



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 01032**

(22) Data de depozit: **03/12/2018**

(41) Data publicării cererii:  
**30/07/2020** BOPI nr. **7/2020**

(71) Solicitant:

• CIRAST S.R.L., SAT GOLEȘTII DE SUS,  
COMUNA COTEȘTI, VN, RO

(72) Inventatori:

• CIOBOTARU PAUL,  
SAT GOLEȘTII DE SUS,  
COMUNA COTEȘTI, VN, RO;

• POPOVICI DANIEL CRISTIAN,  
SAT BERINI, COM.SACOSU TURCESC,  
TM, RO;

• ROVINARU CAMELIA,  
CALEA FERENTARI NR.3, BL.75, ET.7,  
AP.29, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;

• PĂSĂRIN DIANA GEORGIANA,  
ALEEA MASA TĂCERII, BL.B, ET.1, AP.18,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;

• POPESCU MARIANA, STR.VALEA ROŞIE  
NR.6, BL.62, SC.C, ET.1, AP.35, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

### (54) PRODUS FITOTERAPEUTIC ANINOSEMA PENTRU APICULTURĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un produs fitoterapeutic anti-nosema cu activitate antiparazitară preventivă și curativă pentru familiile de albine. Produsul conform invenției este constituit dintr-un amestec de uleiuri esențiale de dafin, scortisoară, cuișoare, levănțică, eventual, salvie, respectiv, salcie, vitamina D dizolvată în alcool

etilic 96%, eventual pudră de aloe, precum și un emulgator ușual, rezultând un produs sub formă de concentrat lichid emulsionabil.

Revendicări: 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de inventie a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de inventie este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENTII SI MARC
Cerere de brevet de inventie
Nr. a 2018 o 1032
Data depozit 03 -12 -2018...

24

## Produs fitoterapeutic antinosema pentru apicultura

Inventia se refera la un produs antinosema cu activitate preventiva si curativa pentru familiile de albine, pe baza de uleiuri esentiale, imunostimulatori si stimulatori ai activitatii de hraniere, obtinut sub forma de concentrat emulsionabil.

*Nosema apis* si *Nosema ceranae* sunt fungi unicelulari apartinand clasei *Microsporidia*, familia *Nosematidi*, responsabili pentru boala gastro-enterica a albinelor si, respectiv, a depopularii lente a coloniilor pana la disparitie.

Microsporidiile, care se vizualizeaza la microscopul optic sub forma de spori, sunt paraziti obligati localizati in celulele epiteliale ale intestinului mijlociu al albinelor adulte si agentii etiologici ai bolii nosemoza. Infectia se produce pe cale fecal-orala prin ingestia sporilor nucleati maturi, din fecale, din hrana sau stup de catre albinele adulte. Acestia germeaza in intestinul albinei dezvoltand tuburi polare prin care are loc transferul sporoplasmei in celulele epiteliale unde sporoplasma creste si formeaza un plasmodiu multinuclear generand milioane de spori pe o albina infectata si distrugand celulele invadate. Boala evolueaza clinic in timpul iernii si incepertul primaverii, actionand mecanic, inflamator si iritativ asupra intestinului, toxinele eliberate producand in final moartea. Dupa contactul cu *Nosema*, in colonii apar primele simptome de boala: diarea, albinele doici nu mai secreta laptisor de matca, albinele lucratoare isi reduc activitatea, nu mai pot zbura, iar in final mor. Slabirea coloniilor creaza conditii favorabile pentru dezvoltarea altor boli (amoebiaza) sau aparitia virusurilor. In cazul infectiei, prognoza este negativa, deoarece simptomele apar tarziu, cand boala este avansata.

Boala este o problema majora in conditiile climei temperate, unde incepe sa se manifesta la sfarsitul iernii, simptomele devin vizibile in lunile de primavara, afectand negativ capacitatea de productie si supravietuirea coloniilor de albine. In ultimii ani, la nivel mondial, raspandirea nosemozei a avut un trend ascendent, generand pierderi importante crescatorilor de albine din intreaga lume (7%-30%-COLOSS-Prevention of honey bee Colony LOSSes), reducand semnificativ capacitatea de productie a coloniilor supravietuitoare sau ducand la sindromul disparitiei coloniilor. Pierderile au consecinte pe termen lung privind securitatea alimentara la nivel mondial, cca 84% dintre speciile de plante si 76% din productia de alimente din Europa depind de polenizarea de catre albine (citat Agerpres). Stabilitatatea ecosistemelor agricole si perspectivele de productie ale

apicultorilor pot fi perturbate.

Avand in vedere ca in Romania incidenta bolii este mare, procentul stupinelor afectate fiind de ~ 80%, se impun noi strategii de prevenire si control, actiunea de prevenire fiind esentiala. O profilaxie eficienta se bazeaza pe intarirea imunitatii albinelor.

In prezent, produsele accesibile, real valide sunt foarte putine, sporii de Nosema fiind foarte rezistenti, singurul produs eficient fiind antibioticul fumagilin, care altereaza ultrastructura membranei sporilor. Cererea de brevet CN106831662 (A) se refera la un derivat nou al antibioticului fumagilin si anume fumagilin amino-polioli cu eficienta similara, la aceiasi concentratie, cu a sarurilor de fumagilin biciclohexan, dar cu un risc mai scazut pentru albine si oameni, iar optimizarea conditiilor de cultivare a tulpinii *Aspergillus fumigatus* in scopul cresterii randamentului de productie a antibioticului constituie continutul cererii de brevet KR20140017291 (A). Acest antibiotic, desi eficient, este interzis in UE, deoarece determina aparitia de generatii de tulpini rezistente a caror combatere este mai greu de controlat, omoara bacteriile benefice din microbiota intestinului albinelor si, de asemenea, exista riscul acumularii de reziduuri in miere.

Cererea de brevet WO2015011321 (A1) descrie o compositie care contine fitoalexine de uz alimentar si anume trans-resveratrol, in concentratii de 0,1% - 2,8% si care se poate administra ca supliment in hrana albinelor sub forma lichida in siropul de zahar, sau semisolida (pasta) pentru controlul infectiilor cu *Nosema ceranae* in coloniile de albine. Produsul are proprietati antioxidante, prelungeste durata de viata a albinelor, reduce incarcatura de spori, dar a fost testat numai in laborator.

In cererea de brevet WO 2016/135655 (A1) se prezinta o metoda biologica de combatere a bolilor albinelor prin utilizarea unei compositii sinbiotice pe baza de microorganisme viabile de *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus pentosaceus*, cu concentratii cuprinse intre  $1-2 \times 10^9$ ... $1-2 \times 10^{13}$  CFU/g si agenti prebiotici (inulina, fructooligozaharide). Produsul are efect imunostimulator asupra larvelor si a adultilor crescand toleranta la parazit, dar actiunea antiparazitara este slaba.

Alte produse alternative cu potential in combaterea nosemozei au la baza extracte hidroalcoolice/alcoolice din plante medicinale (Nozervit, Protofil, Apinosem), potential

toxice din cauza alcoolului, cu actiune antidiareica, vitalizanta; produse de sinteza (Nosestat, Vita Feed Gold), continand acid formic si respectiv acid salicilic substante de sinteza cu potential toxic, care se pot acumula in produsele stupului. Cu exceptia antibioticului, celelalte produse au efect tonic, stimulator, detoxifiant, nu specific antiparazitar.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in realizarea unui produs complex, preventiv si curativ pentru albine, continand trei componente: uleiuri esentiale cu procent ridicat de monoterpene si fenoli, extrase din plante din familiile *Lamiaceae* (salvie, lavanda), *Lauraceae* (scortisoara, dafin) si *Myrtaceae* (cuisoare); imunostimulatori (aloe pudra/gel, vitamina B5) si stimulatori ai hrani (ulei esential de lamaita). Ingredientele, in combinatia prezentata conform inventiei, prin compusii lor bioactivi actioneaza direct asupra membranei sporilor de *Nosema* inhiband germinarea lor: ulei esential de dafin (eucaliptol, linalool,  $\alpha$ -pinen,  $\alpha$ -terpinil acetat), efect microsporicid; ulei de scortisoara (eugenol, aldehida cinamica, linalool), actiune antinosema; ulei de cuisoare (eugenol, eugenol acetat, cariofilen  $\alpha$  si  $\beta$ ), activitate antiparazitara; ulei de levantica (linalool, eucaliptol) si salvie (camfor, eucaliptol, tuiona) actiune antimicrobiana. Uleiul de aloe contine polizaharide si enzime care stimuleaza raspunsul imun, iar vitamina B5 este co-factor in multe reactii biochimice esentiale. Uleiul esential de lamaita, prin compusii citral si geraniol, care mimeaza actiunea feromonului produs de glanda miroslui, stimuleaza activitatea de hraniere.

Produsul conform inventiei contine ulei esential de dafin 20...25 mL, ulei esential de scortisoara 20...25 mL, ulei esential de cuisoare 20...25 mL, ulei esential de levantica 4...8 mL, ulei esential de salvie 4...8 mL, ulei esential de lamaita 8....16 mL, vitamina B5 1....5 g dizolvata in cantitatea minima de alcool etilic 96% (7...20 mL), emulgator Tween 80 si respectiv Span 80 16....20 mL, si optional se poate adauga ulei de aloe 0,5....2 mL, astfel incat sa se obtina 100 mL produs final lichid omogen.

Un obiect derivat al solutiei tehnice este prepararea unei compositii pe baza de uleiuri esentiale, vitamina B5, pudra de aloe in extracte vegetale care intensifica actiunea antinosema , astfel incat sa se obtina un produs sub forma de concentrat emulsionabil.

Procedeul de obtinere a produsului presupune urmatoarele etape: prepararea fazei organice prin amestecarea uleiurilor esentiale cu un emulgator si omogenizare prin agitare

energica; vitamina B5 se solubilizeaza in alcool etilic 96% sau in extractul alcoolic vegetal si se combina fazele. Se obtine un produs lichid care se poate utiliza pentru prepararea de emulsii stabile de tip ulei in apa.

Elementele inovative ale inventiei sunt:

- produs natural autohton cu actiune in principal antiparazitara
- compositie originala pe baza de uleiuri esentiale care nu au mai fost testate, la nivel national si international, in combinatia propusa, pentru prevenirea si controlul nosemozei
- puritatea si sinergismul dintre uleiurile esentiale, datorat prezentei unor compusi chimici comuni, si dintre uleiuri esentiale-imunostimulatori-stimulator al hrani, avand actiune preponderent antiparazitara
- raport adevarat dintre componentele amestecului, care asigura eficacienta optima

Aceste caracteristici il diferentiază de celelalte produse de tratament antinosema din sectorul apicol.

Avantajele produsului, conform inventiei, sunt:

- stabilitatea produsului format preponderent din uleiuri esentiale, cu activitate redusa a apei
- se administreaza in doze mici. Prin combinatia sinergica a uleiurilor esentiale se formeaza un mozaic de molecule biologic active datorita carora spectrul de activitate se diversifica (microsporicid, antiparazitar, imunostimulator, antimicrobian) comparativ cu al componentelor luate separat si concentratia de substante active necesara realizarii actiunii biologice scade
- stabilitatea produsului dupa introducerea in siropul de zahar sau turte, datorata emulgatorilor Food Grade
- stimuleaza activitatea de hrani prin prezenta geraniolului si a citralului, care mimeaza actiunea feromonului produs de glanda mirosului
- are efecte pozitive asupra organismului albinelor prin cresterea imunitatii, reducerea sensibilitatii la infectia cu *Nosema* si cu alti patogeni si scaderea mortalitatii
- nu are efecte negative asupra albinelor prin contact fizic, in compositie

regasindu-se produse naturale netoxice la concentratiile optime recomandate

- lipsa de remanenta in produsele stupului
- ingredientele sunt cunoscute, accesibile, larg utilizate in produse alimentare
- produsul este usor de administrat atat in hrana lichida cat si in cea solida (turte)

Produsul conform inventiei se poate administra sub forma lichida prin amestecarea lui, in doza de 0,14.....1 mL/L, cu siropul de fructoza-glucoza extras din porumb nemodificat genetic, sau sub forma solida in turte, atat in perioada pregatirii repaosului de iarna, cat si in perioada de primavara, cand au loc hranirile de stimulare sau completare a hranei.

Se dau in continuare 3 exemple de obtinere a concentratelor emulsionabile

#### Exemplu 1

Intr-o instalatie de sinteza, la nivel de laborator prevazuta cu balon de sticla cu fund rotund de 0,5 L, agitator mecanic, termometru si palnie de picurare, se introduc ulei esential de dafin 20...25 mL, ulei esential de scortisoara 20...25 mL, ulei esential de cuisoare 20...25 mL, ulei esential de levantica 4...8 mL, ulei esential de salvie 4...8 mL, si ulei esential de lamaita 8....16 mL si se amesteca prin agitare energica timp de 20 minute. Se prepara solutia alcoolica de vitamina B5 prin dizolvarea a 1.....5g in cantitatea de 7.....20 mL alcool etilic 96% si se adauga mixului de uleiuri esentiale, prin picurare si agitare timp de 10-15 minute. Solutia se definitivaza prin adaugarea a 16....20 mL emulgator Tween 80, astfel incat sa se obtina 100 mL produs final lichid omogen, care se pastreaza in sticle brune, ferit de soare, la temperatura camerei.

#### Exemplu 2

Formula de produs, realizat conform exemplului 1, contine ulei esential de dafin 9.....18 mL, ulei esential de scortisoara 10.....20 mL, ulei esential de cuisoare 7.....15 mL, ulei de lamaita 6.....10 mL, ulei de aloe 2.....4 mL, vitamina B5 0,50.... 2 g, alcool etilic 10....15, Span 80 40.....50 mL, astfel incat sa se obtina 100 mL produs final lichid omogen, care se pastreaza in sticle brune, ferit de soare, la temperatura camerei.

Exemplu 3

Intr-o instalatie de sinteza, la nivel de laborator prevazuta cu balon de sticla cu fund rotund de 0,5 L, agitator mecanic, termometru si palnie de picurare, se introduce un extract alcoolic de salcie 75...85 mL in care se suspenda pudra de aloe 0,5...3 g si vitamina B5 0,5....2 g, agitandu-se energic pana la omogenizare. Se adauga cu picatura un amestec format din uleiuri esentiale 10....20 g, selectate conform exemplului 1, si emulgatorul Tween 80 1....5 mL. Se agita energic 10-15 minute, obtinandu-se o compositie lichida cu aspect heterogen, de culoare bruna.

**Revendicari**

1. Formula de produs pentru tratarea nosemozei caracterizat prin aceea ca este format din ulei esential de dafin 20...25 mL, ulei esential de scortisoara 20...25 mL, ulei esential de cuisoare 20...25 mL, ulei esential de levantica 4...8 mL, ulei esential de salvie 4...8 mL, ulei esential de lamaita 8....16 mL, vitamina B5 1....5 g dizolvata in cantitatea minima de alcool etilic 96% (7...20 mL) si optional ulei de aloe 0,5.....2 mL si Tween 80 sau Span 80 16....20 mL, astfel incat sa se obtina 100 mL produs final lichid omogen.
2. Formula de produs pentru tratarea nosemozei caracterizat prin aceea ca este format din extracte vegetale (salcie, salcam, stejar, etc) 75...85 mL continand pudra de aloe 0,5...3 g, vitamina B5 0,5....2 g, uleiuri esentiale 10....20 g, selectate conform revendicarii 1, si emulgator Tween 80 1....5 mL, componetitia lichida avand aspect heterogen.