



ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA PÉPTIDOS DE *Mycobacterium tuberculosis* Y SU FUNCIÓN EFECTORA EN MACRÓFAGOS Y NEUTRÓFILOS INFECTADOS



Estudiantes

Juan Sebastian Gomez Camargo
Daniela Alejandra Galeano Orjuela

Trabajo de Grado

Para optar por el título de Bacteriólogos y Laboratoristas Clínicos

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Fundación Instituto de Inmunología de Colombia
FIDIC



ANTICUERPOS DIRIGIDOS CONTRA PÉPTIDOS DE *Mycobacterium tuberculosis* Y SU FUNCIÓN EFECTORA EN MACRÓFAGOS Y NEUTRÓFILOS INFECTADOS



Directora de tesis:

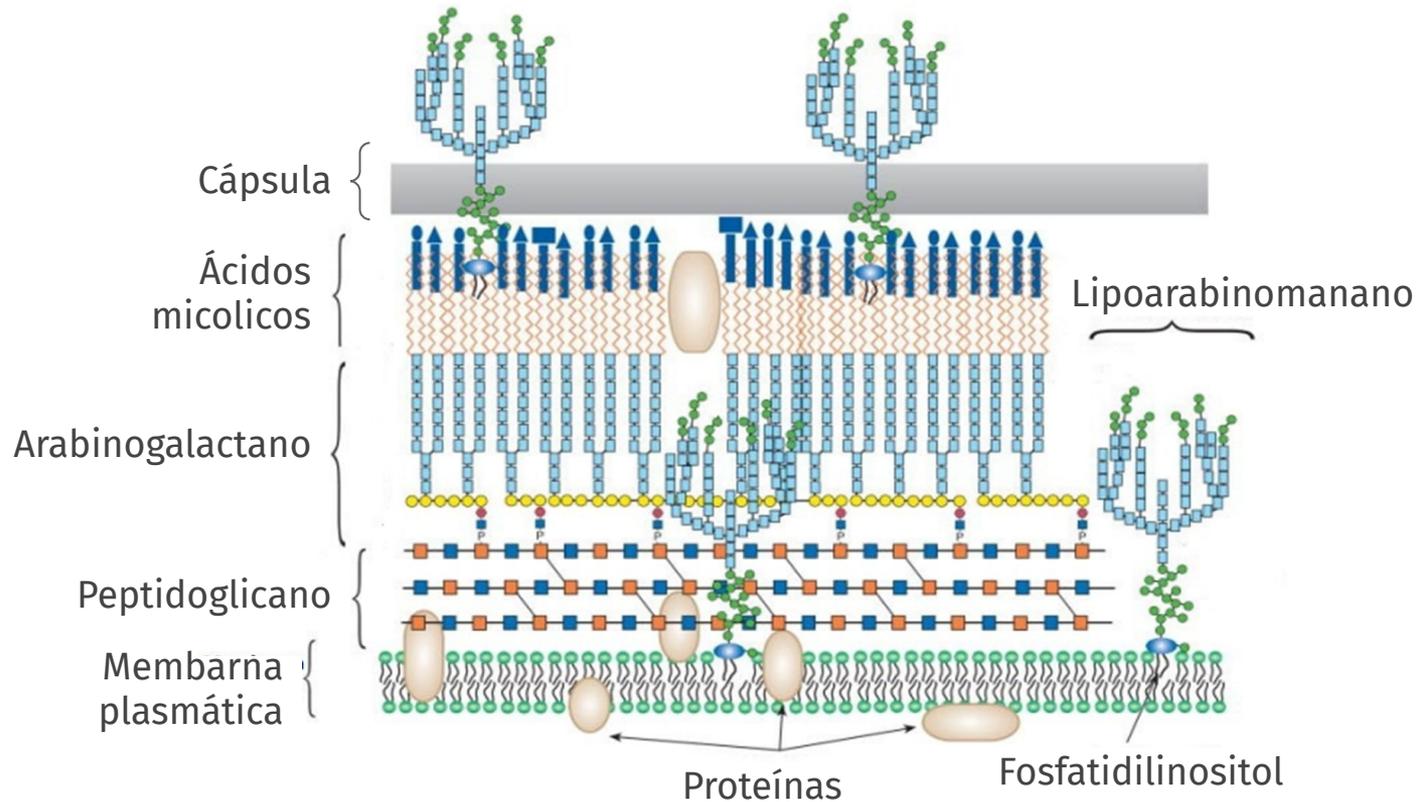
Mary Lilián Carabalí Isajar,
MSc. Microbiología, cPhD

Asesora interna:

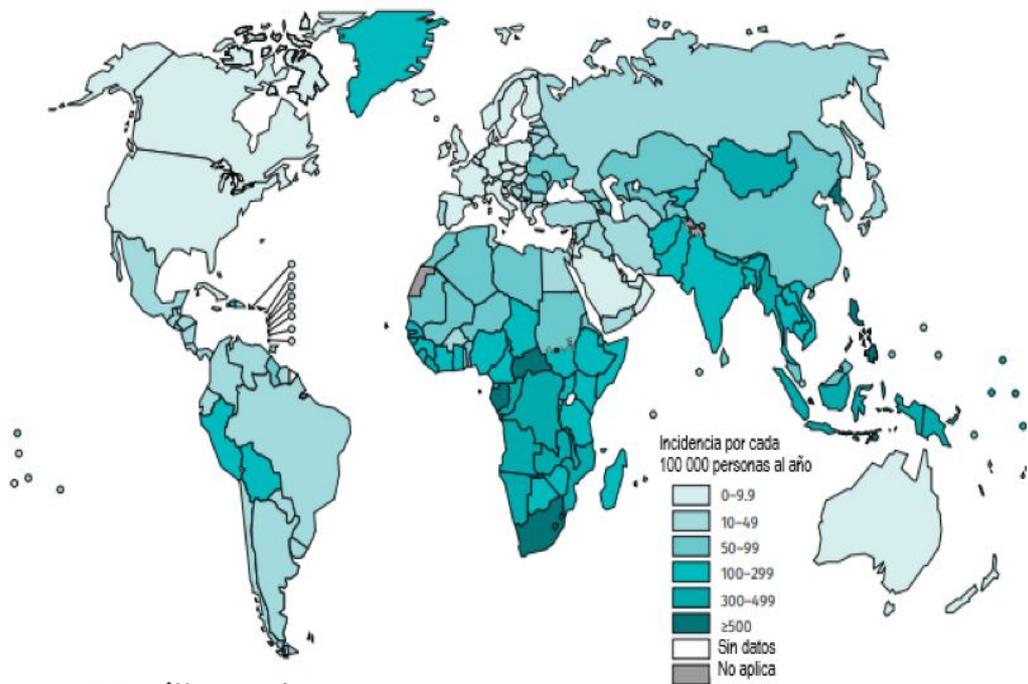
Jeannette Navarrete Ospina, MSc.
Salud y producción animal

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Fundación Instituto de Inmunología de Colombia
FIDIC**

Mycobacterium tuberculosis

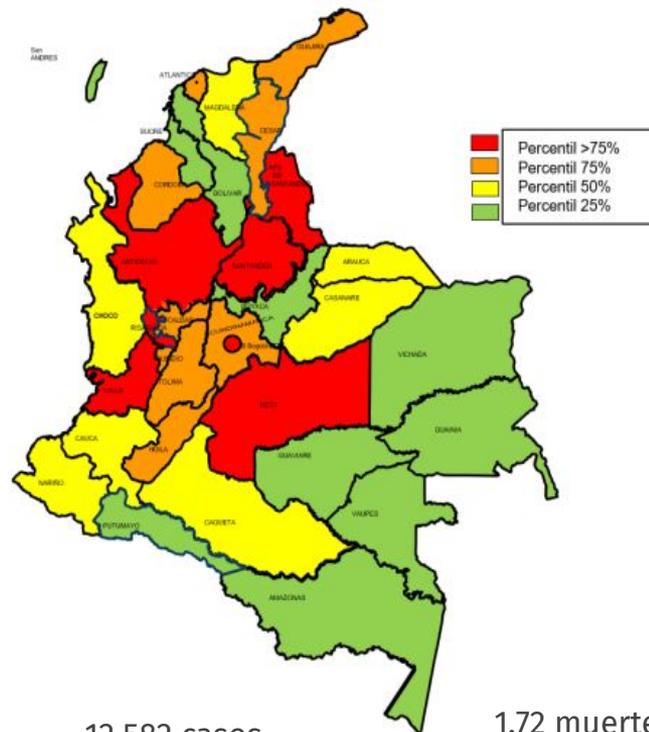


Incidencia Tuberculosis 2020



9.9 millones de personas en el mundo infectadas

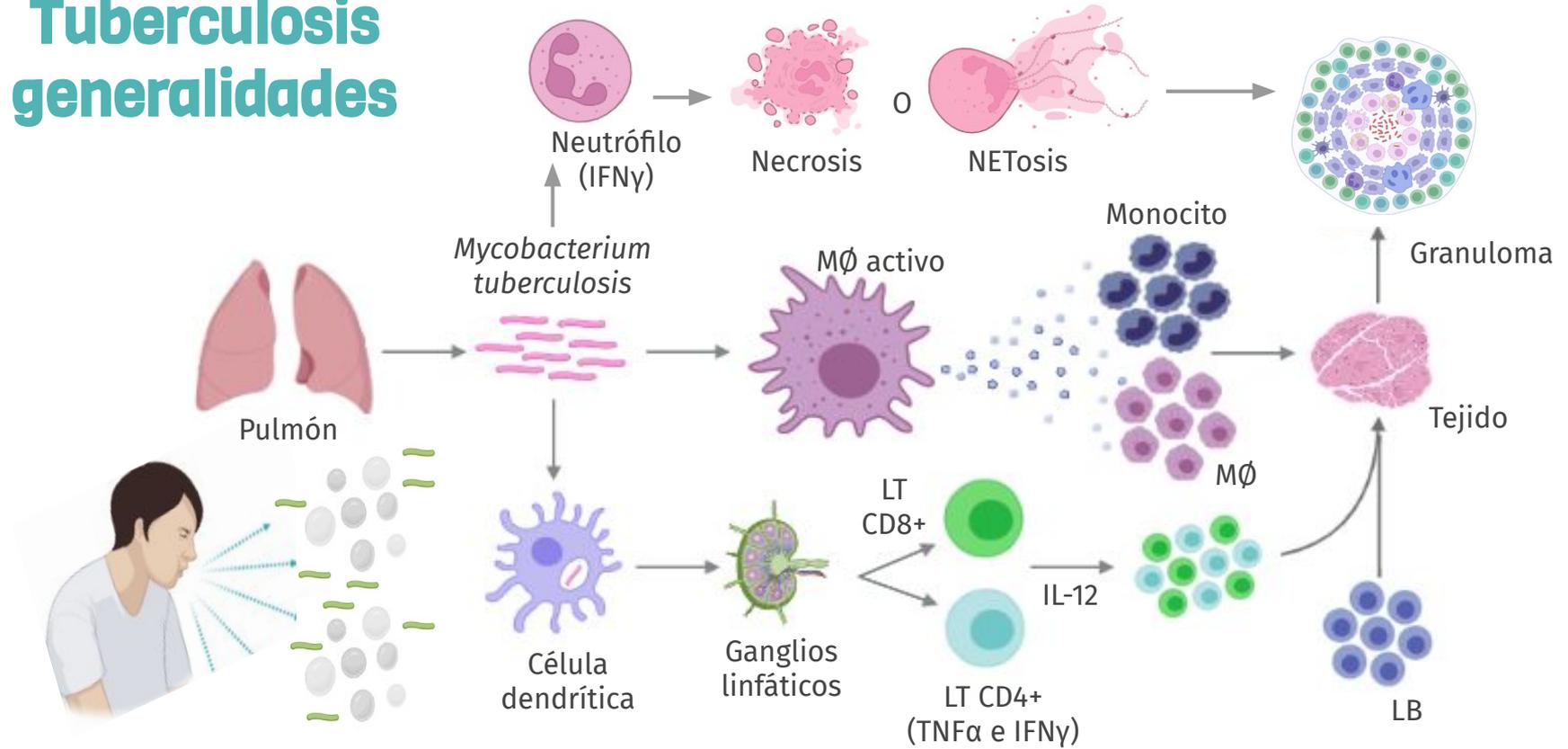
1,5 millones de muertes



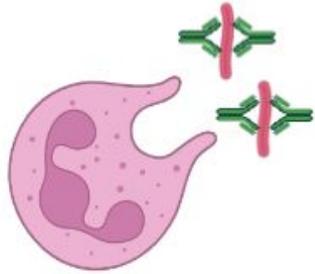
12.582 casos nuevos en Colombia

1,72 muertes por cada 100.000 habitantes

Tuberculosis generalidades

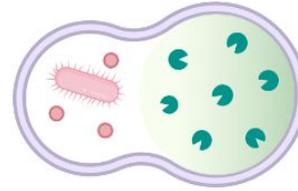


Funciones efectoras de anticuerpos sobre macrófagos y neutrófilos

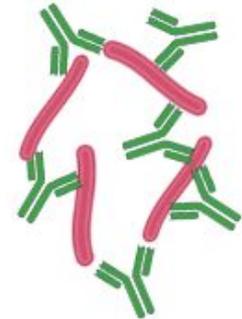


Neutralización de infectividad

Aumento de la fusión del fagolisosoma

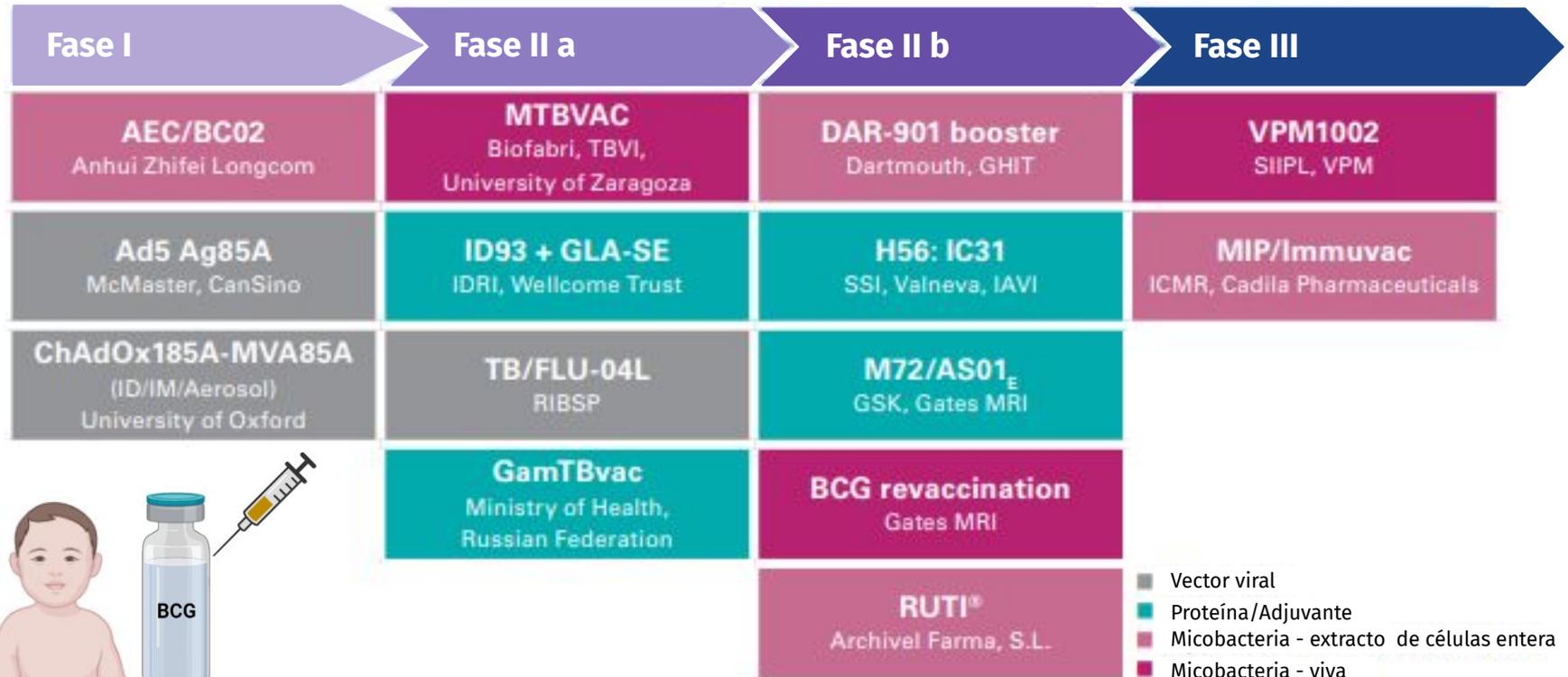


Fagocitosis mejorada

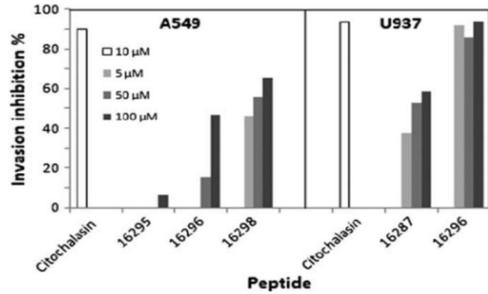


Neutralización previa al reconocimiento

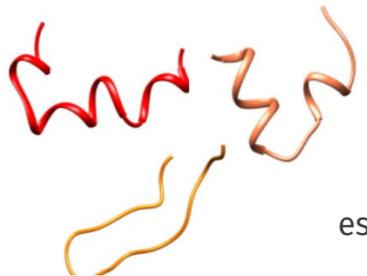
Vacunas Anti Tuberculosas



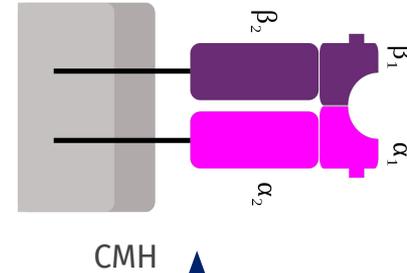
Metodología de la FIDIC



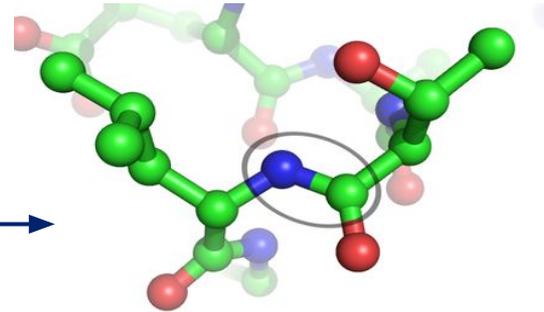
Inhibición de la entrada de *Mtb*



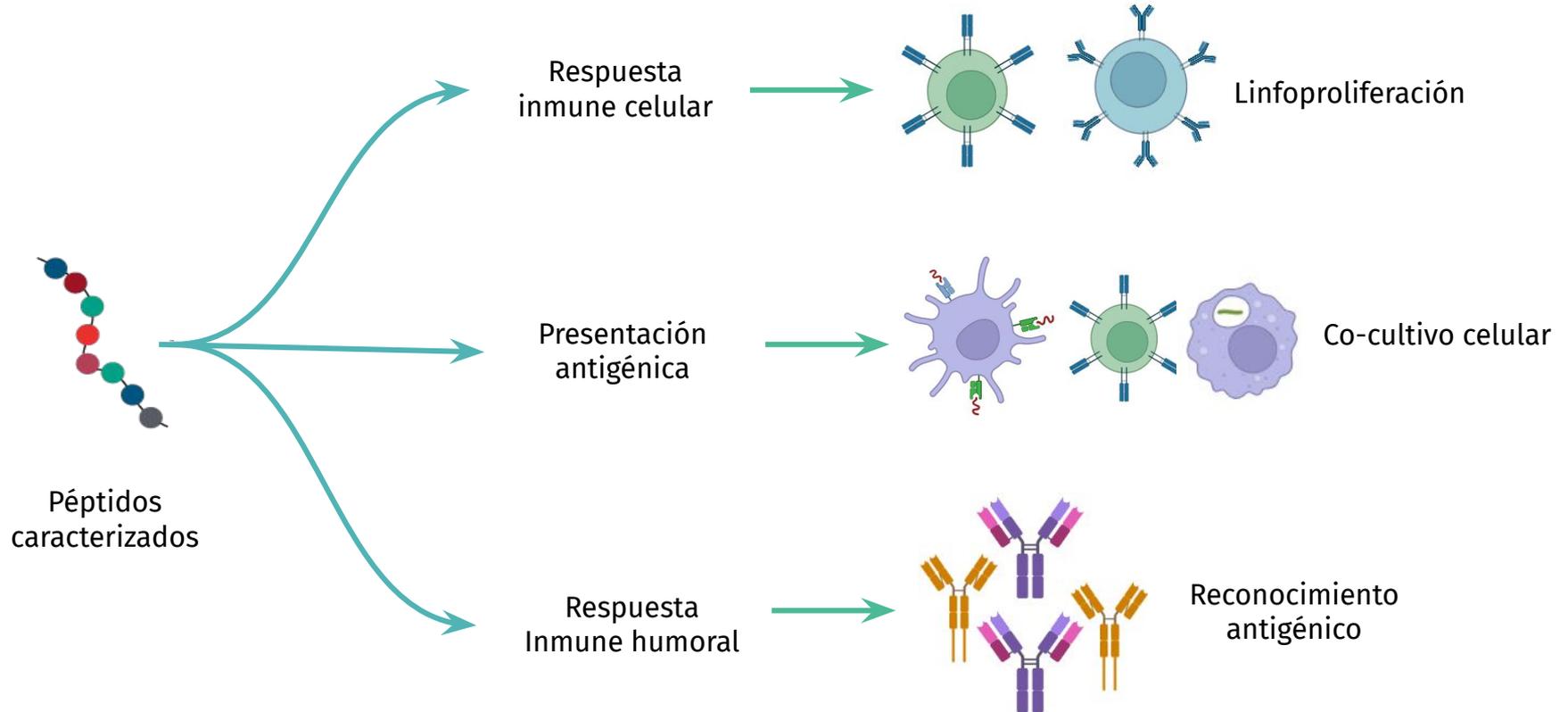
Determinación de estructura secundaria



Modificación de péptidos



Planteamiento del problema



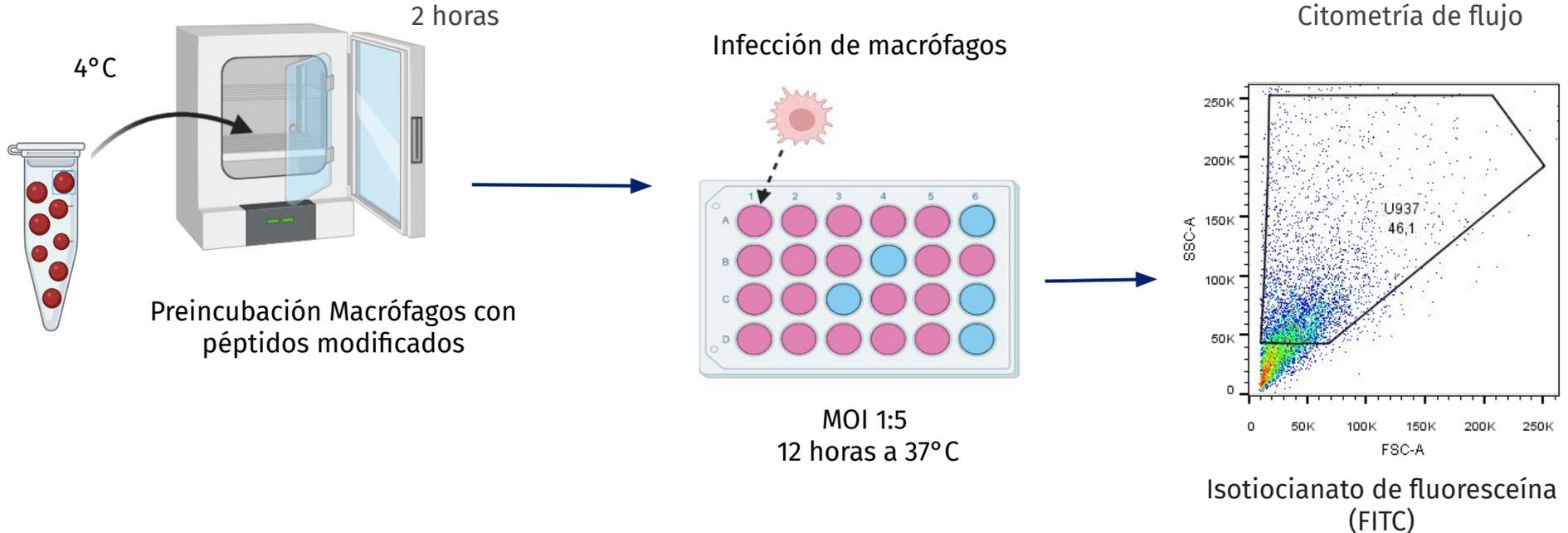
Objetivo General

Establecer la actividad efectora de anticuerpos, que reconocen péptidos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv, sobre neutrófilos y macrófagos infectados

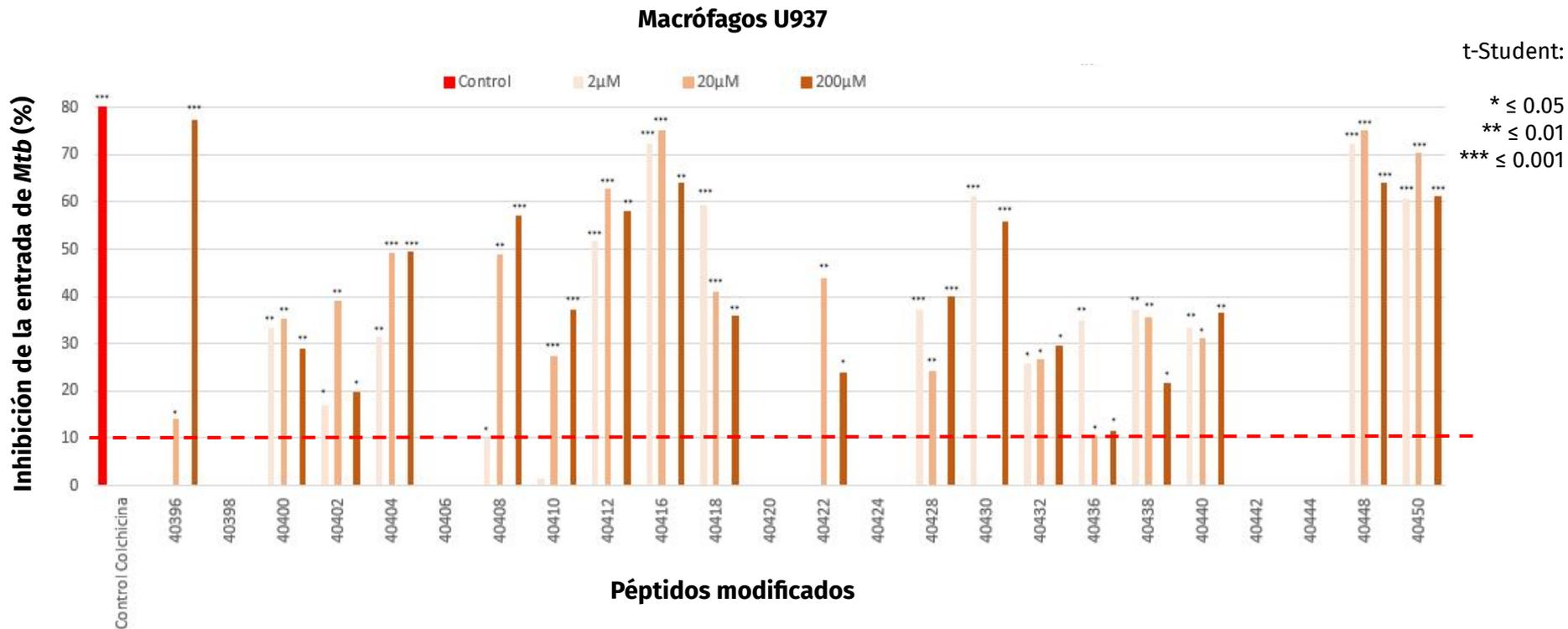
Objetivos específicos

- 1. Identificar anticuerpos de tipo IgG en sangre periférica que reconocen antígenos peptídicos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv**
2. Evaluar la capacidad que tienen los anticuerpos, que reconocen péptidos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv, para inhibir la entrada de la micobacteria en los macrófagos U937
3. Analizar los tipos de muerte que se presentan en neutrófilos infectados por *Mtb* H37Rv pre incubada con anticuerpos que reconocen antígenos peptídicos derivados de la envoltura micobacteriana

Ensayo de inhibición de la entrada de *Mtb* a macrófagos U937 en presencia de péptidos modificados



Evaluación de la capacidad inhibitoria de péptidos modificados



75% de los péptidos analizados inhibieron la entrada de la micobacteria a los macrófagos

Péptidos seleccionados

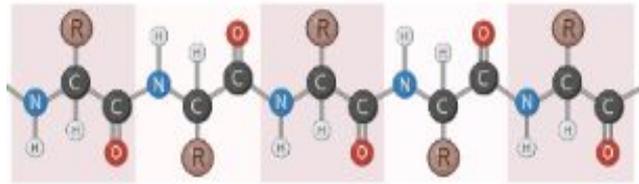
| Proteína | Péptidos |
|----------|--------------|
| Rv 0227c | 16951 |
| | 40396 |
| Rv1268c | 37964 |
| | 40398 |
| Rv1411c | 37096 |
| | 40400 |
| Rv1490 | 11073 |
| | 40402 |
| Rv2560 | 11024 |
| | 40404 |
| Rv2707 | 16084 |
| | 40406 |
| Rv 3166 | 16295 |
| | 40408 |
| | 16298 |
| | 40410 |
| | 16300 |
| | 40412 |

| Proteína | Péptidos |
|----------|--------------|
| Rv 0180c | 31024 |
| | 40416 |
| | 31025 |
| | 40418 |
| | 31032 |
| | 40420 |
| | 31039 |
| | 40422 |
| | 31028 |
| | 40424 |
| Rv 2270 | 37775 |
| | 40428 |
| | 37777 |
| | 40430 |
| | 37780 |
| | 40432 |

| Proteína | Péptidos |
|----------|--------------|
| Rv1911c | 37765 |
| | 40436 |
| | 37767 |
| Rv 2004c | 40438 |
| | 9111 |
| Rv 2301 | 40440 |
| | 30960 |
| Rv 1980c | 40442 |
| | 36827 |
| Rv 3494c | 40444 |
| | 38373 |
| Rv 679c | 40448 |
| | 30987 |
| | 40450 |

Predicción de epítopes B en los péptidos seleccionados

Secuencias de 15 proteínas (RV-número de proteína)



VDTVAAGLSYGPPVLRNTPC



BepiPred 2.0



VDTVAAGLSYGPPVLRNTPC

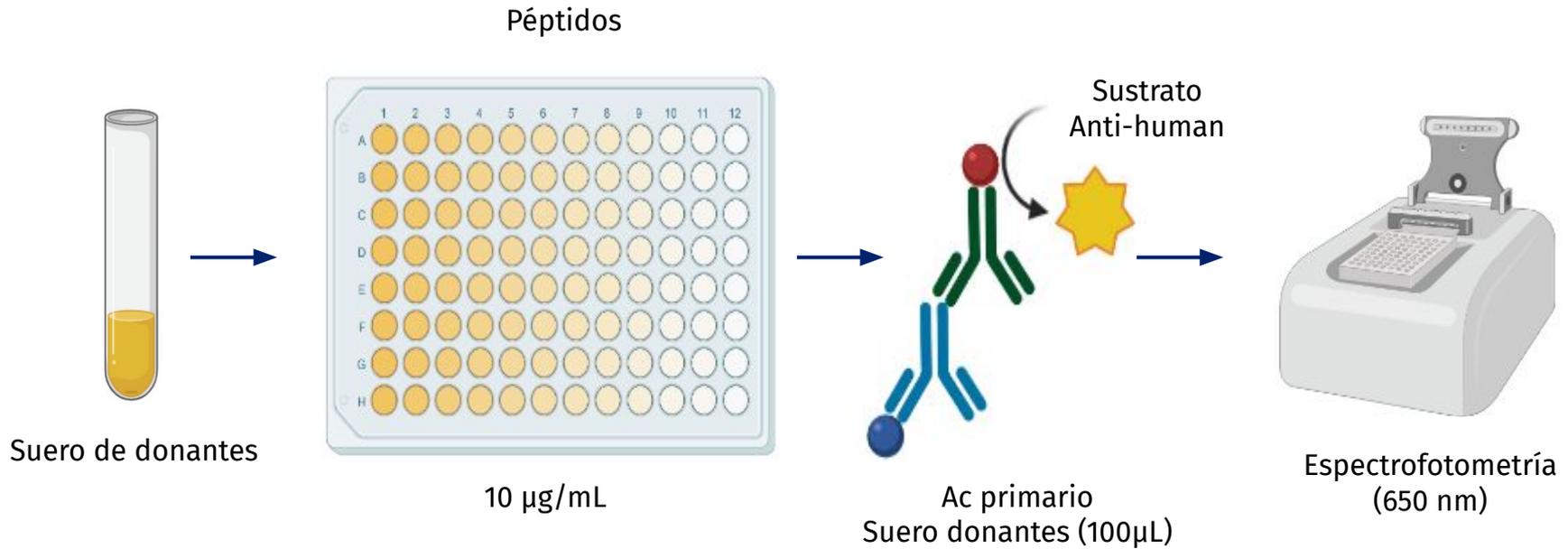
Epítopo B

Caracterización de antígenos candidatos

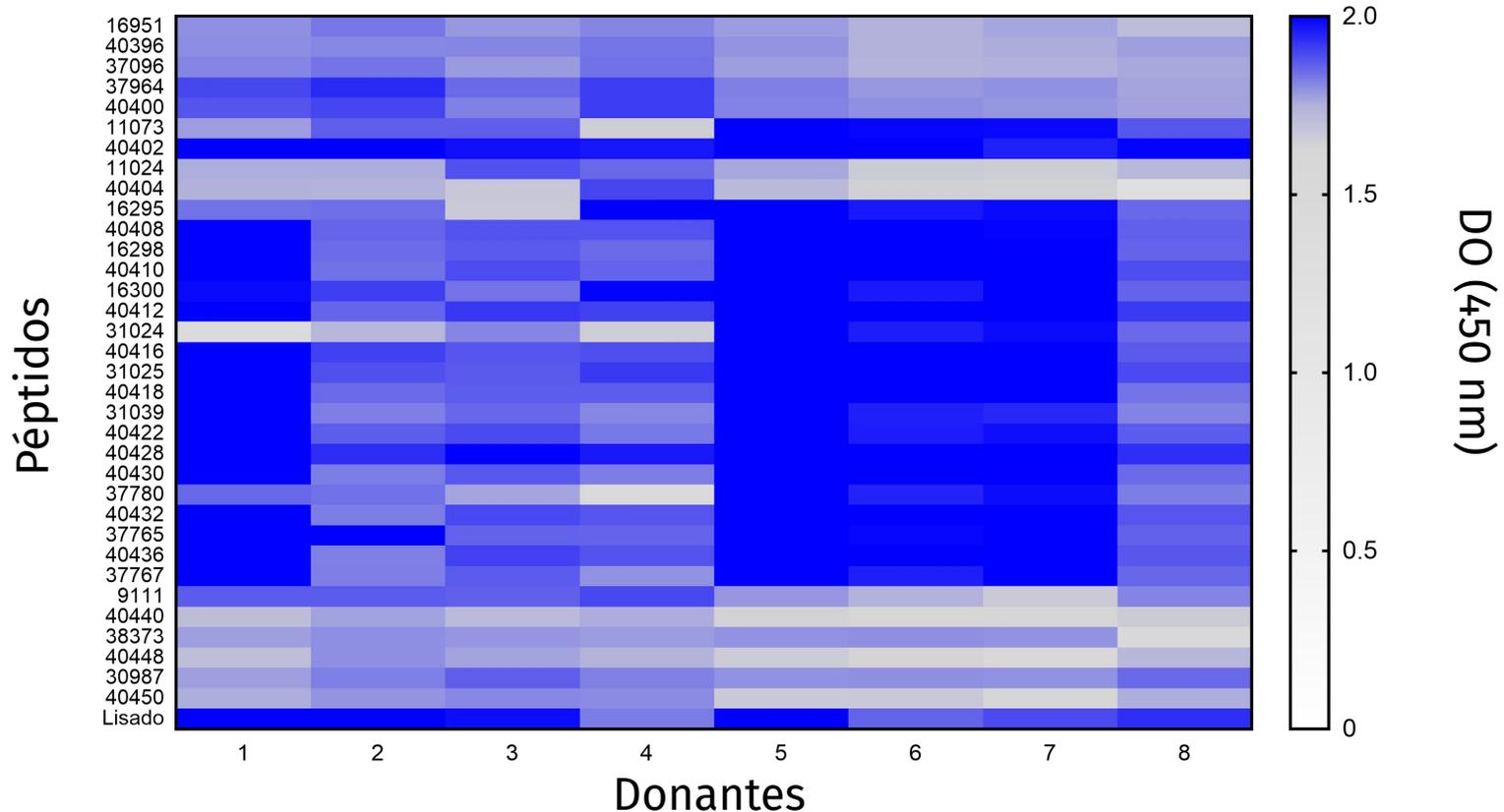
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|--------|-------|---------|-------|---------|-------|--------|-------|
| 25 | | | | | | | | | | C | | | | C | | | | | | C |
| 24 | | C | | C | | C | | | | G | | C | | G | | | | | | C |
| 23 | | G | | G | | G | | | | Y | | G | | A | | | | | | G |
| 22 | | E | | R | | L | | C | | A | | I | | S | | | | | | N |
| 21 | Y | A | Y | S | | Y | | G | Y | L | | Y | | S | | K | Y | R | | G |
| 20 | P | T | L | L | L | A | L | L | A | Q | I | F | V | L | Y | Q | S | T | E | A |
| 19 | N | A | D | D | Y | V | P | P | L | A | Y | D | D | S | Y | D | R | G | K | G |
| 18 | T | P | A | A | A | S | E | E | E | A | F | R | T | S | S | P | V | K | N | L |
| 17 | P | P | P | P | V | Y | A | A | A | S | D | L | V | G | P | Y | T | Q | I | N |
| 16 | N | G | P | P | S | P | A | A | A | A | R | S | A | F | L | Y | A | D | R | S |
| 15 | M | R | L | R | Y | V | P | P | G | P | L | A | A | P | S | S | T | A | N | K |
| 14 | N | N | D | P | P | T | A | A | A | S | S | P | G | Q | I | P | V | Q | G | L |
| 13 | S | P | A | A | S | V | P | P | P | S | A | S | L | L | N | L | N | L | A | N |
| 12 | T | K | L | R | T | P | T | T | S | W | P | T | S | R | I | S | S | S | G | D |
| 11 | A | P | T | T | D | S | T | S | S | T | A | P | Y | T | N | L | P | P | L | L |
| 10 | I | D | D | D | V | S | A | A | W | L | T | S | G | N | Y | N | I | G | N | P |
| 9 | G | A | G | G | S | A | D | D | T | P | D | S | P | P | A | L | A | S | D | K |
| 8 | G | S | V | Q | Q | T | V | F | L | P | G | F | P | T | P | N | T | N | I | Y |
| 7 | R | L | Q | L | G | F | T | S | P | A | S | A | V | S | D | Y | G | L | T | P |
| 6 | A | G | L | Q | T | P | T | T | P | V | R | Q | L | N | S | A | S | R | P | G |
| 5 | G | G | N | P | Y | A | A | A | A | N | V | F | R | A | M | P | N | M | D | A |
| 4 | N | R | I | I | P | F | K | K | V | A | A | G | T | M | Q | D | L | H | G | G |
| 3 | S | A | W | W | A | G | P | P | N | G | Y | A | N | S | I | S | R | A | N | L |
| 2 | S | G | T | G | F | G | V | G | A | G | G | G | P | G | Q | G | M | G | K | G |
| 1 | T | C | E | C | G | C | Y | C | G | C | A | C | C | C | T | C | H | C | Y | C |
| Position | 37775 | 40428 | 37777 | 40430 | 37780 | 40432 | 37765 | 40436 | 37767 | 40438 | 9111 | 40440 | 30960 | 40442 | 36827 | 40444 | 38373 | 40448 | 30987 | 40450 |
| | Rv2270 | | | | | | Rv1911c | | | | Rv2004c | | Rv2301 | | Rv1980c | | Rv3494c | | Rv679c | |

34 péptidos pertenecientes a 15 proteínas presentaron epitopes B

Aproximación experimental de ELISA indirecta

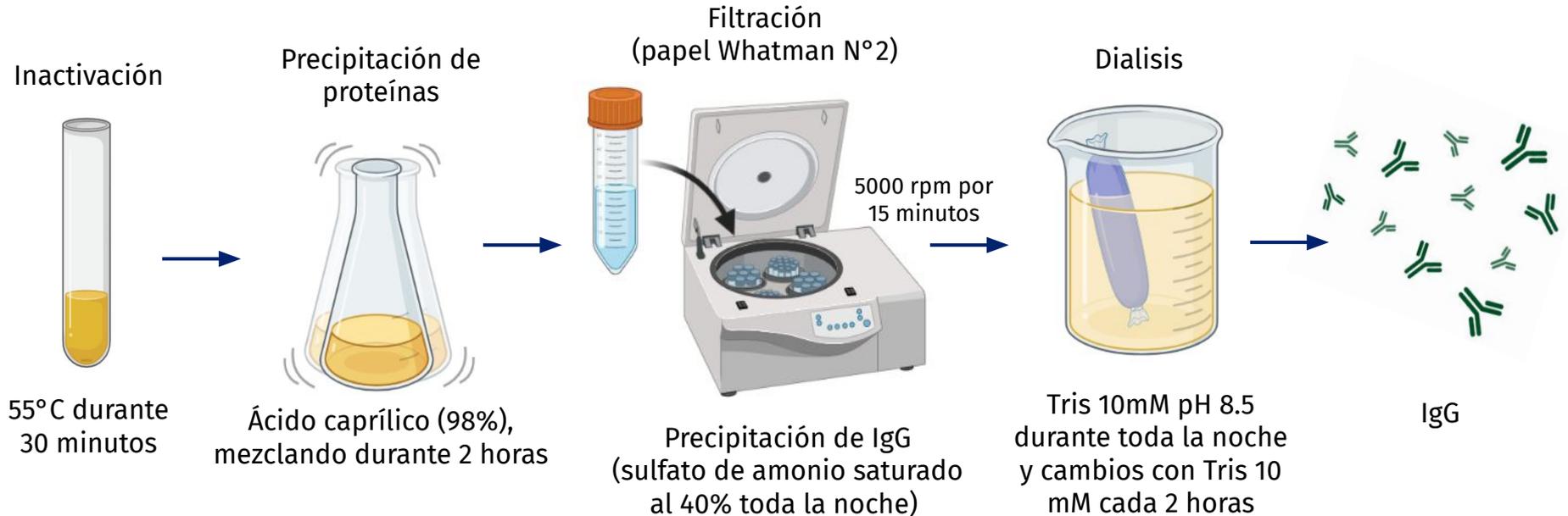


Reconocimiento de péptidos por inmunoglobulinas G

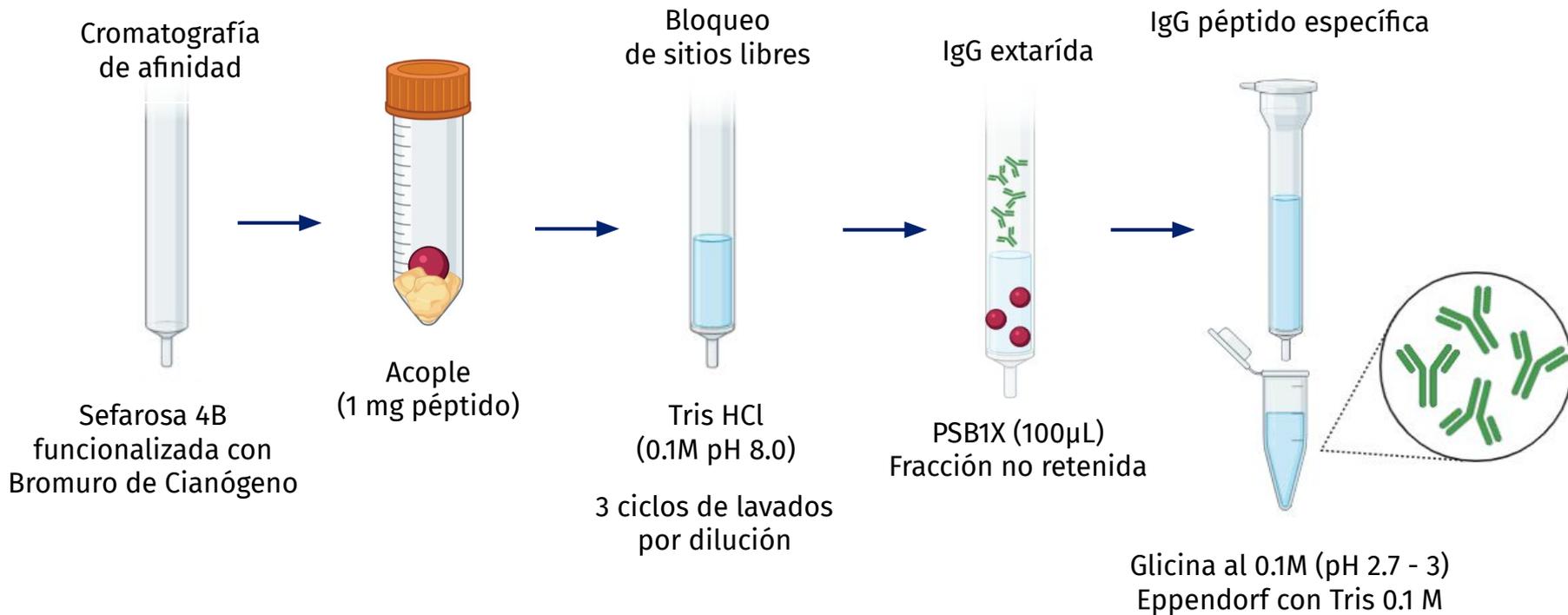


DO: 1.0 - 2.0 indica mayor reconocimiento de las secuencias peptídicas

Extracción de inmunoglobulinas G

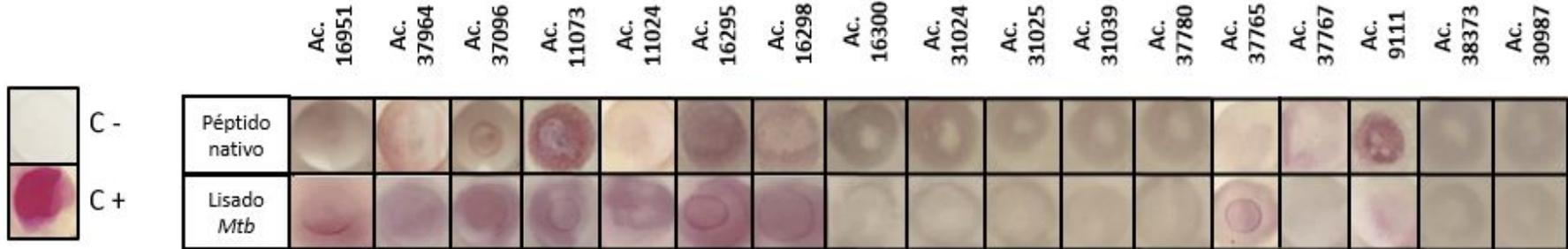


Anticuerpos péptido - específicos

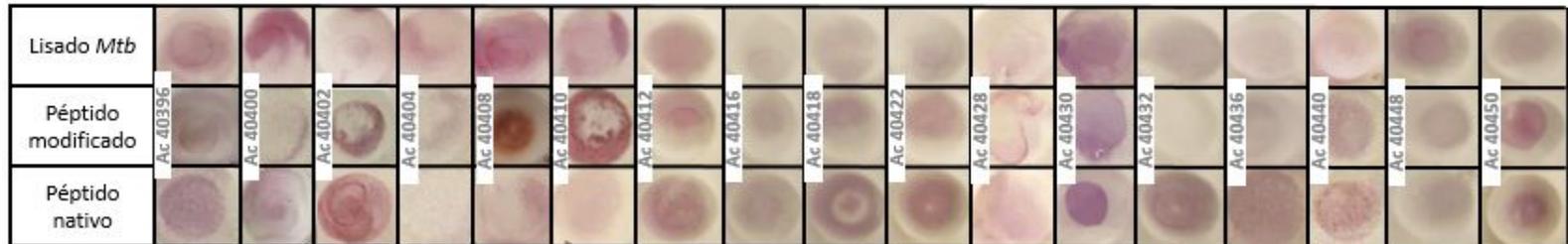


Reconocimiento de péptidos nativos y modificados

Anticuerpos péptido-específicos nativos



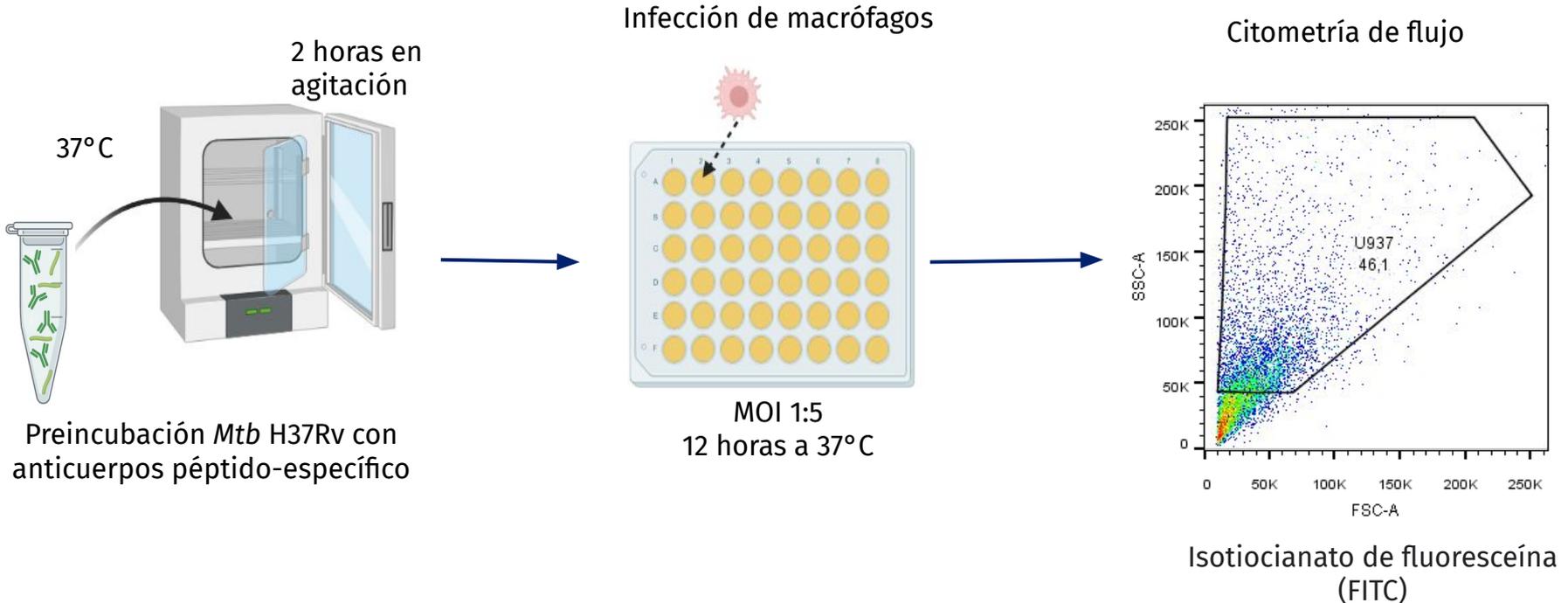
Anticuerpos péptido-específicos modificados



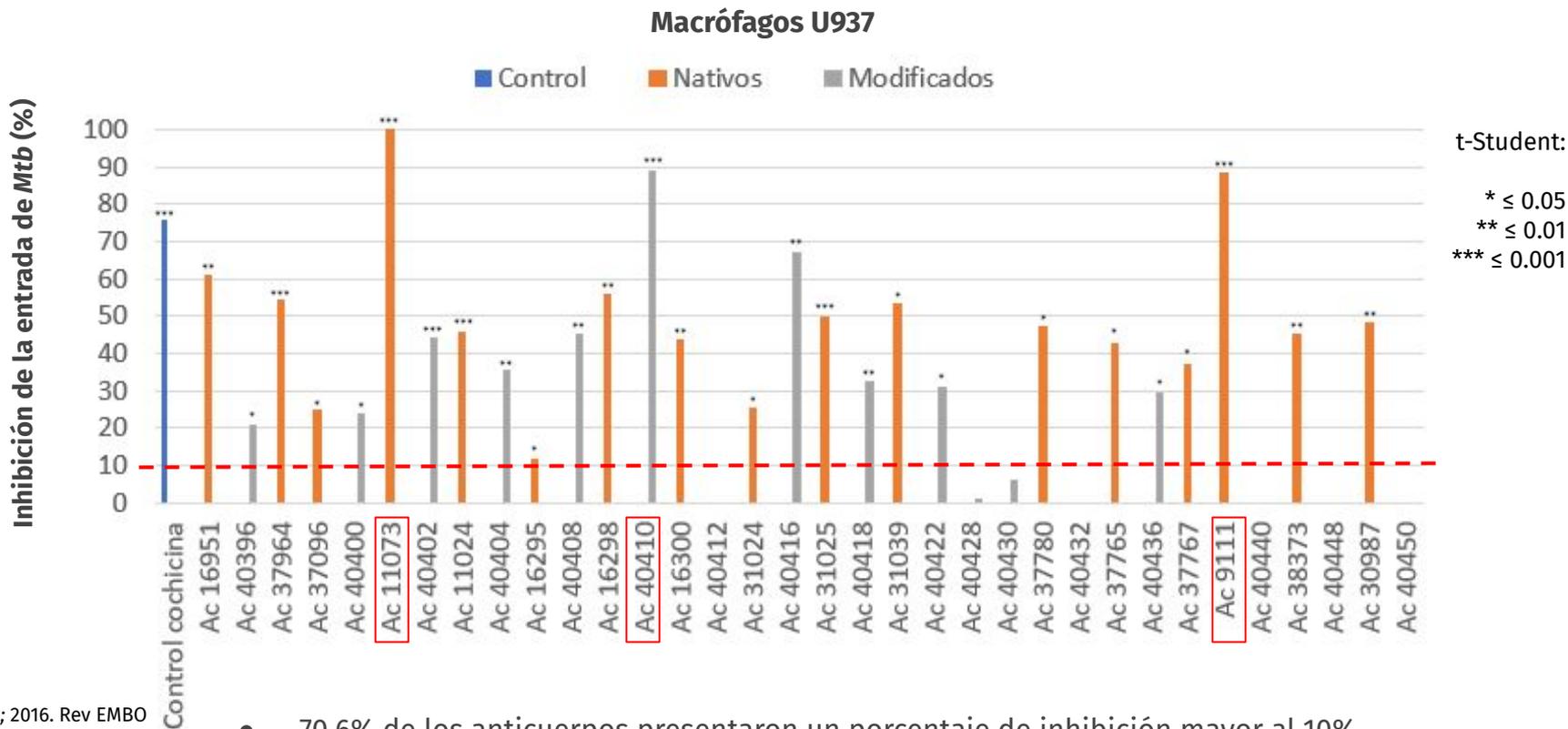
Objetivos específicos

1. Identificar anticuerpos IgG en sangre periférica que reconocen antígenos peptídicos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv
2. **Evaluar la capacidad que tienen los anticuerpos, que reconocen péptidos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv, para inhibir la entrada de la micobacteria en los macrófagos U937**
3. Analizar los tipos de muerte que se presentan en neutrófilos infectados por *Mtb* H37Rv pre incubada con anticuerpos que reconocen antígenos peptídicos derivados de la envoltura micobacteriana

Ensayo de inhibición de la entrada de *Mtb* con anticuerpos péptido-específicos



Capacidad inhibitoria de anticuerpos péptido-específicos



Zimmerman *et al.*; 2016. Rev EMBO

Mol Med. 8 (11):1325-1339.

Lu *et al.*, 2016. Rev Cell.

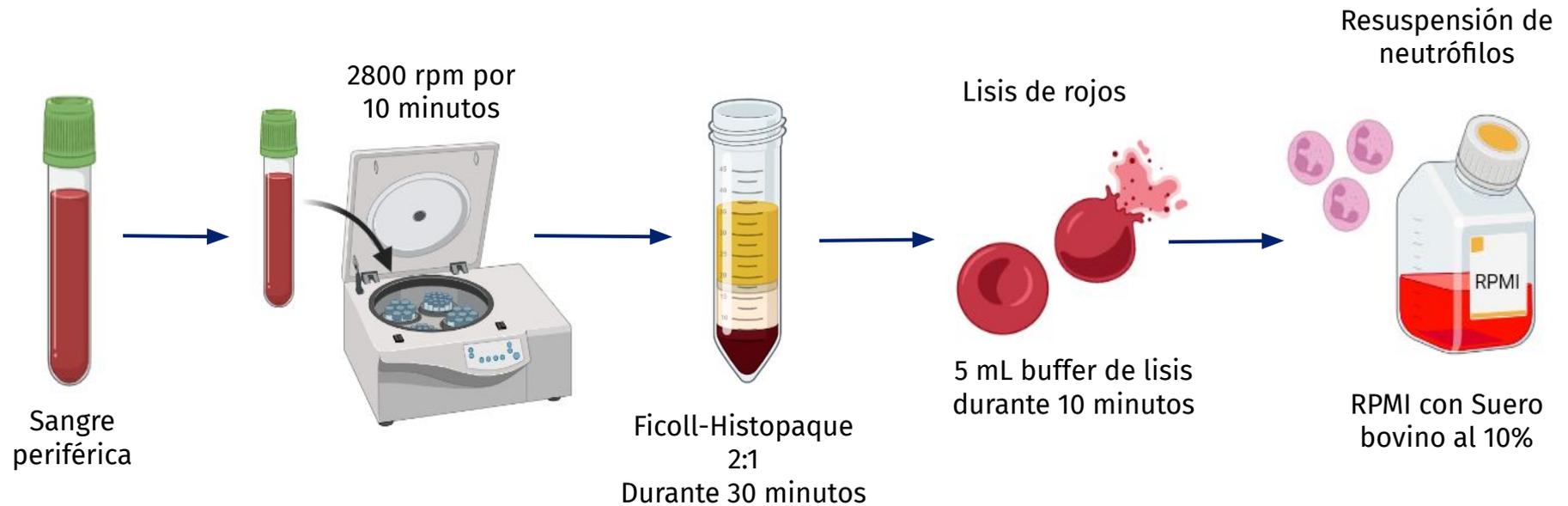
167(2):433-443.e14.

- 70,6% de los anticuerpos presentaron un porcentaje de inhibición mayor al 10%
- Los Ac **11073**, **40410** y **9111** inhibieron la entrada de la micobacteria a los macrófagos en un porcentaje superior al control

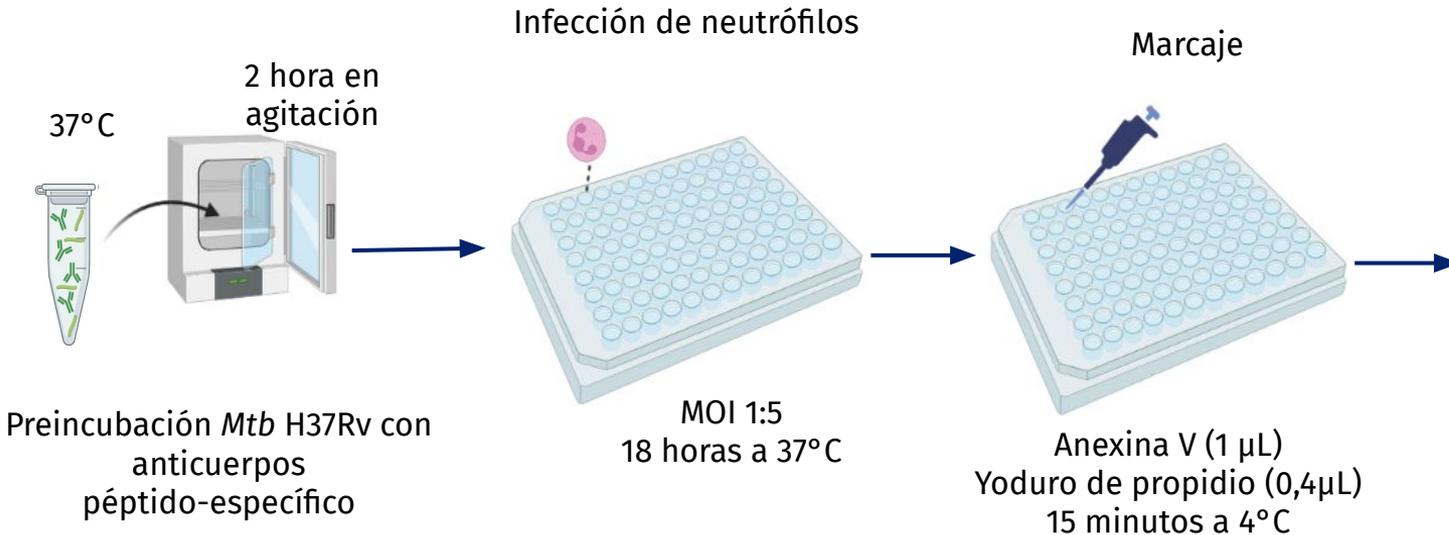
Objetivos específicos

1. Identificar anticuerpos IgG en sangre periférica que reconocen antígenos peptídicos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv
2. Evaluar la capacidad que tienen los anticuerpos, que reconocen péptidos derivados de proteínas presentes en la envoltura de *Mtb* H37Rv, para inhibir la entrada de la micobacteria en los macrófagos U937
3. **Analizar los tipos de muerte que se presentan en neutrófilos infectados por *Mtb* H37Rv pre incubada con anticuerpos que reconocen antígenos peptídicos derivados de la envoltura micobacteriana**

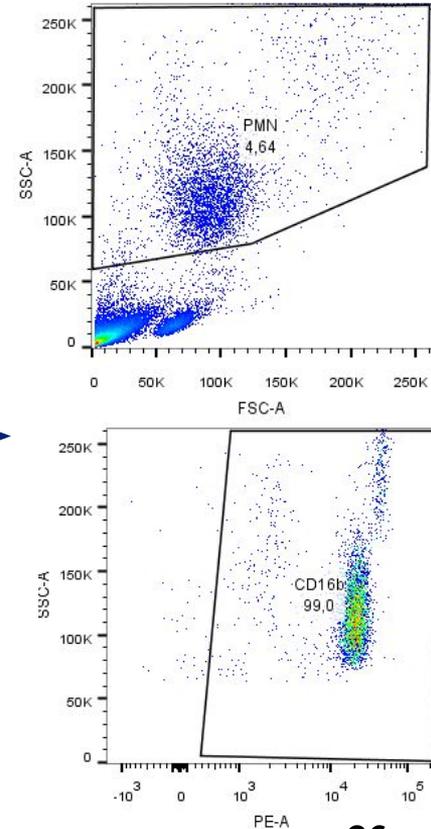
Extracción de neutrófilos a partir de sangre periférica



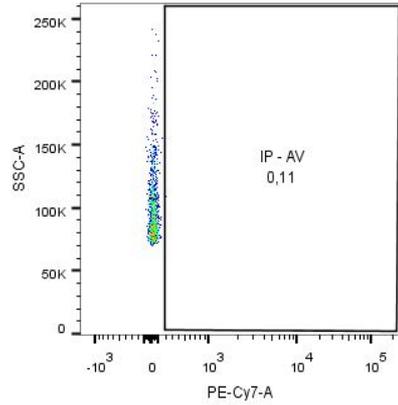
Ensayo de invasión en neutrófilos con *Mtb* mediado por IgG



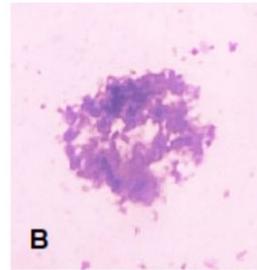
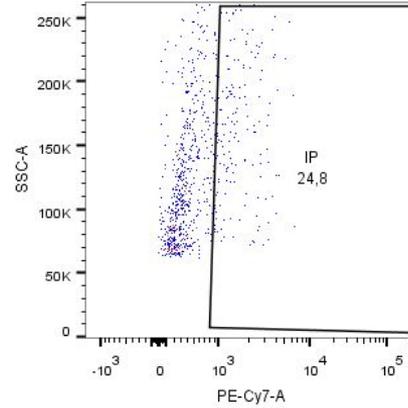
Citometría



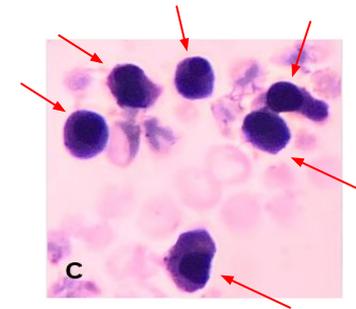
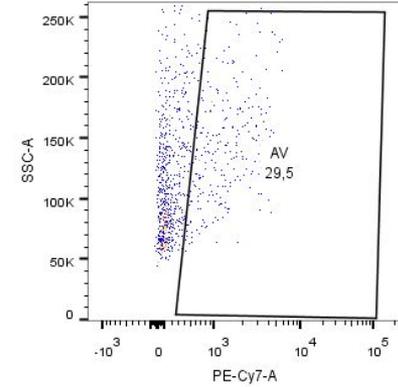
Citometría de flujo



NEUTRÓFILOS VIABLES



NEUTRÓFILOS EN NECROSIS



NEUTRÓFILOS EN APOPTOSIS

Necrosis y apoptosis en neutrófilos infectados

| AC | DONANTE | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | |
| | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP | NEC | APOP |
| | Ctrl (8,52) | Ctrl (23,70) | Ctrl (8,70) | Ctrl (6,37) | Ctrl (2,55) | Ctrl (1,32) | Ctrl (10,50) | Ctrl (1,51) | Ctrl (28,10) | Ctrl (3,92) | Ctrl (11,70) | Ctrl (7,60) | Ctrl (18,30) | Ctrl (3,80) | Ctrl (13,70) | Ctrl (2,32) |
| 16951 | 4,31** | 11,60*** | 31,35*** | 0,93** | 2,79 | 10,60*** | 1,06*** | 2,94*** | 17,50** | 9,96** | 10,30*** | 24,55*** | 47,30*** | 17,75*** | 3,42*** | 7,51*** |

Hilda *et al.*, 2019. Rev Innate Immunity. 26 (4): 240-247

Dallenga *et al.*, 2017. Rev Cell Host & Microbe. V22,ISSUE4, P519-530.E3.

Necrosis y apoptosis en neutrófilos infectados

| AC | DONANTE | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | |
| | NEC Ctrl (8.52) | APOP Ctrl (23.70) | NEC Ctrl (8.70) | APOP Ctrl (6.37) | NEC Ctrl (2.55) | APOP Ctrl (1.32) | NEC Ctrl (10.50) | APOP Ctrl (1.51) | NEC Ctrl (28.10) | APOP Ctrl (3.92) | NEC Ctrl (11.70) | APOP Ctrl (7.60) | NEC Ctrl (18.30) | APOP Ctrl (3.80) | NEC Ctrl (13.70) | APOP Ctrl (2.32) |
| 16951 | 4.31** | 11.60*** | 31.35*** | 0.93** | 2.79 | 10.60*** | 1.06*** | 2.94*** | 17.50** | 9.96** | 10.30** | 24.55*** | 47.30*** | 17.75*** | 3.42*** | 7.51*** |
| 40396 | 5.10** | 14.50*** | 6.69* | 0.29*** | 1.31*** | 9.74** | 1.80*** | 1.31* | 30.10*** | 19.50*** | 17.10*** | 16.40*** | 13.20*** | 4.96* | 6.42*** | 13.20*** |
| 37964 | 3.81* | 20.15 | 6.87* | 1.27* | 2.76 | 13.40*** | 29.55*** | 13.35** | 3.94*** | 11.90** | 18.00*** | 13.70 | 1.93** | 31.70*** | 3.59** | 3.66** |
| 37096 | 3.74*** | 49.50** | 14.25** | 2.81*** | 5.68* | 10.35*** | 1.50** | 2.06** | 12.21* | 7.78 | 8.63*** | 6.15** | 2.91** | 7.45*** | 24.35 | 3.29 |
| 40400 | 3.18*** | 57.80*** | 2.96** | 3.12*** | 1.71* | 28.55*** | 3.62*** | 3.97*** | 10.70*** | 8.33** | 8.69 | 19.60*** | 5.00*** | 46.35*** | 3.86*** | 6.54*** |
| 11073 | 6.85* | 13.85** | 27.05*** | 2.43*** | 17.9** | 8.43* | 2.93*** | 4.56** | 33.70*** | 1.97* | 8.41** | 17.35** | 15.90*** | 6.51** | 10.56* | 3.14 |
| 40402 | 5.49** | 14.45** | 45.15** | 1.28*** | 1.63* | 13.25*** | 3.72*** | 5.17** | 36.00*** | 11.60** | 7.08** | 22.00** | 26.50*** | 9.37** | 7.19*** | 7.05*** |
| 11024 | 3.10** | 28.40 | 18.85** | 0.32*** | 3.10 | 29.01** | 1.18*** | 4.49** | 37.80*** | 15.80*** | 13.08 | 27.00* | 21.45 | 15.85*** | 4.67*** | 7.25*** |
| 40404 | 4.17* | 14.40*** | 34.60** | 1.28*** | 36.10*** | 32.40*** | 2.21*** | 2.49** | 15.30** | 17.10*** | 17.65** | 14.25 | 14.40*** | 21.20*** | 1.69*** | 9.88*** |
| 16295 | 6.83 | 8.85** | 21.50*** | 1.17*** | 27.45*** | 16.15*** | 1.91*** | 13.80** | 36.70*** | 6.00* | 18.80*** | 24.50** | 5.68** | 4.26 | 2.39*** | 17.30*** |
| 40408 | 5.18** | 19.00** | 16.60** | 1.71*** | 10.08** | 30.40*** | 2.30** | 1.91** | 40.50*** | 19.50*** | 7.40** | 21.95** | 4.73*** | 17.15* | 4.00*** | 3.87** |
| 16298 | 2.27** | 15.20*** | 9.37 | 1.11*** | 9.62* | 20.30*** | 13.30* | 3.46*** | 25.20 | 11.25*** | 4.89* | 18.85 | 4.84** | 10.30** | 2.76*** | 2.08** |
| 40410 | 2.68** | 10.84** | 16.20** | 0.88*** | 1.68*** | 16.20*** | 16.25* | 2.33** | 45.65*** | 6.78* | 6.96 | 14.55** | 1.71*** | 2.82* | 1.25*** | 7.98*** |
| 16300 | 3.26*** | 23.65 | 7.90 | 2.45 | 2.26** | 15.95*** | 0.26*** | 1.98* | 14.75*** | 47.70*** | 13.30 | 18.05 | 8.56** | 13.00*** | 5.41*** | 6.25*** |
| 40412 | 4.86*** | 28.30** | 1.50** | 0.56*** | 1.20** | 8.20* | 1.63*** | 5.00*** | 5.00*** | 11.90** | 7.69* | 9.68** | 16.30 | 10.37*** | 0.64*** | 2.67* |
| 31024 | 10.50*** | 39.55* | 4.89** | 1.57* | 12.5*** | 0.80** | 2.32* | 14.10*** | 6.21* | 15.55* | 21.20** | 12.20** | 2.03* | 1.88*** | 2.06* | |
| 40416 | 2.89* | 33.40** | 8.77 | 1.50*** | 2.42 | 0.94 | 1.69*** | 3.98*** | 15.90** | 4.77* | 7.55*** | 30.75** | 22.55** | 50.35*** | 21.25** | 5.08** |
| 31025 | 1.24*** | 22.30** | 7.12* | 3.17*** | 2.08* | 7.14* | 1.20** | 2.64* | 12.45** | 3.35 | 6.34*** | 25.10* | 9.45*** | 20.20*** | 1.49*** | 4.24** |
| 40418 | 5.98** | 38.80*** | 36.65** | 2.15** | 2.81 | 14.3* | 0.45*** | 1.92* | 21.10*** | 1.87** | 5.10** | 12.05** | 10.66** | 16.95*** | 3.81*** | 9.47*** |
| 31039 | 3.05*** | 15.55** | 20.30** | 2.26*** | 2.01 | 9.53*** | 2.43*** | 5.18*** | 42.50** | 2.28* | 16.25* | 11.80** | 9.03** | 32.50*** | 4.17*** | 6.57*** |
| 40422 | 8.74* | 15.50** | 4.60* | 0.90*** | 3.25* | 7.43** | 1.34*** | 3.83** | 29.70** | 18.80*** | 23.35** | 16.35** | 7.91*** | 3.64 | 3.35*** | 9.70*** |
| 40428 | 6.13* | 30.95** | 4.31** | 0.49*** | 1.64* | 17.4** | 22.60*** | 5.63*** | 10.45* | 8.84* | 6.82** | 14.40** | 10.80*** | 8.99** | 1.60*** | 7.28*** |
| 40430 | 16.55 | 22.85 | 3.33** | 0.65*** | 3.21 | 13.35*** | 21.00** | 7.98** | 43.65* | 19.10*** | 11.32 | 13.95 | 3.23** | 48.40*** | 1.31*** | 5.52* |
| 37780 | 13.05** | 20.80* | 26.90*** | 1.07** | 0.78* | 17.7*** | 3.11*** | 11.8*** | 57.50* | 4.97 | 2.86** | 18.30* | 3.91*** | 16.20*** | 13.05*** | 2.05 |
| 40432 | 6.30** | 21.80 | 2.43** | 0.94*** | 9.53*** | 32.6** | 0.79*** | 2.26** | 41.00*** | 2.48* | 16.30** | 16.35 | 11.95*** | 13.55** | 6.36*** | 11.40*** |
| 37765 | 7.73* | 15.50** | 7.22* | 1.92** | 1.10** | 7.98*** | 1.32** | 2.29** | 48.60*** | 2.28* | 7.42*** | 42.50** | 2.35*** | 15.45** | 9.32*** | 2.29 |
| 40436 | 14.30* | 13.70** | 22.25* | 0.74*** | 2.21 | 18.40*** | 0.51*** | 1.03** | 21.20*** | 4.61 | 28.50*** | 6.78** | 9.42** | 0.23** | 4.65*** | 5.07** |
| 37767 | 4.88** | 30.95* | 14.95** | 2.30*** | 0.76*** | 5.98* | 0.71*** | 1.82* | 22.80*** | 8.19** | 15.50* | 19.95* | 6.64*** | 7.50** | 64.10*** | 23.10*** |
| 9111 | 4.99*** | 25.75* | 10.36* | 6.24 | 1.16* | 6.70*** | 0.37*** | 1.12** | 25.50*** | 6.28* | 7.47*** | 20.40* | 14.10*** | 17.45** | 13.50*** | 26.40*** |
| 40440 | 7.74** | 32.20*** | 8.95 | 2.51*** | 1.79 | 20.70** | 0.45*** | 0.53*** | 33.40*** | 2.24* | 9.61** | 7.53*** | 14.10*** | 4.26 | 13.70** | 5.40** |
| 38373 | 8.80 | 29.60** | 2.83** | 4.82* | 1.11*** | 30.05*** | 16.10*** | 2.52 | 24.60*** | 3.15 | 8.25** | 18.30** | 17.30*** | 50.70*** | 4.48** | 4.82* |
| 40448 | 23.50** | 19.30** | 15.80** | 1.66*** | 3.44** | 24.4** | 0.31*** | 1.30** | 29.35 | 4.72 | 14.95** | 18.40*** | 24.80*** | 34.20*** | 13.30*** | 10.54* |
| 30987 | 7.05* | 10.25*** | 4.09** | 1.33*** | 0.83** | 2.15* | 22.15*** | 6.78*** | 23.20** | 4.00 | 7.26* | 4.39 | 6.05*** | 32.45** | 8.33** | 6.75*** |
| 40450 | 4.67* | 41.10*** | 11.90 | 3.74*** | 2.56 | 1.05 | 2.96*** | 0.83*** | 19.60*** | 17.50*** | 8.36** | 22.95*** | 27.30*** | 17.05* | 5.02*** | 7.97*** |

t-Student:

* ≤ 0.05

** ≤ 0.01

*** ≤ 0.001

El 52,9% de los anticuerpos incrementan la apoptosis en Neutrófilos en el 75% de la población

El 35,3% de los anticuerpos disminuyen la necrosis en Neutrófilos en el 75% de la población

Tan *et al.*, 2006. Rev The Journal of Immunology.

177(3): 1864-1871.

Andersson *et al.*, 2019. Rev Journal of Clinical

Investigation. 12(3):235-247.

Conclusiones

- Inmunoglobulinas de tipo G dirigidas contra secuencias peptídicas presentan función efectora neutralizante frente a *Mtb* en macrófagos U937.
- IgGs péptido específicas son capaces de promover la apoptosis y disminuir la necrosis en neutrófilos infectados, lo cual podría establecer un mejor panorama durante la infección.
- Los anticuerpos dirigidos contra los péptidos 16951, 11073, 40410, 40416 y 9111 presentan los mayores porcentajes de inhibición de la entrada de la micobacteria a macrófagos U937.
- Se destacan los péptidos 9111, 11073 y 40400 que además de inhibir la entrada de la *Mtb* a macrófagos, disminuye la necrosis y aumentan la apoptosis en neutrófilos, cumpliendo con las características evaluadas en el presente estudio que podrían conferir protección frente a *Mtb*.

Recomendaciones

- Incrementar el número de individuos reclutados con el fin de determinar el comportamiento de los anticuerpos como se evaluó en el presente estudio.
- Determinar las subclases de IgG que se presentan tras la purificación de inmunoglobulinas utilizadas en el ensayo y así mismo las glicosilaciones de la fracción cristalizable, ya que se conoce que interfieren en la función efectora de los anticuerpos.
- Evaluar la vía apoptótica que se desencadena en los neutrófilos tras la exposición a la micobacteria pre-opsonizada relacionada con las caspasas implícitas en el proceso

