Biofilm: Impact on Public Health

Khaemaporn Boonbumrung*

Research Group of Innovative Diagnosis of Antimicrobial Resitsance
Department of Transfusion Medicine and clinical microbiology, Faculty of Allied Health Sciences,
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Abstract

Infectious disease is a public health problem that directly affects people infected in terms of the survival rate, the prevention of epidemic and the guidelines for antibiotic resistance treatment. It also has an impact on economic loss. In 2021 the structure of the Thai population is transferring into a fully elderly society, which is the risk group for infection. In particular, treatment protocols with medical implantable devices are major factors in the infection and incidence of subsequent infections. It was found that the capability of biofilm formation was associated with chronic infection in the population. This article discusses the relationship between biofilm and infection, biofilm formation process, component of biofilm structure and strategies to treat biofilm associated infections. The information should provide current awareness to healthcare professionals and those interested in recognizing the impact of biofilm on the public, and are concerned to cope with this kind of infection.

Keywords: Biofilm, Public health

***Corresponding author E-mail address:** bkhaemaporn@gmail.com, khaemaporn.b@chula.ac.th

Received: February 20, 2018 Revised: April 14, 2018 Accepted: July 24, 2018

ไบโอฟิล์ม: ผลกระทบต่อการสาธารณสุข

*เขมาภรณ์ บุญบำรุง**

กลุ่มวิจัยนวัตกรรมตรวจวินิจฉัยเชื้อดื้อยา
ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันโรคติดเชื้อเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่ก่อให้เกิดผลโดยตรงต่อผู้ติดเชื้อ ได้แก่ อัตราการรอดชีวิต วิธีป้องกันการแพร่ระบาด และแนวทางการรักษากรณีพบเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ นอกจากนั้นยังมีผลกระทบต่อความสูญเสียทางเศรษฐกิจจากโครงสร้างของประชากรไทยที่จะเข้าสู่สังคมสูงวัยอย่างสมบูรณ์ในปี พ.ศ. 2564 เพราะเป็นกลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อ โดยเฉพาะเมื่อต้องรักษาโดยการใส่อุปกรณ์ทดแทนในร่างกาย ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญและมีอุบัติการณ์การติดเชื้อตามมา พบว่าความสามารถในการสร้างไบโอฟิล์มของจุลชีพมีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเรื้อรังในผู้ป่วยกลุ่มนี้ บทความนี้เป็นการบรรยายให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างไบโอฟิล์มกับการติดเชื้อ กระบวนการสร้างไบโอฟิล์ม องค์ประกอบโครงสร้างของไบโอฟิล์ม และแนวทางการรักษาการติดเชื้อที่มีความเกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์ม เพื่อเป็นข้อมูลให้บุคลากรทางการแพทย์และผู้สนใจได้ตระหนักถึงผลกระทบของไบโอฟิล์มต่อวงการสาธารณสุข และหาแนวทางในการรับมือกับการติดเชื้อรูปแบบนี้

คำสำคัญ: ไบโอฟิล์ม สาธารณสุข

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** bkhaemaporn@gmail.com, khaemaporn.b@chula.ac.th
รับบทความ: 20 กุมภาพันธ์ 2561 แก้ไขบทความ: 14 เมษายน 2561 รับตีพิมพ์บทความ: 24 กรกฎาคม 2561

บทนำ

การค้นพบจุลชีพครั้งแรกโดย Antony van Leeuwenhoek ในปี พ.ศ. 2219 จากการศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์ที่ประดิษฐ์ด้วยตนเอง พบบันทึกรายงานรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียและกล่าวถึงการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียที่มีรูปร่างแตกต่างกัน[1] จากการค้นพบนี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์ในยุคนั้นสนใจค้นคว้าต่อเนื่องภายใต้กรอบแนวคิดมุ่งศึกษาแบคทีเรียเจาะจงแต่ละชนิดเท่านั้น ต่อมาในปี พ.ศ. 2483 Heukelekian ได้รายงานผลการศึกษาที่บ่งชี้ว่าพื้นผิวสัมผัสมีความเกี่ยวข้องในการกระตุ้นให้แบคทีเรียมีการเจริญดีขึ้น[2] จากนั้นจึงเริ่มมีการแตกแขนงความคิดเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตร่วมกันของแบคทีเรียต่างชนิด ในหลากหลายบริบท เช่น ความเกี่ยวข้องกับเชื้อก่อโรค อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม นิเวศน์ทางทะเล เป็นต้น[3] แต่ยังคงอยู่ภายใต้แนวคิดที่เข้าใจว่าการเกิดไบโอฟิล์มนั้นเริ่มจากเชื้อเกาะติดบนพื้นผิว จากนั้นจึงแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นในแนวราบร่วมกับการสร้างสารเมือกล้อมรอบเซลล์จนเกิดเป็นโครงสร้างไบโอฟิล์ม จนเมื่อมีการพัฒนาเครื่องมือที่ทันสมัยสามารถตรวจสอบโครงสร้างของไบโอฟิล์มได้[4] ทำให้นักวิทยาศาสตร์ประจักษ์ว่าไบโอฟิล์มนั้นเป็นการอยู่ร่วมกันของแบคทีเรียหลากหลายสายพันธุ์ในโครงสร้างที่ซับซ้อน มีกลไกควบคุมการผ่านเข้าออกของสารอาหาร มีการพัฒนาโครงสร้างเป็นลำดับชั้นเติบโตสูงขึ้นจนเกิดเป็นรูปโดม หลังจากการค้นพบนี้ทำให้เกิดความสนใจตื่นตัวมากขึ้น ไม่เพียงเฉพาะในหมู่นักวิทยาศาสตร์ หรือนักจุลชีววิทยา ยังมีวิศกรที่เกี่ยวข้องกับการออกแบบอุตสาหกรรม และบุคลากรในวงการแพทย์ด้วย ผลกระทบที่เกิดจากไบโอฟิล์มนี้มีในหลายวงการทั้งอุตสาหกรรมที่มีน้ำเข้ามาเกี่ยวข้องโดยเฉพาะการผลิตอาหารและยา ผลกระทบต่อสุขภาพซึ่งส่งผลต่อเนื่องถึงเศรษฐกิจมีค่าใช้จ่ายหลายพันล้านดอลลาร์ต่อปี จากการสูญเสียพลังงาน อุปกรณ์ได้รับความเสียหาย เกิดการปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ และการติดเชื้อทางการแพทย์[5, 6]

ความหมายของไบโอฟิล์ม

ไบโอฟิล์ม (biofilm) เป็นการรวมกลุ่มกันของจุลชีพที่เริ่มจากการเกาะติดบนพื้นผิวที่มีความชื้นสูงหรืออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีของเหลวล้อมรอบ โดยจุลชีพเหล่านี้ร่วมกันผลิตพอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นเมทริกซ์ประกอบด้วยสารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ทำหน้าที่เป็นโล่ป้องกันสมาชิกที่อยู่ภายในโครงสร้าง ทั้งนี้สภาพภายในโครงสร้าง รวมทั้งการเจริญและเพิ่มจำนวน มีความแตกต่างจากจุลชีพชนิดเดียวกันที่อยู่ในสภาวะเซลล์เดี่ยว[5] ลักษณะรูปร่างของไบโอฟิล์มมีความแตกต่างกันตามชนิดของจุลชีพ และสภาพแวดล้อมเป็นหลัก

การสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อจุลชีพ

จากการติดตามขั้นตอนการพัฒนาโครงสร้างไบโอฟิลม์[3] มีการกล่าวถึงการเคลื่อนที่ของเชื้อแบคทีเรียวนไปมาจนเกาะติดบนพื้นผิว หลังได้รับสัญญาณจากสิ่งรอบตัว ซึ่งมีข้อสังเกตว่าน่าจะเป็นสารเคมีจากเชื้อจุลชีพส่งสัญญาณ (communication network) ให้สมาชิกอื่นรับรู้ ที่เรียกกันว่า Quorum sensing (QS)[6, 7] จนทำให้เกิดการรวมตัวกันของแบคทีเรีย ในลำดับนี้แบคทีเรียบางเซลล์อาจหลุดล่องลอยและกลับมาเกาะติดได้อีก จากนั้นจึงเริ่มมีการสร้างโคโลนี และเพิ่มจำนวนราว 4 รอบของการแบ่งตัว โดยนักวิจัยสังเกตพบโคโลนีขนาดเล็กเกิดขึ้นใหม่ ซึ่งแสดงว่าแบคทีเรียมีการแยกตัวออกจากโครงสร้างไบโอฟิล์มเดิม เคลื่อนที่มาเกาะพื้นผิวใหม่และเริ่มขั้นตอนการสร้างไบโอฟิล์มใหม่ต่อไป[8] การตอบสนองต่อสัญญาณนับเป็นกลไกสำคัญอย่างหนึ่งที่จุลชีพใช้ควบคุมการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมและมีผลต่อการแสดงออกของยีนหลายชนิด รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้อง

กับปัจจัยก่อโรค (virulence genes) การก่อตัวของไบโอฟิล์มอาจแบ่งได้เป็นห้าขั้นตอนดังนี้[9] **ขั้นที่หนึ่ง** แบคทีเรียเริ่มเกาะติดบนพื้นผิวแบบสามารถผันกลับได้ (reversible) เกิดปฏิสัมพันธ์ทางฟิสิกส์เคมี (physicochemical interaction) ระหว่างเชื้อแบคทีเรียกับพื้นผิว โดยแรงทางฟิสิกส์จะนำแบคทีเรียไปยังพื้นผิว ด้วยการเคลื่อนที่แบบบราวเนียน (Brownian motion) ซึ่งเป็นการเคลื่อนที่แบบไร้ทิศทาง ทำให้เกิดลักษณะการแพร่กระจาย หรือการเคลื่อนที่จากอิทธิพลของของเหลวที่เคลื่อนผ่าน ทำให้แบคทีเรียเคลื่อนที่ได้เร็วขึ้นและมีทิศทางเดียวกับการเคลื่อนที่ของของเหลว หรือการเคลื่อนที่จากแรงต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น แรงโน้มถ่วง แรงแวนเดอร์วาลส์ และประจุของพื้นผิววัสดุ ล้วนมีผลต่อการยึดเกาะ[10-12] ส่วนปัจจัยทางเคมีที่เหนี่ยวนำจุลชีพไปยังพื้นผิว (chemo-attractants) เช่น กรดอะมิโน และน้ำตาล มีผลให้เกิดการเคลื่อนที่เร็วที่สุด นอกจากนี้ยังมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมเพิ่มเติม ที่มีผลต่อการยึดเกาะ ได้แก่ ความดัน สภาวะความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจน และอุณหภูมิ[13, 14] แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างกันก็จะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกาะติดของเซลล์ที่แตกต่างกัน การยึดเกาะกับพื้นผิวในระยะนี้อาจไม่เข้าสู่กระบวนการสร้างไบโอฟิล์ม โดยอาจหลุดออกจากพื้นผิวกลับไปเป็นเซลล์อิสระ (planktonic cells) และล่องลอยต่อไป[15] **ขั้นที่สอง** แบคทีเรียมีการยึดเกาะแบบจำเพาะมากขึ้นระหว่างโครงสร้างของแบคทีเรียกับพื้นผิวที่ยึดเกาะ โดยไม่สามารถผันกลับไปอยู่ในสภาวะล่องลอยเป็นเซลล์อิสระได้ แม้จะมีการเคลื่อนที่ของของเหลวในลักษณะแรงเฉือนก็ตาม แบคทีเรียก็ยังคงยึดเกาะติดกับพื้นผิวได้อย่างมั่นคง โดยอาศัยโครงสร้างภายนอก เช่น พิไล (pili) แฟลก-เจลลา (flagella) แคปซูล (capsule) ทำให้มีการยึดเกาะกับอุปกรณ์หรือเนื้อเยื่อแน่นขึ้น[16] โดยแฟลก-เจลลามีบทบาทสำคัญในการเข้ายึดเกาะกับพื้นผิวในช่วงเริ่มต้น[14, 17] เมื่อมีการเข้ายึดเกาะโดยจุลชีพชนิดใดชนิดหนึ่งแล้วจะสามารถเหนี่ยวนำให้จุลชีพชนิดอื่นเข้าร่วมเกาะพื้นผิวในบริเวณเดียวกันได้ ในระยะเริ่มต้นของการยึดเกาะกับพื้นผิว เซลล์จะเรียงตัวเป็นชั้นเดียว (monolayer) จากนั้นจึงเริ่มมีการเรียงตัวเป็นชั้นถัดขึ้นมาด้วยการเคลื่อนที่แบบคืบคลานไปบนชั้นเซลล์เดิม (twitching motility) โดยอาศัยโครงสร้าง type IV pili ในระยะนี้เซลล์จับกันเป็นกลุ่ม เรียกว่า microcolonies ซึ่งหากสายพันธุ์ใดมีความผิดปกติในการสังเคราะห์พิไลจะไม่พบลักษณะ microcolonies[18, 19] **ขั้นที่สาม** เป็นระยะแรกของการสร้างชั้นไบโอฟิล์ม โครงสร้างนี้ถูกปรับเปลี่ยนตอบสนองต่อผลกระทบจากสภาพแวดล้อมภายนอกไบโอฟิล์ม เพื่อการอยู่รอดของเซลล์ที่อยู่ภายในโครงสร้างซึ่งมีความหนาได้มากกว่า 10 ไมโครเมตร[5] โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีส่วนร่วมในการยึดเกาะกับพื้นผิว เช่น ไลโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก มีส่วนสำคัญในการเกาะติดกับพื้นผิวของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*[19] สารอีกชนิดหนึ่งที่พบได้ในขั้นตอนการพัฒนาโครงสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรีย คือ acylhomoserine lactone (acyl-HSLs) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การก่อตัวของไบโอฟิล์ม เมื่อมีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นจะพบสาร acyl-HSLs เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ผลจากสารสื่อสัญญาณนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์[20,21] เมื่อกระบวนการยึดเกาะเริ่มมีโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้น จุลชีพภายในเริ่มปรับตัวได้และแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน พร้อมกับสร้างสารพอลิเมอร์ที่เรียกว่า extracellular polymeric substances (EPS) ซึ่งประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ กรดนิวคลิอิก และโปรตีน ทำหน้าที่ยึดเกาะและป้องกันเซลล์ภายในโครงสร้าง เมื่อถึงขั้นตอนนี้จะพบเซลล์รวมกลุ่มเรียงซ้อนกันขึ้นมา อย่างไรก็ตาม ภายใต้โครงสร้างไบโอฟิล์มเดียวกันนี้

สามารถพบจุลชีพต่างชนิดอยู่รวมกันได้ โดยยังคงสมบัติของสายพันธุ์เดิม จากการเปรียบเทียบความแตกต่างและความซับซ้อนในองค์ประกอบของ EPS หรือจุลชีพชนิดเดียวกันเมื่ออยู่ในสภาวะ สิ่งแวดล้อมและแหล่งอาหารที่ต่างกัน พบมีองค์ประกอบของ EPS ที่ต่างกันได้ จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า กระบวนการสร้างไบโอฟิล์มของแบคทีเรียมีความแตกต่างอย่างหลากหลาย[22] หากพิจารณาในระดับชั้นของโครงสร้างไบโอฟิล์มที่สร้างขึ้นพบว่าชุดแรกที่เกาะติดบนพื้นผิวที่ระดับชั้นล่างสุดยังคงสมบัติทางพันธุกรรมอย่างครบถ้วน แต่ได้ปรับตัวให้มีระดับเมแทบอลิซึมลดลง ส่วนเซลล์ที่อยู่บริเวณชั้นกลางมีระดับเมแทบอลิซึมลดลงเช่นเดียวกัน แต่พบว่าเชื้อมีการแลกเปลี่ยนชิ้นสารพันธุกรรมรวมทั้งยืนดื้อยาปฏิชีวนะระหว่างเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกันได้ เซลล์ระดับบนหรือผิวของไบโอฟิล์มเป็นชั้นที่ป้องกันโครงสร้าง บริเวณนี้ พบว่าเชื้อมีสมบัติใกล้เคียงกับเซลล์ที่ล่องลอยเดี่ยว ๆ เมื่อโครงสร้างของไบโอฟิล์มถูกพัฒนาใหญ่ขึ้นทำให้มีความหนาได้มากกว่า 100 ไมโครเมตร **ขั้นที่สี่** ระยะนี้ตรวจพบการเพิ่มจำนวนเซลล์ภายในโครงสร้างไบโอฟิล์ม เกิดการขยายขนาดใหญ่ขึ้นจนเป็น macrocolony หรือโครงสร้างไบโอฟิล์มที่สมบูรณ์ (mature biofilm) เซลล์ที่อยู่ภายในโครงสร้างถูกจำกัดด้วยอาหาร พื้นที่และของเสียที่เซลล์ขับออกมา ถึงแม้มีการปรับตัวให้อยู่ในสภาวะจำศีล โดยการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการแบ่งตัว มีความแตกต่างจากเซลล์ที่ล่องลอยอย่างอิสระอยู่นอกโครงสร้าง[23] **ขั้นที่ห้า** เป็นระยะสุดท้าย เริ่มมีสัญญาณที่บ่งบอกถึงความหนาแน่นของเซลล์ในโครงสร้างนี้ มีการขับเอนไซม์ช่วยย่อยสลายโครงสร้าง นำไปสู่การกระจายตัวออกจากโครงสร้างไบโอฟิล์ม เรียกกระบวนการนี้ว่าการปลดปล่อยเซลล์ (releasing)[24, 25] ภายในให้ล่องลอยและเกิดการเกาะติดบนพื้นผิวใหม่ มีหลักฐานว่าเซลล์ที่หลุดออกจากโครงสร้างไบโอฟิล์มมีรูปแบบโปรตีนใกล้เคียงกับเซลล์ที่ล่องลอยเป็นอิสระ[25] จึงเป็นการยืนยันว่าเซลล์ที่กระจายตัวออกจากไบโอฟิล์มแล้วสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมเดิมเช่นเดียวกับเซลล์ที่เป็นอิสระ[26] และพร้อมจะเริ่มกระบวนการเกาะติดพื้นผิวและสร้างไบโอฟิล์มกลุ่มใหม่ต่อไป ทำให้เกิดการแพร่กระจายไบโอฟิล์ม ปัจจัยที่เร่งให้เกิดการแตกตัวมีทั้งขนาดของโครงสร้างและแรงเฉือนที่เกิดจากการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงของของเหลวที่เคลื่อนผ่านโครงสร้าง[9] ในมุมมองของการติดเชื้อการแตกตัวของโครงสร้างไบโอฟิล์มจะทำให้เกิดการแพร่กระจายเชื้อในระยะลุกลาม

องค์ประกอบโครงสร้างของไบโอฟิล์ม

เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (exopolysaccharides) เป็นองค์ประกอบหลักของโครงสร้าง ซึ่งมีสัดส่วนได้สูงถึงร้อยละ 90 ประกอบด้วยสารอินทรีย์หลายชนิดแตกต่างกันตามชนิดของจุลชีพภายใน โดยส่วนมากเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติทั้งไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และชอบน้ำ (hydrophilic) ทั้งนี้สมบัติการละลายน้ำขึ้นกับชนิดของสารประกอบ เช่น เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักประกอบด้วย 1,3- หรือ 1,4 -ß-linked hexose residues มีความแข็งแรงไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำไม่ดี แต่หากเป็นชนิดอื่นจะละลายน้ำได้ดีกว่า ทำให้มีสมบัติอุ้มน้ำได้ดี สารประกอบภายในโครงสร้างไบโอฟิล์มมีความซับซ้อนมาก สามารถพบโปรตีน ไขมัน และที่น่าสนใจมีการตรวจพบสารพันธุกรรมชนิด extra-cellular DNA (eDNA) ซึ่งมีส่วนสำคัญในการส่งต่อ ถ่ายทอดแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรมให้สมาชิกที่อยู่ภายใน[27] เซลลูโลสที่พบได้จากไซยาโนแบคทีเรียหรือส่วนประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา สามารถพบสารนี้ในเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในระบบลำไส้ทั้งชนิดที่เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น *E. coli* และเชื้อก่อโรค *Salmonella*

typhimurium[22] ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมลบสารประกอบพอลิเมอร์มักเป็นชนิดประจุลบหรือเป็นกลาง ทำให้เชื่อมต่อกับสารที่มีประจุบวก เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เกิดโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้น ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกจะพบสารประกอบที่เป็นประจุบวก ดังที่กล่าวข้างต้นแล้วว่าเชื้อที่อยู่ภายใต้โครงสร้างนี้อาจเป็นเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดผสมกันก็ได้ แต่ไบโอฟิล์มที่มีเชื้อชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบมีความหนาน้อยกว่าไบโอฟิล์มที่เกิดจากเชื้อผสม[28] ทั้งนี้มีงานวิจัยจำนวนมากที่กล่าวถึงความสัมพันธ์แบบพึ่งพาเมื่ออยู่ร่วมกันของเชื้อหลายชนิดภายใต้โครงสร้างไบโอฟิล์ม เช่น เชื้อก่อโรคบางชนิดไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะนี้ แต่เมื่ออยู่ร่วมกับเชื้อประจำถิ่นกลับพบว่าสามารถสร้างไบโอฟิล์มและอยู่ร่วมกันได้ในสภาวะเดียวกัน[5] ทั้งนี้ยังไม่สามารถอธิบายกลไกที่แน่ชัดในการอยู่ร่วมกันได้ ภายในโครงสร้างของไบโอฟิล์มที่ประกอบด้วยหลายชั้นตรวจพบช่องทางขนส่งแทรกอยู่ทำหน้าที่ลำเลียงอาหาร แร่ธาตุ สารที่จำเป็นไปยังกลุ่มย่อยที่อยู่ภายในโครงสร้าง และขนส่งของเสียออกจากโครงสร้าง เมื่อไบโอฟิล์มอยู่ในสภาพแวดล้อมใดก็จะมีรูปแบบปรับตามสภาพ ทำให้องค์ประกอบของโครงสร้างไม่ใช่มีเพียงเชื้อแบคทีเรียและสสารที่เชื้อผลิตออกมาเท่านั้น แต่ยังมีส่วนประกอบจากสภาวะแวดล้อมรอบตัวเข้ามาร่วมในโครงสร้างนี้ด้วย เช่น เม็ดเลือดแดง ไฟบริน ที่พบได้จากตัวอย่างลิ้นหัวใจเทียมในผู้ป่วย endocarditis หรือกรณีผู้ป่วยที่ใส่สายสวนปัสสาวะเกิดการติดเชื้อ พบว่าเชื้อที่อยู่ภายในโครงสร้างผลิตเอมไซม์ยูรีเอสเพื่อสลายยูเรียในปัสสาวะเป็นแอมโมเนีย ทำให้สภาวะแวดล้อมเป็นด่างเพิ่มขึ้น มีการตกตะกอนของแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียมฟอสเฟต (หรือ hydroxyapatite) แมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต (หรือ struvite)[29] ตะกอนเหล่านี้ตรวจแยกได้จากโครงสร้างไบโอฟิล์ม เมื่อตะกอนนี้รวมตัวกันจะปิดกั้นทางเดินของสายสวนทำให้สายสวนอุดตันได้ หรือในระบบท่อน้ำอุตสาหกรรมสามารถเกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกัน โดยสารประกอบมักเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต หรือออกไซด์ของเหล็กที่มีสมบัติกัดกร่อนได้[30] ทำให้เกิดความเสียหาย

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์ม

Quorum sensing (QS) ขณะเกิดการสร้างไบโอฟิล์มจะมีการประสานงานระหว่างเซลล์ซึ่งอาจเป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดโดยการสื่อสารที่เรียกว่า quorum sensing (QS) ที่เข้ามามีบทบาทตั้งแต่เริ่มต้นเกาะติด จนถึงขั้นตอนสุดท้ายที่มีการแตกตัวของเซลล์ในไบโอฟิล์ม Davies และคณะพบว่าลักษณะโครงสร้างไบโอฟิล์มของ *Pseudomonas aeruginosa* ที่เกิดการกลายพันธุ์ของยีน *lasI* ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารสื่อ (QS) ที่มีขนาดบางกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม และยังถูกทำลายได้ด้วย sodium dodecyl sulfate ซึ่งมีสมบัติเป็นสารทำความสะอาด แต่เมื่อได้เติมสารสื่อชนิดสังเคราะห์พบว่าโครงสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อกลายพันธุ์นั้นกลับมามีโครงสร้างเทียบเท่ากับสายพันธุ์ดั้งเดิม จึงกล่าวได้ว่าสารสื่อนี้เป็นปัจจัยสำคัญหนึ่งที่ทำให้โครงสร้างไบโอฟิล์มมีความสมบูรณ์[31] บทบาทของสารสื่อจะทำหน้าที่ส่งสัญญาณต่อไปยังยีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อการอยู่รอดของเชื้อ รวมทั้งการสร้างไบโอฟิล์ม การปรับเปลี่ยนอัตราเมแทบอลิซึมของเซลล์ที่อยู่ในสภาวะเปลี่ยนไป ทำให้บางครั้งเรียกสารกลุ่มนี้ว่า autoinducer สามารถแบ่งสารนี้ออกเป็นหลายกลุ่ม เช่น กลุ่ม acylated homoserine lactones (AHL) ที่พบในแบคทีเรียแกรมลบ กลุ่มสารประกอบเปปไทด์ที่พบในแบคทีเรียแกรมบวก อย่างไรก็ตามสารสื่อนี้ไม่เพียงแต่เกี่ยวข้องกับการสร้างไบโอฟิล์มเท่านั้น ยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับปัจจัยความรุนแรงของเชื้อ[32] โดยเชื่อว่าเป็นการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้สารสื่อนี้สามารถกระตุ้นการ

ทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรค

สภาพพื้นผิว สภาพพื้นผิวในการเกาะติดของเชื้อเป็นอีกปัจจัยที่น่าสนใจ มีหลายรายงานกล่าวตรงกันว่าเชื้อจะเกาะติดกับวัสดุที่มีสมบัติแบบ hydrophobic หรือกลุ่มชนิดไม่มีขั้ว (nonpolar) เช่น เทฟลอน หรือพลาสติกอื่นๆ ได้ดีกว่าแบบ hydrophilic หรือกลุ่มมีขั้ว เช่น แก้ว หรือโลหะบางชนิด[5] ผลการเกาะติดจะดียิ่งขึ้นเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีของเหลว หรือมีความชื้นสัมพัทธ์สูง ผิวของวัสดุที่ขรุขระสามารถลดแรงที่กระทบต่อโครงสร้างได้

สภาวะแวดล้อมภายนอก ความเป็นกรดด่าง สารอาหาร ความแรงของไอออน อุณหภูมิ เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งจะทำให้เชื้อภายในโครงสร้างเกิดการปรับตัวตาม เช่น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไอออนและสารอาหารมากขึ้น จะพบปริมาณเชื้อที่เกาะติดพื้นผิวได้เพิ่มขึ้นเช่นกัน[33]

โครงสร้างภายนอกของเซลล์ โครงสร้างภายนอกของเซลล์มีส่วนช่วยในการเคลื่อนที่ โดยแฟลกเจลลาทำหน้าที่ช่วยให้เชื้อเคลื่อนที่ไปยังบริเวณพื้นผิวที่เหมาะสมได้ แม้จะมีแรงต้านจากสภาพแวดล้อมก็ตาม ส่วนพิไลทำหน้าที่ช่วยเกาะติด เนื่องด้วยพิไลมีองค์ประกอบตรงส่วนปลายเป็นกรดอะมิโนชนิดไม่มีขั้ว จึงทำให้ส่วนประกอบนี้แสดงสมบัติ hydrophobic แตกต่างจากโครงสร้างอื่นของผนังเซลล์แบคทีเรียที่เป็นประจุลบ[34] จากสมบัตินี้ทำให้พิไลสามารถยึดเกาะติดกับพื้นผิวต่างๆ ได้ดี อย่างไรก็ตามโครงสร้างภายนอกเช่น ลิพอพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ มีความจำเพาะกับการเกาะติดบนพื้นผิวที่เป็นแบบ hydrophilic ได้ดี เนื่องด้วยโครงสร้างทั้งสองชนิดนี้มีประจุรวมเป็นลบ

กลไกควบคุมการสร้างไบโอฟิล์มผ่าน cyclic di-AMP ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ทำหน้าที่สื่อสารลำดับที่สองที่ค้นพบล่าสุด ขณะนี้ทราบเพียงเป็นการรับข้อมูลจากสารกลุ่ม QS และจะเน้นต่อการตอบสนองเมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะไม่ปกติ โดยเซลล์จะพยายามรักษาสมดุลและป้องกันตัวเอง[35] และยังมีรายงานที่เชื่อมโยงสมบัติของ cyclic di-AMP กับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน[36]

การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์ม

การสร้างไบโอฟิล์มของจุลชีพมีความสัมพันธ์กับกลไกการก่อโรคโดยเฉพาะในผู้ป่วยบางกลุ่ม เช่น ผู้สูงอายุ ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ที่ได้รับยากดภูมิ ผู้ที่มีแผลบาดเจ็บเรื้อรัง และผู้ที่ใส่อุปกรณ์ทดแทนในร่างกาย[37] เมื่อพิจารณาโครงสร้างทางประชากรในปัจจุบันที่มีแนวโน้มเข้าสู่สังคมผู้สูงวัยที่จะพบผู้มีอายุตั้งแต่ 60 หรือ 65 ปีขึ้นไป[7] ในสัดส่วนสูงขึ้นเมื่อเทียบกับประชากรทั้งหมดโดยประชากรกลุ่มนี้มักพบอัตราการเกิดโรคเรื้อรังจากความเสื่อมเพิ่มมากขึ้น เช่น โรคไขข้อ โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคทางทันตกรรม รวมทั้งโรคเรื้อรังอื่นที่เป็นผลพวงจากการใช้ชีวิตประจำวันที่ยุ่งเหยิง ขาดการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ การรับประทานอาหารไม่ครบ 5 หมู่ เกิดปัญหาสุขภาพตามมา แนวโน้มกลุ่มผู้ป่วยที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์ม เช่น โรคระบบกระดูกและข้อในกลุ่มผู้สูงวัย ที่มักเกิดจากอุบัติเหตุลื่นล้ม ทำให้ผู้ป่วยหลายรายจำเป็นต้องได้รับการรักษาโดยการศัลยกรรมกระดูกอย่างทันท่วงที ซึ่งกระบวนการรักษาโดยการผ่าตัดเพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจึงจำเป็นที่ต้องให้ยาปฏิชีวนะร่วมในการรักษา[38] บางกรณีอาจมีความจำเป็นต้องใส่อุปกรณ์ทดแทนโครงสร้างเดิมที่ชำรุดเสียหาย เช่น ข้อเข่า เพื่อให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น สำหรับกลุ่มผู้ป่วยวิกฤติที่จำเป็นต้องใส่เครื่องมืออุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าร่างกาย ข้อมูลของ Transparency Market Research (TMR) ได้ประมาณการเกี่ยวกับตลาดเครื่องมือแพทย์ที่ใช้ฝังในร่างกาย (implantable medical devices) ในศัลยกรรมกระดูก ระบบหัวใจหลอดเลือด

และกระดูกสันหลัง พบว่าระหว่างปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2567 จะมีอัตราเติบโต สูงขึ้นถึงร้อยละ 4.9 โดยคิดเป็นมูลค่าสูงขึ้นจาก 32.2 พันล้านดอลลาร์ ในปี พ.ศ. 2558 เป็น 49.8 พันล้านดอลลาร์ ในปี พ.ศ. 2567[39] วัสดุเครื่องมือแพทย์ที่ฝังในร่างกายผู้ป่วยต้องมีสมบัติหลักคือการเข้ากันได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษ และไม่กระตุ้นระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายให้ทำงานผิดปกติ จากการสัมผัสโดยตรงกับเนื้อเยื่อและสารคัดหลั่งในร่างกาย วัสดุที่ใช้มีหลายชนิด เช่น โลหะที่มีการใช้ตั้งแต่อดีตที่มีการนำเหล็กกล้ามาตรึงกระดูก แผ่นทองคำครอบฟัน ซึ่งมีความทนทานแต่จะถูกกัดกร่อนได้ง่าย ปัจจุบันมีการพัฒนาโลหะผสมที่มีสมบัติทนต่อการกัดกร่อนได้มากขึ้น โดยนิยมใช้ในด้านศัลยกรรมกระดูก หลอดเลือด ทันตกรรม ในขณะที่วัสดุจำพวกพอลิเมอร์มีสมบัติยืดหยุ่น สามารถขึ้นรูปเป็นอุปกรณ์ต่าง ๆ ได้หลากหลายเหมาะสมในการใช้งาน ทั้งคอนแทคเลนส์ ฟันปลอม กระดูกเทียม ไหมเย็บแผล เป็นต้น เฉพาะด้านทันตกรรมวัสดุเซรามิกได้รับความนิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากมีความแข็งแรงสูง ทนต่อการกัดกร่อนสึกหรอได้ดี[40, 41] หากมีการใส่วัสดุอุปกรณ์แปลกปลอมเหล่านี้เข้าร่างกายจะต้องเกิดเป็นบาดแผล และเป็นสาเหตุเหนี่ยวนำให้กระบวนการภูมิคุ้มกันของร่างกายมีการตอบสนอง ทั้งนี้การตอบสนองจะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น สมบัติของวัสดุอุปกรณ์ ตำแหน่งที่วาง และระบบภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคล[42] กรณีที่ร่างกายผู้ป่วยต่อต้านต่อวัสดุเครื่องมือแพทย์ จะเกิดการอักเสบที่บาดแผล ทำให้ตำแหน่งที่วางวัสดุแปลกปลอมมีพังผืดล้อมรอบ อาจเกิดการติดเชื้อทั้งจากเชื้อประจำถิ่นจากผิวหนังของผู้ป่วยเอง หรือจากขั้นตอนการรักษาที่มีการปนเปื้อนเชื้อ แม้กระทั่งการติดเชื้อหลังจากผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลโดยใส่สายสวน ล้างไตผ่านทางช่องท้อง ใช้คอนแทคเลนส์ และโรคปริทันต์ เชื้อที่พบเป็นสาเหตุมีทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อรา การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับอุปกรณ์ทางการแพทย์นี้มีความสัมพันธ์กับการสร้างไบโอฟิล์มของจุลชีพ[43,44] ร่วมกับการตอบสนองต่อการอักเสบของเซลล์ร่างกาย จะช่วยส่งเสริมการสร้างไบโอฟิล์ม เนื่องจากพบว่ามีปฏิกิริยาระหว่างจุลชีพและโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบจากโฮสต์ มีส่วนร่วมสนับสนุนให้มีการยึดเกาะของจุลชีพกับพื้นผิวของอุปกรณ์ทางการแพทย์ จากรายงานพบการติดเชื้อที่เยื่อหุ้มหัวใจจากแบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวหนังหรือช่องปากโดยผ่านเข้าทางกระแสเลือด และเกาะติดบนลิ้นหัวใจที่ผิดปกติหรือลิ้นหัวใจเทียม ทั้งนี้ยังพบอัตราการติดเชื้อที่สูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีการใส่อวัยวะเทียมครั้งที่สอง[6] กลุ่มผู้ป่วยที่ใส่สายสวนปัสสาวะ (foley catheter) จะพบติดเชื้อตั้งแต่ร้อยละ 1-5 ต่อวันและหากมีการใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานานกว่า 4 สัปดาห์ จะพบจำนวนเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเกิดการเกาะกลุ่ม (colonization) ของจุลชีพบนผิวของสายสวน[45] เช่นเดียวกับผลสำรวจข้อมูลผู้ป่วยที่เข้ารับการเปลี่ยนข้อสะโพกหรือข้อเข่าพบมีการติดเชื้อในอัตราร้อยละ 0.5-2.0 หลังจากเข้ารับการผ่าตัดในช่วงสองปีแรก[46]

แนวทางการรักษาโรคติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์ม

โรคติดเชื้อที่มีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับการสร้างไบโอฟิล์ม เช่น cystic fibrosis การติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ การติดเชื้อที่หูชั้นกลาง โรคปริทันต์ และต่อมลูกหมากชนิดเรื้อรัง[5] แต่เมื่อพิจารณาแบ่งกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับไบโอฟิล์มพบว่ากลุ่มที่มีการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์ที่ฝังในร่างกายมีจำนวนมากกว่าถึงสองเท่า ผลกระทบที่ตามมาเมื่อผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล เมื่อเกิดการติดเชื้อแทรกซ้อนขึ้น จะส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดของผู้ป่วยและค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น สำหรับการรักษาการติดเชื้อมี

ข้อแนะนำให้ถอดอุปกรณ์ที่เป็นสาเหตุออก เช่น กรณีผู้ป่วยที่ใส่สายสวนมีอาการติดเชื้อในกระแสเลือดเป็นเวลานาน จำเป็นต้องถอดสายสวนออก[47] หากยังจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์นั้นต่อไปก็ทดแทนด้วยชิ้นใหม่ แต่กรณีที่ไม่สามารถถอดอุปกรณ์ได้ จำเป็นต้องใช้การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ซึ่งไม่สามารถเลือกใช้ชนิดและระดับยาได้ตามมาตรฐานที่กำหนด เนื่องจากเชื้อในสภาวะไบโอฟิล์มสามารถทนต่อยาปฏิชีวนะได้สูงกว่าปกติ 10 ถึง 1000 เท่า รวมทั้งสามารถต้านกระบวนการจับกินของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดฟาโกไซต์ (phagocytosis)[47] เมื่อเชื้อในสภาวะไบโอฟิล์มได้รับยาปฏิชีวนะในระดับกึ่งหนึ่งของค่าต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อในสภาวะปกติได้ (sub-inhibitory concentration) อาจส่งผลกระตุ้นให้เชื้อเกิดการสร้างเมือกเหนียวเพิ่มมากขึ้น[48] อีกทั้งเชื้อที่อยู่ร่วมกันในไบโอฟิล์มอาจเอื้อให้เกิดการแลกเปลี่ยนยีนดื้อยาข้ามกลุ่มได้ ทำให้ต้องใช้ยาปฏิชีวนะร่วมรักษามากกว่าหนึ่งชนิด โดยมีข้อเสนอหลากหลายที่เกี่ยวข้องกับการรักษา เช่น การใช้เทคนิค 'antibiotic lock techniques' โดยการเติมสารละลายหรือยาปฏิชีวนะที่มีสมบัติทำลายเชื้อ ต้านการเกาะติดของจุลชีพภายในสายสวน ผลการศึกษาของ Shah และคณะ รายงานว่าสารละลาย taurolidine-citrate มีสมบัติป้องกันและรักษาการติดเชื้อที่เกี่ยวเนื่องกับการใส่สายสวนแบบ intravascular catheter-related infection[49] การคำนวณปริมาณและชนิดของยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมต่อเชื้อก่อโรค ต้องพิจารณาสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อชนิดนั้นด้วย หรือยับยั้งกระบวนการสร้างไบโอฟิล์มโดยสารยับยั้งการส่งสัญญาณ การใช้เอนไซม์ทำลายโครงสร้างภายนอกของไบโอฟิล์มให้เกิดรูพรุน มีผลการทดสอบ lysostaphin ที่มีสมบัติทำลายพันธะ pentaglycine ในผนังเซลล์ของเชื้อ *Staphylococci* ทำให้สามารถทำลายเชื้อทั้งในสภาวะที่กำลังเจริญและหยุดการเจริญ หรือในสภาพไบโอฟิล์ม[50] และยาปฏิชีวนะสามารถแทรกผ่านเพื่อเข้าทำลายเชื้อที่อาศัยภายในได้ หรือการป้องกันการเกิดไบโอฟิล์มโดยการพัฒนาวัสดุอุปกรณ์ที่มียาปฏิชีวนะเป็นส่วนประกอบทำให้จุลชีพไม่สามารถเข้ายึดเกาะและสร้างไบโอฟิล์มได้[51, 52] การใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound) ที่มีความถี่สูงกว่า 20 กิโลเฮิร์ตส (kHz) ทำลายโครงสร้างไบโอฟิล์ม แต่การใช้ความถี่เสียงต่ำที่ความเข้มน้อยกว่า 2 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร (W/cm^2) จะช่วยส่งเสริมให้เกิดรูพรุนที่ผนังเซลล์ของจุลชีพทำให้ยาปฏิชีวนะสามารถผ่านเข้าไปในโครงสร้างไบโอฟิล์มและทำลายเชื้อที่อยู่ภายในได้ แนวคิดนี้ได้มีการทดลองกับผู้ป่วยที่มีแผลเรื้อรังทำให้สามารถร่นระยะเวลาการรักษาได้เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตาม ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยังไม่ประสบความสำเร็จ มีแนวคิดทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นส่วนประกอบ เพราะอาจมีส่วนไปกระตุ้นให้เกิดการดื้อยาได้ จึงมีการทดสอบใช้สารออกฤทธิ์จากธรรมชาติ เช่น emodin ซึ่งเป็นสารจำพวก anthraquinone ที่พบในเปลือกไม้และรากของพืชหลายชนิด มีสมบัติลดการเกาะติดของ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Stenotrophomonas maltophilia* บนพื้นผิวได้[53] หรือการเลือกใช้เทคนิคซิลเวอร์นาโนพาร์-ติเคิล[54]

สรุป

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นได้ว่าการสร้างไบโอฟิล์มส่งผลกระทบต่อวงการแพทย์อย่างกว้างขวาง และต่อเนื่องไปยังเศรษฐกิจ แนวทางในการวินิจฉัยผู้ป่วยที่ติดเชื้อเกี่ยวเนื่องจากไบโอฟิล์มเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการหาวิธีการรักษาที่เหมาะสมยังไม่ชัดเจน ทั้งที่เป็นที่แน่ชัดว่าจุลชีพในสภาวะไบโอฟิล์มมีความทนต่อการรักษาในรูปแบบปัจจุบัน มีงานวิจัยหลายชิ้นที่นำเสนอการรักษาโดยวิธีทางเลือกอื่นทั้งการลด กำจัด ยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของจุลชีพ

จากสารเคมีที่ออกฤทธิ์แบบมุ่งเป้า หรือการใช้สารจากพืชสมุนไพร สารสกัดจากสาหร่ายทะเล แม้ว่าสารเหล่านี้จะไม่พบผลต่อการยับยั้ง หรือทำลายจุลชีพ แต่มีข้อเสนอแนะว่าควรมีการใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ ด้วยเป้าหมายของสารออกฤทธิ์เหล่านี้แตกต่างจากยาปฏิชีวนะ เมื่อใช้ร่วมกันจึงอาจให้ผลเสริมฤทธิ์ในการรักษา แนวทางการรักษาโรคติดเชื้อในอนาคตจึงควรมีการวินิจฉัยหาสาเหตุการติดเชื้อว่ามีความเกี่ยวข้องกับการสร้างไบโอฟิล์มหรือไม่ เพื่อที่จะประยุกต์การรักษาให้สัมฤทธิ์ผลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Porter JR. Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria. Bacteriol Rev 1976; 40: 260-9.
2. Heukelekian H, Heller A. Relation between food concentration and surface for bacterial growth. J Bacteriol 1940; 40: 547-58.
3. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, *et al.* Bacterial biofilms in nature and disease. Annu Rev Microbiol 1987; 41: 435-64.
4. Lawrence JR, Korber DR, Hoyle BD, Costerton JW, Caldwell DE. Optical sectioning of microbial biofilms. J Bacteriol 1991; 173: 6558-67.
5. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 2002; 8: 881-90.
6. Winzer K, Hardie KR, Williams P. Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now — gone to lunch! Curr Opin Microbiol 2002; 5: 216-22.
7. Vikström E, Tafazoli F, Magnusson K-E. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing molecule N-(3 oxododecanoyl)-l-homoserine lactone disrupts epithelial barrier integrity of Caco-2 cells. FEBS Lett 2006; 580: 6921-8.
8. Lawrence JR, Delaquis PJ, Korber DR, Caldwell DE. Behavior of *Pseudomonas fluorescens* within the hydrodynamic boundary layers of surface microenvironments. Microb Ecol 1987; 14: 1-14.
9. Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. J Bacteriol 2002; 184: 1140-54.
10. Zabel BA, Zuniga L, Ohyama T, *et al.* Chemoattractants, extracellular proteases, and the integrated host defense response. Exp Hematol 2006; 34: 1021-32.
11. Hazlett LD. Corneal response to *Pseudomonas aeruginosa infection.* Prog Retin Eye Res 2004; 23: 1-30.
12. Conrad JC, Gibiansky ML, Jin F, *et al.* Flagella and pili-mediated near-surface single-cell motility mechanisms in *P. aeruginosa.* Biophys J 2011; 100: 1608-16.
13. Wang H, Sodagari M, Chen Y, He X, Newby B-mZ, Ju L-K. Initial bacterial attachment in slow flowing systems: Effects of cell and substrate surface properties. Colloids Surfaces B 2011; 87: 415-22.

14. Wang H, Sodagari M, Ju L-K, Zhang Newby B-m. Effects of shear on initial bacterial attachment in slow flowing systems. Colloids Surfaces B 2013; 109: 32-9.
15. Kline T, Bowman J, Iglewski BH, de Kievit T, Kakai Y, Passador L. Novel synthetic analogs of the *Pseudomonas autoinducer*. Bioorg Med Chem Lett 1999; 9: 3447-52.
16. Giltner CL, Habash M, Burrows LL. *Pseudomonas aeruginosa* minor pilins are incorporated into type IV pili. J Mol Biol 2010; 398: 444-61.
17. Belas R. Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria. Trends Microbiol 2014; 22: 517-27.
18. Kurre R, Maier B. Oxygen depletion triggers switching between discrete speed modes of gonococcal type iv pili. Biophys J 2012; 102: 2556-63.
19. Craig L, Li J. Type IV pili: paradoxes in form and function. Curr Opin Struct Biol 2008; 18: 267-77.
20. Nasr RA, AbuShady HM, Hussein HS. Biofilm formation and presence of *ica*AD gene in clinical isolates of staphylococci. EJMHG 2012; 13: 269-74.
21. Rao J, DiGiandomenico A, Artamonov M, Leitinger N, Amin AR, Goldberg JB. Host derived inflammatory phospholipids regulate *rah*U (PA0122) gene, protein, and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. Cell Immunol 2011; 270: 95-102.
22. Priester JH, Horst AM, Van De Werfhorst LC, Saleta JL, Mertes LAK, Holden PA. Enhanced visualization of microbial biofilms by staining and environmental scanning electron microscopy. J Microbiol Meth 2007; 68: 577-87.
23. Musk DJ, Hergenrother PJ. Chelated iron sources are inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and distribute efficiently in an in vitro model of drug delivery to the human lung. J Appl Microbiol 2008; 105: 380-8.
24. Toutain CM, Caizza NC, Zegans ME, O'Toole GA. Roles for flagellar stators in biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. Res Microbiol 2007; 158: 471-7.
25. Anguige K, King JR, Ward JP. A multiphase mathematical model of quorum sensing in a maturing *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. Math Biosci 2006; 203: 240-76.
26. Hassett DJ, Sutton MD, Schurr MJ, Herr AB, Caldwell CC, Matu JO. *Pseudomonas aeruginosa* hypoxic or anaerobic biofilm infections within cystic fibrosis airways. Trends Microbiol 2009; 17: 130-8.
27. Flemming H-C, Wingender JG, Mayer C. Physico-chemical properties of biofilms. In: Evans LV, editor. Biofilms: Recent Advances in Their Study and Control. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 2000. p. 19-34.

28. James GA, Beaudette L, Costerton JW. Interspecies bacterial interactions in biofilms. J Ind Microbiol 1995; 15: 257-62.
29. Tunney MM, Jones DS, Gorman SP. Biofilm and biofilm-related encrustation of urinary tract devices. Methods Enzymol 1999; 310: 558-66.
30. Coughlan LM, Cotter PD, Hill C, Alvarez-Ordóñez A. New weapons to fight old enemies: novel strategies for the (bio) control of bacterial biofilms in the food industry. Front Microbiol 2016; 7: 1641.
31. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. Science 1998; 280: 295-8.
32. Antunes LC, Ferreira RB, Buckner MM, Finlay BB. Quorum sensing in bacterial virulence. Microbiology 2010; 156: 2271-82.
33. Cowan MM, Warren TM, Fletcher M. Mixed-species colonization of solid surfaces in laboratory biofilms. Biofouling 1991; 3: 23-34.
34. Rosenberg M, Kjelleberg S. Hydrophobic Interactions: Role in Bacterial Adhesion. In: Marshall K, editor. Advances in Microbial Ecology. Boston, MA: Springer; 1986. p. 9.
35. Luo Y, Helmann JD. Analysis of the role of *Bacillus subtilis* σM in β-lactam resistance reveals an essential role for c-di-AMP in peptidoglycan homeostasis. Mol Microbiol 2012; 83: 623-39.
36. Archer KA, Durack J, Portnoy DA. STING-dependent type I IFN production inhibits cell-mediated immunity to *Listeria monocytogenes*. PLOS Pathog 2014; 10: e1003861.
37. Römling U, Kjelleberg S, Normark S, Nyman L, Uhlin BE, Åkerlund B. Microbial biofilm formation: a need to act. J Intern Med 2014; 276: 98-110.
38. Norden CW. Antibiotic Prophylaxis in Orthopedic Surgery. Rev Infect Dis 1991; 13 (Suppl 10): S842-6.
39. Global Implantable Devices Market: Focus on Healthcare and Rising Toll of Diseases to Drive Market Value to US$49.8 bn by 2024 [Internet]. 2018 Jul. Available from: https://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/global-implantable-medical-devices-market.htm.
40. Silver F. Scope and Markets For Medical Implants. In: Silver F, editor. Biomaterials, Medical Devices and Tissue Engineering: An Integrated Approach: Springer; 1994. p. 1-45.
41. Tangwongsan C. Biomaterial science and the body's response to Biomaterials: Biomaterial science. Bangkok: Chula press; 2560. p. 1-13. (in Thai)

42. Kaali P, Strömberg E, Karlsson S. Prevention of biofilm associated infections and degradation of polymeric materials used in biomedical applications. In: Anthony NL, editor. Biomedical Engineering, Trends in Materials Science: InTech; 2011. p. 513-40.
43. Sousa C, Henriques M, Oliveira R. Mini-review: Antimicrobial central venous catheters — recent advances and strategies. Biofouling 2011; 27: 609-20.
44. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. Science 1999; 284: 1318-22.
45. Stickler DJ. Clinical complications of urinary catheters caused by crystalline biofilms: something needs to be done. J Intern Med 2014; 276: 120-9.
46. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, *et al.* Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America. Clin Infect Dis 2013; 56: e1-e25.
47. von Eiff C, Jansen B, Kohnen W, Becker K. Infections associated with medical devices: pathogenesis, management and prophylaxis. Drugs 2005; 65: 179-214.
48. Rachid S, Ohlsen K, Witte W, Hacker J, Ziebuhr W. Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis.* Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 3357-63.
49. Shah CB, Mittelman MW, Costerton JW, *et al.* Antimicrobial activity of a novel catheter lock solution. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1674-9.
50. Wu JA, Kusuma C, Mond JJ, Kokai-Kun JF. Lysostaphin disrupts *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms on artificial surfaces. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3407-14.
51. Cláudia S, Mariana H, Rosário O. Mini-review: Antimicrobial central venous catheters — recent advances and strategies. Biofouling 2011; 27: 609-20.
52. Tewarie L, Moza AK, Zayat R, Autschbach R, Goetzenich A, Menon AK. Ultrasound-assisted treatment of sternocutaneous fistula in post-sternotomy cardiac surgery patients. Eur J Cardiothorac Surg 2015; 47: e180-7.
53. Ding X, Yin B, Qian L, *et al.* Screening for novel quorum-sensing inhibitors to interfere with the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. J Med Microbiol 2011; 60: 1827-34.
54. Rodney M. Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner. Clin Infect Dis 2011; 52: 1038-45.