

評估 CMP efSwab-CB Broth, efSwab-GN Broth 與 efSwab-SBG Broth 應用於糞便檢體沙門氏菌及/與志賀氏菌之保存/增菌效能

胡郁旋¹，歐柏廷²，蔡文城^{2-4*}

中國醫藥大學藥用化妝品學系，臺中市¹；台美檢驗科技股份有限公司，新北市²；國立陽明交通大學微生物及免疫學研究所³，
食品安全及健康風險評估研究所⁴，臺北市，台灣

摘要

從糞便檢體偵測沙門氏菌(*Salmonella* spp.)及志賀氏菌(*Shigella* spp.)通常以棉花或人造絲拭子採檢後置入含有非營養性 Cary Blair (CB) semi-solid medium 之半固態嗜氧輸送管中輸送至檢驗室，然後再接種適當平板培養基及一種增菌培養基。本研究，吾等評估由啟新生物股份有限公司製造的三種輸送培養基，包括 CMP efSwab-CB (Cary Blair) broth, efSwab-GN (Gram negative) broth, 與 efSwab-SBG (selenite brilliant green sulfa) broth, 用於偵測沙門氏菌與志賀氏菌的效能。每一種套組搭配含一種稱為 efSwab 之高吸附性及釋放能力的植絨拭子。此些輸送培養基可應用於自動化微生物檢驗室之自動化接種/劃片機台如 Kiestra Inoqula (BD)或 WASP (Copan)。試驗時，分別以沙門氏菌與/或志賀氏菌的純菌以及其與糞便混合的模擬檢體分別接種每一種輸送培養基，然後存放於室溫 (26°C)與冷藏 (4°C)不同時間 (6、24 與 48 h)，結果顯示(i)兩種純菌在 efSwab-CB broth 以 4°C 保存，兩菌約可維持原菌量，但 26°C 保存，沙門氏菌可維持原菌量，而志賀氏菌的菌量則隨著存放時間而降低菌數。；(ii)含有沙門氏菌的糞便檢體在 efSwab-CB broth 無論存放於 4°C 或 26°C，僅能於 24 小時內檢出，48 小時則否；而含有志賀氏菌者，存放 4°C 僅能在 6 小時檢出，其餘存放時間則否，而於 26°C，任何存放時間均不能檢出。(iii)沙門氏菌純菌在 CMP efSwab-GN broth 與 efSwab-SBG broth 以及志賀氏菌純菌在 CMP efSwab-GN broth 於 4°C，菌數將隨著時間而大幅降低；而於 26°C，存放 6、24 h 與 48 h，沙門氏菌純菌在 CMP efSwab-GN broth，菌數分別增加約 8、2,303 與 2,674 倍，而在 CMP efSwab-SBG broth，菌數分別增加約 4、488 與 206 倍；志賀氏菌純菌於 CMP efSwab-GN broth 則分別增加菌量約 2、1,259 與 4,553 倍。(iv)含有沙門氏菌的糞便檢體在 efSwab-GN broth 與 efSwab-SBG broth 中不論存放於 4°C 或 26°C，沙門氏菌於 48 小時內均能被檢出；以及(v)含有志賀氏菌的糞便檢體，志賀氏菌在 4°C 只能存活至 24 小時，而在 26°C 則僅存活至 6 小時。綜合上述，檢驗室使用自動劃片機，欲分離糞便中的非傷寒性沙門氏菌最好使用 CMP efSwab-SBG broth 套組在 26°C 或較高溫度 (如 35°C) 存放，且於 6-24 小時移種；而志賀氏菌則使用 CMP efSwab-GN broth 套組，且在同樣溫度存放但於 4-6 小時內移種。從糞便中分離此兩菌均不建議使用 CMP efSwab-CB broth 套組。

關鍵字：沙門氏菌、志賀氏菌、CMP efSwab-CB (Cary Blair) broth、CMP efSwab-GN broth、CMP efSwab-SBG (selenite brilliant green sulfa) broth

前言

據衛生福利部食品藥物管理署歷年食物中毒資料 (1981 至 2020 年) 顯示，細菌性

食品中毒案件中最常見者為腸炎弧菌、金黃色葡萄球菌、仙人掌桿菌及沙門氏菌。然而，2020 年沙門氏菌之食物中毒案件佔最大宗^[1]。非傷寒性沙門氏菌感染常見血清型為 *Salmonella typhimurium* (鼠傷寒沙門氏菌) 及 *Salmonella subsp. enterica* (腸炎沙門氏菌)^[2]。桿菌性痢疾被衛生福利部疾病管制署列

*通訊地址：台美檢驗科技股份有限公司
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: wetsai@superlab.com.tw

為第二類法定傳染病，是由 *Shigella* spp. (志賀氏菌) 感染所引起的急性腸道疾病，其中以 *S. sonnei* (宋內氏志賀氏菌) 及 *S. flexneri* (福氏志賀氏菌) 最常分離^[3-5]。

檢體之採集及輸送方式可影響送驗檢體的品質及後續檢驗之準確性，甚至直接影響醫師對病患感染症之診療^[6]。細菌檢查檢體的採集一般使用棉花或人造絲拭子採集，然而，此兩種材質的檢體吸附與釋放能力比尼龍植絨拭子差^[7,8]，因此，臨床檢體的採集有必要將尼龍植絨拭子取代棉花或人造絲拭子。除了使用優質的植絨拭子與正確的採檢技術外，也需選擇適當的輸送培養基。一些拭子採集的檢體如喉部拭子或深部傷口檢體所使用的輸送培養基希望不會改變檢體中原始菌相及相對比例，並維持其活性，因此常會使用非營養性半固態以及高度還原性培養基（如 Cary Blair transport medium 或 Amies transport medium）才能抑制細菌細胞內自我破壞的酵素反應以及因為氧化所導致的死亡效應，如此才能讓檢體內微生物保留原來的狀態^[9]，但嗜氧或厭氧輸送管的半固態形式，並不適當前需要使用液態形式檢體接種的微生物自動化接種／劃片機台如 Kiestra Inoqula (BD) 或 WASP (Copan)^[10]，因此有必要尋求一種液態形式的輸送培養基。

啟新生物科技股份有限公司結合植絨拭子與非營養性液態輸送培養基，生產適合一般臨床檢體採集與自動化接種機台的 efSwab，商品名為 CMP efSwab CB broth。此套組適用於喉部拭子或深部傷口檢體的採集及輸送，可保護病原菌不在輸送過程中死亡或菌相發生改變。然而，有些檢體的採集與輸送過程中會偏向有利於某些定植菌的生長，而讓欲偵測的病原菌數目減少或死亡。糞便或直腸拭子檢體就有這種狀況^[11]，因此，要特別注意糞便檢體輸送與接種之迅速性，否則可能因一些非病原性腸桿菌科成員之生長速度超過病原菌：沙門氏菌與志賀氏菌，而使病原菌分離發生困難^[11]。因此臨

床上從糞便檢體中分離沙門氏菌與志賀氏菌常使用選擇性增菌培養基以分離檢體中所含數目較少或生長較慢的這些菌種，增菌培養基含有特定物質能讓目標菌生長，且能抑制非目標菌（定植菌），臨床糞便檢體中的沙門氏菌與志賀氏菌增菌培養基常利用 GN (Gram negative) broth 進行增菌^[11,12]，由於 GN broth 對沙門氏菌增菌效能比 SBG (selenite brilliant green sulfa) broth 差 13 倍，且對志賀氏菌增菌效能並不佳^[13]，因此，沙門氏菌常另外特別使用 SBG broth、selenite broth 等增菌培養基，此培養基能夠促進沙門氏菌之生長而抑制定植菌如 *E. coli* (大腸桿菌)^[14,15]。又此些種類增菌培養基不能用於傷寒或副傷寒沙門氏菌的偵測，必須使用 CB broth 之非營養性輸送培養基進行增菌^[12]。因此，選擇適當的增菌培養基種類才能提高檢體中目標菌的偵測率。

若以非營養性輸送培養基輸送糞便檢體，則檢體送至檢驗室後需再另外接種增菌培養基，對檢驗室而言，將增加檢驗成本及浪費人力，並且此方式的採檢有不能即時增菌的缺點，有鑑於此，啟新生物科技股份有限公司（新北市）結合植絨拭子與 1 mL 增菌培養基針對沙門氏菌與志賀氏菌而生產 CMP efSwab-GN broth 與 efSwab-SBG broth 套組，而可用於即時增菌及糞便檢體之輸送，且適用於自動化機台的接種。

本研究將以沙門氏菌純菌接種 CMP efSwab CB broth、efSwab-GN broth 與 efSwab-SBG broth 及以志賀氏菌 CMP efSwab CB broth 與 efSwab-GN broth 進行此些套組對兩種病原菌之分離效能評估，並將以模擬帶菌糞便檢體分別檢測其偵測極限，以了解這些套組之臨床應用性。

材料與方法

菌株選擇及菌懸液配製

本研究選擇鼠傷寒沙門氏菌 (*S. typhimu-*

rium ATCC 14028)及福氏志賀氏菌(*S. flexneri* ATCC 12022)作為評估 CMP efSwab CB broth、efSwab-GN broth與 efSwab-SBG broth 三種套組的菌種。將品管菌株以四區劃線法接種兩次 tryptic soy agar (TSA)，於 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 之一般培養箱培養 18~24 h，共活化菌株兩次。

以無菌接種環挑取適量活化菌落並使用 tryptic soy broth (TSB)調整菌液濃度至 OD 值於 0.08~0.1 間，相當 McFarland No. 0.5 標準液之濁度，菌數約 1.5×10^8 CFU/mL。取二菌液 500 μL 分別加入 4.5 mL 無菌蒸餾水中進行十倍稀釋，其中取 *S. typhimurium* 之十倍稀釋液 100 μL 分別加入 1 mL 之 CMP efSwab-GN、efSwab-SBG與 efSwab-CB broth 三種套組中；*S. flexneri* 之十倍稀釋液則取 100 μL 分別加入 1 mL 之 CMP efSwab-GN Broth 與 efSwab-CB Broth 兩種套組中。

接種套組的保存條件及菌落計算

將上述含菌數約 1.5×10^6 CFU/mL 之 efSwab-GN broth、efSwab-SBG broth 與 efSwab-CB broth，置於室溫(26°C)及冷藏(4°C)並分別保存 6、24 及 48 h 後取其等之培養液各 500 μL 以 4.5 mL 無菌蒸餾水進行十倍序列稀釋，直至預期可得到 30~300 CFU 菌落的濃度。分別取個別的稀釋液 100 μL 至 TSA，再以三角玻璃棒操作塗抹法，然後將 TSA 培養於 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 之一般培養箱，培養 18-24 h 後計算生長之菌落數，最後與 0 h 菌落數相比較以便獲得個別存放時間的分離率。

模擬糞便檢體之製備

配製濃度約 1.5×10^8 CFU/mL 之 *S. typhimurium* 及 *S. flexneri* 菌液，並分別序列稀釋至 1.5×10^3 CFU/mL。取上述十倍濃度差之各個菌液 100 μL 分別加入 900 μL 健康人類糞水中，即為模擬含有不同沙門氏菌或志

賀氏菌菌量的糞便檢體，再從含 *S. typhimurium* 之模擬檢體分別取 100 μL 加入 1 mL CMP efSwab-GN broth、efSwab-SBG broth 與 efSwab-CB broth 中；而含 *S. flexneri* 之模擬檢體則加入 1 mL CMP efSwab-GN broth 與 efSwab-CB broth，分別置於室溫及冷藏環境，並保存 6、24 與 48 h 後進行 *S. typhimurium* 及 *S. flexneri* 於三種套組中偵測極限的測試，測試時，分別取兩種保存環境的各個時間點培養液 100 μL ，以四區劃線法接種木蜜糖培養基(XLD agar)，並於 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 之一般培養箱培養 18-24 h，挑取疑似沙門氏菌之黑色菌落及疑似志賀氏菌之無色-粉色菌落移種 TSA，進行純化。最後利用傳統生化試驗方法及 MALDI- TOF MS 系統進行鑑定。

結 果

CMP efSwab-GN broth 套組保存測試菌情形

S. typhimurium 純菌在 CMP efSwab-GN broth 套組隨 26°C 保存時間的增加，沙門氏菌之分離率皆以倍數上升，6 h 保存後分離率成長 8 倍，24 h 後 2,303 倍，而 48 h 2,674 倍（表 1）；至於 *S. flexneri* 經 6 h、24 h 與 48 h 保存後分離率分別成長 2 倍、1,259 倍與 4,553 倍（表 2）。然而，經冷藏保存者，兩者將隨著保存時間的延長而降低其分離率（圖 1）。

CMP efSwab-SBG broth 保存沙門氏菌的情形

接種純菌的 CMP efSwab-SBG broth 在 26°C 保存後，於 24 h 達到其最高分離率（約 488 倍），經 4°C 保存將隨著時間的增加而降低其分離率（表 1，圖 2）。

CMP efSwab-CB broth 保存沙門氏菌及志賀氏菌純菌的情形

接種測試菌的 CMP efSwab-CB broth，經室溫保存顯示降低 *S. typhimurium* 及 *S.*

flexneri 之分離率。經室溫保存 6 至 48 h 後 *S. typhimurium* 之分離率與 0 時間相比大約維持原來菌量，但 *S. flexneri* 僅在 6 小時保存時能維持菌量，但隨著時間分離率下降較劇。而經冷藏保存後對兩菌分離率的影響則不顯著（圖 3）。

表 1. 接種沙門氏菌純菌至三種套組於 26°C 及 4°C 環境存放不同時間菌數的消長情形*

存放溫度	CMP efSwab-	存放時間(h)			
		0	6	24	48
4°C	GN	4.86×10^5 (1)	7.55×10^4 (0.16)	1.59×10^5 (0.33)	6×10^3 (0.01)
	SBG	4.86×10^5 (1)	1.52×10^5 (0.31)	1.24×10^5 (0.26)	1.09×10^5 (0.22)
	CB	4.86×10^5 (1)	2.25×10^5 (0.46)	2.1×10^5 (0.43)	2.36×10^5 (0.49)
26°C	GN	4.86×10^5 (1)	4.06×10^6 (8.35)	1.12×10^9 (2303)	1.3×10^9 (2674)
	SBG	4.86×10^5 (1)	2×10^6 (4.11)	2.37×10^8 (488)	1×10^8 (206)
	CB	4.86×10^5 (1)	7.95×10^4 (0.16)	5.49×10^5 (1.13)	1.5×10^5 (0.31)

*表中菌數單位為 CFU/mL；括弧內以 0 時間的菌數當作 1，其他時間為增加或減少菌量的倍數。

表 2. 接種志賀氏菌純菌至兩種套組於 26°C 及 4°C 環境存放不同時間菌數的消長情形*

存放溫度	CMP efSwab-	存放時間(h)			
		0	6	24	48
4°C	GN	6.15×10^5 (1)	1.6×10^5 (0.26)	6.05×10^4 (0.10)	2.6×10^4 (0.04)
	CB	6.15×10^5 (1)	2.5×10^5 (0.41)	5.64×10^5 (0.92)	4.71×10^5 (0.77)
26°C	GN	6.15×10^5 (1)	1.22×10^6 (1.98)	7.74×10^8 (1259)	2.8×10^9 (4553)
	CB	6.15×10^5 (1)	3×10^5 (0.49)	1.99×10^4 (0.03)	1.9×10^3 (0.01)

*表中菌數單位為 CFU/mL；括弧內以 0 時間的菌數當作 1，其他時間為增加或減少菌量的倍數。

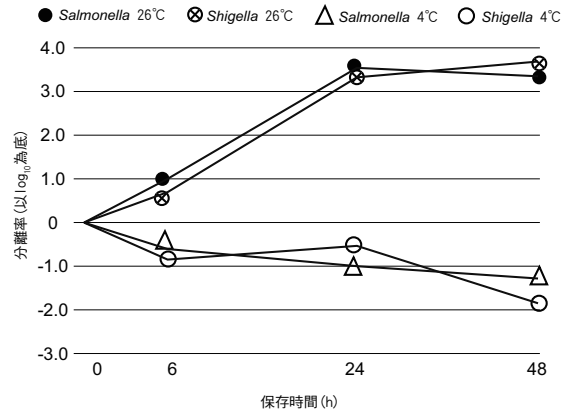


圖 1. 分別接種 *S. typhimurium* 與 *S. flexneri* 純菌至 CMP efSwab-GN 套組於 26°C 及 4°C 環境保存不同時間之菌數消長情形

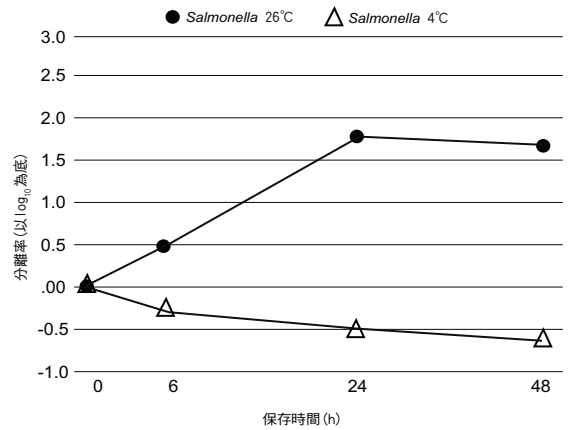


圖 2. 接種 *S. typhimurium* 純菌至 CMP efSwab-SBG 套組於 26°C 及 4°C 環境保存不同時間之菌數消長情形

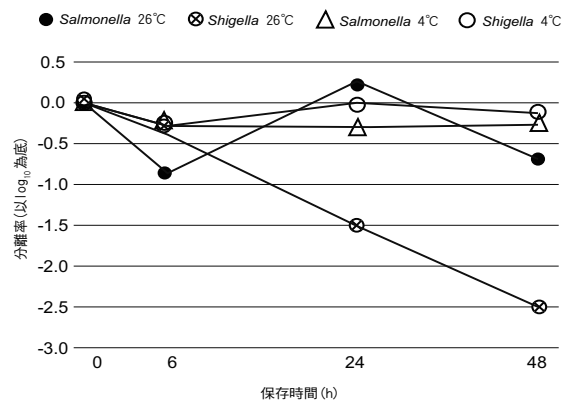


圖 3. 分別接種 *S. typhimurium* 及 *S. flexneri* 純菌至 efSwab-CB 套組於 26°C 及 4°C 環境保存不同時間之菌數消長情形

三種 CMP efSwab-培養液套組之偵測極限

接種含 *S. typhimurium* 模擬糞便檢體於 CMP efSwab-GN broth 經 26°C 保存，分離之最低菌數（偵測極限）為 1.5×10^4 CFU，而經 4°C 保存，則為 1.5×10^5 CFU。而於 efSwab-SBG broth，經室溫 6 h 保存，分離之最低偵測極限為 1.5×10^4 CFU，而保存至 24 與 48 h 則為 1.5×10^2 CFU；經 4°C 保存後均能檢出。而於 CMP efSwab-CB broth 在 26°C 或 4°C 經 6 與 24 h 保存均能檢出，而 48 h，則無法檢出。

S. flexneri 於 CMP efSwab-GN broth 經 4°C 保存 6 h - 24 h 均可被檢出，48 h 則否，室溫保存僅能在 6 h 時檢出，24 h 及 48 h 則否。於 CMP efSwab-CB broth 經 26°C 保存任何時間均無法檢出，而 4°C 保存僅能在 6 h 檢出，24 h-48 h 則否（表 3）。

表 3. 含有 *S. typhimurium* 或 *S. flexneri* 之糞便檢體於三種 CMP efSwab-培養液套組於 26°C 與 4°C 分別保存 6、24 與 48 h 後接種 XLD agar 後之最低偵測極限的菌落生長情形*

菌種	CMP efSwab-培養液	26°C 保存			4°C 保存		
		6 h	24 h	48 h	6 h	24 h	48 h
<i>S. typhimurium</i>	CB	++++	++++	-	++++	++++	-
	GN	++	++	++	+++	+++	+++
	SBG	++	+	+	+++	++++	++
<i>S. flexneri</i>	CB	-	-	-	++++	-	-
	GN	+++	-	-	+++	++++	-

*菌數之消長：在各個保存溫度與不同保存時間，含各測試菌糞便檢體的不同稀釋度在 XLD agar 之生長，最低偵測極限的菌落生長至第四區、第三區、第二區與第一區分別以++++、+++、++、+表示。-，未分離（沒有測試菌落生長）。

討 論

目前市售用於細菌檢體採集之拭子大多為人造絲(rayon)、滌綸(Dacron)或棉(cotton)纖維，而用於病毒檢體的採集則使用尼龍植絨拭子(nylon-flocked swab)^[16,17]。植絨拭子為採檢棒尖端包覆尼龍材質之裝置，具良好微

生物吸附力，且可以更有效地釋放樣品而減少其殘留及夾帶，因此，可提供更高效之採檢效果^[6,7]。已有許多研究^[18,19]依據 CLSI M40-A^[20]建議之測試菌種比較各種輸送拭子在保存測試菌的效能，研究者多評估植絨拭子(flocked swab)對採檢之原始菌相保存率。本研究參考上述方法，評估沙門氏菌與志賀氏菌純菌與糞便混合液之保存或增菌效能。結果顯示沙門氏菌純菌於 CMP efSwab-GN broth 及 CMP efSwab-SBG broth 中，在 4°C 保存時，兩種套組的沙門氏菌分離率些微下降；但沙門氏菌純菌在 CMP efSwab-SBG broth 於 26°C 保存 6、24 與 48 h，菌數分別增加約 4、488 與 206 倍。許與蔡^[14]將 *S. typhimurium* 及 *S. enterica* 接種於 SBG broth，培養在 35°C，兩者之菌量分別增加約 1.5×10^5 倍及 2.0×10^4 倍，顯然地，若將此套組培養在 26°C 以上至 35°C，將更能達到增菌的效果。由於志賀氏菌不適合於 SBG broth 生長，本研究僅評估此菌在 CMP efSwab-GN 室溫的保存狀況，指出以保存 6 h 為佳。至於志賀氏菌純菌於 efSwab-CB 中僅能以 4°C 保存，但不適合保存 6 h 以上時間，其在室溫保存任何時間，分離效果均不佳，因此，建議以 4°C 的方式保存，並盡速接種分離培養基或增菌培養基。

於模擬糞便檢體中，沙門氏菌於 CMP efSwab-GN broth 及 CMP efSwab-SBG broth 無論室溫或 4°C 保存任何時間均可有效檢出，至於在 efSwab-CB broth，僅能保存至 24 h。另外，志賀氏菌於 CMP efSwab-GN broth，僅能 4°C 保存不超過 24 h 以及於室溫保存不超過 6 h 進行移種，此菌於 CMP efSwab-CB broth 僅能 4°C 不超過 6 h，而不能於室溫保存。

參考文獻

1. 衛生福利部食品藥物管理署。歷年食品中毒資料。民國 70 年至 109 年食品中毒發生狀況。https://www.fda.gov.tw/TC/siteContent.aspx?sid=323
2. 衛生福利部疾病管制署。沙門氏菌感染症。疾病介

- 紹。https://www.cdc.gov.tw/Category/Page/VAL8VSwJKYLQp_ydA-UHgg
- World Health Organization, 2005. Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1. 2005. <http://apps.who.int/.../handle/10665/43525/92415933ox.pdf;sequence=1>.
 - 柯靜芬、葉惠珠、李永盛等。認識桿菌性痢疾。疫情報導。2006, 22:659-72.
 - 衛生福利部疾病管制署。第二類法定傳染病。桿菌性痢疾。https://www.cdc.gov.tw/Disease/SubIndex/DXJzRq9tI4559p0A6MX3rw
 - Nys S, Vijgen S, Magerman K, Cartuyvels R. Comparison of Copan eSwab with the Copan Venturi Transystem for the quantitative survival of *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* and *Candida albicans*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29:453-6.
 - 葉芝榕、歐柏廷、蔡文城。尼龍植絨、人造絲與棉花拭子採集微生物檢體的效能。檢驗及品保雜誌。2021; 10:162-6。
 - Daley P, Castriciano S, Chernesky M, Smieja M. Comparison of flocced and rayon swabs for collection of respiratory epithelial cells from uninfected volunteers and symptomatic patients. J Clin Microbiol 2006; 44:2265-7.
 - Zimbro MJ, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. Difco™ & BBL™ Manual: Manual of Microbiological Culture Media. 2nd ed. 2009:559-61. BD Diagnostics – Diagnostics Systems Sparks, MD. USA.
 - Bourbeau PP, Swartz BL. First evaluation of the WASP, a new automated microbiology plating instrument. J Clin Microbiol 2009; 47:1101-6.
 - 蔡文城、蔡岳廷。實用臨床微生物診斷學。第12版。2021:319-42。九州圖書文物有限公司，台北市，台灣。
 - Buchan BW, Faron ML, Humphries RM, Dekker J, Ledebor NA. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In Carrol KC, Pfaller MA Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, Warnock DW (eds). Manual of Clinical Microbiology. 12th ed. 2019:668-723. ASM press, Washington DC, USA
 - 林宛瑩、歐柏廷、陳詩涵、蔡文城。利用 Selenite Brilliant Green Broth 增菌以提升糞便檢體中沙門氏菌的檢出率。檢驗及品保雜誌。2020; 9:10-6。
 - 許惠珊、蔡文城。各種腸道菌在 Selenite Brilliant Green Sulfa Broth 增菌培養基 24 小時內的消長。檢驗及品保雜誌。2018; 7:119-23。
 - 陳佳琪、趙育德、歐柏廷、陳詩涵、蔡文城。SBG TransCultSwab 和沙測管 (Salmonella Checker) 組合之簡易高通量方法適用於篩檢健康人員糞便中的非傷寒性沙門氏菌 (*Salmonella spp.*)。檢驗及品保雜誌 2021; 10:60-5。
 - Dunn JJ, Prinsky BA. Specimen collection, transport, and processing: Virology. In Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, Warnock DW (eds). Manual of Clinical Microbiology. 12th ed. 2019:1446-61. ASM press, Washington DC, USA.
 - 徐邦晏、趙育德、曾冠錡、歐柏廷、龔思豪。保存型與去活化型病毒檢體運送培養基的效能評估。檢驗及品保雜誌 2020; 9: 168-74。
 - Van Horn, K. G., Audette, C. D., Sebeck, D., et al. Comparison of the Copan eSwab-system with two Amies agar swab transport systems for maintenance of microorganism viability. J Clinical Microbiol 2008; 46: 1655-8.
 - Van Horn, K. G., & Rankin, I. Evaluation and comparison of two Stuart's liquid swab transport systems tested by the CLSI M40 method. European J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26:583-6.
 - Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). Quality control of microbiological transport systems; approved standard. 2010, CLSI document M40-A2. 2010. CLSI, Wayne, PA, USA.

Evaluation of efSwab-CB Broth, efSwab-GN Broth and efSwab-SBG Broth for Preservation and Enrichment of *Salmonella* and *Shigella* in Fecal Specimens

Yu-Hsuan Hu¹, Po-Ting Ou², Wen-cherng Tsai^{2-4*}

¹Department of Cosmeceutics, China Medical University, Taichung ; ²Super laboratory Ltd., New Taipei City ; ³Institute of Microbiology and Immunology, and ⁴Institute of Food Safety and Health Risk Assessment, National Yang Ming Chiao Tung University, Taipei, Taiwan

Abstract

For detection of *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. in fecal specimens, a cotton or rayon swab is usually used to collect specimens. The swab is then placed in an aerobic transport tube containing non-nutritive Cary Blair (CB) semi-solid medium, transport to a laboratory and then inoculate on appropriate agar plates or in an enrichment medium. In this study, we evaluated the efficacy of three kinds of transport media manufactured by Creative Biotechnology Co., Inc. in Taiwan, including CMP efSwab-CB (Cary Blair) broth, efSwab-GN (Gram negative) broth, and efSwab-SBG (selenite brilliant green sulfa) broth for detection of *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. Each kit includes a high adsorption and release capacity flocking swab, referred to as efSwab. These transport media can be used in microbiology laboratories with automated plating/streaking instruments such as Inoqula (BD) or WASP (Copan). For the tests, each transport medium was inoculated with a pure *Salmonella* or *Shigella* culture or a fecal sample spiked with *Salmonella* or *Shigella*. The inoculated transport media were stored at room temperature (26°C) and 4°C for 6, 24, or 48 hours. Results showed the following: (i) The number of *Salmonella* and *Shigella* pure culture in efSwab-CB broth was decreased over time at 4°C or 26°C; (ii) The *Salmonella* in spiked stool specimens placed in efSwab-CB broth and stored at 4°C or 26°C could only be detected within 24 hours, and the *Shigella* in spiked stool specimens placed in the same medium could only be detected within 6 hours of storage at 4°C; (iii) The number of *Salmonella* pure culture in

CMP efSwab-GN broth or in CMP efSwab-SBG broth and that of *Shigella* pure culture in efSwab-GN broth was decreased over time at 4°C; When the specimens were stored at 26°C, the number of *Salmonella* pure culture in CMP efSwab-GN broth was increased 8, 2,303, and 2,674 times and that of those in CMP efSwab-SBG broth was increased 4, 488, and 206 times, whereas that of *Shigella* pure culture placed in efSwab-GN broth was increased 2, 1259, and 4,553 times, respectively, after 6, 24, and 48 h of storage; (iv) The *Salmonella* in spiked fecal specimens was detectable in efSwab-GN broth or in efSwab-SBG broth within 48 hours of storage at 4°C or 26°C; (v) The *Shigella* in spiked stool specimens survived only up to 24 hours at 4°C and up to 6 hours at 26°C. In conclusion, the best way to isolate non-typhoid *Salmonella* from stool specimens is to use CMP efSwab-SBG broth as the transport medium, and the specimen in the transport medium stored at 26°C or higher (e.g., 35°C) is inoculated in appropriate media in 6-24 hours after collection. For *Shigella* isolation, the fecal specimens should be transported in CMP efSwab-GN broth and sub-cultured within 4~6 hours. The efSwab-CB broth is not recommended for the isolation of either *Salmonella* or *Shigella* from stool specimens.

Keywords: *Salmonella* spp, *Shigella* spp, CMP efSwab-CB (Cary Blair) broth, CMP efSwab-GN broth, CMP efSwab-SBG (selenite brilliant green sulfa) broth