

Middlebrook 7H11 Agar Base

Selective medium for the isolation and cultivation of mycobacteria.

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
Final pH 6.6 ± 0.2 at 25°C	

DESCRIPTION

Middlebrook 7H11 Agar Base is a medium used with supplements 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.

PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein provides nitrogen, vitamins and amino acids for 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.

Middlebrook 7H11 Agar Base is enriched with Glycerol Supplement (ref. 80021) and Middlebrook 7H10 (OADC) Supplement (ref. 81035) containing oleic acid, albumin, glucose, catalase and sodium chloride. 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.

PREPARATION

Suspend 20.5 g of powder in 900 millilitres of deionized or distilled water containing 5 ml of glycerol. Bring to boil and shake until completely dissolved. Sterilize at 121°C for 15 minutes. Cool up to 45-50°C. Aseptically, add 100 ml of Middlebrook 7H10 (OADC) Supplement. Mix well.

TECHNIQUE

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.

INTERPRETATION OF 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.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

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 designed for *in vitro* diagnostic use and must be used by properly trained operators only.

DISPOSAL OF WASTE

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

REFERENCES

- Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry, and M.A. Tenover (2007) Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



- 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.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Middlebrook 7H11 Agar Base

PRESENTATION

Dehydrated medium

STORAGE

10-30°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
610213	500 g	500 g of powder in plastic bottle
620213	100 g	100 g of powder in plastic bottle

pH OF THE MEDIUM

6.6 ± 0.2

USE

Middlebrook 7H11 Agar Base is a selective medium used with supplements for the primary isolation of *Mycobacterium* spp, especially *Mycobacterium tuberculosis*, and for susceptibility testing

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Powder medium

Appearance: free-flowing, homogeneous

Colour: beige

Ready-to-use medium

Appearance: slightly opalescent

Colour: light yellowish green

SHELFLIFE

4 years

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Microbiological control
Inoculum for productivity: 100-300 CFU
Inoculum for selectivity: 10³-10⁴ CFU
Incubation Conditions: 35 ± 2°C for up to 21 days, in aerobic atmosphere enriched with 5-10% CO₂

Microorganism

Mycobacterium intracellulare

ATCC® 13950

Growth

Good

Mycobacterium scrofulaceum

ATCC® 19981











Good

Escherichia coli

ATCC® 25922

Inhibited

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	 Consult instruction for use	 Keep away from heat sources



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@lioilchem.net



Middlebrook 7H11 Agar Base

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

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
pH finale	6.6 ± 0.2

DESCRIZIONE

Middlebrook 7H11 Agar Base è un terreno utilizzato con supplementi 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.

PRINCIPIO

Il digerito pancreatico di caseina 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.

Middlebrook 7H11 Agar Base viene arricchito con Glycerol Supplement (ref. 80021) e Middlebrook 7H10 (OADC) Supplement (ref. 81035) contenente acido oleico, albumina, glucosio, catalasi e sodio cloruro. 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.

PREPARAZIONE

Sospendere 20.5 g di polvere in 900 millilitri di acqua distillata o deionizzata contenente 5 ml di glicerolo. Riscaldare fino a completa dissoluzione e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. Aggiungere asepticamente 100 ml di Middlebrook 7H10 (OADC) Supplement. Mescolare bene.

TECNICA

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 CO₂ non sono state rispettate durante l'incubazione.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

10-30°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- 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.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Middlebrook 7H11 Agar Base

PRESENTAZIONE

Terreno disidratato

CONSERVAZIONE

10-30°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
610213	500 g	500 g di terreno in polvere in flacone di plastica
620213	100 g	100 g di terreno in polvere in flacone di plastica

pH DEL TERRENO

6.6 ± 0.2

IMPIEGO

Middlebrook 7H11 Agar Base è un terreno selettivo utilizzato con supplementi per l'isolamento primario di *Mycobacterium* spp, in particolare di *Mycobacterium tuberculosis*, e per test di sensibilità

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Terreno disidratato

Aspetto: omogeneo, fine granulometria

Colore: beige

Terreno pronto

Aspetto: leggermente opalescente

Colore: giallastro verde chiaro

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
- Controllo microbiologico
Dimensione dell'inoculo per produttività: 100-300 UFC
Dimensione dell'inoculo per selettività: 10³-10⁴ UFC
Condizioni di incubazione: 35 ± 2°C fino a 21 giorni, in atmosfera aerobica arricchita con 5-10% CO₂











Microrganismo

<i>Mycobacterium intracellulare</i>	ATCC® 13950
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	ATCC® 19981
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922

Crescita

Buona
Buona
Inibita

TABELLA DEI SIMBOLI

 Numero di lotto	 Per uso diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
 Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le istruzioni per l'uso	 Tenere al riparo da fonti di calore



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net

