

Ceftazidime จัดเป็น antibiotic of choice สำหรับการรักษาโรคเมลิออยโคสิส แต่ในปัจจุบันพบว่า *Burkholderia pseudomallei* หลายสายพันธุ์ที่คือต่อยา ceftazidime และกลไกในการดื้อยานี้เชื่อว่าเกิดจากการที่เชื้อผลิตเอนไซม์ β -lactamase ออกมาย่อยสลายยา โครงการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเชื้อ *B. pseudomallei* 40 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ที่แยกจากผู้ป่วย 21 สายพันธุ์และสายพันธุ์ที่แยกจากดิน 19 สายพันธุ์) ซึ่งในขั้นแรกเป็นการศึกษาถึงอัตราการเกิดการกลายพันธุ์ที่ทำให้เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ β -lactamase ได้ สูงอยู่ตลอดเวลา (derepressed mutant) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อลงบน ceftazidime-containing media และพบว่าอัตราการกลายพันธุ์สูง และจากการทดสอบค่าความไวต่อ ceftazidime โดยวิธี agar dilution method พบว่า ceftazidime-resistant mutant มีค่า MICs ต่อยา ceftazidime สูงกว่าสายพันธุ์ wild type 2-8 เท่า จากการศึกษา β -lactamase activities ใน *B. pseudomallei* 25 สายพันธุ์ทั้ง wild type และ ceftazidime-resistant mutant พบว่า 12 mutants (48%) มี ceftazidimase activity สูงกว่า wild type ประมาณ 2-31 เท่า และ 10 mutants (40%) แสดง imipenemase activity สูงกว่า wild type 2-50 เท่า

การศึกษา β -Lactamase induction ในเชื้อ *B. pseudomallei* โดยใช้ imipenem ที่ความเข้มข้นระดับ sub-MIC เป็น inducer พบว่า β -lactamase expression (ต่อยา ampicillin, ceftazidime and imipenem) นั้นสูงกว่าที่ไม่ได้ induce เล็กน้อย และพบว่า single inducer สามารถทำให้เกิดการแสดงออกของเอนไซม์ β -lactamases มากกว่าหนึ่งชนิด (ampicillinase, ceftazidimase และ imipenemase) แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของเอนไซม์เหล่านี้อาจถูกควบคุมโดยกลไกเดียวกัน

การศึกษา class D β -lactamase genes (*bla*_{OXA-42}, *bla*_{OXA-43}) จาก *B. pseudomallei* ในระดับพันธุกรรมพบว่า ยีนนี้มีความใกล้เคียงทางสายวิวัฒนาการกับ oxacillinases จากเชื้อ *Ralstonia pickettii* และ *Aeromonas* spp. จากการศึกษา β -lactamase activity พบว่า OXA-42 และ OXA-43 มี oxacillinase activity ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของ β -lactamase class D แต่ไม่สามารถสลาย ceftazidime และ imipenem ได้ การศึกษากลไกการแสดงออกของยีนนี้โดยวิธี Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction พบว่า transcription ของ class D β -lactamase gene นั้นสูงขึ้นใน ceftazidime-resistant mutants เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ wild type แสดงให้เห็นว่า β -lactamase class D อาจมีส่วนที่ทำให้เชื้อดื้อต่อยา

การศึกษา class B β -lactamase-like genes (*bpsII*) จาก *B. pseudomallei* ในระดับพันธุกรรมพบว่ายีนนี้มีความใกล้เคียงทางสายวิวัฒนาการกับ glyoxalaseII จาก *Arabidopsis thaliana* และ metallo β -lactamases subgroup B3 เช่น THIN-B, FEZ-1, L1 และ GOB-1 โปรตีน BpsII นี้ไม่มี signal peptide ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของ periplasmic β -lactamase แสดงว่า BpsII อาจอยู่ในส่วนของไซโตพลาสซึม ดังนั้นอาจจะไม่ใช่ true carbapenemase ซึ่งก็จะต้องมีการศึกษาต่อไป

Ceftazidime is the antibiotic of choice for the treatment of melioidosis. Ceftazidime-resistant *Burkholderia pseudomallei* have been identified and β -lactamase production implicated in resistance. In this study, 40 strains of *B. pseudomallei* (21 clinical and 19 environmental strains) were examined for their ability to yield mutants that over-express β -lactamase. Ceftazidime-resistant mutants were selected readily, by plating organisms on ceftazidime-containing media, at high frequency and displayed 2-8 fold increases in the MICs of ceftazidime by the agar dilution method. β -Lactamase activities in 25 *B. pseudomallei* both parent and mutant strains were examined by a spectrophotometric method. 12 mutants (48%) showed approximately 2-31 fold higher ceftazidimase activity compared with their parent strains and 10 (40%) demonstrated 2-50 fold increases in imipenemase activity.

β -Lactamase induction in *B. pseudomallei* was also investigated using imipenem as an inducer. Preliminary results show that moderate level β -lactamase expression (against ampicillin, ceftazidime and imipenem) could be induced with sub-MIC levels of ceftazidime. The fact that a single inducer can cause an increase in expression of multiple β -lactamase activities, suggests that the expression of these enzymes are linked.

The class D β -lactamase genes from *B. pseudomallei* were cloned and sequenced (*bla*_{OXA-42}, *bla*_{OXA-43}). The encoded enzyme is an oxacillinase and is homologous to oxacillinases from *Ralstonia pickettii* and members of the genus *Aeromonas*. *Eschericia coli* containing either *bla*_{OXA-42} or *bla*_{OXA-43} displayed oxacillinase activities, common characteristic of all class D β -lactamase. However, neither ceftazidimase nor carbapenemase activities could be detected. Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction showed that transcription of the class D β -lactamase gene is increased in ceftazidime-resistant mutants.

The genes encoding for class B β -lactamase-like protein, namely *bpsII*, from *B. pseudomallei* were cloned, sequenced and characterized. Results of sequence analysis showed that BpsII is closely related to glyoxalaseII from *Arabidopsis thaliana* and the metallo β -lactamases subgroup B3 i.e. THIN-B, FEZ-1, LI and GOB-1. BpsII express weak carbapenemase activity. However, the signal peptide, usually indicative of periplasmic enzyme, is absent, suggesting the cytoplasmic location of this protein. This characteristic is consistent with that of glyoxalase II, the enzymes which are believed to share a common ancestor with metallo β -lactamases. Further investigation is needed to clarify the location and function of BpsII.