

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ:MRG5580034

ชื่อโครงการ:พยาธิวิทยาภูมิคุ้มกันและการเกิดการกลับเป็นซ้ำที่เกี่ยวข้องกับการเกิดไบโอฟิล์ม
ของการติดเชื้อ *Burkholderia pseudomallei*

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน

ดร.ภาวนา พนมเขต

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

อีเมล: mdpawapa@ubu.ac.th, panomketp@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

เชื้อ *Burkholderia pseudomallei* เป็นสาเหตุของโรคเมลลิออยโดสิส อาการแสดงของโรคมีหลากหลายจาก ติดเชื้อในกระแสเลือดเฉียบพลัน ไปจนถึงการอักเสบเรื้อรัง หรือไม่แสดงอาการติดเชื้อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างการติดเชื้อเรื้อรังของหนู C57BL/6 mice โดยเหนี่ยวนำให้ติดเชื้อ *B. pseudomallei* ศึกษาพยาธิสภาพของระบบภูมิคุ้มกันของหนูที่เป็นโรคติดเชื้อเมลลิออยโดสิสเรื้อรังจากเชื้อที่สร้างไบโอฟิล์ม และทดสอบความสัมพันธ์ของเชื้อที่สร้างไบโอฟิล์มต่อการเกิดการกลับเป็นโรคซ้ำและการไม่ถูกฆ่าด้วยยาปฏิชีวนะในหนูทดลอง เชื้อ *B. pseudomallei* H777 และ สายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์ม M10 ในระดับต่ำ ถูกนำไปให้ป้อนหนู C57BL/6 mice กิน และชั้นสูตรการเกิดการอักเสบโดยการศึกษาจุลพยาธิวิทยา เชื้อ *B. pseudomallei* H777 จำนวน 200 CFU/ml ทำให้หนูเกิดการตอบสนองอักเสบเรื้อรังได้ในวันที่ 20 หลังการติดเชื้อ พบการมารวมตัวกันของเม็ดเลือดขาวกลุ่ม mononuclear cells ในวันที่ 40 หลังการติดเชื้อพบผนังหลอดเลือดมีความหนาเพิ่มขึ้นและพบการอักเสบรุนแรงมากขึ้นในวันที่ 60 หลังการติดเชื้อ การติดเชื้อที่ปอด (pulmonary melioidosis) สามารถพัฒนาให้เกิดในหนู C57BL/6 mice โดยการป้อนเชื้อ และอาการเลียนแบบการเกิดโรคเมลลิออยโดสิสเรื้อรังในมนุษย์ หนูที่ป้อนด้วยเชื้อสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์ม M10 ก็แสดงการเกิดการติดเชื้ออักเสบเรื้อรังแต่พบการมาของ mononuclear cells น้อยกว่าสายพันธุ์ปกติ ค่าเฉลี่ยของการมีชีวิตรอดของหนูกลุ่มที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้บ่งบอกถึงการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้ออาจจะมีบทบาทต่อการเกิดพยาธิสภาพ รูปแบบการติดเชื้อเรื้อรังของหนูถูกนำมาเหนี่ยวนำให้เกิดการกลับเป็นโรคซ้ำโดยการให้ยา hydrocortisone ขนาด 2.5 mg ต่อหนู 1 ตัว ทางช่องท้อง ในวันที่ 60 หลังการติดเชื้อ พบแบคทีเรียในกระแสเลือด ทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อหนูถูกกดภูมิคุ้มกัน 2 วัน เชื้อสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์มและสายพันธุ์ปกติสามารถทำให้เกิดโรคกลับเป็นซ้ำได้ในหนู C57BL/6 mice แต่สายพันธุ์ปกติมีความรุนแรง

ของการเกิดอักเสบได้รุนแรงมากกว่าสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์ม ยา ceftazidime ถูกนำมาใช้ในการรักษาหนูที่เกิดโรคกลับเป็นซ้ำในปริมาณ 120 mg/kg โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เป็นเวลา 14 วัน แบคทีเรียในกระแสเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับยาทั้งกลุ่มที่ติดเชื้อสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสร้างไบโอฟิล์มและสายพันธุ์ปกติ กลุ่มควบคุมให้ผลบวกต่อการเพาะเชื้อจากเลือดทุกเวลาที่มีการตรวจติดตามและหนูบางตัวตายภายใน 7 วัน หนูที่รอดชีวิตของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการรักษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษานี้บ่งบอกได้ว่าแบคทีเรียที่มีความบกพร่องต่อการสร้างไบโอฟิล์มสามารถทำให้เกิดการอักเสบที่ไม่รุนแรงและทำให้หนูรอดชีวิตได้ ในจำบ้านที่ติดเชื้อเรื้อรังเมื่อภูมิคุ้มกันต่ำเป็นสาเหตุให้เกิดโรคกลับเป็นซ้ำเมลลิออยโตซิสได้

คำหลัก : *Burkholderia pseudomallei*, เมลลิออยโตซิส, การเกิดการกลับเป็นซ้ำ, การอักเสบเรื้อรัง

Abstract

Project Code: MRG5580034

Project Title: Immunopathogenesis and relapse related bio-film formation of *Burkholderia pseudomallei* infection in C57BL/6 mice

Investigator: Dr Pawana Panomket, Ubon Ratchathani University

E-mail Address: mdpawapa@ubu.ac.th, panomketp@yahoo.com

Project Period: 2 years

Abstract:

Burkholderia pseudomallei are a causative of melioidosis. Clinical signs of the condition vary from acute septicaemia to chronic inflammation and/or sub-clinical infection. This study aimed to establish chronic infection of C57BL/6 mice by induction with *B. pseudomallei*, to study the immunopathogenesis of bio-film formation in chronic melioidosis in the mice, and to test whether the *B. pseudomallei* bio-film cells were related to relapse and were not killed by antibiotics in vivo. Low doses of *B. pseudomallei* H777 and its bio-film defective mutant (M10) were intra-gastrically fed to C57BL/6 mice and inflammatory responses to the infection were investigated by histopathological studies. Two hundred colony-forming units (CFU) of *B. pseudomallei* H777 induced chronic inflammatory responses in mice on day 20 post-infection, with discrete interstitial infiltration by mononuclear inflammatory cells. On day 40 post-infection, there were markedly thickening alveolar septa and congested capillaries that increased in severity by day 60. Pulmonary melioidosis could therefore develop in C57BL/6 mice by intra-gastric feeding and mimic chronic human melioidosis. Mice intra-gastrically inoculated with *B. pseudomallei* M10 also showed chronic inflammation but less mononuclear infiltration than that of the wild type. The average survival was significantly different between the infected groups and the control. This indicated that bio-film may play a role in this pathology. A chronic inflammation model was further induced to relapse by intra-peritoneal injection of hydrocortisone at 2.5 mg per mouse at day 60

post-infection. High bacteria counts were found in the blood in both strains post-suppressed immune status after two days. The bio-film mutant and wild type strains produced relapse in C57BL/6 mice but the latter was responsible for significantly more severe inflammation than the bio-film mutant. Ceftazidime was used to treat relapsed mice at 120 mg/kg for 14 days via intramuscular injection. Bacteria counts in blood significantly decreased after two days of treatment in the M10 and H777 groups. The control group had positive blood culture at all time points and some relapsed mice died within 7 days. Surviving mice were significantly different between the control and treated groups. This study's results indicated that bacteria defective in bio-film production may be less severe, allowing the mice to survive. Hosts with low immune status and chronic inflammation may cause relapsed melioidosis.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, Melioidosis, Relapse, Chronic inflammation