



Produkt-Datenblatt

ANTIBIOTIKAMEDIUM Nr. 23

Zum Nachweis und zur Untersuchung der Wirkung von Antibiotika

CL54

Zusammensetzung in g/l (angenähert):

Glucose	10,0
Hefeextrakt	2,5
di-Kaliumhydrogenphosphat	0,69
Kaliumhydrogenphosphat	0,45
Agar	13,5
pH-Wert	5,6 ± 0,1



HERSTELLUNG

27,1 g des Mediums werden in einem Liter destillierten Wasser suspendiert. Man mische gut, erhitze unter häufigem Rühren/Schütteln und lasse das Medium eine Minute kochen. Man gieße in geeignete Behälter und sterilisiere 15 Minuten lang bei 121 °C im Autoklaven. Vor dem Gießen oder Beimpfen gibt man 10 ml einer wässrigen Ammoniumchloridlösung (Best. Nr. P726, Ph. Eur., 14,3 g / 10 ml Wasser, steril filtriert) zu. Auf 50 °C abkühlen lassen, beimpfen und in Petrischalen gießen.

EINSATZGEBIET

Antibiotikamedium Nr. 23 wird verwendet zur Messung der Antibiotikaaktivität oder zum Screening von Antibiotikaresten in Futtermitteln. Man macht sich hier den inhibitorischen Effekt auf Mikroorganismen zu Nutze und wendet Agardiffusionstests (Lochplattentests) zur Hemmhofbildung an (siehe Abbildung).⁽¹⁾ Die Konzentration des Ammoniumchlorides spezifiziert hierbei die Sensitivität des Agars. Man beachte aber: bei zu hoher Konzentration an Ammoniumchlorid werden die Bakterien insgesamt inhibiert.

Nach Abkühlen auf 50 °C wird der Agar mit einem Prüfstamm von *Bacillus subtilis* inoculiert (10⁶ KBE/ml Agar) und ausplattiert. Nach dem Aushärten in waagerechter Position stanzt man zylindrische Löcher (Durchmesser 12 mm) im Abstand von mindestens 30 mm in den Agar, die mit je 200 µl einer methanolischen Extraktionslösung gefüllt werden.⁽²⁾

Polyetherantibiotika können auch mittels Dünnschichtchromatographie analysiert werden. Die Futtermittlextrakte werden auf eine DC-Platte appliziert und nach der Chromatographie mit dem Antibiotikamedium Nr. 23 (mit höherer Ammoniumchloridkonzentration) überschichtet.

Das Testsystem dient zum Nachweis der folgenden Antibiotika/-gruppen: Flavophospholipol, Tetracycline, Polyetherantibiotika, Avilamycin, Sulfonamide.⁽³⁾

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 30 ± 1 °C für 16-18 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum	Hemmhof bei
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Gut	Flavophospholipol, Tetracycline, Polyetherantibiotika, Avilamycin, Sulfonamide

Nach: 1.) Wagner (2007) Methode VDLUFA MB III 28.4.1 zur Futtermitteluntersuchung

2.) van Egmond (2004) SIMBAG-FEED Work package 2.6 GROWTH project GRD1-2000-00413

3.) Joubert (2000) *Ann. Fals. Exp. Chim.* 950:83-94

Abbildung: Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Wagner, LTZ Karlsruhe, Deutschland.

ANTIBIOTIKAMEDIUM Nr. 23

500 g

CL54.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
 Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.de • www.carlroth.de

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055. Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

sse 06/2021



Product Data Sheet



ANTIBIOTIC MEDIUM No. 23

For detection and for assaying the potency of antibiotics
CL54

Approximate formula in g/l:

Glucose	10.0
Yeast extract.....	2.5
di-Potassium hydrogen phosphate	0.69
Potassium dihydrogen phosphate	0.45
Agar	13.5
pH-value	5.6 ± 0.1



PREPARATION

Suspend 27.1 g of the medium in one liter of distilled or deionized water. Mix well and heat with frequent agitation. Boil for one minute. Distribute into appropriate containers. Sterilize at 121 °C for 15 minutes in an autoclave. Prior to pouring, add 10 ml aqueous ammonia chloride solution (Art. No. P726, Ph. Eur., 14.3 g / 10 ml water, sterile filtered). Let cool to 50 °C, inoculate if required and pour into petri dishes.

USES

Antibiotic Medium No. 23 is used for testing the potency of antibiotics or screening of the presence of residual antibiotics in feeds by the inhibitory effects on microorganisms (inhibition zones) by agar diffusion (cylinder plate method) (see figure) .⁽¹⁾ The concentration of ammonia chloride specifies the sensitivity of the agar.

Please note: if the concentration is raised too high, bacteria will be inhibited overall.

After cooling to 50 °C the agar is inoculated with a test strain of *Bacillus subtilis* (10⁶ cfu/ml agar) and poured into petri dishes. Allow to set in a level position and bore holes with a diameter of approx. 12 mm (Minimal of 30 mm between centres), which are filled with 200 µl each of a methanolic extract.⁽²⁾

Polyether antibiotics may also be analysed by thin layer chromatography. Feeds extracts are applied onto a DC plate and, after chromatography, they are overlaid with Antibiotic Medium No. 23 (incl. higher amounts of ammonia chloride).⁽³⁾

This testing system is used for detection of the following main groups/antibiotics: flavophospholipol, tetracyclines, polyether antibiotics, avilamycin, sulfonamides.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 30 ± 1 °C and observed after 16-18 hours.

Microorganisms	Growth	Inhibition zones
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Good	Flavophospholipol, Tetracyclines, Polyether antibiotics, Avilamycin, Sulfonamides

Acc. to: 1.) Wagner (2007) Methode VDLUFA MB III 28.4.1 for feeds analysis

2.) van Egmond (2004) SIMBAG-FEED Work package 2.6 GROWTH project GRD1-2000-00413

3.) Joubert (2000) *Ann. Fals. Exp. Chim.* 950:83-94

Figure: With kind permission of Dr. Wagner, LTZ Karlsruhe, Germany.

ANTIBIOTIC MEDIUM No. 23

500 g

CL54.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe

Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com sse 06/2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 06/2021