

บทคัดย่อ

เมลิออยโคสิสเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* การระบาดของโรคนี้พบมากในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย เชื้อ *B. pseudomallei* ที่สามารถใช้น้ำตาล L-arabinose ได้ (Ara^+) มีความรุนแรงในการก่อโรคน้อยกว่าเชื้อที่ไม่สามารถใช้น้ำตาล L-arabinose (Ara^-) และในปัจจุบันเชื้อ Ara^+ *B. pseudomallei* ได้ถูกจัดกลุ่มใหม่เป็น *B. thailandensis* แม้ว่าไบโอฟิล์มจะมีบทบาทในการต้านต่อยาปฏิชีวนะ แต่บทบาทของไบโอฟิล์มในพยาธิกำเนิดของโรคเมลิออยโคสิสยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาปริมาณการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *B. pseudomallei* ชนิด Ara^+ 25 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับชนิด Ara^- 25 สายพันธุ์โดยใช้ modified microtiter plate test ผลการวิจัยพบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* ชนิด Ara^- มีปริมาณการสร้างไบโอฟิล์มมากกว่าเชื้อชนิด Ara^+ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยเชื้อชนิด Ara^- (25 strains) และ Ara^+ (25 strains) มีอัตราส่วนการสร้างไบโอฟิล์มเฉลี่ย ($\text{mean} \pm \text{SEM}$) เท่ากับ 2.54 ± 0.59 และ 0.55 ± 0.06 ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *B. pseudomallei* strain UE5 ที่ใช้เป็น reference strain โดยที่เชื้อ *B. pseudomallei* ชนิด Ara^- และ Ara^+ ที่สร้างไบโอฟิล์มได้มากที่สุดได้แก่ strains G207 และ E287 ตามลำดับ ส่วนเชื้อ ชนิด Ara^- และ Ara^+ ที่สร้างไบโอฟิล์มได้น้อยที่สุด ได้แก่ strains A2 และ E261 ตามลำดับ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* ชนิด Ara^- strains G207 และ A2 มีลักษณะการรวมกลุ่มกันเป็น microcolonies ที่ยึดอยู่ด้วย intercellular slime matrix มากกว่าเชื้อชนิด Ara^+ strains E287 และ E261 แต่ในการศึกษานี้ไม่พบว่าปริมาณการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้งชนิด Ara^- และ Ara^+ มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงในการก่อโรคในหนูทดลองสายพันธุ์ BALB/c เมื่อเปรียบเทียบ LD_{50} ของเชื้อแต่ละชนิด ผลของการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *B. pseudomallei* สายพันธุ์ต่างๆมีความแตกต่างกัน โดยเชื้อ Ara^- *B. pseudomallei* ส่วนใหญ่มีปริมาณการสร้างไบโอฟิล์มมากกว่าเชื้อชนิด Ara^+ อย่างไรก็ตามไม่พบว่าปริมาณไบโอฟิล์มของเชื้อ *B. pseudomallei* มีความสัมพันธ์กับการเกิด lethal effect โดยดูจากค่า LD_{50} เมื่อทำการศึกษาในหนูทดลอง

Abstract

Burkholderia pseudomallei is the causative agent of melioidosis. The disease is endemic in Southeast Asia and northern Australia. The Ara⁻ strains of *B. pseudomallei* are known to be virulent whereas Ara⁺ strains are non-virulent. The Ara⁺ strains are now reclassified as *B. thailandensis*. The pathogenesis mechanism of the disease is still unknown. It was found that the production of biofilm was involved in antimicrobial resistance. In the present study, we therefore quantified the biofilm formation of 25 Ara⁻ strains of *B. pseudomallei* compared to 25 Ara⁺ strains using the modified microtiter plate test. The results showed that most of Ara⁻ strains of *B. pseudomallei* produced more biofilm than Ara⁺ strains. The mean ratio of biofilm formation (mean $\pm$ SEM) by Ara⁻ and Ara⁺ strains of *B. pseudomallei* were 2.54 ± 0.59 and 0.55 ± 0.06 respectively. Statistical analysis showed significant difference between Ara⁻ and Ara⁺ strains biofilm formation ($p < 0.01$). Among the 25 Ara⁻ and Ara⁺ strains of *B. pseudomallei* analyzed, the strains G207 and E287 exhibited maximum biofilm production respectively, while the minimum biofilm producing strains of Ara⁻ and Ara⁺ strains of *B. pseudomallei* were A2 and E261 respectively. Transmission electron micrograph of the Ara⁻ *B. pseudomallei* strains G207 and A2 showed microcolony of bacterial cells surrounded by larger amounts of extracellular slime matrix than the Ara⁺ *B. pseudomallei* strains E287 and E261. However, no correlation between the amount of biofilm formation and virulence, judging from the LD₅₀ assay using BALB/c mice. These results indicate that although the ability of selected strains of *B. pseudomallei* to produce biofilm varies from strain to strain, it appears to have no influence on the degree of virulence, judging from LD₅₀.

Key words : *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia thailandensis*, biofilm, virulence