

# 靈菌在新蛋白胨瓊脂培養基之色素產生性 及與其他色素產生用培養基之比較

曾 金 章

台北醫學院微生物學科

## 緒 言

靈菌 (*Serratia marcescens*) 是一種無病原性之腐生性細菌，但自從磺胺類藥物及抗生素被大量使用後，靈菌就曾被發現引起尿道感染，肺部疾患及敗血症等，甚致導致死亡的報告<sup>(1)</sup>。

色素是本菌很重要的特徵之一<sup>(2)</sup>，此種紫紅色的 prodigiosin，可溶於無水酒精，乙醚，氯仿，丙酮，苯及 carbon disulphite，但不溶於水。此色素常用 Trypticase soy agar, brain heart-infusion agar, P-G medium 及 Bunting medium 等色素產生用培養基加以檢出，但其色素之產生能力在各種培養條件下仍有很大的差異，可由深紅色到紅色，橘紅色，粉紅色及淺粉紅色等，其致無色素之產生。在臨床上之分離以無色素產生株較色素產生株佔多數<sup>(3)</sup>，而它們與 coliform bacilli 之鑑別則較為困難複雜，一般都依賴一連串的生化學方法加以鑑定。

新蛋白胨瓊脂培養基 (Neopeptone agar medium; NA) 是一種良好之色素產生用培養基，如綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)，葡萄狀球菌 (*Staphylococci*) 及靈菌等在本培養基不但具色素之產生，而且可以觀察到菌株所產生之蛋白胨分解酶 (proteolytic enzyme) 之分解活性<sup>(4)</sup>。故擬以本科保存之 38 株靈菌進一步觀察它們在 NA 培養基之蛋白胨分解活性及色素產生性，並與其他色素產生用培養基之色素產生能力加以比較。檢討應用 NA 培養基於靈菌鑑定之可能性。

## 材料及方法

試驗菌株：使用於本實驗之菌株計 38 株，其中 22 株得自昆蟲及 16 株得自臨床檢體，其中 36 株已被確認為靈菌<sup>(5)</sup>，而另 2 株亦經鑑定，按照 Colwell & Mandel 氏等<sup>(5,6)</sup> 之鑑定方法確認之。

培養基：Heart-infusion (HI) agar (Difco) 做為菌種之保存及種菌之接種用，而色素之觀察仍使用色素產生用培養基，包括 Trypticase soy agar (B.B.L.)，B-G medium<sup>(7)</sup>，Bunting medium<sup>(8)</sup> 及 NA 培養基<sup>(4)</sup> 等。

色素之產生及蛋白胨分解活性之觀察：培養於 HI agar 18 小時之種菌，以帶狀接種法接種於 NA 及其他色素產生用培養基。(1)，然後把 NA 培養基置於 37°C 24 小時後，觀察培養溫度對蛋白胨分解活性及色素產生之影響。蛋白胨分解活性之判斷，以產生澄清環離開菌落 1.5 mm 以上是陽性反應。在相同條件下連續 4 天觀察其色素之產生。(2)，有關 NA 及其他色素產生用培養基之色素產生性之比較，接種後之培養基置於 26°C 培養之，每日觀察其色素產生情形連續 4 天，以綠膿桿菌做陽性對照株。

## 結 果

靈菌接種於 NA 培養基經 37°C 培養後 (表一)，38 株被試菌株在 24 小時內全部呈現蛋白胨分解活性，26°C 時亦得相同之結果。但色素之產生則有很大的差異，37°C 時僅 32 株 (84.2%) 產生色素，其中 24 小時 22 株 (57.9%)，48 小時 9 株 (23.7%) 及第四天 1 株 (2.6%)。但置於 26°C 時則 37 株 (97.4%) 於 24 小時內全部產生深紅紫色素。

Received May 1 and accepted May 24 1977

Table 1. Effect of temperature on the proteolytic activity and pigmentation of *Serratia marcescens* on NA medium.

Tested strains: 38 strains

| <div> <div>Characters</div> <div>Temp.</div> <div>Time (day)</div> </div> | Number of positive strains |          |              |           |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------|--------------|-----------|
|                                                                           | Proteolytic activity       |          | Pigmentation |           |
|                                                                           | 26°C (%)                   | 37°C (%) | 26°C (%)     | 37°C (%)  |
| 1                                                                         | 38 (100)                   | 38 (100) | 37 (97.4)    | 22 (57.9) |
| 2                                                                         | 0                          | 0        | 0            | 9 (23.7)  |
| 3                                                                         | 0                          | 0        | 0            | 00        |
| 4                                                                         | 0                          | 0        | 0            | 1 (2.6)   |
| Total numbers                                                             | 38 (100)                   | 38 (100) | 37 (97.4)    | 32 (84.2) |

38 株培養於 NA 及其他色素產生用培養基比較他們之色素產生性 (表二)，結果以 NA 培養基之色素產生株最多計 37 株 (97.4%)，其次是 P-G medium 36 株 (94.7%)，而 Bunting medium 及 Trypticase soy agar 各 30 株 (78.9%)。38 株中 1 株在 NA 培養基不呈色素之菌株，亦未見在其他色素產生用培養基呈色，故是株無色素產生株，但却具蛋白質分解活性。菌株在 NA 培養基呈色較快而深濃，但其他色素產生用培養基之呈色較緩慢淺淡，甚或不產生色素者。

Table 2. Pigment Production of *Serratia marcescens* on various pigment producing-media. (Incubated at 26°C)

Tested strains: 38 strains.

| Time (day) | Number of pigment producing strains |                |                    |                         |
|------------|-------------------------------------|----------------|--------------------|-------------------------|
|            | NA medium (%)                       | P-G medium (%) | Bunting medium (%) | Trypticase soy agar (%) |
| 1          | 37 (97.4)                           | 33 (86.8)      | 26 (68.4)          | 29 (76.3)               |
| 2          | 0                                   | 2 (5.3)        | 4 (10.5)           | 1 (2.6)                 |
| 3          | 0                                   | 0              | 0                  | 0                       |
| 4          | 0                                   | 1 (2.6)        | 0                  | 0                       |
| Total No.  | 38 (97.4)                           | 36 (94.7)      | 30 (78.9)          | 30 (78.9)               |

## 結 論

靈菌之 prodigiosin 產生易受培養條件之影響<sup>(9)</sup>，某些藥物或化學物質對靈菌之色素產生具抑制的作用，如 chloramphenicol, aureomycin 及 terramycin<sup>(10)</sup>，glutamic acid<sup>(11)</sup>，Sodium citrate Sodium acetate，Sodium malate，EDTA，D-prolin 及 glucose<sup>(11)</sup>。相反的，penicillin 及 bacitracin 則具促進色素產生之特性。

一般色素產生之最適溫度是生長最適溫度之下，故菌株接種於 NA 培養基經 37°C 培養時，色素產生受到很大的抑制，但蛋白脲分解活性却不受培養溫度之影響。置於 26°C 時不但色素之呈現良好而且可觀察到蛋白脲分解活性。吳氏<sup>(5)</sup>報告 34 株色素產生株培養於 Trypticase soy agar, brain heart-infusion agar, nutrient agar, P-G medium 及 Bunting medium 全部獲得色素之產生，與本報告之結果略有出入，是否由於色素觀察之人為因素所造成。以 NA 培養基之色素產生效果最好，其次是 P-G medium，而 Bunting medium 及 Trypticase soy agar 較差。

靈菌不但對小白鼠具很強之病原性，而且對多種抗生素具高度之耐性<sup>(5)</sup>。它們在疾病之病原上漸受重視，故對它們之分離鑑定亦漸趨重要，尤其是佔多數之無色產生株。

由於菌株在 NA 培養基呈現之蛋白脲分解活性及色素產生性，在腸內細菌群中之革蘭氏陰性桿菌具相當之特異性。故對於靈菌之分離鑑定似可應用本培養基，然後輔以去氧核糖核酸酶 (DNase) 產生之試驗<sup>(12,13)</sup> 及 esculin 加水分解等<sup>(14,15)</sup>，則較應用一般生化學鑑定<sup>(16)</sup>之方法迅速方便。

## 參考文獻

1. Kakizawa, H., and Yaoi, S.: Media Circle, 12; 183-190, 1967.
2. Williams, R.P., Green, J.A., and Rapport, D.A.: J. Bacteriol., 71; 115-120, 1956.
3. Clayton, E., and Von Gravenitz, A.: J.A.M.A., 197; 1059-1064, 1966.
4. Tseng, C.C.: J. Formosan Med. Assoc., 73; 692-698, 1974.
5. Wu, K.H.: J. Formosan Med. Assoc., 75; 120-129, 1976.
6. Colwell, R.R., and Mandel, M.: J. Bacteriol., 89; 454-461, 1965.
7. Weinberg, E.C.: J. Bacteriol., 62; 785-792, 1951.
8. Belser, W.L., and Bunting, M.I.: J. Bacteriol., 72; 582-592, 1956.
9. Bunting, M.I.: J. Bacteriol., 40; 57-68, 1940.
10. Well, A.J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 79; 539-540, 1952.
11. Weinberg, E.D.: J. Bacteriol., 62; 785-792, 1951.
12. Rothberg, N.W., and Swartz, M.N.: J. Bacteriol., 90; 291-295, 1963.
13. Valu, J.A.: J. Bacteriol., 91; 167-168, 1966.
14. Wasilauskas, B.L.: Appl. Microbiol., 21; 162-163, 1970.
15. Tsan, Y.C., Wu, K.H., and Tseng, C.C.: J. Formosan Med. Assoc., 74; 731-735, 1975.
16. Bailey, W.R., and Scott, E.G.: Diagnostic Microbiology. The C.U. Mosby Company, Saint Louis, Fourth edition, p. 142-143, 1974.

# Pigment Production of *Serratia marcescens* on Neopeptone Agar Medium in Comparison with that on Other Pigment Production Media.

Cheng-Chuang Tseng,  
Department of Microbiology, Taipei Medical College

## SUMMARY

A total of 38 strains of *Serratia marcescens* were cultivated on Neopeptone agar medium (NA) and other pigment production media such as P-G medium, Bunting medium and Trypticase soy agar, and their pigment production on various media was investigated.

All the 38 strains cultivated on NA medium showed proteolytic activity, but their pigment production varied at different temperature. At 26°C 37 strains (97.4%) of them produced pigment within 24 hr, while at 37°C only 32 of them (84.2%) produced pigment, 22 (57.9%) within 24 hr, 9 (23.7%) within 48 hr and one (2.6%) on the fourth day. The temperature of cultivation had no effect on their proteolytic activity, they all showed positive within 24 hr either at 26°C or 37°C.

The best pigment production was observed on the NA medium, the color was deep and appeared early, and the number of positive strains was the highest, 37 (97.4%) out of 38 strains. The result on P-G medium was next to it, with 36 strains (94.5%) positive, and only 30 strains (78.9%) were positive on Bunting medium and Trypticase soy agar respectively. Strains cultivated on the pigment production media other than NA medium produced pigment much slower, their colors were lighter, some were even colorless.

Because strains of enteric bacteria among the Gram negative bacilli generally show characteristic difference in proteolytic activity and pigment production on NA medium, this medium may be used, together with the auxiliary tests of DNase production and esculin hydrolysis, as a quicker and easier method for the identification of *S. marcescens*.