

วงจรชีวิตของ *Burkholderia pseudomallei*Life Cycle of *Burkholderia pseudomallei*

นราพร สมบูรณ์นะ* สลิษา เบญจสกุลลือชา**
Naraporn Somboonna* Salisa Benjaskulluecha**

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ 10330

*Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

**นิสิตปริญญาตรี ชั้นปีที่ 4 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ 10330

**Fourth Year Bachelor Student, Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University Bangkok 10330

Corresponding author. Email address:naraporn.Schula.ac.th

บทคัดย่อ

Burkholderia pseudomallei เป็นแบคทีเรียที่เป็นต้นเหตุของโรค melioidosis ซึ่งเป็นโรคที่พบบ่อยในพื้นที่เขตร้อน โดยเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และเป็นโรคที่มีอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูง อาการของโรคนั้นมีหลากหลาย ทำให้แพทย์วินิจฉัยโรคได้ยาก อีกทั้งวิธีการรักษาในปัจจุบันยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ เนื่องด้วย *B. pseudomallei* มีกลไกหลายอย่างที่เสริมความรุนแรงของการติดเชื้อ ทำให้เชื้อสามารถอยู่รอดในร่างกายมนุษย์ทั้งในและนอกเซลล์ และแพร่กระจายไปในอวัยวะต่างๆ ได้ กลไกเหล่านั้นคือ แคลปซูล, quorum sensing, type III secretion system และ flagella นอกจากนี้ *B. pseudomallei* มีกลไกในการดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลากหลายชนิด มีรายงานการใช้ *B. pseudomallei* เป็นอาวุธชีวภาพอีกด้วย บทความนี้นำเสนอข้อมูลรายละเอียดและข้อสังเกตเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ การก่อโรคและช่องทางการติดเชื้อ การอยู่รอดจากสภาพแวดล้อมภายในและภายนอกเซลล์เจ้าบ้าน กลไกการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน และกลไกการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งความรู้ดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้ตระหนักถึงการติดเชื้อ รวมไปถึงแนวทางในการรักษาและพัฒนาต่อไป

คำสำคัญ: *Burkholderia pseudomallei* แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในและนอกเซลล์ การก่อโรค วงจรชีวิต
พุทธชินราชเวชสาร 2560;34(1):115-20.

Abstract

Burkholderia pseudomallei is a causative bacterial pathogen of melioidosis, which is found highly in tropical region like the Northeast of Thailand and has a high mortality rate. The symptoms vary, causing the difficulty in the clinical diagnosis by the doctors. Besides, no effective antibiotic is available to date, because *B. pseudomallei* contains a variety of virulence factors, allowing the bacteria to reside inside and outside of the human host cell, and spread to different organs. These virulence factors include capsule, quorum sensing, type III secretion system and flagella, for examples. Moreover, *B. pseudomallei* has developed antibiotic resistant, and has been reportedly used as bioweapon. This review article, therefore, presented details on morphology, pathogenesis, human host cell intracellular and extracellular developmental cycle, host cell entry mechanism, and antibiotic resistance mechanisms. Together, the knowledges assist in disease recognition, treatment strategy, and so on.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, facultative intracellular bacteria, pathogenesis, life cycle
Buddhachinaraj Med J 2017;34(1):115-20.

บทนำ

Burkholderia pseudomallei เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง เป็นสาเหตุของโรค melioidosis ซึ่งเป็นโรคที่เกิดได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์หลากหลายชนิด มีอัตราการเสียชีวิตสูง โรคนี้พบชุกชุมในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และออสเตรเลีย ในประเทศไทย พบมากบริเวณภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การเกิดโรคพบมากในฤดูฝน โดยชาวนาและเกษตรกรจัดเป็นกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง เนื่องจากการสัมผัสกับดิน ซึ่งเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของเชื้อนี้ *B. pseudomallei* เข้าสู่ร่างกายโดยการกินและการหายใจ มีรายงานการใช้แบคทีเรียชนิดนี้เป็นอาวุธชีวภาพอีกด้วย บทความนี้นำเสนอข้อมูลรายละเอียดของเชื้อนี้อาภิ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา วงจรชีวิต ภายนอกและภายในเซลล์มนุษย์ และข้อสนเทศเกี่ยวกับความรู้ที่ยังขาดเกี่ยวกับเชื้อชนิดนี้ เพื่อใช้ประกอบการพิจารณา กำหนดเป็นแนวทางในการรักษาที่มีประสิทธิภาพ ต่อไป

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *B. pseudomallei*

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่งไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลล่า จัดอยู่ในชั้น Beta-proteobacteria ลำดับ Burkholderiales วงศ์ Burkholderiaceae อยู่อาศัยได้ทั้งภายในและภายนอกเซลล์เจ้าบ้าน (facultative intracellular bacteria)¹⁻⁴ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่แตกต่างกัน

ขนาดของเซลล์มีความยาวประมาณ 2 ถึง 5 ไมโครเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.4 ถึง 0.8 ไมโครเมตร³ เจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อหลากหลายชนิด เช่น blood agar, Mac Conkey agar และ Eosin methylene blue เป็นต้น โดยอาหารชนิด Ashdown's medium (หรือ *Burkholderia cepacia* medium) เป็นอาหารจำเพาะสำหรับคัดแยกแบคทีเรียชนิดนี้⁵ ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารทั่วไปจะมีสีขาว ผิวเรียบ และมีลักษณะเป็นเมือก แต่เมื่อเลี้ยงในอาหาร Ashdown's medium จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีม่วงอมชมพู หรือสีแดง และมีผิวขรุขระ⁶ แบคทีเรียชนิดนี้ยังทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญอันได้แก่ สภาวะกรด อุณหภูมิต่ำ เชื้อสามารถหลบซ่อนอยู่ใต้ดินได้ตลอดทั้งปี แล้วกลับมาเจริญที่ผิวดินเมื่อมีสภาวะความชื้นที่เหมาะสมคือ ฤดูฝน⁷

การก่อโรคและช่องทางการติดเชื้อ

B. pseudomallei เป็นสาเหตุสำคัญของโรค melioidosis หรือ Whitmore's disease รู้จักกันในภาษาไทยว่า โรคนักเลี่ยนแบบ หรือโรคไข้ดิน⁷ เกิดโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ มักพบการเกิดโรคในพื้นที่แถบเขตร้อนคือ ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทางตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย สำหรับในประเทศไทย

พบชุกบริเวณภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีอัตราการติดเชื้อเฉื่อยในประเทศไทยประมาณ 2,000-3,000 รายต่อปี⁷ อาการของโรคโดยทั่วไป ไม่มีอาการจำเพาะ เกิดอาการได้หลากหลาย ตั้งแต่ไม่มีอาการ มีการติดเชื้อที่ผิวหนัง ไปจนถึงอาการเจ็บป่วยรุนแรง อาทิ ปอดบวม และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น แพทย์วินิจฉัยโรคจากลักษณะอาการ ผื่นองเื่อรังตามอวัยวะต่างๆ หรือภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยแบบเรื้อรัง แสดงอาการของโรคไม่ชัดเจนหลังจากได้รับเชื้อเป็นเวลาหลายปี โดยทั่วไปผู้ที่ติดเชื้อมีโอกาสเสียชีวิตสูงถึง 40%

B. pseudomallei สามารถติดต่อได้หลากหลายวิธี คือผ่านทางหายใจ ทางผิวหนัง และทางระบบทางเดินอาหาร เมื่อแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายมนุษย์หรือสัตว์ แบคทีเรียอยู่อาศัยได้ทั้งภายในและภายนอกเซลล์เจ้าบ้าน โดยแบคทีเรียใช้กลไกในการอยู่รอดในแต่ละสภาวะแตกต่างกัน *B. pseudomallei* มีกลไกหลากหลายชนิดในการก่อโรค นอกจากสามารถอยู่ภายนอกเซลล์เช่นแบคทีเรียทั่วไปและภายในเซลล์เจ้าบ้านทั้ง phagocytic cell และ non-phagocytic cell (เซลล์ทั่วไปที่ไม่เกิดขบวนการฟาโกไซโทซิส) *B. pseudomallei* ยังมีโครงสร้างและกลไกพิเศษ อาทิ แคปซูล ระบบการสื่อสารระหว่างเซลล์ (quorum sensing) และระบบขนส่งสารต่างๆ เช่น Type III secretion system หรือ T3SS และ Type 6 secretion system หรือ T6SS โดยโครงสร้างเหล่านี้จะมีส่วนสำคัญในการก่อโรค และขัดขวางการทำลายจากเซลล์เจ้าบ้านได้อีกด้วย

วงจรชีวิตและการอยู่รอดจากสภาวะแวดล้อมภายนอกเซลล์เจ้าบ้าน

B. pseudomallei สามารถอยู่รอดภายนอกเซลล์เจ้าบ้านโดยอาศัย virulence factors ต่อไปนี้

แคปซูล (capsule) เป็นหนึ่งในปัจจัยการก่อโรค ทำให้ *B. pseudomallei* อยู่รอดในระบบเลือดได้ เนื่องจากแคปซูลช่วยป้องกันการดักจับของ C3b โมเลกุลในระบบคอมพลีเมนต์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการจับแบบจำเพาะหรือเกิดการทำลายผิวเซลล์ของแบคทีเรีย โดยระบบ membrane attack complex⁸

เพื่อควบคุมจำนวนประชากรและการแสดงออกของยีนต่างๆ *B. pseudomallei* ใช้ quorum sensing ในการติดต่อสื่อสารระหว่างแบคทีเรียผ่านสารตัวกลางการสื่อสารที่เรียกว่า autoinducer ซึ่งระบบ quorum sensing นี้ช่วยให้ *B. pseudomallei* ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และควบคุมขบวนการก่อโรคได้^{1,2,9} เช่น ควบคุมการผลิต siderophores ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ช่วยนำธาตุเหล็กเข้าสู่แบคทีเรียเพื่อการเจริญเติบโต^{10,11} เอ็นไซม์ phospholipase c ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เจ้าบ้าน โดยตัดโครงสร้างฟอสโฟไลพิด (phospholipid) ในเยื่อหุ้มเซลล์^{10,12} และการสร้างไบโอฟิล์ม (biofilm) เป็นต้น¹⁰

แฟลกเจลล่า (flagella) เป็นอีกหนึ่งโครงสร้างสำคัญที่แบคทีเรียใช้ในการเคลื่อนที่ภายนอกเซลล์ มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายแบคทีเรียไปยังอวัยวะต่างๆ และขยายความรุนแรงในการก่อโรค โดยยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการทำงานของแฟลกเจลล่าสามารถควบคุมยีนชนิดอื่นๆ ที่มีผลต่อความรุนแรงในการก่อโรคได้ นอกจากนี้แฟลกเจลล่ายังมีบทบาทในกระบวนการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านของแบคทีเรียซึ่งจะกล่าวในลำดับถัดไป^{13,14,15}

กลไกการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน

B. pseudomallei สามารถเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านได้ ทั้งเซลล์ที่เป็น phagocytic cell และ non-phagocytic cell ในการยึดเกาะและเหนี่ยวนำการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน *B. pseudomallei* อาศัยกระบวนการและสารต่างๆ อาทิ adhesin เพื่อเกาะติดกับเซลล์เจ้าบ้าน และ actin polymerization เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวเซลล์เจ้าบ้าน นับเป็นกลไกหลักที่แบคทีเรียใช้ในการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน อย่างไรก็ตามการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการ actin polymerization ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด¹⁶ นอกจากนี้ *B. pseudomallei* ยังอาศัย Type III secretion system (T3SS) เพื่อขนส่งสารต่างๆ เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน และ flagella ยังสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดขบวนการเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านได้²

วงจรชีวิตและการอยู่รอดภายในเซลล์เจ้าบ้าน

โดยปกติเมื่อแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน เซลล์เจ้าบ้านมีขบวนการกำจัดโดยทำให้เอนโดโซม (endosome)

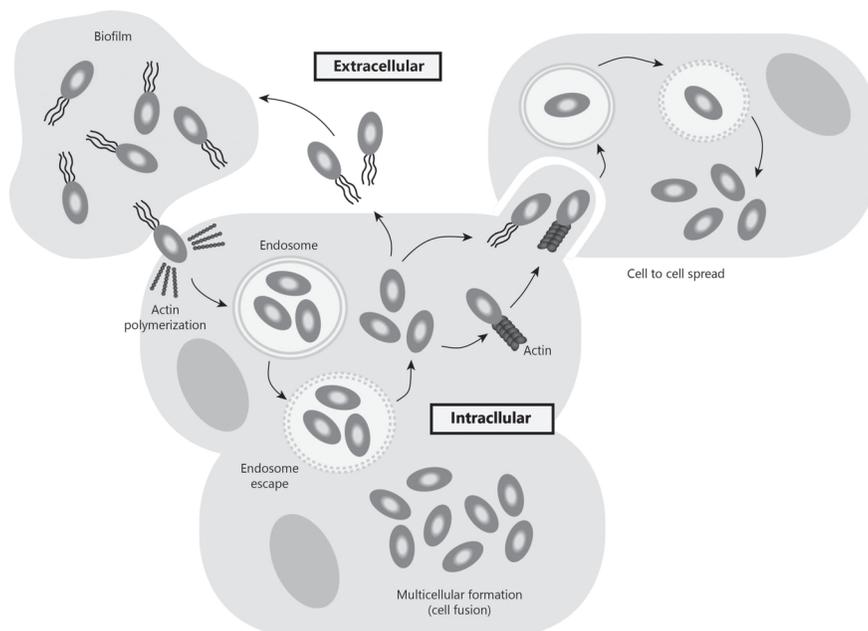
ที่บรรจุแบคทีเรียหลอมรวมกับอวัยวะภายในเซลล์ที่เรียกว่าไลโซโซม (lysosome) ซึ่งบรรจุเอนไซม์ในการย่อยต่างๆ ทั้งนี้ *B. pseudomallei* อยู่รอดจากเซลล์เจ้าบ้านได้โดยการหลบหนีออกจาก endosome มาที่ไซโตพลาสซึม ก่อนที่ถูกหลอมรวมตัวกันกับอวัยวะ lysosome ซึ่งเป็นอวัยวะย่อยของเหลือในเซลล์ ดังรูปภาพที่ 1 ซึ่งกลไกในการหลบหนีเช่นนี้ อาศัย T3SS^{1,2,16}

สำหรับเซลล์เจ้าบ้านที่เป็น phagocytic cell หรือ แมคโครฟาจ (macrophage) พบว่า *B. pseudomallei* สามารถยับยั้งกลไกการทำลายแบคทีเรียของ macrophage ได้โดยลดความสามารถในการผลิต interferon ชนิด γ (IFN- γ) และ β (IFN- β) ส่งผลต่อการผลิต nitric oxide ซึ่งเป็นสารอิสระที่เป็นพิษต่อแบคทีเรีย โดยนักวิทยาศาสตร์ สมมุติฐานว่าการยับยั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก lipopolysaccharide (LPS) บนผิวของ *B. pseudomallei*^{17,18}

นอกจากนี้ *B. pseudomallei* ยังเหนี่ยวนำให้เกิดพยาธิสภาพที่เป็นลักษณะเด่นของการติดเชื้อ *B. pseudomallei* คือการรวมตัวกันของแบคทีเรียและเกิด multi-nucleated giant cells (MNGC) ซึ่งพยาธิสภาพนี้จะเอื้อให้แบคทีเรียมีวงจรชีวิตและการอยู่รอดภายในเซลล์เจ้าบ้านดียิ่งขึ้น^{1,2}

การแพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียง

นอกจากความสามารถในการอยู่รอดภายในเซลล์เจ้าบ้านแล้ว *B. pseudomallei* ยังสามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียงได้ (cell-to-cell spread) เริ่มจากการสร้างแฟลกเจลล่า เกิดการรวมตัวกันของผนังเซลล์ (cytoskeleton) และรับแบคทีเรียเข้าไปในรูปของโครงสร้าง endosome โดยมีโปรตีน BimA เป็นตัวควบคุม ดังรูปภาพที่ 1 จากนั้นแบคทีเรียสามารถย่อยสลายและหลบหนีออกจาก endosome สู่ไซโตพลาสซึมเป็นวัฏจักรชีวิตของ *B. pseudomallei* ต่อไป^{1,2}



รูปภาพที่ 1 ภาพวงจรชีวิตภายนอก และภายในเซลล์เจ้าบ้านของ *Burkholderia pseudomallei* (วาดโดยนายธนฤต ปันยารชุน ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 2)

กลไกการดื้อยาปฏิชีวนะ

B. pseudomallei มีความทนทานและดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลากหลายชนิด อาทิ aminoglycosides tetracyclines และ macrolides^{19,20} ทำให้การรักษาโรค melioidosis ยุ่งยาก การดื้อยาปฏิชีวนะของ *B. pseudomallei* มีกลไกหลายอย่างเช่นการสร้างเอนไซม์ class A β -lactamase เพื่อทำลายยาปฏิชีวนะชนิด β -lactame การกลายพันธุ์เพื่อเปลี่ยนเป้าหมายของยา รวมถึงขบวนการ efflux pump เพื่อขับยาออกและโครงสร้าง outer membrane ของแบคทีเรียนี้ที่แตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่นเพื่อป้องกันการแพร่ของยาเข้าสู่เซลล์^{20,21}

การรักษา

การรักษาโรค melioidosis ใช้ยาปฏิชีวนะที่มีความไวต่อเชื้อแต่เนื่องจาก *B. pseudomallei* มีความสามารถในการทนและดื้อยาปฏิชีวนะหลากหลายชนิด ส่งผลให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยค่อนข้างสูง จัดเป็นโรคที่มีความรุนแรงมาก โดยการรักษาในระยะแรกหลังจากตรวจพบโรคจะเป็นการรักษาโดยการให้ยาปฏิชีวนะผ่านทางเส้นเลือด เป็นระยะเวลา 10-14 วัน หลังจากนั้นจะให้กินยาปฏิชีวนะต่อเป็นเวลา 3-6 เดือน²² นอกจากนี้ในปัจจุบันยังได้มีการพัฒนาชุดตรวจโรคที่มีประสิทธิภาพ เพื่อความรวดเร็วและแม่นยำในการวินิจฉัยและรักษาโรคนี้^{23,24}

สรุป

B. pseudomallei เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบทั่วไปตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดโรค melioidosis ซึ่งเป็นโรคที่มีความรุนแรง พบมากบริเวณภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ จากสถิติพบว่าประเทศไทยมีประชากรที่ป่วยด้วยโรค melioidosis เพิ่มขึ้นทุกปี และมีปริมาณผู้ติดเชื้อมากที่สุดของโลก⁷ การรักษาในปัจจุบันยังใช้ยาปฏิชีวนะเป็นหลัก และต้องใช้เวลายาวนานในการรักษา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นาย ธนกฤต บันยารชุน สำหรับภาพประกอบและการศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- Allwood EM, Devenish RJ, Prescott M, Adler B, Boyce JD. Strategies for Intracellular Survival of *Burkholderia pseudomallei*. *Front Microbiol* 2011;2:170.
- Wiersinga WJ, van der Poll T, White NJ, Day NP, Peacock SJ. Melioidosis: insights into the pathogenicity of *Burkholderia pseudomallei*. *Nat Rev Microbiol* 2006;4(4):272-82.
- Petkanchanapong W. Melioidosis (Online). [cited 2016 Oct. 24] Available from: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=827.
- Peacock SJ, Chieng G, Cheng AC, Dance DA, Amornchai P, Wongsuvan G, et al. Comparison of Ashdown's medium, *Burkholderia cepacia* medium, and *Burkholderia pseudomallei* selective agar for clinical isolation of *Burkholderia pseudomallei*. *J Clin Microbiol* 2005;43(10):5359-61.
- โรคเมลิออยโดสิส (Melioidosis) (ออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.melioid.org/page/index.php?id=57218&f=th> สืบค้นเมื่อ 17 พฤศจิกายน 2559
- Reckseidler-Zenteno SL, DeVinney R, Woods DE. The capsular polysaccharide of *Burkholderia pseudomallei* contributes to survival in serum by reducing complement factor C3b deposition. *Infect Immun* 2005;73(2):1106-15.
- Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2(11). pii: a012427.
- Chan YY, Chua KL. The *Burkholderia pseudomallei* BpeAB-OprB efflux pump: expression and impact on quorum sensing and virulence. *J Bacteriol* 2005;187(14):4707-19.
- Phospholipase C (Online). [cited 2016 Oct. 24] Available from : https://en.wikipedia.org/wiki/Phospholipase_C

10. Haiko J, Westerlund-Wikström B. The role of the bacterial flagellum in adhesion and virulence. *Biology (Basel)* 2013;2(4):1242-67.
11. Chua KL, Chan YY, Gan YH. Flagella are virulence determinants of *Burkholderia pseudomallei*. *Infect Immun* 2003;71(4):1622-9.
12. Moule MG, Spink N, Willcocks S, Lim J, Guerra-Assunção JA, Cia F, et al. Characterization of New Virulence Factors Involved in the Intracellular Growth and Survival of *Burkholderia pseudomallei*. *Infect Immun* 2015; 84(3):701-10.
13. French CT, Toesca IJ, Wu TH, Teslaa T, Beaty SM, Wong W, et al. Dissection of the *Burkholderia* intracellular life cycle using a photothermal nanoblade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(29):12095-100.
14. Utaisincharoen P, Tangthawornchaikul N, Kespichayawattana W, Anuntagool N, Chaisuriya P, Sirisinha S. Kinetic studies of the production of nitric oxide (NO) and tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in macrophages stimulated with *Burkholderia pseudomallei* endotoxin. *Clin Exp Immunol* 2000;122(3):324-9.
15. Utaisincharoen P, Anuntagool N, Limposuwan K, Chaisuriya P, Sirisinha S. Involvement of beta interferon in enhancing inducible nitric oxide synthase production and antimicrobial activity of *Burkholderia pseudomallei* infected macrophages. *Infect Immun*. 2003;71(6):3053-7.
16. Mima T, Schweizer HP. The BpeAB-OprB efflux pump of *Burkholderia pseudomallei* 1026b does not play a role in quorum sensing, virulence factor production, or extrusion of aminoglycosides but is a broad-spectrum drug efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(8): 3113-20.
17. Schweizer HP. Mechanisms of antibiotic resistance in *Burkholderia pseudomallei*: implications for treatment of melioidosis. *Future Microbiol* 2012;7(12):1389-99.
18. Rhodes KA, Schweizer HP. Antibiotic resistance in *Burkholderia* species. *Drug Resist Updat* 2016;28:82-90.
19. Melioidosis. [cited 2016 October 30]. Available from URL: <http://www.cdc.gov/melioidosis/treatment/>
20. Chantratita N, Tandhavanant S, Wongsuvan G, Wuthiekanun V, Teerawattanasook N, Day NP, et al. Rapid detection of *Burkholderia pseudomallei* in blood cultures using a monoclonal antibody-based immunofluorescent assay. *Am J Trop Med Hyg* 2013;89(5):971-2.
21. Tandhavanant S, Wongsuvan G, Wuthiekanun V, Teerawattanasook N, Day NP, Limmathurotsakul D, et al. Monoclonal antibody-based immunofluorescence microscopy for the rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* in clinical specimens. *Am J Trop Med Hyg* 2013; 89(1):165-8.