

## CMP™ GBS 檢體運送管配合 GBS carrot agar 的移種可提升產前檢查 B 群鏈球菌的分離率及效率

蔡文城<sup>1-3\*</sup>, 蔡偉勳<sup>2</sup>, 呂旭峯<sup>4,5</sup>, 陳詩涵<sup>1</sup>, 吳佩真<sup>1</sup>, 韓之詮<sup>2</sup>, 王彥博<sup>6</sup>, 李秀霞<sup>1</sup>

台美醫事檢驗所, 新北市<sup>1</sup>; 台美檢驗科技有限公司研發部, 新北市<sup>2</sup>; 國立陽明大學微生物及免疫學研究所, 台北市<sup>3</sup>;  
振興醫療財團法人振興醫院臨床病理科, 台北市<sup>4</sup>; 輔仁大學, 新北市<sup>5</sup>; 啟新生物科技有限公司, 新北市<sup>6</sup>, 台灣

### 摘要

一般檢驗室根據行政院衛生福利部國民健康署公告之「B 群鏈球菌 (Group B *Streptococcus*, GBS, *Streptococcus agalactiae*, 無乳鏈球菌, 乙型鏈球菌) 標準作業流程」檢測產前檢查檢體的 GBS 分離率約 17~20%左右。為了提升GBS 分離率及檢驗效率，本實驗室在同時期比較使用 CMP™ GBS 檢體運送管(CMP™ GBS TranSwab) (546 個檢體)，與嗜氧檢體運送管採檢後接種 Lim broth (67 個檢體) 的方式評估產前 GBS 的分離率。檢驗室於收到 CMP™ GBS 檢體運送管時，在放入 35°C 培養箱前以及培養 18~24 小時後皆進行移種 GBS carrot agar，而嗜氧檢體運送管於接種 Lim broth 前及培養 18~24 小時後，則皆移種 BAP (blood agar plate)，然後將二種檢驗方式的培養結果進行分析比較。結果指出：使用 CMP™ GBS 檢體運送管培養前的移種，GBS 的分離率為 23.8%，培養隔日的移種可增加分離率 0.7%，總分離率達 24.5%，而使用嗜氧檢體運送管接種 Lim broth 前移種，GBS 分離率為 7.5%，而增菌後的移種可增加分離率 9.0%，總分離率為 16.5%。總之，使用 CMP™ GBS 檢體運送管的檢測流程比使用嗜氧檢體運送管再接種 Lim broth 的 GBS 分離率高 8.0%(24.5% vs. 16.5%)；且前者可從 GBS carrot agar 生長菌落顏色立即判斷 GBS 的存在，不必再操作鑑定試驗而可降低鑑定菌種的人力及物力，提早發出檢驗報告，因此，亦可提升 GBS 的分離效率，值得產科醫師及臨床檢驗人員的應用。

關鍵字：B 群鏈球菌、GBS 分離率、CMP™ GBS 檢體運送管、GBS carrot agar

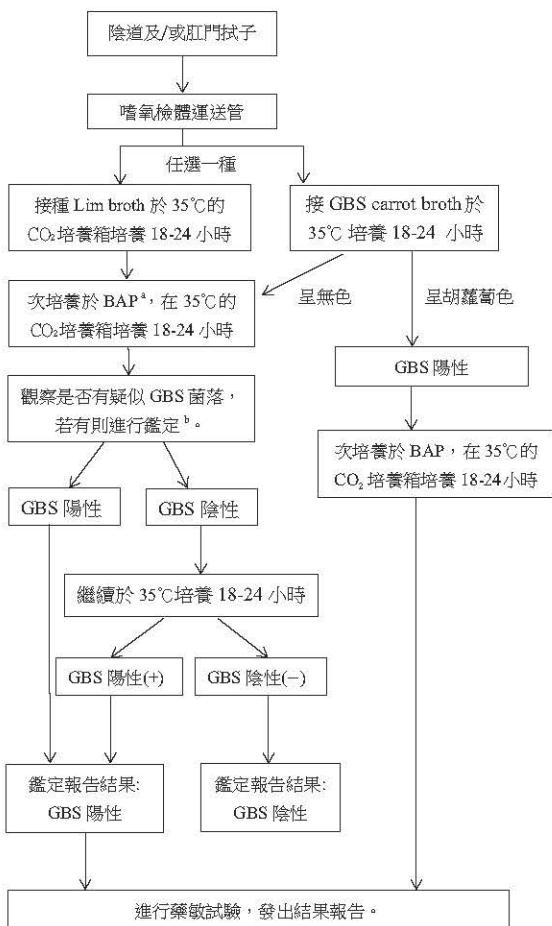
### 前言

許多國家將 B 群鏈球菌 (Group B *Streptococcus*, GBS, *Streptococcus agalactiae*, 無乳鏈球菌, 乙型鏈球菌) 列為懷孕 35~37 星期產前檢查的必要項目<sup>[1,2]</sup>，不僅美國及日本疾病管制局有此建議，台灣衛福部國民健康署更於 2014 年將其納入健保給付<sup>[3]</sup>。

行政院衛生福利部國民健康署公告的 GBS 標準作業流程中，建議檢驗室收到產前檢查的嗜氧運送管後接種增菌培養基 carrot broth 或 Lim broth，隔夜培養後，若 carrot broth 呈現胡蘿蔔色，則可鑑別為 GBS；若無顯色，則移種 BAP。至於 Lim broth 則於隔夜培養後移種 BAP<sup>[4]</sup> (圖 1)。2010 年蘇等<sup>[5]</sup>利用 Lim broth 增菌的檢驗流程評估台灣地區產前檢查的檢體，指出全台 6 間大型醫院的 GBS 陽性率約 20% (介於 11~29%)<sup>[5]</sup>；同樣地，台美醫事檢驗所分析 7 間診所 GBS 的分離率亦有相同的發現(10.9%至 22%)<sup>[6]</sup>。

目前臨床檢驗室針對產前 GBS 檢查使用

\*聯絡地址：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



<sup>a</sup> 可利用 GBS  $\beta/\gamma$  detection agar<sup>[10]</sup> 或 GBS Detect™ agar<sup>[17]</sup> 代替。

<sup>b</sup> GBS 特性包括(1)為革蘭氏陽性；(2)BAP 之菌落為 $\beta$ 溶血型或無溶血型；(3)觸媒(catalase)陰性；(4)CAMP 試驗陽性(+)、Hippurate 水解陽性(+)或 B 群血清分型試驗陽性<sup>[13-15]</sup>。

圖 1. 衛福部國民健康署公告的 B 群鏈球菌檢驗鑑定流程圖<sup>[4]</sup>。本研究進行檢驗流程比較時使用嗜氣檢體運送管及 Lim broth 增菌培養基（左方流程）。

的移植培養基種類包括 BAP<sup>[4,7,8]</sup>、CNA、PEA<sup>[8]</sup>、GBS carrot agar (CMP, 啟新, 台灣)<sup>[9]</sup>、 $\beta/\gamma$  GBS detection agar (CMP, 啟新, 台灣)<sup>[10]</sup>、GBS Detect™ agar (Hardy Diagnostics, Santa Maria, CA)<sup>[11]</sup>、CHROMagar StrepB (CHROMagar, 法國)<sup>[12]</sup>。其中 BAP、CNA 與 PEA 的分離效果比 CHROMagar StrepB 差<sup>[12]</sup>，但 CHROMagar StrepB 的特異

性僅為 70%<sup>[9]</sup>，因此其上的懷疑菌落需要再操作鑑定試驗如 CAMP、hippurate 水解及/或鏈球菌血清分型試驗<sup>[13-16]</sup>。GBS Detect™ agar 雖然可檢測 GBS 的 $\gamma$ 溶血型菌株，但偽陽性高達 57.9% (62/107)<sup>[17]</sup>。至於 GBS carrot agar 對 GBS 分離的特異性為 100%，敏感性為 99.1% (一般接種方式培養在無氧環境) 或 98.3% (插種後培養在 35°C 的 CO<sub>2</sub>)<sup>[9]</sup>。

為了瞭解產前檢查檢體的運送方式是否影響 GBS 的分離率以及 GBS carrot agar 的應用是否會提升 GBS 檢出的效率，本研究比較同一時段檢驗室的兩種檢驗流程：CMP™ GBS 檢體運送管/移植 carrot agar 與嗜氣檢體運送管/接種 Lim broth 後移植 BAP 的方式，並回顧過去五年來，在不同階段，檢驗室對產前 GBS 檢查檢體的操作流程與分離率的關係進行回顧，最後建議提升 GBS 分離率及檢驗效率的最佳方式，以供臨床檢驗室的參考。

## 材料及方法

### 檢體的來源

本研究室分別評估從大台北地區各大醫院及診所送至台美醫事檢驗所（新北市，台灣）有關產前檢查的 GBS 分離率。

### 不同時期的檢驗流程與 GBS 分離率關係的回顧

將不同時期 GBS 的檢驗方式分為四個階段，第一階段從 2010 年 1 月 1 日起至 2011 年 12 月 30 日，此階段共有 7,262 個檢體，檢驗方式為利用嗜氣檢體運送管接種 Lim broth，增菌培養後接種 BAP<sup>[4]</sup>。第二階段從 2012 年 1 月 1 日起至同年 12 月 30 日，此階段共有 4,491 個檢體，檢驗方式為利用嗜氣檢體運送管接種 Lim broth，增菌培養後第一天及第二天分別接種 BAP。第三階段則從 2013 年 1 月 1 日至 2014 年 10 月 21 日止，此階段共有 2,015 個檢體，檢驗方式為利用 GBS 檢體運

送管<sup>[18]</sup>接種 Lim broth，增菌培養後接種 BAP。第四階段為本研究，從 2014 年 10 月 22 日起至 2015 年 5 月 31 日止，此階段共有 613 個檢體，檢驗方式分為二種，一為利用 GBS 檢體運送管接種 Lim broth 之前以及增菌培養後分別接種 BAP，共有 67 個檢體，另一為利用 CMPTM GBS 檢體運送管在 35°C 環境培養前及培養後分別以四區接種法接種 GBS carrot agar（圖 2），共有 546 個檢體。移植 GBS carrot agar 平板時，分別在平板第一區插種 5~7 次。Lim broth、GBS 檢體運送管、BAP 及 GBS carrot agar 皆置於 35°C 的 CO<sub>2</sub> 培養箱培養。上述各種平板培養基及運送管皆購自啟新生物科技有限公司（新北市，台灣）。



圖 2. 以 CMPTM GBS 檢體運送管採集產前檢查檢體，送至檢驗室後，在下班前接種 GBS carrot agar，將運送管及平板隔日培養後判讀。陽性結果顯示在 GBS carrot agar 上生長的胡蘿蔔色菌落（圖中的平板），其即為 B 群鏈球菌(GBS)，而 CMPTM GBS 檢體運送管（圖中的運送管），除了具有增菌效能外，陽性培養結果亦常顯現胡蘿蔔色。

#### GBS 的鑑定<sup>[13-15]</sup>

BAP 培養 18~24 小時後，觀察生長菌的菌落特徵、溶血狀況及染色抹片顯微鏡底下特徵，若懷疑菌落出現β溶血型或不溶血型

(γ溶血型) 菌株皆進一步加以鑑別，若屬於革蘭氏陽性球菌，且觸酶陰性，則進行 CAMP 試驗、hippurate 水解試驗或血清分群試驗 (latex serologic test, Oxoid, UK)；至於 GBS carrot agar 則是觀察是否有胡蘿蔔色的生長菌落，若有，則直接報告為 GBS，不需進行鑑定。

## 結 果

在第一階段（2010 年~2011 年），台美醫事檢驗所將嗜氣檢體運送管先移種增菌培養基 Lim broth，增菌 18~24 小時後再接種 BAP，GBS 分離率為 13.9% (679+328/7,262)。在第二階段（2012 年），除了利用同樣的操作流程，並要求醫師嚴格遵守採檢技術以及在必要時再將 Lim broth 延長一天的培養時間，然後進行第二次的 BAP 移種，結果發現 GBS 分離率可提升至 18.5% (831/4,491)。在第三階段（2013~2014 年 10 月），則利用 CMPTM GBS 檢體運送管，再移種 Lim broth，增菌後移種至 BAP，GBS 分離率再提高至 20.5% (268+144/2,015)（表 1）。

本評估研究為第四階段（2014 年 10 月 22 日~2015 年 5 月 31 日），比較使用不同運送裝置及不同的移種培養基對 GBS 分離率及檢驗效率的影響，結果指出使用嗜氣檢體運送管在檢驗室收檢當天移種 Lim broth 前及增菌 18~24 小時後分別移種 BAP，GBS 分離率分別為 7.5% 及 9%，總和為 16.5% (11/67)；而利用 CMPTM GBS 檢體運送管送檢當天及增菌培養 18~24 小時後，分別移種 GBS carrot agar，結果發現當天移種 GBS 分離率為 23.8% (130/546)，而培養後移種再增加 0.7% (4/546)，總和為 24.5%。此指出後者的檢驗流程優於前者，分離率相差 8.0% (24.5 vs. 16.5%)。進一步分析兩者在收檢當天分別移種 BAP 及 carrot agar，發現嗜氣檢體運送管在沒有增菌的情況下直接移種 BAP，GBS 分離率為

7.5%，而 GBS 檢體運送管直接移植的分離率達 23.8%，兩者相差 3.2 倍（表 2）。

## 討 論

過去的經驗發現不同的實驗室操作方式將影響孕婦產前檢查 GBS 的分離率<sup>[6]</sup>，以棉花拭子採檢產前檢查檢體送至檢驗室再接種 BAP 的 GBS 分離率約 5%；以嗜氧檢體運送管送至檢驗室再接種 BAP 的分離率約 9.7%~11.8%<sup>[19]</sup>，本研究發現在沒有增菌的情況下移植 BAP，GBS 的分離率才 7.5%（表 2）。

回顧台美醫事檢驗所過去五年來不同階段的檢驗流程，發現 GBS 的分離率可因為檢驗室的額外操作（第二階段）或改變檢體運

送管（第三階段）而提升（表 1）。

利用 CMP™ GBS 檢體運送管進行產前檢查檢體的採檢、運送及增菌，然後在放入培養箱增菌的前移植 GBS carrot agar，結果發現 GBS 的分離率比衛福部公告的方法高 8% (24.5% vs. 16.5%)（表 2）。推測其可能因為使用嗜氧檢體運送管在送至檢驗室前，檢體中其它棲息菌會利用宿主的養分而過度生長，進而壓抑 GBS 的生長，即使馬上送至檢驗室，仍會降低 GBS 分離率。反之，使用 CMP™ GBS 檢體運送管因可即時抑制或延緩其它棲息菌的生長而可提升 GBS 分離率。

Clasen R et al.<sup>[17]</sup> 聯合評估美國 6 家醫院檢驗室指出使用 Lim broth 或 Strep B Carrot broth™ (Hardy) 增菌後移植 BAP 的 GBS 分離

表 1. 比較台美醫事檢驗所從 2010 年起各年度與本評估研究的 GBS 分離率

階段（時期）	陽性數/檢體數	分離率	檢驗室操作流程
第一階段 (2010 年 1 月 1 日~2011 年 12 月 30 日)	1,007/7,262	13.9%	嗜氧檢體運送管接種 Lim broth 培養一天後再移植 BAP
第二階段 (2012 年 1 月 1 日~同年 12 月 30 日)	831/4,491	18.5%	要求醫師嚴格執行正確的採檢技術；並在 Lim broth 培養增菌 18~24 及 36~48 小時移植 BAP
第三階段 (2013 年 1 月 1 日~2014 年 10 月 21 日)	412/2,015	20.5%	使用 CMP™ GBS 檢體運送管，然後接種 Lim broth 18~24 小時後再移植 BAP
第四階段（本研究） (2014 年 10 月 22 日~2015 年 5 月 31 日)	134/546	24.5%	CMP™ GBS 檢體運送管收檢後移植 GBS carrot agar

表 2. 本研究同時比較使用 GBS 偵測檢體的不同運送裝置、增菌培養基及移植時間對 GBS 分離率的影響

運送裝置	衛福部公告方法		本研究	
	嗜氧檢體運送管 (Aerobic TranSwab)	CMP™ GBS 檢體運送管 (GBS TranSwab)		
移植增菌培養基	Lim broth		無	
檢體數	67		546	
移植 BAP 或 GBS carrot agar 的時間	收檢當天	增菌 18~24 小時後	收檢當天	增菌 18~24 小時後
分離率	5(7.5%)	6(9.0%)	130(23.8%)	4(0.7%)
總分離率	11(16.5%)		134(24.5%)	

率為 13.4% (83/619)，若再額外移植 GBS Detect™ (Hardy) 則 GBS 分離率提升至 17.2% (107/619)<sup>[17]</sup>。本研究與 Clasen R et al. 均此指出檢驗室有必要使用增菌培養基如 Lim broth, carrot broth 或 CMP™ GBS 檢體運送管才能提升 GBS 分離率。

CMP™ GBS 檢體運送管當天移植 GBS carrot agar (CMP™, 啟新, 台灣) 的 GBS 分離率為 23.8%，再次移植僅可再增加 0.7%，因此使用此兩種檢驗裝置的檢驗室可根據醫院的狀況決定是否需要第二次移植。另外，使用嗜氧檢體運送管不能僅在收檢當天移植 BAP，必須另外移植 Lim broth 或其它增菌培養基，增菌一天後再接種 BAP，否則分離率至少相差 9% (表 2)。

CMP™ GBS 檢體運送管本質為增菌培養基，因此不需如同嗜氧檢體運送管般需要另外移植 Lim broth 或 carrot broth，此將可節省材料成本及檢驗人力。另外，使用 GBS carrot agar，若出現胡蘿蔔色菌落，即可鑑別其為 GBS，並可利用菌落在當天進行後續的藥敏試驗，因此將可提前發出報告，此將可提升 GBS 偵測的效率。

GBS 不溶血株約佔 3~5%<sup>[20,21]</sup>，本研究在評估不同的送檢培養基時，並沒有發現 GBS 的不溶血菌株。本研究利用 GBS 的不溶血參考菌株(ATCC 13813)接種 GBS carrot agar，培養後發現此不溶血株不能在 GBS carrot agar 產生胡蘿蔔色菌落，因此，若欲偵測 GBS 不溶血株需另外接種特殊針對γ溶血型偵測而設計的β/γ GBS detection agar (啟新, 台灣) 或 GBS detect™ (Hardy)，但此兩種培養基上生長的懷疑菌落，需進一步鑑定。

## 參考文獻

- Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A. Prevention of perinatal group B streptococcal disease.
- Revised guidelines from CDC. MMWR Recomm Rep 2002; 51:1-22.
- The Center for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC. MMWR Recom Rep 2010; 59:1-36.
- 衛生福利部國民健康署 孕產婦關懷網站 <http://mammy.hpa.gov.tw/kbcontent.asp?cid=502>
- 行政院衛生署國民健康局。孕婦乙型鏈球菌(Group B Streptococcus)檢驗標準作業手冊 2002:1-6。
- 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 2003; 24: 336-48。
- 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。
- Baron EJ. 2015. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 11<sup>th</sup> ed., 2015:270-315. ASM press. Washington DC, U.S.A
- 蔡文城，蔡岳廷。實用臨床微生物診斷學，第十版。2011:79-96。九州圖書文物有限公司，台北，台灣。
- 鄭仕雯，陳柔，沈慧珊，歐宇祥，蔡文城。GBS Carrot Agar 鑑別 B 群鏈球菌的效能。檢驗及品保雜誌 2014; 3:85-95。
- 蔡文城，葉卜碩，蔡偉勳，洪晟峯，王彥博，蔡岳廷，呂旭峯。CMPT™ β/γ GBS Detection agar：一種偵測 B 群鏈球菌γ溶血型菌株的創新培養基。檢驗及品保雜誌。2015; 4:16-22。
- GBS Detect - for the detection of non-hemolytic strains of Group B Streptococcus- for use with Carrot Broth. [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/content/hugo/GBSDetect.html](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/GBSDetect.html)
- CHROMagar. CHROMagar™ Strep B instructions for use. [www.chromagar.com](http://www.chromagar.com).
- 蔡文城，蔡岳廷。實用臨床微生物診斷學，第十版。2011:571-658。九州圖書文物有限公司，台北，台灣。
- Spellerberg B, Brandt C. *Streptococcus*. In Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW. (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 11<sup>th</sup> ed., 2015:383-402. ASM press. Washington DC, U.S.A
- Winn W, Jr., Allen S, Janda W et al. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6<sup>th</sup> ed. 2006:683-8. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia,

U.S.A.

16. MacFaddin JF. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3<sup>rd</sup> ed.2000: 35-56; 188-204. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, U.S.A.
17. Clasen R, Cuna V, Dolan S *et al.* Evaluation of GBS Detect<sup>TM</sup>: a new medium for the detection of non-hemolytic group B strep in subcultures of carrot broth<sup>TM</sup> and Lim broth. results of a multi-center trial. [http://www.hardydiagnostics.com/pdf/sc\\_posters/gbs\\_detect\\_poster\\_c135.pdf](http://www.hardydiagnostics.com/pdf/sc_posters/gbs_detect_poster_c135.pdf)
18. 邱彥昕，黃玉君，洪晨峰，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™ Group B Strep TranSwab。檢驗及品保雜誌。
- 2013; 2:49-59。
19. Akhlaghi F, Hamed A, Nasab MN. Comparison of group B streptococcal colonization in the pregnant diabetic and non-diabetic women. *Acta Medica Iranica*. 2009; 47:103-8.
20. 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.
21. Chen TC, Wei CC, Wang YJ *et al.* Improving GBS screening efficiency by modern tools application. Poster PD-50. 2014 IFBLS & The 31<sup>st</sup> World Congress of Biomedical Laboratory Science. Program book. 2014:79.

## Combining the CMP™ GBS TranSwab with Subculture on GBS Carrot Agar to Increase the Laboratory Efficacy and the Isolation Rate of Group B *Streptococcus* in Preterm Pregnant Women

When-cherng Tsai<sup>1-3\*</sup>, Wei-Shiun Tsai<sup>2</sup>, Hsu-Feng Lu<sup>4,5</sup>,  
Se-Han Chen<sup>1</sup>, Pei-Chen Wu<sup>1</sup>, Chi-Liing Han<sup>2</sup>, Yen-Po Wang<sup>6</sup>, Hsiu-Hsia Li<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Timing Medical Laboratory, New Taipei City; <sup>2</sup>Super Laboratory Co. Ltd., New Taipei City;

<sup>3</sup>Institute of Microbiology and Immunology, National Yang-Ming University, Taipei;

<sup>4</sup>Department of Clinical Pathology, Cheng Hsin General Hospital, Taipei;

<sup>5</sup>Fu-Jen Catholic University, New Taipei City; <sup>6</sup>Creative Microbiologicals, Ltd., New Taipei, Taiwan

### Abstract

The standard laboratory procedure of Group B *Streptococcus* (GBS) promulgated by the Bureau of Health Promotion, Ministry of Health and Welfare, Executive Yuan, Taiwan, suggests that the aerobic swab-specimens from preterm pregnant women received by a laboratory should be inoculated blood agar plate (BAP) after being inoculated into enrichment medium, Lim broth or carrot broth. Carrot broth can also be used as a differential medium for GBS identification based on the production of the carrot color. If the inoculated carrot broth did not show carrot-color change after one-day incubation, then conducted subculture from incubated enrichment medium to BAP. Generally, following the above procedure will result in an isolation rate of around 20%. In this study, to increase the isolation rate of GBS, we processed the preterm test by using a transport system, CMP™ GBS TranSwab, and subsequently inoculating one GBS carrot agar (CMP, New Taipei City, Taiwan). The results obtained will be used to compare with what obtained from the official method stated as above. We totally evaluated 546 specimens from preterm pregnant women. Compare the results of “combining GBS TranSwab and GBS

carrot agar subculture” with what of “combining aerobic TranSwab with Lim broth enrichment and BAP subculture”. Results indicated that the GBS isolation rate of former combination were 8% higher than what of the latter combination (24.5% vs. 16.5%). In addition to this advantage by employing the former combination, lab workers can identify the presence of GBS immediately based on visual observation the carrot-color colonies appeared on GBS carrot agar. Therefore, no additional identification tests need be conducted. Based on the above finding, we can conclude that the adaption of both GBS TranSwab and GBS carrot agar in a laboratory can increase the isolation rate of GBS, speed up the identification of GBS, decrease costs in terms of both man-power and test materials, and shorten the time for reporting laboratory results. Therefore, the use of GBS TranSwab and GBS carrot agar should be worth implementing in clinical laboratories.

**Keywords:** GBS TranSwab, GBS carrot agar, GBS isolation rate, Lim broth enrichment