

## ***Mycobacterium tuberculosis*: factores de virulencia**

Reinier Borrero\*, Nadine Álvarez, Fátima Reyes, María Elena Sarmiento, Armando Acosta

Instituto Finlay. Centro de Investigación – Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805, La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba. AP. 16017, CP11600.

**email:** rborrero@finlay.edu.cu

---

*Mycobacterium tuberculosis* es el agente causal de la tuberculosis, una de las enfermedades infecciosas más letales en el mundo. La única vacuna disponible para su control es el BCG, sin embargo, falla en la protección contra la tuberculosis pulmonar, siendo esta la forma más frecuente y responsable de la diseminación. La identificación de factores de virulencia del microorganismo causal pudiera ayudar en el desarrollo de un nuevo candidato vacunal que sea capaz de neutralizar la acción de esos determinantes patogénicos. El empleo de diferentes modelos animales ha permitido reproducir las etapas de la enfermedad, así como medir o cuantificar la virulencia de las distintas cepas circulantes de *Mycobacterium tuberculosis*. Las mutaciones génicas y otras técnicas de biología molecular han posibilitado dilucidar los genes específicos involucrados en la virulencia de este microorganismo que codifican para múltiples y complejos factores de diferente naturaleza.

**Palabras clave:** *Mycobacterium tuberculosis*, factores de virulencia, genes.

---

### **Introducción**

*Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) es el agente causal de la tuberculosis, una de las enfermedades infecto-contagiosas más letales y antiguas que afecta al ser humano y que posee una amplia distribución en el mundo, produciendo cada año la muerte de alrededor de 2 millones de personas (1, 2).

En la actualidad la tuberculosis constituye una enfermedad reemergente como consecuencia de la aparición de cepas multirresistentes a los fármacos tradicionalmente empleados en el tratamiento de la enfermedad, ya que representa la primera causa de muerte en pacientes con VIH/SIDA (3). Se estima que en la actualidad un tercio de la población mundial está infectada con el bacilo de tuberculosis, constituyendo un reservorio a partir del cual se producirán futuros casos (4).

Desafortunadamente aún no se conoce con claridad cuáles son los principales factores de virulencia de *M. tuberculosis* involucrados en el desarrollo de la patogenicidad de este microorganismo. Esto se debe a que *M. tuberculosis* no tiene los factores de virulencia clásicos que poseen otras bacterias patógenas, entre los cuales cabe mencionar las toxinas como las producidas por *Corynebacterium diphtheriae*, *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella dysenteriae* y *Vibrio cholerae*. Por esta razón muchas investigaciones han estado encaminadas a tratar de encontrar una definición precisa de la virulencia de *M. tuberculosis* mediante la búsqueda de factores que sean importantes para la progresión de la enfermedad (1).

El desarrollo de métodos para crear mutaciones en genes específicos, así como la secuenciación del genoma completo de *M. tuberculosis* ha ofrecido herramientas muy útiles para

el estudio de la fisiología y patogenicidad de este microorganismo (5,6), ya que se ha logrado identificar una serie de genes que desempeñan un rol importante en la virulencia de *M. tuberculosis*. Entre estos se encuentran los reguladores que codifican para proteínas que se expresan en la superficie de la célula y los que codifican para productos involucrados en la síntesis o el metabolismo de lípidos de pared celular asociados a la patogenicidad (1,7).

A pesar de que tradicionalmente los principales factores de virulencia de muchas bacterias son proteínas codificadas por genes contenidos en el cromosoma bacteriano, plásmidos o bacteriófagos, los lípidos de pared celular de *M. tuberculosis* son considerados como atributos patogénicos sumamente importantes (8), pero ninguno en particular es considerado como un factor de virulencia esencial, pues la patogenia del bacilo parece ser un fenómeno multifactorial aún poco dilucidado.

Muchos lípidos, además, se encuentran unidos a grupos azúcares (glicolípidos) y presentan estructuras sumamente específicas e inductoras de una respuesta inmunosupresora (7). Por ello, definir factores de virulencia y comprender mejor los eventos que desencadenan, resulta una herramienta fundamental que permitirá comprender mejor la patogenia de la enfermedad y desarrollar nuevas estrategias para su control.

En el presente trabajo abordamos los principales elementos estructurales, tanto de naturaleza proteica como lipídica de *M. tuberculosis*, involucrados de manera directa en el establecimiento de la infección y la producción de daños en el hospedero.

---

\* Máster en Microbiología. Departamento de Biología Molecular. Instituto Finlay.

## **Modelos que permiten estudiar la virulencia de *M. tuberculosis***

Aunque existe un conocimiento muy limitado sobre cómo *M. tuberculosis* causa la enfermedad, la virulencia de esta micobacteria puede ser medida a través de la identificación de los efectos que produce una bacteria modificada genéticamente en el proceso patológico. Los términos «mortalidad» y «morbilidad» se utilizan para describir la virulencia de *M. tuberculosis* y pueden ser definidos de la siguiente manera: la mortalidad es el porcentaje de animales infectados que mueren y también se mide como el tiempo necesario para que el animal muera después de haber sido infectado.

En el caso de la morbilidad, esta se mide a través del análisis histopatológico, donde se aprecian las lesiones producidas durante el proceso infeccioso y resulta importante para caracterizar clases de mutantes de *M. tuberculosis*, donde no se produce una afectación en la carga bacteriana o la capacidad de sobrevivir de la cepa en los tejidos del hospedero, sino en su habilidad para ocasionar daños (1).

Otro parámetro importante que se suele asociar con la virulencia es la carga bacteriana, es decir, el número de bacterias presentes en el hospedero infectado después de iniciada la infección. Esta información permite realizar una comparación de la capacidad de diferentes cepas bacterianas de sobrevivir a la respuesta del hospedero durante la infección.

La virulencia de *M. tuberculosis* ha sido estudiada mediante el empleo de cultivo de células, principalmente macrófagos y más recientemente células dendríticas (9-11) y neumocitos (12,13), así como a través de modelos animales. Si bien el cultivo de células es más fácil de trabajar y ofrece resultados más rápidos, solamente se limita a describir las etapas tempranas de la infección. Los modelos animales permiten el estudio de todas las etapas de la tuberculosis. La elección de modelos animales para estudios de virulencia es importante, y los tres principales modelos que se emplean para la tuberculosis son ratones, cobayos y conejos, cada uno con sus ventajas y desventajas.

Los ratones son los animales utilizados con más frecuencia debido a que existen muchos estudios y reportes sobre su genética (la existencia de líneas puras, entre ellos algunos que poseen mutaciones en el sistema inmunológico), la disponibilidad de reactivos para medir los niveles de citoquinas y sus bajos costos de mantenimiento en relación con otros modelos animales (14).

La progresión de la tuberculosis en los ratones difiere de los seres humanos en que no se forman los granulomas característicos, sin embargo, los ratones por lo general no son tan sensibles a la enfermedad como otros modelos

animales y pueden desarrollar una infección crónica que es muy similar a la producida en los humanos (15,16).

Los cobayos son muy sensibles a la infección por *M. tuberculosis* y las etapas de la enfermedad, incluyendo las primeras fases de la formación de los granulomas que son similares a las de los seres humanos (14). Las desventajas de este modelo consisten en la falta de líneas puras de cobayos y reactivos, así como los altos costos de mantenimiento.

El empleo de conejos tiene como gran ventaja sobre los otros modelos animales que los granulomas formados en el pulmón durante la enfermedad muestran la misma progresión de etapas, es decir, caseificación, licuefacción y la cavitación, como se observa en casos avanzados de tuberculosis humana (1,17). Sin embargo, las desventajas de los conejos son similares a los cobayos, pero el costo de su mantenimiento es aún mayor.

Debido a que *M. tuberculosis* es un patógeno intracelular que infecta primeramente a macrófagos, estas células fagocíticas también se utilizan para analizar la virulencia de cepas de esta micobacteria. Este tipo de células sirve como modelo para el estudio de las primeras etapas de la infección, que incluyen la fagocitosis de *M. tuberculosis* por los macrófagos residentes en los alvéolos pulmonares.

Los macrófagos que se emplean en estos estudios pueden ser de ratones o humanos, debido a la alta disponibilidad de reactivos que existen para ambos casos y pueden ser de cultivos primarios o líneas celulares (1). Entre los macrófagos de ratones más empleados para el estudio de la virulencia de *M. tuberculosis* se encuentran la línea J774 y las células MH-S, siendo esta última una línea celular de macrófagos alveolares inmortalizados cuyo comportamiento es muy similar al de los macrófagos alveolares primarios de ratón (18).

La utilización de células primarias de ratón permite la preparación de macrófagos de animales con mutaciones definidas de modo que pueda estudiarse el efecto de la interacción entre los factores específicos del hospedero y *M. tuberculosis* a nivel de macrófagos (19).

Los macrófagos de humanos también han sido ampliamente utilizados y tienen como gran ventaja que permiten estudiar las etapas tempranas de la enfermedad. Algunos de los macrófagos de origen humano que se aplican para estos estudios son cultivos primarios obtenidos a partir de monocitos de periferia de sangre (MDMs), los cuales pueden diferenciarse en macrófagos (1). También se utilizan con frecuencia monocitos pertenecientes a la línea de células THP-1 y U937 (20). Diversos estudios demuestran que los macrófagos THP-1 diferenciados producen una respuesta muy similar a la de los MDMs de humanos ante la infección por *M. tuberculosis* (21) y además tienen como ventaja que

muchos de los reactivos necesarios para su trabajo se encuentran disponibles.

### Métodos de análisis genético

La secuenciación de todo el genoma de *M. tuberculosis* ofrece nuevas herramientas genéticas para el estudio de la fisiología y la patogenicidad de este microorganismo. Antes de iniciarse el proyecto de secuenciación del genoma de *M. tuberculosis*, ya se habían realizado numerosos estudios para la búsqueda de genes involucrados en la virulencia a través del desarrollo de métodos que generaran mutaciones en genes específicos. La elección de los genes que serían utilizados e inactivados con el objetivo de estudiar la virulencia se basó, fundamentalmente, en la existencia de mutaciones que normalmente ocurren en la naturaleza y que afectan la patogenicidad de cepas virulentas (5,22) o en la predicción de cuáles genes pudieran ser importantes en la virulencia de *M. tuberculosis*, por inferencia con estudios realizados con otras bacterias patógenas (23).

Los estudios genéticos iniciales se enfocaron en la creación de mutaciones en micobacterias no patógenas de crecimiento rápido debido a su relativa facilidad de trabajo ya que no requieren de instalaciones que posean nivel de bioseguridad 3 y la ejecución de los experimentos es relativamente rápida. La principal especie micobacteriana que se empleó para estos estudios fue *Mycobacterium smegmatis*, a partir de la cual también se desarrollaron diversas cepas recombinantes que expresaban diversos genes pertenecientes a *M. tuberculosis* (24, 25). Algunos de estos trabajos evidenciaron la presencia de muchas características comunes entre ambas especies micobacterianas que fundamentaron el empleo de *M. smegmatis* como modelo para el estudio de diversas micobacterias patógenas como *M. tuberculosis* (26, 27).

En la actualidad los métodos empleados para el análisis de genes de virulencia se basan en la aplicación de diversas técnicas tales como:

1. Inactivación directa de genes
2. Inactivación global de genes
3. Complementación de genética
4. Métodos antisentido

### Factores de virulencia de *M. tuberculosis*

La virulencia de *M. tuberculosis* puede ser medida durante la infección de macrófagos y animales mediante diferentes herramientas. El uso combinado de estas técnicas y otras que permiten identificar mutaciones en los genes, han posibilitado conocer aquellos que desempeñan un papel importante en la patogenicidad del microorganismo y cuyos productos están relacionados con la virulencia del mismo. Se han estudiado numerosos factores de virulencia de *M. tuberculosis*.

Entre los factores de virulencia proteicos se encuentra la proteína Hsp<sub>x</sub>, la cual es análoga de la proteína de 16 kDa. Esta proteína es considerada como un importante elemento controlador de la latencia de *M. tuberculosis*, debido a que la sobreexpresión de la misma inhibe el crecimiento del microorganismo (28). Otros elementos importantes son Esat6/CF-10, proteínas de filtrado celular cuyos genes estructurales están contenidos en la región RD1, la cual está presente en todas las cepas virulentas de *M. tuberculosis* y *M. bovis* (29).

Por otra parte, la lipoproteína de 19 kDa induce la expresión y secreción de ciertos péptidos antimicrobianos a través de TLR's en células epiteliales de pulmón, los cuales son capaces de eliminar a la micobacteria. Sin embargo, se observó que cepas avirulentas no inducen la expresión de este tipo de péptido y es posible que la presencia de esta molécula esté ligada a factores de resistencia natural y pueda variar entre individuos debido a polimorfismos genéticos.

La señalización de TLRs en forma prolongada por *M. tuberculosis* y la lipoproteína 19 kDa, inhibe ciertas respuestas del macrófago al IFN- $\gamma$ , particularmente aquellas relacionadas a la expresión de MHC-II y la presentación de antígenos. Esta inhibición posiblemente promueve la evasión del *M. tuberculosis* a la respuesta inmunitaria mediada por las células T, lo que implica la persistencia de la infección en la enfermedad (30).

Se conoce además que OmpA, proteína familia de las porinas y encontrada en *M. tuberculosis* H37Rv, juega un papel fundamental en la respuesta bacteriana frente a condiciones de pH ácido (31). Otro de los factores de virulencia proteicos reportados son HBHA, MTP40 y el complejo antigénico 85 (Ag85).

También se conocen factores de virulencia de naturaleza lipídica, entre ellos los glicolípidos, lipoglicanos y polisacáridos. Se ha descrito que estos compuestos confieren protección, lo cual está basado en hallazgos de que estas moléculas son potentes factores de virulencia que proveen a *M. tuberculosis* ventajas en diferentes ambientes. El lipoarabinomano y los fosfatidilinositol manósidos, son los mayores contribuyentes a la evasión de *M. tuberculosis* a la respuesta inmune del hospedero debido a que ambas moléculas participan en la inhibición de la activación de los macrófagos infectados (32).

Otro estudio relacionado con la seguridad y la potencia vacunal de algunos mutantes de *M. tuberculosis* como candidatos vacunales contra la tuberculosis demostró que la delección de varios genes involucrados en la patogenicidad y virulencia confirió a los mutantes la capacidad de generar respuestas inmunes protectoras frente al reto con *M. tuberculosis* en modelos animales, comparable a la obtenida por la vacuna BCG. Algunos de los genes delecionados fueron purC, leuD, proC, erp, phoP, hbhA, entre otros, así como la región de diferencia (RD1) que contiene

genes estructurales para 9 proteínas, dentro de las que se incluyen ESAT-6 y CFP-10, consideradas como altamente inmunogénicas (33).

Por otro lado, un estudio sobre la inactivación del gen *phoP*, responsable de la supervivencia de *M. tuberculosis* intracelularmente, demostró la elevada atenuación que se obtenía al inactivar este gen que codifica para el factor transcripcional del sistema de dos componentes *phoP/phoR*. Este estudio demostró que *phoP* regula funciones esenciales requeridas para la virulencia y persistencia de *M. tuberculosis*, por lo que se destaca su potencial aplicación como candidato vacunal contra la tuberculosis (34).

En la actualidad se ha logrado determinar una serie de genes involucrados en la virulencia de *M. tuberculosis*, mediante la utilización de diferentes modelos de experimentación animal y diversas técnicas de biología molecular. El empleo de la bioinformática y la proteómica, así como la secuenciación completa del genoma de *M. tuberculosis*, han permitido corroborar la función de los productos codificados por estos genes en la patogénesis de la tuberculosis. Estos resultados evidencian que la patogenia del bacilo es un fenómeno multifactorial donde están involucrados, de forma directa o indirecta, moléculas con diferente función y localización en la célula bacteriana.

## Referencias

- Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* Pathogenesis and Molecular Determinants of Virulence. *Clinical Microbiology Reviews* 2003;16:463-96.
- Beresford N, Patel S, Armstrong J, Balázs SZ, Fordham-Skelton AP, et al. *MptpB*, a virulence factor from *Mycobacterium tuberculosis*, exhibits triple-specificity phosphatase activity. *Biochem J* 2007;406:13-8.
- Dormans J, Burger M, Aguilar D, Hernández-Pando R, Kremer K, Roholl P, et al. Correlation of virulence, lung pathology, bacterial load and delayed type hypersensitivity responses after infection with different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in a BALB/c mouse model. *Clin Exp Immunol* 2004;137:460-8.
- World Health Organization (WHO). *Tuberculosis Report No 411*; 2009.
- Ryndak M, Wang S, Smith I. *PhoP*, a key player in *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Trends in Microbiology* 2008;16:528-34.
- Clark-Curtiss J E and Haydel S E. Molecular genetics of *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *Annual Review of Microbiology* 2003;57:517-49.
- López LM, Díaz F, Vallecillo AJ, Esquivel H, Gutiérrez JA. Tuberculosis humana y bovina en Latinoamérica: De estudios sobre virulencia hacia herramientas para su control. *Rev Latinoam Microbiol* 2006;48 (2):173-8.
- Gorocica P, Jiménez-Martínez MC, Garfias Y, Sada I y Lascrain R. Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. *REV INST NAL ENF RESP MEX* 2005; 18 (2):142-53
- Wolf AJ, Linas B, Trevejo-Núñez GJ, Kincaid E, Tamura T, Takatsu K, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infects dendritic cells with high frequency and impairs their function in vivo. *J Immunol* 2007;179:2509-19.
- Hickman SP, Chan J and Salgame P. *Mycobacterium tuberculosis* induces differential cytokine production from dendritic cells and macrophages with divergent effects on naive T cell polarization. *J Immunol* 2002;168:4636-42.
- Jiao X, Lo-Man R, Guermonprez P, Fiette L, Deriaud E, Burgaud S, et al. Dendritic cells are host cells for mycobacteria in vivo that trigger innate and acquired immunity. *J Immunol* 2002;168:1294-1301.
- Kinhikar AG, Verma I, Chandra D, Singh KK, Weldingh K, Andersen P, et al. Potential role for ESAT6 in dissemination of *M. tuberculosis* via human lung epithelial cells. *Mol Microbiol* 2010;75(1):92-106.
- Mehta P, Karls R, White E, Ades E, Quinn F. Entry and intracellular replication of *Mycobacterium tuberculosis* in cultured human microvascular endothelial cells *Microbial Pathogenesis* 2006; 41(2):119-24.
- Kaufmann SH. Immune response to tuberculosis: experimental animal models. *Tuberculosis* 2003;83(1-3):107-11.
- Davis JM, Ramakrishnan L. The Role of the Granuloma in Expansion and Dissemination of Early Tuberculous Infection. *Cell* 2009; 136(1):37-49.
- Takimoto H, Maruyama H, Shimada KI, Yakabe R, Yano I, Kumazawa Y. Interferon- $\alpha$  independent formation of pulmonary granuloma in mice by injections with trehalose dimycolate (cord factor), lipoarabinomannan and phosphatidylinositol mannosides isolated from *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical and experimental immunology* 2006; 144(1):134-41.
- Converse PJ, Dannenberg AM, Estep JE, Sugisaki K, Abe Y, Schofield BH, et al. Cavitary tuberculosis produced in rabbits by aerosolized virulent tubercle bacilli. *Infect Immun* 1996;64: 4776- 87.
- Melo MD, and Stokes RW. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis* with MH-S, an immortalized murine alveolar macrophage cell line: a comparison with primary murine macrophages. *Tubercle Lung Dis* 2000; 80:35-46.
- Ehrt S, Schnappinger D, Bekiranov S, Drenkow J, Shi S, Gingeras TR, et al. Reprogramming of the macrophage transcriptome in response to interferon- $\gamma$  and *Mycobacterium tuberculosis*: signaling roles of nitric oxide synthase-2 and phagocyte oxidase. *J Exp Med* 2001;194: 1123-40.
- Wei J, Dahl JL, Moulder JW, Roberts EA, O'Gaora P, Young D B, et al. Identification of a *Mycobacterium tuberculosis* gene that enhances mycobacterial survival in macrophages. *J Bacteriol* 2000;182:377-84.
- Stokes RW, and Doxsee D. The receptor-mediated uptake, survival, replication, and drug sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* within the macrophage-like cell line THP-1: a

- comparison with human monocytederived macrophages. *Cell Immunol* 1999;197:1-9.
22. Wilson TM, de Lisle GW, and Collins DM. Effect of inhA and katG on isoniazid resistance and virulence of *Mycobacterium bovis*. *Mol Microb* 1995;15:1009-15.
  23. Mariani F. *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv comparative gene-expression analysis in synthetic medium and human macrophage. *Gene* 2000;253(2):281-91.
  24. McCarthy TR, Torrelles J B, MacFarlane ASH, Katawczik M, Kutzbach B, DesJardin LE, et. al. Overexpression of *Mycobacterium tuberculosis* manB, a phosphomannomutase that increases phosphatidylinositol mannoside biosynthesis in *Mycobacterium smegmatis* and mycobacterial association with human macrophages. *Molecular Microbiology* 2005;58:774-90.
  25. Muttucumaru DG N and Parish T. The Molecular Biology of Recombination in Mycobacteria: What Do We Know and How Can We Use It? *Curr Issues Mol Biol* 2004;6:145-58.
  26. Gey Van Pittius NC, Gamielien J, Hide W, Brown G D, Siezen RJ, and Beyers A D. The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C gram-positive bacteria. *Genome Biol* 2001;2(10): Research 0044.1-18.
  27. Wang R, Prince JT and Marcotte EM. Mass spectrometry of the Protein *M. smegmatis* proteome: expression levels correlate with function, operons, and codon bias. *Genome Res* 2005;15:1118-26.
  28. Álvarez N, Borrero R, Reyes F, Camacho F, Mohd N, Sarmiento M, Acosta A. Mecanismos de evasión y persistencia de *Mycobacterium tuberculosis* durante el estado de latencia y posibles estrategias para el control de la infección latente. *VacchiMonitor* 2009;18 (3):18-25.
  29. Brosch R, SV Gordon, M Marmiesse, P Brodin, C Buchrieser, K Eiglmeier, et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3684-9.
  30. Pai RK, Pennini M, Tobian AA, Canaday DH, Boom WH, Harding CV. Prolonged Toll-like Receptor signaling by *Mycobacterium tuberculosis* and its 19-kDa lipoprotein inhibits Interferon-g-induced regulation of selected genes in macrophages. *Infect Immun* 2004; 72:6603-14.
  31. Raynaud C, Papavinasasundaram KG, Speeght RA, Springer B, Sander P, Bottger EC, et. al. The functions of OmpATb, a pore-forming protein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Microbiol* 2002;46:191-201.
  32. Vergne I, Fratti RA, Hill PJ, Chea J, Belisle J and Deretic V. *Mycobacterium tuberculosis* phagosome maturation arrest: mycobacterial phosphatidylinositol analog phosphatidylinositol mannoside stimulates early endosomal fusion. *Mol Biol Cell* 2004;15:751-60.
  33. Sambandamurthy V K and Jacobs W R. Live attenuated mutants of *Mycobacterium tuberculosis* as candidate vaccines against tuberculosis. *Microbes and Infection* 2005;7:955-61.
  34. Gonzalo-Asensio J, Mostowy S, Harders-Westerveen J, Huygen K, Hernández-Pando R, Thole J, et al. PhoP: A Missing Piece in the Intricate Puzzle of *Mycobacterium tuberculosis* Virulence. *PLoS ONE* 2008;3(10). e3496.doi:10.1371/journal.pone.0003496

---

## ***Mycobacterium tuberculosis*: virulence factors**

### **Abstract**

*Mycobacterium tuberculosis* is the causative agent of tuberculosis, one of the most lethal diseases worldwide. BCG is the only available vaccine for tuberculosis control, but at the same time it fails in the protection from pulmonary tuberculosis, which is the most common and responsible form of dissemination. The identification of virulence factors of the causative organism could help in developing a new vaccine candidate capable of neutralizing the action of these pathogenic determinants. The use of different animal models has allowed to reproduce the stages of the disease and to measure or to quantify the virulence of different circulating strains of *M. tuberculosis*. Gene mutations and other molecular biology techniques have made possible to elucidate the specific genes involved in virulence of this organism, that encodes many complex and different factors.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, virulence factors, genes.

---