

ABSTRACT

Project Code : RDG4430008

Project Title : Isolation and Characterization of Bacteriophages from *Burkholderia pseudomallei* and Their Applications.

Investigators : Chittasobhon N¹., Pruksakorn S¹., Sariya L²., Tharavichitkul P¹.

¹Faculty of Medicine, Chiang Mai University, ² Faculty of Veterinary Science, Mahidol University.

email address : nchittas@mail.med.amu.ac.th

Project Duration : June 2001- December 2004

This work attempted to develop a phage-typing system for strain identification of *Burkholderia pseudomallei* and their avirulent counterpart, *B. thailandensis*. A search for lysogenized bacteria which some phenotypic changes was also performed. Phages were isolated from cross-culturing of 50 *B. pseudomallei* isolates from clinical specimens and 50 soil isolates of *B. thailandensis* and *B. pseudomallei*. Phages infecting the bacteria with broad range of strong lytic or lysogenic reactions were selected for typing. These phages were also characterized by electron micrographs and DNA profiles. In this study 11 phages were selected. Six were recovered from *B. pseudomallei* and the rest from *B. thailandensis*. The most reactive phage, the Phage ϕ E21, which was isolated from *B. thailandensis*, was strongly and repeatedly lysed 36 of a hundred test strains. Of the 5 phages from clinical isolates, the most reactive was the phage ϕ P2. This set of 11 typing phages repeatedly typed 54.0 percent of clinical, and 72.4 of 29 soil isolates of *B. pseudomallei*. It also typed 33.3 percent of 21 *B. thailandensis*. One predominate phage-typing pattern, PT 2, in which strains were solely lysed or lysogenized by the phage ϕ E21, was found. The induction of the phage ϕ P2 in a serum-sensitive *B. thailandensis* strain E25T resulting in the resistance to 30 percent normal human serum of the lysogenic E25T ϕ P2 strain. Whether the change would be correlated to pathogenicity requires further investigation. In conclusion, a phage-typing system for strain identification of *B. pseudomallei* was developed and one predominating phage type was determined. However, the combination of strong lytic and lysogenic reactions from 2-3 successive tests would ensure the potential of this typing set. The value of phage – typing as an epidemiological tool depends mostly on the indispensable links among clinicians, laboratory workers, epidemiologists and the public health authorities.

Keywords : Bacteriophage, *Burkholderia pseudomallei*, *B. thailandensis*, Phage-typing.

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RDG4430008

ชื่อโครงการ: การแยกและศึกษาคุณสมบัติ bacteriophage จากเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* และการประยุกต์ใช้

ชื่อนักวิจัย: นवलจันท์ ชิตตะโสภณ, สุมาลี พุกษากร, ลดาวัลย์ สารिया, ประสิทธิ์ ฐราวิจิตรกุล

e-mail address : nchittas@mail.med.cmu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : กรกฎาคม 2544 – ธันวาคม 2547

การศึกษานี้เป็นการพัฒนาชุดทดสอบ phage type เพื่อใช้จำแนกเชื้อสายของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* และเชื้อซึ่งมีลักษณะคล้ายกันคือ *B. thailandensis* กับค้นหาเชื้อ *B. thailandensis* ที่มีลักษณะทางพีโนไทป์เปลี่ยนไปหลังจากได้รับ phage genome แล้วกลายเป็น lysogen แบบที่เรียไวรัสหรือฝาจที่นำมาศึกษาได้มาจากการทำ cross culture เชื้อ *B. pseudomallei* จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจำนวน 50 ตัวอย่าง และเชื้อจากดิน 50 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย *B. thailandensis* และ *B. pseudomallei* โดยเลือกเฉพาะฝาจที่สามารถ lyse หรือ lysogenize เชื้อจำนวนมากได้ นำมาทำ phage-typing และศึกษาลักษณะทางจุลทรรศน์วิทยาเปรียบเทียบกับแถบ DNA เมื่อถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ Phage 11 ตัว ในการศึกษาครั้งนี้แยกได้จากเชื้อ *B. pseudomallei* จำนวน 6 สายพันธุ์ที่เหลือแยกได้จากเชื้อ *B. thailandensis* ฝาจที่ไวที่สุด ได้แก่ phage ϕ E21 จาก *B. thailandensis* ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับเชื้อที่ทดสอบได้ถึง 36 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฝาจของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยจำนวน 5 สายพันธุ์นั้น phage ϕ P2 ทำปฏิกิริยาได้ดีที่สุด ฝาจทั้ง 11 ตัวนี้เมื่อนำมาทำ phage-typing ปรากฏว่าสามารถไทป์เชื้อ *B. pseudomallei* จากผู้ป่วยได้ร้อยละ 54.0 และไทป์เชื้อจากดิน 29 ตัวอย่าง ได้ร้อยละ 72.4 ฝาจชุดนี้ไทป์เชื้อ *B. thailandensis* 21 ตัวอย่าง ได้ร้อยละ 33.3 จากผลการศึกษาครั้งนี้ มีฝาจไทป์ที่พบได้บ่อยที่สุด 1 แบบ คือ PT2 ฝาจไทป์นี้เชื้อเกิดการ lysis หรือ lysogenesis กับ phage ϕ E21 เพียงชนิดเดียว การชักนำให้ phage ϕ P2 เข้าไปแฝงอยู่ในเชื้อ *B. thailandensis* สายพันธุ์ E25T ซึ่งไม่ทนต่อเซรุ่ม สามารถทำให้เชื้อ E25T ϕ P2 ซึ่งเป็น lysogen เจริญได้ในอาหารที่มีเซรุ่มผสมอยู่ร้อยละ 30 การเปลี่ยนแปลงนี้จะสัมพันธ์กับการก่อโรคหรือไม่จึงเป็นเรื่องที่น่าจะทำการศึกษาต่อไป โดยสรุป ชุดทดสอบฝาจไทป์ที่พัฒนาเพื่อการจำแนกเชื้อสายของเชื้อ *B. pseudomallei* สามารถตรวจพบฝาจไทป์ที่พบบ่อยที่สุดในกลุ่มเชื้อที่ทดสอบได้ อย่างไรก็ตาม การรายงานฝาจไทป์ที่แม่นยำควรอ่านทั้งปฏิกิริยาการ lysis และ lysogenesis ที่ได้จากการทดสอบซ้ำ 2-3 ครั้ง ส่วนคุณค่าของการทดสอบฝาจไทป์ในทางระบาดวิทยาของเชื้อนี้จะมีมากหรือน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับการแปลผลเพื่อเชื่อมโยงองค์ความรู้ที่ได้ระหว่าง แพทย์ นักเทคนิคการแพทย์ นักระบาดวิทยา และผู้บริหารงานด้านสาธารณสุขของประเทศ

คำหลัก : ฝาจไทป์, *Burkholderia pseudomallei*, *B. thailandensis*, Lysogen, Phage, Phage-typing.