

# UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

## 31 165

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

*A01K 29/00*

(2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2017-34038**  
(22) Přihlášeno: **23.08.2017**  
(47) Zapsáno: **07.11.2017**

- (73) Majitel:  
Biologické centrum, AV ČR, v.v.i., České  
Budějovice, České Budějovice 2, CZ
- (72) Původce:  
Mgr. Matěj Kučera, Dýšina, CZ  
Mgr. Jan Perner, Ph.D., Hrob, CZ  
RNDr. Petr Kropáček, CSc., Ledenice, CZ
- (74) Zástupce:  
PatentCentrum Sedlák & Partners s.r.o., Husova tř.  
1847/5, 370 01 České Budějovice, České  
Budějovice 3

- (54) Název užitného vzoru:  
**Zařízení pro chov a testování klišťat**

**CZ 31165 U1**

## Zařízení pro chov a testování klíšťat

### Oblast techniky

Technické řešení se týká zařízení pro *in vitro* chov a testování klíšťat pro vědecké a farmaceutické účely.

#### 5 Dosavadní stav techniky

Jediný efektivní způsob testování aktivity látek ovlivňující sání klíšťat a/nebo přenos patogenů je v současnosti možný jen za využití laboratorních zvířat, což vyžaduje značné finanční náklady pro jejich chov a manipulaci. Screening chemických sloučenin a testování jejich proti-klíštěcí aktivity je prováděno farmaceutickými společnostmi, a to interně nebo externě. K testování klíšťat nejčastěji postupují jen kandidátní látky nebo přípravky po jejich úspěšných testech na hmyzích modelech. Kvůli značné fylogenetické vzdálenosti hmyzu a roztočů může být mnoho sloučenin s potenciální proti-klíštěcí aktivitou opomenuto. Absence laboratorních zvířat při vysokokapacitním screenování je samozřejmě výrazně pokrokové i z hlediska etiky.

Již delší dobu jsou zavedeny fungující membránové systémy sání pro komáry (*Culex* spp., *Aedes* spp.), mouchy tse-tse (*Glossina* spp.) nebo měkká klíšťata-klíšťáky (*Ornithodoros* spp.). U tvrdých klíšťat rodu *Ixodes*, hlavních přenašečů lymfské boreliózy a klíšťové encefalitidy, bylo *in vitro* membránové sání dlouho technologicky neproveditelné. Hlavním úskalím byla skutečnost, že ostatní krev-sající členovci sají krev po dobu sekund až minut, zatímco u klíšťat rodu *Ixodes* jde o záležitost několika dní, kdy u dospělé samice se jedná o dobu 7 až 10 dní, u nymfy 4 až 5 dní. První zdařilé sestavení membránového krmicího systému pro dospělá klíšťata rodu *Ixodes ricinus* bylo popsáno v roce 2007 týmem prof. Patricka Guerina na švýcarské univerzitě v Neuchatelu. V publikované práci (Kröber&Guerin "In vitro feeding assays for hard ticks". Trends in Parasitology 23: 445-449, 2007) se podařilo vyřešit tyto biologické obtíže: (i) zachování kvality, resp. sterility krve po dobu až 10 dnů za použití antibiotik přidávaných do krve; (ii) udržení nepropustnosti silikonové membrány i po jejím prokousnutí klíštětem; (iii) zformulování „parfému“, který láká klíšťata k prokousnutí silikonové membrány. Tento publikovaný systém je optimalizován pro dospělá stadia klíštěte a má kapacitní limit deset klíšťat na jedno krmítko při dosažené maximální 70% -ní úspěšnosti nasátí.

Dosud popsaná řešení obsahují řadu prvků, které úplně limitují nebo částečně omezují možnosti jejich průmyslového využití pro velkokapacitní chov nebo testování klíšťat. Jednou z nevýhod, patrných na obrázku zařízení uvedeného ve zmíněné publikaci, je nízký počet klíšťat, který lze současně krmit. Dalšími nevýhodami stacionárního provedení jsou: (i) expozice krmné krve stále teplotě 37 °C, což při absenci antibiotik podporuje rychlý rozvoj bakteriálních infekcí a znehodnocení krmného místa; (ii) zpětné vylučování látek přítomných v klíštěcích slinách do krmítka, které bez míchání zůstávají koncentrované v místě sání a mohou ovlivnit chování, aktivitu sání a zdravotní stav ostatních klíšťat; (iii) nutnost častého vyměňování krmné krve, a to nejméně každých 12 hodin. Při průměrné délce krmení do úplného nasátí (8 až 10 dní) toto vyžaduje značné nároky na obsluhu zařízení a výrazně zvyšuje objem krmné krve, tedy 6,2 ml na denní dávku pro jedno krmítko a potažmo i množství testovaných látek.

Úkolem technického řešení je vytvoření zařízení pro chov a testování klíšťat, které by odstraňovalo výše uvedené nedostatky, umožňovalo použití zejména pro velkokapacitní chov nebo testování většího počtu klíšťat, umožňovalo používání zařízení po delší dobu bez znehodnocení krmné krve a snížení nároků na obsluhu ve srovnání se známými zařízeními.

### Podstata technického řešení

45 Výše uvedené nedostatky odstraňuje zařízení pro chov a testování klíšťat podle tohoto technického řešení. Zařízení zahrnuje alespoň jedno krmítko s membránou oddělující prostor pro krmnou krev od prostoru pro krmení klíšťat. Síla membrány neboli její prokousnutelnost je přizpůsobena velikosti sacího ústrojí dospělců nebo nymf. Podstata technického řešení spočívá ve vytvoření průtočného krmítka, kde je prostor pro krmnou krev opatřen vstupem a výstupem umožňující

průtok krmné krve. Vstup a výstup jsou součástí cirkulačního okruhu krmné krve, který dále zahrnuje čerpadlo, chladič zařízení pro chlazení zásobníku krmné krve a pro potlačení mikrobiálního růstu a ohřevné zařízení pro ohřev krve na krmnou teplotu. Průtočné uspořádání zařízení odstraňuje veškeré nedostatky a problémy spojené se stacionárním uspořádáním, tedy znehodnocení krmné krve rozvojem bakteriálních infekcí či zpětné vylučování znehodnocujících látek přítomných ve slinách klíšťat do krmítka.

Ve výhodném provedení cirkulační okruh dále zahrnuje odvzdušňovací zařízení, které je uspořádáno před krmítkem. Odvzdušňovací zařízení je s výhodou tvořeno první komorou pro jímání proudící kapaliny s přívodním a odvodním otvorem a druhou komorou s odvzdušňovacím prostorem. První komora a druhá komora jsou od sebe odděleny membránou propustnou pro plyny. Odvzdušňovací zařízení zajišťuje přívod krmné krve do krmítka bez vzduchových bublin, které by mohly ovlivňovat schopnost přísátí klíštěte přes membránu do prostoru pro krmnou krev či přerušit dobu sání klíštěte v době chovu klíštěte.

Čerpadlo zajišťuje cirkulaci krve a umožňuje nastavení optimální rychlosti průtoku, tedy její průběžnou výměnu v krmítku. Čerpadlo je ve výhodném provedení jednookruhové pro sériové uspořádání cirkulačního okruhu nebo víceokruhové pro paralelní uspořádání cirkulačního okruhu. Při sériovém uspořádání cirkulačního okruhu může být v cirkulačním okruhu zapojeno i více průtočných krmítek za sebou a krmná krev bude jednookruhovým čerpadlem pohánět krmnou krev všemi průtočnými krmítky, resp. celým cirkulačním okruhem. Výhodou sériového zapojení cirkulačního okruhu je menší množství rozvodných systémů a snazší kontrola toku. Při paralelním uspořádání cirkulačního okruhu může být v cirkulačním okruhu zapojeno i více průtočných krmítek vedle sebe, přičemž krmná krev bude poháněna celým cirkulačním okruhem pomocí víceokruhového čerpadla. Ve výhodném uspořádání je použito poměrně konstrukčně jednoduché peristaltické čerpadlo, které zajišťuje velmi přesné dávkování krmné krve do cirkulačního okruhu. Dalšími výhodami jsou jeho snadné čištění a volitelnost odběrové rychlosti

Ve výhodném uspořádání je krmítko tvořeno základním tělesem, ve kterém jsou alespoň dva shora otevřené prostory pro krmnou krev, navzájem propojené vedeními tvořícími vstupy a výstupy pro průtok krmné krve a alespoň dvěma odnímatelnými tělesy s prostory pro chov klíšťat, které jsou na své spodní straně uzavřeny prokousnutelnou membránou. Odnímatelná tělesa jsou umístěna ve shora otevřených prostorech pro krmnou krev tak, že prokousnutelná membrána je ponořena do krmné krve. Po prokousnutí membrány klíštětem dojde k nasávání krmné krve klíštětem v místě, kde proudí krmná krev mezi jednotlivými krmítky. S výhodou je v základním tělese vytvořeno šest shora otevřených prostorů pro krmnou krev. Díky tomuto uspořádání, respektive většímu počtu odnímatelných těles umístitelných do prostorů pro krmnou krev, je možné chovat a následně testovat větší počet klíšťat a zařízení se stává efektivnější.

Každé odnímatelné těleso má ve výhodném provedení po obvodu ve své středové oblasti osazení, jehož vnější průměr je větší než vnější průměr shora otevřeného prostoru pro krmnou krev pro ponoření prokousnutelné membrány do krmné krve ve shora otevřeném prostoru pro krmnou krev. Osazení zajišťuje konstantní ponoření prokousnutelné membrány u všech odnímatelných těles, neboť osazení je na těchto tělesech vytvořeno ve stejné výšce.

Výhody zařízení pro chov a testování klíšťat podle tohoto technického řešení spočívají zejména v tom, že poskytuje možnost využití pro velkokapacitní chov nebo testování klíšťat, tedy pro větší počet klíšťat, je možné ho využívat po delší dobu bez znehodnocení krmné krve a jeho nároky na obsluhu jsou znatelně menší ve srovnání se známými zařízeními.

#### 45 Objasnění výkresů

Uvedené technické řešení bude blíže objasněno na následujících vyobrazeních, kde:

- obr. 1 znázorňuje pohled na sériové zapojení cirkulačního okruhu zařízení,
- obr. 2 znázorňuje pohled na paralelní zapojení cirkulačního okruhu zařízení,
- obr. 3 znázorňuje půdorys krmítka se shora otevřenými prostory pro krmnou krev,

obr. 4 znázorňuje podélný řez krmítkem se shora otevřenými prostory pro krmnou krev,

obr. 5 znázorňuje příčný řez krmítkem se shora otevřenými prostory pro krmnou krev.

#### Příklad uskutečnění technického řešení

Zařízení 1 pro chov a testování klíšťat 2 ve stadiu dospělců nebo nymf podle tohoto technického řešení je tvořeno cirkulačním okruhem 9, který sestává z krmítka 3, čerpadla 10, chladicího zařízení 11, ohřevného zařízení 13 a odvodušňovacího zařízení 14. Funkcí chladicího zařízení 11 je uchovávání krmné krve 5 při nižší teplotě, kdy je obecně krev 5 stabilnější. Ochlazení krmné krve 5 zároveň eliminuje některé typy bakterií, které nejsou schopné při této teplotě přežít, což umožňuje dlouhodobé použití krmné krve 5 bez přidání antibiotik, aniž by se vlivem bakteriální infekce kazila. Ke zvýšení stability krmné krve 5 je vhodné ochlazení již o několik stupňů, přednostně je používáno chlazení v rozmezí 0 až 10 °C. Místo krátkodobého ohřevu krmné krve 5 na vysokou teplotu je dalším krokem sterilizace krmné krve 5, která je prováděna v ohřevném zařízení 13. Délka hadiček od ohřevného zařízení 13 k průtokovému krmítku 3 je nastavena tak, aby během toku ke krmítku 3 došlo k její teplotě na teplotu vhodnou ke krmení, a to 37 °C. Ohřev je možno realizovat mnoha technicky známými způsoby vedení tepla a šíření tepla stacionárně, např. Peltierovými články nebo prouděním, např. vodním termostatem. Stejným způsobem je možno krmnou krev 5 chladit při uschování do chladicího zařízení 11. Odvodušňovací zařízení 14 zapojené mezi ohřevným zařízením 13 a průtokovým krmítkem 3 je tvořeno první komorou 15 pro jímání proudící kapaliny a oddělené od druhé komory 16 membránou 20 z polytetrafluorethylenu, kde druhá komora 16 je vytvořena s odvodušňovacím prostorem. Membrána 20 odvodušňovacího zařízení 14 z polytetrafluorethylenu je propustná pro plyny.

Krmítko 3 je vytvořeno jako průtočné s prokousnutelnou membránou 19 vytvořené na bázi silikonu o tloušťce 100 µm, která v krmítku 3 rozděluje prostor 4 pro krmnou krev 5 od prostoru 6 pro chov klíšťat 2. V jiných příkladech provedení může být silikonová prokousnutelná membrána 19 vytvořena s tloušťkou až 140 µm. Průtočnost krmítka 3 je zajištěna vstupem 7 a výstupem 8 pro průtok krmné krve 5 v oblasti prostoru 4 pro krmnou krev 5 a napojení na cirkulační okruh 3 krmné krve 5. Takto uspořádaný cirkulační okruh 9, znázorněný na obr. 1, zahrnuje jednookruhové peristaltické čerpadlo 10 a zajišťuje sériové zapojení cirkulačního okruhu 9, respektive sériové zapojení tří průtokových krmítek 3 za sebou, čímž je umožněn chov a testování velkého počtu klíšťat 2 současně. Na obr. 2 je zobrazeno dvouokruhové peristaltické čerpadlo 10 a paralelní uspořádání zbylého cirkulačního okruhu 9. Průtočná krmítka 3 jsou tedy uspořádána vedle sebe, každé s vlastním přívodem krmné krve 5. I takto je umožněn chov a testování velkého počtu klíšťat 2 současně.

Na obr. 3 je znázorněno krmítko 3, které je tvořené základním tělesem 17 ve tvaru obdélníku, v němž je uspořádáno šest shora otevřených kruhovitých prostorů 4 pro krmnou krev 5. Tyto prostory 4 jsou navzájem propojené vedením 18 krmné krve 5 pro kontinuální průtok krmné krve 5 všemi šesti shora otevřenými prostory 4 pro krmnou krev 5 a zároveň tvoří vstup 7 a výstup 8 krmné krve 5. Do těchto prostorů 4 jsou umístěny odnímatelná tělesa 21, která jsou vytvořena ve tvaru válce a která jsou vytvořena s prostorem 6 pro chov klíšťat 2. Odnímatelná tělesa 21 mají po obvodu ve středové oblasti vytvořena osazení 22, která přecházejí přes obvod tělesa 21. Při umístění tělesa 21 do shora otevřeného prostoru 4 pro krmnou krev 5, slouží osazení 22 jako nastavitelný prvek výšky odnímatelného tělesa 21 v prostoru 4 pro krmnou krev 5. Tato odnímatelná tělesa 21 jsou na své spodní straně uzavřeny prokousnutelnou membránou 19 vytvořenou ze silikonu o tloušťce 100 µm. Prokousnutelná membrána 19 je ponořena do krmné krve 5 a klíšťata 2 umístěná v prostoru 6 pro chov klíšťat 2 se skrz membránu 19 dostanou ke krmné krvi 5. Obr. 4 znázorňuje podélný řez krmítkem 3 se shora otevřenými prostory 4 pro krmnou krev 5 a na obr. 5 je znázorněn příčný řez krmítkem 3 se shora otevřenými prostory 4 pro krmnou krev 5, kde v jednom shora otevřeném prostoru 4 pro krmnou krev 5 je umístěno odnímatelné těleso 21 s osazením 22 uspořádaným po obvodu, s klíšťaty 2 umístěnými v prostoru 6 pro chov klíšťat 2 a s prokousnutelnou membránou 19 a krmnou krví 5 uspořádanou v prostoru 4 pro krmnou krev 5.

Průmyslová využitelnost

Zařízení pro chov a testování klíšťat podle tohoto technického řešení lze využít zejména pro vědecké a farmaceutické účely.

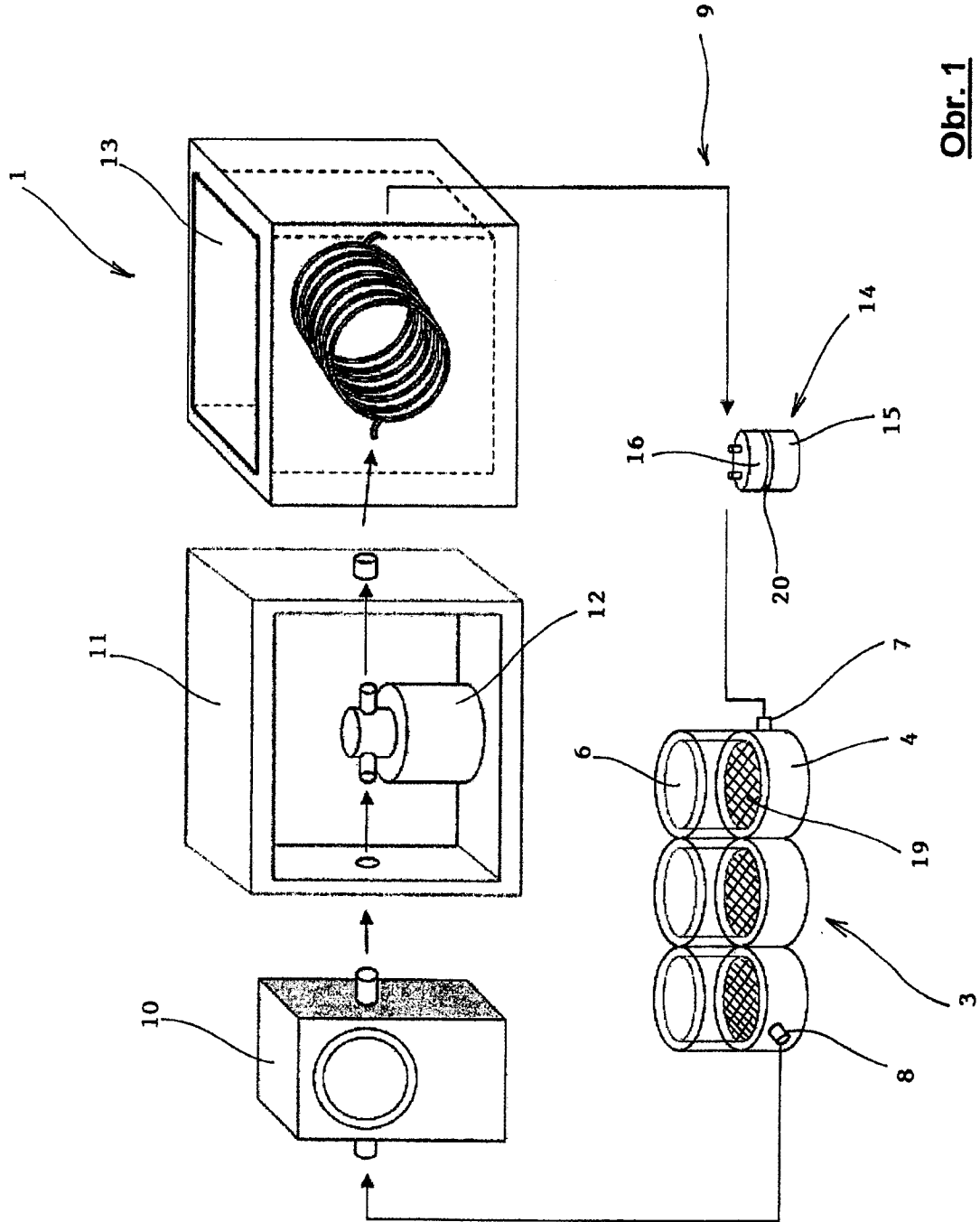
**NÁROKY NA OCHRANU**

- 5 1. Zařízení (1) pro chov a testování klíšťat (2), zahrnující alespoň jedno krmítko (3) s prokousnutelnou membránou (19) oddělující prostor (4) pro krmnou krev (5) od prostoru (6) pro chov klíšťat (2) ve stadiu dospělců nebo nymf, **vyznačující se tím**, že krmítko (3) je vytvořeno jako průtočné, kde prostor (4) pro krmnou krev (5) je opatřen vstupem (7) a výstupem (8) pro průtok krmné krve (5), přičemž vstup (7) a výstup (8) jsou součástí cirkulačního okruhu (9) krmné krve (5), který dále zahrnuje čerpadlo (10), chladící zařízení (11) pro chlazení zásobníku (12) krmné krve (5) a ohřevné zařízení (13) pro ohřev krmné krve (5).
- 10 2. Zařízení podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že cirkulační okruh (9) dále zahrnuje odvodušňovací zařízení (14), které je uspořádáno před krmítkem (3).
- 15 3. Zařízení podle nároku 2, **vyznačující se tím**, že odvodušňovací zařízení (14) je tvořeno první komorou (15) pro jímání proudící kapaliny a druhou komorou (16) s odvodušňovacím prostorem, přičemž první komora (15) a druhá komora (16) jsou od sebe odděleny membránou (20) propustnou pro plyny.
- 20 4. Zařízení podle některého z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že čerpadlo (10) je jednookruhové pro sériové zapojení cirkulačního okruhu (9) nebo víceokruhové pro paralelní zapojení cirkulačního okruhu (9).
- 25 5. Zařízení podle některého z nároků 1 až 4, **vyznačující se tím**, že čerpadlo (9) je peristaltické.
- 30 6. Zařízení podle některého z nároků 1 až 5, **vyznačující se tím**, že krmítko (3) je tvořeno základním tělesem (17), ve kterém jsou alespoň dva shora otevřené prostory (4) pro krmnou krev (5), navzájem propojené vedeními (18) tvořícími vstupy (7) a výstupy (8) pro průtok krmné krve (5) a alespoň dvěma odnímatelnými tělesy (21) s prostory (6) pro chov klíšťat (2), které jsou na své spodní straně uzavřeny prokousnutelnou membránou (19), přičemž odnímatelná tělesa (21) jsou umístěna ve shora otevřených prostorech (4) pro krmnou krev (5) tak, že prokousnutelná membrána (19) je ponořena do krmné krve (5).
- 35 7. Zařízení podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že v základním tělese (17) je šest shora otevřených prostorů (4) pro krmnou krev (5).
8. Zařízení podle nároku 6 nebo 7, **vyznačující se tím**, že každé odnímatelné těleso (21) má po obvodu ve své středové oblasti osazení (22), jehož vnější průměr je větší než vnější průměr shora otevřeného prostoru (4) pro krmnou krev (5) pro ponoření prokousnutelné membrány (19) do krmné krve (5) ve shora otevřeném prostoru (4) pro krmnou krev (5).

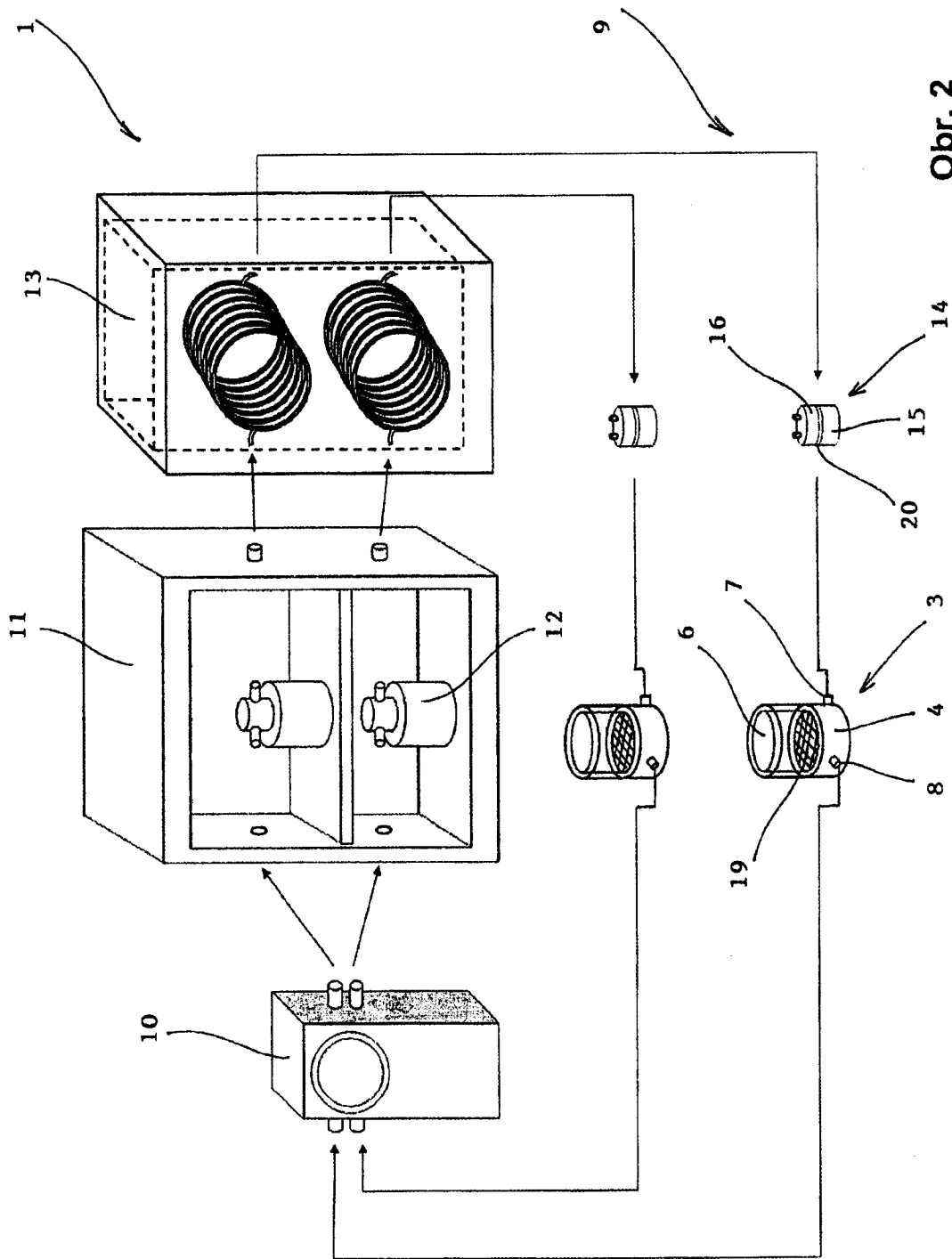
4 výkresy

## Seznam vztahových značek:

- |    |    |                                   |
|----|----|-----------------------------------|
|    | 1  | zařízení                          |
|    | 2  | klíště                            |
|    | 3  | krmítko                           |
|    | 4  | prostor pro krmnou krev           |
| 5  | 5  | krmná krev                        |
|    | 6  | prostor pro chov klíšťat          |
|    | 7  | vstup pro průtok krmné krve       |
|    | 8  | výstup pro průtok krmné krve      |
|    | 9  | cirkulační okruh krmné krve       |
| 10 | 10 | čerpadlo                          |
|    | 11 | chladicí zařízení                 |
|    | 12 | zásobník krmné krve               |
|    | 13 | ohřevné zařízení                  |
|    | 14 | odvzdušňovací zařízení            |
| 15 | 15 | první komora                      |
|    | 16 | druhá komora                      |
|    | 17 | základní těleso                   |
|    | 18 | vedení krmné krve                 |
|    | 19 | prokousnutelná membrána krmítka   |
| 20 | 20 | membrána odvzdušňovacího zařízení |
|    | 21 | odnímatelné těleso                |
|    | 22 | osazení.                          |

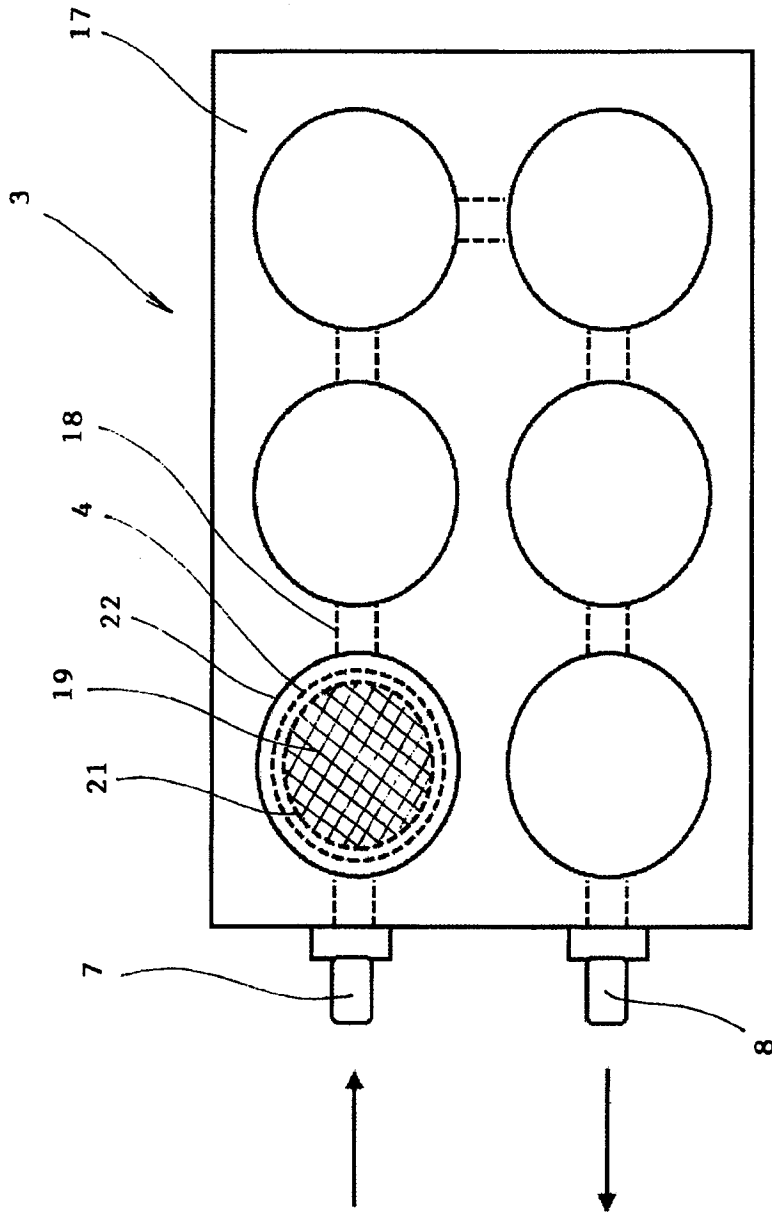


Obr. 1

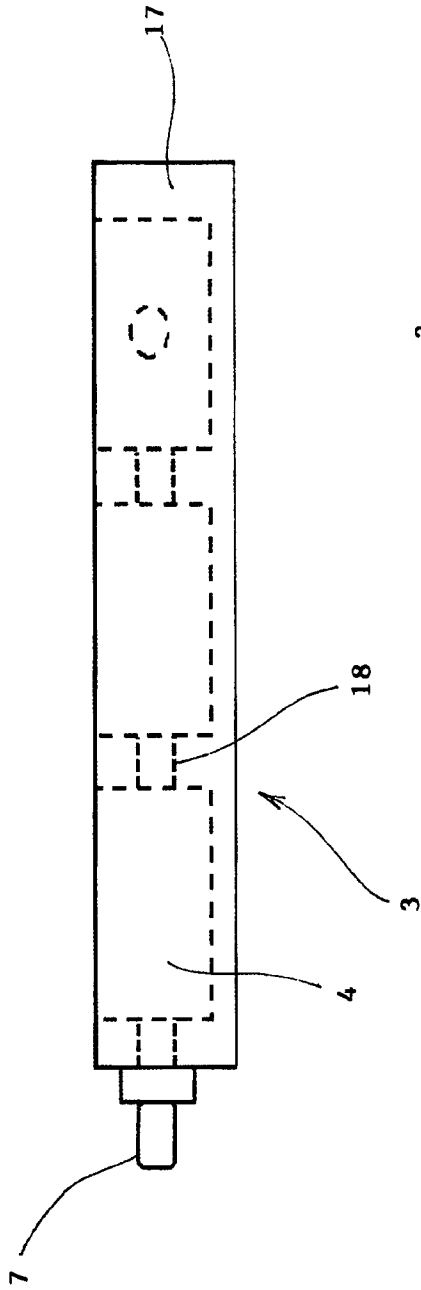


**Obr. 2**

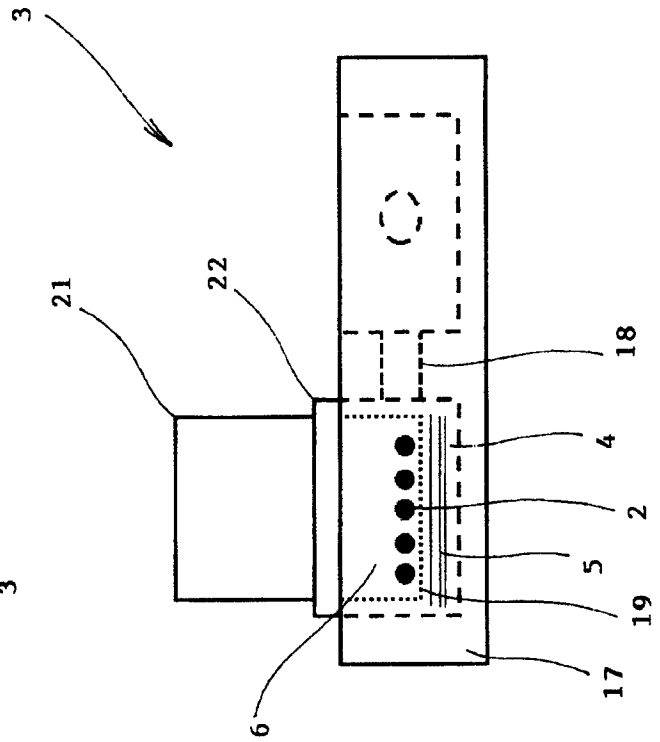




Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5

Konec dokumentu