

การศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของ เชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะและดิน ในฟาร์มแพะด้วยวิธี Pulsed field gel electrophoresis

อรรณพ จินพันธุ์*

บุษรา สิทธิวิเชียรวงศ์

ศุภลักษณ์ ลิ้มเลิศวาที

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ ต.ทิวัง อ. พังงา จ. นครศรีธรรมราช 80110

*ผู้รับผิดชอบ โทร.075-770008-9 ต่อ 301, e-mail: pukbung-bb@hotmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาระบาดวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* (*B. pseudomallei*) 15 สายพันธุ์ ที่เพาะแยกได้จากแพะ 11 ตัวอย่าง และดิน 4 ตัวอย่าง ในฟาร์มแพะแห่งหนึ่งใน จ.สงขลา ด้วยวิธี Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Spe* I แล้ววิเคราะห์รูปแบบของแถบ DNA ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Bio1D⁺⁺ พบว่าแถบ DNA มีรูปแบบที่แตกต่างกัน 9 รูปแบบ คือ A, B, C, D, E, F, G, H และ I โดย 3 สายพันธุ์ที่เพาะแยกได้จากดินเป็นรูปแบบ A และอีก 1 สายพันธุ์ เป็นรูปแบบ B ส่วนรูปแบบที่เหลือเป็นสายพันธุ์ที่เพาะแยกได้จากแพะ รูปแบบ E และ G เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด รูปแบบละ 3 สายพันธุ์ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าแถบ DNA ของเชื้อที่เพาะแยกได้จากแพะป่วยตาย และดินมีรูปแบบแตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่าการแพร่กระจายของเชื้อ *B. pseudomallei* ภายในฝูงแพะ เกิดจากการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมมากกว่าการสัมผัสกับดินที่ปนเปื้อนเชื้อ

คำสำคัญ: เชื้อ *Burkholderia pseudomallei* รูปแบบของแถบ DNA pulsed field gel electrophoresis

บทนำ

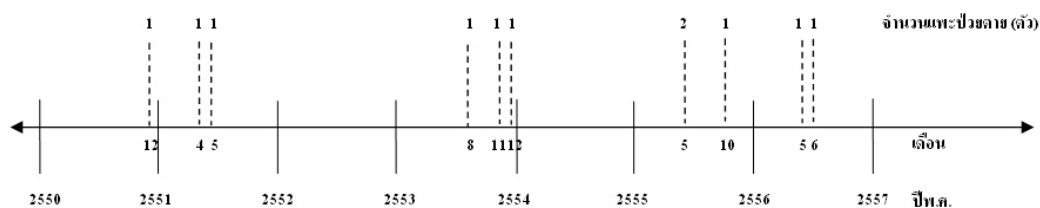
Burkholderia pseudomallei (*B. pseudomallei*) เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคmelioidosis (Meliodosis) ซึ่งเป็นโรคประจำถิ่นที่สำคัญของประเทศไทย โรคนี้สามารถเกิดได้ทั้งในคนและสัตว์ *B. pseudomallei* เป็นเชื้อที่อยู่ในดินพบได้ทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (Vuddhakul et al., 1999) การติดโรคเกิดจากการกิน การหายใจ หรือได้รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผล นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อผ่านทางรกได้ในแพะ เนื่องจากสามารถเพาะแยกเชื้อได้จากลูกแพะที่แท้งและมดลูกของแม่แพะที่ป่วยตาย (Choy et al., 2000) สัตว์ป่วยจะแสดงอาการของโรคได้ทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง สัตว์ที่แสดงอาการแบบเฉียบพลันมักเกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือดและตายอย่างรวดเร็ว อาการที่พบคือ ไข้สูง หอบ มีน้ำมูก ไอ ปอดอักเสบ ท้องเสีย บางตัวอาจแสดงอาการทางระบบประสาท (Thomas et al., 1988) แต่สัตว์ส่วนใหญ่จะเกิดโรคแบบเรื้อรัง มีฝีกระจายตามอวัยวะต่างๆ อันตะอักษะ ถ้ามีการอักเสบของเต้านม จะพบเชื้อปนเปื้อนออกมากับน้ำนมได้ (Choy et al., 2000) การรักษาโรคmelioidosis ในสัตว์ด้วยยาต้านจุลชีพมักไม่ได้ผลเพราะเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพหลายชนิด และมีค่าใช้จ่ายสูง สัตว์ป่วยที่ได้รับการรักษาจนหายแล้วยังคงมีโอกาสกลับมาเป็นโรคนี้ซ้ำได้อีกเพราะเชื้อสามารถหลบซ่อนอยู่ในร่างกายและก่อโรคได้เมื่อสัตว์มีสภาพอ่อนแอ (พัฒน์พงษ์ และมนัส, 2547; Thomas et al., 1988)

จากการเฝ้าระวังทางห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ พบว่า ฟาร์มแพะแห่งหนึ่ง ใน อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา มีแพะป่วยตายด้วยโรคmelioidosisอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 จนถึงปัจจุบัน (พ.ศ. 2556) และตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *B. pseudomallei* ในดินที่แปลงหญ้า การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ทางระบาดวิทยาของเชื้อที่เพาะแยกได้จากสัตว์ป่วยและสิ่งแวดล้อม โดยศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะและดินในฟาร์ม ด้วยวิธี Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) เพื่อหาแนวโน้มของแหล่งที่มาและรูปแบบการแพร่กระจายของเชื้อ เนื่องจาก *B. pseudomallei* เป็นเชื้อที่มีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมสูง การป้องกันไม่ให้เชื้อที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมของสัตว์ป่วยปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญ

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างและพื้นที่ศึกษา

รายงานผลการชันสูตรโรคของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ พบว่าฟาร์มแพะแห่งหนึ่งใน อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา เกิดโรคเมลิออยโดสิสอย่างต่อเนื่อง จึงทำการเพาะแยกและพิสูจน์เชื้อจากอวัยวะภายในของแพะป่วยตายจากฟาร์มข้างต้นด้วย conventional method ตามวิธีของ Quinn et al. (1994) และ Songer and Karen (2005) และสามารถเพาะแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ได้จากแพะป่วยตายตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550-2556 รวม 11 สายพันธุ์ (ภาพที่ 1) เก็บตัวอย่างดินในฟาร์มแพะเมื่อเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2556 จำนวน 24 ตำแหน่งเพาะแยกด้วย Ashdown's agar และ TBSS C-50 broth ตามวิธีการของศูนย์วิจัยโรคเมลิออยโดสิส คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สามารถเพาะแยกเชื้อ *B. pseudomallei* ได้จากตัวอย่างดิน 10 ตำแหน่ง นำเชื้อที่เพาะแยกได้จากแพะและดินมาทดสอบด้วยวิธี latex agglutination (Smith et al., 1993) เลือกเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากดินที่ตำแหน่งต่างๆจากแปลงหญ้าที่ใช้เลี้ยงแพะ (ภาพที่ 2) จำนวน 4 สายพันธุ์



ภาพที่ 1 จำนวนแพะและช่วงเวลาที่แพะป่วยตายด้วยโรคเมลิออยโดสิสตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 – 2556



ภาพที่ 2 ตำแหน่งแปลงหญ้าที่เลือกเชื้อ *B. pseudomallei* มาทำ PFGE (หมายเลข 1 – 4)

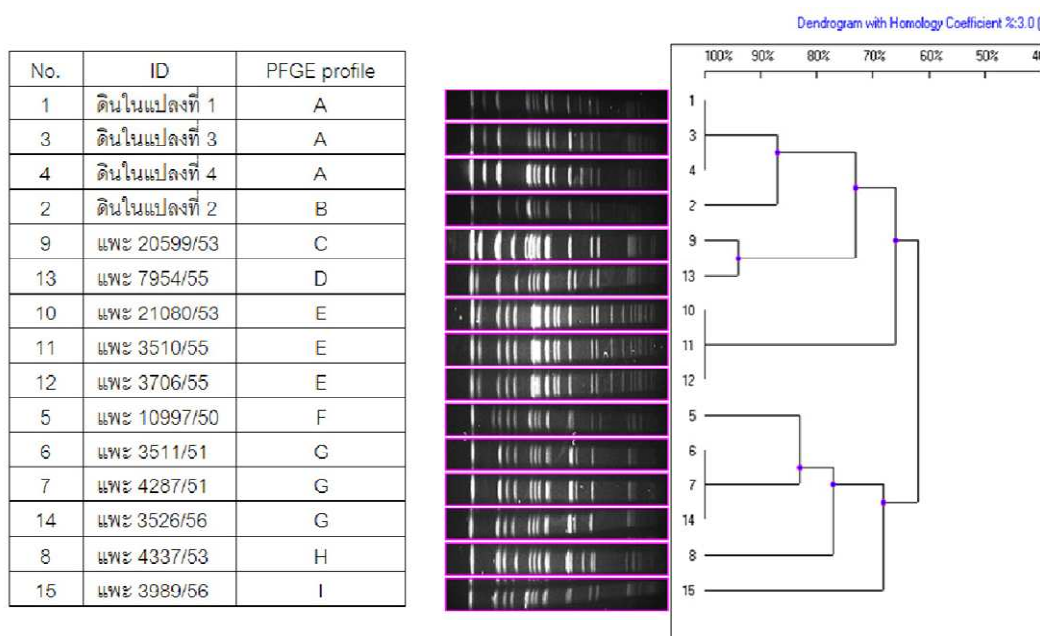
การศึกษาเชิงโมเลกุล

ศึกษาความหลากหลายในระดับโมเลกุลของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะป่วยตาย และดิน โดยวิเคราะห์หารูปแบบของแถบ DNA (Band DNA) ด้วยวิธี Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) ซึ่งดัดแปลงตามวิธีการของ (Thong et al., 1994) ดังนี้ เชื้อเชื้อ *B. pseudomallei* ใส่ในหลอด 3 ml. ผสมให้เข้ากับ suspension buffer (10 mM Tris-HCl, 1M NaCl pH 7.5) วัดความขุ่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 nm ให้ได้ค่า OD เท่ากับ 1.2 จากนั้นนำเชื้อใส่หลอด microcentrifuge 1.5 ml. เติม 2% low melting agarose ในอัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากัน หยอดในแม่พิมพ์ (plug mould) ทิ้งให้แห้ง จากนั้นนำชิ้นส่วน agarose plug ไปในขั้นตอนการเตรียม genomic DNA ตัดย่อย DNA โดยแช่ไว้ในสารละลายที่ประกอบด้วย 6 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, 5%Brij 58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sarcosine และ 1mM lysozyme บ่มที่ 37 °C 24 ชั่วโมง แล้วเทสารละลายเดิมเปลี่ยนเป็นสารละลาย 0.5 M EDTA, 5% sarcosine และ 1mM proteinase K บ่มใน shaking water bath ที่ 50 °C 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้าง plug ด้วยสารละลาย TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8) ที่ 25 °C ทำซ้ำ 4 ครั้งทุก 20 นาที แบ่ง plug ลงในหลอด microcentrifuge 0.2 ml. เติมสารละลาย NE buffer 4 ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วดูด NE buffer 4 ทิ้ง เติมเอนไซม์ตัดจำเพาะ (digested enzyme) Spe I (Fermentas Inc., MD., USA) บ่มที่ 37 °C นานกว่า 2 ชั่วโมงหรือข้ามคืน ล้างเอนไซม์ออกด้วยสารละลาย 0.5% TBE แล้วนำ plug ใส่ลงใน 1% PFGE agarose แยกแถบ DNA โดยใช้เครื่อง CHEF-DR[®] III (Biorad, USA) ที่อุณหภูมิ 14 °C เป็นเวลา 30 ชั่วโมง แล้วนำมาย้อมด้วย Ethidium Bromide ประมาณ 30 นาที แล้วถ่ายภาพด้วยเครื่อง Gel Doc-It Imagine System (UVP, USA) จากนั้นพิจารณารูปแบบของแถบ DNA ด้วยโปรแกรม Bio1D⁺⁺ (Vilber Lourmat, Germany)

ผลการทดลอง

รูปแบบของแถบ DNA (PFGE profile) ของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะป่วยตาย 11 สายพันธุ์ และจากดิน 4 สายพันธุ์ (ภาพที่ 3) มีรูปแบบที่แตกต่างกัน 9 รูปแบบคือ A, B, C, D, E, F, G, H และ I โดยรูปแบบ A และ B เป็นรูปแบบของแถบ DNA ที่เพาะแยกได้จากดิน อีก 7 รูปแบบที่เหลือคือ C, D, E, F, G, H และ I เป็นรูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อที่เพาะแยกได้จากแพะป่วยตาย

รูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะ มี 2 รูปแบบ ที่พบซ้ำกัน คือ รูปแบบ E และ G รูปแบบละ 3 สายพันธุ์ รูปแบบ E ได้จากแพะที่ป่วยตายในปี 2553 (ตัวอย่างที่ 10) และปี 2555 (ตัวอย่างที่ 11,12) รูปแบบ G ได้มาจากแพะที่ป่วยตายในปี 2551 (ตัวอย่างที่ 6, 7) และปี 2556 (ตัวอย่างที่ 14) ส่วน รูปแบบของแถบ DNA ที่ซ้ำกันในตัวอย่างดิน คือ รูปแบบ A จากตัวอย่างดินในแปลงหญ้าที่ 1, 3, 4 ส่วนตัวอย่างดินจากแปลงหญ้าที่ 2 มีรูปแบบของแถบ DNA ต่างออกไป



ภาพที่ 3 Dendrogram แสดงแถบ DNA 9 รูปแบบ ของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากแพะป่วยตาย 11 สายพันธุ์ และดินในฟาร์ม 4 สายพันธุ์

วิจารณ์และสรุป

การศึกษารูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากสัตว์ใน จ.ราชบุรี พบว่าในฟาร์มแพะแห่งหนึ่ง รูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อจากแพะ 11/12 ตัวอย่างและตัวอย่างดิน 14 ตัวอย่างเป็นรูปแบบเดียวกัน (Sakdinun et al., 2012) เช่นเดียวกับการศึกษาในฟาร์มสุกรแห่งหนึ่ง ที่ประเทศออสเตรเลีย พบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* ที่เพาะแยกได้จากซากสุกร ดิน และน้ำใช้ในฟาร์มที่ไม่ผ่านการบำบัด มีรูปแบบของแถบ DNA แบบเดียวกัน (Millan et al., 2007) เป็นการบ่งชี้ว่า แนวโน้มการเกิดโรคในทั้ง 2 กรณีศึกษาข้างต้น น่าจะเป็นการติดเชื้อจากสิ่งแวดล้อม แต่ผลการศึกษาค้างนี้พบว่า รูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อจากแพะและดินในฟาร์มไม่เหมือนกันทั้งที่สุ่มเลือกเชื้อจากดินในบริเวณแปลงหญ้าที่ใช้เลี้ยงสัตว์และเป็นแปลงหญ้าที่อยู่ใกล้คอกแพะ (ภาพที่ 2) เป็นไปได้ที่รูปแบบที่ไม่เชื่อมโยงกันระหว่างสัตว์และสิ่งแวดล้อมในการศึกษานี้ อาจเกิดจากสุ่มเก็บตัวอย่างจากดินมาไม่เพียงพอที่ครอบคลุมการกระจายของเชื้อ *B. pseudomallei* ทั้งหมดในพื้นที่ฟาร์ม และจากการระบาดของโรคเมลิออยโดสิส เจ้าของฟาร์มจึงไม่ปล่อยแพะลงทะเล็มในแปลงหญ้าตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2555 จึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้รูปแบบของแถบ DNA ของเชื้อที่เพาะแยกได้จากแพะและดินไม่เหมือนกัน

รูปแบบของแถบ DNA ในแพะที่ป่วยตายมีรูปแบบที่ซ้ำกัน แม้ว่าแพะจะป่วยตายในช่วงเวลาที่ต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาในฟาร์มแพะ ในประเทศออสเตรเลีย ที่เกิดการระบาดของโรคเมลิออยโดสิสครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1992 เมื่อนำเชื้อ *B. pseudomallei* ที่ก่อโรคในฟาร์มระหว่างปี ค.ศ. 1992 -1997 มาศึกษารูปแบบของแถบ DNA พบว่าเชื้อบางส่วนมีรูปแบบของแถบ DNA เหมือนกันกับการระบาดในครั้งแรก (Choy et al., 2000) แสดงให้เห็นว่าหากเกิดการระบาดของโรคนี้ในพื้นที่ใดแล้ว การควบคุมและกำจัดโรคให้หมดไปในฟาร์มทำได้ค่อนข้างยาก เพราะเชื้อมีความทนทานและสามารถคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน (Tong et al., 1996) แต่รูปแบบของแถบ DNA ในแพะและดินในการศึกษาค้างนี้ไม่ตรงกัน ดังนั้นการติดต่อของโรคเมลิออยโดสิสในฟาร์มแห่งนี้ สาเหตุส่วนหนึ่งน่าจะเกิดจากการสัมผัสสิ่งคัดหลั่งของแพะป่วย เช่น นม น้ำมูก ปัสสาวะ หรือ น้ำมูก การป้องกันไม่ให้เชื้อที่อยู่ในสิ่งคัดหลั่งของสัตว์ป่วยปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญมาก การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทำความสะอาดในบริเวณที่มีสิ่งคัดหลั่งตกค้างอยู่เป็นสิ่งที่ควรปฏิบัติทุกครั้ง จากการศึกษาสารเคมีที่ใช้เป็น antiseptic และ disinfectant ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น พบว่า disinfectant ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายเชื้อ *B. pseudomallei* ได้แก่ 0.1-0.5 % Chlorine, 4% Formaldehyde, 3% H₂O₂ และ 2% Lysol® ส่วน antiseptic ที่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ 70% alcohol, 2% providine, 0.1 Thimerosal® (sodium ethylmercurithiosalicylate) และ 2% Mecurochorme® (merbromin) (ฐิติมา และคณะ, 2549)

การศึกษารูปแบบของแถบ DNA ด้วยวิธี PFGE ทำให้ทราบว่า เชื้อ *B. pseudomallei* ที่ก่อโรคในฟาร์มนี้ ส่วนหนึ่งเป็นเชื้อสายพันธุ์เดิมที่เคยมีการระบาดมาก่อน แต่วิธี PFGE สามารถอธิบายได้เฉพาะความเชื่อมโยงของรูปแบบของแถบ DNA ในการศึกษานี้เท่านั้น ไม่สามารถหาความสัมพันธ์กับเชื้อ

B. pseudomallei ที่ระบาดในพื้นที่อื่นได้ ดังนั้นควรทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยวิธี multilocus sequence typing (MLST) (Godoy et al., 2003) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถอธิบายรูปแบบของเชื้อในลักษณะ sequence typing (ST) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับการระบาดของโรคmelioidosisในพื้นที่อื่นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางใจพร เรืองแก้ว นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคใต้ ที่ช่วยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและทดสอบทางชีวเคมี นายกำธร พรหมโต นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ และนายชยภัค สี่ปู้ นักวิชาการสัตวบาล สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ช่วยงานด้านเทคนิค PFGE

เอกสารอ้างอิง

- จิตติมา ไชยทา ญัฐชมล ปทุมวัน เพลินพิศ หานนท์ อรัญญา คงถาวร วิเศษ นามวาท สรรเพชญ์ อังกิตติตระกูล และชัชฌิมพร กุญยกานนท์. 2549. ผลการประเมินสารเคมีในหลอดทดลองที่ต้านต่อเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วย. ศรีนครินทร์เวชสาร. 21(4): 289-292.
- พัฒน์พงษ์ โลหะอนุกุล และมนัส แดงอ่อน. 2547. รายงานสัตว์ป่วย เมลิออยโดสิสในแพะที่จังหวัดพิษณุโลก. ข่าวสุขภาพสัตว์ภาคเหนือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือ (ตอนบน). 12(2). [Online]. Available : http://www.dld.go.th/vrd_np/journal/2547/NRVDCApril2004.pdf. [14 ตุลาคม 2555]
- Choy, J.L., Mayo, M., Janmaat, A. and Currie, B.J. 2000. Animal melioidosis in Australia. Acta Trop. 74: 153-158.
- Godoy, D., Randle, G., Simpson, A.J., Aanensen, D.M., Pitt, T.L., Kinoshita, R. and Spratt, B.G. 2003. Multilocus sequence typing and evolutionary relationships among the causative agents of melioidosis and glanders, *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. J. Clin. Microbial. 41(5): 2068-2079.
- Millan, J. M., Mayo, M., Gal, D., Janmaat, A. and Currie, B.J.. 2007. Clinical variation in melioidosis in pigs with clonal infection following possible environmental contamination from bore water. Vet. J. 174: 200-202.
- Quinn P.J., Carter, M.E., Markey, B.K. and Carter, G.R. 1994. Pseudomonas species. In: Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Publishing, Dublin, England. p. 237- 242.

- Sakdinan, P., Paethaisong, T. and Antarasena, C.. 2012. Epidemiological study of *Burkholderia pseudomallei* isolates form animals and soil in an endemic area of Ratchaburi by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. [Online]. Available : http://www.dld.go.th/vrd_wp/images/stories/help_paper/Paper_melioidosis.pdf. Accessed Oct 14, 2012.
- Smith, M.D., Wuthiekanun, V., Walsh, A.L. and Pitt, T.L. 1993. Latex agglutination test for identification of *Pseudomonas pseudomallei*. J. Clin. Pathol. 46: 374-375.
- Songer, G.J. and Karen W. Post. 2005. The Genera *Pseudomonas* and *Burkholderia*. In: Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease. Elsevier saunders, China. p. 154-162.
- Thomas A.D., Forbes-Faulkner, J.C., Norton, J.H. and Trueman, K.F. 1988. Clinical and pathological observation on goats experimentally infected with *Pseudomonas pseudomallei*. Aust. Vet. J. 65: 43-46.
- Thong, K.L., Cheong, Y.M., Puthuchear, S., Koh, C.L. and Pang, T. 1994. Epidemiologic analysis of sporadic *Salmonella* Typhi isolates and those from outbreaks by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. J. Clin. Microbiol. 32(5): 1135-1141.
- Tong, S., Yang, S., Lu, Z. and He, W. 1996. Laboratory investigation of ecological factors influencing the environmental presence of *Burkholderia pseudomallei*. Microbiol. Immunol. 40: 451-453.
- Vuddhakul, V., Tharavichitkul, P., Na-ngam, N., Jitsurong, S., Kunthawa, B., Noimay, P., Noimay, P., Binla, A. and Thamlikitkul, V. 1999. Epidemiology of *Burkholderia pseudomallei* in Thailand. Am. J. Trop. Med. Hyg. 60: 458-461.

Molecular epidemiological study of *Burkholderia pseudomallei* isolated from goats and soil in farm by Pulsed field gel electrophoresis

Autthaporn Jeenpun* Busara Sittiwicheanwong Suppaluck Limlertwatee

Veterinary Research and Development Center (Southern Region), Teewung Thungsong Nakhon Si Thammarat 80110. Thailand

*Corresponding author Tel. 075-770008-9 ext. 301 e-mail: pukbung-bb@hotmail.com

Abstract

Molecular epidemiology study of *Burkholderia pseudomallei* (*B. pseudomallei*) in a goat farm in Songkha province was carried out. Total 15 strains of *B. pseudomallei* comprised 11 and 4 strains isolated from infected goats and soil respectively. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) was performed to analyze the chromosomal DNA by using enzyme *Spe* I and *Bio1D*⁺⁺. DNA patterns appeared in 9 different genotypes (A, B, C, D, E, F, G, H and I). Pattern A (3 strains) and B (1 strain) were DNA pattern of *B. pseudomallei* isolated from soil and others were from infected animals. The most frequent patterns were E and G (3 strains each). Because none of DNA pattern from goats and soil was matched, so the outbreak of melioidosis in this farm is likely due to contaminating the secretions of sick animals rather than soil-borne infection.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, DNA pattern, pulsed field gel electrophoresis