

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

261100

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴
C 12 N 1/20

(22) Prihlášené 17 09 87

(21) [PV 6704-87.X]

(40) Zverejnené 15 06 88

(45) Vydané 15 05 89

(75)

Autor vynálezu

KMEŤ VLADIMÍR MVDr. CSc., KOŠICE, MAROUNEK MILAN ing. CSc.,
PRAHA

(54) Kmeň mikroorganizmu *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000

1

2

Riešenie sa týka kmeňa mikroorganizmu *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000, ktorý produkuje biomasu s adherenciou na epitelialne bunky bachorovej steny a so stabilnou produkciou alfa amylázovej aktivity a etanolu. Kmeň produkuje biomasu, ktorá má použitie ako kolonizačný preparát pre mláďatá prežúvavcov.

Vynález sa týka nového kmeňa mikroorganizmu *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000 produkujúceho biomasu a etanol s adherenciou na epiteliálne bunky bachorovej steny a so stabilnou amylázovou aktivitou, ktorý má použitie najmä ako kolonizačný preparát pre mláďatá prežúvavcov.

Kmene laktobacilov používané ako mikrobiotiká ako napr. *Lactobacillus plantarum* CCM 1 834 a *Lactobacillus lactis* CCM 1 877 neboli selektované s cieľom použitia pre stimuláciu vývoja bachorovej mikoflóry u mláďat prežúvavcov t. j. na adherenciu, stabilnú produkciu alfa amylázy a etanolu, ktorý pôsobí ako ruminatorium.

Uvedené nedostatky vyššie zmienených doposiaľ známych kmeňov odstraňuje vynález, ktorým je nový kmeň mikroorganizmov *Lactobacillus cellobiosus*, ktorý je uložený v Československej zbierke mikroorganizmov Univerzity Jana Evangelistu Purkyně, Tr. Obránců míru 10 v Brně pod č. CCM 4 000.

Kmeň *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000 bol získaný dlhodobým kultivačným pasážovaním kmeňa *Lactobacillus cellobiosus* izolovaného z bachorového obsahu teľat, za prítomnosti plazmid eliminačných látok napr. $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ akridín oranže v živnej pôde metódou podľa autorského osvedčenia č. 248 207 s názvom „Spôsob výberu bachorových mikroorganizmov pre prípravu kolonizačných preparátov“. (Kmet V. a kol. 1986).

Postup sa uvádza v príklade 1.

Nový kmeň mikroorganizmu má nasledovné morfológické a fyziologické vlastnosti: grampozitívne nepohyblivé tyčinky. Na Rogosa agare (Oxoid) tvorí stredne veľké smotanovo biele 2 až 3 mm veľké kolónie. Anaeróbne hydrolyzuje škrob. Fermentuje arabinózu, celobiózu, altózu. Má aktivitu kyslej proteázy a produkuje etanol v množstve $0,5 \text{ mólu} \cdot \text{mól}^{-1}$ utilizovanej glukózy.

Spôsob výroby kolonizačného preparátu s použitím nového kmeňa je pre ilustráciu popísaný v príklade 2.

Príklad 1

Nový kmeň *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000 bol získaný po mnohonásobnom kultivačnom pasážovaní pôvodného izolátu selektovaného na amylázovú aktivitu a produkciu etanolu. Akridínová oranž pridaná do Rogosa média [zloženie uvedené v príklade 2] v množstve $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média, t. j. v subinhibičnej koncentrácii, spôsobovala akcelerovanú elimináciu prípadných nestabilných plazmidmi kódovaných vlastností, čím sa stal nový kmeň geneticky stabilným.

Príklad 2

Kultúrou kmeňa *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000, 36 hodín starou, narastenou na Rogosa agare s 1 % kukuričného škrobu sa očkuje inokulačný bujón nasledovného zloženia v $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$: peptón 10, kvasničný extrakt 5, glukóza 20, polyoxyetylén sorbitan monooleát (Tween 80) 1, síran horečnatý 0,2, síran manganatý 0,05, pH 6,0, sterilizácia 30 minút pri 120°C a inkubuje sa pri 37°C 10 až 12 hodín. Získaným inokulom sa v množstve 5 % obj. očkuje 10-litrový fermentor, plnený 8 000 ml média toho istého zloženia. Po 8- až 10-hodinovej anaeróbnej inkubácii pri 37°C , miešanie 300 až 500 otáčok $\cdot \text{min}^{-1}$ sa získaná biomasa zahusťí a vysuší.

Pripravený kolonizačný preparát sa namieša do ľubovoľnej krmnej zmesi pre teľatá, resp. pre jahňatá tak, aby priemerná denná dávka kmeňa *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000 bola $1 \cdot 10^9$ zárodkov pre teľatá, resp. $5 \cdot 10^8$ zárodkov pre jahňatá. Preparát sa podáva počas obdobia mliečnej výživy.

PREDMET VYNÁLEZU

Kmeň mikroorganizmu *Lactobacillus cellobiosus* CCM 4 000 produkujúci biomasu s adherenciou na epiteliálne bunky bachoro-

vej steny a so stabilnou produkciou alfa amylázovej aktivity a etanolu.