

Development of infection model for studying intracellular gene expression of *Mycobacterium tuberculosis*

OAT Alli^{1,2}, DO Ogbolu¹ and CL Spreadbury².

Department of Biomedical Sciences¹, College of Health Sciences, Ladoko Akintola University of Technology, Osogbo, Nigeria and Department of Infection², University of Birmingham, Birmingham, UK B15 2TT.

Summary

Mycobacterium tuberculosis complex owe their ability to cause infection because of their intracellular survival ability in professional phagocytic cells of human and the ability to enter into stage of dormancy. The aim of this study was to develop an infection model that could be used to study *M. tuberculosis* and macrophage interactions at molecular level. Four infection models were examined namely opsonised *M. bovis* BCG / J774.2 macrophage cell line, non-opsonised *M. bovis* BCG / J774.2 macrophage cell line, opsonised *M. tuberculosis* / J774.2 macrophage cell line, and non-opsonised *M. tuberculosis* / J774.2 macrophage cell line infection models. A J774.2 macrophage cell line was synchronously infected with *M. bovis* (BCG strain) and *M. tuberculosis* (H37Rv), respectively at different multiplicity of infections (M.O.I). For opsonisation, the organisms were pre-incubated with human serum prior to infection. The infected cell lines were examined by light microscopy and electron microscopy with viable bacterial counts. Macrophage viability was assessed by trypan blue exclusion staining. The results showed higher significant level of infection of J774.2 macrophage cell line by opsonised *M. bovis* BCG (30 – 40%) compared to non-opsonised *M. bovis* BCG (<0.1%) at an M.O.I of 50 ($p < 0.05$) with high macrophage viability. In contrast, there was no significant statistical difference ($p > 0.05$) in high infectivity (30 - 42%) with high macrophage viability achieved with using non-opsonised *M. tuberculosis* and opsonised *M. tuberculosis*, respectively, at an M.O.I of 10. In conclusion, opsonisation is not required for *M. tuberculosis* / J774.2 infection model in contrast to *M. bovis* BCG / J774.2 infection model where opsonisation is necessary to achieve high level of infection.

Keywords: Infection, intracellular, mycobacterium tuberculosis, macrophage

Résumé

Le but de cette étude était de développer un modèle d'infection qui pourrait être utilisée pour étudier le M tuberculose et les interactions des macrophages au niveau moléculaire. Quatre modèles infections étaient examinés : cellules opsonisées et non-opsonisées M.Bovis BCG/J774.2 ; Cellules macrophages opsonisées et non-opsonisées J774.2 synchronisées par différent infections de multiplication. Pour l'opsonisation les organismes étaient pré-incubés dans les sérum humain avant l'infection. Les cellules infectées étaient examinées à l'aide de microscope à lumière et à électron. L'habilité des macrophages était évalué par la teinture de Trypan bleue. Les résultats démontraient un niveau élevé d'infection des macrophages du J774.2 par l'opsonisation de M.bovis BCG (30-40%) comparée aux moins opsonisées M bovis BCG(<0.1%) à M.O.I de 50 ($p<0.05$) avec des macrophages plus habiles. Au contraire, il n'y avait pas de différence significative($P>0.05$) à l'infectivité plus élevée (30-42%) avec des macrophages plus habiles sans opsonisation des M. tuberculose. à M.O.I de 10. En conclusion, l'opsonisation n'est pas nécessaire pour le *M. tuberculose*/J774.2 modèle d'infection comparée à *M.Bovis* BCG/J774.2 modèle d'infection ou l'opsonisation est nécessaire pour achever un niveau d'infection plus élevée.

Correspondence: Dr. O.A.T. Alli, Department of Biomedical Sciences, College of Health Sciences, Ladoko Akintola University of Technology, Osogbo, Nigeria. E-mail: alliot@hotmail.com

