CÓDIGO (uso interno)	

FORMULARIO POSTULACIÓN

CONVOCATORIA NACIONAL DE PROYECTOS DE INNOVACIÓN 2018

NOMBRE DE LA PROPUESTA
"Producto farmacéutico para uso en ***Apis melífera***, en base a extracto vegetal, para el control de la infección causada por el patógeno de distribución mundial ***Nosema ceranae***"

SECCIÓN I: COMPROMISO DE EJECUCIÓN DE PARTICIPANTES Y SU VINCULACIÓN CON LA PROPUESTA

La entidad postulante y asociados manifiestan su compromiso con la ejecución de la propuesta y a entregar los aportes comprometidos en las condiciones establecidas en este documento.

1. ENTIDAD POSTULANTE

Complete cada uno de los datos solicitados a continuación. Adicionalmente, se debe adjuntar como anexos los siguientes documentos:

- Certificado de vigencia de la entidad postulante en Anexo 1.
- Documento que acredite iniciación de actividades en Anexo 2.

Razón Social del Postulante:	Universidad del Desarrollo
Nombre Completo Representante Legal:	Federico Valdés Lafontaine
RUT:	
Aporte total en pesos:	
Aporte pecuniario:	
Aporte no pecuniario (valorizado) :	

Firma

1.1. Indique la experiencia de la entidad postulante y su vinculación con la propuesta

Describa brevemente su experiencia y trabajos previos en la temática de la propuesta y la solución innovadora planteada, indicando sus fortalezas en cuanto a la capacidad de gestionar y conducir la propuesta.

(Máximo 2.000 caracteres, espacios incluidos)

Dentro de la áreas prioritarias del Centro de Medicina Regenerativa (CMR), Facultad de Medicina, Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, se encuentra el Desarrollo e Innovación de Investigación en abejas melíferas liderada por la Dra. Jessica Martínez, la investigación se ha enfocado principalmente en el desarrollo de diagnósticos y de terapias para enfermedades causadas por bacterias y hongos. Ha desarrollado **Proyectos** en calidad de Directora (Fondef IDeA Ciencia Aplicada CA13i10207(2014-2016), Fondef IDeA Tecnológico IT16i10079 (2018-2019)), Investigador responsable (proyectos CAS-UDD Nº 23400084(2013), Nº 23400073(2012), Nº 23400028(2011)) y Co-Investigador (Fondecyt Regular Nº 1140328 (2014-2017)) . **Publicaciones** en el área apícola (Journal of Chromatography A. 1567:47-54(2018); Chemometrics and Intelligent

Laboratory Systems, 160: 1-7(2017); Parasitology Research, 111: 601-607(2012); Lett Appl Microbiol 50(6):603-610(2010); . **Solicitud de patente** a nivel Nacional e Internacional (Solicitud Nº 201400243 presentada a INAPI. PCT: WO 2015 113175). Contrato de **Licenciamiento** del uso de la tecnología con empresa ApiQuality SpA.

Red de trabajo. La investigadora líder está involucrada con la comunidad apícola, mantiene estrecha relación con diferentes actores del rubro apícola, Redes apícolas regionales, Red Nacional Apícola, Exportadores y asociaciones gremiales. Es representante de la UDD en la "Comisión Nacional Apícola" del Ministerio de Agricultura, participando activamente en Sub-comisión de Sanidad Apícola, así como en la de Profesionalización y Formación. Es Miembro fundadora de la Sociedad Latinoamericana de Investigación en abejas (SOLATINA). Esta interiorizada de las necesidades y debilidades del sector lo que le permite por su creatividad y capacidad de asumir nuevos riesgos, enfrentar problemas no resueltos, como lo es el tema sanitario.

Formación de recursos humanos: docencia, dirección de tesis de post-grado, supervisión de investigadores de post-doctorado, dirección de Unidades de Investigación de pre-grado.

2. ASOCIADO N°1 …n Complete cada uno de los datos solicitados a continuación para cada asociado.	
Razón Social/Nombre Completo del Asociado	ApiQuality SpA.
Nombre Representante Legal (si corresponde):	Marcelo Eduardo Henríquez Barrera
RUT:	
Aporte total en pesos:	
Aporte pecuniario:	
Aporte no pecuniario (valorizado):	

_____

Firma

2.1. Indique la experiencia del asociado y su vinculación con la propuesta

Describa brevemente su experiencia y trabajos previos en la temática de la propuesta y la solución innovadora planteada, indicando sus fortalezas en cuanto a la capacidad de participar en la propuesta.

(Máximo 2.000 caracteres, espacios incluidos)

La experiencia en el rubro apícola de la empresa ApiQuality SpA y su dueño tiene más de 20 años, las ventas se concentran en el giro de compra y venta de insumos y productos apícolas, destacando la comercialización de maquinaria de origen nacional e importada y de fármacos para el control de diferentes patógenos que afectan a las abejas. El nivel de ventas los últimos años ha estado del orden de 200 millones anual.

En este tiempo se ha vinculado con diversos grupos de apicultores y empresas exportadoras, a nivel nacional en temas como el rediseño de procesos, implementación de normas de aseguramiento de calidad, proyectos de fomento y alianzas productivas de CORFO e INDAP.

Su dueño tiene a su haber la participación en la formulación y gestión de proyectos I+D. Proyecto Fondef IDeA CA13i10207 y Proyecto Fondef IDeA Tecnológico IT16I10079. Participó en el desarrollo de ambos proyectos, tanto en la discusión del diseño experimental de los ensayos in vitro y de campo, como en la implementación de los ensayos de campo, discusión y análisis de resultados.

En el ámbito internacional formó parte del equipo que realizó una consultoría a MIDAS-Acción Social de Colombia en los ámbitos comercial u organizacional de varios grupos de apicultores reconvertidos de cultivos ilícitos.

Dentro del ámbito de los fármacos atiende más de 100 mil colmenas por año, lo que equivale al 40% de las 250 mil colmenas que hoy utilizan fármacos elaborados por laboratorios y debidamente registrados en la autoridad competente (SAG). Representando a laboratorios como MEDIVET (Canadá) y APILAB SRL (Argentina).

Actualmente, cuenta con la infraestructura necesaria y el personal idóneo para complementar su actividad actual con la elaboración y registro de productos de fabricación propia.

En relación con la tecnología en que se basará el producto de esta propuesta, ApiQuality SpA tiene el licenciamiento.

Repita y complete este cuadro para cada asociado que participa y realiza aportes a la propuesta.

3. IDENTIFICACION DEL COORDINADOR DE LA PROPUESTA Complete cada uno de los datos solicitados a continuación.	
Nombre completo:	Jessica Isabel Martínez Arenas
RUT:	
Teléfono:	
Celular:	
Correo electrónico:	

SECCIÓN II: CONFIGURACIÓN TÉCNICA DE LA PROPUESTA

4. RESUMEN EJECUTIVO

Sintetizar con claridad el problema y/u oportunidad, solución innovadora, objetivos y resultados esperados de la propuesta.

(Máximo 2.000 caracteres, espacios incluidos)

A nivel mundial no existe un fármaco que controle la patología Nosemosis en colmenas de ***Apis melifera***. Esta enfermedad genera pérdidas significativas en los colmenares y provoca daños económicos significativos a los apicultores.

Investigaciones recientes la colocan como una de las causas del **síndrome del colapso de la colmena,** nombre con el que se reconoce el despoblamiento de colmenas sin una causa aparente, en diversas partes del mundo.

Esta perdida afecta directamente a la polinización natural y comercial de los cultivos y, por ende, a la alimentación mundial. Como antecedente, se estima que de los cultivos que proveen el 90% del alimento a nivel mundial, 71% de ellos se poliniza gracias a las abejas (UNEP, 2010).

Para dar solución se propone el uso de un producto farmacéutico en base a un extracto vegetal natural, antifúngico, estandarizado, para el control y prevención de *N. ceranae*, administrado de forma tal que la abeja adulta lo digiera y se asegure su efecto profiláctico y/o terapéutico.

Así, el objetivo de esta propuesta es obtener, a escala piloto, un producto farmacéutico para uso en ***Apis melífera***, en base a HO21 extracto vegetal, con propiedades antifúngicas para el control de la infección causada por el patógeno ***Nosema ceranae.***

Este extracto vegetal natural estandarizado contiene componentes biológicamente activos, cuyo uso en *A. melífera* ha sido demostrado en el laboratorio de la UDD (solicitud de patente Nº 201400243). Resultados previos demuestran que HO21 es eficaz en el control de bacterias y hongos, no es toxico para las larvas ni abejas adultas y su consumo tampoco afecta la sobrevida de *A. Melífera.*

La formulación del producto deberá contener excipientes que mejoren la palatabilidad y aseguren su dilución en el medio de aplicación, jarabe en este caso. Asegurando su distribución homogénea en el medio y el consumo mínimo requerido para el control del patógeno. Esto debe ser evaluado en laboratorio y validado a escala piloto.

5. PROBLEMA Y/U OPORTUNIDAD

Identifique, describa y cuantifique[1] claramente el problema y/u oportunidad que dan origen a la propuesta. Se debe acotar el problema y/u oportunidad al territorio, rubro, mercado y/o industria al que apunta la solución innovadora de la propuesta.

(Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos)

La patología Nosemosis en ***Apis melifera*** provoca daños económicos a los apicultores, a la polinización natural y comercial de los cultivos y, por ende, a la alimentación mundial.

La Nosemosis es causada por los hongos microsporidios *Nosema apis* y *Nosema ceranae,* ambos parásitos intracelulares formadores de esporas afectan las células epiteliales del intestino medio de la abeja adulta, provocando daño en las funciones digestivas, desnutrición, envejecimiento fisiológico y muerte prematura de las abejas y la colmena, afectando así el tamaño de la población y por ende reduciendo la producción de miel (estimación en tabla sig.) y de cultivos que dependan de estos insectos para su polinización (valor economico: 265 mil millones de dólares a nivel global, donde cualquier reducción de *Apis melifera* afecta negativamente este valor).

Nivel	Prod. Miel (M ton/año)	20% menor rend. (M ton/año)	Menores ingresos (millones UD$/año)
Mundial	1.800	360	1.440
Nacional	10	2	**8**

N. ceranae se ha convertido en uno de los patógenos más prevalentes a nivel mundial en *Apís melífera*, evade mejor el sistema inmune del hospedero, tiene una mejor capacidad reproductiva y de crecimiento que *N. Apis* y sobrevive a un amplio rango de temperatura, todo lo cual lo hace un patógeno más virulento.

Entonces será crítico el desarrollo de productos farmacológicos que controlen *N. ceranae* para el mercado de la apicultura mundial, que no tengan impacto negativo en la fisiología de *A. Melífera*, ni en el humano, ni en su entorno.

[1] Se refiere a cifras que evidencien dicho problema y/u oportunidad

6. SOLUCION INNOVADORA

6.1. Tipo de innovación propuesta en:

Seleccione una o más opciones marcando con una X la casilla(s) correspondiente(s).

Producto/Servicio	**X**	**Proceso**		**Modelo de negocio/gestión**	

6.2. Describa la solución innovadora que se pretende desarrollar en la propuesta para abordar el problema y/u oportunidad identificado.

(Máximo 3.500 caracteres, espacios incluidos)

Producto farmacéutico en base a un extracto vegetal natural, antifúngico, estandarizado, para el control y/o prevención de N. ceranae, administrado de forma tal que la abeja adulta lo digiera y se asegure su efecto profiláctico y/o terapéutico.

Este extracto vegetal natural estandarizado contiene componentes biológicamente activos, cuyo uso en A. melífera ha sido demostrado en el laboratorio de la UDD (solicitud de patente Nº 201400243). Se ha reportado que HO21 es eficaz en el control de bacterias y hongos. Además, trabajos previos del equipo de investigación han demostrado que no es toxico para las larvas ni abejas adultas y su consumo tampoco afecta la sobrevida de A. Melífera.

La formulación del producto deberá contener excipientes que mejoren la palatabilidad y aseguren su dilución en el medio de aplicación, jarabe en este caso. Asegurando su distribución homogénea en el medio y el consumo mínimo requerido por parte de las abejas.

El primer factor diferenciador está dado por las características naturales de este extracto vegetal presente en el producto farmacéutico, en comparación con el único control aprobado para nosemosis: fumagilina (Katznelson y Jamieson, 1952), metabolito secundario derivado de Aspergillus fumigatus. La empresa asociada vendía en Chile FUMAGILIN-B producto farmacéutico basado en fumagilina y desde junio de este año el laboratorio canadiense que le proveía, MEDIVET, lo dejo de fabricar, en el mercado solo quedan los últimos lotes que están por vencer el 2019.

La aplicación preventiva o terapéutica de los productos en base a fumagilina mostraron resultados controversiales frente a N. Ceranae, su uso prolongado contribuía a generar resistencia en el patógeno y cuando su concentración declinaba en la colmena se exacerbaba la infección por N. ceranae. El uso de fumagilina presentaba efectos en la calidad de la miel y productos de la colmena, por la presencia de residuos de antibióticos, lo que fue limitado su comercialización.

Además, de su composición el producto será innovador desde el punto de vista que no hace daño a las abejas, al ser humano y a la naturaleza.

6.3. Explique qué se ha hecho recientemente para el desarrollo de la innovación propuesta (estado del arte) a nivel nacional e internacional, indicando las fuentes de información que lo respaldan en Anexo 5.

(Máximo 3.500 caracteres, espacios incluidos)

En Chile la investigación científica sobre el microsporidio *N. ceranae* ha estado centrada en estudios epidemiológicos y de diagnóstico. Nuestro grupo de trabajo desarrolló el diagnóstico molecular que diferencia *N. apis* de *N. ceranae*, junto con ello se publicó el primer mapa sanitario de la región del Bio Bio (Martínez et al. 2012). Adicionalmente, diferentes estudios a la fecha dan cuenta de la amplia distribución en el país de este patógeno (Rodríguez et al 2012, Joost S. 2013, Bravo et al. 2014), abarcando regiones que son de alta productividad apícola.

Con respecto a publicaciones, proyectos y/o solicitudes de patentes a nivel Nacional de productos y/o formulaciones de aplicación clínica para el control de *N. ceranae*, se tiene conocimiento de:

Recientemente se reportó el estudio del efecto de extractos metanólicos de plantas nativas frente a *N. ceranae.* (Arismendi et al., 2018), como alternativa de control.

Proyecto FONDEF CA13i10140 (2014-2015). "Desarrollo y evaluación de un producto bioestimulante en base a compuestos naturales que potencien la respuesta inmunológica de la abeja *Apis melífera* para el control de *Nosema ceranae*". X. Araneda. Univ. Católica de Temuco. Sin embargo, no existe un producto asociado a este desarrollo en el mercado.

Solicitud de Patente: WO2017091915A1 (2015). Se relaciona con el uso de un aceite esencial de hojas de *Cryptocaria alba* (peumo). Sin embargo, el bajo rendimiento de extracción del aceite esencial (0,6%), hace difícil visualizar a corto plazo su posterior llegada al mercado como un producto comercial.

A nivel internacional han surgido otras alternativas en base a metabolitos secundarios de bacterias, esveratrol, surfactin (Maistrello et al 2008, Porrini et al. 2010), aceites esenciales; timol, vetiver extractos crudos de plantas; *Artemisia absinthium, Allium sativum, Laurus nobilis*, (Maistrello 2008, Costa et al 2010, Damiani et al. 2014) y moléculas como ds RNA (Paldi et al. 2010). Algunos han afectado la sobrevida de las abejas infectadas. Dosis subletales de aceites esenciales no controlaron el parasito (Porrini et al. 2017). No está resuelto su dosis efectiva y tolerable a nivel de colonia, hay carencia de estudios de campo.

Otros agentes terapéuticos fitofármacos; Nosestat, Phenil Salicilato, Vitafeed Gold (Botias et al. 2013a). Protofil, Api Herb, Nozevit. Ninguno ha mostrado eficacia los diseños de estudio de campo son poco robustos en cuanto a dosis, tiempos de muestreo, tipo de aplicación, frecuencia de tratamiento, toxicidad, etc. (Tlak Gajger et al. 2009, 2011, Higes et al. 2014)

Con respecto al extracto vegetal HO21, hemos demostrado en nuestro laboratorio que no es tóxico en *A. melífera*, no afecta la sobrevida de larvas y abejas adultas al ser administrado crónicamente en el alimento. Se han realizado estudios de campo donde se evaluó su aplicación para el control de la infección por *Paenibacillus larvae*. El extracto no es tóxico para el humano.

Lo anterior posiciona a HO21 como materia prima base de la formulación farmacéutica de origen natural que debe ser validada científicamente para el control de *N. ceranae*. El producto deberá competir con la flora disponible, y su consumo no depender de la estacionalidad. Por lo tanto, la formulación del producto deberá contener excipientes que mejoren la palatabilidad y aseguren su dilución en el medio de aplicación.

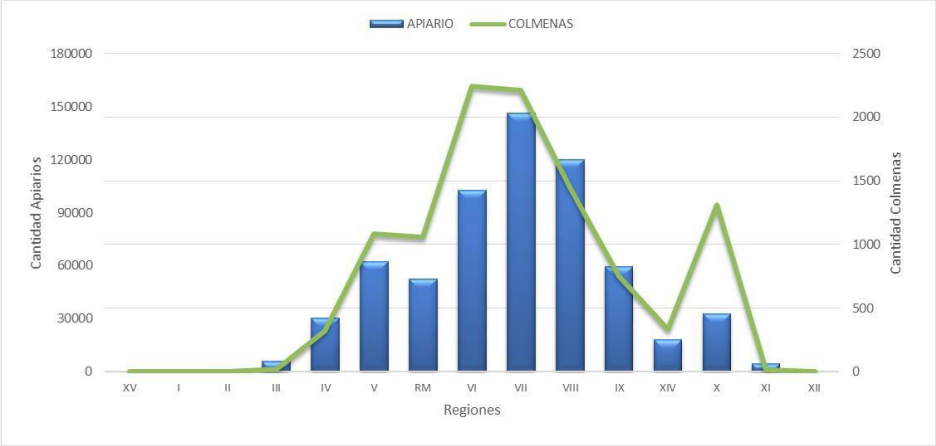
Existe una solicitud de patente INAPI Nº201400243. WO 2015 113175.

6.4. Detalle de qué manera la solución innovadora satisface la necesidad y/u oportunidad del mercado objetivo o beneficiario (propuesta de valor).
(Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos) La necesidad de contar con un producto farmacéutico para el control y/o prevención de *N. ceranae* será satisfecha con la solución descrita porque su uso en *Apis melifera* será efectiva en el control del patógeno y resolverá los diferentes aspectos del problema, protegerá la salud de las larvas y abejas adultas, no dejando residuos tóxicos en miel, ni generando resistencia. Este microsporidio afecta las células epiteliales del intestino medio de la abeja adulta, por lo tanto, la administración oral del producto farmacéutico a través del alimento asegurará su interacción con las esporas ingeridas. Para asegurar un periodo amplio de eficacia se comercializará en polvo y el apicultor lo reconstituirá en el alimento. Será de fácil acceso y seguro en su forma de aplicación para el apicultor. No solo se validará la formulación en el laboratorio y en las colmenas aportadas por la empresa asociada, sino también a escala piloto con apicultores de una amplia zona geográfica del país, escogidos dentro de sus clientes. Lo principal, el extracto y los excipientes considerados están disponibles en el mercado en cantidad y precios suficientes, lo que permitirá el escalamiento a partir del piloto planteado en esta propuesta. Además, permitirá en forma indirecta mejorar la supervivencia de otros agentes polinizantes. Al tener un control eficiente sobre este microsporidio se reducirá la colonización de otras especies de abejas silvestres, lo que está mermando la polinización natural y comercial.

6.5. Describa y cuantifique quiénes son los clientes/beneficiarios potenciales de la solución innovadora y cómo se relacionará con ellos.

(Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos)

De acuerdo, a la información obtenida desde el Registro Apícola de Chile SIPECweb, dependiente del SAG, el número de apicultores registrados, con su declaración realizada hasta el 30 de septiembre de 2017, es de 4.657 apicultores a nivel nacional. Estos poseen un total de 778.914 colmenas distribuidas desde Arica a Punta Arenas, su mayor concentración se da entre la región de Valparaíso y la de Los Lagos. En el mundo son alrededor de 85 millones de colmenas.



Tanto a nivel mundial como en Chile, es difícil conocer el número de colmenas que actualmente presentan la patología. Sin embargo, la empresa interesada en este proyecto comercializó Fumagilin-B en el mercado nacional y solicitó al fabricante en Canadá, la cantidad que Chile ha importado de este producto.

Año	Fumagilin-B importado por Chile (g)	Número de colmenas tratadas por año	Volumen de Negocio - Precio al productor ($)
2012	600.000	300.000	178.414.097
2013	608.000	304.000	180.792.952
2014	420.000	210.000	124.889.868

Las beneficiadas directas serán las colmenas que presenten algún grado de infestación por nosemosis, las que serán tratadas con el producto por los apicultores (clientes) que están a cargo de su manejo y explotación.

Dada las características globales de la infestación y lo rápido que se ha expandido, el mercado objetivo serán las colmenas del mundo que estén en riesgo de contagio, en especial las de Europa, Asia, América y Oceanía. Se llegará a través de laboratorios y distribuidores especializados en Chile y el mundo, estos venderán a los apicultores que requieran controlar la infestación. De aquí la necesidad de participar de los congresos internacionales y de registrar la marca en esos países.

6.6. Indique si existe alguna restricción legal o condición(es) normativa(s) que pueda(n) afectar el desarrollo y/o implementación de la innovación y cómo será abordada.
(Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos) **A nivel Nacional** Cualquier producto de uso veterinario apícola debe cumplir con las estrictas normas chilenas establecidas por el Ministerio de Agricultura Servicio Agrícola Ganadero (www.sag.gob.cl), siguiendo las consideraciones establecidas en el documento Código: D-PP-RM-001 Versión: 01 Fecha de Vigencia:01/03/2011 sobre las "Actividades que ejecuta la empresa registrante para la presentación de un expediente para solicitar el registro de un producto farmacológico". La empresa asociada tiene amplio conocimiento ya que es la guía para el registro de los fármacos que ella representa y distribuye actualmente. **A nivel Internacional** Debe cumplir con las políticas europeas y la legislación apícola comunitaria (European Commission 2009) http://ec.europa.eu/food/international/organisations/oie_en.htm (accesed 10.3.2010) Reglamento CEE 2082/92; CE 939/2007. Normas de la Foof and Agriculture Organization of the United Nations, y the World Health Organization, representadas por CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. La empresa asociada buscará distribuidores en los países de interés, para ello tomará contacto con las empresas que actualmente distribuyen y buscará alianzas en las ferias especializadas que se realizan en paralelo a los congresos de apicultura.

7. PLAN DE TRABAJO[2]
Defina un objetivo general y a partir de éste desglose entre 3 a 5 objetivos específicos. Por cada objetivo específico, determine qué resultados se esperan obtener para verificar su cumplimiento y describa cómo se logrará alcanzar cada objetivo específico (método).
7.1. Objetivo general[3]
(Máximo 250 caracteres, espacios incluidos) "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.***

[2] El **plan de trabajo** ordena y sistematiza información relevante para realizar la propuesta. Es una guía que interrelaciona los recursos tecnológicos, materiales, humanos, financieros, disponibles a fin de lograr determinados resultados y cumplir con los objetivos planteados.
[3] El **objetivo general** debe dar respuesta a lo que se quiere lograr con la propuesta. Se expresa con un verbo que da cuenta de lo que se va a realizar.

7.1. Objetivo específico[4] N°1		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Verificar experimentalmente los parámetros de consumo y de producto no-tóxico en *Apis melífera* de la formulación farmacéutica en base a HO21		
7.2. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°1	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
Alimento conteniendo producto farmacéutico es consumido en igual o mayor proporción que el alimento sin producto farmacéutico por *A. Melífera* en laboratorio.	Consumo: 20-30 µl/abeja en abejas enjauladas	Septiembre 2019
Parámetro de calidad en base a fenoles totales establecido	Línea base	Septiembre 2019
Producto farmacéutico no es tóxico al ser consumido en el alimento por *A. melífera*	LD50: 100 µg/abeja	Septiembre 2019
Alimento conteniendo producto farmacéutico aplicado en alimentador de colmenas experimentales es consumido por *A. Melifera*. (comparado con Alimento sin formulación)	Consumo: ≥ 80%	Septiembre 2019

7.3. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°1:
Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos).

A) Elaboración de producto farmacéutico en base a extracto vegetal HO21

Se elaborará la formulación a escala de laboratorio (usando los compuestos ya evaluados por nuestro grupo de trabajo que aseguran la mejor palatabilidad en comparación con el extracto puro). Esta formulación contiene extracto vegetal además de excipientes cítricos y c.s.p.

B) Análisis del producto farmacéutico formulado en cuanto a concentración de fenoles totales.

Se realizarán diluciones seriadas del formulado final y posteriormente a 100 µl de cada una de las diluciones y puntos de la curva de calibración de Ac. gálico (estándar), se les agregara 500 µl de reactivo Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 en agua destilada). A continuación, se le agregará 400 µl de Na_2CO_3 (75mg/ml), y se incubará por 15 minutos a 50ºC. Finalmente se medirá la absorbancia 760 nm y se realizará un barrido de absorbancia desde 119 a 1100 nm usando el equipo Epoch.

C) Mantención de apiario experimental proveedor de abejas libres de Nosemosis.

Colmenas establecidas en la UDD son inspeccionadas al menos una vez a la semana para verificar:

•población de abejas existentes (para evitar enjambres)

•dinámica de productividad (concentración de miel), realizar alzas

•postura de abeja reina: en la cámara de cría en periodo de traslarve, sobre todo septiembre a febrero

•dependiendo de la temporada; primavera verano cosecha de miel, en invierno administrar alimento

•Control sanitario de las colmenas, se chequea presencia de varroa, nosema, etc.

D) Cría de abejas melíferas en el laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento

Marcos operculados serán incubados a 34°C± 1°C y abejas recién emergidas serán removidas y confinadas en grupos de 20 en jaulas. Se mantendrán en oscuridad bajo condiciones controladas de temperatura (32±2°C) y humedad relativa de 60%. Las abejas serán alimentadas ad libitum con jarabe, (solución de sacarosa al 50%). Se monitoreará, la mortalidad, consumo de alimento.

E) Evaluación de la toxicidad oral aguda del producto farmacéutico, OECD (1998): LD_{50}.

Abejas recién emergidas serán dispuestas al azar en jaulas y mantenidas sin alimento por 2 h previo al inicio del test, luego serán expuestas a diferentes concentraciones de producto farmacéutico diluido en jarabe. Cada concentración en 3 réplicas. Después de una exposición aguda, la solución de producto farmacéutico será reemplazada por jarabe. El consumo y sobrevivencia será registrada a las 6, 24, y 48 h. Los datos colectados serán graficados en una curva dosis respuesta, y analizada por Probit para determinar el LD_{50}.

E) Consumo de alimento conteniendo producto farmacéutico en colmenas

Se dispondrá de dos colmenas establecidas en la UDD, bajo las mismas condiciones de fortaleza de la colonia, de humedad y temperatura ambiental. A una de ellas se le administrará 1L de jarabe conteniendo el producto farmacéutico y a la otra colmena se alimentará con 1L de jarabe. Se evaluará el consumo de alimento en ambas colmenas cada 24 h por 5 días.

[1] Los **objetivos específicos** (OE) constituyen los distintos aspectos que se deben abordar conjuntamente para alcanzar el objetivo general de la propuesta. Cada objetivo específico debe conducir a un resultado cuantificable y verificable. Se expresan con un verbo que da cuenta de lo que se va a realizar.

[1] Considerar que el conjunto de **resultados esperados** (RE) debe dar cuenta del logro del objetivo general de la propuesta. Un objetivo específico puede requerir del logro de uno o más resultados esperados para asegurar y verificar su cumplimiento.

[1]Definir qué se medirá para cada resultado esperado. Corresponde a unidades, elementos o características que nos permiten medir aspectos cuantitativos o cualitativos. Siempre deben ser cuantificables, verificables, relevantes, concretos y asociados a un plazo. Existen indicadores de eficiencia, eficacia, calidad, productividad, rentabilidad, comercialización, sustentabilidad, sostenibilidad (medioambiental), organizacional, cultural, de difusión, etc.

7.4. Objetivo específico N°2		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Evaluar el efecto terapéutico del producto farmacéutico en el laboratorio, para determinar la dosis efectiva y frecuencia de aplicación.		
7.5. Resultados esperados[4] (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°2	**Indicador de resultado[5]**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
El producto farmacéutico tiene efecto terapéutico en abejas infectadas en laboratorio.	"Nºesporas N.ceranae/abeja < al 80%"	Diciembre 2019
Concentración de producto farmacéutico que disminuye la carga de esporas de *N. ceranae* al 80% comparado al control sin tratamiento.	Concentración (%p/v) de producto farmacéutico y dosis	Diciembre 2019

7.6. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°2:
Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)

A) Aislamiento y purificación de esporas de *N. ceranae*

Las esporas serán obtenidas ya sea de i) abejas adultas diagnosticadas con nosemosis, o ii) de abejas infectadas artificialmente en el laboratorio.

Los abdómenes de abejas infectadas serán removidos y homogenizados. Las esporas se cuantificaran usando un hemocitómetro (Cantwell 1970).

[4] Considerar que el conjunto de **resultados esperados** (RE) debe dar cuenta del logro del objetivo general de la propuesta. Un objetivo específico puede requerir del logro de uno o más resultados esperados para asegurar y verificar su cumplimiento.

[5]Definir qué se medirá para cada resultado esperado. Corresponde a unidades, elementos o características que nos permiten medir aspectos cuantitativos o cualitativos. Siempre deben ser cuantificables, verificables, relevantes, concretos y asociados a un plazo. Existen indicadores de eficiencia, eficacia, calidad, productividad, rentabilidad, comercialización, sustentabilidad, sostenibilidad (medioambiental), organizacional, cultural, de difusión, etc.

Se mezclarán 5 ml de macerado y 5 ml de agua destilada, se centrifugará a 5000 x g por 15 minutos. Se eliminará el sobrenadante y el precipitado se resuspenderá en 1 ml de agua estéril. Las esporas serán cargadas en una gradiente de percoll al 95%. Se centrifugará a 8.500 g por 40 minutos y se recuperará la nube de esporas de la fase inferior. Las esporas recuperadas de la gradiente serán lavadas dos veces con agua estéril, centrifugando a 5000 g x 15 minutos. Se eliminará el sobrenadante y el precipitado se resuspenderá en 1 ml de agua estéril. Las esporas presentes en la muestra final serán cuantificadas en hemocitómetro.

B) Extracción de DNA de esporas de *N. ceranae*

El macerado de estómago de abejas o esporas purificadas se someterán a extracción de DNA total utilizando el kit de extracción UltraClean Soil DNA (Mo Bio Laboratories). El DNA eluído será utilizado como molde en la PCR en tiempo real (reacción en cadena de la polimerasa)

C) PCR en tiempo real para la detección de *N. ceranae*

Se realizará un PCR en tiempo real desarrollada en nuestro laboratorio (Martínez, J et al., 2012).,

D) Infección de abejas en laboratorio con esporas de *N. ceranae*.

Abejas adultas confinadas en jaulas, serán infectadas individualmente a los tres días después de haber emergido, dándoles de alimento 2 µL de una solución fresca de sacarosa preparada al 50% que contendrá 50.000 esporas/µL.

E) Evaluación en condiciones de laboratorio del efecto terapéutico sobre el desarrollo de *N. ceranae.*

Tres réplicas de 20 abejas por jaulas serán incorporadas en cada grupo del diseño experimental. A los tres días después de haber emergido, las abejas de los grupos correspondientes serán infectadas artificialmente. El producto farmacéutico será administrado en el alimento, mezclado con una solución de sacarosa al 50%. Se evaluarán diferentes concentraciones de producto farmacéutico, concentraciones que estarán en un rango que no afecte la sobrevida de *A. melífera*. Las dietas serán administradas para consumo ad libitum. Diariamente se registrará la mortalidad y consumo de alimento. A los 7, 13 y 19 días post infección, 5 abejas por replica serán sacrificadas para cuantificar el número individual de esporas en el estómago. El estudio se repetirá 3 veces de manera independiente.

F) Análisis estadístico

La sobrevida será registrada en curva de sobrevida de Kaplan Meier, y analizada por Long-rank test. Para analizar el efecto del producto farmacéutico se aplicara el test de normalidad Shapiro-Wilk para analizar distribución de los datos y Mann-Whitney U-test para comparación de a pares. Un valor de $p<0,05$ será considerado significativo.

7.7. Objetivo específico N°3		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Evaluar el efecto terapéutico del producto farmacéutico en ensayos de campo para ajustar la dosis efectiva y la frecuencia de aplicación del tratamiento.		
7.8. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°3	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
El producto farmacéutico tiene efecto terapéutico en pruebas de campo (colmenas infectadas).	"Nºesporas de N.ceranae/abeja < al 80% de la infección inicial previo al tratamiento."	Junio 2020
Concentración de producto farmacéutico, que disminuye la carga de esporas de *N. ceranae* al 80% comparado al control sin tratamiento.	Concentración (%p/v) de producto farmacéutico y dosis de aplicación	Junio 2020

7.9. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°3:
Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

A) Elaboración de producto farmacéutico a escala piloto

Se elaborará la formulación a escala piloto. Esta formulación contiene extracto vegetal además de excipientes cítricos y c.s.p.

B) Evaluación de la homogeneidad de la formulación farmacéutica desarrollada.

Se evaluaran aspectos como: 1. Que mantenga la actividad antibacteriana frente a *Paenibacillus larvae*, actividad que ha sido descrita para el extracto vegetal HO21 sin co-formulantes en nuestro laboratorio. Se sacarán muestras de la mezcla de formulado de la superficie, medio y fondo del contenedor, 2. Solubilidad, 3. pH, color, olor, 4. Tamaño de material particulado.

C) Análisis del producto farmacéutico formulado en cuanto a concentración de fenoles totales (descrito arriba)

D) Desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales.

Los Apiarios que entren al estudio no requieren de una zona de aislamiento por foco, debido que se trata de una enfermedad endémica presente en un alto % de los apiarios del país, para efecto de este estudio, los apiarios escogidos se encuentran en la IX y VIII región.

18 H 742182 5690443 Cunco, faja 22.000.- IX R

18 H 735021 5847313 Sta. Bárbara, VIII R

Establecimiento y distribución: Entre cada condición experimental existirá una distancia mínima de 3 metros, la distribución primaria de cada ensayo considera que en cada condición los grupos de colmenas se ubiquen en forma lineal con piqueras frontales intercaladas entre sí. Cada condición experimental estará formada por un grupo de 6 colmenas.

Se trabajará con poblaciones en desarrollo (de 4 a 6 marcos) bajo régimen de alimentación artificial a modo de control de tamaño de población y bajar los requerimientos de pecoreo.

Las colonias no deberán haber estado expuestas a otros tratamientos farmacéuticos al menos un mes previo al inicio del ensayo

E) Evaluación del estado sanitario de las colmenas

Se realizará inspección clínica de las colmenas previo a la aplicación del producto farmacéutico. Se realizará diagnóstico de varroa, Loque americana y Loque europea (análisis microbiológico y PCR desarrollado en nuestro laboratorio).

F) Aplicación de producto farmacéutico en colmenas

El producto se administrará en cada colmena mediante alimento (2 litros de jarabe conteniendo producto farmacéutico depositado en el alimentador), una vez a la semana durante 3 semanas consecutivas. Colmenas control se aplicará jarabe.

G) Evaluación en condiciones de campo del efecto terapéutico sobre el desarrollo de *N. ceranae*.

Se realizará inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de *N. ceranae*.

Abejas forrajeras (30 por colmena) serán colectadas previo a la aplicación del producto (T=0) y a los 7 días posterior a la última aplicación del producto farmacéutico (día 28 del ensayo). Se determinará la carga de esporos y se confirmara por PCR si es N. apis y/o N. ceranae.

H) Análisis estadístico

Se usara el test Mann-Whitney para comparación de dos muestras. Un valor de $p<0,05$ será considerado significativo.

7.10. Objetivo específico N°4		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Evaluar a escala piloto (con apicultores) aspectos terapéuticos, de uso/aplicación y empaquetado		
7.11. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°4	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
Validación del producto farmacéutico como antifúngico frente a *N. ceranae* en escala piloto	"Nºesporas de N.ceranae/abeja < al 80% de la infección inicial previo al tratamiento."	Noviembre 2020
Producto listo para el escalamiento.	Diseño final de la presentación del producto farmacéutico.	Noviembre 2020

7.12. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°4:
Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

A) Coordinación de ensayos de campo con apicultores

Selección de lso apicultores que tengan historial de compra de fumagilina.

B) Análisis del estado sanitario de las colmenas.

Se realizará inspección clínica de las colmenas previo a la aplicación del producto farmacéutico. Se realizará diagnóstico de varroa, Loque americana (análisis microbiológico y PCR desarrollada en nuestro laboratorio), Loque europea (análisis microbiológico y PCR desarrollado en nuestro laboratorio).

C) Evaluación del producto farmacéutico mediante encuestas personalizadas

Se distribuirá el producto farmacéutico en envases que permitan el traslado y disposición del producto en polvo, necesario para aplicar la dosis efectiva en controlar la infección y que previamente fue evaluada por nuestro equipo en colmenas infectadas por N. ceranae.

Cada envase llevara instructivo de uso y aplicación.

A los apicultores se les entregará finalizando el ensayo una encuesta que evalué, los pro y contras del envase de presentación del producto, las instrucciones de uso y cuales serían sus sugerencias.

D) Evaluación en condiciones de campo del efecto terapéutico sobre el desarrollo de N. ceranae.

Se realizará inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae, como se ha descrito en secciones anteriores.

El equipo técnico asesorara a los apicultores en la toma de muestras de abejas forrajeras que serán colectadas previo a la aplicación del producto (t=0) y a los 7 días posteriores a la última aplicación del producto farmacéutico (día 28 del ensayo). Se determinará la carga de esporos de Nosema por recuento en hemocitómetro y se confirmara por PCR si es N. apis y/o N. ceranae (tal como se describió anteriormente).

E) Análisis estadístico

Con el fin de comparar el número de esporas de N.ceranae de colonias tratadas con producto farmacéutico y colonias tratadas solo con jarabe se usara el test Mann-Whitney para comparación de dos muestras. Un valor de $p<0,05$ será considerado significativo.

7.13. Objetivo específico N°5		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Evaluar el efecto profiláctico del producto farmacéutico en el laboratorio, para determinar la dosis efectiva y frecuencia de aplicación.		
7.14. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°5	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
El producto farmacéutico tiene efecto profiláctico en abejas infectadas en laboratorio.	"Nºesporas de N.ceranae/abeja < al 80% comparado a abejas infectadas sin tratar"	Mayo 2020
Concentración de producto farmacéutico, que disminuye la carga de esporas de *N. ceranae* al 80% comparado al control sin tratamiento.	Concentración (%p/v) de producto farmacéutico y dosis de aplicación	Mayo 2020

7.15. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°5:

Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

A) Crecimiento de abejas melífera en laboratorio. (Descrito anteriormente)

B) Aislamiento y purificación de esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente)

C) Infección de abejas en laboratorio con esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente)

D) Extracción de DNA de esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente)

E) PCR en tiempo real para la detección de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente)

F) Evaluación en condiciones de laboratorio del efecto profiláctico del producto farmacéutico sobre el desarrollo de *N. ceranae*.

Esporas de *N. ceranae* purificadas de acuerdo con lo descrito serán utilizadas para la infección artificial. Tres réplicas de 20 abejas por jaulas serán incorporadas en cada grupo del diseño experimental. Al segundo día de haber emergido las abejas serán expuestas durante 3 días (pre-infección) al producto farmacéutico que será administrado en el alimento, mezclado con una solución de sacarosa al 50%. A los tres días de estar consumiendo el producto farmacéutico, las abejas de los grupos correspondientes serán infectadas artificialmente. Se evaluarán diferentes concentraciones de producto farmacéutico, concentraciones que estarán en un rango que no afecte la sobrevida de A. melífera. En todas las jaulas las dietas serán administradas para consumo ad libitum. Diariamente se registrará la mortalidad y consumo de alimento. A los 7, 13 y 19 días post infección, 5 abejas por replica serán sacrificadas para cuantificar el número individual de esporas en el estómago (Cantwell 1970). El estudio se repetirá 3 veces de manera independiente. La sobrevida será registrada en curva de sobrevida de Kaplan Meier, y analizada por Long-rank test.

G) Análisis estadístico

La sobrevida será registrada en curva de sobrevida de Kaplan Meier, y analizada por Long-rank test. Para analizar el efecto del producto farmacéutico sobre el recuento de esporas de N.ceranae se aplicara el test de normalidad Shapiro-Wilk para analizar distribución de los datos y Mann-Whitney U-test para comparación de a pares. Un valor de $p<0,05$ será considerado significativo.

7.16. Objetivo específico N°6		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Evaluar el efecto profiláctico del producto farmacéutico en ensayos de campo para ajustar la dosis efectiva y la frecuencia de aplicación del tratamiento.		
7.17. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°6	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
El producto farmacéutico tiene efecto profiláctico en pruebas de campo (colmenas)	"Nºesporas de N.ceranae/abeja < al 80%"	Diciembre 2020
Concentración de HO21, que disminuye la carga de esporas de N. ceranae al 80% comparado al control sin tratamiento.	Concentración (%p/v) de formulación comercial y dosis de aplicación	Diciembre 2020

7.18. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°6:
Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

A) Desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales. (Descrito anteriormente)

B) Evaluación del estado sanitario de las colmenas

Se realizará inspección clínica de las colmenas previo a la aplicación del producto farmacéutico y a la infección con N. ceranae. Se realizará diagnóstico de varroa, Loque americana (análisis microbiológico y PCR desarrollada en nuestro laboratorio), Loque europea (análisis microbiológico y PCR desarrollado en nuestro laboratorio), Nosemosis (microscopia y PCR para N. apis y N. ceranae).

C) Aplicación de producto farmacéutico en colmenas

Las colonias no deberán haber estado expuestas a otros tratamientos farmacéuticos al menos un mes previo al inicio del ensayo. Colonias deberán ser homogéneas, en promedio tres a cuatro marcos de cría, cuatro a y marcos con abejas adultas y dos marcos con miel. Dependiendo de cada condición experimental el producto farmacéutico se administrará en cada colmena mediante asperjado (50 ml de jarabe conteniendo formulación comercial sobre los marcos y cajones) o en el alimento (2 litros de jarabe conteniendo producto farmacéutico depositado en el alimentador), una vez a la semana durante 3 semanas consecutivas, previo a la infección, de acuerdo al diseño experimental. Colmenas control se aplicará jarabe.

D) Infección de colmenas

A los 21 días de haber sido instaladas las colmenas se analizará el 100% del apiario, donde se tomarán decisiones para la realización de manejos como paqueteos para generación de colmenas en igualdad de condiciones antes de comenzar cada intervención.

La infección se realizará dando esporas en un sistema de alimentación concentrado en el piso al interior de la colmena por debajo de los marcos, a modo de que las abejas tengan un rápido y efectivo acceso a estas para asegurar el proceso de infección a través de la alimentación.

E) Evaluación en condiciones de campo del efecto profiláctico sobre el desarrollo de N. ceranae.

Muestras de abejas forrajeras (30 por colmena) serán colectadas post ultima aplicación del producto y previo a la infección (T0=) y posteriormente a los 14 y 28 días post infección. Se determinará la carga de esporos de Nosema por recuento en hemocitómetro y se confirmara por PCR si es N. apis y/o N. ceranae (tal como se describió anteriormente).

F) Análisis estadístico

Se usara el test Mann-Whitney para comparación de dos muestras. Un valor de $p<0,05$ será considerado significativo.

7.19. Objetivo específico N°7		
(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos) Establecer alianzas para el acceso a clientes internacionales y desarrollo de esos mercados.		
7.20. Resultados Esperados (RE) que se espera conseguir para validar el cumplimiento del objetivo específico N°7	**Indicador de resultado**	**Fecha de alcance del RE** (mes de ejecución)
Registro de marca iniciado en países de interés comercial.	Países con registro de Marca=5	Diciembre 2020
Prospectos de socios internacionales para la distribución.	Empresas=5	Diciembre 2020

7.21. Describa el método para cumplir el objetivo específico N°7:

Indique y describa detalladamente cómo logrará el cumplimiento de este objetivo específico. Considerar todos los procedimientos que se van a utilizar, como tipo de análisis, equipamiento, productos, ensayos, técnicas, tecnologías, manejo productivo, entre otros.

(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos).

A) Estrategia de protección del negocio bio-tecnológico para el desarrollo de mercados.

El perfil de este negocio bio-tecnológico se sustenta en dos pilares, primero la adjudicación de la patente sumado al cumplimiento del contrato de licenciamiento convenido entre la asociada y la UDD y el secreto industrial de la formulación.

Para lo último, se anexarán las condiciones necesarias en los contratos de los profesionales que se sumen al equipo técnico.

Adicionalmente, como una forma de proteger la innovación será realizar el registro de marcas en los países de interés comercial.

B) Sumar socios estratégicos para la internacionalización.

El modelo de negocio incluye la internacionalización a través de socios representantes en los países de interés comercial; estos deben tener la experiencia y capacidad financiera, técnica y de personal para hacer los registros correspondientes en cada país con la autoridad sanitaria correspondiente.

La estrategia que seguir es contactar a las empresas distribuidoras locales e internacionales conocidas, publicar la información en internet para que otros interesados que no están en el radar de la empresa se interesen. Una buena vitrina es participar en los congresos internacionales del rubro donde exponen los laboratorios internacionales que trabajan en el tema apicola.

8. CARTA GANTT

Indique las actividades que deben realizarse para el desarrollo de los métodos descritos anteriormente y su secuencia cronológica por año calendario, asociándolas a los objetivos específicos y resultados esperados.

Nº OE	Actividades	Año 1											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
1	1.Adquisición de excipientes para elaboración de producto Farmacéutico en base a extracto vegetal HO21 que serán evaluadas en laboratorio	x	x										
1	2. Elaboración de producto farmacéutico a escala de laboratorio		x										
1	3.Análisis de producto farmacéutico formulado en cuanto a concentración de fenoles totales, proteínas.		x										
1	4. Mantención de apiario experimental de la UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
1	5. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.	x	x	x	x								
1	6. Evaluación de la toxicidad oral aguda del producto farmacéutico (LD50).		x	x	x								
1	7. Evaluación del consumo de alimento conteniendo producto farmacéutico en colmenas							x	x	x			
2	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	2. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.									x	x	x	x

Nº OE	Actividades	Año 1											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
2	3. Obtención y cuantificación de esporas de Nosema ceranae para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Extracción de DNA. Análisis por PCR.							**x**	**x**				
2	4. Infección artificial de abejas melíferas en laboratorio con esporas de N. ceranae, monitoreo de su sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas.									**x**	**x**	**x**	
2	5. Abejas infectadas artificialmente con N. ceranae son expuestas al producto farmacéutico en el alimento (TERAPIA).									**x**	**x**	**x**	
2	6. Monitoreo de las abejas infectadas y tratadas con producto farmacéutico, registro de la sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas de N. ceranae.									**x**	**x**	**x**	**x**
2	7. Registro de datos y análisis de resultados									**x**	**x**	**x**	**x**
3	1. Elaboración de producto farmacéutico a escala piloto											**x**	**x**
3	2. Implementación de proceso piloto. Obtención de los lotes por formulación									**x**	**x**	**x**	
3	3. Evaluación de la homogeneidad de la formulación farmacéutica desarrollada											**x**	**x**
3	4. Análisis de producto farmacéutico formulado a escala piloto en cuanto a concentración de fenoles totales, proteínas.												
3	5. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales.	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
3	6. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)												

Nº OE	Actividades	Año 1											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
3	7. Infección de colmenas con esporas de N. ceranae. Determinación de la carga de esporas análisis por microscopia e identificación por PCR de N. ceranae												
3	8. Aplicación producto farmacéutico post infección (TERAPIA)												
3	9. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae												
3	10. Registro de datos y Análisis de resultados												
4	1. Coordinación de ensayos de campo con apicultores												
4	2. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)												
4	3. Evaluación del producto farmacéutico mediante encuestas personalizadas												
4	4. Aplicación producto farmacéutico (TERAPIA)												
4	5. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae												
4	6. Registro de datos y Análisis de resultados												
5	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.												
5	2. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.												**x**

Nº OE	Actividades	Año 1											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
5	3. Obtención y cuantificación de esporas de Nosema ceranae para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Análisis por PCR											**x**	**x**
5	4. Abejas en laboratorio alimentadas durante 3 días con jarabe mezclado con producto farmacéutico (PROFILAXIS), se infectan con esporas de N. ceranae												
5	5. Monitoreo de las abejas infectadas, registro de la mortalidad, consumo de alimento y determinación de la carga de esporas de N. ceranae en las abejas de cada ensayo por PCR y microscopia												
5	6. Registro de datos y análisis de resultados												**x**
6	1. Desarrollo de colmenas, reposición y adecuación productiva												
6	2. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)												
6	3. Aplicación de HO21 en las colmenas previo a la infección (PROFILAXIS) y HO21 se mantiene en alimento												
6	4. Infección de colmenas con esporas de N. ceranae												
6	5. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae en muestras de abejas de apiario experimental por PCR y microscopía												
6	6. Registro de datos y Análisis de resultados												

Nº OE	Actividades	Año 1											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
7	1. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto							**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
7	2. Contactar empresas distribuidoras conocidas												
7	3. Participar en Congreso de apicultura de índole internacional								**x**	**x**	**x**		
7	4. Iniciar el registro de marca en los países de interés							**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**

CARTA GANTT AÑO 2

Nº OE	Actividades	Año 2											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
1	1.Adquisición de excipientes para elaboración de producto Farmacéutico en base a extracto vegetal HO21 que serán evaluadas en laboratorio												
1	2. Elaboración de producto farmacéutico a escala de laboratorio												
1	3.Análisis de producto farmacéutico formulado en cuanto a concentración de fenoles totales, proteínas.												
1	4. Mantención de apiario experimental de la UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.												
1	5. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.												
1	6. Evaluación de la toxicidad oral aguda del producto farmacéutico (LD50).												
1	7. Evaluación del consumo de alimento conteniendo producto farmacéutico en colmenas												
2	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.												
2	2. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.												

Nº OE	Actividades	Año 2											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
2	3. Obtención y cuantificación de esporas de Nosema ceranae para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Extracción de DNA. Análisis por PCR.												
2	4. Infección artificial de abejas melíferas en laboratorio con esporas de N. ceranae, monitoreo de su sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas.												
2	5. Abejas infectadas artificialmente con N. ceranae son expuestas al producto farmacéutico en el alimento (TERAPIA).												
2	6. Monitoreo de las abejas infectadas y tratadas con producto farmacéutico, registro de la sobrevivencia, consumo de alimento y carga de esporas de N. ceranae.												
2	7. Registro de datos y análisis de resultados												
3	1. Elaboración de producto farmacéutico a escala piloto	**x**	**x**	**x**	**x**								
3	2. Implementación de proceso piloto. Obtención de los lotes por formulación												
3	3. Evaluación de la homogeneidad de la formulación farmacéutica desarrollada	**x**	**x**	**x**	**x**								
3	4. Análisis de producto farmacéutico formulado a escala piloto en cuanto a concentración de fenoles totales, proteínas.			**x**	**x**	**x**							
3	5. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales.	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
3	6. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)	**x**	**x**										

Nº OE	Actividades	Año 2											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
3	7. Infección de colmenas con esporas de N. ceranae. Determinación de la carga de esporas análisis por microscopia e identificación por PCR de N. ceranae	**x**	**x**										
3	8. Aplicación producto farmacéutico post infección (TERAPIA)		**x**	**x**	**x**								
3	9. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae			**x**	**x**	**x**							
3	10. Registro de datos y Análisis de resultados		**x**	**x**	**x**	**x**	**x**						
4	1. Coordinación de ensayos de campo con apicultores						**x**	**x**					
4	2. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)							**x**	**x**				
4	3. Evaluación del producto farmacéutico mediante encuestas personalizadas										**x**		
4	4. Aplicación producto farmacéutico (TERAPIA)								**x**	**x**			
4	5. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae								**x**	**x**	**x**		
4	6. Registro de datos y Análisis de resultados								**x**	**x**	**x**	**x**	
5	1. Mantención de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de Nosema ceranae.	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
5	2. Cría de abejas melíferas en laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento.	**x**	**x**	**x**									

Nº OE	Actividades	Año 2											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
5	3. Obtención y cuantificación de esporas de Nosema ceranae para usarlas como inóculos en infección de abeja melífera. Análisis por PCR												
5	4. Abejas en laboratorio alimentadas durante 3 días con jarabe mezclado con producto farmacéutico (PROFILAXIS), se infectan con esporas de N. ceranae	**x**	**x**	**x**									
5	5. Monitoreo de las abejas infectadas, registro de la mortalidad, consumo de alimento y determinación de la carga de esporas de N. ceranae en las abejas de cada ensayo por PCR y microscopia	**x**	**x**	**x**	**x**								
5	6. Registro de datos y análisis de resultados	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**							
6	1. Desarrollo de colmenas, reposición y adecuación productiva	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
6	2. Análisis del estado sanitario de las colmenas, diagnóstico de varroa, Loque americana, Loque europea, Nosemosis (PCR para N. Apis y N. Ceranae)						**x**	**x**	**x**	**x**			
6	3. Aplicación de HO21 en las colmenas previo a la infección (PROFILAXIS) y HO21 se mantiene en alimento							**x**	**x**	**x**			
6	4. Infección de colmenas con esporas de N. ceranae								**x**				
6	5. Inspección clínica de las colmenas y determinación de la carga de esporas de N. ceranae en muestras de abejas de apiario experimental por PCR y microscopía									**x**	**x**	**x**	
6	6. Registro de datos y Análisis de resultados										**x**	**x**	**x**

Nº OE	Actividades	Año 2											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		
7	1. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**
7	2. Contactar empresas distribuidoras conocidas	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**				
7	3. Participar en Congreso de apicultura de índole internacional			**x**	**x**	**x**							
7	4. Iniciar el registro de marca en los países de interés	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**

CARTA GANTT AÑO 3 (SIN ACTIVIDADES)

Nº OE	Actividades	Año 3											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		

CARTA GANTT AÑO 4 (SIN ACTIVIDADES)

Nº OE	Actividades	Año 4											
		Trimestre											
		Ene - Mar			Abr - Jun			Jul - Sep			Oct - Dic		

9. PROPIEDAD INTELECTUAL			
9.1. Protección de los resultados			
a) Indique si la propuesta aborda la protección del bien, servicios o resultado generado. (Marque con una X)			
SI	X	NO	
b) Si su respuesta anterior fue Sí, detalle cuál o cuáles de los siguientes mecanismos tiene previsto utilizar para la protección: marca comercial, marcas colectivas, marcas de certificación, denominación de origen, indicación geográfica, patente de invención, derecho de autor, diseño industrial, modelo de utilidad o secreto industrial.			
La adjudicación de la patente que está en trámite sumado al cumplimiento del contrato de licenciamiento convenido entre la asociada y la UDD y el secreto industrial de la formulación. Se anexarán las condiciones necesarias en los contratos de los profesionales que se sumen al equipo técnico. Adicionalmente, como una forma de proteger la innovación será realizar el registro de marcas en los países de interés comercial.			

10. ORGANIZACIÓN Y EQUIPO TECNICO DE LA PROPUESTA

10.1. Organización de la propuesta

Describa el rol del ejecutor, asociados (si corresponde) y servicios de terceros (si corresponde) en la propuesta.

	Rol en la propuesta
Ejecutor	El ejecutor llevara acabo el diseño experimental de laboratorio y de los ensayos de campo. Dirigirá, realizará y verificará que las actividades contempladas para conseguir los objetivos propuestos sean realizadas bajo estrictas condiciones de seguridad y cumplan con los estandares para validar científicamente la solución propuesta. Se mantendra al día en la literatura a nivel nacional e internacional en el ambito de estudio de la propuesta. Redactara informes. Establecera comunicación con el Servicio Agrícola y ganadero para realizar el trabajo conjunto que entregue información que pueda ser utilizada por el sector apícola. Se hara cargo de la parte administrativa del desarrollo de la propuesta. Asesorara en ambito de propiedad intelectual. En la redacción de contratos de confidencialidad y otros documentos que sean necesarios para la protección de la solución propuesta.
Asociado 1	Participara en el desarrollo del diseño experimental, análisis y discusión de resultados Generara la red de proveedores de los insumos necesarios para elaborar el producto farmacéutico. Establecera planta piloto para la fabricaciónn homogenea y a mayor escala del producto farmacéutico validado en condiciones de laboratorio. Mantendra en condiciones optimas colmenas experimentales, realizando la reposición y adecuación productiva. Gestionara y coordinara los ensayos de terreno, asesorara en el analisis clínico de las colmenas, toma y envio de muestras al laboratorio y registro de datos de ensayos de campo.
Asociado (n)	

10.2. Equipo técnico

Identificar y describir las funciones de los integrantes del equipo técnico (profesionales) de la propuesta. Además adjuntar:

- Carta de compromiso del coordinador y cada integrante del equipo técnico (**Anexo 3**)
- Currículum vitae (CV) del coordinador y los integrantes del equipo técnico (**Anexo 4**)

La columna 1 (N° de cargo), debe completarse de acuerdo al siguiente cuadro:

1	Coordinador principal	**3**	Profesional de apoyo técnico	**5**	Profesional de apoyo administrativo
2	Coordinador alterno	**4**	Equipo Técnico	**6**	Mano de obra

Nº Cargo	Nombres Apellidos	Formación/ Profesión	Incremental[6] (si/no)	Describir en detalle la función que desempeñará en la propuesta	Horas de dedicación totales
1	Jessica Isabel Martínez Arenas	Magister en ciencias Biológicas Doctorado en Biología Molecular	no	Planificación, Desarrollo, supervisión de las actividades. Dirección de recursos humanos. Diseño experimental. Discusión y análisis de resultados. Elaboración de Informes.	1080
2	Marcelo Henríquez	Ing. Civil Industrial	no	Discusiones de trabajo. Asesoría. Gestión e interacción con las autoridades competentes. Coordinación y gestión de ensayos de campo . Responsable de la implementación de la planta piloto y gestor del modelo de negocios que se suma como una nueva unidad en la empresa asociada.	864
4	Pablo Alfonso Villarreal Diaz	Ing. En Biotecnologia.	si	Participación diseños experimentales. Desarrollo de la investigación en el laboratorio y	4320

[6] Profesionales que no son de planta, pero participarán en el proyecto, es decir serán contratados específicamente para la iniciativa.

				trabajo experimental de campo. Formulación de producto farmacéutico. Desarrollo de diagnóstico Microbiológico y Molecular de *N. ceranae*. Recepción de muestras. Registro de datos. Discusión y análisis de resultados. Análisis estadístico de los resultados. Elaboración de informes.	
4	Constanza Alicia Ley Hernandez	Bioquímico	si	Participación en el diseño experimental de laboratorio y de experimentos de campo. Desarrollo de metodología para la detección de compuestos fenólicos, en producto farmacéutico en base a extracto vegetal HO21. Participación en experimentos de campo. Discusión y análisis de resultados Realizar el análisis estadístico de los resultados. Participar en la redacción de los informes	4320
4	Alonso Mora	Ingeniero Civil Industrial	si	Ingeniero Civil Industrial, tendrá la responsabilidad de la importacion y mezcla de los distintos componentes de la formulación. Además, de ejecutar los ensayos que la propuesta considera para la determinación y seguimiento a los parametros de calidad.	1080

4	Carlos Sepúlveda	Ingeniero Agricola	si	Asesor y supervisor en experimentos de campo, toma de muestras de abejas, miel y marcos de colmenas experimentales. Diagnóstico clínico de las colmenas. Registro de datos. Gestión en el envío de material para análisis en el laboratorio. Supervisión de la aplicación del producto farmacéutico en campo.	2160

10.3. Servicios de terceros Si corresponde, indique en el siguiente cuadro las actividades que serán realizadas por terceros
Enumere las actividades y servicios que serán externalizados para la ejecución del proyecto
1. Mantenimiento de las Colmenas sujetas de estudio (Mantención en condiciones de población, nutrición y sanidad de las colmenas durante el desarrollo del proyecto)
2. Establecimiento de los Apiarios experimentales y Gestión de los ensayos: Establecer los apiarios de acuerdo con el diseño experimental. Esto incluye la evaluación de su localización, el establecimiento de las colmenas y su traslado, evaluación inicial del estado sanitario, implementación y desarrollo del diseño experimental durante los meses programados (toma de muestras, aplicación del extracto, evaluación clínica de las colmenas).