

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

34 783

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

G01N 33/00 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2020-38367**
(22) Přihlášeno: **15.12.2020**
(47) Zapsáno: **19.01.2021**

- (73) Majitel:
Biologické centrum AV ČR, v.v.i., České
Budějovice, České Budějovice 2, CZ
- (72) Původce:
Mgr. David Hartmann, Studená, CZ
Mgr. Matěj Kučera, Dýšina, CZ
Mgr. Jan Perner, Římov, CZ
- (74) Zástupce:
PatentCentrum Sedlák & Partners s.r.o., Okružní
2824, 370 01 České Budějovice, České Budějovice
3

- (54) Název užitného vzoru:
**Zařízení pro in vitro testování akaricidních
látek proti čmelíku kuřímu**

CZ 34783 U1

Zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu

Oblast techniky

5

Technické řešení se týká zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu.

Dosavadní stav techniky

10

Čmelík kuří neboli *Dermanyssus gallinae* je ektoparazitem, konkrétně roztočem neboli Acari volně žijících i domestikovaných ptáků. Velkochovy drůbeže pro produkci vajíček jsou notoricky promořeny tímto roztočem, způsobujícím značný diskomfort, anémie, a druhotné infekce u jednotlivých slepic. Jedinou možností, jak testovat nové akaricidní látky během čmelíčího sání, je za využití laboratorní drůbeže. Etická a ekonomická náročnost těchto testů často vede k provádění testů akaricidních aktivit na méně relevantních nenasátých stádiích čmelíka, která obsahují minimální množství akaricidních cílů a mohou tak produkovat značné množství falešných negativit.

15

20

Proto se pro testování akaricidních látek pro celou řadu parazitů využívá různých zařízení pro *in vitro* testování těchto látek vytvořených na bázi membránového systému. Tyto membránové systémy zajišťující sání parazitů přes tyto membrány jsou známé zejména pro komáry, mouchy tse-tse nebo měkká klíšata-klíšáky. Využití těchto známých zařízení pro čmelíky kuří je však technologicky neproveditelné vzhledem k jeho drobné velikosti ve srovnání s výše uvedenými krev-sajíci členovci.

25

Jediné známé zařízení pro *in vitro* sání čmelíka kuřího je v odborné publikaci (Bruneau A, Dernburg A, Chauve C, Zenner L. *First in vitro cycle of the chicken mite, Dermanyssus gallinae* (DeGeer 1778), utilizing an artificial feeding device. *Parasitology* 2001; DOI: 10.1017/s0031182001008836). Publikované zařízení sestává z prostoru pro krmnou krev, tedy ze zásobníku krve a z prostoru pro inkubaci čmelíků, kde tyto dva prostory jsou vzájemně odděleny membránou. Jako membrána je využita kůže čerstvě zabitých myši, slepic a krůt. Znamé zařízení tedy je stále vázáno na použití laboratorních zvířat, primárně určeným k získu tkáně na testování, což je z hlediska etického nevhodné, zdlouhavé a dále také ekonomicky zcela nevýhodné. Navíc nutnost čerstvě získané kůže neumožňuje flexibilitu v plánování provádění testů. Toto publikované řešení tak neeliminuje problémy návaznosti akaricidním testováním na živá zvířata.

30

35

Úkolem technického řešení je proto vytvoření zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu, které by odstraňovalo výše uvedené nedostatky, která by využívalo nového systému membránového sání čmelíků, které by umožňovalo testovat akaricidní látky podávané čmelíkům kdykoliv, díky uměle vytvořeným membránám, tedy by bylo výhodné z ekonomického i etického hlediska pro zejména také pro svoji výrazně nižší časovou náročnost.

40

45

Podstata technického řešení

Vytčený úkol je vyřešen pomocí zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu podle tohoto technického řešení. Zařízení je tvořeno základním tělesem zahrnujícím alespoň jednu komoru pro krmnou krev a alespoň jednu komoru pro umístění čmelíků. Tyto dvě komory jsou od sebe navzájem odděleny alespoň jednou prokousnutelnou membránou.

50

Podstata tohoto technického řešení spočívá v tom, že prokousnutelná membrána je z materiálu na bázi silikonu s tloušťkou do 20 μm . Takto vytvořené zařízení umožňuje testovat akaricidní látky podávané sajícím čmelíkům v krmné krvi bez použití laboratorních zvířat pro produkci membrán, a to pro testování juvenilních i dospělých stádií čmelíka kuřího.

55

Ve výhodném provedení má prokousnutelná membrána matrici ze zlatotepecké blány, která je impregnovaná silikonem, též nazývaná silikonová biologická membrána neboli goldbeater. Ta vychází z jemné silikonové směsi aplikované na podklad, tedy zlatotepeckou blánu, který je velmi křehký a tenký. Zlatotepecká blána je membrána vyráběna jako vedlejší produkt zpracováním hovězích střev, která jsou omyta, mechanicky ztenčena a chemicky ošetřena jako prevence proti biologické degradaci. Prokousnutelná membrána s těmito vlastnostmi vykazuje nejvhodnější vlastnosti pro zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu podle tohoto technického řešení.

Základní těleso je s výhodou z plastu ve tvaru válce, jehož obě podstavy jsou opatřeny šroubovacím uzávěrem, pro snadnější manipulaci a možnost opakovaného použití zařízení.

Ve výhodném uspořádání je v komoře pro umístění čmelíků uspořádán alespoň jeden pruh filtračního papíru, který absorbuje případnou nadbytečnou vlhkost v komoře a čmelíkům zprostředkovává komfortní přístup ke spodní straně prokousnutelné membrány.

Pro úspěšné nasátí čmelíků byly testovány různé tloušťky a typy prokousnutelných membrán, různá vlhkost uvnitř komory pro umístění čmelíků, čmelíci samotní před krmením různě dlouhou dobu hladověli a byli skladováni v různých světelných, tepelných a vlhkostních podmínkách.

Čmelíci před samotným sáním hladoví minimálně 10 dní při teplotě 21 °C v plastové láhvi uzavřené papírovým ubrouskem. Celé zařízení je během sání čmelíků umístěno ve tmě v inkubátoru s teplotou 40 °C po dobu 6 až 12 h.

Výhody zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu podle tohoto technického řešení spočívají zejména v tom, že umožňuje testovat akaricidní látky podávané čmelíkům v krmné krvi bez použití laboratorních zvířat pro produkci membrán, je tedy výhodné z ekonomického i etického hlediska a zejména také pro svoji výrazně nižší časovou náročnost.

Objasnění výkresů

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

obr. 1 znázorňuje pohled na zařízení,

obr. 2 znázorňuje pohled na prokousnutelnou membránu,

obr. 3 znázorňuje graf reprezentující procenta přeživších nasátých čmelíků.

Příklad uskutečnění technického řešení

Zařízení 6 pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku 3b kuřimu podle tohoto technického řešení je znázorněno na obr. 1. Zařízení 6 je tvořeno základním tělesem 7 z plastu, konkrétně polyethylenu, které je silikonovou prokousnutelnou membránou 3 rozděleno na dvě části: horní komoru 8 pro krmnou krev 2 s testovanou látkou a spodní komoru 9 pro umístění čmelíků 3b všech stádií, tedy jak juvenilních, tak dospělých stádií čmelíka 3b kuřiho. Matricí této silikonové prokousnutelné membrány 3 je tzv. zlatotepecká blána, která je impregnována silikonem. Výsledná tloušťka prokousnutelné membrány 3, kterou jsou schopni testování čmelíci 3b prokousnout a zároveň je schopna tato prokousnutelná membrána 3 zadržet krmnou krev 2 nad sebou, se pohybuje v rozmezí 10 až 20 μm, v tomto konkrétním případě je tloušťka prokousnutelné membrány 3 20 μm. Na obr. 2 je znázorněna prokousnutelná membrána 3, která je na straně komory 8 pro krmnou krev 2 opatřena krevními buňkami 3a, konkrétně červenými krvinkami

vytvářejícími meniskus v prokousnutelné membráně 3. Z druhé strany, tedy ze strany komory 9 pro umístění čmelíků 3b jsou zobrazeni čmelíci 3b zakousnutí do nejtenějších míst prokousnutelné membrány 3.

- 5 Spodní komora 9 pro umístění čmelíků 3b obsahuje pruh 4 filtračního papíru, který absorbuje případnou nadbytečnou vlhkost a čmelíkům 3b poskytuje komfortnější prostředí a přístup k prokousnutelné membráně 3. Základní těleso 7 je vytvořeno ve tvaru válce, na jeho podstavách jsou uspořádány šroubovací uzávěry 1, 5, které usnadňují manipulaci a opakované použití zařízení 6. Komora 8 pro krmnou krev 2 je opatřena šroubovacím uzávěrem 1 komory 8 pro krmnou krev 2 a komora 9 pro umístění čmelíků 3b je opatřena šroubovacím uzávěrem 5 komory 9 pro umístění čmelíků 3b.
- 10

- Samotné sání čmelíků 3b probíhá přes noc po dobu 6 až 12 hodin ve tmě při teplotě 40 °C. Čmelíci 3b před sáním hladoví po dobu minimálně deseti dnů při teplotě 21 °C v plastové lahvi o objemu 0,5 l. Láhev obsahuje proužky filtračního papíru a je uzavřena papírovým ubrouskem, který umožňuje výměnu vzduchu mezi vnitřkem láhve a vnějším prostředím.
- 15

- Graf na obr. 3 demonstruje, že toto zařízení 6 lze úspěšně využít k testování akaricidních látek *in vitro* bez použití laboratorních zvířat. Ukazuje procenta přeživších čmelíků 3b po nasátí až do sedmého dne po sání. Srovnává přežívání čmelíků 3b nasátých na slepici (modrá křivka, kosočtverce), na zařízení 6 pro *in vitro* membránové sání (oranžová křivka, čtverce) a na zařízení 6 pro *in vitro* membránové sání s přidaným funkčním akaricidem (zelená křivka, trojúhelníky). Chybové úsečky znázorňují standardní odchylku.
- 20

25

Průmyslová využitelnost

- Zařízení pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku kuřimu lze využít zejména pro vědecké a farmaceutické, resp. veterinární účely.
- 30

NÁROKY NA OCHRANU

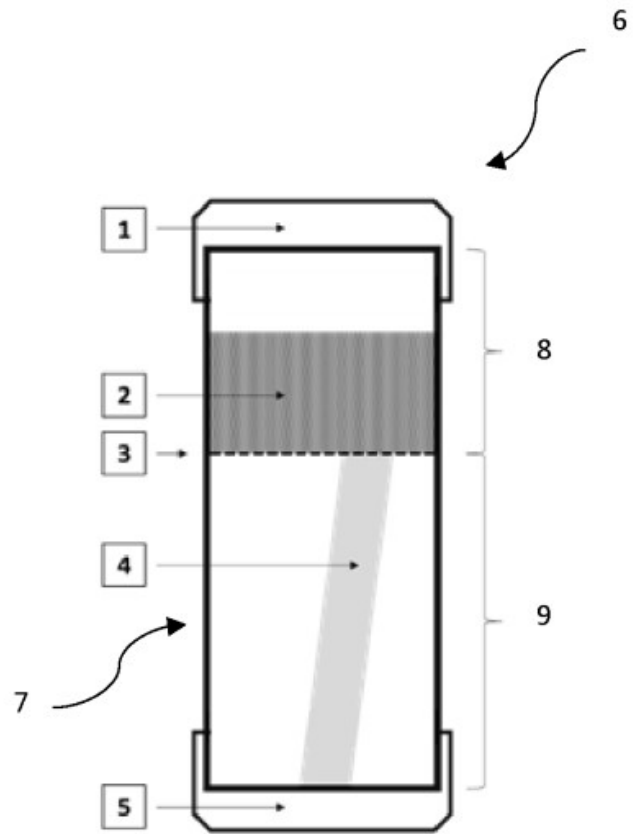
- 5 1. Zařízení (6) pro *in vitro* testování akaricidních látek proti čmelíku (3b) kuřimu je tvořeno základním tělesem (7) zahrnujícím alespoň jednu komoru (8) pro krmnou krev (2) a alespoň jednu komoru (9) pro umístění čmelíků (3b), kde tyto komory (8, 9) jsou od sebe navzájem odděleny alespoň jednou prokousnutelnou membránou (3), **vyznačující se tím**, že prokousnutelná membrána (3) je z materiálu na bázi silikonu s tloušťkou do 20 μm .
- 10 2. Zařízení podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že prokousnutelná membrána (3) má matici ze zlatotepecké blány, která je impregnovaná silikonem.
- 15 3. Zařízení podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že základní těleso (7) je z plastu ve tvaru válce, jehož obě podstavy jsou opatřeny šroubovacím uzávěrem (1, 5).
4. Zařízení podle některého z nároků 1 až 3, **vyznačující se tím**, že v komoře (9) pro umístění čmelíků (3b) je uspořádán alespoň jeden pruh (4) filtračního papíru.

2 výkresy

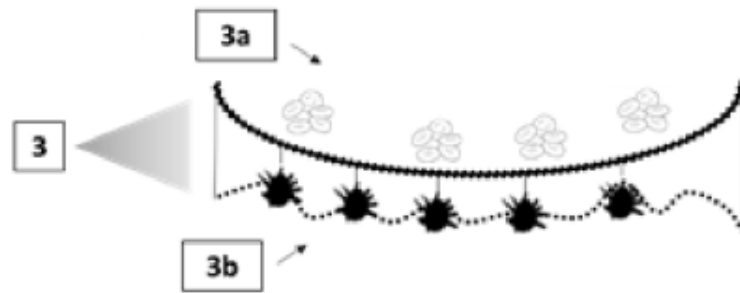
20

Seznam vztahových značek:

- 1 šroubovací uzávěr komory pro krmnou krev
- 2 krmná krev
- 3 prokousnutelná membrána
- 3a krevní buňka
- 3b čmelík kuří
- 4 pruh filtračního papíru
- 5 šroubovací uzávěr komory pro umístění čmelíků
- 6 zařízení
- 7 základní těleso
- 8 komora pro krmnou krev
- 9 komora pro umístění čmelíků.



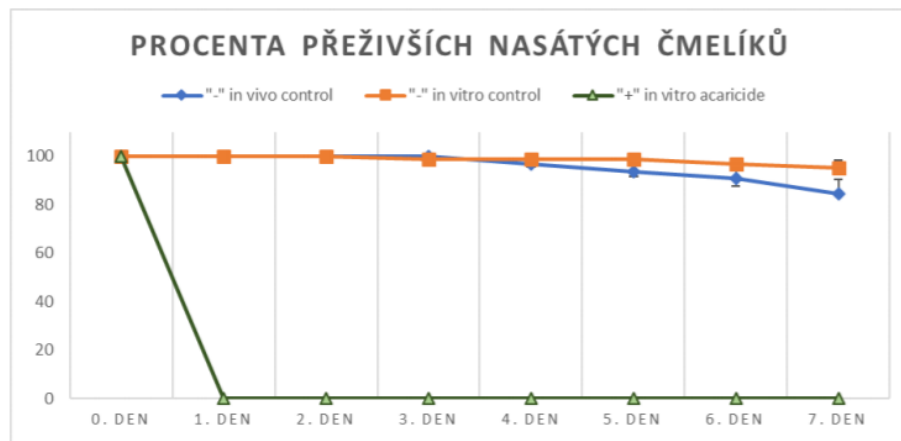
Obr. 1



 *Dermanyssus gallinae*

 Krevní buňky

Obr. 2



Obr. 3