo de homologar los resultados con los entregados en informe N°1 éste se convirtió a su equivalente en porcentaje (66%).

Para determinar el efecto profiláctico del formulado en laboratorio se realizaron 3 ensayos experimentales. Como se observa en la tabla 2, en el primer ensayo se obtuvieron reducciones del nivel de infección del 17,7% y un 9,1% en las abejas tratadas con HO21-F para los días 7 y 14 post-infección (dpi) a la concentración de 0,5 g/L de formulado HO21-F. En el segundo ensayo se testearon dos concentraciones de 0,5 y 1 g /L de HO21-F, y la mayor reducción observada fue de 73,5%, el cual no fue estadísticamente significativo (valor p = 0,0814). En el tercer ensayo se obtuvo una reducción del nivel de infección de 72,9 % (estadísticamente significativo) y 87% a las concentraciones de 0,5 y 1 g/L a los 14 dpi respectivamente (valores p = 0,0046; 0,0298). En conclusión, el valor del indicador del resultado alcanzado para la reducción del recuento de esporas es de un 72,9% a la concentración de 0,5 g/L.

Tabla 2. Porcentaje de reducción de los niveles de infección de *N. ceranae* en ensayos profilácticos de laboratorio .

Experimento profiláctico en laboratorio	Reducción el nivel de infección (%)			
	7 dpi		14 dpi	
	HO21-F (g/L)			
	0,5	1	0,5	1
1° Octubre 2019	17,7	-	9,1	-
2° Febrero 2020	7,4	67,9	73,5	67,3
3° Abril 2020	61,5	67,6	72,9	86,8

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 2. Bitácora de ensayos de laboratorio con formulado (HO21-F)

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
2	RE4: Dosis profiláctica efectiva del formulado a aplicar en los estudios de campo.	Dosis profiláctica efectiva en g/L	Desconocida	Conocida	Diciembre / 2019	Conocida (0,5 g/L)	Enero / 2020	100	100

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.

Los resultados reportados en RE4 indican que la dosis profiláctica efectiva es a partir de la concentración mínima utilizada de 0,5 g/L.

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 2. Bitácora de ensayos de laboratorio con formulado (HO21-F)

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)																
3	RE5: Tener parámetros que permitan validar el proceso de fabricación	unidades	-	2	01-06-2020	7	Octubre / 2020	100	100																
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.																									
<p>Se identificaron los parámetros que permiten validar el proceso de fabricación y se establecieron sus metodologías de medición. Los parámetros cuantitativos determinados son 7: Concentración de fenoles, pH, actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> y concentración de oleuropeína, color, olor y aspecto de acuerdo a lo detallado en la siguiente tabla:</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Parámetros de fabricación</th> <th>Formulado</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Color</td> <td>Marrón verdoso</td> </tr> <tr> <td>Olor</td> <td>Amargo - cítrico</td> </tr> <tr> <td>Aspecto</td> <td>Polvo liviano resinoso al tacto</td> </tr> <tr> <td>Concentración de Oleuropeína</td> <td>20±2% µg/mg HO21-F</td> </tr> <tr> <td>Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i></td> <td>2 mg/mL HO21</td> </tr> <tr> <td>Concentración de fenoles</td> <td>322±2 µg EAG/mg HO21-F</td> </tr> <tr> <td>pH</td> <td>3,8±0,2</td> </tr> </tbody> </table>										Parámetros de fabricación	Formulado	Color	Marrón verdoso	Olor	Amargo - cítrico	Aspecto	Polvo liviano resinoso al tacto	Concentración de Oleuropeína	20±2% µg/mg HO21-F	Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i>	2 mg/mL HO21	Concentración de fenoles	322±2 µg EAG/mg HO21-F	pH	3,8±0,2
Parámetros de fabricación	Formulado																								
Color	Marrón verdoso																								
Olor	Amargo - cítrico																								
Aspecto	Polvo liviano resinoso al tacto																								
Concentración de Oleuropeína	20±2% µg/mg HO21-F																								
Actividad antimicrobiana contra <i>S. aureus</i>	2 mg/mL HO21																								
Concentración de fenoles	322±2 µg EAG/mg HO21-F																								
pH	3,8±0,2																								
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.																									
- Anexo 3. Protocolos de medición de parámetros de fabricación.																									

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
3	RE6: Protocolo de elaboración del formulado a escala piloto	Documento	no existe	existe	Junio / 2020	existe	Marzo / 2022	100	100

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.

Se fabricaron los lotes a escala piloto en una planta dispuesta en UTEM, los cuales se utilizaron para el estudio de estabilidad acelerado. Se fabricaron 4 lotes de 7 kg cada uno utilizando el protocolo validado. Se determinó que los 4 lotes cumplen con los parámetros de fabricación esperados ya establecidos previamente. Posteriormente, para continuar con el proceso de fabricación a mayor escala de nuevos lotes para el registro SAG se estableció una colaboración la empresa maquiladora Alimundo (<https://www.alimundo.cl/>), que se especializa en evaluación de pilotos de proyectos pecuarios y desarrollo de productos nutricionales de uso veterinario. Se han tenido reuniones de negociación con el Gerente de Planta y el Jefe de Producción, y se han establecidos una etapa inicial de testeo de características de planta y mezcladora para determinar factibilidad técnica. Para esto se están importando una cantidad de extracto y materias primas para la fabricación en marcha blanca de un lote de 100 kg de formulado con la mezcladora de la empresa, y realizar los últimos ajustes operacionales (RPM de paleta mezcladora y tiempo de mezclado). Estas gestiones se están realizando con posterioridad al término de ejecución del proyecto.

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 4. Protocolo de Fabricación de lotes pilotos de formulado HO21-F
- Anexo 5. Convenio de confidencialidad con empresa maquiladora

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
3	RE7: Estudio de estabilidad acelerado	Documento	no existe	existe	Noviembre / 2020	existe	Noviembre / 2021	100	100

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
3	RE7: Estudio de estabilidad acelerado	Documento	no existe	existe	Noviembre / 2020	existe	Noviembre / 2021	100	100
<p>El estudio de estabilidad acelerado se realizó con 3 tipos de envases prototipo, con el fin de determinar las propiedades idóneas del empaque primario del producto. Los resultados registrados al mes 3 y mes 6 indican que al menos 2 empaques cumplen con 4 de 7 parámetros de fabricación previamente establecidos, los cuales se seleccionó el empaque Doypack de aluminio para iniciar el estudio de estabilidad real, el cual se encuentra en curso a partir del mes de mayo 2022.</p> <p>Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.</p> <p>- Anexo 6. Estudio de Estabilidad acelerado</p>									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
4	RE8: El formulado tiene efecto terapéutico en pruebas de campo (colmenas infectadas).	(% de reducción promedio de colmenas sin tratar / % de reducción promedio de	100% (ambos grupos parten infectándose con igual concentración de esporas)	menor o igual al 25%	Enero / 2021	25,6%	Marzo / 2022	99,2	99,2

		colmenas tratadas x 100)							
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
<p>Dado los resultados respecto al ensayo terapéutico realizado durante el mes de Septiembre 2021 presentados en el informe técnico N°4, se propuso realizar un nuevo ensayo de terreno considerando los siguientes aspectos: i) delimitar una distancia entre la separación de al menos 450 metros entre grupos experimentales control y tratamiento terapéutico con HO21-F, ii) determinar las condiciones climáticas y agroecológicas y iii) considerar un programa de adecuación de las colmenas experimentales en cuanto a parámetros de fortaleza antes de la intervención. Para esto se realizó un registro riguroso de la población, y luego del diagnóstico de nosemosis inicial, se realizó una separación de los grupos experimentales en los extremos del terreno donde se encontraba el apiario.</p> <p>Los grupos experimentales que se evaluaron en este estudio fueron: i) Control: colmenas infectadas alimentadas con jarabe, ii) Terapéutico HO21-F: colmenas infectadas alimentadas con el formulado HO21-F y iii) Terapéutico Apiherb: grupo de colmenas alimentadas con el producto comercial Apiherb®. Los resultados indican que en los tres grupos experimentales hubo una disminución del nivel de infección. Se observó una reducción significativa de un 71% en el nivel de infección del grupo III alimentado con HO21-F, equivalente al nivel de reducción observado en el tratamiento con Apiherb 70% (anexo 7). Respecto al control, se observa una disminución que no es significativa ($p = 0,2778$), la cual es consistente con los ensayos realizados en temporadas anteriores.</p> <p>Si bien el control también presentó una reducción del nivel de infección, este fenómeno se ha observado tanto en ensayos anteriores, como también en los controles de algunos ensayos de campo de terceros realizados con el producto comercial Apiherb® (Nanetti et al. 2014). En estos estudios se ha propuesto que el estado nutricional de las colmenas, junto con otros factores como las condiciones agroecológicas, disponibilidad de polen, nivel de población inicial, factores de virulencia y viabilidad de las esporas de <i>N. ceranae</i>, pueden favorecer la recuperación de la colmena de la enfermedad (Rodríguez-García 2018).</p> <p>Adicionalmente se ha reportado en literatura en estudios previos, que en ensayos de campo se observan fluctuaciones en los niveles de infección de los grupos experimentales control alimentados con jarabe; En un ensayo de campo en Marchamalo, España, con Apiherb, se observó una disminución aparente en el control durante las tres primeras semanas de evaluación, mientras que las semanas subsecuentes vuelve a incrementar el nivel de infección (Nanetti et al. 2014). Otros estudios realizados con variedades de extractos vegetales han observado variaciones en el grupo control que derivan de las condiciones estacionales entre pre-tratamiento en otoño, post-tratamiento en otoño, pre-tratamiento primavera y post- tratamiento primavera, donde existe una tendencia a la baja en el nivel de infección desde post-tratamiento en otoño hasta post-tratamiento primavera, y nuevamente un alza post-cosecha hacia el siguiente período año (Rodríguez-García 2018).</p> <p>Los estudios reportados anteriormente indican que las colmenas controles alimentadas con jarabe, suelen presentar estas variaciones en los ensayos de campo, por lo que se sugiere que el parámetro más apropiado para determinar la eficacia de reducción del nivel de infección de nosemosis es realizar la comparación entre el grupo alimentado con el formulado antes y después del tratamiento terapéutico.</p>									

Otros autores han señalado que el comportamiento de las abejas en las colmenas en campo es muy diferente al no ser individuos independientes, sino más bien actúan como una colonia compuesta con un gran número de individuos, obteniendo escenarios preliminares de la población y condicionales iniciales que varían de colmena a colmena, lo que no permite apreciar en su real dimensión la eficacia del producto (Higes et al. 2014; Rodríguez-García 2018). Sin embargo, al establecer el cálculo del promedio del N° de esporas/abeja para todas las colmenas del grupo experimental, se produce una pérdida del efecto individual observado en cada colmena (tabla N°3).

Tabla 3. Ensayo Terapéutico en campo: reducción porcentual del nivel de infección de las colmenas control y tratadas con formulado HO21-F.

Experimento terapéutico en campo	Reducción el nivel de infección (%)		
	Control	HO21-F [2,5 g/L]	Apiherb®
1° Septiembre - Octubre 2021	58,8	82,2	67,8
3° Enero - Marzo 2022	21	82,5	-

Como alternativa para determinar el efecto del formulado respecto al control, considerando la individualidad de cada colmena es analizar los datos por el método de Liebefeld (Bargen et al. 2020). Este consiste en determinar el porcentaje de reducción individual de cada colmena para ambos grupos experimentales, e interpretar el parámetro de nivel de infección a la baja o al alza, dependiendo si el nivel incrementa o disminuye. Se observa que al menos una colmena del grupo control incrementó su nivel de infección, mientras que el resto están a la baja (anexo 7). En el caso del grupo tratado con el formulado, todas las colmenas están a la baja, y 6 de 7 colmenas llegan a una reducción sobre el 75%.

Por consiguiente, para determinar el RE8, referente a la reducción del nivel de infección en colmenas tratadas respecto al control, se puede calcular utilizando el promedio del porcentaje de reducción individual para cada colmena, de la siguiente forma:

$$\frac{\% \text{ de reducción promedio de colmenas sin tratar (Control)}}{\% \text{ de reducción promedio de colmenas tratadas (HO21 - F)}} \times 100 = RE8$$

Con esta metodología de cálculo, utilizando los promedios de porcentaje de reducción individual, se pudo determinar un porcentaje de reducción del nivel de infección de un 25,6% en las colmenas tratadas respecto al control.

Junto al efecto terapéutico del formulado, se registraron datos para medir el efecto en la fortaleza de las colmenas: Se concluye que el formulado además de tener un efecto contra nosema, tiene un efecto sobre los parámetros asociados a la fortaleza de la colmena. Incrementa en un 24% la cría operculada, un 65% los marcos con miel y en un 51% la población de abejas adultas (anexo 7).

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 7. Protocolo de ensayo de terreno – Ensayo de nosemosis									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
4	RE9: Protocolo de uso terapéutico del formulado	Documento	no existe	existe	Enero / 2021	existe	Enero / 2021	100	100

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se elaboró de un protocolo de uso para el usuario final, el cual incorpora el instructivo para la aplicación del formulado en colmenas de terreno (ver Anexo N°10), que detalla la forma de almacenamiento, preparación, y cuidados una vez reconstituido.									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 10. Instructivo de uso y aplicación del producto HO21-F									

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
4	RE10: Concentración de producto farmacéutico, que disminuye la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> al 75% comparado al control sin tratamiento.	Concentración (%p/v) de producto farmacéutico y dosis de aplicación	desconocido	conocido	Enero /2021	Conocido (2,5 g/L)	Marzo / 2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se determinó en los ensayos de terreno terapéutico Enero – Marzo 2022 que la concentración que disminuye la carga de esporas al 75% es de 2,5 g/L.									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 7. Protocolo de ensayo de terreno – Ensayo de nosemosis									

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
5	RE11: El formulado tiene efecto profiláctico en pruebas de campo (colmenas)	Relación entre Nº de esporas en abejas tratadas e infectadas y Nº esporas en abejas no tratadas e infectadas.	Indeterminado (no hay esporas presentes)	Menor a 1/3	Septiembre 2021	Conocido (0,136)	Marzo - 2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se realizaron 2 ensayos de terreno durante los meses de Enero – Marzo 2022 y Mayo – Junio 2022. Los resultados indican un nivel de infección promedio a los 14 días post infección artificial en las colmenas tratadas con el formulado de 568.750 y de 100.000 esporas por abeja a los 35 días del inicio del ensayo. Por otro lado, se observó en el recuento promedio de esporas en colmenas control, suplementadas con jarabe de fructosa a los 14 días post infección artificial de 731.500 y un 733.000 esporas por abeja. Esto indica que en el primer ensayo se alcanzó un factor de reducción de 0,7 y en segundo ensayo un factor de 0,136 por lo cual se logra el resultado esperado del tratamiento profiláctico (OE5:RE11).									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 8. Ensayos de terreno profiláctico									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
5	RE12: Protocolo de uso profiláctico del formulado	Documento	no existe	existe	Septiembre / 2021	existe	Junio / 2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se elaboró de un protocolo de uso para el usuario final, el cual incorpora el instructivo para la aplicación del formulado en colmenas de terreno que detalla la forma de almacenamiento, preparación, y cuidados una vez reconstituido.									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 10. Instructivo de uso y aplicación del producto HO21-F									

Nº OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
5	RE13: Concentración de producto farmacéutico, que inhibe la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> en un 66% comparado al control sin tratamiento profiláctico.	Concentración (%p/v) de producto farmacéutico y dosis de aplicación profiláctica	desconocido	conocido	Septiembre - 2021	Conocido (2,5 g/L)	Junio / 2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se determinó en los ensayos de terreno profiláctico Mayo – Junio 2022 que la concentración que inhibe la carga de esporas en un 66% es de 2,5 g/L.									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
Anexo 8. Ensayos de terreno profiláctico									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
6	RE14: Colmenas del grupo estudio (con diagnóstico positivo) superen la infección	(Nro de muestras de abejas de colmenas tratadas que no presentan <i>N. ceranae</i> /Nro total muestras de abejas de colmenas tratadas) x 100	Desconocido	80%	30-11-2021	Desconocido	-	12,5	12,5
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
<p>Se implementaron los ensayos de campo para la validación del PMV en 8 apiarios en total: 5 apiarios en Santa Bárbara, 1 en Osorno y 1 en Temuco y otro en Peumo, que son de los apicultores apicultores que fueron seleccionados para la validación del producto. Sin embargo, se presentaron condiciones climáticas desfavorables que limitaron el acceso de los apicultores a los apiarios, lo que causó replanificar las fechas de intervención. Por esto sólo se obtuvieron hasta la fecha los resultados de PMV N° 1 y 4. En el caso del PMV N°1, si bien se logró tomar el tiempo inicial, no se pudieron obtener resultados concluyentes dado que la inactividad en temporada de dormancia en temperaturas muy bajas dificultó el consumo del formulado. En el PMV°4 se logró registrar el consumo total del formulado y se observó una reducción promedio del nivel de infección un 84,7%, y todas las colmenas presentaron una reducción significativa en distinto grado y en 6 de 10 colmenas no se detectaron esporas de <i>N. ceranae</i>. De acuerdo al indicador del resultado, hasta la fecha el estado de avance es de un 12,5%, mientras se continúa con el tratamiento en este apiario para la recuperación completa de las colmenas. El resto de los apiarios del PMV comenzarán durante el período de Julio – Agosto 2022, donde las condiciones climáticas permitan la intervención.</p> <p>Posteriormente al término del período de ejecución del proyecto se han obtenido los resultados pendientes del PMV N°1 y un tercer ensayo (PMV N°3), los cuales mostraron una reducción en el nivel de infección de 92,7 y 72,6%.</p>									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
Anexo 9. Ensayos de campo con apicultores seleccionados para la validación del PMV									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
6	RE15: Instructivo de uso y aplicación	Documento	Propuesto	Validado	30-11-2021	Validado	30-06-2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se realizó una búsqueda de apicultores candidatos para participar de la validación del PMV, para lo cual se realizaron encuestas en la comunidad apícola para recopilar información clave referente a sus apiarios y prácticas de manejo (anexo 19). Se seleccionaron grupos que participaron de capacitaciones enfocadas en los tópicos i) detección de nosemosis, ii) efectos de <i>N. ceranae</i> sobre la producción de miel, iii) prácticas de manejo apícola y iv) protocolo de aplicación del formulado (anexo de encuestas y capacitaciones). Se realizó una encuesta de satisfacción del PMV con los apicultores que participaron de los ensayos de campo, y que tuvieron la experiencia del uso del formulado en sus colmenas. Estos mencionaron que el producto cumple con sus expectativas y que estarían dispuestos a comprarlo cuando estuviese en el mercado (anexo 20). Toda la información obtenida se utilizó como retroalimentación para elaborar un instructivo de uso y aplicación del producto formulado (anexo 10).									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
Anexo 10. Instructivo de uso y aplicación del producto HO21-F (PMV) Anexo 19. Registro de Talleres y capacitaciones Anexo 20. Encuesta de evaluación del PMV y resultados parciales.									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
6	RE16: Protocolo de fabricación para el escalamiento	Documento	Propuesto	Validado	30-11-2021	Validado	30-06-2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se elaboró un protocolo de fabricación para el escalamiento utilizando información obtenida de la fabricación de lotes del formulado a escala piloto, los parámetros de fabricación validados, y la información recopilada de la empresa maquiladora para la elaboración del dossier de registro del producto. Este protocolo contiene: características de formulación, etapas de fabricación, control de calidad, equipamiento y video demostrativo de fabricación).									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
- Anexo 4. Protocolo de fabricación de lotes piloto de formulado (HO21-F)									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
7	RE17: Registro de marca iniciado en países de interés comercial	unidad	0	5	Diciembre 2021	12	Junio 2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
Se presentó la solicitud de registro de marca Oleuropeyn B N° 1496373 bajo el convenio internacional Protocolo de Madrid, el cual permitió continuar de forma expedita el registro de marca en los siguientes países de interés: Turquía, España, Rumania, Polonia, Francia, Italia, Bulgaria, Inglaterra, Mexico, Estados Unidos, Canadá y China. Se presentó el formulario de Solicitud de Registro de Marca Internacional (MM2) para incorporar la marca Oleuropeyn B en los países de interés comercial, en los cuales se han realizado convenios con prospectos comerciales. Adicionalmente se completó y									

presentó el formulario de “**Declaración de Intención de Uso de Marca en EEUU (MM18)**” para las cláusulas excepcionales para el registro en Estados Unidos de América.

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 11. Estado de solicitud de marca Oleuropeyn B N° 1496373 en este informe
- Anexo 12. Listado de países participantes en el Convenio de Madrid en este informe
- Anexo 13. Solicitud de registro de marca convenio Internacional de Madrid en este informe

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
7	RE18: Presentación registro al SAG	Carpeta o dossier	0	1	Diciembre / 2021	0	-	0	0

Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.

Se elaboró una carpeta de solicitud de registro para ser presentada al SAG. Esta contiene información sobre los estudios de eficacia, toxicidad e inocuidad en larvas y abejas adultas. Adicionalmente se presenta la información de la empresa maquiladora, encargada de la fabricación de los primeros lotes para el registro del formulado.

Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.

- Anexo 14. Dossier de registro a presentar en SAG en este informe
- Anexo 5. Convenios de confidencialidad con empresa maquiladora y socio Apilab SRL

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
-------	--------------------	------------------------	--------------------------	--------------------	--------------------------------------	---	--	--	--

7	RE19: Marketing científico, se espera exponer en un congreso científico	Inscripción	0	1	30-09-2020	1	30-06-2022	100	100
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
<p>En Marketing se ha construido una <i>Landing Page</i>, la cual se ha utilizado para difusión del producto en la comunidad apícola. En esta se ha presentado información comercial y técnica del producto, antecedentes de la empresa y del equipo de investigación, junto con un formulario con el que se ha construido una base de datos de apicultores, distribuidores y cooperativas. Esta información de contactos de interés fue utilizada para organizar la actividad de cierre del proyecto.</p> <p>En materia de difusión científica se ha presentado un artículo científico denominado “Antifungal activity of HO21-F, a formulation based on <i>Olea europaea</i> plant extract, in honey bees infected with <i>Nosema ceranae</i>”, el cual fue enviado y aceptado en la revista “Journal of Invertebrate Pathology”, Factor de impacto: 2,841; Q1 (Rank 18/175 en Ecology, Evolution, Behavior and Systematics, SJR).</p> <p>Se presentaron difusión de los resultados principales del proyecto en el evento Día de la abeja el 23 de Mayo 2022. Se realizó un evento de cierre el 28 de Junio 2022 en Universidad del Desarrollo, en el cual hubieron 48 asistentes y se presentaron los resultados finales del proyecto y posteriores actividades de continuidad.</p>									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
<ul style="list-style-type: none"> - Anexo 15. Artículo científico en revista Journal of Invertebrate Pathology - Anexo 16. Maqueta de Landing Page - Anexo 17. Presentación en Día de la abeja Dra. Martínez. - Anexo 21. Ceremonia de cierre 									

N° OE	Resultado esperado	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha logro del indicador (mes/ año)	Valor del indicador al término del proyecto	Fecha Real logro 100% del indicador (mes/ año)	Avance del indicador al término del proyecto (%)	Avance del resultado al término del proyecto (%)
7	RE20: Prospectos de socios internacionales (o clientes) para la distribución en países de interés	Países a los que llegarían los prospectos	0	5	Noviembre 2021	1		20	20
Describe, analice y justifique el avance del resultado esperado al término del proyecto.									
<p>Se realizó un estudio de mercado nacional e internacional para identificar los actores principales, se identificó la actividad comercial en base a un catastro de las colmenas establecidas en cada región. Se identificaron actores claves como distribuidores, cooperativas y asociaciones gremiales con las cuales se tuvieron acercamientos para generar potenciales alianzas. El perfil de los principales distribuidores y el ecosistema es representado en un diagrama del mercado. Se han llegado a acuerdos con las empresas Apilab SRL mediante la firma de un acuerdo de confidencialidad, para establecer un vínculo estratégico como principal apoyo logístico para la fase de distribución y comercialización en el país. Esta empresa con casa matriz en argentina también cumple un rol como socio estratégico para la internacionalización del producto. En lo que respecta a los otros países de interés de mercado, se tiene programado realizar los acercamientos con socios prospectos en el 47° Congreso Internacional APIMONDIA que fue reprogramado para el 24-28 de Agosto 2022 en Turquía y el XV Congreso Latinoamericano de Apicultura FILAPI 2022 a realizarse el 16-19 de Noviembre 2022, en los cuales estará la empresa asociada con un stand de exhibición del producto. Esta actividad se debió reprogramar debido a la suspensión temporal de eventos masivos en el período de la crisis sanitaria mundial.</p>									
Indique el número del anexo en donde se encuentra la documentación que respalda el avance del resultado al término del proyecto.									
<ul style="list-style-type: none"> - Anexo 5. Convenios de confidencialidad con empresa maquiladora y Socio Apilab SRL - Anexo 19. Estudio de mercado y listado de potenciales prospectos comerciales 									

6. RESUMEN CUMPLIMIENTO RESULTADOS ESPERADOS DE TODO EL PROYECTO

N° OE	N° y Nombre RE por OE	Avance del resultado al término del proyecto (%)	Cumplimiento del RE	Avance OE al término del proyecto (%)
1	OE1:RE1	100	SI	100
	OE1:RE2	100	SI	
2	OE1:RE3	100	SI	100
	OE2:RE4	100	SI	
3	OE3:RE5	100	SI	100
	OE3:RE6	100	SI	
	OE3:RE7	100	SI	
4	OE4:RE8	99,2	PARCIAL	99,7
	OE4:RE9	100	SI	
	OE4:RE10	100	SI	
5	OE5:RE11	100	SI	100
	OE5:RE12	100	SI	
	OE5:RE13	100	SI	
6	OE6:RE14	12,5	PARCIAL	70,8

	OE6:RE15	100	SI	
	OE6:RE16	100	SI	
7	OE7:RE17	100	SI	55
	OE7:RE18	0	NO	
	OE7:RE19	100	SI	
	OE7:RE20	20	PARCIAL	

7. ANÁLISIS DE BRECHA

Cuando corresponda, justificar las discrepancias entre los resultados esperados al inicio y los obtenidos al término del proyecto. En caso de resultados esperados con cumplimiento marcado como No o Parcial.

OE6 - Evaluar el producto mínimo viable (PMV) con apicultores: En este objetivo específico se alcanzaron resultados parciales para el resultado esperado 14 “Colmenas del grupo estudio (con diagnóstico positivo) superen la infección”, debido a que las condiciones climáticas de bajas temperaturas y altas precipitaciones dificultaron las operaciones en campo en los sectores de las regiones del Bío Bío, La Araucanía y Los Lagos. Las lluvias causaron anegamiento en los terrenos y bloquearon el funcionamiento normal de las colmenas, impidiendo las actividades de toma de muestra de abejas pecoreadoras para recuento de esporas de *N. ceranae* y el registro de población. Adicionalmente estos fenómenos climáticos causan que las colmenas pasen a un estado de letargo que desincentiva el consumo alimento, provocando que consuman parcialmente el formulado y alterando los resultados esperados. Por lo anterior, se coordinó con los apicultores la reprogramación de esta actividad para cuando las condiciones climáticas mejoren con el fin de proteger la supervivencia de sus colmenas.

OE7 - Desarrollar el modelo de negocios en los mercados de interés:

En este objetivo específico, se alcanzaron resultados parciales para los resultados esperados 18 y 20, “Presentación registro al SAG” y “Prospectos de socios internacionales (o clientes) para la distribución en países de interés”, debido a que:

- Si bien se avanzó en la construcción del Dossier de registro, no se alcanzó a terminar para ser presentado al SAG dentro del período de ejecución del proyecto.
- Las actividades de difusión asociadas a este resultado tuvieron que ser suspendidas temporalmente por la situación sanitaria mundial. Los congresos y eventos masivos a

los cuales se pretendía asistir para llegar a establecer contacto con los socios prospectos internacionales fueron cancelados y reprogramados para fechas que están fuera del período de ejecución de este proyecto. A pesar de esto, esta actividad de concretará de todas formas para los meses de agosto y noviembre 2022.

8. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS DEL PROYECTO

Especificar los cambios y/o problemas en el desarrollo del proyecto al término de su ejecución. Se debe considerar aspectos como: equipo técnico, problemas metodológicos, adaptaciones y/o modificaciones de actividades, cambios de resultados, gestión y administrativos.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
Contingencia nacional	Dificultad de accesibilidad al laboratorio	Se realizaron turnos de trabajo
Pandemia	Dificultad de accesibilidad al laboratorio Retraso en la instalación para capacitación de uso de equipos Dificultad en la adquisición de reactivos, insumos de laboratorio y equipos Dificultad con importaciones de equipos clave para el proyecto	La universidad genero salvoconductos. Se recurrió a otros laboratorios para conseguir prestamos de insumos y reactivos. Se utilizaron instalaciones de otros laboratorios para el uso de equipos no disponibles Se tercerizo actividad asociada al equipo mediante prestación de servicios
Condiciones agroclimáticas	Dificultad en la programación de actividades de terreno. Disponibilidad de apiarios	Se reprogramaron actividades, se consiguieron apiarios cerca de la zona central que involucrara menor desplazamiento por las dificultades en los traslados

9. ACTIVIDADES REALIZADAS Y NO REALIZADAS DEL PROYECTO

9.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas durante todo el proyecto para la obtención de los objetivos (indicar solamente el título de la actividad mencionada en la carta Gantt).

Nº OE	Nº RE	Actividades
1	1	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de <i>Nosema ceranae</i>
1	1	2. Elaboración de formulado, compra de insumos, análisis de fenoles totales
1	1	3. Obtención y cuantificación de esporas de <i>N. ceranae</i> para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Extracción de DNA. Análisis por PCR
1	1	4. Infección artificial de abejas melíferas nacidas en laboratorio con esporas de <i>N. ceranae</i>
1	1	5. Abejas infectadas artificialmente con <i>N. ceranae</i> son expuestas al formulado en el alimento (TERAPIA)
1	1	6. Registro de datos de la sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas de <i>N. ceranae</i> de los diferentes grupos de estudio
1	1;2	7. Análisis e informe de resultados
2	3	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de <i>Nosema ceranae</i>
2	3	2. Elaboración de formulado, compra de insumos, análisis de fenoles totales
2	3	3. Obtención y cuantificación de esporas de <i>Nosema ceranae</i> para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Extracción de DNA. Análisis por PCR
2	3	4. Abejas nacidas en laboratorio son expuestas al formulado en el alimento (PROFILAXIS)
2	3	5. Infección artificial de abejas melíferas nacidas en laboratorio con esporas de <i>N. ceranae</i>
2	3	6. Registro de datos de la sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas de <i>N. ceranae</i> de los diferentes grupos de estudio
2	3;4	7. Análisis e informe de resultados
3	5	1. Implementar técnicas analíticas
3	6	2. Disponer del proceso para fabricar a escala piloto el formulado
3	6	3. Adquisición de excipientes y extracto vegetal HO21 para elaboración de formulado
3	5;6	4. Elaborar de lotes de formulados a escala piloto para ser evaluadas en el laboratorio
3	5	5. Realizar análisis por lote formulado en cuanto a actividad antimicrobiana; solubilidad; pH, color, olor; tamaño de material particulado; fenoles totales y oleuropeina
3	5	6. Análisis de resultados para definir parámetros de control de calidad
3	6	7. Redactar protocolo de proceso de fabricación
3	7	8. Realizar estudio de estabilidad
4	8	1. Mantenimiento de colmenas en apiario base en la región de la Araucanía
4	8	2. Solicitar autorización al SAG, previa elaboración de protocolo
4	8	3. Traslado y establecimiento de las colmenas en los apiarios destinados a los ensayos
4	8	4. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales
4	8	5. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para <i>N. apis</i> y <i>N. ceranae</i>)

N° OE	N° RE	Actividades
4	8	6. Infección de grupos experimentales de colmenas con esporas de <i>N. ceranae</i> . Determinación de la carga de esporas análisis por microscopia e identificación por PCR de <i>N. ceranae</i>
4	8	7. Aplicación formulado a los grupos experimentales de colmenas post infección (TERAPIA)
4	8	8. Inspección clínica de las colmenas; toma de muestras y determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia
4	8;9;10	9. Registro de datos, análisis e informe de resultados
5	11	1. Mantenimiento de colmenas en apiario base en la región de la Araucanía
5	11	2. Solicitar autorización al SAG, previa elaboración de protocolo
5	11	3. Traslado y establecimiento de las colmenas en los apiarios destinados a los ensayos
5	11	4. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales
5	11	5. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para <i>N. apis</i> y <i>N. ceranae</i>)
5	11	6. Aplicación de HO21 en las colmenas previo a la infección (PROFILAXIS)
5	11	7. Infección de grupos experimentales de colmenas con esporas de <i>N. ceranae</i>
5	11	8. Inspección clínica de las colmenas; toma de muestras y determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia
5	11;12;13	9. Registro de datos, análisis e informe de resultados
6	14	1. Elaborar Pauta de evaluación del PMV
6	14	2. Aplicar la Pauta al grupo objetivo y definir los apicultores que participaran de los ensayos
6	14	3. Talleres de coordinación, capacitación y diagnóstico de prácticas apícolas
6	14	4. Toma de muestra por parte de los apicultores y envío al laboratorio
6	14	5. Diagnóstico, retroalimentación a los apicultores con los resultados y definición de colmenas que se incluirán en el estudio (seguimiento de los resultados)
6	14	6. Aplicación del formulado en apiarios con colmenas seleccionadas, previamente diagnosticadas con <i>N. ceranae</i> (TERAPIA)
6	14	7. Supervisión de los apiarios con colmenas en ensayo por parte del equipo técnico.
6	14	8. Inspección clínica de las colmenas seleccionadas y llenado de formulario; toma de muestras por parte del apicultor y despacho al laboratorio
6	14	9. Determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia en el laboratorio
6	14;15;16	10. Registro de datos y Análisis e informe de resultados
7	17	1. Iniciar el registro de marca en los países de interés
7	20	2. Redactar e incorporar cláusulas que protejan el secreto industrial en contratos de personal y reuniones con prospectos de clientes
7	18	3. Confección del expediente con los antecedentes exigidos por el SAG para el registro del producto farmacéutico
7	19;20	4. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto (<i>landing page</i>)
7	19	5. Realizar difusión y promoción científica en congreso internacional

9.2 Actividades programadas y no realizadas durante el todo el proyecto para la obtención de los objetivos (indicar solamente el título de la actividad mencionada en la carta Gantt).

N° OE	N° RE	Actividades	Justifique brevemente
7	20	6. Reuniones con potenciales distribuidores en el marco de la Feria Internacional APIEXPO, en el marco de APIMONDIA	Debido a la situación de la pandemia, el evento APIEXPO y APIMONDIA se reprogramó para noviembre 2022. Si bien se asistirá de todas maneras para concretar esta actividad, no se completará antes del período de término del proyecto (junio 2022).

10. POTENCIAL IMPACTO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

En esta sección se debe hacer una descripción y cuantificación general del potencial impacto de los resultados obtenidos al final del proyecto, y estimación de lograr otros en el futuro, comparación con los esperados, y razones que explican las discrepancias.

El potencial de impacto de los resultados obtenidos puede ser descrito o cuantificado según si es de ámbito productivo (rendimiento, costos de producción), económico (ventas), comercial (participación del mercado), social (nuevos empleos generados por efecto del proyecto), tecnológico (solicitudes de patentes), etc.

Los resultados obtenidos en los ensayos de tratamiento terapéutico y profiláctico tanto en laboratorio como en campo (RE1, 2, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 12 y 13) demuestran que el producto desarrollado específicamente diseñado para ser consumido por abejas es inocuo (no tóxico) a las concentraciones de 0,5, 1 y 2,5 g/L, no afecta la sobrevida y permite reducir de forma significativa la carga de esporas de *N. ceranae*. El potencial impacto de estos resultados en el ámbito científico es la generación de nuevas hipótesis de investigación que permitan profundizar aún más en los atributos de la formulación, como por ejemplo: comprender en mayor detalle el mecanismo de acción contra la nosemosis; evaluar si esta formulación puede ser útil también para el tratamiento nosemosis causada por *N. Apis*; evaluar su efecto en el tratamiento de patologías en otras especies de abejas; mejorar aún más la palatabilidad de la formulación y testear nuevas formas de administración en campo. Todos estos potenciales estudios contribuirán a la productividad científica del equipo de investigación y permitirán una mejor caracterización del producto.

El potencial impacto en el ámbito productivo, está dado por el control de la patología que genera pérdidas de población y el debilitamiento general de la colonia y se ve reflejado en el incremento de la productividad de las colmenas en kilos de miel y en el incremento de la población de abejas de las colmenas, lo que impacta positivamente en la fuente de ingreso de los apicultores mediante la venta de su producción y los servicios de polinización prestados. Por otro lado, disminuirán los costos de mantenimiento de las colonias ya que las colmenas enfermas necesitan constantes suplementos y el uso de medicamentos para asegurar su viabilidad. El formulado HO21-F al ser un producto natural, no estará prohibido como los antibióticos que se usan como alternativa, por lo tanto, los apicultores podrán disponer de él en forma fácil.

Los resultados obtenidos en el desarrollo del formulado a escala piloto (RE 5, 6 y 7) y la validación del PMV (RE 14, 15 y 16), permitieron validar parcialmente la factibilidad técnica del desarrollo de un nuevo producto para el tratamiento de la nosemosis en *A. mellifera* en fase pre-comercial. Las actividades asociadas a la fabricación a escala piloto permitieron elaborar un sistema de producción estandarizado y que se ajusta a la normativa vigente, y generar antecedentes necesarios para presentar una solicitud de registro de un nuevo producto farmacéutico de uso exclusivo veterinario. Las actividades asociadas al PMV, si bien no se alcanzó a evaluar el nivel de infección en los 8 apiarios considerados dentro del período de ejecución del proyecto, si se obtuvo información respecto a la fortaleza xy en la experiencia de uso en 3 de los apiarios, que permitieron contribuir a ajustar la propuesta de valor con los primeros adoptadores del producto (*Early Adopters*), y realizar modificaciones para llegar a un producto que se adecúe a sus necesidades (*Product Fit*). Esta retroalimentación ha sido valiosa para continuar validando el modelo de negocios propuesto, y el mapeo estratégico de los actores del mercado (*Business Ecosystem Map*).

Adicionalmente, los resultados parciales obtenidos en el desarrollo del modelo de negocios en los mercados de interés permitieron la generación de redes de colaboración,

proveedores de materias primas, prestadores de servicios y distribuidores necesarios para llegar a la siguiente fase de comercialización del producto. Esta red construida permitió determinar los parámetros clave para realizar un análisis de factibilidad técnico-económica y determinar a futuro un potencial flujo de ingresos y valor agregado en capital humano avanzado que incrementará las posibilidades de escalar el negocio a nivel internacional. Si bien los resultados 18 y 20 no pudieron ser completados a la fecha de término del proyecto, se avanzó en la elaboración del Dossier de registro, el cual será posteriormente presentado ante el SAG con el fin de testear en producto en el mercado.

La experiencia adquirida por el equipo de trabajo en diversas materias técnicas, logística, de equipamiento y regulatorias permitirá a futuro la formación de capacidades para nuevos desarrollos en la industria apícola.

Respecto a la generación de empleos la empresa asociada contrató para la fase comercial a un ingeniero comercial y en forma indirecta se prevé que la empresa maquiladora use por el momento su capacidad ociosa, pero no se descarta que aumente el personal en la medida que aumente la demanda del producto.

En ámbito tecnológico, este estudio permitió ampliar la estrategia de protección de la propiedad intelectual a través del registro de marca en diversos mercados. Estos coinciden con la aceptación de la patente de invención en esos mercados. Por ahora se tiene la patente en Europa (8 países) y Argentina.

11. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si existieron cambios en el entorno (sociales, culturales, normativos, tecnológicos, de mercado y económicos, entre otros) que afectaron la ejecución del proyecto y las medidas tomadas para enfrentar cada uno de ellos.

Los principales cambios en el entorno que influyeron en el desarrollo del proyecto fueron la:

Contingencia Nacional (2019) y la Pandemia por COVID-19: ambos hechos afectaron el trabajo de laboratorio y de campo, porque la universidad cerró algunos días, hubo problemas de desplazamiento de los investigadores al laboratorio y experimentos largos de 17 días que se habían iniciado no pudieron ser finalizados. Esta situación afectó la recepción, instalación y capacitación del uso de equipos, la disponibilidad de reactivos, demoras en despachos, ocasionando retraso en las actividades asociadas. Los ensayos de campo también se vieron afectados por que se dificultó el libre acceso al terreno de apiario experimental. Debido a la crisis en los mercados por la pandemia, la adquisición de un equipo relevante para el desarrollo de prototipo de formulación se vio seriamente afectado, generando reprogramación de esta actividad en diversas ocasiones. Junto con esto las empresas maquiladoras no se encontraban abiertas a la fabricación de nuevos productos en desarrollo. Para resolver estos problemas el equipo desarrolló una planificación por turnos para la ejecución de las actividades en laboratorio y en campo, como también desarrolló una estrategia para conseguir acceso a plantas piloto para la fabricación de lotes piloto y cerrar acuerdos con una empresa maquiladora que será la encargada de la fabricación a mayor escala del formulado.

Condiciones de sequía en la zona central: la mayoría de las más de 985.400 colmenas del país están ubicadas en las regiones centrales que están sufriendo una de las crisis de sequía más intensas, declaradas como emergencia agrícola por el ministerio de agricultura, dado que 2019 fue uno de los años más secos que se ha enfrentado en las últimas 6 décadas. Esto impactó en la productividad de la población en colmenas que estaban dentro de apiarios considerados para ensayos de campo, dificultando la disponibilidad de apiarios experimentales. Como medida para abordar este inconveniente el equipo de investigación expandió su red de contactos para identificar

y realizar análisis clínico de un mayor número de apiarios que cumplieren con los requerimientos para efectuar los ensayos de campo y de validación el PMV.

12. PRODUCTORES PARTICIPANTES DURANTE LA EJECUCIÓN

Complete los siguientes cuadros con la información de los productores participantes durante la ejecución del proyecto.

12.1 Antecedentes globales de participación de productores

Debe indicar la región, tipo de productor, número de mujeres, número de hombres, etnias y el total de los participantes durante la ejecución del proyecto.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Total
	Productores pequeños	1	8	-	9
	Productores medianos-grandes	0	2		2
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Totales	1	10		

12.2 Antecedentes específicos de participación de productores

Debe indicar el nombre de cada productor y la información de la ubicación de las unidades productivas, la superficie y la fecha de ingreso del productor al proyecto.

Nombre	Ubicación Predio			Superficie Há.	Fecha ingreso al proyecto
	Región	Comuna	Dirección Postal		
Carlos Sepúlveda	La Araucanía	Temuco	Los Químicos 0230, Temuco	10	16-11-21
Felipe Reyes	Los Lagos	Osorno	Las carreta parcela 6 lote 2	500	16-11-21
Bernardo Salamanca	Bío Bío	Santa Bárbara	Cerro Negro	2	16-11-21
Jimmy Iraira	Bío Bío	Santa Bárbara	Los Junquillos	0,6	16-11-21
Carlos Soto	Bío Bío	Santa Bárbara	-	5	16-11-21

Rodrigo Sanhueza	Bío Bío	Santa Bárbara	Los Junquillos	4	16-11-21
Edgardo Burgos	Bío Bío	Santa Bárbara	Arilahuen	10	16-11-21
Pedro Prado	La Araucanía	Temuco	Metrenco	10	16-11-21
Roberto Sandoval	O'higgins	Peumo	Av. Illanes 01690, Rancagua	5	16-11-21

13. DIFUSIÓN

Describe las actividades de difusión realizadas durante toda la ejecución del proyecto:

Fecha	Lugar de Realización	Tipo de Actividad (Charla, Taller, Seminario, entre otros)	Número participantes	Número de Anexo
15-11-21	Salón de actos INDAP, Región de la Araucanía	Taller y encuestas	15	Anexo 19
21-02-22	Salón de actos INDAP, Región de la Araucanía	Taller y encuestas	16	Anexo 19
16-02-22	Sede Centro Cultural Gladys Sepúlveda, Santa Bárbara. Región del Bío Bío	Capacitación	18	Anexo 19
23-11-21	Sede Centro Cultural Gladys Sepúlveda, Santa Bárbara. Región del Bío Bío	Capacitación	5	Anexo 19
23-05-22	En línea	Presentación de difusión de proyecto en Día de la abeja	105	Anexo 17
28-06-22	En línea	Ceremonia de cierre de proyecto	48	Anexo 21
TOTAL PARTICIPANTES			207	

14. CONCLUSIONES

Son las reflexiones o deducciones generadas luego de analizar la evidencia de las actividades, los resultados o las premisas del proyecto al término de su ejecución. Aborda aspectos de gestión, técnicos y de contexto, entre otros. Tiene una perspectiva de pasado.

Se debe entregar una apreciación a un nivel más amplio del aporte de los resultados obtenidos para el sector silvoagropecuario y agroalimentario de nuestro país, especialmente en el marco del desafío estratégico de FIA en el cual postuló.

El trabajo llevado a cabo generó un nuevo producto, en el ámbito silvoagropecuario. La innovación comprendió la formulación de un nuevo producto HO21-F cuyo diseño de fabricación y validación estuvo centrado en el organismo de destino *Apis mellifera*. Lo anterior planteó el gran desafío de generar un producto con actividad antimicrobiana que a la dosis efectiva contra el patógeno no fuera nociva para *A. mellifera*. Reflejo de lo anterior es que la formulación aparte de ser inocua para la abeja melífera, tiene como valor agregado el fortalecimiento de la colmena entendiendo por ello una mejora en la producción de miel y en el aumento de la población de abejas.

El equipo de trabajo se vio enfrentado a cambios en el entorno, tuvo que superar cambios ambientales (sequía extrema), más la contingencia nacional (estallido social del 2019) y mundial (pandemia iniciada en el 2020), todos factores de mucho peso para el desarrollo de este proyecto. La superación de estas dificultades fue gracias a la estrecha colaboración de los investigadores con el equipo técnico y la empresa asociada. Existió un compromiso de todos los integrantes del equipo por sacar el proyecto adelante y alcanzar los objetivos comprometidos. Es relevante resaltar que la empresa asociada mostró un total involucramiento con el proyecto. La solides del equipo se construyó en base a reuniones periódicas para comentar los avances, analizar y discutir resultados, diseño de experimentos, así como la generación de nuevas propuestas para enfrentar las dificultades que se fueron presentando.

El vínculo del equipo liderado por la Dra. Martínez y la empresa Asociada, con empresas relacionadas al sector apícola, con pequeños y grandes productores, facilitó la realización de los ensayos de terreno en fechas muy complicadas en plena pandemia y en la evaluación del PMV.

Los resultados de este proyecto son un gran aporte y de un impacto a nivel mundial para el desarrollo de la agroindustria, mejora la producción del sector apícola y la salud humana, al proteger la salud de las abejas, las cuales son responsables de la polinización de al menos el 75% de los cultivos que son para consumo humano. La formulación es un nuevo producto que se diferencia de lo existente por ser un producto natural, que no deja residuos tóxicos en miel, que es inocuo para el humano y para la abeja, de fácil aplicación y que tiene como valor agregado potenciar la fortaleza de la colonia de abejas. Por lo anterior el mercado de destino del producto es a nivel internacional.

15. RECOMENDACIONES

Es un planteamiento de lo que se considera beneficioso proponer en relación con lo trabajado al término de su ejecución. Aborda aspectos de gestión, técnicos y de contexto, entre otros. A diferencia de las conclusiones, estas tienen un sentido de futuro.

Entre los aspectos a abordar, incorporar factores que se consideran claves para una implementación efectiva y/o adopción exitosa de la innovación, así como desafíos y/o problemas que quedan pendientes por resolver. Estas recomendaciones podrían, en caso justificado, conducir a futuros ajustes del proyecto inicial.

Dada nuestra experiencia creemos que es relevante incorporar el apoyo administrativo de la entidad beneficiaria e involucrar a la encargada financiera del proyecto para la etapa de negociaciones y de presentación de los documentos solicitados por FIA. Fuimos demasiado optimistas en dar inicio al proyecto en una fecha declarada sin considerar que había temas administrativos por resolver.

Se propone que, en futuros proyectos, que consideren ensayos de terreno en esta área, contemplen que estos ensayos se deberán adecuar a las condiciones dinámicas de la población y a cambios agroecológicos.

Debe existir una estrecha relación de colaboración entre equipo de investigación y empresa asociada. Esto fue clave en la resolución de imprevistos presentados debido a las contingencias país.

Por experiencia adquirida en la ejecución de los ensayos de laboratorio y terreno, concluimos que los indicadores para validar el tratamiento en terreno deben ser diferentes a los utilizados en laboratorio, esto debido a la naturaleza social de la colonia donde conviven 60.000 individuos que funcionan como una unidad. Los indicadores deberán ser específicos para los ensayos en terreno, que se adecúen a las condiciones dinámicas de la población y cambios agroecológicos.

Si bien existieron obstáculos que dificultaron la ejecución de las actividades en los períodos planificados, estos tuvieron de ser abordados buscando alternativas para llegar a los resultados esperados. En este contexto se recomienda complementar el subsidio con incorporación de un programa de acompañamiento para emprendimientos de base científica-tecnológica, que apoye brindando el acceso a redes de colaboración y asesore al equipo del proyecto en diversas materias clave para asegurar el éxito del proyecto y contribuya a reducir los tiempos de resolución de problemas durante la ejecución del proyecto, en especial en tiempos de crisis que afectaron la disponibilidad de productos y prestación de servicios necesarios para el equipo de trabajo.

Respecto a los desafíos pendientes por resolver, se continuará trabajando en completar el expediente de registro que será presentado en SAG con el apoyo de la empresa maquiladora, quien brindará información administrativa clave y documentación técnica (diagrama de planta, certificados varios de autorización) respecto a la planta de fabricación. Finalmente, se concretarán los ensayos de validación del PMV una vez que mejoren las condiciones climáticas y permitan la obtención de resultados asociados al control de la enfermedad.

16. MENCIONE OTROS ASPECTOS QUE CONSIDERE RELEVANTE INFORMAR, SI LOS HUBIERE.

17. ANEXOS

Enumere y nombre los anexos en una lista. Los nombres de los anexos deben ser iguales al nombre de los documentos adjuntos.

N° del anexo	Nombre del Anexo
1	Tabla Indicador Código PYT-2019-0215
2	Bitácora de ensayos de laboratorio con formulado (HO21-F)
3	Protocolos de medición de parámetros de fabricación.
4	Protocolo de fabricación de lotes piloto de formulado (HO21-F)
5	Convenios de confidencialidad con empresa maquiladora y socio Apilab SRL
6	Estudio de estabilidad acelerado
7	Protocolo de ensayo de terreno – Ensayo de Nosemosis
8	Ensayos de terreno profiláctico
9	Ensayos de campo con apicultores seleccionados para la validación del PMV
10	Instructivo de uso y aplicación del producto HO21-F (PMV)
11	Estado de solicitud de marca Oleuropeyn B N°1496374
12	Listado de países participantes en el Convenio de Madrid
13	Solicitud de registro de marca convenio Internacional de Madrid
14	Dossier de Registro para presentar al SAG
15	Artículo Científico en revista Journal of Invertebrate Pathology
16	Maqueta Landing Page
17	Presentación en Día de la abeja Dra. Martínez
18	Estudio de mercado y listado de potenciales prospectos comerciales
19	Registro de Talleres y Capacitaciones
20	Encuesta de evaluación del PMV y resultados parciales
21	Ceremonia de cierre

18. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Gisder S., Hedtke K., Möckel N., Frielitz M., Linde A, Genersc E. (2010). Five-Year Cohort Study of *Nosema* spp. in Germany: Does Climate Shape Virulence and Assertiveness of *Nosema ceranae*?. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(9), 3032-3038

Guimarães-Cestaro L., Maija, TS., Martins, R., Alves., MLTMF., Otsuk, IP., Message D., Teixeira EW. (2020) *Nosema ceranae* (microsporidia: Nosematidae) Does not cause collapse of colonies of africanized *apis mellifera* (Hymenoptera: apidae) in tropical climate. *Sociobiology*, 67(3), 408-416

Judy Y. Wu, Matthew D. Smart, Carol M. Anelli, Walter S. Sheppard. (2012). Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (Microsporidia) infection, *Journal of Invertebrate Pathology*. 109(3), 326-329. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.01.005>

Ozgor, E. y Keskin, N. (2015). Determination and comparison of *Nosema apis* and *Nosema ceranae* in terms of geographic and climatic factors. *Journal of Biology and Chemistry*. 43(1), 9-15.

Pacini, A., Molineri, A., Antúnez, K. (2021). Environmental conditions and beekeeping practices associated with *Nosema ceranae* presence in Argentina. *Apidologie*. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00831-9>

Ptaszyńska AA, Gancarz M, Hurd PJ, Borsuk G, Wiącek D, et al. (2018). Changes in the bioelement content of summer and winter western honeybees (*Apis mellifera*) induced by *Nosema ceranae* infection. *PLOS ONE* 13(7): e0200410. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200410>

Pacini, A., Molineri, A., Antúnez, K. (2021). Environmental conditions and beekeeping practices associated with *Nosema ceranae* presence in Argentina. *Apidologie*. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00831-9>

Ptaszyńska AA, Gancarz M, Hurd PJ, Borsuk G, Wiącek D, et al. (2018). Changes in the bioelement content of summer and winter western honeybees (*Apis mellifera*) induced by *Nosema ceranae* infection. *PLOS ONE* 13(7): e0200410. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200410>

Guía Realización y Presentación de Estudios de Estabilidad de Productos Farmacológicos de uso veterinario. Ministerio de Agricultura – Servicio Agrícola Ganadero

Scientific Guidelines for Veterinary Medicinal Products. Stability Testing of existing active substances and related finished products. EMEA/CVMP/846/99.

Guidance For industry: Stability Testing Of New Veterinary Drug Substances And Medicinal Products VICH GL3(R): Draft Revised Guidance. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Food and Drug Administration. Center for Veterinary Medicine.

Bargen H, Fauser A, Gätschenberger H, et al (2020) Bee colony assessments with the Liebefeld method : How do individual beekeepers influence results and are photo assessments an option to reduce variability ? In: - 14th international symposium of the ICP-PR Bee protection group. pp 100–105

Gajger IT, Petrinec Z, Pinter L, Kozarić Z (2009) Experimental treatment of Nosema disease with “Nozevit” phyto-pharmacological preparation. *Am Bee J* 149:485–490

Higes M, Gómez-Moracho T, Rodríguez-García C, et al (2014) Preliminary effect of an experimental treatment with Nozevit®, (a phyto-pharmacological preparation) for *Nosema ceranae* control. *J Apic Res* 53:472–474. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.4.03>

Nanetti A, Martín-hernandez R, Gómez-Moracho T, et al (2014) Api-herb en el control orgánico de la nosemosis tipo C (*Nosema ceranae*, microsporidia). pp 1–12

Rodríguez-García C (2018) Nuevas estrategias para el control de la nosemosis en *Apis mellifera* L. Universidad Complutense de Madrid