

CMP™ Amies/Charcoal Transwab 的效能評估

陳瑞瑩¹，蔡岳廷²，洪晟峰³，蔡文城^{2,4*}

¹慈濟大學醫學檢驗暨生物技術學系，花蓮縣，²台美檢驗科技有限公司，新北市，

³啟新生物科技有限公司，新北市，⁴國立陽明大學微免所，台北市，台灣

摘要

輸送培養基的使用為避免檢體中的病原菌在輸送過程中死亡或發生菌相的生態改變，因此輸送裝置內培養基的品質與臨床檢驗室從各種檢體分離病原菌的能力息息相關。CMP™ Amies/Charcoal Transwab (啟新生物科技有限公司，台灣) 為新上市宣稱同時適用於嗜氧及厭氧菌檢測檢體的輸送並具有維持檢體中菌相的生態及保存挑剔性病原菌的效能，為了驗證其真實性，吾等根據 CLSI 之微生物輸送系統之規範 M40-A (2003 年) 進行評估，測試的菌種為挑剔性嗜氧菌：*Neisseria gonorrhoeae* (淋病奈瑟氏菌, ATCC 43069) 與 *Streptococcus pyogenes* (化膿性鏈球菌, ATCC 19615) 以及厭氧菌：*Bacteroides fragilis* (脆弱擬桿菌, ATCC 25285) 與 *Propionibacterium acnes* (痤瘡丙酸桿菌, ATCC 6919)。測試時，分別將約 10⁶ CFU 菌量的四種菌接種於棉棒後插入 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 輸送裝置的培養基中，同時為模擬檢體不同的輸送條件，分別將 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 保存於室溫及 4°C 環境。除了 *N. gonorrhoeae* 保存時間為 0、8 及 24 小時外，其它三種測試菌則保存 0、24 及 48 小時，然後在每個時間點上以生理食鹽水回收，經系列稀釋，接種在適當的培養基及培養在適當環境與時間後，將各不同時間點回收之總菌量與 0 小時之總菌量做比較。依據 CLSI 之標準：在 4 °C 環境之下，菌量對數值下降(log reduction) 不大於 3，上升值不大於 1；在室溫環境之下，則菌量對數值下降不大於 3。本試驗結果顯示，CMP™ Amies/Charcoal Transwab 在 48 小時之內無論是室溫或者 4°C 環境下皆能夠有效保存 *S. pyogenes*、*B. fragilis* 與 *P. acnes*；至於 *N. gonorrhoea* 同樣在 24 小時之內於 4°C 或室溫環境下皆能夠有效保存，因此符合 CLSI 規範之要求。基於上述的發現，吾等認為 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 的品質符合 CLSI M40-A 規範之要求，適用於含有嗜氧菌及厭氧菌檢體的輸送。本試驗結果將可供作臨床微生物實驗室選用檢體輸送裝置的參考。

關鍵字：CMP™ Amies/Charcoal Transwab、輸送培養基、嗜氧及厭氧檢體的輸送、效能驗證

前言

輸送培養基的效能將會嚴重影響臨床微生物檢驗報告的結果，其在運輸或儲存後，必須不會改變臨床檢體中微生物的相對比例，並維持其活性^[1-3]。若輸送培養基效能不足，欲偵測的病原菌將在輸送過程中死亡，或偏

向有利於某些常在菌生長，導致優勢菌的判斷錯誤，而讓醫師無法正確診療，使病情延誤，甚至危及病人性命。有鑑於此，早期廠家研發出輸送培養基包括 Amies, Cary-Blair 或 Stuart 等配方。若針對嗜氧菌分離時，將配方製成短輸送管，針對厭氧菌則製成長輸送管^[1]，後者係因為長管培養基的底部所含有的氧氣量較低。近期發展的含活性碳粉 (Amies w/charcoal) 輸送培養基則可同時針對嗜氧及厭氧檢體的輸送，其中的活性碳能吸收脂肪酸及對微生物有害的毒性代謝物，而

* 通訊地址：台美檢驗科技有限公司
24890 新北市新莊區五工五路 21 號 蔡文城
電話：886-(02)2298-1887
E-mail address：wctsai@superlab.com.tw

無機鹽則做為緩衝系統以維持環境中滲透壓的平衡，讓微生物能更有效地保存^[9-11]。

由於廠家生產輸送培養基的品質良莠不齊，有鑑於輸送培養基的重要性，美國臨床與實驗室標準機構(Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI)文件 CLSI M40-A^[2]特別針對輸送培養基的效能評估提出明確的方法規範，包括測試菌種的類別、標準菌株型號、各個菌株保存時間的長短與存活量。在規範中，嗜氧菌測試菌種包括 *Neisseria gonorrhoeae* (淋病奈瑟氏菌) 及 *Streptococcus pyogenes* (化膿性鏈球菌)，而厭氧菌種者包括 *Bacteroides fragilis* (脆弱擬桿菌) 及 *Propionibacterium acnes* (痤瘡丙酸桿菌)；*N. gonorrhoeae* 在輸送管保存時間需達 24 小時，而 *S. pyogenes*、*B. fragilis* 及 *P. acnes* 48 小時；並且在時間範圍內皆可維持菌量才符合規範之要求。

本研究室過去曾分別評估嗜氧檢體輸送管(CMP™ Aerobic Transtube)對臨床挑別性嗜氧菌的保存效果^[12]以及厭氧檢體輸送管(CMP™ Anaerobic Transwab)對厭氧菌之保存效能^[13]。由於 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 為啟新生物科技有限公司近期開發的另一項輸送培養基產品，其宣稱可以同時讓嗜氧菌及厭氧菌存活適當時間。為了要了解其實用性，吾等根據 CLSI 的建議，以挑別的嗜氧菌 *N. gonorrhoeae* 與 *S. pyogenes* 以及厭氧菌 *B. fragilis* 與 *P. acnes* 四個菌種做為測試細菌，評估其等在不同保存/輸送溫度及輸送時間對各菌生菌數的變化情形以分析 Amies/Charcoal Transwab 的效能。

材料及方法

測試細菌

N. gonorrhoeae (ATCC 43069)、*S. pyogenes* (ATCC 19615)、*B. fragilis* (ATCC 25285) 及 *P. acnes* (ATCC 6919) 均購自美國

MBL公司(美國 ATCC 授權)。這此菌均庫存於 -70°C 的 GermBank 菌種保存管中。

試驗菌的移種及培養

試驗前約一星期，將庫存菌從保存於 -70°C 的 GermBank 菌種保存管取出，並將嗜氧菌菌株中的 *N. gonorrhoeae* 移種至 chocolate agar，而 *S. pyogenes* 移種至 Blood agar plate (BAP)，置於 35°C 的 5% CO₂ 培養箱培養；將兩種厭氧菌菌株分別移種至 Brain-Heart infusion agar (BHI agar)，置於厭氧操作培養箱中培養，長出的菌落經過三次移種，即可用於評估試驗。測試菌的稀釋液皆為 0.85% 無菌生理食鹽水。菌種保存管、各種培養基及稀釋液均購自啟新生物科技有限公司。

CMP™ Amies/Charcoal Transwab (Amies 檢體輸送管裝置)

此裝置含有 1 支具有 Amies w/charcoal 輸送培養基的檢體輸送管及 1 支棉棒(圖 1)。由啟新生物科技有限公司生產。

試驗方法

根據 CLSI M40-A^[2]的方法，測試菌種需為新鮮的生長菌，因此將嗜氧菌培養 16 至 24 小時，而厭氧菌培養 48 至 72 小時。培養後再以 0.85% 無菌生理食鹽水 (pH 7.0 ± 0.2) 調整菌液濃度至 1.5x10⁸ CFU/ml (相當於 McFarland No. 0.5)，再以相同稀釋液將其十倍稀釋至 1.5x10⁷ CFU/ml。測試時，取 100 μL 稀釋菌液 (約含 10⁶ CFU 的菌量)，接種到 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 輸送培養裝置之棉棒上，並將其插入輸送管中的培養基中。上述操作過程必須在 20 分鐘內完成。

Amies w/charcoal 輸送培養基的保存溫度分為 4°C 及室溫 (22.5 ± 2.5°C)，而保存時間的長短因菌而異，*N. gonorrhoeae* 為 0、

8 與 24 小時三組，而 *S. pyogenes* 以及兩種厭氧菌皆為 0、24 與 48 小時三組，共測試三個不同批號。

當測試菌接種後存放至預先設定的每個時間點，分別取出含各試驗菌棉棒置入 1 mL 的 0.85 % 無菌生理食鹽水中，劇烈震盪約 15 秒以釋出菌體，然後以 9 mL 的同樣稀釋液進行 5 次十倍的序列稀釋，再將不同稀釋度菌液分別取 100 μ L 接種到適當的平板培養基上，二重複。測試 *N. gonorrhoeae* 的儲存效能時，因低溫會影響 *N. gonorrhoeae* 的存活，因此使用的稀釋液和 chocolate agar 培養基均需預先置於 $36\pm 1^\circ\text{C}$ 的培養箱中回溫 1 小時，再進行試驗，以免 *N. gonorrhoeae* 死亡或菌數降低。以無菌玻棒塗抹後，將嗜氧菌接種平板置於 $36\pm 1^\circ\text{C}$ 的 5 % CO_2 培養箱培養 16 至 24 小時，而將厭氧菌接種平板置於 $36\pm 1^\circ\text{C}$ 的厭氧操作培養箱(含 80% N_2 、10%

CO_2 及 10% H_2 的混合氣)培養 48~72 小時後，然後紀錄每個培養皿的菌落數，以 30~300 CFU 為計數依據，平均後依不同稀釋度換算其原始樣品所含菌數，最後將各稀釋液所得到的生菌數，取對數值進行比較。

結 果

N. gonorrhoeae 與 *S. pyogenes* 在 4°C 及室溫的保存情形

本研究的兩種嗜氧試驗菌 *N. gonorrhoeae* 與 *S. pyogenes*，在 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 輸送培養基中，於 4°C 下的保存環境，以 0 小時所測得菌量為基準，和其它兩個時間點做比較。*N. gonorrhoeae* 在 8 小時的菌量對數值下降 1.68，在 24 小時的菌量對數值下降 1.81 (圖 2 左)；而 *S. pyogenes* 在 24 小時的菌量對數值下降 0.33，在 48 小時的菌量對數值下降 0.25 (圖 3 左)。另外，於室溫的保存環境，以 0 小時所測得菌量為基準，和其它兩個時間點做比較，*N. gonorrhoeae* 在 8 小時的菌量對數值下降 0.30，在 24 小時的菌量對數值下降 1.26 (圖 2 右)；而 *S. pyogenes* 在 24 小時的菌量對數值下降 0.46，在 48 小時的菌量對數值下降 0.42 (圖 3 右)。

B. fragilis 與 *P. acnes* 在 4°C 及室溫的保存情形

本研究所取用的兩種厭氧試驗菌 *B. fragilis* 與 *P. acnes*，接種於棉棒後插入 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中，於 4°C 的保存環境，以 0 小時所測得菌量為基準，和其他兩個時間點做比較。*B. fragilis* 在 24 小時的菌量對數值下降 0.07，在 48 小時的菌量對數值下降 0.03 (圖 4 左)；而 *P. acnes* 在 24 小時的菌量對數值下降 0.11，在 48 小時的菌量對數值下降 0.22 (圖 5 左)。另外，於室溫的保存環境，以 0 小時時所測得菌量為基準，和其它兩個時間點做比較。*B. fragilis* 在 24 小時



圖 1. CMP™ Amies/Charcoal Transwab 輸送培養裝置

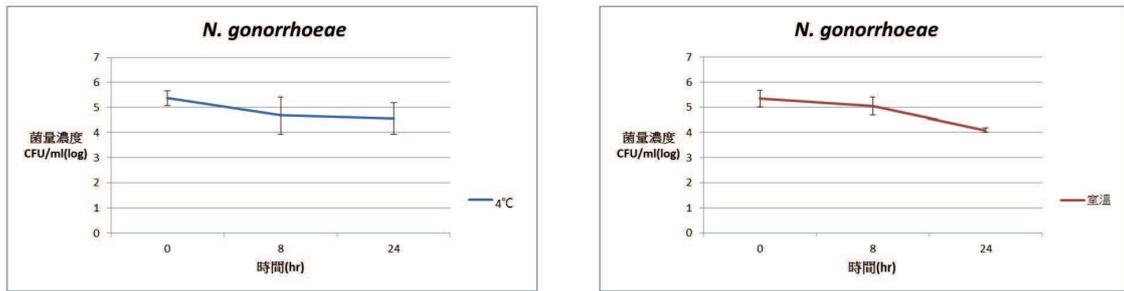


圖 2. *N. gonorrhoeae* 保存於 4°C (左) 及室溫 (右) 時在不同時間點存活菌量之變化。經 24 小時保存後菌量濃度仍介於 CLSI M40-A 之允受範圍內。圖中 error bar 代表一倍標準差 (standard deviation, SD)，數據表示方式為菌落計數換算濃度 ± 標準差。共操作三個批號的輸送培養基，每個批號二重複。左圖 n=6。在 0 小時為 $2.9 \pm 1.7 \times 10^5$ CFU/mL，8 小時為 $1.2 \pm 1.1 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $8.3 \pm 8.8 \times 10^4$ CFU/mL；而右圖 n=6。在 0 小時為 $2.2 \pm 1.7 \times 10^5$ CFU/ml，8 小時為 $1.2 \pm 1.6 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $1.3 \pm 0.3 \times 10^4$ CFU/ml。

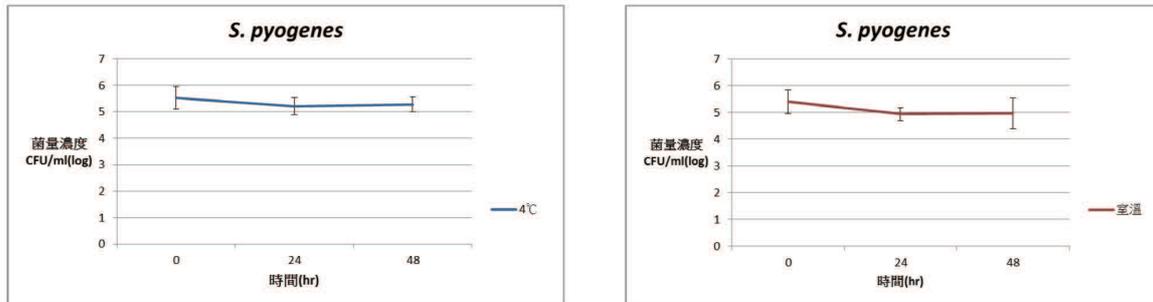


圖 3. *S. pyogenes* 保存於 4°C (左) 及室溫 (右) 時在不同時間點存活菌量之變化。經 48 小時保存後菌量濃度仍落於 CLSI M40-A 之允受範圍內。圖中 error bar 代表一倍標準差 (standard deviation, SD)，數據表示方式為菌落計數換算濃度 ± 標準差。共操作三個批號的輸送培養基，每個批號二重複。左圖 n=6。在 0 小時為 $3.4 \pm 3.6 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $1.6 \pm 1.1 \times 10^5$ CFU/ml，48 小時為 $1.9 \pm 1.1 \times 10^5$ CFU/ml；而右圖 n=6。在 0 小時為 $2.5 \pm 2.9 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $8.6 \pm 4.3 \times 10^5$ CFU/ml，48 小時為 $9.4 \pm 7.4 \times 10^5$ CFU/ml。

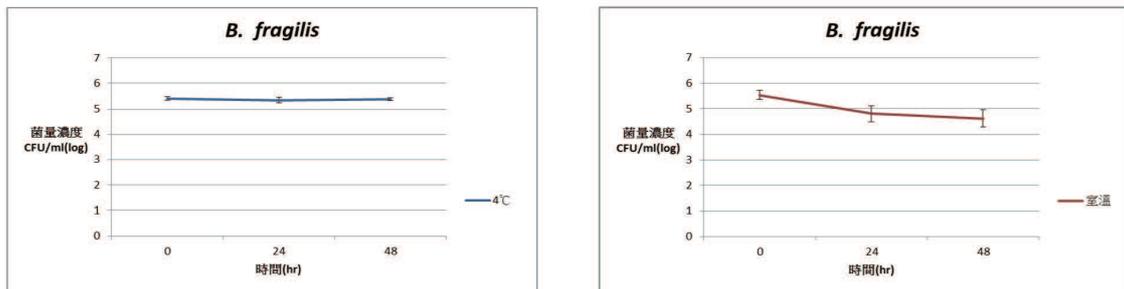


圖 4. *B. fragilis* 保存於 4°C (左) 及室溫 (右) 時在不同時間點存活菌量之變化。經 48 小時保存後菌量濃度仍落於 CLSI M40-A 之允受範圍內。圖中 error bar 代表一倍標準差 (standard deviation, SD)，數據表示方式為菌落計數換算濃度 ± 標準差。共操作三個批號的輸送培養基，每個批號二重複。左圖 n=6。在 0 小時為 $2.6 \pm 0.4 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $2.2 \pm 0.2 \times 10^5$ CFU/ml，48 小時為 $2.4 \pm 0.4 \times 10^5$ CFU/ml；而右圖 n=6。在 0 小時為 $3.5 \pm 1.5 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $6.5 \pm 4.0 \times 10^4$ CFU/ml，48 小時為 $4.2 \pm 4.3 \times 10^4$ CFU/ml。

的菌量對數值下降 0.73，在 48 小時的菌量對數值下降 0.92（圖 4 右）。*P. acnes* 在 24 小

時的菌量對數值下降 0.23，在 48 小時的菌量對數值下降 0.59（圖 5 右）。

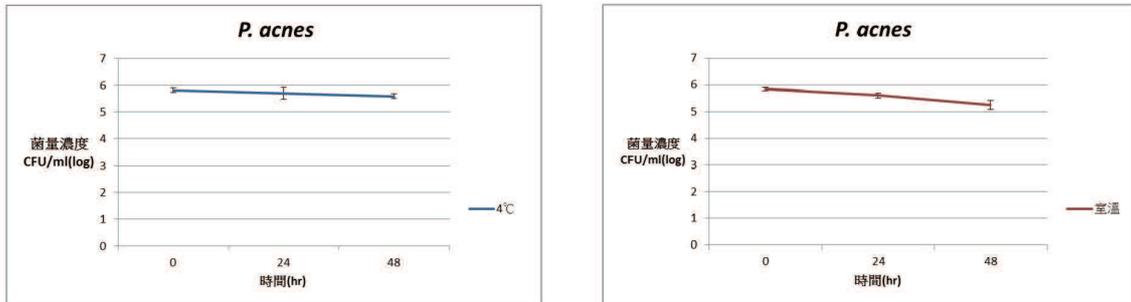


圖 5. *P. acnes* 保存於 4°C(左)及室溫(右)時在不同時間點存活菌量之變化。經 48 小時保存後菌量濃度仍落於 CLSI M40-A 之允受範圍內。圖中 error bar 代表一倍標準差(standard deviation, SD)，數據表示方式為菌落計數換算濃度±標準差。共操作三個批號的輸送培養基，每個批號二重複。左圖 n=6。在 0 小時為 $6.3 \pm 1.3 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $4.9 \pm 2.1 \times 10^5$ CFU/ml，48 小時為 $3.8 \pm 0.8 \times 10^5$ CFU/ml；而右圖 n=6。在 0 小時為 $7.0 \pm 0.9 \times 10^5$ CFU/ml，24 小時為 $4.1 \pm 1.0 \times 10^5$ CFU/ml，48 小時為 $1.8 \pm 0.7 \times 10^5$ CFU/ml。

討 論

最理想的狀況下，檢體必須在收集後兩小時內送至檢驗室，若輸送時間過長，許多微生物會受到許多環境條件影響，如氧氣會影響到厭氧菌，溫度的改變會影響到病原性奈瑟氏菌^[9,10]，而 pH 的改變會影響到志賀氏菌^[14]，因此，使用輸送培養基維持檢體中病原菌的活性非常重要。又因為有些臨床檢體需要定量以便了解何者為優勢菌，因此，輸送培養基配方的設計必須不能讓檢體中棲息菌(常在菌)生長或過度生長，所以，輸送培養基必須兼顧檢體中的微生物不增殖或數目減少，並使各種微生物維持一樣的比例。通常輸送培養基不含有營養成分，但含有緩衝半固體瓊脂 (buffer semi-solid agar)，除了使拭子維持濕度外，並可維持適當的 pH 值，使病原菌在攜送過程中不發生脫水、氧化和自我分解 (autolysis) 而死亡的現象。亦含有 sodium thioglycollate (硫代乙酸鹽)，可做為還原劑，而增加微生物的活性^[1,11]。

過去市售產品的輸送培養基主要分為兩大類，一種針對嗜氧菌^[12]，而另一種針對厭氧菌^[13]檢體的輸送，若同時需要進行兩類菌的檢測，則需使用二支輸送培養基，本研究使用的 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 含有活性碳輸送培養基，因活性碳可去除有毒代謝物而宣稱可將嗜氧菌及厭氧菌檢體的輸送合而為一，帶來採檢的方便性，不必為了選擇何種輸送培養基而困擾。不過，含活性碳的輸送培養基外觀呈黑色，當操作檢體時會直接影響革蘭氏染色的判讀，可能讓檢驗人員不能適應。^[15]本研究係根據 CLSI 提供的指引，選用適當評估菌種及不同溫度 (4°C VS. 室溫) 以及可能滯留的輸送時間進行評估。

依據 CLSI 之標準：在 4 °C 環境之下，菌量對數值下降(log reduction) 不可大於 3，上升值不能大於 1；在室溫環境之下，則菌量對數值下降不可大於 3。本試驗結果顯示，CMP™ Amies/Charcoal Transwab 在 48 小時內，無論是室溫或者 4°C 環境下皆能夠有效

保存 *S. pyogenes*、*B. fragilis* 與 *P. acnes* (圖 2~圖 5)；至於 *N. gonorrhoea* 同樣在 24 小時內，於 4°C 或室溫環境下皆能夠有效保存，可以符合規範之要求，但保存於 4°C 環境的回收效能較室溫者佳。

測試 *N. gonorrhoeae* 在輸送管的儲存效能時，因低溫會影響 *N. gonorrhoeae* 的存活，因此使用的稀釋液和 chocolate agar 培養基均需預先置於 36±1°C 的培養箱中回溫 1 小時再進行試驗，以免 *N. gonorrhoeae* 死亡或菌數降低。*N. gonorrhoeae* 在 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中，於 4°C 下的保存環境，其 8 小時的菌量對數下降值為 1.68，24 小時的菌量對數下降值為 1.81；再就室溫的保存環境而論，8 小時的菌量對數下降值為 0.30，24 小時的菌量對數下降值為 1.26，在 8 小時到 24 小時內符合 CLSI M40-A 規範的要求：保存時間內菌量對數值的上升不可大於 1，下降不可大於 3^[2]。*N. gonorrhoeae* 為對低溫敏感的菌種，通常在 4°C 的環境下難以存活^[9,10]，但在此試驗中發現，即使在 4°C 下保存 24 小時，*N. gonorrhoeae* 於 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中，仍可維持其菌量。

S. pyogenes 在 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中，於 4°C 下的保存環境，24 小時的菌量對數下降值為 0.33，48 小時的菌量對數下降值為 0.25；於室溫下的保存環境，24 小時的菌量對數下降值為 0.46，48 小時的菌量對數下降值為 0.42，在 24 小時到 48 小時內符合 CLSI M40-A 規範之要求。且 *S. pyogenes* 在 4°C 或室溫下，其菌量變化差異不大，皆在 24 小時菌量下降較多，而 24~48 小時間即不再有顯著的變化。

B. fragilis 在 4°C 下的保存環境，於 24 小時的菌量對數下降值為 0.07，在 48 小時的菌量對數下降值為 0.03；再就室溫的保存環境而論，在 24 小時的菌量對數下降值為 0.73，48 小時的菌量對數下降值為 0.92，其在 24

小時到 48 小時內符合 CLSI M40-A 規範之要求。以試驗結果評估，*B. fragilis* 在 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中較長時間輸送，相較於室溫，似乎更適合於 4°C 環境中保存。

P. acnes 在 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 中，於 4°C 下的保存環境，24 小時的菌量對數下降值為 0.11，48 小時的菌量對數下降值為 0.22；再就室溫的保存環境，24 小時的菌量對數下降值為 0.23，48 小時的菌量對數下降值為 0.59，在 24 小時到 48 小時內符合 CLSI M40-A 規範之要求。

基於上述，吾等認為 CMP™ Amies/Charcoal Transwab 不論在 4°C 或室溫下皆可以在規範時間內有效輸送此次實驗選用的四種測試菌 *N. gonorrhoeae*、*S. pyogenes*、*B. fragilis* 及 *P. acnes*。雖然不同菌種的保存情形呈現些微差異，但根據本次試驗呈現的數據顯示，CMP™ Amies/Charcoal Transwab 輸送培養管可良好保存臨床上的挑剔性嗜氧及/或厭氧菌，因此可做為臨床檢驗室選用輸送培養裝置的參考。

參考文獻

1. 蔡文城，蔡岳廷。實用臨床微生物診斷學，第十版。2011：65-6，97，336-9，601-5，1171。九州圖書文物有限公司，台北。
2. Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Quality control of microbiological transport system. Approved standard M40-A. 2003. CLSI, Wayne, PA, USA.
3. Roelofsen E, van Leeuwen M, Meijer-Severs GJ *et al.* Evaluation of the effects of storage in two different swab fabrics and under three different transport conditions on recovery of aerobic and anaerobic bacteria. J Clin Microbiol 1999; 37:3041-3.
4. Perry JL. Assessment of swab transport systems for aerobic and anaerobic organism recovery. J Clin Microbiol 1997; 35:1269-71.
5. Alfa M, Lee A. A transport method for swab specimens submitted for aerobic and anaerobic bacteriology J Clin Pathol 1982; 35:555-60.
6. Collee JG, Watt B, Brown R, Johnstone S. The recovery

- of anaerobic bacteria from swabs. *J Hyg (Lond)* 1974; 72:339-47.
7. Barry AL, Fay GD, Sauer RL. Efficiency of a transport medium for the recovery of aerobic and anaerobic bacteria from applicator swabs. *Appl Microbiol* 1972; 24:31-3.
 8. Thompson DS, French SA. Comparison of commercial Amies transport systems with in-house Amies medium for recovery of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3020-1.
 9. Sng EH, Rajan VS, Yeo KL, Goh AJ. The recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from clinical specimens: effects of different temperatures, transport times, and media. *Sex Transm Dis* 1982; 9:74-8.
 10. Olsen CC1, Schwebke JR, Benjamin WH Jr, Beverly A, Waites KB. Comparison of direct inoculation and Copan transport systems for isolation of *Neisseria gonorrhoeae* from endocervical specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3583-5.
 11. Difco. *Difco Manual: Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology*. 10th ed. 1984:1008-15. Difco Co, Detroit, Michigan, USA.
 12. 邱彥昕, 謝賢修, 羅晟展, 黃玉君, 楊士杰, 何耿德, 蔡岳廷。評估 CMP™ 嗜氧檢體運送管對臨床細菌之保存效果。檢驗及品保雜誌 2012; 1:1-6。
 13. 邱彥昕, 謝賢修, 羅晟展, 黃玉君, 楊士杰, 何耿德, 蔡岳廷。評估厭氧檢體輸送管 CMP™ Anaerobic Transwab 對厭氧菌之保存效能。檢驗及品保雜誌 2012; 1:136-43。
 14. Yang G, Wang L, Wang Y, Li P, Zhu J, Qiu S, Hao R, Wu Z, Li W, Song H. *hfq* regulates acid tolerance and virulence by responding to acid stress in *Shigella flexneri*. *Res Microbiol* 2015; 166:476-85.
 15. Fontana C, Favaro M, Limongi D, Pivonkova J, Favalli C. Comparison of the eSwab collection and transportation system to an Amies gel transystem for Gram stain of clinical specimens. *BMC Res Notes* 2009; 2:244.

Evaluation the Efficacy of CMP™ Amies/Charcoal Transwab for Use in the Preservation of Clinical Bacteria

Ruei ying Chen¹, Yueh-Ting Tsai², Cheng-Fong Hong³, When-cherng Tsai^{2,4*}

¹Department of Medical Technology, Tzu Chi University, Hualien ; ²Super Laboratory Co. Ltd., New Taipei City;

³Creative Microbiologicals, Ltd., New Taipei city ;

⁴Institute of Microbiology and Immunology, National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan

Abstract

The efficiency of bacteria preservation of CMP™ Amies/Charcoal Transwab (Creative Biotechnology Co., Ltd. Taiwan) was evaluated according to the CLSI approved standard M40-A “Quality control of microbiological transport systems” (2003). The experiments used fastidious clinic bacteria, *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615), *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), and *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), to evaluate the efficacy of CMP™ Amies/Charcoal Transwab. After inoculated 10⁶ CFU organisms on the transwab, the transwabs were preserved in room temperature or at 4°C individually to simulate how the clinical specimen is transported. The survived *N. gonorrhoeae* were recovered by saline after 0, 8 and 24 hours storage, but *S. pyogenes*, *Bacteroides fragilis*, and *Propionibacterium acnes* were recovered after 0, 8, 24 and 48 hours storage. The recovered bacterial suspensions were performed in a ten-fold serial dilution method, and then plating with spreading method and counting the number of the survival bacteria after incubating at suitable conditions. According to CLSI M40-A statement: “In room temperature, there should be no more than a 3 log decline in CFU between the zero-time CFU

count and the CFU of the swabs that were stored at different time interval; At 4°C, there should be no more than a 1 log increase in CFU and no more than a 3 log to decline in CFU between the zero-time CFU and the CFU of the swabs that were stored at different time interval.” The results of this study showed that CMP™ Amies/Charcoal Transwab can well preserved the *S. pyogenes*, *Bacteroides fragilis*, and *Propionibacterium acnes* up to 48 hours whether stored in room temperature or at 4°C. The CMP™ Amies/Charcoal Transwab can also well-preserved *N. gonorrhoeae* up to 24 hours both in room temperature and at 4°C. Based on the above findings, we concluded that CMP™ Amies/Charcoal Transwab fulfills the statement of the CLSI M40-A guideline. The experiment result could be act as reference data when Clinical Microbiology Laboratory choosing their transport device.

Keyword: Transport medium, CMP™ Amies/Charcoal Transwab, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacteroides fragilis*, *Propionibacterium acnes*, efficiency of bacterial preservation