



CONVOCATORIA NACIONAL PROYECTOS DE INNOVACIÓN 2019

PLAN OPERATIVO

Nombre iniciativa:	"Producto farmacéutico para uso en <i>Apis melífera</i> , en base a extracto vegetal, para el control de la infección causada por el patógeno de distribución mundial <i>Nosema ceranae</i> "
Ejecutor:	Universidad del Desarrollo
Código:	PYT-2019-0215
Fecha versión del documento:	10 de julio de 2019
Región(es) de ejecución	Metropolitana, O'Higgins, Biobío, Araucanía y Los Ríos.
Región(es) de impacto	Todo el territorio nacional

Firma por Fundación para la Innovación Agraria

Conforme con Plan Operativo
Firma por Ejecutor
(Representante Legal o Coordinador Principal)



Tabla de contenidos

I. Plan de trabajo	3
1. Configuración técnica del proyecto	3
2. Anexos	49
3. Costos totales consolidados	57
II. Detalle administrativo (Completado por FIA)	58

I. Plan de trabajo

1. Configuración técnica del proyecto

1.1. Resumen ejecutivo

(Se incluyen los resultados previos de investigación y se contextualiza la producción de fitomedicamentos)

A nivel mundial no existe un fármaco que controle la patología Nosemosis en colmenas de *Apis mellifera*. 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 pérdida 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).

Sumado a esto, el antibiótico fumagilina utilizado en el control de este patógeno se dejó de fabricar en el 2018. Por otro lado, la tendencia mundial es dejar de usar antibióticos en el control de patologías.

Como alternativa se propone el uso de un producto farmacéutico en base a un extracto natural de hojas de olivo estandarizado (HO21), de origen vegetal con propiedades antifúngicas, formulado con excipientes que mejoran su palatabilidad, para el control y prevención de *N. ceranae*. Administrado de forma tal que la abeja adulta lo consuma y se asegure su efecto profiláctico y/o terapéutico.

El extracto vegetal natural que se utilizará en la formulación ha sido caracterizado, contiene componentes biológicamente activos, cuyo uso en el control de patógenos que afectan a *A. mellifera* ha sido demostrado en el laboratorio de la UDD (solicitud de patente N° 201400243). El extracto vegetal de hojas de olivo ha sido caracterizado por Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas LC-MS/MS, determinándose una alta concentración de compuestos fenólicos (quercetina, hidroxitirosol, ácido cafeico, oleuropeina y ácido p-cumarico entre otros). Específicamente, se ha demostrado que el extracto puro HO21 inhibe el crecimiento de la bacteria *Paenibacillus larvae* agente causal de Loque americana, no es tóxico para las larvas ni abejas adultas y su consumo tampoco afecta la sobrevivencia de *A. mellifera* (Fondef Ciencia Aplicada).

Así mismo, ensayos mostraron un bajo consumo del extracto puro, dado su sabor amargo, lo que llevo a evaluar el consumo de formulaciones con saborizantes cítricos (naranja y limón), aromatizantes cítricos (citral, limoneno y linalool) y c.s.p., llegando a determinar los compuestos que mejoran su palatabilidad. Se espera como resultado final, la evaluación de los formulados específicos para el control de Loque americana (Fondef Tecnológico).

Los antecedentes que sustentan la formulación de este proyecto provienen de ensayos realizados en la universidad, donde una colmena infectada con *N. ceranae* mostró disminución en el recuento de esporas, después de aplicarle extracto puro en el alimento.

El producto farmacéutico se formulará con extracto estandarizado de HO21 con el objeto de crear un producto uniforme acotando la variabilidad que le da su origen natural, para ser usado en los ensayos clínicos y en los estudios de estabilidad. La producción de esta materia prima

se basa en las normas internacionales de producción y control de calidad de fitofármacos, lo que permite garantizar que su composición estará dentro de ciertos márgenes y el criterio (Awang, Dennis V.C. (Julio de 1999). «Standardization of Herbal Medicines». *Manual de Curso de fitoterapia* (Canada: MediPlant Consulting) 1: 57-59.) usado es la identificación y cuantificación del contenido de oleuropeina, marcador químico característico del extracto.

El formulado final incluirá excipientes de origen natural que mejoran la palatabilidad pero que aportan componentes que podrían o no hacer sinergia con los que el extracto contiene.

En el ámbito de los fármacos convencionales la estandarización normalmente indica un rango garantizado de concentración del ingrediente activo conocido, para el cual se ha establecido una clara relación dosis-efecto. De esta forma se espera que después de la fecha de vencimiento para un lote dado, el porcentaje del ingrediente activo disminuya por debajo de un valor suficiente para garantizar un efecto terapéutico satisfactorio (Tierra, Michael (1999). «Why Standardized Herbal Extracts?». *Natural Foods Merchandiser*.).

La formulación de fitomedicamentos tiene muchos elementos en común con la de medicamentos convencionales. No obstante, algunos de estos elementos son difíciles de homologar, como es el caso de los estudios de estabilidad, debido a la compleja composición que caracteriza a dichos preparados. Identificar un trazador químico asociado a la estabilidad, cuantificable por métodos instrumentales, resulta una labor compleja y costosa.

Se propone mantener, al igual que en el extracto puro, como marcador químico el contenido de oleuropeina. Adicionalmente, como control de calidad medir los compuestos fenólicos totales y sumar a los ensayos de estabilidad la actividad antimicrobiana.

En el planteamiento del Plan Operativo se usará la sigla **HO21-F** para diferenciar el formulado que se registrará como producto farmacológico del extracto puro (HO21) que se usa como materia prima.

1.2. Objetivos del proyecto

1.2.1. Objetivo general

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



1.2.2. Objetivos específicos

Objetivo específico N°1				
<i>(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)</i> Evaluar el efecto <u>terapéutico</u> del formulado en el <u>laboratorio</u>, para determinar la dosis efectiva.				
Resultados esperados¹ (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°1	Indicador de resultado²	Línea base del indicador³	Meta del indicador⁴	Fecha de alcance del RE
R1: 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.	(N° esporas en abejas infectadas sin tratamiento - N° de esporas en abejas infectadas con tratamiento) / N° esporas en abejas infectadas sin tratamiento x 100	100% (ambos grupos parten infectándose con igual concentración de esporas)	Al menos un 75%	nov-2019
R2: Dosis terapéutica efectiva del formulado a aplicar en los estudios de campo.	g/L	Desconocida	Conocida	nov-2019
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.				

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.

² Definir qué se medirá para cada resultado esperado. Corresponde a unidades, elementos o características que nos permiten medir aspectos cuantitativos o cualitativos, como, por ejemplo: Kg/há/año, calibre promedio del fruto (mm), % de plantas sanas, número de animales vendidos por año, \$/unidad, entre otros. 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.

³ La línea base corresponde a un valor cuantificado al inicio del proyecto, en la unidad definida en el indicador de resultado. La línea base debe corresponder al valor actual del sector productivo a nivel comercial. Si no existe línea base para el nuevo producto/servicio se deberá considerar el valor a nivel comercial de productos/servicios de la competencia.

⁴ La meta del indicador debe cuantificar la agregación del valor del producto/servicio reportado en la línea base.

(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)

A) Elaboración de formulado en base a extracto vegetal HO21 en laboratorio

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 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 Na₂CO₃ (75mg/ml), y se incubará por 15 minutos a 50°C. Finalmente se medirá la absorbancia 760 nm y se realizará un barrido de absorbancia desde 119 a 1100 nm.

C) 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 cuantificarán usando un hemocitómetro (Cantwell 1970).

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.

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

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

E) 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).

F) Mantenimiento de apiario experimental proveedor de abejas libres de Nosemosis para los ensayos de laboratorio.

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

- * manejar la población de abejas existentes, evitando en lo posible enjambres;
- * manejar el estado sanitario;
- * manejos profilácticos, etc.

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

Marcos operculados serán incubados a $34^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y abejas recién emergidas serán removidas y confinadas en grupos de 20 en jaulas. Se mantendrán en oscuridad bajo condiciones controladas de temperatura ($32 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 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.

H) 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 .

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

El diseño experimental contempla 5 grupos; grupo I: condición control, abejas sin infectar y alimentadas con jarabe; grupo II: condición control, abejas infectadas con *N. ceranae* y alimentadas con jarabe; grupos III, IV y V: abejas infectadas con *N. ceranae* y alimentadas con 3 diferentes concentraciones de la formulación preparada en el laboratorio, donde el extracto vegetal HO21 estará a una concentración de 0,5 g/L; 1,0 g/L y 2,0 g/L respectivamente.

Tres réplicas de 20 abejas por jaula (60 abejas en total) serán usadas en cada grupo del diseño experimental. A los tres días después de haber emergido, las abejas de los grupos correspondientes serán infectadas artificialmente. El formulado será administrado en el alimento de forma crónica, mezclado con una solución de sacarosa al 50% a partir del día 1 post infección. 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

(15 abejas por grupo) serán sacrificadas para cuantificar el número individual de esporas en el estómago. El estudio se repetirá 3 veces de manera independiente.

J) Análisis estadístico

La sobrevida será registrada en curva de sobrevida de Kaplan Meier, y analizada por Long-rank test. Para analizar el efecto del formulado se aplicará 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.

Objetivo específico N°2

(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)

Evaluar el efecto profiláctico del formulado en el laboratorio, para determinar la dosis efectiva.

Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°2	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R3: Se espera que en abejas que consumieron HO21-F previo a la infección el recuento de esporas germinados en el periodo de evaluación sea menor que en aquellas abejas que no fueron expuestas al formulado profiláctico.	Relación entre N° de esporas en abejas tratadas e infectadas y N° esporas en abejas no tratadas e infectadas.	Indeterminado (no hay esporas presentes)	Menor a 1/3	dic-2019
R4: Dosis profiláctica efectiva del formulado a aplicar en los estudios de campo.	g/L	Desconocida	Conocida	dic-2019

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) Elaboración de formulado en base a extracto vegetal HO21 en laboratorio (Descrito anteriormente en 1-A)

B) Análisis del formulado en cuanto a concentración de fenoles totales. (Descrito anteriormente en 1-B)

C) Aislamiento y purificación de esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente en 1-C)

- D) Extracción de DNA de esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente 1-D)
- E) PCR en tiempo real para la detección de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente 1-E)
- F) Mantenimiento de apiario experimental proveedor de abejas libres de Nosemosis para los ensayos de laboratorio. (Descrito anteriormente 1-F)
- G) Cría de abejas melíferas en el laboratorio y registro de su sobrevivencia y consumo de alimento. (Descrito anteriormente 1-G)
- H) Infección de abejas en laboratorio con esporas de *N. ceranae*. (Descrito anteriormente 1-H)
- I) Evaluación en condiciones de laboratorio del efecto profiláctico del formulado (HO21-F) 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. El diseño experimental contempla 5 grupos; grupo I: condición control, abejas sin infectar y alimentadas con jarabe; grupo II: condición control, abejas infectadas con *N. ceranae* y alimentadas con jarabe; grupos III, IV y V: abejas alimentadas con 3 diferentes concentraciones de la formulación preparada en el laboratorio, donde el extracto vegetal HO21 estará a una concentración de 0,5 g/L; 1,0 g/L y 2,0 g/L respectivamente. Al segundo día de haber emergido las abejas serán expuestas durante 3 días (pre-infección) al formulado que será administrado en el alimento, mezclado con una solución de sacarosa al 50%. A los tres días de estar consumiendo el formulado, las abejas de los grupos correspondientes serán infectadas individualmente dándoles de alimento 2 μ L de una solución fresca de sacarosa preparada al 50% que contendrá 50.000 esporas/ μ L. 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 (15 abejas por grupo) serán sacrificadas para cuantificar el número individual de esporas en el estómago (Cantwell 1970). El estudio se repetirá 3 veces de manera independiente.

J) Análisis estadístico

La sobrevida será registrada en curva de sobrevida de Kaplan Meier, y analizada por Long-rank test. Para analizar el efecto del formulado sobre el recuento de esporas de *N. ceranae* se aplicará 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

Objetivo específico N° 3				
<i>(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)</i>				
Desarrollar el formulado (HO21-F) a <u>escala piloto</u> y establecer los controles de calidad asociados				
Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°3	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R5: Tener parámetros que permitan validar el proceso de fabricación	unidades	-	2	Jun-2020
R6: Protocolo de elaboración del formulado a escala piloto	Documento	no existe	existe	Jun-2020
R7: Estudio de estabilidad acelerado	Documento	no existe	existe	Nov-2021
Describe 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.				
<i>(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)</i>				
<p>A) Poner a punto las técnicas analíticas.</p> <p>Se implementaran las técnicas que permitan cuantificar los fenoles totales del formulado y su actividad biológica a través de la actividad antimicrobiana en cinéticas de crecimiento bacteriano por absorbancia a densidad óptica de 600nm validando los lotes de escala piloto como en los ensayos de estabilidad y validación comercial.</p> <p>B) Elaboración del formulado a escala piloto (a cargo de ApiQuality).</p> <p>Se elaborarán 4 lotes de la formulación a escala piloto. Cada unidad contendrá lotes diferentes de extracto vegetal, además de excipientes cítricos y c.s.p de un mismo lote.</p> <p>C) Evaluación del método de fabricación del formulado.</p>				

Se sacarán muestras de la mezcla de formulado de la superficie, medio y fondo del contenedor para evaluar su homogeneidad. Además, se evaluarán aspectos como: 1. Actividad antimicrobiana (método biológico para medir la actividad); 2. Solubilidad; 3. pH, color, olor; 4. Tamaño de material particulado.

D) Análisis del formulado en cuanto a concentración de fenoles totales. (Descrito en 1-B)

E) Análisis de actividad antimicrobiana

Se evaluará el efecto frente a bacterias que se sabe el extracto vegetal tiene actividad antimicrobiana (p.ej. E. coli). La bacteria se creará hasta tener una densidad óptica de 0,5 McF y se realizará cultivo líquido en microplacas, donde la bacteria será expuesta a diluciones seriadas del formulado en evaluación. 24h post incubación se medirá la inhibición del crecimiento por lectura de absorbancia.

F) Definición de parámetros de control de calidad.

De los análisis previos se determinarán los parámetros de control de calidad para evaluar el proceso de fabricación. Los que sumado al análisis de la actividad antimicrobiana se usaran para los estudios de estabilidad.

G) Estudio de estabilidad del formulado.

A tiempo real: se realizará a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $60\% \pm 5\%$ de humedad relativa y con una frecuencia de muestreo y análisis a los cero (0), tres (3) seis (6) y doce (12) meses durante el primer año, cada seis (6) meses durante el segundo año y posteriormente a este estudio una (1) vez al año a partir del tercer año y hasta el quinto año.

Acelerada: se realizará a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $75\% \pm 5\%$ de humedad relativa y se aceptan como mínimo tres puntos que corresponden al mes cero (0), mes tres (3) y mes seis (6).

Objetivo específico N° 4				
<i>(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)</i>				
Evaluar el efecto <u>terapéutico</u> del formulado en <u>ensayos de campo</u> para ajustar la dosis efectiva del tratamiento.				
Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°4	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R8: El formulado tiene efecto terapéutico en pruebas de campo (colmenas infectadas).	(N° de esporas en abejas infectadas con tratamiento / N° esporas en abejas infectadas sin tratamiento) x 100	100% (ambos grupos parten infectándose con igual concentración de esporas)	menor o igual al 25%	Ene-2021
R9: Protocolo de uso terapéutico del formulado	Documento	no existe	existe	Ene-2021
R10: 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	Ene-2021
Describe 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.				
<i>(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)</i>				
A partir del formulado hecho a escala piloto se procederá con:				
A) Solicitud de autorización del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para la realización de los ensayos de campo.				

Cumpliendo con la normativa SAG, se debe presentar esta solicitud para la realización de los ensayos en campo. Para ello se elaborará el protocolo pertinente de acuerdo a la normativa armonizada VICH. Una vez aceptada se pagarán los derechos correspondientes.

B) Desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales.

Las colmenas experimentales aportadas por la empresa se dispondrán en un apiario base en la región de la Araucanía donde una empresa externa se encargará de los manejos técnico, sanitarios y traslados. De esta forma estarán en condiciones al momento de establecer los ensayos. Se tendrá registro de las prácticas apícolas realizadas por el técnico encargado, en cuanto manejo técnico y buenas prácticas, al uso de medicamentos, desinfección de herramientas y de material apícola.

Para efecto de este estudio, las colmenas se distribuirán en apiarios experimentales ubicados en la IX y VI región.

18 H 742182 5690443 Cunco, faja 22.000, IX R

19 H 340546 6220130 Rancagua, VI R

A diferencia de la enfermedad Loque americana, los Apiarios que entren al estudio no requieren de una zona de aislamiento por foco, debido a que se trata de una enfermedad endémica presente en un alto % de los apiarios del país. Esto facilita su ubicación.

Diseño experimental: se consideran los siguientes grupos:

Grupo I: 10 colmenas sanas alimentadas con jarabe

Grupo II: 10 colmenas infectadas con *N. ceranae* alimentadas con jarabe (sin tratamiento)

Grupo III: 10 colmenas infectadas con *N. ceranae* y tratadas con formulado

Grupo IV: 10 colmenas infectadas con *N. ceranae* y tratadas con fumagilina u otro medicamento comercial disponible.

C) Manejos previos y distribución de las colmenas para los ensayos

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. Se trabajará con poblaciones en desarrollo bajo régimen de alimentación artificial a modo de control de tamaño de población y bajar los

requerimientos de pecoreo. Colonias deberán ser homogéneas, en promedio tres a cuatro marcos de cría, cuatro a y marcos con abejas adultas y dos marcos con miel.

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

Se tendrá registro de las prácticas apícolas realizadas por el técnico encargado previo a la intervención en cuanto al uso de medicamentos, desinfección de herramientas y de material apícola.

D) Infección de colmenas

La infección de los grupos experimentales II, III y IV 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. El jarabe contendrá esporos de *N. ceranae* a una concentración de 30.000 esporos/ml.

E) Evaluación del estado sanitario de las colmenas.

Se realizará inspección clínica de las colmenas a 10 días de la infección previo a la aplicación del producto formulado. Se realizará diagnóstico de nosemosis, de varroa, Loque americana y Loque europea (análisis microbiológico y PCR desarrollado en nuestro laboratorio).

F) Aplicación del formulado en los grupos de colmenas correspondientes

El producto se administrará en cada colmena mediante alimento (2 litros de jarabe conteniendo formulado depositado en el alimentador), una vez cada 7 días, por tres veces consecutivas. El técnico será supervisado y apoyado por dos profesionales del equipo de investigadores.

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

Se realizará inspección clínica de las colmenas: verificando la población de abejas existentes, la productividad (concentración de miel), postura de abeja reina.

H) Muestreo 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 formulado (día 28 del ensayo). Se determinará la carga de esporos y se confirmará por PCR si es *N. apis* y/o *N. ceranae*. El técnico será supervisado y apoyado por un profesional del equipo de investigadores.

I) Análisis estadístico

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

Objetivo específico N° 5				
Evaluar el efecto <u>profiláctico</u> del formulado en <u>ensayos de campo</u> para ajustar la dosis efectiva del tratamiento.				
Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°5	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R11: El formulado tiene efecto profiláctico en pruebas de campo (colmenas)	Relación entre N° de esporas en abejas tratadas e infectadas y N° esporas en abejas no tratadas e infectadas.	Indeterminado (no hay esporas presentes)	Menor a 1/3	sep-2021
R12: Protocolo de uso profiláctico del formulado	Documento	no existe	existe	sep-2021
R13: 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	sep-2021
<p>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.</p> <p><i>(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)</i></p> <p>A partir del formulado hecho a escala piloto y con la autorización del SAG (descrita en 4-A) se procederá con:</p> <p>A) Desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales.</p> <p>Las colmenas experimentales aportadas por la empresa se dispondrán en un apiario base en la región de la Araucanía donde una empresa externa se encargará de los manejos técnico, sanitarios y traslados. De esta forma estarán en condiciones al momento de establecer los ensayos. Se tendrá registro de las prácticas apícolas realizadas por el técnico encargado, en cuanto manejo técnico y buenas prácticas, al uso de medicamentos, desinfección de herramientas y de material apícola.</p> <p>Para efecto de este estudio, las colmenas se distribuirán en apiarios experimentales ubicados en la IX y VI región.</p>				

18 H 742182 5690443 Cunco, faja 22.000, IX R

19 H 340546 6220130 Rancagua, VI R

A diferencia de la enfermedad Loque americana, los Apiarios que entren al estudio no requieren de una zona de aislamiento por foco, debido a que se trata de una enfermedad endémica presente en un alto % de los apiarios del país. Esto facilita su ubicación.

Diseño experimental: se consideran los siguientes grupos:

Grupo I: 10 colmenas sanas alimentadas con jarabe

Grupo II: 10 colmenas alimentadas con jarabe (sin formulado) y posteriormente infectadas con *N. ceranae*

Grupo III: 10 colmenas alimentadas con formulado y posteriormente infectadas con *N. ceranae*

Como no se ha descrito actividad profiláctica de fumagilina ni otro formulado con acción en *N. ceranae*, no se considera ese grupo de control.

B) Establecimiento y distribución:

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. Se trabajará con poblaciones en desarrollo bajo régimen de alimentación artificial a modo de control de tamaño de población y bajar los requerimientos de pecoreo. Colonias deberán ser homogéneas, en promedio tres a cuatro marcos de cría, cuatro a y marcos con abejas adultas y dos marcos con miel.

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

Se tendrá registro de las prácticas apícolas realizadas por el técnico encargado previo a la intervención en cuanto al uso de medicamentos, desinfección de herramientas y de material apícola.

C) Evaluación del estado sanitario de las colmenas.

Se realizará inspección clínica de las colmenas previo a la aplicación del formulado. Se realizará diagnóstico de varroa, Loque americana y Loque europea (análisis microbiológico y PCR desarrollado en nuestro laboratorio), Nosemosis (microscopía y PCR para *N. apis* y *N. ceranae*).

D) Aplicación de formulado en colmenas

Dependiendo de cada condición experimental el formulado se administrará en cada colmena en el alimento (2 litros de jarabe conteniendo formulado depositado en el alimentador), una vez a la semana durante 3 semanas consecutivas, previo a la infección, de acuerdo al diseño experimental.

E) Infección de colmenas

La infección de los grupos II y III 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. El jarabe contendrá esporas de *N. ceranae* a una concentración de 30.000 esporas/ml. El técnico será supervisado y apoyado por dos profesionales del equipo de investigadores.

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

Se realizará inspección clínica de las colmenas: verificando la población de abejas existentes, la productividad (concentración de miel), postura de abeja reina.

G) Se determinará la carga de esporas de *N. ceranae*.

Abejas forrajeras (30 por colmena) serán colectadas post aplicación del formulado (día 1 al día 21) y previo a la infección (día 21, T=0) con *N. ceranae* y a los 7, 14 y 21 días post infección (día 28, 35 y 42 del ensayo). Se determinará la carga de esporas y se confirmará por PCR si es *N. apis* y/o *N. ceranae*. El técnico será supervisado y apoyado por un profesional del equipo de investigadores.

H) Análisis estadístico

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

Objetivo específico N° 6				
<i>(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)</i>				
Evaluar el <u>producto mínimo viable (PMV)</u> con apicultores, en aspectos terapéuticos, de uso/aplicación y empaquetado				
Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°6	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R14: 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%	nov-2021
R15: Instructivo de uso y aplicación	Documento	Propuesto	Validado	nov-2021
R16: Protocolo de fabricación para el escalamiento	Documento	Propuesto	Validado	nov-2021
Describe 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.				
<i>(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)</i>				
A) Desarrollar pauta de evaluación para el Producto Mínimo Viable (PMV).				
El objetivo es contactar con los primeros clientes, entrevistarlos y comprobar si les interesa la propuesta de valor y si están dispuestos a usarla y pagar por ella.				
B) Definir el grado de avance del PMV a mostrar.				

Se establecerá la forma en que se presentará el producto a los clientes. Definir qué voy a mostrar a los que pienso que van a ser mis clientes para que valoren si la solución que les ofrezco muestra los beneficios que pienso que tiene para el problema que creo que tienen. En esta etapa va solo lo mínimo que se debería mostrar a los apicultores seleccionados para que evalúen la propuesta de valor.

C) Coordinación de ensayos de campo y evaluación con apicultores.

Selección de los apicultores socios APICOOP y de la RED Apícola que tengan historial de compra de fumagilina para asegurar que sus colmenas hayan presentado la patología (mínimo 50 apicultores, con 50 colmenas en promedio) y que hayan respondido la pauta de evaluación, desde la región de Ohiggins hasta la región de Los Ríos. Se realizarán reuniones de capacitación con los apicultores que sean partícipes de los ensayos de acuerdo con su ubicación geográfica. Se les informara del estudio. Cuáles son los requerimientos de uso del producto, los registros que se deben realizar, las tomas de muestra básicamente se les explicara el diseño experimental. Se les presentará el equipo de trabajo y quienes los estarán asesorando durante todo el transcurso del ensayo. El técnico será apoyado por un profesional del equipo de investigadores.

Con el listado de apiarios y apicultores se procederá a solicitar la autorización del SAG. Previamente al inicio de los ensayos se velará a que todos los apicultores estén debidamente registrados en el Sistema de Información Pecuario SipecWEB (Programa Oficial de Trazabilidad Animal - FORMULARIO DE REGISTRO DE APICULTORES Y DECLARACIÓN DE APIARIOS).

D) Análisis del manejo técnico y estado sanitario de las colmenas.

Se tendrá registro de las prácticas apícolas realizadas por el apicultor, previo a la intervención en cuanto al uso de medicamentos, desinfección de herramientas y material apícola. Además, se incluirá la variable agroclimática sobre la temperatura y precipitaciones en el área de intervención para correlacionar los resultados con ellas.

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

Se le capacitará en la toma de muestras para que dada las condiciones particulares sea él quien tome y despache las muestras (10% del apiario incluido en el ensayo) al laboratorio para su diagnóstico (las colmenas y muestras deberán rotularse adecuadamente). Con el diagnóstico confirmado el apicultor aplicará el formulado al apiario infectado.

El formulado se distribuirá 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.

El muestreo para evaluar el efecto terapéutico será en las colmenas diagnosticadas previamente, con abejas forrajeras colectadas previo a la aplicación del producto ($t=0$) y a los 7 días posteriores a la última aplicación del formulado (día 28 del ensayo). Se determinará la carga de esporos de *Nosema* por recuento en hemocitómetro y se confirmará por PCR si es *N. apis* y/o *N. ceranae* (tal como se describió anteriormente). El ensayo será supervisado y apoyado por dos profesionales del equipo de investigadores.

F) Supervisión y retroalimentación.

El equipo técnico supervisará en terreno o telefónicamente que los apicultores se ciñan al diseño del ensayo.

G) Evaluación del uso del formulado (HO21-F).

A los apicultores se les entregará finalizando el ensayo una encuesta que evalúe, los pro y contras del envase de presentación del producto, las instrucciones de uso, su reconstitución en el alimento y cuáles serían sus sugerencias.

H) Análisis estadísticos.

Con el fin de comparar el número de esporas de *N. ceranae* de colonias tratadas con formulado se usará la prueba Mann-Whitney para comparación de las muestras. Un valor de $p < 0,05$ será considerado significativo.

Objetivo específico N° 7				
<i>(Máximo 200 caracteres, espacios incluidos)</i>				
Desarrollar el <u>modelo de negocios</u> en los mercados de interés.				
Resultados esperados (RE) para validar el cumplimiento del objetivo específico N°7	Indicador de resultado	Línea base del indicador	Meta del indicador	Fecha de alcance del RE
R17: Registro de marca iniciado en países de interés comercial.	unidad	0	5	'dic-2021
R18: Presentación registro al SAG	Carpeta o dosier	0	1	dic-2021
R19: Marketing científico, se espera exponer en un congreso científico.	Inscripción	0	1	sep-2020
R20: Prospectos de socios internacionales (o clientes) para la distribución en países de interés	Países a los que llegarían los prospectos	0	5	nov-2021
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.				
<i>(Máximo 3.000 caracteres, espacios incluidos)</i>				
El objetivo es implementar partes cruciales del Plan de Negocios para crear las condiciones necesarias para la colocación del formulado (H021-F) en el mercado.				
A) Implementar estrategia de protección comercial e industrial para el desarrollo de mercados.				
La protección de este negocio bio-tecnológico se sustenta en tres pilares, primero la otorgación de la patente en los países en que ha sido presentada (Chile, Argentina, USA y países del convenio europeo), sumado al cumplimiento del contrato de licenciamiento convenido entre la asociada y la UDD; luego, proteger el secreto industrial de la formulación, el que a diferencia del resto de los títulos de propiedad industrial se protege sin necesidad de registro. Por consiguiente, un secreto empresarial puede protegerse durante un				

período ilimitado de tiempo y lo primordial es asegurarse de que quienes tengan acceso a él se les deje explícitamente claro de que se trata, se anexarán las condiciones necesarias de confidencialidad, tanto en los contratos de los profesionales que se sumen al equipo técnico como en las actas de reunión de prospección o acuerdo de representación con los clientes en el extranjero.

Por último, de debe realizar el registro de marcas en los países de interés comercial, en los que se ha solicitado la patente u otros de interés, con el objeto de tener derecho exclusivo a impedir que terceros comercialicen productos idénticos o similares con la misma marca o utilizando una marca tan similar que pueda crear confusión. Además, el número de registro es requisito para el registro del producto en la autoridad sanitaria de cada país (SAG en nuestro caso).

B) Registro de HO21-F como producto farmacéutico de uso veterinario ante el SAG.

El SAG establece los requisitos técnicos para la obtención del registro sanitario de productos farmacológicos de uso exclusivamente veterinario en Chile, en su reglamentación hace obligatoria la presentación de estudios de eficacia y estabilidad, considerados dentro de este proyecto. Además, se debe confeccionar un dossier con información técnica contenida en el “Instructivo Registro de Productos Farmacológicos”, I-PP-RM-002.

C) Difusión y marketing científico.

Un aspecto relevante es poder difundir en el mercado potencial los resultados del proyecto y el uso del HO21-F. En este sentido se pretende organizar encuentros con apicultores a nivel nacional (1 por año) en el marco del manejo sanitario integrado de las colmenas y presentar el formulado como parte relevante de estas prácticas. Dada la relevancia para el sector se realizará un evento de cierre en la UDD en la que se hará participe al sector apícola. Como una forma de atraer prospectos también es relevante que presentemos los resultados en revistas o eventos científicos e incorporemos medios modernos para su difusión, como las redes sociales o landing page que permitan interactuar con ellos. Se contempla la participación de un profesional.

D) Prospección de 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, capacidad financiera, técnica y de personal para hacer los registros correspondientes en cada país con la autoridad sanitaria correspondiente.

La estrategia para seguir es contactar a las empresas distribuidoras internacionales conocidas y publicar la información en internet para que otros interesados que no están en el radar de la empresa se interesen. Una buena vitrina será participar en los congresos

internacionales del rubro donde exponen los laboratorios internacionales que trabajan en el tema apícola. Se contempla la participación de la empresa asociada.

E) Actividad de cierre

Se organizará un seminario de cierre, donde se invitarán los apicultores que participen de la evaluación del producto mínimo viable (PMV) y al universo de las dos organizaciones a las que pertenecen; se solicitará la preinscripción ya que se considera un máximo de 200 personas.

1.3. Indicar los hitos críticos para el proyecto.

Hitos críticos ⁵	Resultado Esperado ⁶ (RE)	Fecha de cumplimiento (mes y año)
Se logra demostrar el efecto terapéutico o profiláctico en laboratorio (R1-O1; R3-O2)	R1-O1: 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.	nov-2019
	R3-O2: 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.	dic-2019
Se logra el formulado a escala piloto (R5-O3)	R5-O3: Tener parámetros que permitan validar el proceso de fabricación	jun2020
Se logra demostrar el efecto terapéutico o profiláctico en campo (R8-O4; R11-O5)	R8-O4: El formulado tiene efecto terapéutico en pruebas de campo (colmenas infectadas).	ene-2021
	R11-O5: El formulado tiene efecto profiláctico en pruebas de campo (colmenas)	sep-2021

R: Resultado O: Objetivo

⁵ Un hito representa haber conseguido un logro importante en la propuesta, por lo que deben estar asociados a los resultados de éste. El hecho de que el hito suceda permite que otras tareas puedan llevarse a cabo.

⁶ Un hito puede estar asociado a uno o más resultados esperados definidos en la sección anterior.

- 1.4. Carta Gantt: Indicar la secuencia cronológica para el desarrollo de las actividades señaladas anteriormente de acuerdo con la siguiente tabla:
Incluir al final, las actividades de difusión y transferencia de los resultados del proyecto.

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
1	1	1. Mantenición de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de <i>Nosema ceranae</i> .							x	x	x	x	x	
1	1	2. Elaboración de formulado, compra de insumos, análisis de fenoles totales.							x	x				
1	1	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.							x	x	x			
1	1	4. Infección artificial de abejas melíferas nacidas en laboratorio con esporas de <i>N. ceranae</i>									x			
1	1	5. Abejas infectadas artificialmente con <i>N. ceranae</i> son expuestas al formulado en el alimento (TERAPIA).									x	x		
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									x	x	x	
1	1; 2	7. Análisis e informe de resultados											x	
2	3	1. Mantenición de apiario experimental UDD, proveedor de abejas melíferas libres de <i>Nosema ceranae</i> .							x	x	x	x	x	x
2	3	2. Elaboración de formulado, compra de insumos, análisis de fenoles totales.							x	x				
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.							x	x	x			
2	3	4. Abejas nacidas en laboratorio son expuestas al formulado en el alimento (PROFILAXIS).										x		
2	3	5. Infección artificial de abejas melíferas nacidas en laboratorio con esporas de <i>N. ceranae</i>										x	x	

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
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										x	x	x
2	3; 4	7. Análisis e informe de resultados												x
3	5	1. Implementar técnicas analíticas							x	x	x			
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>)												

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019																			
			Trimestre																			
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic										
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																				

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019																			
			Trimestre																			
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic										
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	9. Inspección clínica de las colmenas seleccionadas y llenado de formulario; toma de muestras por parte del apicultor y despacho al laboratorio																				
6	14	10. Determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia en el laboratorio																				
6	14,15 y 16	11. 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 Y 20	4. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto (landing page)																				
7	19	5. Realizar difusión y promoción científica en congreso internacional																				

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2019											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
7	20	6. Reuniones con potenciales distribuidores en el marco de la Feria Internacional APIEXPO, en el marco de APIMONDIA												
Todos	Todos	Actividad de cierre												

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2020																			
			Trimestre																			
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic										
1	1	1. Mantenión 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>Nosema 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. Mantenión 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																				

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2020															
			Trimestre															
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic						
3	5	1. Implementar técnicas analíticas																
3	6	2. Disponer del proceso para fabricar a escala piloto el formulado	x	x	x													
3	6	3. Adquisición de excipientes y extracto vegetal HO21 para elaboración de formulado	x	x	x	x	x											
3	5; 6	4. Elaborar de lotes de formulados a escala piloto para ser evaluadas en el laboratorio				x	x											
3	5	5. Realizar análisis por lote formulado en cuanto a actividad antimicrobiana; solubilidad; pH, color, olor; tamaño de material particulado; fenoles totales y oleuropeína							x	x								
3	5	6. Análisis de resultados para definir parámetros de control de calidad								x								
3	6	7. Redactar protocolo de proceso de fabricación								x								
3	7	8. Realizar estudio de estabilidad									x	x	x	x	x	x	x	
4	8	1. Mantenimiento de colmenas en apiario base en la región de la Araucanía	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x						
4	8	2. Solicitar autorización al SAG, previa elaboración de protocolo				x	x											
4	8	3. Traslado y establecimiento de las colmenas en los apiarios destinados a los ensayos										x						
4	8	4. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales											x	x	x	x		
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>)													x			
4	8	6. Infección de grupos experimentales de colmenas con esporas de <i>N. ceranae</i> . Determinación de la carga de esporas análisis por microscopía e identificación por PCR de <i>N. ceranae</i>														x		

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2020														
			Trimestre														
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic					
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	9. Inspección clínica de las colmenas seleccionadas y llenado de formulario; toma de muestras por parte del apicultor y despacho al laboratorio															
6	14	10. Determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia en el laboratorio															
6	14,15 y 16	11. 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														x	x
7	18	3. Confección del expediente con los antecedentes exigidos por el SAG para el registro del producto farmacéutico															
7	19 Y 20	4. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto (landing page)									x	x					
7	19	5. Realizar difusión y promoción científica en congreso internacional											x				
7	20	6. Reuniones con potenciales distribuidores en el marco de la Feria Internacional APIEXPO, en el marco de APIMONDIA															
Todos	Todos	Actividad de cierre															

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
1	1	1. Mantenión 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>Nosema 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. Mantenión 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												

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021																			
			Trimestre																			
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic										
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 oleuropeína																				
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	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
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	x																			
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>)																				
4	8	6. Infección de grupos experimentales de colmenas con esporas de <i>N. ceranae</i> . Determinación de la																				

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021																			
			Trimestre																			
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic										
		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	x																			
5	11	1. Mantenimiento de colmenas en apiario base en la región de la Araucanía	x	x	x	x																
5	11	2. Solicitar autorización al SAG, previa elaboración de protocolo	x																			
5	11	3. Traslado y establecimiento de las colmenas en los apiarios destinados a los ensayos				x																
5	11	4. Instalación, desarrollo y adecuación productiva de colmenas experimentales					x	x	x	x	x											
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>)							x													
5	11	6. Aplicación de HO21 en las colmenas previo a la infección (PROFILAXIS)							x													
5	11	7. Infección de grupos experimentales de colmenas con esporas de <i>N. ceranae</i>								x												
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									x											
5	11; 12; 13	9. Registro de datos, análisis e informe de resultados											x									
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		x	x	x																

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
6	14	3. Talleres de coordinación, capacitación y diagnóstico de prácticas apícolas					x	x	x					
6	14	4. Toma de muestra por parte de los apicultores y envío al laboratorio								x				
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)								x	x			
6	14	6. Aplicación del formulado en apiarios con colmenas seleccionadas, previamente diagnosticadas con <i>N. ceranae</i> (TERAPIA)									x			
6	14	7. Supervisión de los apiarios con colmenas en ensayo por parte del equipo técnico.									x	x		
6	14	9. Inspección clínica de las colmenas seleccionadas y llenado de formulario; toma de muestras por parte del apicultor y despacho al laboratorio										x		
6	14	10. Determinación de la carga de esporas de <i>N. ceranae</i> mediante PCR y microscopia en el laboratorio										x	x	
6	14,15 y 16	11. Registro de datos y Análisis e informe de resultados											x	
7	17	1. Iniciar el registro de marca en los países de interés	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
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	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
7	19 Y 20	4. Subir y mantener información en Internet invitando a interesados para que tomen contacto (landing page)												
7	19	5. Realizar difusión y promoción científica en congreso internacional												

Nº OE	Nº RE	Actividades	Año 2021											
			Trimestre											
			Ene-Mar			Abr-Jun			Jul-Sep			Oct-Dic		
7	20	6. Reuniones con potenciales distribuidores en el marco de la Feria Internacional APIEXPO, en el marco de APIMONDIA					x	x	x	x	x			x
Todos	Todos	Actividad de cierre												X

1.5. Modelo de Negocio / Modelo de extensión y sostenibilidad (según sea el caso).

INFRAESTRUCTURA		OFERTA	CLIENTE	
Asociaciones Clave <ul style="list-style-type: none"> • Apicultores • Empresas proveedora del extracto • Laboratorios o empresas que den el servicio para la producción • UDD • FIA • FONDEF • CORFO • SAG • PROCHILE 	Actividades Clave <ul style="list-style-type: none"> • Contratos de suministro del extracto. • Producción del HO21-F. • Estudios para el registro del producto en el SAG • Preparación dosier para el registro en el SAG • Licenciamiento • Internacionalización • Marketing comercial y científico • Registro de marcas 	Propuesta de Valor Producto natural e inocuo para el control y prevención de la infección por <i>Nosema ceranae</i> (Nosemosis) en abejas melíferas.	Relación con Clientes <ul style="list-style-type: none"> • Contratos de distribución nacional • Contratos de representación internacional 	Segmentos de Mercado <ul style="list-style-type: none"> • Empresas o laboratorios Veterinarios nacionales o internacionales • Empresas comercializadoras nacionales o internacionales • Asociaciones y empresas de apicultores.
	Recursos Claves <ul style="list-style-type: none"> • RRHH para la formulación de proyectos • RRHH para el registro de los fármacos • RRHH para la internacionalización 		Canales <ul style="list-style-type: none"> • Revistas especializadas • Newslater, WEB • Congresos • Seminarios • Talleres • Oficinas de PROCHILE 	
Estructura de Costos		I+D HHRR mantención de la licencia marketing comercial y científico INSUMOS CLAVES	Fuente de Ingresos proyectos de I+D proyectos de fomento productivo proyectos internacionalización de la empresa y el producto VENTA Y EXPORTACIÓN DEL PRODUCTO	
FINANZAS				

A continuación, sólo complete una sección, de acuerdo a:

1.5.1. Modelo de Negocio								
a) Describa el mercado objetivo al cual se orientarán los productos/servicios generados en el proyecto.								
Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos								
<p>A nivel mundial no existe un fármaco que controle la patología Nosemosis en colmenas de <i>Apis mellifera</i>. Esta patología es causada por los hongos microsporidios <i>Nosema apis</i> y <i>Nosema ceranae</i>, 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 económico: 265 mil millones de dólares a nivel global, donde cualquier reducción de <i>Apis mellifera</i> afecta negativamente este valor).</p>								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nivel</th> <th>Prod. Miel (miles ton/año)</th> <th>20% menor rend. (miles ton/año)</th> <th>Menores ingresos (millones UD\$/año)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Mundial</td> <td>1.800</td> <td>360</td> <td>1.440</td> </tr> </tbody> </table>	Nivel	Prod. Miel (miles ton/año)	20% menor rend. (miles ton/año)	Menores ingresos (millones UD\$/año)	Mundial	1.800	360	1.440
Nivel	Prod. Miel (miles ton/año)	20% menor rend. (miles ton/año)	Menores ingresos (millones UD\$/año)					
Mundial	1.800	360	1.440					

1.5.1. Modelo de Negocio

Nacional

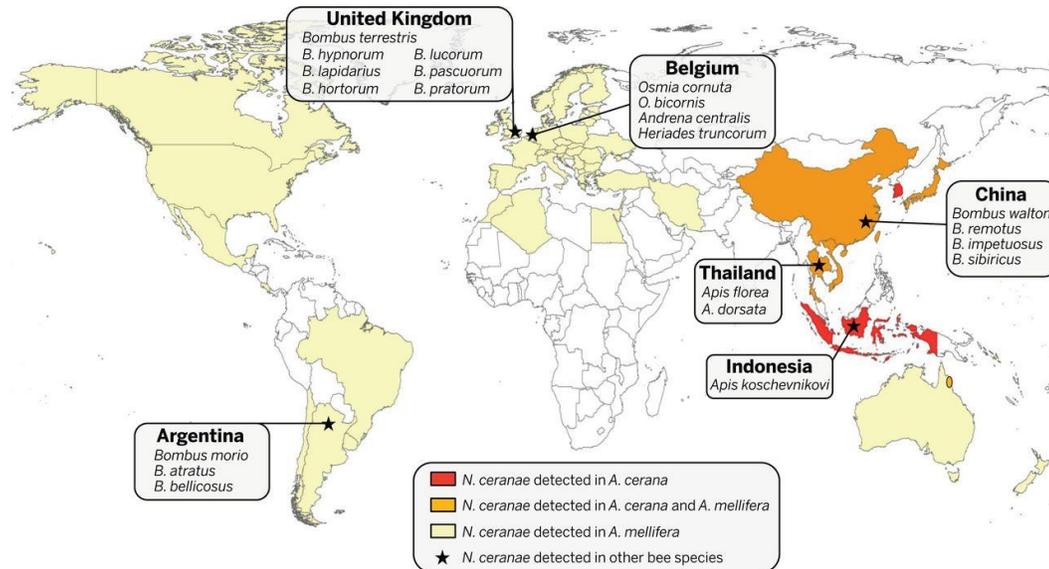
10

2

8

N. ceranae se ha convertido en uno de los patógenos más prevalentes a nivel mundial en *Apis mellifera*, 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.

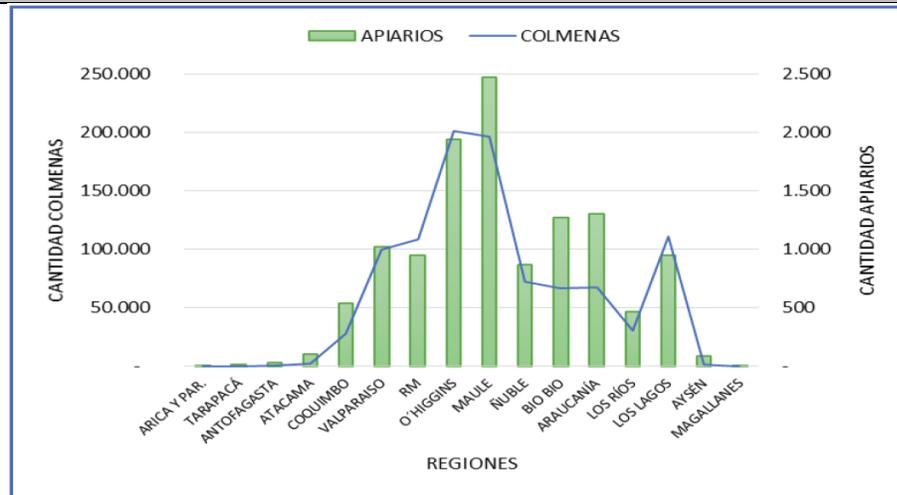
Dada las características globales de la infestación y lo rápido que se ha expandido, el mercado objetivo serán las colmenas del mundo, que están en riesgo de contagio, en especial las de Chile, resto de america, Europa, Asia y Oceanía.



Ciencia 27 Mar 2015:
Vol. 347, Número 6229, 1255957

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 2018, es de 6.260 apicultores a nivel nacional. Estos poseen un total de 985.466 colmenas distribuidas desde Arica a Punta Arenas, su mayor concentración se da entre la región de Valparaíso y la de Los Lagos.

1.5.1. Modelo de Negocio



Para tener una aproximación al mercado mundial, actualmente se calcula en 85 millones las colmenas existentes.

b) Describa quiénes son los clientes potenciales de los productos/servicios generados en el proyecto y cómo se relacionará con ellos.

(Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos)

El producto formulado será comprado por los apicultores o criadores de abejas a nivel nacional como internacional, que tienen la necesidad de controlar la patología *Nosemosis* que en las colmenas de *Apis mellifera* provoca daños económicos directos por la menor producción de miel y/o la mortalidad de las colmenas e indirectos a la polinización natural y comercial de los cultivos y, por ende, a la alimentación mundial.

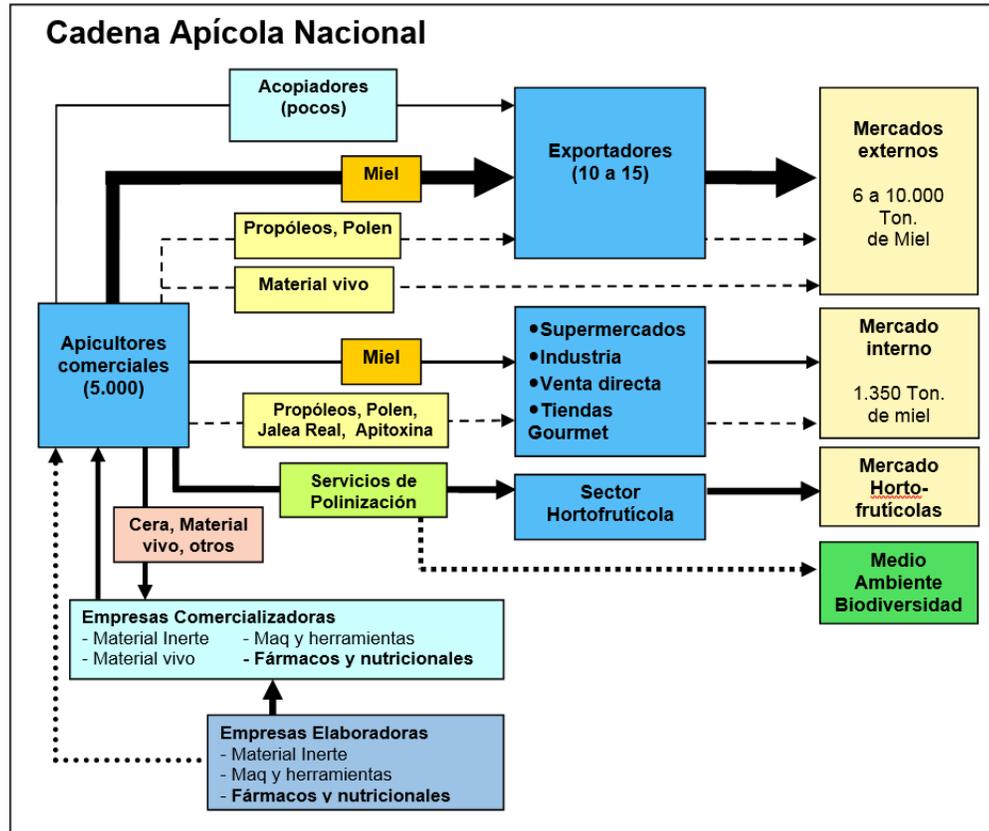
Tanto a nivel mundial como en Chile, es difícil conocer el número de colmenas que actualmente presentan la patología. Sin embargo, la empresa asociada en este proyecto comercializó Fumagilin-B en el mercado nacional y solicitó al fabricante en Canadá, la cantidad que Chile ha importado de este producto.

<i>Año</i>	<i>Fumagilin-B importado por Chile (g)</i>	<i>Número de colmenas tratadas por año</i>
2012	600.000	300.000
2013	608.000	304.000
2014	420.000	210.000

Se estima que al menos una quinta parte de las colmenas en Chile son tratadas anualmente contra esta patología. Si eso lo proyectamos a nivel mundial, tendríamos como potenciales clientes 17 millones de colmenas.

Si se analiza la estructura de la cadena apícola nacional, la que es muy similar a la de otros países los apicultores se abastecen de fármacos a través de empresas especializadas que venden diversos insumos y laboratorios que fabrican o representan a laboratorios extranjeros.

1.5.1. Modelo de Negocio



El vínculo con estas empresas intermediarias y laboratorios que tengan la expertis de realizar los registros correspondientes en los países de destino será fundamental. De aquí la necesidad de participar de los congresos internacionales y de registrar la marca en esos países. En especial donde se está patentando la tecnología que se usa.

c) Detalle de qué manera la solución innovadora satisface la necesidad y/u oportunidad del mercado objetivo (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 mellifera* será efectiva en el control del patógeno y resolverá los diferentes aspectos del problema, protegerá la salud de las 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.

1.5.1. Modelo de Negocio

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.

d) Describa cómo se generarán los ingresos y los costos del negocio.

Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos

El modelo de negocios basado en la metodología CANVAS (Osterwalder & Pigneur, 2011) muestra una propuesta de valor hacia los apicultores para el control de nosema, patología ampliamente difundida. En su base se muestran los componentes clave de costos e ingresos:

Estructura de Costos	Fuente de Ingresos
I+D HHRR mantención de la licencia marketing comercial y científico INSUMOS CLAVES	proyectos de I+D proyectos de fomento productivo proyectos internacionalización de la empresa y el producto VENTA Y EXPORTACIÓN DEL PRODUCTO

FINANZAS

Para efectos de calcular los ingresos se tiene como referencia el valor por colmena del tratamiento que fue ampliamente usado, fumagilina. No podría ser superior, si inferior al tener acotada la fórmula de fabricación y los costos de inversión para su escalamiento industrial.

La infraestructura que dará soporte para su obtención (lado izquierdo del modelo) y que originaran los costos asociados da cuenta de los estudios, que serán exigidos por la autoridad competente (SAG en el caso de Chile) en el dossier que acompañara la solicitud de registro y que algunos de ellos quedan resueltos en este proyecto.

Dentro de la cadena de suministros para la obtención del producto tiene una importancia superior y que se destaca en el modelo son los proveedores del extracto estandarizado del principio activo, en el sentido de asegurar abastecimiento en los tiempos y cantidades requeridas.

También, posterior a la etapa piloto se contempla contratar los servicios para el escalamiento industrial de la formulación comercial del producto a laboratorios o empresas acreditadas.

Además, de los costos que se desprenden de la interacción de estos agentes y proveedores de insumos y servicios, se deja explícito el fee por el licenciamiento.

Se consideran recursos en marketing comercial y científico, para llegar a los actores que nos permitirán llegar al cliente, se dejan explícitos los laboratorios o empresas comercializadores de fármacos veterinarios que tendrán un papel relevante en la distribución y comercialización del producto, lo que quedará establecido en contratos de representación y comercialización.

También, se tendrá que usar recursos en aumentar la cobertura de difusión en el mercado local a través de los asesores técnicos del rubro apícola, lo que implica asegurar la transferencia del uso del producto hacia ellos.

Para apoyar la difusión y transferencia al cliente final se usarán medios de mercadeo: revistas especializadas, newslater, web, como también eventos para los distintos actores del rubro como: seminarios, congresos, talleres, etc., en ambos casos tanto nacionales como internacionales.

1.5.1. Modelo de Negocio

Finalmente, se espera poder co-financiar la estrategia de internacionalización con el apoyo de PROCHILE y las oficinas de los agregados comerciales.

1.5.2. Modelo de Extensión y Sostenibilidad

Completar SÓLO si no se completó la sección 1.5.1

e) Identificar y describir a los beneficiarios de los resultados en el proyecto.

Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos

f) Detalle de qué manera la solución innovadora satisface la necesidad y/u oportunidad para los beneficiarios identificados (propuesta de valor).

Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos

g) Describa qué herramientas y métodos se utilizará para que los resultados de la propuesta lleguen efectivamente a los beneficiarios identificados, quiénes la realizarán y cómo evaluará su efectividad.

Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos

h) Describa con qué mecanismos se financiará el costo de mantención del bien o servicio generado en el proyecto una vez finalizado el cofinanciamiento.

Máximo 1.500 caracteres, espacios incluidos

1.6. Potencial de impacto

1.6.1. Describa los potenciales impactos **productivos, económicos y comerciales** que se generarían con la realización del proyecto. Además, complete la tabla con los indicadores de impacto asociados a su respuesta.

Los indicadores de impacto productivos, económicos y comerciales pueden ser: ingreso bruto, costo del producto/servicio, precio de venta del producto/servicio, rendimientos productivos, venta de royalty, redes o nuevos canales de comercialización, entre otros.

Máximo 500 caracteres, espacios incluidos.

Lo más importantes que los clientes de la empresa, los apicultores dispondrán de una alternativa para el control y/o prevención de la nosemosis en las colmenas. Esto implica que reducen sus pérdidas por menor incidencia del patógeno y aumentan los ingresos provenientes de la actividad.

La empresa, por su lado, incorpora un nuevo producto a su oferta e incrementa las ventas en un 50%, el primer año, duplicándolas el segundo.

Con el desarrollo del modelo de negocios se espera tener contratos de representación que al menos nos permitan colocar los productos en 5 países en estos 24 meses posteriores a su implementación.

N°	Indicador impacto productivo, económico y/o comercial	Línea base del indicador ⁷	Impacto esperado dos años después del término del proyecto ⁸
1	Ingreso Bruto (M\$)	200.000	400.000
2	Países de destino	0	5

1.6.2. Describa los potenciales impactos **sociales** que se generarían con la realización del proyecto. Además, complete la tabla con los indicadores de impacto asociados a su respuesta.

Los indicadores de impacto social pueden ser: número de trabajadores, salario de los trabajadores, nivel de educación, integración de etnias, entre otros.

Máximo 500 caracteres, espacios incluidos.

Se proyecta contratar al menos a dos técnicos para manejar la planta piloto y un profesional que trabaje la parte documental para los registros del producto en los mercados de interés.

⁷ Indique los datos referentes a los últimos dos años (anterior al inicio del proyecto).

⁸ Indique los cambios esperados de los indicadores a los dos años después del término del proyecto.

N°	Indicador impacto social	Línea base del indicador	Impacto esperado dos años después del término del proyecto
1	Personal nuevo	0	2

1.6.3. Describa los potenciales impactos **medio ambientales** que se generarán con la realización del proyecto. Además, complete la tabla con los indicadores de impacto asociados a su respuesta.

Los indicadores de impacto medio ambientales pueden ser: volumen de agua utilizado, consumo de energía, uso de plaguicidas, manejo integral de plagas, entre otros.

Máximo 500 caracteres, espacios incluidos.

En el ámbito medio ambiental, los impactos son indirectos y difíciles de cuantificar.

Se reducirá el uso de antibióticos y sulfas para el errado control del patógeno que se hace actualmente. Esto porque los apicultores dispondrán de una alternativa para el control y/o prevención de la nosemosis de origen natural.

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 en la actualidad está mermando la polinización natural y comercial.

En forma directa, en promedio vendíamos 200 frascos de fumagilina (antibiótico) y se hubiese reducido a cero (ya no se fabrica)

N°	Indicador impacto medio ambiental	Línea base del indicador	Impacto esperado dos años después del término del proyecto
1	Venta de Antibióticos (frascos)	200	0

2. Anexos

Anexo 1. Ficha identificación del postulante ejecutor



2. Anexos

Anexo 1. Ficha identificación del postulante ejecutor

Nombre completo o razón social	Universidad del Desarrollo	
Giro / Actividad	Educación Superior	
RUT		
Tipo de organización	Empresas	
	Personas naturales	
	Universidades	X
	Otras (especificar)	
Banco y número de cuenta corriente del postulante ejecutor para depósito de aportes FIA		
Ventas en el mercado nacional, último año tributario (UF)	No aplica	
Exportaciones, último año tributario (US\$)	No aplica	
Número total de trabajadores	1402 (Sede Santiago y Concepción)	
Usuario INDAP (sí / no)	No	
Dirección postal (calle, comuna, ciudad, provincia, región)		
Teléfono fijo		
Teléfono celular		
Email		
Dirección Web		
Nombre completo representante legal	Federico Valdés Lafontaine	
RUT del representante legal		
Profesión del representante legal	INGENIERO CIVIL INDUSTRIAL- Master of Science in Management, Stanford University, USA.	
Cargo o actividad que desarrolla el representante legal en la organización postulante		
Firma representante legal		

Anexo 2. Ficha identificación de los asociados. Esta ficha debe ser llenada para cada uno de los asociados al proyecto.

Anexo 2. Ficha identificación de los asociados. Esta ficha debe ser llenada para cada uno de los asociados al proyecto.

Nombre completo o razón social	APIQUALITY SPA	
Giro / Actividad	Comercialización de insumos y maquinaria apícola.	
RUT	[Redacted]	
Tipo de organización	Empresas	<input checked="" type="checkbox"/>
	Personas naturales	<input type="checkbox"/>
	Universidades	<input type="checkbox"/>
	Otras (especificar)	<input type="checkbox"/>
Ventas en el mercado nacional, último año tributario (UF)		10.740
Exportaciones, último año tributario (US\$)		0
Número total de trabajadores		3
Usuario INDAP (si / no)	No	
Dirección (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	[Redacted]	
Teléfono fijo	[Redacted]	
Teléfono celular	[Redacted]	
Email	[Redacted]	
Dirección Web	[Redacted]	
Nombre completo representante legal	Marcelo Eduardo Henríquez Barrera	
RUT del representante legal	[Redacted]	
Cargo o actividad que desarrolla el representante legal en la organización postulante	Gerente [Redacted]	
Firma representante legal	[Redacted]	

Anexo 3.1: Ficha coordinador principal:

Anexo 3.1. Ficha identificación coordinador principal.

Nombre completo	Jessica Martínez Arenas
RUT	[REDACTED]
Profesión	Profesora de Biología, Magister en Ciencias, Doctorado en Biología Molecular
Nombre de la empresa/organización donde trabaja	Universidad del Desarrollo
RUT de la empresa/organización donde trabaja	[REDACTED]
Cargo que ocupa en la empresa/organización donde trabaja	Docente e investigador
Dirección postal de la empresa/organización donde trabaja (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	[REDACTED]
Teléfono fijo	[REDACTED]
Teléfono celular	[REDACTED]
Email	[REDACTED]
Firma	[REDACTED]

Ficha 3.2: Ficha coordinador alterno

Anexo 3.2. Ficha identificación coordinador alterno.

Nombre completo	Marcelo Eduardo Henríquez Barrera
RUT	
Profesión	Ingeniero Civil industrial
Nombre de la empresa/organización donde trabaja	ApiQuality SpA
RUT de la empresa/organización donde trabaja	
Cargo que ocupa en la empresa/organización donde trabaja	Gerente
Dirección postal de la empresa/organización donde trabaja (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	
Teléfono fijo	
Fax	
Teléfono celular	
Email	
Firma	

Anexo 3.3. Ficha identificación del equipo técnico. Esta ficha debe ser llenada por cada uno de los demás profesionales del equipo técnico.

Nombre completo	Carlos Fabian Zuñiga Zuñiga
RUT	[REDACTED]
Profesión	Bioteólogo
Nombre de la empresa/organización donde trabaja	Universidad del Desarrollo
RUT de la empresa/organización donde trabaja	[REDACTED]
Cargo que ocupa en la empresa/organización donde trabaja	Asistente de Investigación
Dirección postal de la empresa/organización donde trabaja (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	[REDACTED]
Teléfono fijo	[REDACTED]
Teléfono celular	[REDACTED]
Email	[REDACTED]
Firma	[REDACTED]

Nombre completo	Alonso Andrés Mora Escares
RUT	
Profesión	Ingeniero Civil industrial
Nombre de la empresa/organización donde trabaja	Consultor Independiente
RUT de la empresa/organización donde trabaja	No aplica
Cargo que ocupa en la empresa/organización donde trabaja	No aplica
Dirección postal de la empresa/organización donde trabaja (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	
Teléfono fijo	
Teléfono celular	
Email	
Firma	

Nombre completo	Carlos Rodrigo Sepúlveda Narvaez
RUT	
Profesión	Ingeniero Agrícola
Nombre de la empresa/organización donde trabaja	Consultor Independiente
RUT de la empresa/organización donde trabaja	No aplica
Cargo que ocupa en la empresa/organización donde trabaja	No aplica
Dirección postal de la empresa/organización donde trabaja (calle, comuna, ciudad, provincia, región)	
Teléfono fijo	
Teléfono celular	
Email	
Firma	

Anexo 4. Beneficiarios directos de la propuesta

En caso de que su proyecto contemple beneficiarios directos, se debe completar el cuadro a continuación.

Región	Tipo productor	N° de mujeres	N° de hombres	Etnia (Si corresponde, indicar el N° de productores por etnia)	Totales
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Productores pequeños				
	Productores medianos-grandes				
	Totales				