

## 孕婦產前檢查乙型鏈球菌 CMP™ GBS carrot broth 與 CMP™ GBS TransCultSwab 的效能評估

蔡偉勳<sup>1</sup>，何承蓉<sup>2</sup>，洪晟峰<sup>3</sup>，蔡文城<sup>1,4</sup>

台美檢驗科技有限公司，新北市<sup>1</sup>；國立中興大學植物病理系，台中市<sup>2</sup>；啟新生物科技有限公司，新北市<sup>3</sup>；  
國立陽明大學微生物及免疫學研究所，台北市<sup>4</sup>，台灣

### 摘要

CMP™ GBS carrot broth 與 CMP™ GBS TransCultSwab 為啟新生物科技有限公司（新北市，台灣）針對孕婦產前檢查乙型鏈球菌（B群鏈球菌，Group B Streptococcus, *Streptococcus agalactiae*, GBS）的創新設計，兩者均宣稱可用於 GBS 的增菌與鑑別（陽性呈現胡蘿蔔色），而後者更具有採檢與輸送的功能。為了確認 CMP™ GBS carrot broth 與 CMP™ GBS TransCultSwab 的效能，吾等首先進行 GBS 偵測極限測定，結果發現兩者對 GBS 的偵測極限皆為 10 CFU。另以 54 株生殖道常在菌及臨床致病菌進行特異性分析，結果顯示除了β溶血型 GBS 外的其它菌種皆不顯色，因此，兩者的特異性均為 100%。進一步將這些測試菌與β溶血型 GBS 混合後分別接種 CMP™ GBS carrot broth 與 GBS TransCultSwab，結果發現高倍數菌量(100x)的 *Enterococcus* spp.（腸球菌）與γ溶血型（不溶血型）GBS 會分別干擾β溶血型 GBS 在二種增菌培養基的顯色，其它菌種無論高倍或相等菌量混合皆無影響。另外，與 Lim broth 增菌效能相較結果指出三種培養基並無顯著差異。基於上述的發現，吾等認為 CMP™ GBS carrot broth 與 CMP™ GBS TransCultSwab 皆適用於孕婦產前 GBS 檢查，更因為 GBS 增菌會促進顯色而可做為 GBS 鑑別的依據。兩種增菌培養基與β/γ GBS Detection Agar 與 GBS Carrot Agar bi-plate 的配合應用將可簡化 GBS 檢測的操作流程、縮短報告時間以及降低操作人力，係檢測 GBS 的有效工具。

**關鍵字：**孕婦產前檢查乙型鏈球菌、乙型鏈球菌增菌培養基、CMP™ GBS carrot broth、CMP™ GBS TransCultSwab

### 前言

由於乙型鏈球菌（B群鏈球菌，Group B Streptococcus, *Streptococcus agalactiae*, GBS）可引起產婦敗血症以及新生兒的肺炎（pneumonia）、腦膜炎（meningitis）和敗血症

（sepsis），美國疾病管制局（Center for Disease Control and Prevention, CDC）建議懷孕 35~37 週之婦女需進行陰道及/或肛門拭子的 GBS 檢測，以期在分娩前施與抗生素。此措施成功地降低新生兒 GBS 感染率達 75% 以上，也使致死率由 1970 年的 50% 大幅下降至 1990 年的 5%<sup>[1]</sup>。在台灣，衛生福利部國民健康署也為了提升產前 GBS 檢查的普及率，於 2014 年 4 月起將 GBS 檢測費納入健保給付<sup>[2]</sup>。

根據國民健康署委託台灣醫事檢驗學會

\*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

規劃的 GBS 檢測流程<sup>[3]</sup>，建議以無菌棉棒拭子自陰道及/或直腸採檢後插入嗜氧檢體輸送管(aerobic Transwab)，送到檢驗室後，先劃種 Blood agar plate (BAP)，再將棉棒拭子插入 Lim broth (純增菌用) 或 carrot broth (增菌與鑑別用)，在 35°C 一般培養箱培養 18~24 小時後觀察 BAP 是否具有疑似 GBS 的  $\beta$  溶血型菌落。若接種 carrot broth，則檢視其是否顯色，若呈胡蘿蔔色即可報告為 GBS 陽性；若接種 Lim broth，則將 BAP 上的疑似菌落進行 CAMP、hippurate (馬尿酸) 水解或鏈球菌分群試驗。如無發現疑似菌落，則移種 Lim broth 或 carrot broth 增菌液至另一 BAP 或 GBS Detect™，所有培養基均繼續培養 18~24 小時，再發出最終報告。

目前市面上增菌培養基包括 Lim broth 及 Hardy Strep B carrot broth，其中 Lim broth 增菌方法需經過多次培養確認，將會延遲報告 3~4 天，而 Hardy Strep B carrot broth 的接種需加一條促進產色紙條<sup>[4]</sup>，造成檢驗人員的不便及人力浪費。由於利用嗜氧檢體輸送管輸送產前檢查檢體可能讓產道或腸道棲息菌有增生的機會進而干擾 GBS 的檢出，CMP™ Group B Strep TranSwab<sup>[5]</sup> 係根據採檢後輸送期間能及時抑制棲息菌的創新設計，但保存稍長將會呈混濁而不易觀察顯色。為了改進上述三種產品的缺點，啟新生物科技有限公司 (新北市，台灣) 成功地研發 GBS 增菌/鑑別用 CMP™ GBS carrot broth 以及採檢/輸送/增菌/鑑別的新一代 CMP™ GBS TransCultSwab (專利申請中；智財局申請號 105110332)，兩種產品皆以提升 GBS 分離率、縮短報告時間及減少檢驗人員操作人力為訴求。本研究將評估 CMP™ GBS carrot broth 與 CMP™ GBS TransCultSwab 的效能，並與市面上增菌培養基進行效能比較以確認其在臨床實際應用的有效性。

## 材料與方法

### 檢體採檢輸送裝置與增菌培養基的組成與接種方式

CMP™ GBS carrot broth (圖 1A 及 B 左)：為一種液體增菌/鑑別培養基，內含 GBS 生長所需之營養物及抑制非鏈球菌的抗微生物劑，並含有少量瓊脂與特殊養份以促進兼性厭氧性鏈球菌 GBS 的生長及顯色。培種時將嗜氧增菌輸送管內的棉拭溫和地與 broth 攪拌後折斷，讓棉拭劑浸潤 broth 中。

CMP™ GBS TransCultSwab (圖 1A 及 B 中)：為一種結合採檢/輸送、增菌及鑑別四種功能的裝置，包裝中含有一支塑膠管，內含與 CMP™ GBS carrot broth 相同的成份，但瓊脂含量較高使其成為半固體以利輸送、GBS 增菌與及時抑制其它產道常在菌的生長；裝置中另附一支無菌棉拭作為採集產道/直腸檢體之用。檢驗室收到此裝置後，登記相關資料前將連接棉拭的“頭”旋轉 180°，並稍做混合。

Lim broth (圖 1A 及 B 右)：為一種單純 GBS 增菌用的選擇性培養基，成份包含蛋白胨(peptones)、鹽類、酵母萃取物(yeast extract)及葡萄糖等細菌滋長的基礎成分，並含其它抑菌劑如：colistin 及 nalidixic acid 以抑制其它非鏈球菌菌種。皆種方式如同 CMP™ GBS carrot broth。

### 試驗菌株

本研究選用的 GBS 標準菌株為  $\beta$  溶血型 *Streptococcus agalactiae* (ATCC 12386) 與  $\gamma$  溶血型 *Streptococcus agalactiae* (ATCC 13813)；其它生殖道常見菌<sup>[6,7]</sup> 與致病菌的參考及臨床分離株共 54 株 (表 1)。試驗菌株皆接種 GermBank 保存管，置於 -70°C 冰箱儲存。試驗前，將各測試菌從 GermBank 保存管中取出，移種 BAP，培養於 35°C 的 5% CO<sub>2</sub> 培養箱，18~24 小時後挑取單一菌落移種 BAP

兩次備用。

#### 偵測極限(Detection Limit)

為了檢測GBS TransCultSwab與CMP™ GBS carrot broth的最低偵測濃度，將*S. agalactiae* (ATCC 12386)以0.1% peptone water配製至相當於McFarland No. 0.5 (約 $1.5 \times 10^8$  CFU/ml)的懸浮液，然後進行序列十倍稀釋。分別從各稀釋液( $10^7 \sim 10^1$  CFU/mL)中取100  $\mu$ L加至棉拭後插入GBS TransCultSwab或CMP™ GBS carrot broth中，再置於35°C的5% CO<sub>2</sub>培養箱，培養 $18 \pm 1$ 、 $20 \pm 1$ 、 $22 \pm 1$ 、 $24 \pm 1$ 、 $36 \pm 1$ 與 $48 \pm 1$ hr後觀察顯色情形。根據CLSI規範<sup>[8]</sup>，以達到95%或以上陽性結果(呈胡蘿蔔色)的最低菌量(濃度)作為偵測極限。

#### 特異性 (Specificity, 專一性)

為了解GBS TransCultSwab與CMP™ GBS carrot broth是否僅會因 $\beta$ 溶血型GBS的生長而產生胡蘿蔔色，吾等將各試驗菌株以0.1% peptone water配成相當於McFarland No. 0.5 (約 $1.5 \times 10^8$  CFU/ml)的懸浮液，稀釋10倍後分別取100  $\mu$ L的各個稀釋液沾附於棉拭上，使其約含 $10^6$  CFU之菌量，然後分別插入GBS TransCultSwab或CMP™ GBS carrot broth後，置於35°C的5% CO<sub>2</sub>培養箱， $24 \pm 2$ 小時後觀察顯色情形。

#### 增菌效能

將*S. agalactiae* (ATCC 12386)以0.1% peptone water調製相當於McFarland No. 0.5 (約 $1.5 \times 10^8$  CFU/ml)的懸浮液，以序列稀釋方式稀釋1,000倍後取100  $\mu$ L滴加至無菌棉拭上(約 $10^4$  CFU)，並分別插入GBS TransCultSwab、CMP™ GBS carrot broth與Lim broth，在35°C的5% CO<sub>2</sub>培養 $24 \pm 2$ 小時，然後取出增菌後之棉拭置於含5 mL無

菌蒸餾水的試管中，震盪15秒後，將細菌懸浮液進行系列稀釋，然後從各稀釋濃度取100  $\mu$ L均勻塗佈於BAP上，操作雙重覆。於35°C的5% CO<sub>2</sub>培養， $24 \pm 2$ 小時後選取30~300 CFU生長菌落的平板進行計數，平均後，依稀釋倍數換算每支棉拭所含的菌量。

#### 與試驗菌株混合對GBS在增菌培養基的干擾性(Interference)

為了瞭解GBS TransCultSwab與CMP™ GBS carrot broth是否會受到產道中棲息菌或其它致病菌存在的干擾而影響結果的判讀，本研究取約 $10^2$  CFU的*S. agalactiae* (ATCC 12386)分別與各試驗菌株相等濃度(約 $10^2$  CFU)或10,000倍濃度(約 $10^6$  CFU)混合(表2)，再分別接種於棉拭上，然後插入GBS TransCultSwab與CMP™ GBS carrot broth中，置於35°C的5% CO<sub>2</sub>培養箱，培養 $24 \pm 2$ 小時後觀察顯色情形。為了更進一步確認*E. faecalis*對GBS在增菌培養基顯色的干擾，取 $10^0 \sim 10^6$  CFU *E. faecalis* (ATCC 29212)的各個稀釋濃度分別與 $10^2$ 與 $10^3$  CFU的*S. agalactiae* (ATCC 12386)混合，插入GBS TransCultSwab或CMP™ GBS carrot broth中，置於35°C的5% CO<sub>2</sub>培養箱，培養 $24 \pm 2$ 小時後觀察顯色情形，將可了解*E. faecalis*的菌量是否與GBS在增菌培養基的顯色干擾具有線性關係。

#### 各增菌培養基的成本與效能比較

以操作100個產前GBS檢查檢體為例，假設GBS陽性率為20%，將CMP™ GBS carrot broth, CMP™ GBS TransCultSwab, Hardy Strep B carrot broth與Lim broth配合推廣的他廠培養基進行成本、操作方式、效能等比較。

## 結 果

### 偵測極限(Detection Limit)

根據 CLSI 規範，將顯色陽性率達 95% 以上的最低菌量定義為該產品的偵測極限。測試時，將約  $1\sim 10^6$  CFU 的 *S. agalactiae* (ATCC 12386) 分別接種 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth，置入培養箱，培養  $24 \pm 2$  小時後，結果顯示 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 的最低偵測極限皆為 10 CFU (表 2)。

### 特異性 (Specificity, 專一性)

將各試驗菌株接種於 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth，培養後，結果顯示只有接種 *S. agalactiae* (ATCC 12386) 與臨床來源之 *S. agalactiae* 產生胡蘿蔔色，其它測試菌種皆無顏色變化 (表 1)。其中 *S. agalactiae* (ATCC 13813) 為  $\gamma$  溶血型，在測試時並不顯色。結果指出僅  $\beta$  溶血型 GBS 能在 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 顯色，因此兩種產品對  $\beta$  溶血型 GBS 的特異性皆為 100%，但對於  $\gamma$  溶血型的 GBS 則無顯色。

### 增菌效能

取含約  $10^4$  CFU 的 *S. agalactiae* (ATCC 12386) 的棉拭分別插入 GBS TransCultSwab、CMP™ GBS carrot broth 與 Lim broth 後，置於  $35^\circ\text{C}$  的 5%  $\text{CO}_2$  培養箱，結果指出  $24 \pm 2$  小時的培養時間可達到顯色的菌量 (圖 2)，若以增菌效能而言，GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 與 Lim broth 者並無顯著差異。

### 與試驗菌株混合對 GBS 在增菌培養基的干擾性(Interference)

以 54 株常見菌種為試驗菌，混合 GBS 以模擬其等在臨床檢體中的干擾性。混菌接

種 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth，培養後顯示所有測試菌與 GBS 相等菌量共同存在時，對 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 的陽性顯色並無影響 (表 1)。但當  $\gamma$  溶血型 *S. agalactiae* (ATCC 13813)、*E. faecalis* (ATCC 29212) 或 *E. faecium* 較高濃度與  $\beta$  溶血型 GBS [*S. agalactiae* (ATCC 12386) 或臨床株] (1,000:1) 混合時，將干擾 GBS 在 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 的顯色 (表 1)。其干擾性呈線性關係 (表 3)。另外，亦發現當 *E. faecalis* 高於 GBS 十倍菌量時即會出現偽陰性的結果。

### 各增菌培養基的成本與效能比較

以操作 100 個產前 GBS 檢查檢體為例，假設 GBS 陽性率為 20%，四種 GBS 檢測產品及其所配合的移種培養基進行效能評比，結果顯示 CMP™ GBS TransCultSwab 在成本、操作時間、報告時效以及方便性與供應性等項目皆屬最優，CMP™ GBS carrot broth 次之，其後為 Hardy Strep B carrot broth 與 Lim broth (表 4)。

## 討 論

GBS 的孕婦帶原者約為 15~30%<sup>[9-11]</sup>，醫師對帶原者常用的預防用藥為 penicillin<sup>[1]</sup>，其施用時機為分娩前 4 小時，但若孕婦對其過敏，則檢驗室需提供其它適當藥物的藥敏型式。又如果發生早產，羊水提早破裂，胎兒很可能因此受到感染。因此在孕婦產前 GBS 檢查的正確性與快速性對預防性抗生素治療將具有重要性。根據台大醫學院雲林分院的統計，經執行 GBS 採檢與送檢流程的標準化，GBS 檢出率的品質指標由 14.8% 提升至 20.1%<sup>[12]</sup>，因此各醫院在 GBS 檢驗流程標準化前，GBS 檢測方法仍有改善的空間。

為改善 GBS 的檢測方法，啟新公司曾研發第一代 CMP™ Group B Strep TranSwab

表 1. 以試驗菌株混合 GBS 評估 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 的顯色情形

標準菌株	純菌 <sup>a</sup>	等菌量 <sup>b</sup>	高菌量 <sup>b</sup>	臨床菌株	純菌	等菌量	高菌量
陽性對照( <i>S.agalactiae</i> ATCC12386)	+	3/3 <sup>c</sup>	3/3	<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	3/3	3/3
陰性對照(0.1% peptone water)	-	0/0	0/0	<i>Aeromonas sobria</i>	-	3/3	3/3
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778)	-	3/3	3/3	<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	3/3	3/3
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (ATCC 11863)	-	3/3	3/3	<i>Bacillus cereus</i>	-	3/3	3/3
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	3/3	3/3	<i>Branhamella catarrhalis</i>	-	3/3	3/3
<i>Candida glabrata</i> (ATCC15126)	-	3/3	3/3	<i>Burkholderia cepacia</i>	-	3/3	3/3
<i>Enterobacter cloacae</i> (ATCC 12868)	-	3/3	3/3	<i>Citrobacter koseri</i>	-	3/3	3/3
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	-	3/3	0/0	<i>Corynebacterium</i> spp.	-	3/3	3/3
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	-	3/3	3/3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	3/3	3/3
<i>Klebsiella pneumonia</i> (ATCC 13883)	-	3/3	3/3	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	3/3	3/3
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19111)	-	3/3	3/3	<i>Enterobacter gergoviae</i>	-	3/3	3/3
<i>Moraxella morgani</i> (ATCC 25240)	-	3/3	3/3	<b><i>Enterococcus faecalis</i>*</b>	-	<b>3/3</b>	<b>0/0</b>
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 2543)	-	3/3	3/3	<b><i>Enterococcus faecium</i>*</b>	-	<b>3/3</b>	<b>0/0</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	-	3/3	3/3	<i>Escherichia coli</i>	-	3/3	3/3
<i>Shigella sonnei</i> (ATCC 25731)	-	3/3	3/3	<i>Flavobacterium</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	-	3/3	3/3	<i>meningosepticum</i>	-	3/3	3/3
<b><i>Streptococcus agalactiae</i> (ATCC 13813)<sup>d*</sup></b>	-	<b>2/3</b>	<b>0/0</b>	Group G Streptococci	-	3/3	3/3
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	-	3/3	3/3	<i>Haemophilus influenzae</i>	-	3/3	3/3
				<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	3/3	3/3
				<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	3/3	3/3
				<i>Legionella pneumophila</i>	-	3/3	3/3
				<i>Morganella morgani</i>	-	3/3	3/3
				<i>Nocardia empyema</i>	-	3/3	3/3
				<i>Oligella urethralis</i>	-	3/3	3/3
				<i>Pasteurella multocida</i>	-	3/3	3/3
				<i>Proteus mirabilis</i>	-	3/3	3/3
				<i>Proteus vulgaris</i>	-	3/3	3/3
				<i>Providencia rettgeri</i>	-	3/3	3/3
				<i>Providencia stuartii</i>	-	3/3	3/3
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	3/3	3/3
				<i>Salminella enterica</i>	-	3/3	3/3
				<i>Serratia marcescens</i>	-	3/3	3/3
				<i>Serratia rubidaea</i>	-	3/3	3/3
				<i>Shigella sonnei</i>	-	3/3	3/3
				<i>Staphylococcus aureus</i>	-	3/3	3/3
				<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	3/3	3/3
				<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	3/3	3/3
				<i>Streptococcus agalactiae</i>	+	3/3	3/3
				<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	3/3	3/3

<sup>a</sup> 僅接種試驗菌株，菌量約為 10<sup>6</sup> CFU，每項測試皆為三重覆，結果均相同。+：CMP™ GBS carrot broth 與 GBS TransCultSwab 皆產生胡蘿蔔色變化；-：皆無顏色變化。

<sup>b</sup> 等菌量為混合 10<sup>2</sup> CFU 的試驗菌株與 10<sup>2</sup> CFU *S. agalactiae* (ATCC 12386) 高菌量為混合 GBS 10<sup>6</sup> CFU 試驗菌株與 10<sup>2</sup> CFU *S. agalactiae* (ATCC 12386)。

<sup>c</sup> 表中分數結果表示在 GBS TransCultSwab 及 CMP™ GBS carrot broth 三重覆測試的顯色數，表現方式為 TransCultSwab / broth。

<sup>d</sup> 屬於γ溶血型 GBS。

\* 粗體字為干擾 GBS 在 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 中顯色之菌株。

裝置，它能在採檢後與輸送中即時進行選擇性增菌及鑑別，其 GBS 分離率為 18.6%<sup>[5]</sup>，此與公告方法所使用之 Lim broth 或 Hardy Strep B carrot broth 的分離率相近<sup>[13]</sup>。改良後 CMP™ GBS TransCultSwab 具有採檢/輸送/增菌/鑑別的四合一效能，檢驗人員的使用將不需再移種增菌培養基，也不需額外插入加強顯色紙條，堪稱方便與親民(user friendly)。啟新公司也為因應不同檢驗室之需求，研發出僅針對增菌與鑑別功能之 CMP™ GBS carrot broth，在收到時檢體即可直接移種，並保持了及時鑑別 GBS 的優點。

雖然 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 偵測β溶血型 GBS 的特異性高達 100% (表 2)，但值得注意的是 GBS 尚有 3~5 % 屬於非溶血型<sup>[1]</sup>。本研究也發現 GBS TransCultSwab 和 CMP™ GBS carrot broth 均與 Hardy Strep B carrot broth 同樣地對於γ溶血型 (不溶血型) GBS 無法產生陽性顯色<sup>[14]</sup>；不同研究者<sup>[15-18]</sup>發現 GBS 的色素產生與其本身的溶血特性具有相關性，啟新與 Hardy Diagnostics 已研發加強溶血可用於偵測γ溶血型 GBS 的區分性培養基，分別為β/γ GBS Detection Agar 與 GBS Detect™ (平板培養

基)，均能促使γ溶血型 GBS 轉變為β溶血型而可降低偽陰性的產生<sup>[19,20]</sup>，但因 GBS Detect™ 的偽陽性高達 58% (62/107)<sup>[17]</sup>，亦導致檢驗人力的浪費及偽陽性的產生，因此若將 GBS TransCultSwab 或 CMP™ GBS carrot broth 搭配β/γ GBS Detection Agar，則無此缺失。

本研究從干擾性試驗結果發現，*Enterococcus spp.* 與 GBS (γ溶血型) 對於 GBS (β溶血型) 在 GBS TransCultSwab 和 CMP™ GBS carrot broth 中的顯色有所抑制 (表 2)，且菌量高於 GBS (β溶血型) 十倍將使其無法顯色 (表 3)。吾等推測 *Enterococcus spp.* 及 GBS (γ溶血型) 干擾 GBS (β溶血型) 顯色的原因可能係其等的生長條件相同，在增菌培養基的生長速度相近 (或更快)，在相等菌量存在時僅稍影響顯色，但在較高濃度時則會掩蓋或抑制 GBS 的生長與顯色能力。目前尚無法從配方的改變加以避免，但可利用四區劃線法移種β/γ GBS Detection Agar/ GBS Carrot Agar，然後根據菌落特徵進行必要的 CAMP、馬尿酸 (hippurate) 水解或鏈球菌血清分群試驗加以鑑定。

本研究亦發現 GBS TransCultSwab 與

表 2. GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 對 GBS 的偵測極限

	菌量 (CFU)	時 間					
		18 ± 1 hr	20 ± 1 hr	22 ± 1 hr	24 ± 1 hr	36 ± 1 hr	48 ± 1 hr
CMP™ GBS TransCultSwab	1000 <sup>a</sup>	100% <sup>b</sup>	100%	100%	100%	100%	100%
	100	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	10	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	1	10%	30%	60%	60%	70%	70%
CMP™ GBS carrot broth	1000	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	100	0%	90%	100%	100%	100%	100%
	10	0%	15%	30%	100%	100%	100%
	1	0%	0%	0%	30%	75%	75%

<sup>a</sup> 棉拭上接種菌量。

<sup>b</sup> 20 重複中的顯色百分比。

表 3. 在 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 中 *E. faecalis* 對 GBS 顯色的干擾線性

	<i>S. agalactiae</i> 菌量(CFU) <sup>a</sup>	<i>E. faecalis</i> 菌量 (CFU) <sup>a</sup>				
		10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>
<b>CMP™</b> <b>GBS TransCultSwab</b>	10 <sup>3</sup>	3/3 <sup>b</sup>	3/3	1/3	0/3	0/3
<b>CMP™</b> <b>GBS carrot broth</b>	10 <sup>2</sup>	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3
<b>CMP™</b> <b>GBS carrot broth</b>	10 <sup>3</sup>	3/3	3/3	0/3	0/3	0/3
<b>CMP™</b> <b>GBS carrot broth</b>	10 <sup>2</sup>	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3

<sup>a</sup> 測試用標準菌株分別 *S. agalactiae* (ATCC 12386) 與 *E. faecalis* (ATCC 29212)。

<sup>b</sup> 表中分子為在 GBS TransCultSwab 及 CMP™ GBS carrot broth 三重覆測試的顯色數。

表 4. 比較使用 CMP™ GBS TransCultSwab、CMP™ GBS carrot broth 與 Lim broth 及 Hardy Strep B carrot broth 操作 100 份孕婦產前檢查 B 群鏈球菌之效能

(假設孕婦產前檢查 B 群鏈球菌的陽性率為 20%)

比較項目	<b>CMP™</b> <b>GBS TransCultSwab</b>	<b>CMP™</b> <b>GBS carrot broth</b>	<b>Hardy Strep</b> <b>B carrot broth</b>	<b>Lim broth</b>
耗材成本 <sup>a</sup>	約最高者的 60%	約最高者的 65%	最高 (以 100% 做為代表)	約最高者的 55~65%
輸送裝置	GBS TransCultSwab	嗜氧輸送管	嗜氧輸送管	嗜氧輸送管
輸送後/培養前的操作步驟	不需	需接種 GBS carrot broth, 不需另加紙條	需接種 Strep B carrot broth 及需加入顯色紙條	移種 Lim broth
人力操作時間	0.3 小時	0.5 小時	1~2 小時 (額外加入 1 條產色紙條)	5 小時 <sup>b</sup>
發出陽性報告所需日程	0~1 天	0~1 天	0~1 天	3~5 天
外觀及判讀的容易性	透明	透明	透明	透明, 無法顯色
最終報告時效	最快速 (輸送途中即可進行增菌及顯色檢測)	快速 (broth 的顯色可立即報告 GBS)	快速 (broth 的顯色可立即報告 GBS)	慢 (無法顯色, 所有檢體需要移種以及鑑定)
供應性	即時 (不因輸送問題而缺貨)	即時 (不因輸送問題而缺貨)	不一定即時 (因進口可能缺貨)	即時 (不因輸送問題而缺貨)
配合的移種培養基類別	GBS carrot agar/ $\beta/\gamma$ Detection Agar	GBS carrot agar/ $\beta/\gamma$ Detection Agar	GBS Dectect™	BAP 或 CNA
可偵測 $\gamma$ -溶血型 GBS	可	可	可	不可
可重複確認 (double-check) GBS	可 (GBS Carrot Agar 的顯色可做重複確認)	可 (GBS Carrot Agar 的顯色可做重複確認)	不可	不可
GBS 分離率	24-27%	24-27%	台灣評估為 20~25% 美國評估為 17~20%	美國評估為 17~20%
操作方便性	特優	優	中	劣
整體效能排名	第一名	第二名	第三名	第四名

<sup>a</sup> 耗材包括運送管及後續移種或鑑定所使用之 Lim broth, BAP 及鑑定用試劑。

<sup>b</sup> 包括 2 次之移種及操作 CAMP 試驗。

CMP™ GBS carrot broth 在增菌效能上與 Lim broth 並無顯著差異 (圖 2)。指出 GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 在檢測流程中能取代 Lim broth 作為增菌培養基使用。進一步比較使用不同增菌培養基檢測 GBS 的效能 (表 4)，雖然發現在檢測 GBS 的效能上並無明顯差異，但 CMP™ GBS carrot broth 移種後不需加入任何紙條，較為方便。至於 GBS TransCultSwab 更是簡易，採檢後，送至檢驗室，可立即搭配 GBS Carrot Agar 與  $\beta/\gamma$  GBS Detection Agar 的移種，然後放入培養箱培養，隔日將可立即判讀兩種平板上的生長菌落，若菌落顯色 (陽性)，可立即操作藥敏試驗，如此，在不影響 GBS 的分離率外，將可縮短至少一天的報告時間，更可由運送管及菌落的顯色重複確認 (double-check) GBS 的存在。GBS TransCultSwab 與 CMP™ GBS carrot broth 兩種增菌裝置在幾

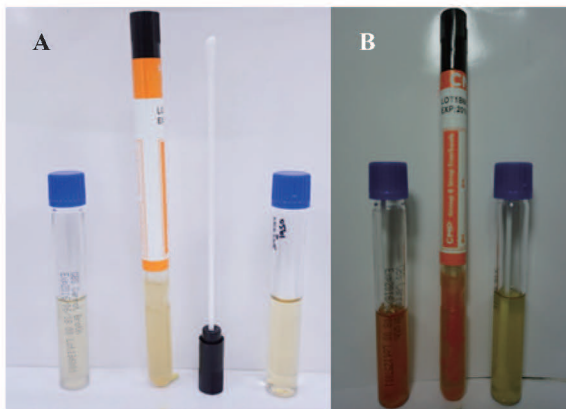


圖 1. CMP™ GBS carrot broth、CMP™ GBS TransCultSwab 與 Lim broth 未種菌的外觀及接種 GBS 後的顯色反應。圖 A 為未種菌的培養基，由左至右分別為 CMP™ GBS carrot broth (左)、CMP™ GBS TransCultSwab 與採檢棉拭 (中) 及 Lim broth (右)；圖 B 為分別接種  $10^4$  CFU GBS 於 CMP™ GBS carrot broth (左)、CMP™ GBS TransCultSwab (中) 及 Lim broth (右)，於  $35^\circ\text{C}$ ， $\text{CO}_2$  培養箱培養 24 小時後的顯色/外觀。

家醫學檢驗室的初步臨床應用，均顯示高於 23% 以上的分離率，隨後將再繼續評估，以提供更多的評估資訊。總之，採用 GBS TransCultSwab 或 CMP™ GBS carrot broth 配合 GBS Carrot Agar 與  $\beta/\gamma$  GBS Detection Agar bi-plate 的移種方式，將可使 GBS 的檢驗達到簡易操作、快速偵測、提高分離率、縮短報告時間與降低操作人力的目標。

### 參考文獻

1. Jennifer V, Lesley M, Stephanie S. Prevention of perinatal group B streptococcal disease revised guidelines from CDC, 2010. MMWR Recomm Rep 2010; 59:1-23
2. 衛生福利部國民健康署。孕婦乙型鏈球菌篩檢補助服務方案。2012。衛生福利部國民健康署，台灣。
3. 台灣醫事檢驗學會。乙型鏈球菌 (Group B *Streptococcus*) 檢驗標準作業手冊。2014。台灣醫事檢驗學會，台灣。
4. Hardy diagnostics [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/Content/hugo/StrepBCarrotBrothKit.html](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/StrepBCarrotBrothKit.html)

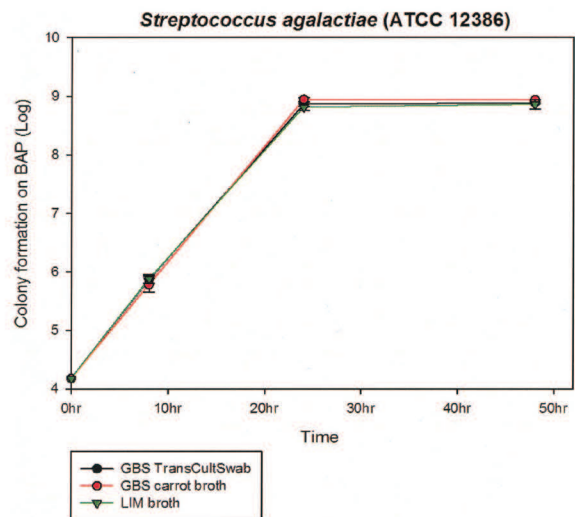


圖 2. GBS TransCultSwab、CMP™ GBS carrot broth 與 LIM broth 對 GBS 的增菌效能。三者的增菌效能上並無顯著差異 ( $p < 0.05$ )。分別接種  $10^4$  CFU 的 GBS 菌量，發現在 24 hr 皆即可達到增菌的上限。



5. 邱彥昕, 黃玉君, 洪晟峯, 陳詩婷, 沈慧珊, 蔡岳廷, 蔡文城。快速篩檢 B 群鏈球菌之簡易創新設計-CMP™ GBS TranSwab。檢驗及品保雜誌 2013 ; 2:49-59
6. Tille PM, Bailey & Scott's. Diagnostic Microbiology, 13<sup>th</sup> ed. 2014:931-44. Elsevier Mosby, St. Louis, Missouri, USA.
7. Mahon CR, Leham DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology, 5<sup>th</sup> ed., 2015:334-6, Saunders Elsevier, Maryland Heights, USA.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation; approved guideline. EP17-A2 2015. CLSI, Wayne, PA, USA
9. 莊立暉, 邱彥昕, 楊榮勝, 陳詩婷, 沈慧珊, 蔡岳廷, 蔡文城。Group B *Streptococcus* 在臨床各類檢體的分離率及藥敏型式。檢驗及品保雜誌 2013; 2:60-9。
10. 蘇勳璧, 謝保群, 呂衍孟, 吳昆哲, 許權霖。台灣地區周產期 B 群鏈球菌感染評估。疫情報導。2005; 24:336-48.
11. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM *et al.* Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. N Engl J Med 2000 ; 342:15-20.
12. 黃于宸, 賴雅惠, 黃翊娟, 葉美杏, 陳啟芳, 林建佐, 周儷仔, 謝月貞。提升 B 群鏈球菌檢出率之經驗分享。2015。台灣醫事檢驗學會 104 年度會員 (代表) 大會暨學術發表會, 台北。
13. Block T, Munson E, Culver A *et al.* Comparison of carrot broth- and selective todd-hewitt broth-enhanced PCR protocols for real-time detection of *Streptococcus agalactiae* in prenatal vaginal/anorectal specimens. J Clin Microbiol 2008; 46:3615-20.
14. Rosa M, Perez M, Carazo C *et al.* New Granada medium for detection and identification of group B streptococci. J Clin Microbiol 1992; 30:1019-21.
15. Tapsall JW. Relationship between pigment production and haemolysin formation by Lancefield group B streptococci. J Med Microbiol 1987; 24:83-7.
16. Fraile M, Sampedro A, Granger J *et al.* Pigment production by *Streptococcus agalactiae* in quasi-defined media. Appl Environ Microbiol 2001; 67:473-4.
17. Merriit K, Jacobs N. Characterization and incidence of pigment production by human clinical group B Streptococci. J Clin Microbiol 1978; 3:105-7.
18. Noble MA, Bent JM, West AB. Detection and identification of group B streptococci by use of pigment production. J Clin Pathol 1983; 36:350-2.
19. 蔡文城, 葉卜碩, 蔡偉勳, 洪晟峯, 蔡岳廷, 呂旭峯。CMP™  $\beta/\gamma$  GBS Detection Agar : 一種偵測 B 群鏈球菌 $\gamma$ 溶血型菌株的創新培養基。檢驗及品保雜誌 2015; 4:16-21。
20. Clasen R, Cuna V, Dolan S *et al.* Evaluation of GBS Detect™: a new medium for the detection of non-hemolytic group B strep in subcultures of Carrot Broth™ and LIM Broth. results of a multi-center trial. [http://www.hardydiagnostics.com/pdf/sc\\_pos\\_ters/gbs\\_detect\\_poster\\_c135.pdf](http://www.hardydiagnostics.com/pdf/sc_pos_ters/gbs_detect_poster_c135.pdf)

## The Performance of GBS Carrot Broth and GBS TransCultSwab in the Detection of Group B Streptococci in Near-term Pregnant Women

Wei-Shiun Tsai<sup>1</sup>, Cheng-Jung Ho<sup>2</sup>, Cheng-Fong Hong<sup>3</sup>, Wen-cherng Tsai<sup>1,4\*</sup>

*Super Laboratory Co. Ltd., New Taipei City<sup>1</sup> ; Department of Plant Pathology, National Chung-Hsing University, Taichung<sup>2</sup> ; Creative Microbiologicals, Ltd., New Taipei City<sup>3</sup> ;*

*Institute of microbiology and Immunology, National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan<sup>4</sup>*

### Abstract

The GBS carrot broth and GBS TransCultSwab are innovative media used for the enrichment and screening for Group B streptococci (GBS) in near-term pregnant women (at 35~37 weeks of gestation). Creative Microbiologicals, Taiwan claims these media are excellent for enrichment and identification, furthermore, the latter were even with specimen's collection and transport. To verify the performance of both media, we first evaluated their detection limits for GBS and found both were 10 CFU. We then employed 54 species/strains of microorganisms that were frequently encountered clinically in the birth canal or in other sites to evaluate the specificity of both media. The results showed that the presence of the GBS  $\beta$ -hemolytic strain turns either the GBS carrot broth or the GBS TransCultSwab into an orange color, which does not occur with the other test species/strains. Therefore, the GBS specificity of both media was 100%. Interference studies were evaluated by mixing GBS ( $\beta$ -hemolytic) with one of the 54 test species/strains. The results indicated that

although the presence of a large amount (100x) of *Enterococcus* spp. and GBS ( $\gamma$ -hemolytic) interferes with the carrot color production of both media, similar amount of the remaining test species/strains do not. In addition, we compared the enrichment capability of GBS carrot broth and GBS TransCultSwab with that of Lim broth and found there were no significant differences among them. In summary, if either GBS carrot broth or GBS TransCultSwab is combining with  $\beta/\gamma$  GBS detection agar/GBS carrot agar subculture during the culture process in a prenatal GBS examination, this could simplify the laboratory procedure, accelerate GBS identification, shorten the final report, and reduce time spent on the procedure. Therefore, both media are useful as an inoculation culture medium for the detection of GBS in the laboratory.

**Keywords:** GBS carrot broth, GBS TransCultSwab, Group B streptococci (GBS), Performance,  $\beta/\gamma$  GBS detection agar/GBS carrot agar.