



## Middlebrook 7H11 Agar

Selective medium for the isolation and cultivation of mycobacteria.

### DESCRIPTION

Middlebrook 7H11 Agar is a medium used for the selective isolation of *Mycobacterium* spp, especially *Mycobacterium tuberculosis*, from clinical specimens as well as for the cultivation of pure cultures of mycobacteria.

This agar-based medium provides improved susceptibility testing compared to media based on coagulated egg (Lowenstein formulations) where drugs may be more easily inactivated.

| TYPICAL FORMULA             | (g/l)   |
|-----------------------------|---------|
| Pancreatic Digest of Casein | 1.0     |
| L-Glutamic Acid             | 0.5     |
| Sodium Citrate              | 0.4     |
| Pyridoxine Hydrochloride    | 0.001   |
| Biotin                      | 0.0005  |
| Ferric Ammonium Citrate     | 0.04    |
| Ammonium Sulfate            | 0.5     |
| Disodium Phosphate          | 1.5     |
| Monopotassium Phosphate     | 1.5     |
| Magnesium Sulfate           | 0.05    |
| Malachite Green             | 0.001   |
| Agar                        | 15.0    |
| Glycerol                    | 5 ml    |
| Sodium Chloride             | 0.85    |
| Glucose                     | 2.0     |
| Bovine Albumin (Fraction V) | 5.0     |
| Catalase                    | 0.003   |
| Oleic Acid                  | 0.06 ml |
| Final pH 6.6 ± 0.2 at 25°C  |         |

### METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein is the ingredient added to Middlebrook 7H10 Agar (ref. 30368) to create Middlebrook 7H11 Agar providing nitrogen, vitamins and amino acids to enhance the growth of fastidious strains of *M. tuberculosis*. Glutamic acid, sodium citrate, pyridoxine, biotin and ammonium sulfate supply growth factors. Ferric ammonium citrate and magnesium sulfate are sources of trace ions. Phosphates help maintaining the pH of the medium. Malachite green is the selective agent inhibiting the contaminant microbial flora. Malachite green serves as pH indicator as well. Agar is the solidifying agent. Glycerol and glucose are energy sources. Sodium chloride maintains the osmotic equilibrium. Albumin protects the tubercle bacilli against toxic agents. Catalase destroys toxic peroxides that may be present in the medium. Oleic acid is a fatty acid utilized in the mechanism of mycobacteria.

### TEST PROCEDURE

Inoculate the medium according to test procedures recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) or consult appropriate references. Keep plates and tubes shielded from light and incubate at 35 ± 2°C for up to 8 weeks in aerobic atmosphere enriched with 5-10% carbon dioxide.

### INTERPRETING RESULTS

Examine weekly for growth, pigment production and colony morphology. Carry out identification tests according to established laboratory procedures.

N.B. Negative culture results do not rule-out active infection by mycobacteria. Some factors that may lead to unsuccessful cultures are:

- The specimens was not representative of the infectious materials; i.e. saliva instead of sputum.
- The mycobacteria were destroyed during digestion and decontamination of the specimen.
- Gross contamination interfered with the growth of mycobacteria.
- Proper aerobic conditions and increased CO<sub>2</sub> tension were not provided during incubation.

**APPEARANCE**

Slightly opalescent, light yellowish green.

**STORAGE**

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

Ready-to-use plates: 6 months.

Medium in tubes: 1 year.

**QUALITY CONTROL**

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 100-300 CFU.

Inoculum for selectivity: 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU.

Incubation conditions: aerobic atmosphere with 5-10%CO<sub>2</sub> at 35 ± 2°C for up to 21 days.

**QC Table.**

| Microorganism                       |             | Growth                            |
|-------------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> | ATCC® 13950 | Good                              |
| <i>Mycobacterium scrofulaceum</i>   | ATCC® 19981 | Good                              |
| <i>Escherichia coli</i>             | ATCC® 25922 | Partially to completely inhibited |

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.








**BIBLIOGRAPHY**

- Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller (2007) Manual of Clinical Microbiology. 9<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2004) Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard, 3<sup>rd</sup> ed. M22-A3. CLSI, Wayne, PA
- Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. (1997) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.
- Kent, P.T. and G.P. Kubica (1985) Public Health Mycobacteriology, A Guide for the Level III Laboratory. Dept. of H.H.S. and Centers for Disease Control (CDC), Atlanta, GA.
- Middlebrook, G., M.L. Cohn, W.E. Dye, Russell, Jr., and D. Levy (1960) Microbiologic procedures of value in tuberculosis. Acta. Tuberc. Scand. 38:66-81.
- Middlebrook, G., and M.L. Cohn (1958) Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods. Am. J. Public Health. 48:844-853.
- Middlebrook, G., M.L. Cohn, and W.B. Scheffer (1954) Studies on isoniazid and tubercle bacilli. III. The isolation, drug-susceptibility and catalase testing of tubercle bacilli from isoniazid-treated patients. Am. Rev. Tuberc. 70:852-872.

**PRESENTATION**

|                      |                           | Contents          | Ref.  |
|----------------------|---------------------------|-------------------|-------|
| Middlebrook 7H11Agar | 90 mm Ready-to-use plates | 20 plates         | 10416 |
| Middlebrook 7H11Agar | Slant tubes               | 10 x 8.5 ml tubes | 37000 |

**TABLE OF SYMBOLS**

|                             |  |   |  |   |
|-----------------------------|--|---|--|---|
| <b>LOT</b> Batch code       | <b>IVD</b> <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device   |  Manufacturer                      |  Use by                               |  Fragile, handle with care |
| <b>REF</b> Catalogue number |  Temperature limitation |  Contains sufficient for <n> tests |  Caution, consult Instruction For Use |  Do not reuse              |



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





## Middlebrook 7H11 Agar

Terreno selettivo per l'isolamento e la coltivazione dei micobatteri.

### DESCRIZIONE

Middlebrook 7H11 Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo di *Mycobacterium* spp, in particolare di *Mycobacterium tuberculosis*, da campioni clinici ma anche per la coltivazione di colture pure di micobatteri. Questo terreno contenente agar è maggiormente adatto a l'esecuzione dei test di sensibilità rispetto ai terreni a base di uovo coagulato (formula Lowenstein) dove gli antimicrobici possono essere più facilmente inattivati.

| FORMULA TIPICA                  | (g/l)   |
|---------------------------------|---------|
| Digerito Pancreatico di Caseina | 1.0     |
| L-Acido Glutammico              | 0.5     |
| Sodio Citrato                   | 0.4     |
| Piridossina Cloridrato          | 0.001   |
| Biotina                         | 0.0005  |
| Ferro Ammonio Citrato           | 0.04    |
| Ammonio Solfato                 | 0.5     |
| Disodio Fosfato                 | 1.5     |
| Potassio Fosfato Monobasico     | 1.5     |
| Magnesio Solfato                | 0.05    |
| Verde Malachite                 | 0.001   |
| Agar                            | 15.0    |
| Glicerolo                       | 5 ml    |
| Sodio Cloruro                   | 0.85    |
| Glucosio                        | 2.0     |
| Albumina Bovina (Frazione V)    | 5.0     |
| Catalasi                        | 0.003   |
| Acido Oleico                    | 0.06 ml |

pH Finale 6.6 ± 0.2 a 25°C

### PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di caseina è l'ingrediente che viene aggiunto al terreno Middlebrook 7H10 Agar (ref. 30368) per realizzare Middlebrook 7H11 Agar e che fornisce azoto, vitamine ed aminoacidi per stimolare la crescita dei ceppi esigenti di *M. tuberculosis*. Acido glutammico, sodio citrato, piridossina, biotina ed ammonio solfato forniscono fattori di crescita. Ammonio citrato ferrico e magnesio solfato sono fonte di ioni. I fosfati aiutano nel mantenimento del pH del terreno. Il verde di malachite è l'agente selettivo che inibisce la flora microbica contaminante. Il verde malachite serve anche come indicatore di pH. L'agar è l'agente solidificante. Glicerolo e glucosio sono fonte di energia. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. L'albumina protegge i bacilli tubercolari contro gli agenti tossici. La catalasi elimina i perossidi tossici che possono essere presenti nel terreno. L'acido oleico è un acido grasso utilizzato dai micobatteri.

### PROCEDURA DEL TEST

Inoculare il terreno secondo le procedure raccomandate dal Centers for Disease Control and Prevention (CDC) o consultare riferimenti opportuni. Tenere le piastre e le provette al riparo dalla luce ed incubare a 35 ± 2°C fino ad 8 settimane in atmosfera aerobica arricchita con 5-10% di anidride carbonica.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare settimanalmente crescita, produzione del pigmento e morfologia delle colonie. Eseguire test identificativi secondo le procedure di laboratorio previste.

N.B. Risultati negativi non escludono la presenza di un'infezione attiva ad opera di micobatteri. Alcuni fattori che possono condurre a colture negative sono:

- Il campione non era rappresentativo del materiale infetto; es. saliva invece che sputo.
- I micobatteri sono stati distrutti durante la digestione e decontaminazione del campione.
- Una contaminazione importante ha interferito con la crescita dei micobatteri.
- Condizioni adeguate di aerobiosi ed aumento della tensione di CO<sub>2</sub> non sono state rispettate durante l'incubazione.

**ASPETTO**

Giallastro verde chiaro, leggermente opalescente.

**CONSERVAZIONE**

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

**VALIDITÀ**

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

Terreno in provette: 1 anno.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 100-300 UFC.

Inoculo per selettività: 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico con 5-10%CO<sub>2</sub> a 35 ± 2°C fino a 21 giorni.

**Tabella CQ.**

| Microrganismo                       |             | Crescita                                |
|-------------------------------------|-------------|---|
| <i>Mycobacterium intracellulare</i> | ATCC® 13950 | Buona                                   |
| <i>Mycobacterium scrofulaceum</i>   | ATCC® 19981 | Buona                                   |
| <i>Escherichia coli</i>             | ATCC® 25922 | Da parzialmente a completamente inibita |

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.








**BIBLIOGRAFIA**

- Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Pfaller (2007) Manual of Clinical Microbiology. 9<sup>th</sup> ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2004) Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard, 3<sup>rd</sup> ed. M22-A3. CLSI, Wayne, PA
- Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. (1997) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA.
- Kent, P.T. and G.P. Kubica (1985) Public Health Mycobacteriology, A Guide for the Level III Laboratory. Dept. of H.H.S. and Centers for Disease Control (CDC), Atlanta, GA.
- Middlebrook, G., M.L. Cohn, W.E. Dye, Russell, Jr., and D. Levy (1960) Microbiologic procedures of value in tuberculosis. Acta. Tuberc. Scand. 38:66-81.
- Middlebrook, G., and M.L. Cohn (1958) Bacteriology of tuberculosis: laboratory methods. Am. J. Public Health. 48:844-853.
- Middlebrook, G., M.L. Cohn, and W.B. Scheffer (1954) Studies on isoniazid and tubercle bacilli. III. The isolation, drug-susceptibility and catalase testing of tubercle bacilli from isoniazid-treated patients. Am. Rev. Tuberc. 70:852-872.

**PRESENTAZIONE**

|                      |                                 | Contenuto            | Ref.  |
|----------------------|---------------------------------|----------------------|-------|
| Middlebrook 7H11Agar | Piastre da 90 mm pronte all'uso | 20 piastre           | 10416 |
| Middlebrook 7H11Agar | Provette a becco di clarino     | Provette 10 x 8.5 ml | 37000 |

**TABELLA DEI SIMBOLI**

|                               |   |   |  |  |
|-------------------------------|---|---|--|--|
| <b>LOT</b> Codice del lotto   | <b>IVD</b> Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>   |  Fabbricante                         |  Utilizzare entro                               |  Fragile, maneggiare con cura |
| <b>REF</b> Numero di catalogo |  Limiti di temperatura |  Contenuto sufficiente per <n> saggi |  Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso |  Non riutilizzare             |



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

