



Middlebrook 7H10 Agar

Selective medium for the isolation and cultivation of mycobacteria.

DESCRIPTION

Middlebrook 7H10 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)
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	0.025
Malachite Green	0.00025
Agar	15.0
Calcium Chloride	0.0005
Zinc Sulfate	0.001
Copper Sulfate	0.001
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

Glutamic acid, sodium citrate, pyridoxine, biotin and ammonium sulfate supply growth factors. Ferric ammonium citrate, magnesium sulfate, calcium chloride, zinc sulfate and copper 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 CO₂ 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: 10³-10⁴ CFU.

Incubation conditions: aerobic atmosphere with 5-10%CO₂ 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. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2004) Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard, 3rd 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. 5th 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 7H10 Agar	90 mm Ready-to-use plates	20 plates	10453
Middlebrook 7H10 Agar	Slant tubes	10 x 8.5 ml tubes	30368

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF 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 7H10 Agar

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

DESCRIZIONE

Middlebrook 7H10 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)
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	0.025
Verde Malachite	0.00025
Agar	15.0
Calcio Cloruro	0.0005
Zinco Solfato	0.001
Rame Solfato	0.001
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

Acido glutammico, sodio citrato, piridossina, biotina ed ammonio solfato forniscono fattori di crescita. Ammonio citrato ferrico, magnesio solfato, calcio cloruro, zinco solfato e rame 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 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 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_2 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: 10³-10⁴ UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico con 5-10%CO₂ 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. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2004) Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard, 3rd 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. 5th 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 7H10 Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10453
Middlebrook 7H10 Agar	Provette a becco di clarino	Provette 10 x 8.5 ml	30368

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF 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

