

Souhrn:

Úvod: *Francisella tularensis* (F.t.) je fakultativně intracelulárně rostoucí, gram negativní bakterie, způsobující onemocnění tularémie. Díky svým ojedinělým biologickým vlastnostem byla Centrem pro kontrolu chorob (CDC) v USA zařazena v souvislosti s nebezpečím jejího zneužití při vývoji biologických zbraní a bioterorismu mezi vysoce rizikové infekční agens (kategorie A). I přes intenzivní výzkum na poli imunobiologie infekce F.t. zůstává stále mnoho nezodpovězených otázek. Naše práce byla zaměřena na analýzu povrchové exprese molekul CD54, CD86 a CD16/32 a produkce oxidu dusnatého (NO) myší monocyto-makrofágovou linií J774.2 v průběhu primární infekce F.t. kmenem LVS *in vitro* a při předchozí či následné stimulaci lipopolysacharidem (LPS) a/nebo interferonem gama (IFN γ).

Metodika: Exprese povrchových molekul byla měřena pomocí průtokového cytometru 3, 6, 9, 12 a 24 hodin po zahájení infekce a stimulace a byla hodnocena absolutní hodnota průměrné fluorescence (MFI) a její změny v čase (Δ MFI). Produkce NO v buněčném supernatantu byla analyzována Griessovou metodou, ve stejných časových intervalech. Myší monocyto-makrofágová linie J774.2 byla kultivována v kultivačních lahvích v přítomnosti média Dulbecco's MEM s obsahem glutamátu a 10% fetálního bovinního séra (FBS) (2×10^6 buněk/10ml média). Buňky byly dále infikovány F.t. kmenem LVS (Live Vaccine Strain - kultivována na McLeodově agaru) při multiplicitě infekce 1:100. 3 hodiny před infekcí nebo 3 hod. po infekci byly buňky dále stimulovány LPS (10 nebo 50 ng/ml média) a/nebo IFN γ (100 nebo 1000 IU/ml média). Čas 0 byl stanoven na okamžik, kdy byly v systému přítomny všechny složky (t.j. infekce i stimulační agens). Proliferace F.t. LVS byla rovněž v jednotlivých intervalech hodnocena pomocí kultivace suspenze infikovaných buněk na McLeodově agaru a určením počtu kolonie formujících jednotek (CFU) F.t.

Výsledky: Absolutní a relativní hodnoty průměrné fluorescence (MFI) molekul CD54, CD86 a CD16/32, stejně tak jako produkce NO v buněčném supernatantu po stimulaci a/nebo infekci makrofágů F.t. LVS jsou velmi senzitivními indikátory stimulace buněk a zároveň užitečnými prediktory následné eliminace infekce. K jejímu dosažení bylo zpravidla zapotřebí stimulace makrofágů kombinací LPS a IFN γ , bez ohledu na časové schéma a použité dávky stimulačních agens.

Závěr: Měření exprese molekul CD54, CD86 a CD16/32 pomocí MFI, stejně tak jako analýza produkce NO infikovanými buňkami se ukázala být velmi užitečným pomocným parametrem, který predikuje eliminaci infekce s vysokou senzitivitou i specificitou.