



38. Clark AT, Ewan PW. The prevention and management of anaphylaxis in children. *Curr Pediatr* 2002; 12: 370-75.
39. Freeman TM. Hypersensitivity to Hymenoptera Stings. *N Engl J Med* 2004; 351:1978-84.
40. Golden DBK. Insect sting allergy and venom immunotherapy: A model and a mystery. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:439-47.
41. Greenberger PA. Idiopathic Anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin N Am* 2007; 27: 273-93.
42. Castells M. Desensitization for drug allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006; 6: 476-81.
43. Park JW, Ko SH, Kim CW, Bae SW, Hong CS. Seminal plasma anaphylaxis: successful

- pregnancy after intravaginal desensitization and immunodetection of allergens. *Allergy* 1999; 54: 990-93.
44. Leung DY, Sampson HA, Yunginger JW, Burks AW Jr, Schneider LC, Wortel CH, et al. Effect Of Anti-IgE therapy in patients with peanut allergy. *N Engl J Med* 2003; 348: 986-93.
45. Sicherer SH. Advances in anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect venom. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:s829-34.
46. Leung D, Schatz M. Consultation and referral guidelines citing the evidence: How the allergist-immunologist can help. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:S495-523.



Biofilms in clinical setting

รศ.นพ.วรพจน์ ตันติศิริวัฒน์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

Biofilms เป็นการดำรงชีพของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวทุกชนิด ซึ่งการดำรงชีพนี้มีอยู่อย่างแพร่หลายในสิ่งแวดล้อมที่อยู่รอบตัวเรา และสิ่งที่มีมนุษย์สร้างขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุปกรณ์ที่ใช้ในทางการแพทย์ เช่น สายต่างๆ biofilms มีหน้าที่เป็นฉนวนป้องกันเชื้อจุลินทรีย์เมื่ออยู่นอกตัว host และ biofilms มีความสำคัญในทางคลินิกเนื่องจากการยืนยันถึงบทบาทของมันในการติดเชื้อ บทบาทความจำเป็นของชีวฟิล์มเกี่ยวกับ biofilms ที่สำคัญในทางคลินิกและเป็นสิ่งที่บุคลากรทางการแพทย์ควรจะเข้าใจ

Definition ที่สำคัญเกี่ยวกับ biofilms

Biofilms: ถูกนิยามว่าเป็นกลุ่มนิคมของเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดกับพื้นผิวโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง (irreversible) ด้วยการสร้าง extracellular polymeric substances (EPS) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลง phenotype ไปจาก phenotype เดิมของ planktonic cells ด้วยขบวนการ gene transcription และปฏิกริยาระหว่างเซลล์ด้วยกัน^{2,4} biofilms มีองค์ประกอบเป็นน้ำและ matrix ค่อนข้างมากซึ่งมีหน้าที่เก็บสารอาหารและเกาะติดกับเชื้อจุลินทรีย์หรือสารต่างๆ เช่น minerals และ crystals^{2,5-6} bacterial biofilms จะมีสรีรวิทยาที่แตกต่างจาก planktonic cells โดยมักจะเลียนแบบการทำงานของสิ่งมีชีวิตที่อยู่เป็นกลุ่ม multi-cellular^{4,7-8}

Irreversible attachment: คือการเกาะติดของเชื้อแบคทีเรียกับพื้นผิวที่เปลี่ยนสภาพจาก reversible adhesion โดยมีการสร้าง EPS เพื่อกระตุ้นการเกาะติด ระหว่างผนัง membrane ของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยโปรตีน มีผลทำให้เกิดการเกาะยึดที่แน่นขึ้นและไม่แยกออกจากกัน^{2,4}

Colonization: เป็นรวมตัวของเชื้อแบคทีเรียบริเวณพื้นผิวซึ่งจัดเป็นขั้นตอนสุดท้ายของการสร้าง biofilm⁹ เชื้อแบคทีเรียที่รวมตัวกันนั้นมีทั้ง primary colonizer และ secondary colonizer พบว่า primary colonizer จะมีผลต่อการ form กลุ่ม colony ของ secondary colonizer Biofilm ที่สร้างเสร็จสมบูรณ์แล้วจะมีโครงสร้างที่ซับซ้อนประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียที่รวมตัวกันในสภาพแวดล้อม EPS ซึ่งมี condensed matrix อยู่โดยรอบ ซึ่งเป็นช่องทางของการได้รับ

อาหารและการกำจัดของเสีย¹⁰⁻¹¹

Detachment: biofilm สามารถหลุดจาก surface ที่เกาะได้เมื่อเกิด turbulent shear force¹² วิธีการหลุดลอกของ biofilm เกิดได้จากขบวนการต่างๆ คือ Dispersion หรือ dissolution⁹ ซึ่งเซลล์ที่อยู่ในบริเวณรอบนอกของ biofilm สามารถหลุดออกจาก surface และกลายสภาพเป็น planktonic state อีกครั้งเพื่อไปเกาะยึดที่ surface ใหม่และสร้าง biofilm ใหม่ Swarmer เป็นขบวนการ dispersion อีกประเภทหนึ่งโดยเชื้อแบคทีเรียใน biofilm มีการ differentiate ตัวเองเป็น swarmer cell ซึ่งสามารถ migrate ตัวเองไปตามสาย catheter¹³⁻¹⁴ และความสามารถดังกล่าวนี้ทำให้เชื้อเพิ่มความรุนแรง เนื่องจากสามารถรุกราน host cells ได้มากขึ้น Gliding bacteria เป็นวิธีการที่เชื้อแบคทีเรียสามารถสร้างทางซึ่งกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนไหว¹⁵ Surface component alteration เป็นวิธีการที่เชื้อแบคทีเรียเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ hydrophobicity ของ surface component เช่น glycolipids, peptidolipids, lipopolysaccharides และ lipoteichoic acids ทำให้เกิดการ detachment¹⁶ สุดท้ายคือ Quorum sensing (cell-to-cell signaling) ซึ่งเป็นการที่เชื้อแบคทีเรียสื่อสารกันแล้วชักนำให้เกิด detachment.¹⁷

Types of attachment surfaces

พื้นผิวแต่ละชนิดจะมีผลต่อการเกาะยึดของ biofilm ไม่เหมือนกัน¹⁸⁻²⁰ Roger และคณะพบว่าเชื้อ *Legionella pneumophila* สามารถเกาะยึดบนพื้นผิวชนิด latex ได้ดีที่สุดและน้อยลงตามพื้นผิวอื่นๆ ดังนี้

ethylene-propylene, chlorinated polyvinyl chloride, polypropylene, mild steel, stainless steel, unplasticized polyvinyl chloride, polyethylene และแก้ว ตามลำดับ²¹ เชื้อที่สามารถเกาะพื้นผิวที่มีคุณสมบัติ hydrophobic เช่น *Aeromonas hydrophila* จะสามารถเกาะบนพื้นผิวที่มีคุณลักษณะ hydrophobic เช่น polybutylene มากกว่า พื้นผิวที่มีคุณลักษณะ hydrophilic เช่น stainless steel หรือ copper²⁰ ในทางตรงข้าม Bakker และคณะพบว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เพาะได้จาก medical device สามสายพันธุ์ดังต่อไปนี้





Staphylococcus epidermidis ชนิด GB 9/6, *Acinetobacter baumannii* and *P. aeruginosa* เกาะพื้นผิวชนิด polybutylene ลดลง²² ลักษณะ topography ของพื้นผิวมีผลต่อการเกาะของ biofilm เช่นกัน เชื้อแบคทีเรียเกาะบนพื้นผิวที่ขรุขระได้ดีกว่าพื้นผิวเรียบ ตัวอย่างเช่น การศึกษาของ Gough และ Dodd พบเชื้อ *Salmonella typhimurium* เกาะที่เชิงที่ทำจากไม้มากกว่าเชิงที่ทำจากพลาสติกที่มีผิวเรียบมากกว่า

Bacterial biofilms as a survival strategy

ในสภาพแวดล้อมที่ขาดสารอาหาร สารอาหารมักมีความเข้มข้นในส่วนของพื้นผิวมากกว่าในของเหลวรอบข้าง เชื้อแบคทีเรียจะมีความได้เปรียบในการได้รับสารอาหารจากการสร้าง biofilm ยึดเกาะที่พื้นผิว^{8,24} เชื้อกลุ่ม Gram-negative มีการส่งสัญญาณถึงกันด้วย quorum sensing ระหว่างกันในแต่ละ biofilms ผ่าน acyl-homoserine lactones^{8,17} ขณะที่เชื้อกลุ่ม Gram-positive ส่งสัญญาณผ่าน peptide molecule¹⁷ มีการศึกษาพบว่า *P.aeruginosa* สร้าง quorum signal ที่เป็น 3OC12-HSL ซึ่งใช้ในการสื่อสารระหว่าง cell และสร้างความมั่นคงให้กับ biofilm ที่ถูกสร้างขึ้น²⁵ เป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อแบคทีเรียใน biofilms ต่อดื้อยาต้านจุลชีพมากกว่าเชื้อที่อยู่ในสภาพ planktonic cells^{2,26-29} รวมถึงยังทนต่อแสง ultraviolet, สารพิษจากโลหะ, กรด, ภาวะขาดน้ำและขบวนการ phagocytosis^{4,12,30} จัดได้ว่า biofilm เป็นเกราะป้องกันของเชื้อแบคทีเรียในธรรมชาติและดื้อยาต้านจุลชีพ¹²

Role of EPS

ตั้งแต่ทศวรรษที่ 1980 เป็นต้นมา Costerton และคณะแสดงให้เห็นว่า EPS ที่ถูกสร้างจากเชื้อแบคทีเรียใน biofilm ป้องกันเชื้อแบคทีเรียจากยาต้านจุลชีพด้วยวิธีการหลายอย่างเช่น การทำปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ เพื่อสลายฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ และการป้องกันของยาต้านจุลชีพในการซึมผ่าน biofilms เพื่อทำลายเชื้อแบคทีเรีย^{5,12} การซึมผ่านของยาต้านจุลชีพผ่าน biofilm ถูกป้องกันด้วยปัจจัยด้านประจุหรือขนาดของยา และความหนืดของ EPS^{31,32} มีหลักฐานที่แสดงถึงคุณสมบัติ bactericidal ของยา pefloxacin, teicoplanin และ vancomycin ลดลงใน EPS ที่สร้างจากเชื้อ *Staphylococci spp.* ที่เป็นเชื้อสาเหตุของการติดเชื้อบริเวณ implant

Bacterial cell surface properties

มีการตั้งสมมติฐานว่าเชื้อแบคทีเรียใน biofilm ต่อดื้อยาต้านจุลชีพด้วยการเปลี่ยนแปลงขบวนการถ่ายเทผ่านเยื่อหุ้มเซลล์หรือโมเลกุลที่อยู่บนผิวของเชื้อแบคทีเรีย^{16,34} ดังตัวอย่างเช่นเชื้อ *Staphylococci spp* ซึ่งมีการดื้อยาใน biofilm เกิดขบวนการ impaired electron transport และลดความเข้มข้นของ ATP นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าเชื้อกลุ่มนี้มีการดื้อยา oxacillin หรือ vancomycin ในระดับที่สูงด้วย³⁵

Slower growth rate and role of *rpoS*

เชื้อแบคทีเรียในรูป biofilm มีอัตราการเติบโตที่ช้ากว่ารูป planktonic มีผลให้เชื้อแบคทีเรียใน biofilm เพิ่มการดื้อยาต้านจุลชีพ³⁶ นอกจากนี้ภาวะความเครียดต่างๆกระตุ้นให้เกิดการสร้าง *rpoS* ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการดื้อยาต้านจุลชีพ ตัวอย่างที่

สนับสนุนสมมติฐานดังกล่าวคือการดื้อของ *P.aeruginosa* ต่อ tobramycin³⁸

wan:งบอง bacterial biofilms

Bacterial biofilms ในธรรมชาติมักประกอบด้วยหลากหลายสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียโดยที่เชื้อแบคทีเรียอยู่ผสมผสานร่วมกันตามหลักนิเวศวิทยามากกว่าการที่มีเชื้อแบคทีเรียเพียงสายพันธุ์เดียว^{39,40}

Mixed-species biofilms เป็นประโยชน์ในต่อมนุษย์และอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวข้องกับขยะ⁴¹⁻⁴³ อย่างไรก็ตาม Mixed-species biofilms ทำให้เกิดภาวะการสูญเสียเศรษฐกิจดังตัวอย่างเช่นทำให้เกิดการกัดกร่อนในอุตสาหกรรมหลักจาก cathodic depolarization และการสร้างกรด รวมถึงการปนเปื้อนในอุตสาหกรรมอาหาร⁴⁴⁻⁴⁶

wan:งบอง bacterial biofilms ในทางคลินิก

Bacterial biofilm ในตัวคนอาจมีประโยชน์โดยธรรมชาติ เช่นในลำไส้อาจมีประโยชน์โดยทำหน้าที่ป้องกันเชื้อโรคที่มากับอาหาร⁴⁷ ในช่องปากมักจะมี dental plaque ซึ่งประกอบไปด้วยเชื้อแบคทีเรียในช่องปากซึ่งทำหน้าที่ป้องกันการรวมตัวของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคฟันผุซึ่งเกิดจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคใน biofilm⁴⁸⁻⁵⁰ ในปัจจุบัน Bacterial biofilm ถูกคำนึงถึงมากโดยเฉพาะในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องและผู้ป่วยที่มีอุปกรณ์ทางการแพทย์ ตัวอย่างเช่น สายต่างๆ ในหลอดเลือดเป็นต้น²

Biofilms และพยาธิกำเนิด

ปัจจัยความรุนแรงหลายชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในคนมีส่วนสำคัญในการสร้าง biofilm

ตัวอย่างที่แสดงให้เห็นคือเชื้อ *P.aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรค ventilator-associated pneumonia และ การติดเชื้อของทางเดินหายใจส่วนล่างในผู้ป่วย มีปัจจัยหลายอย่างดังกล่าวคือ Flagella เป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงโดยทำหน้าที่ยึดแบคทีเรียกับ epithelial cell⁵¹, Pili ช่วยเชื้อ *P.aeruginosa* ในการเคลื่อนตัวบนพื้นผิว⁵¹ และช่วยเชื้อในการ detachment จาก biofilm เดิมเพื่อไปเกาะที่พื้นผิวใหม่¹⁵, Lipopolysaccharides บนพื้นผิวของเชื้อ *P.aeruginosa* เป็นสาร antigen ที่กระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกายคนทำให้เกิดภาวะ sepsis และ Lipopolysaccharides บนพื้นผิวของเชื้อในกลุ่ม Gram negative ชนิดอื่นๆ เช่น *E.coli* และ *Burkholderia cepacia* ก็ยังช่วยแบคทีเรียยึดกับพื้นผิวที่เป็น silica หรือพื้นผิวชนิดอื่นๆ ได้ดียิ่งขึ้น^{52,53}, Alginate ช่วยให้ *P.aeruginosa* ยึดติดกับ epithelial cell ในทางเดินหายใจของ host⁵¹ นอกจากนั้นยังมีการรายงานถึงความสำคัญของ alginate promoter (Alg C) ในการสร้าง biofilm ของ *P.aeruginosa* บนพื้นผิว Teflon⁵⁴ (20)

The quorum-sensing auto-inducer ยกตัวอย่างเช่น N-(3-oxododecanoyl)-L จัดเป็นปัจจัยด้านความรุนแรงตัวหนึ่งที่ยับยั้งภูมิคุ้มกันของ host และอาจควบคุม expression ของ extracellular enzymes และ exotoxin ในการติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับ *P.aeruginosa*^{51,55} Auto-inducer ซึ่งเกี่ยวข้องกับ biofilm เหล่านี้เป็นสารที่ใช้ในระหว่าง



การส่งสัญญาณระหว่าง cell ในการสร้าง biofilm ของ *P.aeruginosa*²⁵ และ Exotoxin A ในการติดเชื้อ *P.aeruginosa*, exotoxin A จัดเป็นปัจจัยด้านความรุนแรงอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งมีผลยับยั้ง host ในการสร้าง protein, ทำให้ cell ตาย และยับยั้งภูมิคุ้มกันของ host ที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อ⁵¹ นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่าง exotoxin A กับการตอบสนองต่อความเครียดผ่านระบบ *rpoS* mediated⁵⁶ และเมื่อ biofilm ของ *P.aeruginosa* สัมผัสกับยาต้านจุลชีพจะมีการปล่อย exotoxin A เพิ่มขึ้น⁵⁷

ดังนั้นความสามารถในการสร้าง biofilm ในร่างกายคนของเชื้อแบคทีเรียย่อมเกี่ยวข้องกับการรอดชีวิตหรือการเกิดโรคในคนระหว่างที่มีการติดเชื้อ ยิ่งกว่านั้นมีการพบการถ่ายทอด plasmid coding ต่อการดื้อต่อยาต้านจุลชีพเกิดขึ้นใน biofilm ของเชื้อแบคทีเรียโดยการถ่ายทอดเป็นแบบ inter-species และ intra-species ได้^{2,8,24,30} biofilms ของเชื้อแบคทีเรียจึงเป็นแหล่งสะสมของยีนที่ดื้อต่อยาต้านจุลชีพ^{12,58}

ความสัมพันธ์ของ biofilms ในทางคลินิก

แม้ว่าเชื้อแบคทีเรียเป็นตัวอย่งที่ดีที่สุดของการศึกษาการสร้าง biofilms ในเชื้อจุลชีพ⁵⁹ เชื้อราซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุสำคัญประการหนึ่งของการติดเชื้อในโรงพยาบาลก็สามารถสร้าง biofilm ได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น การสร้าง biofilm ของ *Candida* spp. ที่สัมพันธ์กับการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับสาย intravascular ที่คาในร่างกายน⁶⁰⁻⁶² และระยะการพัฒนารวมของ biofilm ในเชื้อรามีความใกล้เคียงกับเชื้อแบคทีเรีย โดยระยะแรก yeast cell จะจับกับพื้นผิว ต่อมาก็จะสร้าง pseudohyphal และ hyphal cells และท้ายสุดมีการเติบโตของ cells ร่วมกับการสร้าง EPS^{60,61} นอกจากนี้การดื้อต่อยาฆ่าเชื้อราที่พบได้ใน biofilms ของเชื้อราเช่นเดียวกับการดื้อต่อยาของ biofilms ของเชื้อแบคทีเรีย⁶⁰ เชื้อราสายพันธุ์อื่นๆ เช่น *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Scedosporium apiospermum* ก็สามารถสร้าง biofilm ได้เช่นเดียวกัน^{63,64}

ชนิดของพื้นผิวที่โอกาสเกิดการสร้าง biofilms

และเกิดโรคตามมา

ชนิดของพื้นผิวในทางคลินิกที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง biofilms มีหลากหลายดังเช่น แผล, ฟัน, ทางเดินอาหาร, อุปกรณ์ทางการแพทย์ที่คาในร่างกายน, ระบบไหลเวียนของน้ำ (water systems), เครื่องมือล้างไต และ endoscopes^{3,48,65-70}

Biofilms บนอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่คาในร่างกาย: protheses

อุปกรณ์ที่มีรายงานถึงการเกิด biofilm มีดังต่อไปนี้ artificial voice protheses, replacement joints, prosthetic heart valves, cardiac pacemakers, cerebrospinal fluid shunts, endotracheal tubes, urinary catheters, peritoneal dialysis catheters, central venous catheters, contact lenses and implanted prosthetic devices สำหรับ erectile dysfunction.^{3,4,69-73} เริ่มแรก biofilm ที่ colonized บนอุปกรณ์ทางการแพทย์ที่คาในร่างกายนมักเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวและต่อมาก็จะพัฒนาเป็นหลายสายพันธุ์อย่างรวดเร็ว³ ซึ่งเชื้อที่เพาะได้จากอุปกรณ์ดังกล่าวที่เคยมีรายงานมา มีดังนี้ *Acinetobacter calcoaceticus*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *P.*

aeruginosa, *S.aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* และ *Streptococcus viridans*.^{3,69,70,73} นอกจากนั้นแล้วยังพบ yeast cell ของเชื้อราเช่น *C. albicans* และ *C. parapsilosis*⁷³ เมื่อมีการเกิด biofilm ขึ้นมักจะเป็นการยากที่จะกำจัด biofilms ออกไปและมักจะมีปัญหาของการดื้อต่อยาต้านจุลชีพร่วมอยู่ด้วย จึงทำให้เชื้ออยู่ได้อย่างถาวรและที่สำคัญยังเป็นแหล่งของเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดการติดเชื้ออย่างต่อเนื่องและเรื้อรัง^{45,58,73,74} ยิ่งไปกว่านั้นการ colonize ของเชื้อทำให้อุปกรณ์ทางการแพทย์เสื่อมสภาพการทำงานเร็วขึ้นและมีความจำเป็นต้องถูกเปลี่ยนบ่อยขึ้น^{73,75}

Biofilms ใน dental unit water lines

มีการรายงานพบมีเชื้อแบคทีเรียใน biofilm ที่อยู่ใน dental unit water lines ได้แก่ *Moraxella* spp., *Flavobacterium* spp., *Micrococcus* spp. และ *Actinomyces* spp.⁷⁶ แต่อย่างไรก็ตามมีการพบเชื้อก่อโรคเช่น *P.aeruginosa*, *Legionella* spp. และ *Mycobacteria* spp. ด้วยเหมือนกัน^{3,76} แม้ว่าการติดเชื้อที่มาจาก dental unit water lines จะถูกพบได้ไม่มาก ก็มีการรายงานการพบการติดเชื้อ *P.aeruginosa* ในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่อยู่ในระหว่างการบำบัด⁷⁶ ซึ่งเกิดจากการเกิด cross-contamination ของผู้ป่วยในระหว่างทำฟัน^{76,78}

Biofilms ในระบบน้ำของโรงพยาบาล

ระบบน้ำในโรงพยาบาลสามารถปนเปื้อน biofilms ของเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น แหล่งเก็บน้ำร้อน, หัวฝักบัว, hydrotherapy, ระบบน้ำในเครื่องล้างไต, ระบบสร้างความชื้น และเครื่องปรับอากาศ^{79,80} และเป็นแหล่งที่ถูกมองข้ามในการเป็นสาเหตุของการเกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล (hospital-acquired infection)⁸¹ การพบ biofilms เชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Legionella* spp. เป็นปัญหาสำคัญที่ต้องคำนึงถึงเนื่องจากเป็นแหล่งหลักที่นำพาโรคไปสู่ผู้ป่วย⁸⁰ การใช้อุปกรณ์เพื่อกรองน้ำที่ออกมาจากท่อน้ำสามารถลดการติดเชื้อ *P.aeruginosa* ที่สะสมอยู่ในระบบน้ำของ intensive care units ได้⁸²

Biofilms ในสาย endoscope

มีรายงานพบ biofilm ของเชื้อแบคทีเรียที่มากับน้ำอูบนพื้นผิว endoscope ได้แก่ *Legionella* และ *Mycobacteria* spp.⁸³ และพบว่า endoscope เป็นแหล่งของการติดเชื้อและ cross-contamination ระหว่างผู้ป่วยได้^{83,84} มีการประมาณในปี 1999 จาก CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ว่าจะมีการติดเชื้อจำนวน 270,000 ครั้งที่เกี่ยวข้องกับ flexible endoscope ในแต่ละปี⁸⁵ ปัญหาหลักที่เป็นสาเหตุของการเกิด biofilm คืออุปกรณ์ endoscope นั้นยากต่อการ decontamination เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่มีความซับซ้อน และไม่ทนต่อความร้อนที่ใช้ในการทำลายเชื้อ⁸⁵ การศึกษาในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่าน้ำยาฆ่าเชื้อและยาต้านจุลชีพไม่สามารถล้าง biofilm ออกหมดได้⁸⁶

Biofilms และบาดแผล

การติดเชื้อของแผลสามารถเกิดจาก biofilm ของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บนผิวของแผลซึ่งสร้าง EPS เพื่อป้องกันเชื้อโรคจากการทำลายของเม็ดเลือดขาวและยาต้านจุลชีพ⁸⁶ ยกตัวอย่างเช่น biofilm ของเชื้อ *P.aeruginosa* ที่อยู่บนแผล burn สามารถสร้าง



EPS ได้ภายใน 5-10 ชั่วโมง^{66,67} นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงเชื้ออื่นๆ เช่น *methicillin-resistant S.aureus*, *Klebsiella spp.*, *E.coli* และ *Acinetobacter spp.* ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของแผล burn ได้⁸⁷ ผลสำคัญที่ตามมาของการติดเชื้อที่มี biofilm ร่วมด้วย คือเป็นแผลอักเสบเรื้อรังและบางครั้งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตได้⁸⁷⁻⁸⁹

แนวทางการควบคุม biofilms

การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพช่วยชะลอการพัฒนาของ biofilm ด้วยการกำจัด planktonic cells และรบกวน metabolism ของ biofilm⁷⁰ อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถกำจัด biofilm อย่างเด็ดขาดได้และยังมีปัญหานำไปสู่การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อถ้ามี biofilm คงอยู่ต่อเนื่องต่อไป ดังนั้นการควบคุม biofilm จึงมีความสำคัญอย่างมากแนวทางในการควบคุมการเกิด biofilm มีดังต่อไปนี้

การป้องกันการเกาะติดตั้งแต่วินาทีแรก

การสร้างสารที่ป้องกันการเกาะติดของ biofilms บนพื้นผิวต่างๆ เช่นการเคลือบด้วย silver ions, ยาต้านจุลชีพกลุ่ม slow released, การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติภายในของพื้นผิว (เช่น hydrophobicity) และการใช้ สาร anti-adhesive เคลือบ เช่น heparin เป็นแนวทางในการป้องกันการเกาะติดตั้งแต่เริ่มแรกที่มีรายงานมาเรียบร้อยแล้ว^{3,70,71,90}

การลดการสร้าง biofilm

ภายหลังเชื้อแบคทีเรียเกาะบนพื้นผิว จะใช้เวลาเพียงสั้นๆ ในช่วงนาที่ถึงชั่วโมงในการป้องกันล้างออกจากร่ายน้ำทำความสะอาด การใช้แรงขัดในระหว่างทำความสะอาดมีความสำคัญในการล้าง

biofilms ออกจากพื้นผิวและแรงขัดไม่ควรทำให้เกิดฟองซึ่งเป็นแพร่กระจายเชื้อ นอกจากนั้นแล้วการใช้ sanitizer ร่วมกับการขัดจะช่วยในการทำลาย biofilm ของเชื้อแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น²⁹ นอกจากนี้การขัดขวาง quorum-signalling จะช่วยในการกำจัดและทำลายโครงสร้างของ biofilms ของเชื้อแบคทีเรียซึ่งทำให้ถูกกำจัดได้ง่าย³

การทำลาย EPS

เนื่องจากมีสมมติฐานว่า EPS เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาต้านจุลชีพของ biofilms จึงมีแนวทางการจัดการกับ EPS ด้วยวิธี disinfectant เช่นการใช้ alginate lyase อาจช่วยให้ gentamicin และ tobramycin ซึมผ่าน biofilms ของเชื้อ *P.aeruginosa* และทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้นเป็นต้น³

สรุป

Biofilms มีความสำคัญในทางคลินิกเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อที่มีความสัมพันธ์กับอุปกรณ์ทางการแพทย์ ปัจจุบันความสำคัญของ biofilm ถูกตระเลค่อนข้างมากในทางคลินิก นำมาสู่การดื้อต่อยาต้านจุลชีพของเชื้อโรคและการไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ การเข้าใจถึงกระบวนการเกิด biofilms รวมถึงการป้องกันการเกิด biofilms ในทางคลินิกจึงช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและการป้องกัน healthcare associated infections ได้ดียิ่งขึ้น



เอกสารอ้างอิง

1. D. Lindsay, A. von Holy. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *Journal of Hospital Infection* 2006; 64: 313-25
2. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:881-890.
3. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:167-193.
4. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2:95-108.
5. Costerton JW, Irvin RT, Cheng K-J. The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 1981; 35:299-324.
6. Costerton JW, Cheng K-J, Geesey GG, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 1987; 41:435-464.
7. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64:847-867.
8. Parsek MR, Fuqua C. Biofilms 2003: emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. *J Bacteriol* 2004; 186:4427-4440.
9. Zottola EA, Sasahara KC. Microbial biofilms in the food processing industry should they be of concern? *Int J Food Microbiol* 1994; 23:125-148.
10. Costerton JW, Lewandowski Z, De Beer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customised microniche. *J Bacteriol* 1994; 176:2137-2142.
11. Stoodley P, De Beer D, Lewandowski Z. Liquid flow in biofilm systems. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60:2711-2716.
12. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. *Trends Microbiol* 2005; 13:7-10.
13. Sabbuba N, Hughes G, Stickler DJ. The migration of *Proteus mirabilis* and other urinary tract pathogens over Foley catheters. *BJU Int* 2002; 89:55-60.
14. Rather PN. Swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *Environ Microbiol* 2005; 7:1065-1073.
15. Merz AJ, Forest KT. Bacterial surface motility: slime trails, grappling hooks and nozzles. *Curr Microbiol* 2002; 12:R297-R303.
16. Neu TR. Significance of bacterial surface-active compounds in interactions of bacteria with interfaces. *Microbiol Rev* 1996; 60:151-166.
17. Parsek MR, Greenberg EP. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol* 2005; 13:27-33.
18. Mafu AS, Roy D, Goulet J, Magny P. Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel, glass, polypropylene and rubber surfaces after short contact times. *J Food Prot* 1990; 53:742-746.
19. Rijnaarts HM, Norde W, Bouwer EJ, Lyklema J, Zehnder AJB. Bacterial adhesion under static and dynamic conditions. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59:3255-3265.
20. Assanta MA, Roy D, Monpetit D. Adhesion of *Aeromonas hydrophila* to water distribution system pipes after different contact times. *J Food Prot* 1998; 61:1321-1329.
21. Rogers J, Dowsett AB, Dennis PJ, Lee JV, Keevil CW. Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60:1842-1851.
22. Bakker DP, Postmus BR, Busscher HJ, van der Mei HC. Bacterial strains isolated from different niches can exhibit different patterns of adhesion to substrata. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70:3758-3760.
23. Gough NL, Dodd CER. The survival and disinfection of *Salmonella typhimurium* on chopping board surfaces of wood and plastic. *Food Control* 1998; 6:363-368.
24. Watnick P, Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J Bacteriol* 2000; 182:2675-2679.
25. 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; 280:295-298.
26. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49:711-745.
27. Lindsay D, von Holy A. Different responses of planktonic and attached *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* to sanitizer treatment. *J Food Prot* 1999; 62:368-379.
28. Dadds MG, Grobe J, Stewart PS. Modeling biofilm antimicrobial resistance. *Biotechnol Bioeng* 2000; 68:456-465.
29. Meyer B. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *Int Biodeterior Biodegradation* 2003; 51:249-253.
30. Jeffereson KK. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol Lett* 2004; 236:163-173.
31. Nichols WW. Biofilm permeability to antimicrobial agents. In: Wimpenny J, Nichols W, Stiotler D, Lappin-Scott H, editors. *Bacterial biofilms and their control in medicine and industry*. Cardiff: Bioline; 1994. p. 141-149.
32. Brown ML, Aldrich HC, Gauthier JJ. Relationship between glycocalyx and povidone-iodine resistance in *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) biofilms. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61:187-193.
33. Souli M, Giamarellou H. Effects of slime produced by clinical isolates of coagulase-negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:939-941.
34. Pickett EL, Murano EA. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to sanitizers after exposure to a chemical shock. *J Food Prot* 1996; 59:374-378.
35. Chuard C, Vaudaux PE, Proctor RA, Lew DP. Decreased susceptibility to antibiotic killing of a stable small colony variant of *Staphylococcus aureus* in fluid phase and on fibronectin-coated surfaces. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:603-608.
36. Evans DJ, Brown MRW, Allison DG, Gilbert P. Susceptibility of bacterial biofilms to tobramycin: role of specific growth rate and phase in the division cycle. *J Antimicrob*



- Chemother 1990; 25:585-591.
37. Mah T-F, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001; 9:34-39.
38. Whiteley MM, Banger MG, Bumgarner RE, et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature* 2001; 413:860-864.
39. Craven SE, Williams DD. In vitro attachment of *Salmonella typhimurium* to chicken cecal mucus: effect of cations and pretreatment with *Lactobacillus* spp. isolated from the intestinal tracts of chickens. *J Food Prot* 1998; 61:265-271.
40. Ruby EG, Lee K-H. The *Vibrio fischeri*-*Euprymna scolopes* light organ association: current ecological paradigms. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64:805-812.
41. Wolfaardt GM, Lawrence JR, Roberts RD, Caldwell DE. Bioaccumulation of the herbicide diclofop in extracellular polymers and its utilization by a biofilm community during starvation. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61:152-158.
42. Hiraishi A, Ueda Y, Ishihara J. Quinone profiling of bacterial communities in natural and synthetic sewage activated sludge for enhanced phosphate removal. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64:992-998.
43. Norton CD, LeChevallier MW. A pilot study of bacteriological population changes through potable water treatment and distribution. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:268-276.
44. Lindsay D, Geornaras I, von Holy A. Biofilms associated with poultry processing equipment. *Microbios* 1996; 86:105-116.
45. Hood SK, Zottola EA. Isolation and identification of adherent gram-negative microorganisms from four meatprocessing facilities. *J Food Prot* 1997; 60:1135-1138.
46. Criado M-T, Suarez B, Ferreiros CM. The importance of bacterial adhesion in the dairy industry. *Food Technol* 1994; 48:123-126.
47. Lee YK, Lim CY, Teng WL, Ouwehand AC, Tuomola EM, Salminen S. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with Enterobacteria. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:3692-3697.
48. Bradshaw DJ, Marsh PD, Allison C, Schilling KM. Effect of oxygen, inoculum composition and flow rate on development of mixed-culture oral biofilms. *Microbiology* 1996; 142:623-629.
49. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996; 50:513-552.
50. Li Y-H, Lau PCY, Ellen RP, Cvitkovitch DG. Natural genetic transformation of *Streptococcus mutans* growing in biofilms. *J Bacteriol* 2001; 183:897-908.
51. Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish J. Targeting mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Med Malad Infect* 2006; 36:78-91.
52. Razatos A, Ong Y-L, Sharma MM, Georgiou G. Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:11059-11064.
53. De Flaun MF, Oppenheimer SR, Streger S, Condee CW, Fletcher M. Alterations in adhesion, transport, and membrane characteristics in an adhesion-deficient *Pseudomonas*. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65:759-765.
54. Davies DG, Geesey GG. Regulation of the alginate biosynthesis gene *alg C* in *Pseudomonas aeruginosa* during biofilm development in continuous culture. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61:860-867.
55. Greenberg EP. Quorum sensing in Gram-negative bacteria. *ASM News* 1997; 63:371-377.
56. Suh SJ, Silo-Suh L, Woods DE, Hassett DJ, West SE, Ohman DE. Effect of *rpoS* mutation on the stress response and expression of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1999; 181:3890-3897.
57. Horii T, Muramatsu H, Monji A, Miyagishima D. Release of exotoxin A, peptidoglycan and endotoxin after exposure of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates to carbapenems in vitro. *Chemotherapy* 2005; 51:324-331.
58. Lindsay D, von Holy A. What food safety professionals should know about bacterial biofilms? *Br Food J* 2006; 108:27-37.
59. Saarela M, Alakomi H-L, Suihko M-L, Maunukela L, Raaska L, Mattila-Sandholm T. Heterotrophic microorganisms in air and biofilm samples from Roman catacombs, with special emphasis on actinobacteria and fungi. *Int Biodeterior Biodegradation* 2004; 54:27-37.
60. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:14-19.
61. Kumamoto CA. A contact-activated kinase signals *Candida albicans* invasive growth and biofilm development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:5576-5581.
62. Laffey SF, Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology* 2005; 151:1073-1081.
63. Patterson TF. Advances and challenges in management of invasive mycoses. *Lancet* 2005; 366:1013-1025.
64. 119. Soni N, Wagstaff A. Fungal infection. *Curr Anaesth Crit Care* 2005; 16:231-241.
65. Pajkos A, Vickery K, Cossart Y. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and decontamination? *J Hosp Infect* 2004; 58:224-229.
66. Harrison-Balestra C, Cazzaniga AL, Davis CS, Metz PM. A wound-isolated *Pseudomonas aeruginosa* grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualized by light microscopy. *Dermatol Surg* 2003; 29:631-635.
67. O'Donnell MJ, Tuttlebee CM, Falkner FR, Coleman DC. Bacterial contamination of dental chair units in a modern dental hospital caused by leakage from suction system hoses containing extensive biofilm. *J Hosp Infect* 2005; 59:348-360.
68. Chaieb K, Mahdouani K, Bakhrouf A. Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. *J Hosp Infect* 2005; 61:225-230.
69. Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. *Biomaterials* 2006; 27:2331-2339.
70. Tenke P, Kovacs B, Ja?ckel M, Nagy E. The role of biofilm infection in urology. *World J Urol* 2006; 24:13-20.
71. Morris NS, Stickler DJ. Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilms growing in human urine. *J Hosp Infect* 1998; 39:227-234.
72. Silverstein A, Donatucci CF. Bacterial biofilms and implantable prosthetic devices. *Int J Impt Res* 2003; 15:S150-S154.
73. Donlan RM. Biofilms: a source of infection? In: Rutala W, editor. *Disinfection, sterilisation and antiseptics: principles, practices and new research*. Washington: Association for Professionals in Infection Control; 2004. p. 219-226.
74. Marion-Ferey K, Pasmore M, Stoodley P, Wilson S, Husson GP, Costerton JW. Biofilm removal from silicone tubing: an assessment of the efficacy of dialysis machine decontamination procedures using an in vitro model. *J Hosp Infect* 2003; 53:64-71.
75. Anwar H, Costerton JW. Effective use of antibiotics in the treatment of biofilm associated infections. *ASM News* 1992; 58:665-668.
76. Rowland BM. Bacterial contamination of dental unit waterlines: what is your dentist spraying into your mouth? *Clin Microbiol Newsletter* 2003; 25:73-77.
77. Shearer BG. Biofilm and the dental office. *J Am Dent Assoc* 1996; 127:181-189.
78. Berlutti F, Testarelli L, Vaia F, De Luca M, Dolci G. Efficacy of anti-retraction devices in preventing bacterial contamination of dental unit water lines. *J Dent* 2003; 31:105-110.
79. Exner M, Kramer A, Lajole L, Gebel J, Engelhart S, Hartemann P. Prevention and control of health care associated waterborne infections in health care facilities. *Am J Infect Control* 2005; 33:S26-S40.
80. Ozerol IH, Bayraktar M, Cizmeci Z, et al. Legionnaire's disease: a nosocomial outbreak in Turkey. *J Hosp Infect* 2006; 62:50-57.
81. Anaissie E, Penzak S, Dignani C. The hospital water supply as a source of nosocomial infections. *Arch Intern Med* 2002; 162:1483-1492.
82. Trautmann M, Lepper PM, Haller M. Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control* 2005; 33:S41-S49.
83. MacKay WG, Leanord AT, Williams CL. Water, water everywhere nor any a sterile drop to rinse your endoscope. *J Hosp Infect* 2002; 51:256-261.
84. Nelson DB. Recent advances in epidemiology and prevention of gastrointestinal endoscopy related infections. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18:326-330.
85. Centers for Disease Control and Prevention. Infections from endoscopes inadequately reprocessed by an automated endoscope reprocessing system. *Public Health Advisory*. FDA and CDC; 1999.
86. Vickery K, Pajkos A, Cossart Y. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *Am J Infect Control* 2004; 32:170-176.
87. Tredget EE, Shankowsky HA, Rennie R, Burrell RE, Logsetty S. *Pseudomonas* infections in the thermally injured patient. *Burns* 2004; 30:3-26.
88. Georgiou T, Qureshi SH, Chakrabarty A, Noble BA. Biofilm formation and coccal organisms in infectious crystalline keratopathy. *Eye* 2002; 16:89-92.
89. Kenchappa P, Duggirala A, Ahmed N, et al. Fluorescent amplified fragment length polymorphism (FAFLP) genotyping demonstrates the role of biofilm-producing methicillin resistant pericocular *Staphylococcus epidermidis* strains in postoperative endophthalmitis. *BMC Ophthalmol* 2006; 6:1.
90. Chilukuri DM, Shah JC. Local delivery of vancomycin for the prophylaxis of prosthetic device-related infections. *Pharm Res* 2005; 22:563-572. Bacterial biofilms within the clinical setting