CHARACTERIZATION OF BIOFILM FORMATION AMONG *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* MUTANTS: *BPS*I, *PPK, RPO*N2, AND *RPO*S

RUNGRAWEE MONGKOLROB

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2015

Copyright by Mahidol University

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

CHARACTERIZATION OF BIOFILM FORMATION AMONG BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI MUTANTS: *BPS*I, *PPK*, *RPO*N2, AND *RPO*S

RUNGRAWEE MONGKOLROB 5137074 SCBC/D

Ph.D. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUMALEE TUNGPRADABKUL, Ph.D.; KITTISAK YOKTHONGWATTANA, Ph.D.; SITTIRUK ROYTRAKUL, Ph.D.

ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei is the cause of melioidosis, a fatal tropical infectious disease, which was reported to have a high rate of recurrence even when an intensive dose of antibiotics was used. The biofilm formation is believed to be one of the possible relapse causes because of the ability to increase drug resistance. Extracellular polymeric substance (EPS) in biofilm has been reported to be related to limitation of antibiotic penetration in *B. pseudomallei*. However, the mechanisms through which that biofilm creates a restricting diffusion to antibiotics remains unclear. In this study, the researcher presented a correlation between exopolysaccharide production in biofilm matrix and antibiotic resistance in *B. pseudomallei* by using *bps*I, *ppk*, *rpo*N2 and *rpo*S mutant strains. CLSM revealed a reduction of the exopolysccharide production and disability of the micro-colony formation in *B. pseudomallei* mutants, which paralleled the antibiotic resistance. Different ratios of carbohydrate contents in exopolysaccharide of the mutants was detected, although they had the same components; glucose, galactose, mannose, and rhamnose with no detectable peak found in *bps*I mutant. These results indicated that the correlation between these phenomenal in *B. pseudomallei* biofilm at least resulted from exopolysaccharide which may have been under the regulation of *bps*I, *ppk*, *rpo*N2 or *rpo*S genes.

Copyright by Mahidol University

KEY WORDS: ANTIBIOTIC RESISTANCE / BIOFILM / BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI / EXOPOLYSACCHARIDE

111 pages

การศึกษาคุณสมบัติการสร้างไบโอฟิล์มระหว่างเชื้อ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* ผ่าเหล่าชนิดต่างๆ

CHARACTERIZATION OF BIOFILM FORMATION AMONG *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* MUTANTS: *BPS*I, *PPK*, *RPO*N2, AND *RPO*S

รุ่งรวี มงคลรบ 5137074 SCBC/D

ปร.ด. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: สุมาลี ตั้งประดับกุล, Ph.D.; กิตติศักดิ์ หยกทองวัฒนา, Ph.D.; สิทธิรักษ์ รอยตระกูล, Ph.D.

บทคัดย่อ

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของโรค melioidosis โรคติดเชื้อร้ายแรงในเขตร้อนซึ่งได้รับรายงานว่ามีอัตราการเกิดซ้ำสูง ถึงแม้ว่าผ่านการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะปริมาณเข้มข้นสูงมาแล้วก็ตาม การสร้างไบโอฟิล์มถูกเชื่อว่าเป็นหนึ่งในสาเหตุที่เป็นไปได้ของการกำเริบของโรค เนื่องจากไบโอฟิล์มทำให้ความสามารถในการต้านทานยาของเชื้อเพิ่มมากขึ้น จากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับสารพอลิเมอร์ที่อยู่ภายนอกเซลล์ (EPS) ในไบโอฟิล์ม พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการจำกัดการซึมผ่านของยาปฏิชีวนะใน *B. pseudomallei* อย่างไรก็ตามกลไกที่ไบโอฟิล์มช่วยจำกัดการแพร่กระจายของยาปฏิชีวนะเข้าสู่เซลล์ยังคงไม่ชัดเจน ในการศึกษานี้ เราได้นำเสนอความสัมพันธ์ระหว่างการผลิต Exopolysaccharide ในไบโอฟิล์มและความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะใน *B. pseudomallei* 4 สายพันธุ์ ซึ่งถูกกลายพันธุ์ที่ยีน *bps*I, *ppk*, *rpo*N2 และ *rpo*S ภาพของการสร้างไบโอฟิล์มโดยกล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลแสดงถึงการลดลงของการผลิต Exopolysccharide และความไม่สมบูรณ์ของการก่อตัวของกลุ่มเซลล์ในสายพันธุ์ที่ถูกกลายพันธุ์และยังพบว่าความต้านทานยาปฏิชีวนะก็ลดลงในทำนองเดียวกัน นอกจากนี้อัตราส่วนของชนิดคาร์โบไฮเดรตใน Exopolysaccharide ของแต่ละสายพันธุ์ก็ไม่เหมือนกัน ถึงแม้ว่าทุกสายพันธุ์จะมีส่วนประกอบที่เหมือนกันได้แก่ กลูโคส, กาแลคโตส, แมนโนสและแรมโนส แต่ในสายพันธุ์ *bps*I กลับไม่พบแรมโนส จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างปรากฏการณ์เหล่านี้ในไบโอฟิล์ม ส่วนหนึ่งเกิดจาก Exopolysaccharide ซึ่งน่าจะอยู่ภายใต้การควบคุมของยีนที่ถูกกลายพันธุ์

Copyright© by Mahidol University