



UNIVERSIDAD
LATINA *de Panamá*
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DR. WILLIAM C. GORGAS
LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

***“CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
AISLADAS EN LA POBLACIÓN PRIVADA DE LIBERTAD DE LA
PROVINCIA DE COLÓN, 2021-2024.”***

POR:
CARLOS ALBERTO AGRAZAL MAGALLÓN
C.I.P: 2-748-1531

PROFESOR ASESOR:
FERMÍN ACOSTA, PHD

**Proyecto final de graduación
presentado como requisito para
optar al título de Licenciatura en
Biotecnología, en la Universidad
Latina de Panamá.**

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ
2025

***“CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS AISLADAS EN LA POBLACIÓN PRIVADA DE
LIBERTAD DE LA PROVINCIA DE COLÓN, 2021-2024.”***

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincero y profundo agradecimiento a Dios.

A mi madre Omaira Magallón y a toda mi familia, por su apoyo incondicional en mi formación profesional, por sus palabras de aliento y sus sabios consejos que me han impulsado a seguir adelante.

Extiendo, también mi agradecimiento a mis profesores, quienes, con su orientación y enseñanza a lo largo de mi vida, han contribuido de una forma u otra a mi formación académica y profesional, guiándome hasta la elaboración de este proyecto de grado.

De manera muy especial, agradezco y doy reconocimiento al Dr. Fermín Acosta, quien fungió como mi tutor, me brindó su dedicación, enseñanza y compromiso para desarrollar los objetivos de la investigación plasmada en este documento; extendiendo este agradecimiento al Grupo de Investigación en Biomarcadores de Tuberculosis, liderado por el Dr. Amador Goodridge del INDICASAT-AIP, por abrirme las puertas, brindarme la oportunidad de aprender y compartir su valiosa experiencia en el ámbito científico.

Carlos Alberto Agrazal Magallón



**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
BIOTECNOLOGÍA.**

CARLOS ALBERTO AGRAZAL MAGALLÓN

C.I.P: 2-748-1531

**“CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
AISLADAS EN LA POBLACIÓN PRIVADA DE LIBERTAD DE LA PROVINCIA DE
COLÓN, 2021-2024.”**

Esta tesis fue aprobada por el Comité Asesor conformado por:

Dr. Fermín Acosta Gracia
Director de tesis

Prof. María Fernanda Alves
Jurado



DECLARACIÓN JURADA

Yo **CARLOS ALBERTO AGRAZAL MAGALLÓN**, con cédula de identidad personal número **2-748-1531**, estudiante graduando del programa/carrera de **LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA**, declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción **TESIS** (Tesis, proyecto final, pasantía, otro), es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exonero a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada con este aspecto.

Como constancia, firmo la presente declaración el día 24 del mes septiembre del año 2025.

Firma del estudiante:

Carlos A. Agrazal M.

Cédula: **2-748-1531**

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	i
DECLARACIÓN JURADA	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE FIGURAS	vii
ÍNDICE TABLAS	xi
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Justificación.....	4
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1. Generales.....	5
1.3.2. Específicos.....	5
1.4. Hipótesis.....	5
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	6
2.1 La tuberculosis.....	7
2.2. Género <i>Mycobacterium</i>	10
2.3. Diversidad genética del <i>Complejo Mycobacterium tuberculosis</i>	11
2.3.1. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	11
2.3.2. Nomenclatura del MTBC.....	14
2.4. Aspectos generales.....	18
2.4.1. Características microbiológicas.....	18
2.4.2. Características genómicas.....	20
2.5. Manifestaciones clínicas.....	24
2.6. Patogénesis y transmisión.....	26
2.7 Diagnósticos.....	27
2.7.1. Microbiológicos.....	29
2.7.1.1. Baciloscopia.....	29
2.7.1.2. Cultivo.....	29
2.7.2. Inmunológico.....	31
2.7.2.1. Prueba de tuberculina.....	31

2.7.2.2. Prueba de interferón gama (IGRA)	32
2.7.3. Moleculares.....	32
2.7.3.1. PCR en tiempo real	32
2.8. Tratamiento	33
2.8.1. Fármacos de primera línea.....	34
2.8.2. Fármacos de segunda línea.....	35
2.9. Epidemiología molecular y genómica de la TB.....	35
2.9.1. Polimorfismos de nucleótido único (SNP).....	36
2.9.2. Polimorfismos de secuencias largas (LSP).....	37
2.10. Herramientas moleculares.....	37
2.10.1. MIRU-VNTR.....	37
2.10.2. Spoligotipos	40
2.10.3. RFLP.....	40
2.11. Epidemiología genómica	41
2.11.1. PCR Alelo específica (ASO-PCR).....	42
2.12. Avances moleculares y genómicas de la tuberculosis en Panamá	45
2.13. Tuberculosis en la población privadas de libertad (PDL) a nivel global.....	48
2.14. Tuberculosis en la población privadas de libertad en Panamá.....	55
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS	61
3.1. Protocolo de investigación.....	62
3.2. Línea de investigación a la que pertenece el estudio	62
3.3. Variables	62
3.2.1. Variables dependientes.....	62
3.2.2. Variables independientes.....	62
3.4. Recolección y procesamiento de muestras	62
3.5. Aislamiento de bacterias y recolección de datos.....	63
3.6. Extracción del ADN genómico.....	64
3.6.1. Materiales para extracción de DNA	64
3.6.2. Proceso de extracción de ADN	65
3.7. Identificación de cepas por ASO-PCR.....	66
3.7.1. Primers de ASO-PCR	67

3.7.2. Reactivos	69
CAPÍTULO IV RESULTADOS	71
4.1. Colección de cepas	72
4.2. Distribución por sexo	72
4.3. Distribución etaria	72
4.4. Coinfección TB-VIH	73
4.5. Estado clínico de casos	73
4.6. Concentración de ADN genómico de las bacterias.	74
4.7. ASO-PCR específica (Cepas).....	75
4.8. Resumen de resultados.....	77
4.9. Alcance y limitaciones de la investigación.....	79
4.10. Organización (cronograma de actividades)	80
CAPÍTULO V DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	81
5.1. Discusión	82
5.2. Conclusión y recomendaciones	87
CAPÍTULO VI GLOSARIO Y BIBLIOGRAFÍA	89

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Tasa estimada de incidencia de tuberculosis, 2023; Fuente:(OMS, 2024).	7
Figura 2. Postulados de Koch para demostrar la relación de causa y efecto en las enfermedades infecciosas. Fuente: Brock, Biología de los Microorganismos, Edición Global 14.^a, Capítulo 1.8.	9
Figura 3. Árbol evolutivo del complejo <i>M. tuberculosis</i> , mostrando aquellos polimorfismos claves para su diversificación. Fuente: (Viñuelas-Bayón et al., 2017).	12
Figura 4. Filogenia global de linajes de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> incluyendo un nuevo linaje 10. (Guyeux et al., 2024)	14
Figura 5. Árbol filogenético de los aislamientos del complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , con sus respectivos códigos y las regiones de diferencia (RD) importantes. Fuente: Napier et al., 2020.	16
Figura 6. Distribución global de aislamientos del complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Fuente: Napier et al., 2020.	17
Figura 7. Envoltura celular de <i>M. tuberculosis</i> y sus principales componentes. Fuente: Kalscheuer et al., 2019	19
Figura 8. Mapa circular del cromosoma de <i>M. tuberculosis</i> H37Rv. Fuente: (Cole et al., 1998)	23
Figura 9. Comparación pan-genómica entre el genoma de referencia H37Rv y ensamblajes generados por Canu, Flye, Miniasm y Raven. Bact-Builder logró el ensamblaje más preciso, permitiendo la actualización del genoma de <i>M. tuberculosis</i> H37Rv. Fuente: (Chitale et al., 2022)	23
Figura 10. Clasificación de la infección; Fuente: BiteSized immunology.	25
Figura 11. Prueba de Tuberculina; Fuente: Drugs.com. 2025)	31

Figura 12. Representación esquemática del flujo de trabajo de MIRU-profiler en comparación con el protocolo experimental para la genotipificación estandarizada de <i>M. tuberculosis</i> utilizando 24 loci MIRU-VNTR; (Rajwani et al., 2018)	39
Figura 13. Representación esquemática del diseño de la ASO-PCR. (1) Aplicación de MIRU-VNTR en cepas aisladas para identificar los clústeres de mayor incidencia. (2) Aplicación de WGS a los tres clústeres más incidentes con el fin de detectar los SNP presentes en cada uno. (3) Selección y verificación de SNP idóneos para su uso como biomarcadores de cepas/clústeres específicos. (4) Diseño de cebadores a partir de los SNP seleccionados y ensayos para verificar su funcionalidad. (5) Uso de la técnica ASO-PCR para vigilancia e identificación de nuevos casos de <i>M. tuberculosis</i> . Fuente: creación basada en el diagrama de flujo de trabajo de (Pérez-Lago et al., 2015) ...	43
Figura 14. “Datos por país de privados de libertad en países relacionados a Panamá; Fuente (WPB, 2024)	52
Figura 15. Datos por país de tasa de PDL vs Población estimada por millón de habitantes por país; Fuente: (WPB, 2024)	53
Figura 16. Casos de tuberculosis a nivel nacional durante el periodo 2015-2024. Fuente: (MINSA 2022)	57
Figura 17. Tasa de tuberculosis a nivel nacional durante el periodo 2015-2024. Fuente: (MINSA,2022)	58
Figura 18. Casos de tuberculosis en la provincia de Colón del 2011 - 2024; Fuente: (MINSA, 2022)	58
Figura 19. Casos registrados de tuberculosis en la población privada de libertad a nivel nacional. Fuente: (MINSA ,2022)	59
Figura 20. Tasas de prevalencia de tuberculosis en la población privada de libertad en los centros penales según región de salud del 2016 -2020. Fuente: (MINSA,2022)	60

- Figura 21.** Representación in silico de los cebadores empleados en la técnica ASO-PCR (A, B y C). Los resultados identificados como “clúster” corresponden a cepas positivas para cada grupo, mientras que “no clúster, indican que no corresponden a las cepas de nuestro interés (Clúster=Cepa; No-Clúster = No Cepa). Los productos de amplificación presentan longitudes específicas: Cepa A (308pb; no clúster 228pb y 400 pb), Cepa B (127pb y 297 pb; no clúster: 209pb y 406 pb) y cepa C (307pb y 413 pb; no clúster: 103pb y 297 pb)..... 69
- Figura 22.** Condiciones a usar para la PCR en el termociclador; Su única variación es que para el ensayo de ASO-PCR tipo A en la sección de hibridación se realiza a 64°C, mientras que la ASO-PCR tipo B y C, se realiza a 60°C..... 70
- Figura 23.** Distribución de casos de tuberculosis en un entorno penitenciario de la provincia de Colón. 2021 al 2024..... 72
- Figura 24.** Distribución de casos de tuberculosis por edad, de privados de libertad del Centro Penitenciario Nueva Esperanza, Colón del 2021 al 2024..... 73
- Figura 25.** Gráfica. Clasificación de estado clínico de los casos de TB reportados entre el periodo 2021-2024. 74
- Figura 26.** Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa A (L2/Beijing). La primera corrida electroforética corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). Las demás corridas numeradas del 1 al 13 corresponden a las muestras a amplificar, de las cuales se identificaron como cepa Beijing las muestras 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13..... 75
- Figura 27.** Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa B (L4/Haarlem). La primera corrida electroforética corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). Las demás corridas, numeradas del 1 al 11, corresponden a las muestras a amplificar, en las cuales no se obtuvo amplificación en ninguna de ellas. 76

Figura 28. Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa C (L2/LAM). La primera corrida corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). Las demás corridas numerados del 1 al 11 corresponden a las muestras amplificadas, de las cuales se identificaron como cepa L4/LAM las muestras 2, 4 y 5. 76

Figura 29. Esquema de trabajo para la aplicación de las ASO-PCR para identificar *M. tuberculosis* y resultados finales, el cual se encontró que los linajes 2 y 4 son los predominante y existente dentro de complejo penitenciario nueva esperanza. 78

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del Complejo <i>M. tuberculosis</i>	10
Tabla 2. Ejemplos de especies pertenecientes al <i>Complejo M. tuberculosis</i> y su tamaño genómico.....	11
Tabla 3. Clasificación de las fases del tratamiento. Fuente: Manual operativo de la OMS sobre la tuberculosis, módulo 4: Tratamiento y Atención (OMS, 2025)	34
Tabla 4. Clasificación de resistencia. Fuente OMS; 2023	35
Tabla 5. Población y tasa de privados de libertad en países de América; posible población en riesgo en contraer TB”; Fuente:(WPB, 2024)	51
Tabla 6. Reactivos y volúmenes para usar por muestras.	64
Tabla 7. Características específicas de los SNP y cebadores con sus concentraciones a emplear en la identificación por técnica de ASO-PCR (A; B; C). Verde (primer /cebadores de tipo específico para identificar cepas), Rojo (primer /cebadores alternativos, identifican la presencia de casos de <i>M. tuberculosis</i> , pero no una cepa en específica de interés, que corresponden a otros linajes). Fuente: (Domínguez et al., 2019)	68
Tabla 8. Mezcla de elementos para la PCR.....	70
Tabla 9. Promedio y máximo de la cuantificación de ADN de <i>M. tuberculosis</i> extraída mediante CTAB.....	74
Tabla 10. Cronograma de actividades y trabajos realizados. Nota: El tiempo y desarrollo del proyecto se hizo en conjunto con el periodo de Practica profesional.	80

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa y contagiosa causada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), el cual continúa representando un importante desafío para la salud pública a nivel global. A pesar de los avances médicos y tecnológicos desde el descubrimiento del bacilo por Robert Koch en 1882, la tuberculosis persiste como una de las principales causas de mortalidad en el mundo, con un estimado de más del 25% de la población mundial infectada, según la **Organización Mundial de la Salud (OMS, 2024)**. En 2023, se diagnosticaron aproximadamente 8.2 millones de nuevos casos, la cifra más alta desde que se inició su vigilancia internacional en 1995.

Sin embargo, a pesar de su impacto global, la mayoría de los estudios sobre tuberculosis se han centrado en la población general, descuidando a grupos especialmente vulnerables, como las personas privadas de libertad (PDL), quienes enfrentan un riesgo significativamente mayor de contraer la enfermedad.

Los centros penitenciarios, originalmente concebidos como espacios de sanción, se han transformado en entornos cerrados donde convergen factores como hacinamiento, escasa ventilación, deficiencias en la atención médica, desnutrición, consumo de sustancias y coinfección con VIH. Estas condiciones no solo facilitan la propagación de la tuberculosis, sino también la aparición de formas resistentes a los medicamentos, como otras enfermedades, convirtiendo a las cárceles en verdaderos reservorios epidemiológicos. (**Walter, K. et al., 2022**) (**Andrews J. et al., 2024**).

Se estima que las tasas de incidencia de la tuberculosis en los entornos penitenciarios son entre 28 y 32 veces más altas que en la población general (**Souza et al., 2025**), con cifras que alcanzan los 26,9 casos por cada 100,000 personas en América del Sur. Además, la transmisión entre la población carcelaria y las comunidades externa representa un serio riesgo para la salud pública, dada la movilidad constante de individuos entre ambos entornos.

En América Latina, región que enfrenta crisis sociales, económicas y políticas, se ha observado que doce países concentran una mayor incidencia de casos de tuberculosis

(Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, El Salvador, México, Panamá, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela). En su conjunto, estos países acumulan aproximadamente el 80 % de los casos de tubérculos general registrados en la región. **(Ranzani et al., 2021)**

Particularmente, naciones como Brasil, El Salvador, Colombia, Venezuela, Paraguay, Uruguay, Ecuador y Perú han reportado un aumento significativo de casos en el entorno penitenciario, donde la población privada de libertad presenta mayores probabilidades de contraer la enfermedad. Gran parte de los casos de tuberculosis notificados en este grupo se concentran en Sudamérica, siendo Brasil el país con la mayor carga de TB en cárceles en todo el continente Americano. **(Walter et al., 2021) (OMS,2020)**

Diversos estudios en países de América Latina y a nivel global han evidenciado que las prisiones representan un foco crítico en la transmisión de la tuberculosis, investigaciones en Brasil, Paraguay y Colombia han demostrado que la tuberculosis no solo circula dentro de las cárceles, sino que también se transmite hacia las comunidades, actuando como reservorios de la enfermedad. **(V. G. Sequera et al., 2020) (Rueda et al., 2025) (Walter K. et al.,2022)**

A nivel global una revisión sistemática da a conocer que las personas privadas de libertad tienen hasta diez veces más riesgo de contraer TB en comparación con la población general. Estos hallazgos resaltan la necesidad de priorizar la investigación y abordaje de la TB en contextos penitenciarios. En Panamá, se han realizado algunos estudios de identificación de casos; sin embargo, se desconoce el panorama en los entornos carcelarios, particularmente respecto a las cepas circulantes en las prisiones del país. **(Cords et al., 2021)**

Frente a este panorama, resulta urgente abordar esta problemática de la tuberculosis en contextos penitenciarios, no solo por sus implicaciones sanitarias al interior de los centros, sino por su potencial impacto en la transmisión comunitaria. Por ello, se requiere un enfoque integral de vigilancia, diagnóstico, tratamiento y prevención, con especial énfasis en las poblaciones privadas de libertad, para reducir efectivamente la carga de la tuberculosis

1.2. JUSTIFICACIÓN

En Panamá, se han realizado algunos estudios sobre tuberculosis en la población general, incluyendo investigaciones en la provincia de Colón. Sin embargo, hasta el momento no se ha desarrollado ningún estudio que combine el análisis de tuberculosis y el entorno penitenciario, evaluando su circulación, frecuencia y las cepas presentes en estas poblaciones. La única referencia existente proviene de un reporte del año 2014, en el que se documentó el caso de un recluso panameño diagnosticado con meningitis tuberculosa y tuberculosis pleural (**Musharaf T., 2014**).

En la provincia de Colón, se ha reportado una alta incidencia de tuberculosis de aproximadamente 100 casos por cada 100,000 habitantes durante el período analizado 2002-2004 (**Rosas et al., 2013**). Veinte años después de esta evaluación, se vio que en 2022 su incidencia fue de 45.0. Los datos más actualizados hasta marzo de 2024 mostraron una incidencia preliminar de 9.5, superior al valor país de 8.9 (**MINSa, 2024**).

Otros estudios han identificado la circulación predominante de los linajes 2 y 4 del *Mycobacterium tuberculosis* en esta región (**Domínguez et al., 2019**). Sin embargo, han sido escasos los estudios respecto a los genotipos de las bacterias que circulan en áreas de hacinamiento como las cárceles. Esta investigación busca llenar el vacío de conocimiento existente mediante el análisis molecular sobre las cepas de *M. tuberculosis* aisladas en el entorno penitenciario de la provincia de Colón.

Con el objetivo de emplear la técnica de PCR alelo específica (ASO-PCR) en la identificación de cepas que circulan en esta población de riesgo, los resultados obtenidos permitirán comprender los genotipos o linajes de las bacterias circulantes. Los resultados de esta investigación contribuirán a fortalecer las capacidades investigativas nacionales y proveer información útil para abordar la tuberculosis en apoyo a futuros proyectos.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Generales

- Caracterizar genéticamente los aislados de *Mycobacterium tuberculosis* provenientes de privados de libertad en la provincia de Colón con el fin de comprender la diversidad genética de la tuberculosis en esta población vulnerable.

1.3.2. Específicos

- Analizar las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* mediante tipado molecular basado en tres PCR específicas (ASO-PCR).
- Describir linajes o genotipo de las bacterias aisladas en los casos de tuberculosis en privados de libertad.

1.4. HIPÓTESIS

H0 (Nula): Los casos de tuberculosis en privados de libertad, se deben a la presencia de varias cepas o linajes de *M. tuberculosis*.

H1 (Alternativa): Los casos de tuberculosis en privados de libertad se deben a la presencia de una cepa o linaje predominante de *M. tuberculosis*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 LA TUBERCULOSIS

De acuerdo a la OMS, la tuberculosis sigue siendo un desafío global a nivel de salud pública, tras la pandemia de COVID-19, la tuberculosis se mantiene como una de las principales causas de mortalidad en el mundo; se estima que más del 25% de la población mundial está infectada con esta enfermedad (**OMS, 2024**).

Según datos proporcionados por la Organización Mundial de la Salud, aproximadamente 8.2 millones de personas fueron diagnosticadas con tuberculosis en el año 2023; esta cifra representa el número más elevado registrado desde que comenzó su monitoreo internacional en 1995. Este aumento es notable comparado con los 7.5 millones reportados en el año anterior.

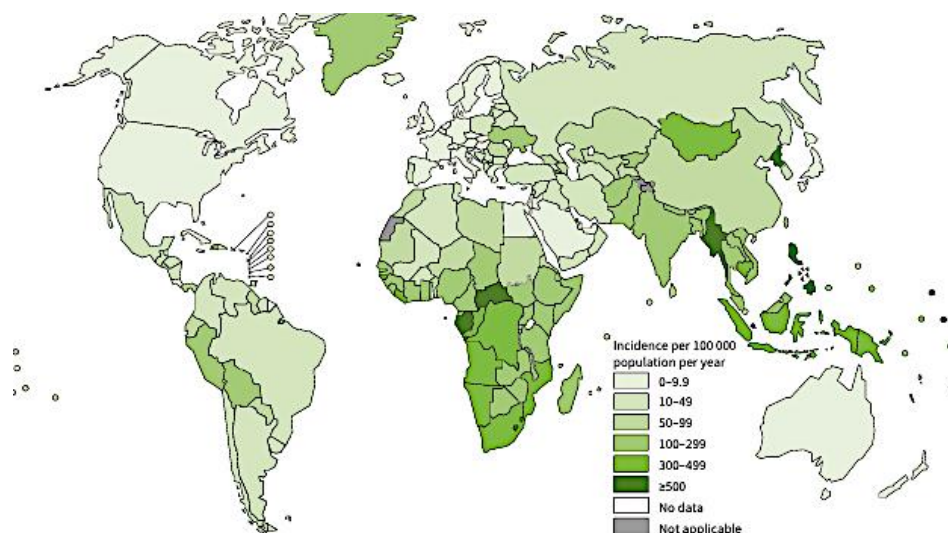


Figura 1. Tasa estimada de incidencia de tuberculosis, 2023; **Fuente:**(**OMS, 2024**).

El 24 de marzo de 1882, el científico alemán Robert Koch anunció ante la Sociedad Fisiológica de Berlín el descubrimiento del agente causal de la tuberculosis (**CDC; 1982**), siendo el primero en visualizar el bacilo tuberculoso bajo el microscopio y presentó sus hallazgos en su publicación titulada "Die Ätiologie der Tuberkulose" o "La Etiología de la tuberculosis" (CDC; 1982) (Cambau, E. et al., 2014). En esta publicación, detalló las técnicas de tinción para observar bacterias en tejidos infectados; este descubrimiento

revolucionó la comprensión de la enfermedad, que hasta entonces se creía hereditaria, y estableció su origen bacteriano (**A Grzybowski et al., 2014**).

Por sus estudios sobre la tuberculosis, recibió el Premio Nobel de Medicina en 1905 (**A Grzybowski et al., 2014**); además, se conmemora el 24 de marzo como el Día Mundial de la tuberculosis, en honor a su impacto en la salud pública y la lucha contra las enfermedades infecciosas (**OMS, 2025**).

A finales del siglo XIX, Robert Koch presentó unos postulados denominados “Postulados de Koch”, los cuales sirvieron como criterio para establecer una relación causal entre microorganismos y enfermedades específicas. Sin embargo, su diseño original para agentes viables, en particular bacterias, ha presentado desafíos al intentar aplicarlos a patógenos inanimados como virus y proteínas infecciosas (**Walker et al., 2006**).

1. El microorganismo tiene que estar siempre presente en los animales que sufran la enfermedad y no en individuos sanos.
2. El microorganismo debe ser aislado y crecer en un cultivo puro.
3. Cuando dicho cultivo se inocula a un animal sano, debe reproducirse en él los síntomas de la enfermedad.
4. El microorganismo debe aislarse nuevamente de estos animales y mostrar las mismas propiedades que el microorganismo original

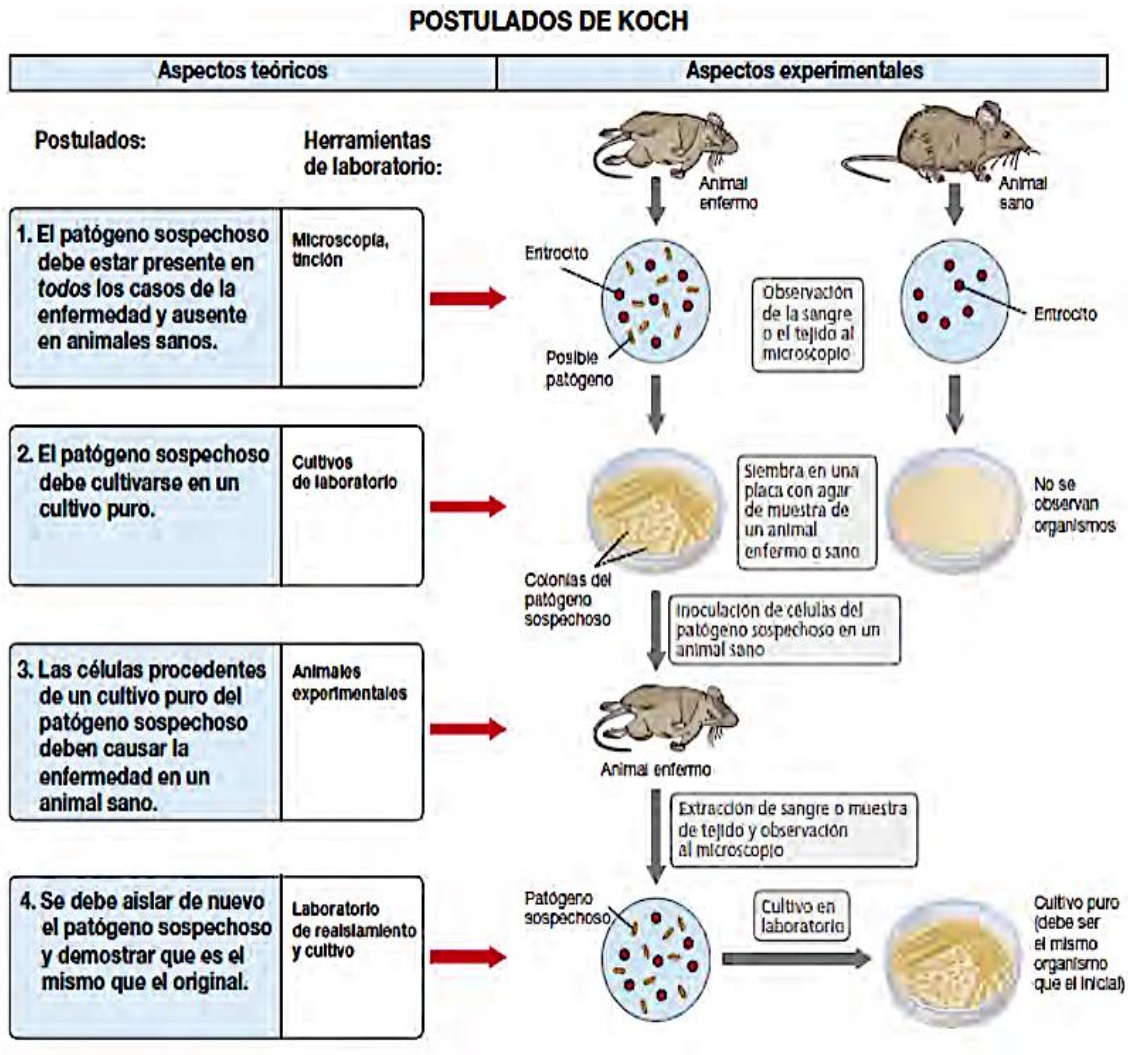


Figura 2. Postulados de Koch para demostrar la relación de causa y efecto en las enfermedades infecciosas. **Fuente:** Brock, *Biología de los Microorganismos, Edición Global 14.^a, Capítulo 1.8.*

2.2. GÉNERO MYCOBACTERIUM

El orden Actinomycetales abarca diversas familias, entre las que se encuentran Mycobacteriaceae, Actinomycetaceae, Streptomycetaceae y Nocardiaceae. La familia Mycobacteriaceae incluye únicamente un género: *Mycobacterium*. Actualmente, se han identificado y descrito más de cien especies distintas pertenecientes al género *Mycobacterium*.

Taxonomía	
Dominio:	Bacteria
Filo:	Actinomycetota
Clase:	Actinomycetes
Orden:	Mycobacteriales
Familia:	Mycobacteriaceae
Género:	<i>Mycobacterium</i>
Especie:	<i>Mycobacterium</i> tuberculosis

Tabla 1. Taxonomía del Complejo *M. tuberculosis*.

2.3. DIVERSIDAD GENÉTICA DEL COMPLEJO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.

2.3.1. Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

El *Complejo Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), es un grupo de bacterias estrechamente relacionadas que son la causa principal de la tuberculosis en humanos y animales domésticos o salvajes (**González-Martin, 2014**).

Dentro del MTBC están *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* y *Mycobacterium pinnipedii*. Aproximadamente el 98% de los casos de tuberculosis humana son causados por *M. tuberculosis* (**Lin & Desmond, 2014**).

Espece	Tamaño del genoma (pb)
<i>M. tuberculosis H37Rv</i>	4.411.529
<i>M. africanum</i>	4.389.314
<i>M. canettii</i>	4.482.059
<i>M. bovis AF212297</i>	4.345.492
<i>M. microti OV254</i>	4.400.000
<i>M. pinnipedii</i>	4.325.454
<i>M. caprae</i>	4.304.630
<i>M. orygis</i>	4.282.660
<i>M. mungi</i>	4.348.520

Tabla 2. Ejemplos de especies pertenecientes al *complejo M. tuberculosis* y su tamaño genómico.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada principalmente por especies agrupadas dentro del MTBC. Estas especies se caracterizan por compartir el 99.95% de

su ADN (**Gagneux, 2018**). *Mycobacterium tuberculosis* está clasificada en nueve linajes principales, determinados a partir de estudios genómicos y del análisis de variaciones en su secuencia genética.

Esta clasificación refleja los procesos de evolución y adaptación de la bacteria a distintas poblaciones humanas y contextos geográficos a nivel global (**Atavliyeva et al., 2024**). La predisposición humana a contraer enfermedades infecciosas es una característica inherente a la condición humana. En el caso de la tuberculosis, esta puede darse o adquirirse por ciertos riesgos o características propias del sistema inmunitario de las personas (**Bos et al., 2014**).

La secuenciación del genoma completo permitió describir tanto las especies principales dentro del complejo como los linajes y sub-linajes de *M. tuberculosis*. Esta diferenciación se basa en polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y polimorfismos de secuencia larga en las llamadas regiones de diferencia (RD) (**Bespiatykh et al., 2021**).

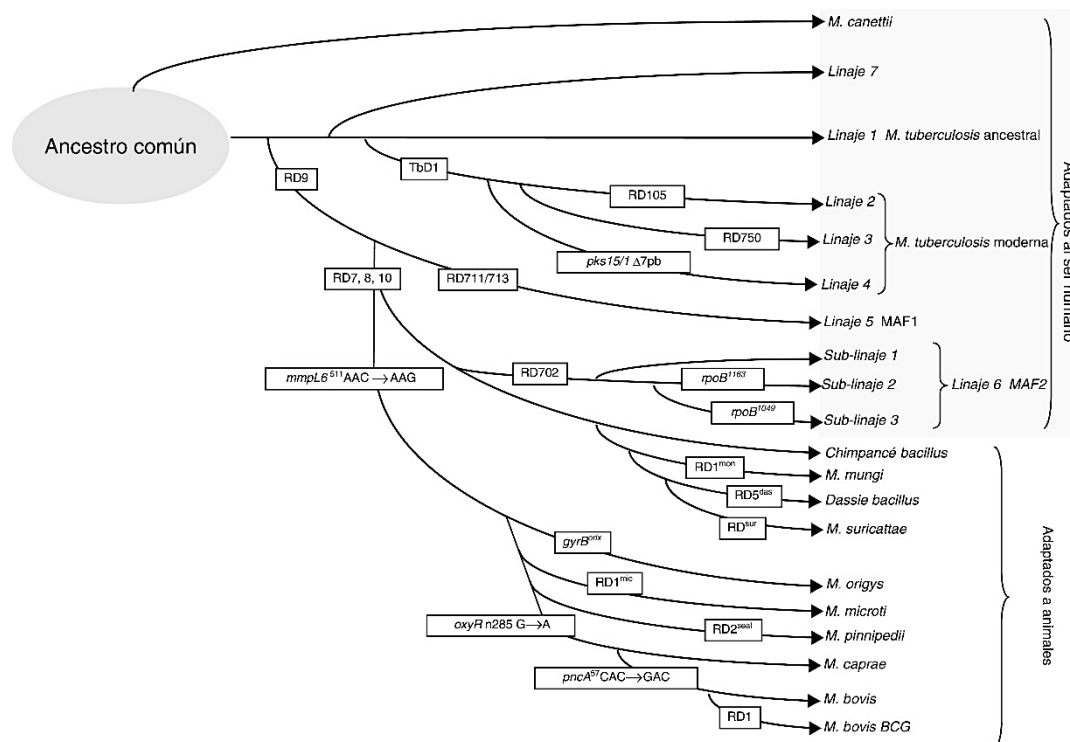


Figura 3. Árbol evolutivo del complejo *M. tuberculosis*, mostrando aquellos polimorfismos claves para su diversificación. **Fuente:** (**Viñuelas-Bayón et al., 2017**).

El complejo de cepas adaptado específicamente a humanos es la *M. tuberculosis*, el cual puede dividirse en 9 linajes (L1 - L9) caracterizados de acuerdo con su distribución geográfica, los cuales son: L1 (Linaje Indo-Oceánico); L2 (Linaje Este de Asia, incluye la familia Beijing); L3 (África Oriental-India); L4 (Euroamericano); L5 (África Occidental, *M. africanum*); L6 (África Occidental, *Mycobacterium africanum*); L7 (Etiopía); L8 (Ruanda y Uganda); y L9 (cepa aislada en la República de Djibouti, tres en Somalia y una aislada en Europa) (**Gómez-Velasco et al., 2023**).

Los linajes L2, L3 y L4 forman el lado “moderno” de la tuberculosis; los linajes L2 y L4 son los linajes “más extendidos a nivel mundial” y probablemente sean más virulentos que otros linajes del complejo *M. tuberculosis* (**Coscolla & Gagneux, 2014**). El linaje 4 es responsable de la mayor carga de tuberculosis en todo el mundo y está conformado por sub-linajes o familias, las cuales son: Haarlem (H), Latinoamérica-Mediterráneo (LAM), X (Reino Unido, Estados Unidos y Colonias británicas), S (Sicilia y Cerdeña), T (cepas modernas de TB) y la familia Urales (U).

Este linaje 4 se encuentra en Estados Unidos, Europa, el norte de África y el Medio Oriente (**Jessica P. Sanango, 2023**). El linaje 2 (Asia Oriental), que incluye el genotipo Beijing, es uno de los linajes más prevalentes de *M. tuberculosis* en todo el mundo y ha sido ampliamente vinculado con la diseminación de MDR (**Liu et al., 2019; Cerezo-Cortés et al., 2019**).

Estudios realizados en Indonesia indican que estas cepas podrían mostrar una mayor capacidad de persistencia frente al tratamiento, incluso en ausencia de resistencia farmacológica; en Vietnam, el genotipo Beijing ha sido identificado como un factor de riesgo relevante para el fracaso terapéutico o la recaída de la enfermedad (**Merker et al., 2015; Cerezo-Cortés et al., 2019**).

Recientemente, se ha descubierto un nuevo linaje (linaje 10) de *M. tuberculosis*, que está restringido predominantemente en África central. Los genomas del nuevo linaje no contenían ninguno de los marcadores SNP descritos en el último esquema de clasificación de los 9 linajes del complejo *M. tuberculosis*.

Este linaje se caracteriza por una nueva región de delección, inserciones IS 6110 y 243 SNP, entre ellos *gyrA* G7901T, *recN* C1920096T y *dnaG* C2621730T, por lo cual L10 representa un clado hermano de L6, presente principalmente en África occidental, y L9 específicamente en África oriental (**Guyeux et al., 2024**).

De los 10 linajes filogenéticos principales que divergieron de un ancestro común y se diversificaron en diferentes regiones del mundo, estos se pueden clasificar en cepas modernas (L2, L3 y L4) o antiguas (L1, L5, L6 y L7) (**Brites & Gagneux, 2015**); las cepas L8, L9 y L10 aún no han sido clasificadas de forma oficial dentro de esta forma de clasificación.

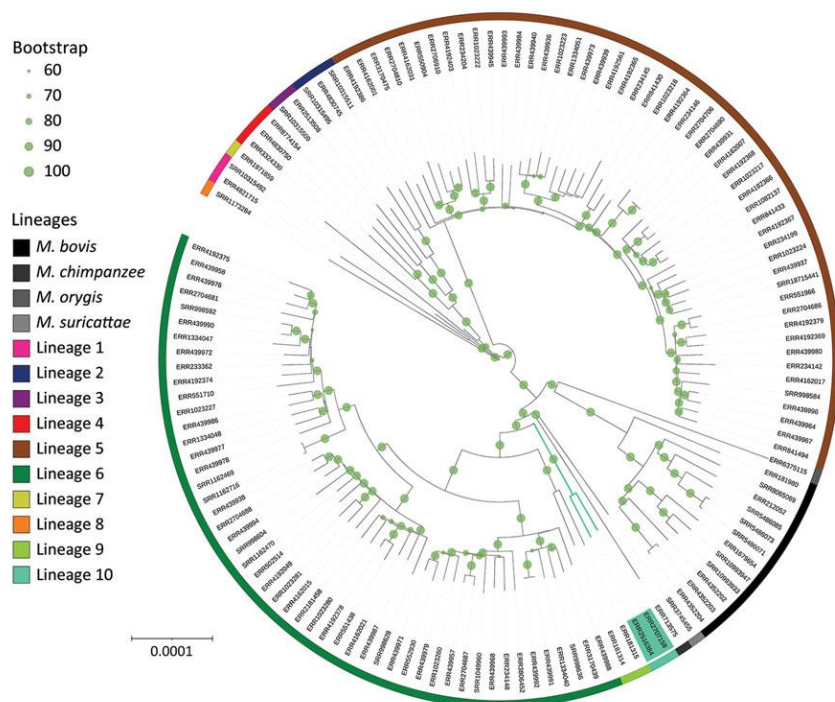


Figura 4. Filogenia global de linajes de *Mycobacterium tuberculosis* incluyendo un nuevo linaje 10. (**Guyeux et al., 2024**).

2.3.2. Nomenclatura del MTBC

La nomenclatura y clasificación del *Complejo M. tuberculosis* se basa en un enfoque jerárquico mediante análisis genómicos y polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Este esquema permite reconstruir relaciones filogenéticas y diferenciar linajes y sub-

linajes específicos, lo que resulta esencial para comprender la epidemiología de la tuberculosis, rastrear cadenas de transmisión, identificar cepas resistentes y diseñar estrategias de control más efectivas (**Thawornwattana et al., 2021**).

El sistema de clasificación se ha desarrollado principalmente a partir de la WGS, que facilita la identificación de variantes de nucleótidos únicos (SNVs) a lo largo del genoma; estas variantes son la base para construir árboles filogenéticos mediante métodos estadísticos, lo que permite establecer con precisión las relaciones evolutivas entre cepas (**Ajawatanawong et al., 2019**).

Además, se han empleado otros marcadores moleculares como los polimorfismos de secuencia larga y el spoligotyping, que identifican deleciones específicas en el ADN y grandes reordenamientos genómicos, contribuyendo a diferenciar linajes principales y sub-linajes (**Munro et al., 2025**).

El desarrollo de sistemas de “código de barras” moleculares basados en SNP asigna SNP específicos y únicos para cada linaje o sub-linaje, lo que permite su identificación rápida y precisa; inicialmente se estableció un panel de 62 SNP que clasificaba 7 linajes humanos y 64 sub-linajes, que posteriormente fue actualizado y ampliado a 90 SNP capaces de cubrir 9 linajes principales, 87 sub-linajes humanos y 3 especies animales relacionadas con el complejo (*M. bovis*, *M. caprae* y *M. orygis*). Este nuevo código de barras proporciona una clasificación más precisa de las cepas de MTBC (**Napier et al., 2020; F. Coll et al., 2014**).

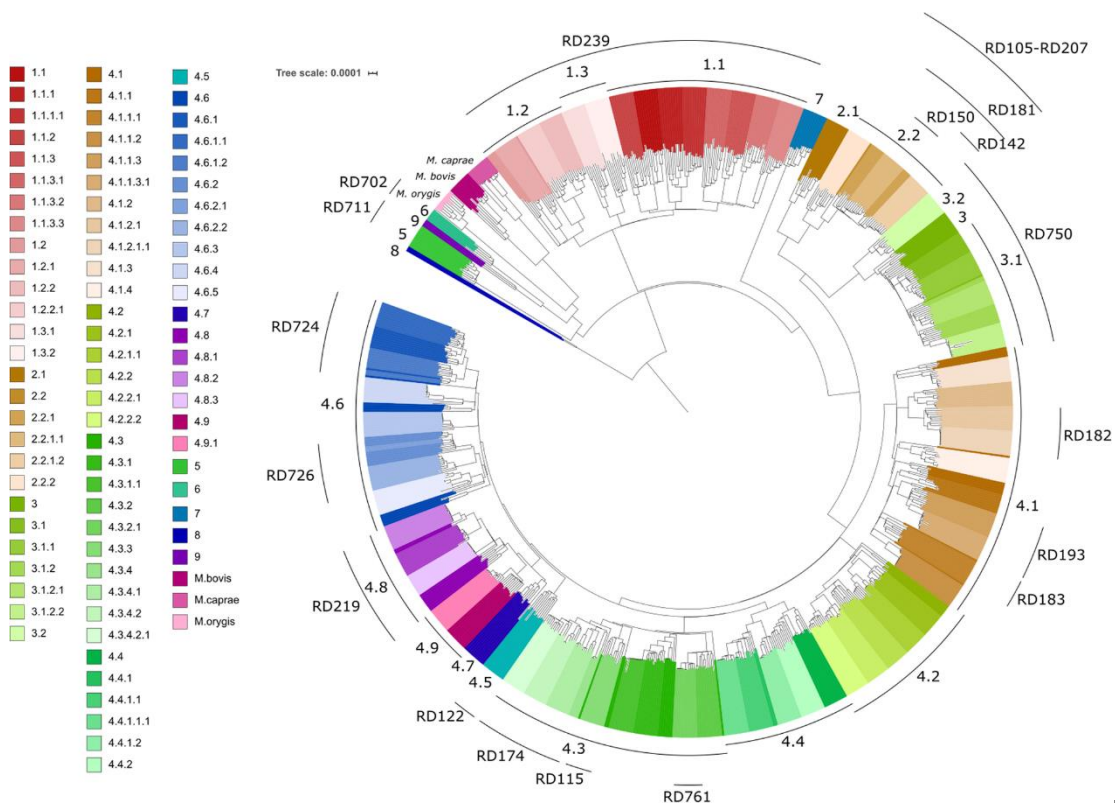


Figura 5. Árbol filogenético de los aislamientos del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, con sus respectivos códigos y las regiones de diferencia (RD) importantes.
Fuente: Napier et al., 2020.

La importancia de este código de barras radica en su capacidad para facilitar la identificación de cepas, ayudando en el diagnóstico rápido y el seguimiento de las cepas del MTBC, siendo empleado en plataformas como TB-Profiler (*Phelan et al., 2019*).

Existen múltiples herramientas bioinformáticas diseñadas para aplicar el sistema de clasificación por código de barra; algunos utilizan paneles de miles de SNP para identificar con precisión linajes y sub-linajes; además, se han desarrollado programas que permiten detectar infecciones mixtas a partir de datos de WGS.

Las herramientas basadas en código de barras tienen la ventaja de identificar los sub-linajes específicos de los componentes de la muestra, mientras que aquellas sin códigos de barras pueden detectar combinaciones entre cepas nuevas o estrechamente

relacionadas que aún no están incluidas en los catálogos existentes o base de datos de los códigos. (Munro et al., 2025).

El código de barras fue desarrollado como una herramienta crucial para la vigilancia epidemiológica y el control de la TB (Coll et al., 2014); La clasificación de linajes antiguos o modernos se da mediante la presencia y ausencia de polimorfismos en diferentes cepas, siendo el resultado de eventos genéticos antiguos e irreversibles en cepas progenitoras comunes. Uno de estos eventos es la región TbD1 (Brosch et al., 2002), además de otra región de diferenciación (RDS), las cuales se usan para clasificar e identificar los linajes (Viñuelas-Bayón et al., 2017).

Los análisis filogenéticos que se han realizado sugieren que el ancestro común de los linajes 5 y 6 de *M. tuberculosis* se diversificó de un ancestro común. Se piensa que la domesticación de animales por parte del hombre hace cientos de años facilitó la transmisión zoonótica, como lo puede ser la tuberculosis bovina (Brites & Gagneux, 2015).

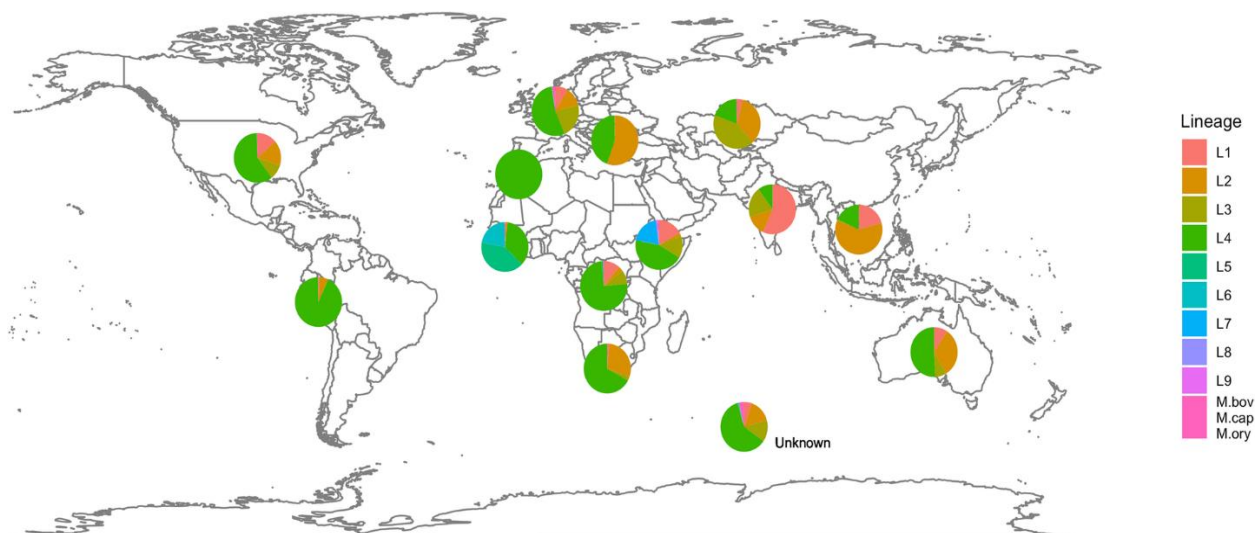


Figura 6. Distribución global de aislamientos del *Complejo Mycobacterium tuberculosis*.
Fuente: Napier et al., 2020.

2.4. ASPECTOS GENERALES

2.4.1. Características microbiológicas

Es un bacilo delgado de forma recta o ligeramente curvada, con dimensiones aproximadas de 0,2–0,7 μm de ancho por 1–10 μm de largo, inmóvil, aerobio estricto, quimioorganotrófico, que no forma esporas y es un patógeno intracelular obligado (**Gordon & Parish, 2018**).

Aunque presenta una estructura celular característica de bacterias Gram positivas, se tiñe de manera irregular con la coloración de Gram, debido a su pared celular rica en lípidos y ceras. Por esta razón, se clasifica como bacilo ácido-alcohol resistente (BAAR), siendo visible mediante la tinción de Ziehl-Neelsen, que emplea fucsina fenicada alcalina y calor, permitiendo la retención del colorante incluso tras la decoloración con ácido en medio alcohólico (**Gordon & Parish, 2018**) (**Del Molino MI et al., 2002**).

El crecimiento de *M. tuberculosis* es lento; bajo condiciones óptimas de laboratorio (37 °C y pH neutro), su tiempo de duplicación varía entre 15 y 24 horas; En medios de cultivo sólidos, como el agar, puede tardar de una a tres semanas en formar colonias visibles, las cuales suelen ser rugosas (**González-Martin, 2014**). Aunque la tuberculosis pulmonar es la forma más común de la enfermedad, esta micobacteria puede afectar casi cualquier órgano del cuerpo.

La envoltura celular de *M. tuberculosis* está compuesta por cuatro capas principales: la membrana plasmática o interna, un complejo estructural formado por peptidoglicano y arabinogalactano (AGP), y una membrana externa asimétrica conocida como mico membrana, unida covalentemente al AGP mediante ácidos micólicos, y una cápsula externa.

La cara interna de la membrana está formada por ácidos grasos de cadena larga (entre C60 y C90), mientras que su cara externa contiene diversos glicolípidos y lipoglicanos unidos de manera no covalente. (**Kalscheuer et al., 2019**). Entre estos componentes se encuentran la trehalosa monomicolato (TMM), el dimicolato de trehalosa (TDM), sulfoglicolípidos (SGL), fosfatidilinositol manósidos (PIM), lipomanano (LM),

lipoarabinomannano (LAM), además de proteínas y lipoproteínas, algunas de las cuales presentan glicosilaciones. (Jankute et al., 2015) (Kalscheuer et al., 2019).

La pared celular de *M. tuberculosis* es característica de las micobacterias; aunque clasificada como Grampositiva, tiene una estructura similar a la de las bacterias Gramnegativas, con una segunda 'membrana externa' que contiene los ácidos micólicos: ácidos grasos ramificados de cadena larga. (Brennan, 2003) (Gordon & Parish, 2018)

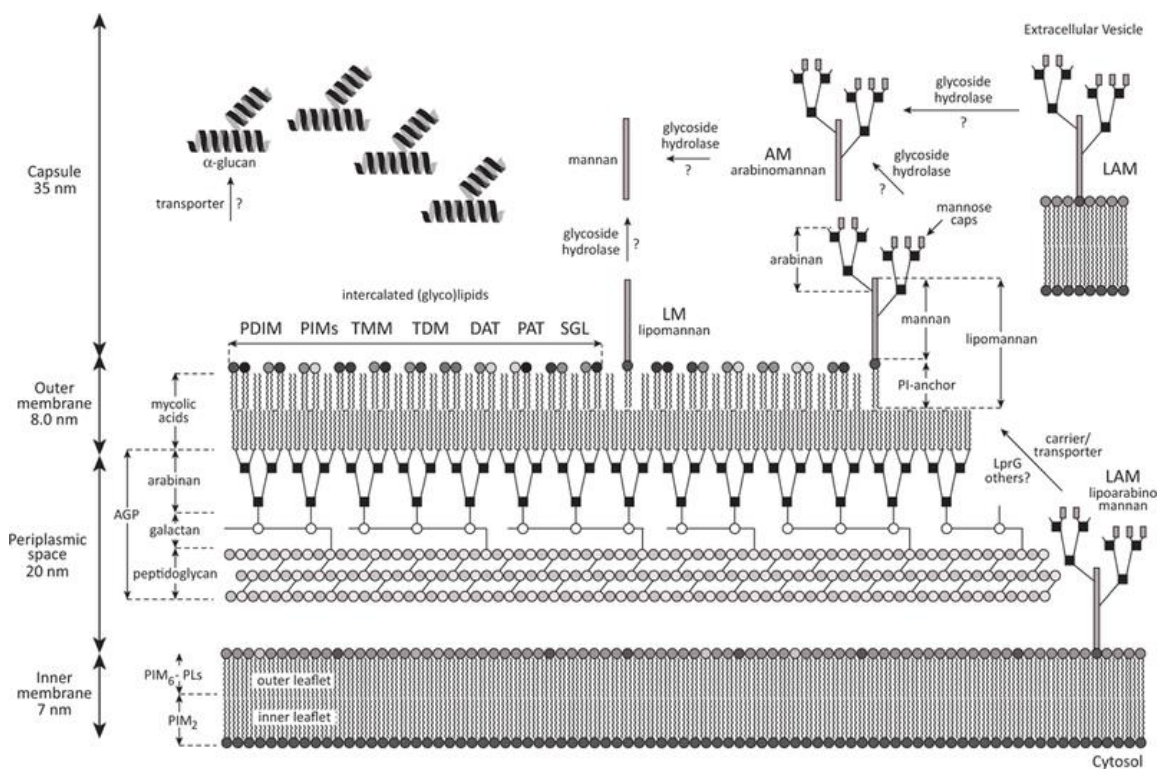


Figura 7. Envoltura celular de *M. tuberculosis* y sus principales componentes. **Fuente:** Kalscheuer et al., 2019

2.4.2. Características genómicas.

En el año 1998 se realizó la secuenciación del genoma de *M. tuberculosis* H37Rv, lo que ha facilitado la comprensión genética, funcional y el establecimiento de su relación filogenética con otras especies del complejo *M. tuberculosis* (**Camus et al., 2002; Cole et al., 1998**).

La cepa H37Rv se ha convertido en un modelo de referencia ampliamente utilizado en investigaciones actuales; el conocimiento generado a partir de la cepa de referencia H37Rv ha permitido identificar genes y proteínas clave relacionadas con la virulencia, la resistencia a fármacos y la interacción con el sistema inmune del huésped.

Esta cepa ha sido fundamental para reconocer antígenos como ESAT-6 y CFP-10, esenciales en la evasión inmunológica y actualmente utilizados tanto en el desarrollo de nuevas vacunas como en pruebas diagnósticas, como el interferón gamma (IGRA) (**Pal et al., 2022**).

Además, la cepa H37Rv se emplea en estudios preclínicos para evaluar la eficacia de candidatos vacunales y comprender la respuesta inmune inducida (**Zhuang et al., 2023**). También ha sido clave para investigar los mecanismos de infección y persistencia de *M. tuberculosis* en el huésped, incluyendo su capacidad de permanecer en estado de latencia (**Yang et al., 2024**).

La vacuna BCG (Bacille Calmette-Guérin), desarrollada hace más de un siglo a partir de *Mycobacterium bovis*, es la única autorizada contra la tuberculosis y brinda protección principalmente frente a formas graves como la meníngea y miliar en niños, aunque su eficacia en adolescentes y adultos es variable (0–80%) (**Wang et al., 2024**).

Debido a esta limitación, se investigan nuevas alternativas como vacunas de subunidades proteicas, siendo la M72/AS01E una de las más prometedoras, al mostrar casi un 49.7% de protección en adultos infectados (**Tait et al., 2019**). Se desarrollan vacunas vectorizadas, de ácidos nucleicos y dirigidas a la inmunidad innata, que buscan mejorar la respuesta frente a *M. tuberculosis*.

Entre las candidatas en evaluación destacan MTBVAC, ID93+GLA-SE y AdAg85A, que han mostrado resultados alentadores en estudios preclínicos y clínicos (**Wang et al., 2024**). Gracias a las herramientas genómicas logró identificar un tamaño genómico de 4,4 Mpb de *M. tuberculosis*, con un total de 4018 genes codificantes presentando 2500 SNP como máximo y un elevado contenido de guanina-citosina (GC) del 65,9%, en el cual se identificaron dos grandes familias proteicas, compuestas por más de 160 miembros, que presentan dominios conservados en el extremo N-terminal: prolina-glutamina (PE) o prolina-prolina-glutamina (PPE), junto con dominios C-terminales variables.

Las proteínas PE y PPE cumplen funciones diversas, participando en procesos como el metabolismo de lípidos, la organización de la pared celular y la modulación de la respuesta inmune (**Cole et al., 1998**). Aproximadamente el 9 % del potencial codificante del genoma de *M. tuberculosis* está orientado al metabolismo de lípidos; la numeración genómica se inicia a partir del codón de inicio del gen dnaA, el cual marca el sitio de origen de replicación (oriC).

El genoma presenta una abundancia de secuencias repetitivas, especialmente elementos de inserción, así como múltiples familias génicamente nuevas y genes constitutivos duplicados (**Gordon & Parish, 2018**); el contenido de G+C se mantiene relativamente uniforme a lo largo del genoma, lo que sugiere una escasa o nula presencia de islas de patogenicidad adquiridas por transferencia horizontal con composiciones atípicas de bases.

Sin embargo, se identificaron varias regiones con un contenido de G+C superior al promedio, las cuales corresponden a genes pertenecientes a una familia amplia que incluye las secuencias polimórficas ricas en G+C (PGRS) (**Cole et al., 1998**).

En el genoma se identificaron 3.924 marcos de lectura abiertos (ORFs), los cuales representan cerca del 91 % de su capacidad codificante; este alto porcentaje refleja una notable eficiencia genómica. Además, el elevado contenido de G+C del genoma acompaña un uso frecuente del codón de inicio GTG, que se encuentra en

aproximadamente el 35 % de los genes identificados (**Cole et al., 1998; Gordon & Parish, 2018**).

Un estudio reciente actualizó el genoma de referencia H37Rv de *M. tuberculosis*, reveló aproximadamente 6.4 kb adicionales en comparación con la versión publicada en 1998. Esta actualización, empleando la herramienta “Bact-Builder”, permitió identificar diez nuevas regiones de diferencia (R1–R10), caracterizadas por inserciones en genes de la familia PE/PPE, duplicaciones en tándem y la presencia de nuevos parálogos de *esxN* y *esxJ*.

En total, se describieron 109 polimorfismos de nucleótido único (SNP) y 35 inserciones o deleciones (indels), así como variaciones estructurales que sugieren modificaciones relevantes en el genoma; los nuevos parálogos *esxN.2* y *esxJ.3* muestran una expresión diferencial respecto a sus contrapartes originales, lo que apunta a la existencia de mecanismos regulatorios distintos y a posibles variaciones funcionales vinculadas a la patogénesis y la virulencia de la bacteria (**Chitale et al., 2022**).

La secuenciación de ARN confirmó que las diez regiones están activamente expresadas, lo cual refuerza su relevancia biológica; además, estas diferencias genómicas fueron validadas en otras cepas comúnmente utilizadas de H37Rv, como NR123, TMC102 y H37Rv1998, lo que indica que los cambios descritos están presentes de manera consistente en los aislados disponibles públicamente (**Chitale et al., 2022**).

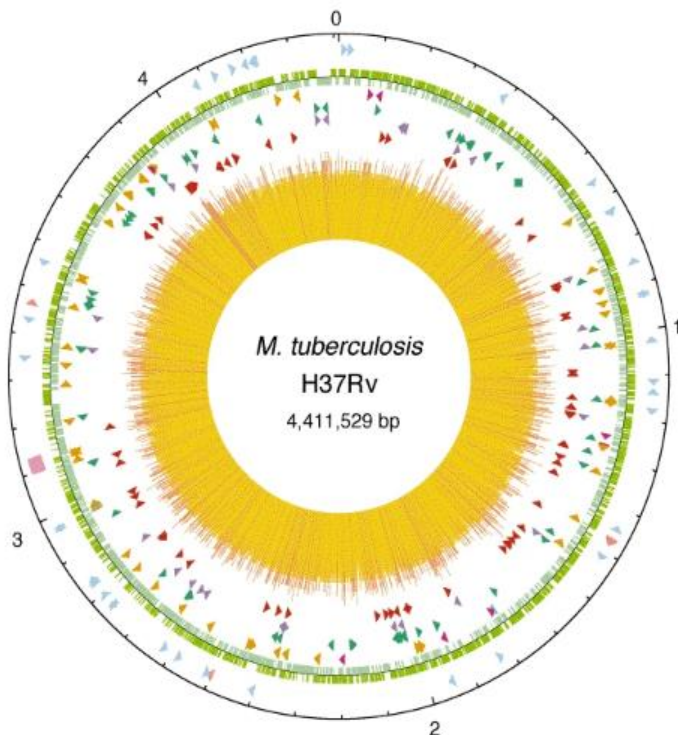


Figura 8. Mapa circular del cromosoma de *M. tuberculosis* H37Rv. **Fuente:** (Cole et al., 1998)

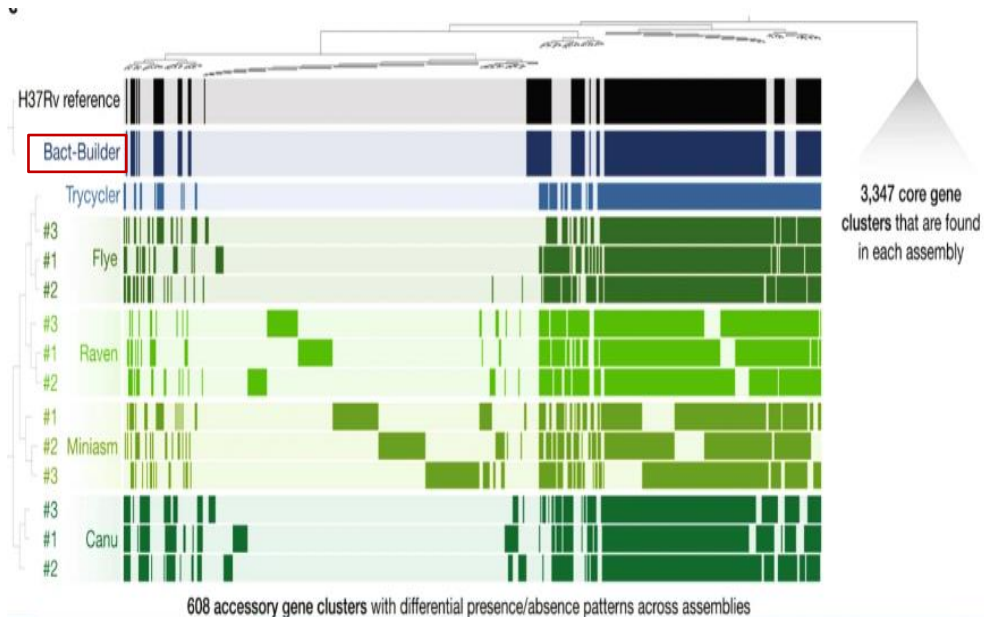


Figura 9. Comparación pan-genómica entre el genoma de referencia H37Rv y ensamblajes generados por Canu, Flye, Miniasm y Raven. Bact-Builder logró el ensamblaje más preciso, permitiendo la actualización del genoma de *M. tuberculosis* H37Rv. **Fuente:** (Chitale et al., 2022)

2.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Durante la infección por *Mycobacterium tuberculosis*, el sistema inmunológico generalmente actúa para prevenir que el individuo se infecte o se convierta en un hospedador de la enfermedad. En los casos donde sí ocurre una infección, esta puede clasificarse como tuberculosis latente o activa (**CDC tuberculosis 2018**).

La tuberculosis latente (TL) se manifiesta como una infección asintomática; aunque los bacilos están presentes en el organismo, permanecen inactivos y no producen síntomas evidentes. Esta condición, también conocida como “infección tuberculosa latente” o “tuberculosis inactiva”, no es contagiosa para otras personas (**MayoClinic, 2021**) (**CDC tuberculosis 2018**).

Es importante destacar que la tuberculosis latente tiene el potencial de desarrollarse en una forma activa si no recibe tratamiento adecuado. Por otro lado, la tuberculosis activa (TA) representa un estado infeccioso caracterizado por síntomas visibles y capacidad de transmisión a otros individuos; esta situación surge cuando el microorganismo comienza a multiplicarse activamente y provoca daño tisular significativo, especialmente en los pulmones (**CDC tuberculosis 2018**).

El intervalo entre la infección inicial y la manifestación de síntomas puede variar ampliamente desde semanas hasta varios años, lo cual complica su detección temprana en ciertas circunstancias.

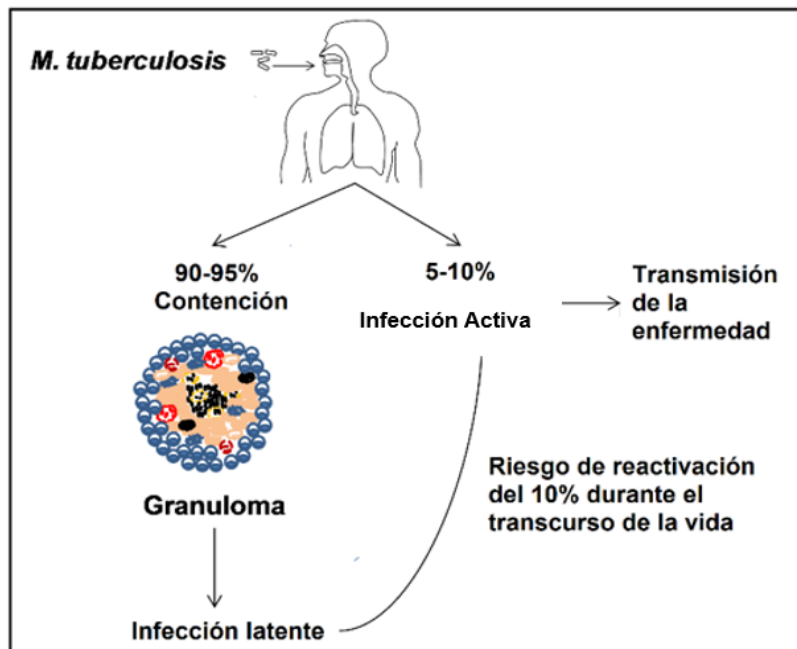


Figura 10. Clasificación de la infección; **Fuente:** *BiteSized immunology*.

Los síntomas de la TB pueden ser sutiles durante períodos prolongados, lo que facilita la transmisión no intencionada a otras personas; además, hay individuos con tuberculosis que no presentan signos evidentes de la enfermedad (**WHO & World Health Organization: WHO, 2024**). Los síntomas comunes asociados a la tuberculosis incluyen: pérdida de peso inexplicada, dolor torácico, tos persistente (a veces con sangre), fatiga extrema, fiebre y sudoraciones nocturnas.

La manifestación sintomática depende del área del cuerpo afectada; aunque los pulmones son el órgano más comúnmente involucrado en la tuberculosis, también pueden verse comprometidos otros órganos como los riñones, el cerebro, la columna vertebral y la piel. Esto se clasifican como tuberculosis extrapulmonar (**WHO & World Health Organization: WHO, 2024**).

Si bien cualquier persona puede contraer tuberculosis, existen ciertos factores de riesgo que aumentan tanto las probabilidades de infección por *M. tuberculosis* como el avance hacia una enfermedad activa. Las condiciones laborales o habitacionales desfavorables,

como el hacinamiento y la falta de ventilación, facilitan su propagación entre individuos **(Daniel & Asadobay, 2024)**.

Según datos proporcionados por la Caja de Seguro Social (CSS), un sistema sanitario en Panamá, aquellos con mayor vulnerabilidad para desarrollar tuberculosis incluyen niños menores de cinco años que conviven con adultos diagnosticados con esta patología, personas diabéticas, PDL compartiendo espacios con enfermos tuberculosos, ancianos mayores a sesenta (60) años, consumidores de drogas, así como aquellas personas viviendo con VIH debido al compromiso inmunológico asociado, poblaciones indígenas en situaciones precarias sin acceso adecuado a servicios médicos, y habitantes en situación callejera **(CSS tuberculosis, 2022)**.

2.6. PATOGÉNESIS Y TRANSMISIÓN

La infección por *Mycobacterium tuberculosis* comienza cuando se inhalan bacilos presentes en microgotas expulsadas por una persona con tuberculosis activa. Estas microgotas son liberadas al aire durante episodios de tos, lo que permite la dispersión bacteriana **(Global tuberculosis Report, 2024)**.

Al ingresar a los pulmones, las bacterias enfrentan el ataque inmediato de células inmunitarias conocidas como macrófagos alveolares, los cuales fagocitan rápidamente estos patógenos **(Delogu et al., 2013)**. Sin embargo, en ciertas circunstancias, algunos bacilos logran evadir las defensas innatas del organismo y establecen una infección latente **(Urdahl et al., 2011)**.

Cuando los bacilos superan tanto la fagocitosis como otros mecanismos antimicrobianos presentados por los macrófagos, comienzan a replicarse dentro de estas células. Posteriormente, se propagan hacia tejidos adyacentes tales como el epitelio y endotelio; este proceso da lugar a una infección focal caracterizada por un aumento significativo en la carga bacteriana en cuestión de semanas **(Wolf et al., 2008)**.

Durante las fases iniciales infecciosas, existe un potencial para que el bacilo se disemine hacia otros órganos mediante vasos linfáticos y circulación sanguínea; esto le permite infectar diversas células, incluyendo más macrófagos alveolares antes de extenderse

hacia diferentes tejidos u órganos, facilitándose así su propagación a través del torrente sanguíneo y sistema linfático (*Delogu et al., 2013*).

La activación del sistema inmune adaptativo provoca que neutrófilos y linfocitos, junto con otras células inmunitarias, migren hasta el foco infeccioso; la acumulación resultante forma lo que se conoce como granuloma, estructura asociada a la tuberculosis, cuya respuesta celular es generalmente eficaz para controlar la replicación bacteriana, convirtiéndose frecuentemente esta situación en tuberculosis latente (*Ottenhoff & Kaufmann, 2012*).

El foco de Ghon corresponde a una lesión pulmonar primaria causada por la tuberculosis, originada a partir del granuloma que en algunos casos puede encapsularse y calcificarse. Cuando este foco se acompaña de la afectación de los ganglios linfáticos regionales, se forma el complejo de Ghon, considerado la lesión primaria característica de la tuberculosis en la mayoría de los casos y que actúa como una barrera física para limitar la diseminación adicional de los bacilos. (*Delogu et al., 2013*).

Se ha sugerido que tal complejo podría funcionar como hábitat donde las micobacterias pueden permanecer inactivas durante períodos prolongados sin inducir enfermedad activa; no obstante, en ciertos casos, particularmente entre individuos con sistemas inmunitarios comprometidos o grupos poblacionales vulnerables, los microorganismos podrían reactivarse, llevando nuevamente a desarrollar una tuberculosis activa (*Delogu et al., 2013*).

2.7 DIAGNÓSTICOS

En Panamá, el Ministerio de Salud (MINSAL), ha promulgado un documento titulado “Norma técnica nacional para el control de la tuberculosis”, que detalla los procedimientos bacilo de Koch, esto se logra mediante las diversas técnicas laboratoriales disponibles y aprobadas por el Laboratorio Central De Referencia En Salud Pública (LCRSP) en Panamá. Es imperativo realizar exámenes de esputo para todos los pacientes a seguir, resumidos a continuación.

El diagnóstico de la TB debe fundamentarse principalmente en la confirmación bacteriológica del con síntomas respiratorios, sin distinción por edad, siempre que puedan proporcionar una muestra.

La baciloscopia representa una técnica esencial para diagnosticar TB; además, cultivos en medios líquidos diseñados para el crecimiento del *M. tuberculosis* o pruebas moleculares como la PCR en tiempo real, son consideradas métodos diagnósticos altamente eficaces. En cualquier caso, sospechoso de tuberculosis pulmonar, se deben obtener dos muestras seriadas: la primera al momento del diagnóstico y la segunda recolectada por el paciente al despertar al día siguiente, antes de comer ni lavarse la boca (debe proporcionársele un recipiente adecuado).

Ambos recipientes deben estar claramente etiquetados con el nombre del paciente, su número de identificación personal y un identificador correspondiente a cada muestra. Las muestras deberán ir acompañadas del “Formulario de solicitud para diagnóstico de tuberculosis” debidamente completado.

Si resulta complicado para el paciente regresar a las instalaciones sanitarias entregando posteriormente su segunda muestra, ambos especímenes pueden ser recogidos ese mismo día con un intervalo mínimo entre ellos no inferior a dos horas; además se recomienda resguardar las muestras del contacto directo con luz solar y conservarlas bien refrigeradas a cuatro grados centígrados durante un máximo periodo cinco días.

El lapso promedio desde la recolección hasta entrega finaliza cuando no excede tres días; este plazo puede ampliarse hasta cinco días si se trata zonas remotas dificultando acceso inmediato mientras sigue vigente nuestra responsabilidad sobre cortar cadenas infecciosas potenciales asociadas a esta enfermedad.

Se considera óptimo recibir resultados dentro 24-48 horas tras procesamiento; si alguna institución receptora carece capacidad analítica específica deberá vincularse adecuadamente hacia laboratorios habilitados donde sí sean realizadas tales evaluaciones pertinentes.

Es fundamental coordinar esfuerzos administrativos garantizando envíos regulares al menos bisemanales estableciendo fechas específicas junto medios logísticos involucrando horarios claros tanto salida como recepción. Cuando existan irregularidades respecto envío habitual será necesario notificar anticipadamente al laboratorio receptor acerca dicha situación previa transportación según directrices ofrecidas anteriormente (*MINSA,2017*).

2.7.1. Microbiológicos

2.7.1.1. Baciloscopia

El proceso consiste en tomar una muestra de la expectoración, fijarla en una placa y procesarla mediante la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen, la cual se emplea para teñir bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR), como es el caso de la TB.

La técnica de tinción consiste en fijar una porción de la muestra con calor y cubrirla con fucsina; se calientan los frotis flameándolos; se elimina el colorante con agua destilada a chorro suave; se agrega alcohol-ácido durante 2 minutos; pasado este tiempo, se enjuaga con agua destilada y se aplica el colorante de contraste, que es azul de metileno, durante 5 minutos. Transcurrido este tiempo, se enjuaga nuevamente con agua destilada y se deja escurrir en forma vertical sobre papel absorbente hasta que se seque

Una vez secos, se procede a la visualización al microscopio con aceite de inmersión; esta observación debe determinar, en primer lugar, si se encuentran BAAR en el extendido y de ser así, el número aproximado de ellos por campo microscópico.

2.7.1.2. Cultivo

El cultivo líquido representa una metodología avanzada para la evaluación semicuantitativa de la carga bacteriana, utilizando sistemas automatizados como el BACTEC™ MGIT™ 320/960; estos instrumentos permiten detectar el crecimiento significativo de micobacterias, informando el momento o tiempo de detección (TTD) cuando se produce dicho crecimiento.

El medio líquido para emplear es el caldo Middlebrook 7H9 modificado, enriquecido con suplemento de crecimiento MGIT™. esta combinación proporciona las condiciones

óptimas para la proliferación de la mayoría de las micobacterias, mientras que la adición de una mezcla de antibióticos inhibe el crecimiento de bacterias contaminantes.

La detección del crecimiento bacteriano, incluyendo micobacterias, se basa en la emisión de fluorescencia del tubo de cultivo líquido. Esta fluorescencia aumenta proporcionalmente a medida que las bacterias consumen oxígeno y liberan dióxido de carbono en el medio, el equipo BACTEC™ MGIT™ 320/960 mide la fluorescencia mediante la exposición del tubo a luz ultravioleta (UV), y los datos obtenidos se analizan mediante algoritmos informáticos para interpretar automáticamente los resultados.

Se considera que un cultivo es positivo cuando se alcanza un desarrollo bacteriano de aproximadamente 10^5 a 10^6 Unidades Formadoras de Colónias (UFC) por ml de medio. Sin embargo, si no se observa crecimiento bacteriano después de 42 días de incubación, el cultivo se interpreta como negativo. El cultivo líquido es aplicable para el aislamiento primario de micobacterias a partir de diversos tipos de muestras, tanto pulmonares como extrapulmonares.

Las muestras pulmonares más comunes incluyen expectoración y esputo, mientras que las muestras extrapulmonares abarcan pus y otras secreciones mucopurulentas, aspirados gástricos, lavados bronquiales, hisopados de laringe, tejidos y fluidos corporales asépticos como líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido sinovial y líquido pleural.

Los medios de cultivo para *M. tuberculosis* se clasifican en sólidos y líquidos y su uso combinado mejora la sensibilidad y rapidez del diagnóstico. Los medios sólidos, como Löwenstein-Jensen, Coletsos y Middlebrook (7H10 y 7H11), estos permiten observar la morfología de las Colónias, aunque presentan el inconveniente de un crecimiento lento, en cambio, los medios líquidos, como BACTEC y MGIT, detectan la bacteria en menos tiempo y son útiles también para otras micobacterias (**Del Molino MI et al., 2002**).

2.7.2. Inmunológico

2.7.2.1. Prueba de tuberculina

La tuberculina es una sustancia derivada de proteínas purificadas (PPD) obtenida de cultivos de *M. tuberculosis*. Fue desarrollada inicialmente por Robert Koch en 1890 y posteriormente perfeccionada por Florence Seibert en 1934, quien logró obtener una versión purificada conocida como PPD. Esta sustancia se utiliza en la prueba de Mantoux para diagnosticar la infección por tuberculosis. **(Burke, 1993)**

La prueba funciona mediante la aplicación intradérmica de una pequeña dosis de tuberculina (0.1 ml) en el antebrazo. Si la persona ha estado expuesta previamente a *M. tuberculosis* o ha recibido la vacuna BCG, ya que su sistema inmunológico reaccionará al antígeno, generando una induración (endurecimiento de la piel) en el sitio de la inyección, esta reacción se mide entre 48 y 72 horas después de la aplicación, evaluando el diámetro de la induración en milímetros. **(Baca & Vivancos-Gallego, 2023).**



Figura 11. Prueba de Tuberculina; **Fuente: Drugs.com. 2025)**

Una reacción positiva indica una respuesta inmunitaria que puede deberse a infección con el complejo *M. tuberculosis*, a infección con micobacterias no tuberculosas o a una vacunación previa con BCG. **(Yela et al., 2024)**

La prueba también puede mostrar resultados negativos o dudosos dependiendo del tamaño de la induración. Las pruebas dudosas en la tuberculina se presentan cuando la induración mide entre 5 y 9 mm de diámetro. (*Flores, L et al., (2009)*).

Los resultados de esta prueba pueden indicar varias situaciones:

1. Infección por micobacterias atípicas: Estas son micobacterias diferentes a *M. tuberculosis* que pueden causar una reacción leve.
2. Vacunación previa con BCG: Las personas vacunadas con BCG pueden mostrar una reacción positiva leve debido a la memoria inmunológica generada por la vacuna.
3. Respuesta inmunitaria débil: En algunos casos, la reacción puede ser insuficiente para considerarse positiva, pero tampoco completamente negativa.

2.7.2.2. Prueba de interferón gama (IGRA)

Es un método de diagnóstico que detecta la respuesta inmunitaria del cuerpo a la *M. tuberculosis*, se utiliza principalmente para identificar una infección de tuberculosis en estado latente. (*Machado-Villarreal et al., 2015*)

El funcionamiento de esta prueba se basa en la medición del interferón-gamma (IFN- γ), una proteína liberada por los linfocitos T (glóbulos blancos), cuando han sido expuestos a antígenos específicos de la bacteria; para la realización de esta prueba se extrae una muestra de sangre venosa y se incuba con dichos antígenos, si las células T de la persona han sido previamente sensibilizadas por la bacteria, producirán IFN- γ , cuya cantidad será medida. (*Zhou, G. et al., 2020*).

2.7.3. Moleculares

2.7.3.1. PCR en tiempo real

Para el análisis por PCR, se utiliza el equipo automatizado GeneXpert, el cual se emplea para determinar la presencia o ausencia de tuberculosis, así como su resistencia.

El equipo GeneXpert es una plataforma de diagnóstico molecular que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para detectar la presencia de *M. tuberculosis* y resistencia; su procesamiento consiste en tomar una muestra de esputo y combinarla

con el reactivo de licuefacción, el cual liberará el ADN de las bacterias presentes en la muestra, una vez lisadas, la solución se introduce en un cartucho GeneXpert, el cual contiene todos los reactivos necesarios para la PCR.

Ya cargado el cartucho, este se introduce en el equipo GeneXpert, que automatiza todos los pasos del proceso, incluyendo la amplificación del ADN y la interpretación de los resultados, los cuales determinan la presencia o ausencia de tuberculosis y la resistencia.

2.8. TRATAMIENTO

El tratamiento de la tuberculosis se basa en un régimen estricto de medicamentos (antibióticos) que deben administrarse durante varios meses. Existen diferentes esquemas terapéuticos para curar esta enfermedad, pero su elección depende de diversos factores que deben ser cuidadosamente considerados para un manejo adecuado. (OMS,2025), entre los factores que se deben tener en cuenta para el tratamiento están: Resultados de susceptibilidad a fármacos, Condiciones médicas coexistentes y Potenciales interacción entre fármacos debido a tratamientos de otras enfermedades **(OMS,2025), (Varela et al., 2023)**

Aproximadamente el 85% de los pacientes puede curarse con un régimen estandarizado contra la infección por *M. tuberculosis*, sin estos tratamientos las tasas de muerte podrían elevarse entre un 20% y 70% **(Kim et al., 2023)**; Una de las mayores dificultades en el control de la tuberculosis es la resistencia a los medicamentos antituberculosos, en especial a tuberculosis multidrogorresistente ya que esta forma de la enfermedad presenta una menor probabilidad de curación y un tratamiento más complejo. **(Leyes et al., 2020) (Jiménez et al., 2025).**

El tratamiento de la tuberculosis varía según su estado clínico, si la tuberculosis está activa o latente; en la tuberculosis latente, se usa un solo antibiótico para evitar que la bacteria cause la enfermedad. En cambio, la tuberculosis activa se trata con varios antibióticos al mismo tiempo para eliminar la infección. **(Huaman & Sterling, 2019)**

Los medicamentos utilizados para tratar la tuberculosis se clasifican en dos grupos principales: fármacos de primera línea y de segunda línea. Esta clasificación se establece según su eficacia, toxicidad y el tipo de resistencia de la cepa. La selección del esquema de tratamiento depende del diagnóstico clínico, determinando si se trata de una cepa sensible o resistente. OMS, 2025.

El tratamiento se subdivide en dos etapas, una fase primaria Intensiva y una fase secundaria o continua.

Fase	Acción
Primaria / Intensiva	<p>Etapa, que se extiende por 2 meses, busca eliminar rápidamente los bacilos de tuberculosis, evitando la progresión de la enfermedad, su transmisión y la aparición de resistencia a los fármacos.</p> <p>El tratamiento suele consistir en una combinación de medicamentos de primera línea, según la edad del paciente y la gravedad clínica.</p>
Secundaria / Continua	<p>Fase de continua, que sigue a la fase intensiva del tratamiento, tiene como objetivo eliminar los bacilos inactivos y asegurar la curación completa del paciente, previniendo así una recaída de la enfermedad.</p> <p>Esta fase dura generalmente de 2 a 4 meses, aunque la duración puede variar según la gravedad de la enfermedad y si hay evidencia de resistencia a los medicamentos.</p>

Tabla 3. Clasificación de las fases del tratamiento. **Fuente:** *Manual operativo de la OMS sobre la tuberculosis, módulo 4: Tratamiento y Atención (OMS, 2025)*

2.8.1. Fármacos de primera línea.

- El tratamiento de la tuberculosis se fundamenta en un esquema terapéutico que incluye cuatro antibióticos (Isoniazida; Rifampicina; Pirazinamida y Etambutol). **(Silva et al., 2007.)**

2.8.2. Fármacos de segunda línea.

- Los fármacos de segunda línea son medicamentos utilizados para tratar la tuberculosis multidrogorresistente (TB-MDR) cuando los medicamentos de primera línea no son efectivos debido a la resistencia bacteriana.
- Los fármacos de segunda línea son: kanamicina, amikacina, capreomicina, etionamida, protionamida, ofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino y ciclocerina, los cuales se prescriben en caso de toxicidad con los de primera línea. Entre estos fármacos se encuentran los inyectables como kanamicina, amikacina y capreomicina. (OMS, 2025)

Clasificación de la tuberculosis multidrogorresistente

TIPO DE RESISTENCIA	DESCRIPCIÓN
Monorresistente	Resistencia a un solo medicamento de primera línea.
Polirresistente	Resistencia a múltiples medicamentos de primera línea, pero no a isoniacida y rifampicina a la vez.
Multirresistente (TB-MDR)	Resistencia a los dos medicamentos clave de primera línea: isoniacida y rifampicina.
Resistente a Rifampicina (TB-RR)	Resistencia a la rifampicina, con o sin resistencia a otros medicamentos.
Extensamente Resistente (TB-XDR)	TB-MDR con resistencia adicional a fluoroquinolonas y a un inyectable de segunda línea (amikacina, capreomicina y kanamicina).

Tabla 4. Clasificación de resistencia. *Fuente OMS; 2023*

2.9. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÓMICA DE LA TB.

La epidemiología molecular abarca un amplio conjunto de técnicas destinadas a comparar secuencias de ácidos nucleicos entre aislamientos de *M. tuberculosis*. (P. Coll & De Viedma, 2018). En esta especie se ha observado una baja variabilidad genética entre cepas y un bajo intercambio horizontal de genes; sin embargo, se ha identificado

una notable diversidad genética en su población, el cual generalmente se les atribuye a polimorfismos de nucleótido único / single nucleotide polymorphism (SNP), polimorfismos de secuencias largas / long sequence polymorphism (LSP), son filogenéticamente informativos y útiles para los estudios poblacionales y epidemiológicos **(P. Coll & De Viedma, 2018), (Achtman, 2008)**.

El genotipo, o la identificación de las huellas genéticas de cada especie, es una herramienta clave para caracterizar brotes, ya sea provocados por un aislado específico o por múltiples aislamientos; esta técnica permite diferenciar si una infección corresponde a una recaída originada por el mismo agente previo o a una reinfección debida a una cepa distinta. Además, se posibilita la identificación de genotipos con mayor capacidad de infección, transmisión o resistencia a fármacos. **(Zenteno-Cuevas et al., 2018). (Bautista R., 2020)**

Entre los usos más relevantes del genotipado de *M. tuberculosis* se encuentran la detección y confirmación de posibles contaminaciones, la determinación de la dispersión y distribución de las diferentes cepas, así como la evaluación de la eficacia de las estrategias de prevención y control. **(McNabb, 2004)**

2.9.1. Polimorfismos de nucleótido único (SNP)

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son variaciones genómicas que implican el cambio de una sola base en una posición específica del ADN. Cuando ocurre una sustitución de un nucleótido en un locus determinado, se considera un SNP, el cual puede interpretarse como un alelo o como una variación en una posición concreta asociada a un gen o marcador genético **(Mittal et al., 2013)**.

De acuerdo con el National Institutes of Health (NIH), se trata de una alteración en una única base del genoma, constituyendo un tipo fundamental de polimorfismo genético (NIH, 2025,). Estos polimorfismos pueden localizarse en distintas regiones del ADN, como secuencias codificantes (exones), no codificantes (intrones) y reguladoras (promotores). **(Single Nucleotide Polymorphism | EBSCO, 2024)**.

2.9.2. Polimorfismos de secuencias largas (LSP)

Son polimorfismos de eventos únicos en el genoma que representan grandes deleciones o variaciones en las secuencias de ADN y se utilizan para construir filogenias robustas para *M. tuberculosis* porque cambian con menor rapidez que otros marcadores genéticos, lo que los hace adecuados para definir relaciones filogenéticas profundas y robustas. **(Hirsh et al., 2004)**

Para identificarlos, se usa la hibridación comparativa de todo el genoma y luego se confirman con técnicas de PCR y secuenciación. Estos polimorfismos son específicos de cada linaje y, al ser filogenéticamente informativos, permiten clasificar las cepas en distintos linajes **(Gagneux et al., 2006)**

Un genoma es toda la información genética que tiene un organismo, esta información se guarda en el ADN o ARN, que son cadenas que pueden ser rectas o circulares. Con el tiempo, la tecnología para leer estas cadenas ha mejorado mucho, volviéndose más rápida, precisa y permitiendo analizar más datos a la vez. **(Nuñez, 2023)**

2.10. HERRAMIENTAS MOLECULARES

La epidemiología molecular se ha convertido en una de las herramientas más importantes para el monitoreo de enfermedades infecciosas como la Tuberculosis, haciendo uso del genotipado, el cual se caracterizan y clasifican las diferentes variantes genéticas, mediante el uso de ciertas técnicas **(McNabb, 2004), (Bautista R., 2020)**.

2.10.1. MIRU-VNTR

El método MIRU-VNTR (Mycobacterial Interspersed Repetitive Units–Variable Number Tandem Repeats), es una técnica de tipificación molecular utilizada para genotipar cepas del complejo *M. tuberculosis* **(Supply et al., 1997) (Couvin et al., 2025)**.

Esta técnica se basa en el análisis de loci VNTR (Número Variable de Repeticiones en Tándem), lo cuales actúan como similares a minisatélites distribuidos por todo el genoma, cuya principal característica es la variación en el número de repeticiones consecutivas de secuencias específicas de ADN. (Allix-BéGuec et al., 2008). Estas Unidades Repetitivas Intercaladas Micobacterianas (MIRU), actúan como marcadores

genéticos que ofrecen un alto poder discriminatorio, permitiendo estudios epidemiológicos y filogenéticos, así como la evaluación de la diversidad genética entre cepas. **(Micheni et al., 2022), (Weniger et al., 2010).**

El análisis de 24 loci mediante la técnica MIRU-VNTR constituye un método de alta resolución para la genotipificación rápida de aislamientos de *M. tuberculosis*. Aunque el uso de un número reducido de loci puede agilizar el proceso, estas variantes presentan un poder discriminatorio inferior al panel estándar de 24 loci **(Bolado-Martínez et al., 2014)**, siendo útil para identificar perfiles genotípicos de cepas que circulan dentro de una misma región geográfica (Alonso-Rodríguez et al., 2009) La técnica MIRU-VNTR, se puede realizar por 2 métodos, uno experimental y otro Digital. **(Rajwani et al., 2018)**

Tipificación experimental

Este método, basado en PCR, utiliza cebadores ya estandarizados que flanquean los loci VNTR para amplificar las regiones de interés. Posteriormente, se mide el tamaño de los amplicones obtenidos y a partir de la longitud conocida de cada unidad repetitiva, se calcula el número de repeticiones presentes en cada locus.

Tipificación digital (IN SILICO)

Se emplean secuencias de genomas completos en formato FASTA como punto de partida, el programa MIRU-profiler, utilizando el software EMBOSS, simula la amplificación por PCR para estimar las longitudes de los amplicones correspondientes a los 24 loci MIRU-VNTR, luego, se asigna el número de repeticiones a cada locus mediante una tabla de referencia de alelos. **(Rajwani et al., 2018)**

El resultado final se presenta en un archivo de texto delimitado por tabulaciones, que contiene el patrón numérico de repeticiones para cada locus; a través de este análisis se puede comparar las cepas con cepas de referencia, facilitando la asignación de especies, linajes y genotipos.

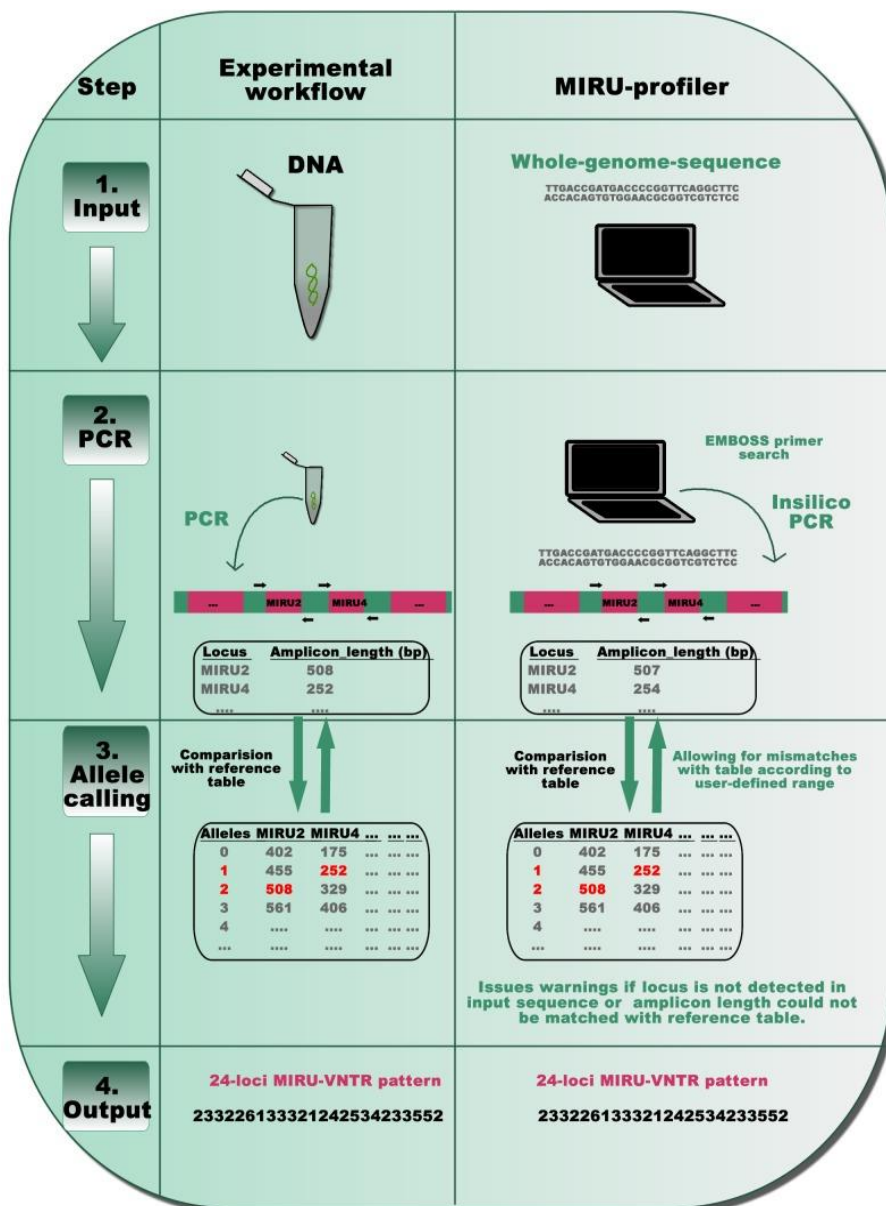


Figura 12. Representación esquemática del flujo de trabajo de MIRU-profiler en comparación con el protocolo experimental para la genotipificación estandarizada de *M. tuberculosis* utilizando 24 loci MIRU-VNTR; (*Rajwani et al., 2018*)

2.10.2. Spoligotipos

La tipificación por oligonucleótidos espaciadores (spoligotyping) es una técnica basada en PCR que emplea cebadores dirigidos a las repeticiones directas (DR) con el fin de identificar y diferenciar cepas pertenecientes al complejo *M. tuberculosis*. Este método analiza la presencia o ausencia de secuencias específicas en el locus DR del genoma bacteriano y puede aplicarse tanto en ensayos experimentales como in silico (**Kamerbeek et al., 1997; Sequera et al., 2008; Couvin et al., 2025**). Aunque se trata de una técnica rápida, reproducible y sencilla, su poder discriminatorio es inferior al del método estándar IS6110-RFLP cuando se utiliza de forma independiente (**Filliol et al., 2002**). No obstante, su capacidad de diferenciación aumenta de manera notable al combinarse con otros métodos, como la tipificación por repeticiones en tándem de número variable (VNTR) (**Filliol et al., 2000**).

El spoligotyping resulta especialmente valioso en estudios epidemiológicos y filogenéticos, ya que permite clasificar cepas en familias genéticas y seguir las cadenas de transmisión de la tuberculosis. Además, es un método económico y accesible, lo que lo convierte en una opción adecuada para laboratorios con recursos limitados (**Couvin et al., 2025**).

2.10.3. RFLP

El Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP, por sus siglas en inglés) es una técnica molecular empleada para detectar y analizar variaciones en la secuencia de ADN entre diferentes organismos o cepas. Su principio se basa en el uso de enzimas de restricción que reconocen secuencias específicas de nucleótidos y cortan el ADN en esos sitios. (**Segura, Let al 2010**)

Las mutaciones, inserciones u otras variaciones en la secuencia pueden modificar los puntos de corte, generando fragmentos de diferentes longitudes, estos fragmentos se separan mediante electroforesis en gel y se visualizan utilizando sondas específicas marcadas. El patrón resultante, denominado perfil de RFLP, permite comparar muestras para identificar polimorfismos genéticos, estudiar la diversidad, determinar relaciones evolutivas o identificar especies. (**Rodríguez, P. et a, 2002**)

En el estudio de la tuberculosis esta técnica se emplea para identificar diferencias en las cepas de *M. tuberculosis* mediante el análisis del elemento de inserción IS6110. El IS6110 es un elemento de inserción específico del complejo *M. tuberculosis*, empleado como marcador genético en estudios epidemiológicos porque su número y posición en el ADN varían entre diferentes cepas de *M. tuberculosis*. (**Enrique et al., 1995**).

2.11. EPIDEMIOLOGIA GENÓMICA

La secuenciación del genoma completo o Whole genome sequencing (WGS) ha transformado la microbiología clínica y de salud pública, permitiendo un análisis detallado de los genomas microbianos. Esta tecnología, impulsada por los avances en la secuenciación de próxima generación (NGS), ofrece un potencial significativo para la identificación de patógenos, la tipificación, la detección de resistencia antimicrobiana y el perfil de virulencia; sin embargo, su implementación enfrenta desafíos relacionados con los costos, la infraestructura, la experiencia en bioinformática y la estandarización (**Kwong et al., 2015**).

A pesar de estas limitaciones, la secuenciación genómica constituye una herramienta fundamental por su capacidad de proporcionar información precisa sobre la composición genética de los organismos, lo que impulsa avances en el diagnóstico, tratamiento e investigación.

En el caso de *M. tuberculosis* esta herramienta permite identificar rápidamente las cepas presentes, además facilita la detección de resistencia o susceptibilidad a fármacos, lo que posibilita diseñar tratamientos más efectivos y personalizados a datos epidemiológicos de alta resolución, útiles para rastrear brotes, diferenciar entre recaídas y reinfecciones, y comprender las redes de transmisión de la enfermedad (**G. Satta et al., 2018**).

La WGS inicia con la extracción de ADN a partir de muestras microbianas homogéneas, como colonias bacterianas puras, asegurando que el material genético sea de alta calidad y en cantidad suficiente para obtener resultados precisos. Posteriormente, se prepara la librería mediante la fragmentación del ADN, el ajuste de su concentración, la

adición de adaptadores de secuenciación y la purificación del producto final. (Rubio S.,2020).

La secuenciación se realiza en plataformas de próxima generación (NGS), utilizando tecnologías que pueden generar lecturas cortas, como Illumina MiSeq, o lecturas largas, como Pacific Biosciences RS II, que facilitan el ensamblaje de novo. (Kwong et al., 2015). Posteriormente, las lecturas después de la secuenciación se utilizan para procesar y analizar los datos genómicos, permitiendo ensamblar el genoma, identificar genes, detectar resistencia antimicrobiana, realizar tipificación molecular, construir árboles filogenéticos y analizar muestras complejas mediante metagenómica.

2.11.1. PCR Alelo específica (ASO-PCR)

El diseño de la ASO-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa con Oligonucleótidos Específicos de Alelo) fue desarrollado como parte de un modelo simplificado para optimizar la vigilancia de la transmisión de *M. tuberculosis* en países sin programas sistemáticos de epidemiología molecular o genómica. Este proceso integró el análisis de MIRU-VNTR y la WGS como base para el diseño de una herramienta accesible y específica en la identificación de cepas predominantes

Un análisis realizado en Panamá y Colón con MIRU-VNTR agrupó los aislamientos en seis clusters (A-F), destacando A (Beijing), B (Haarlem) y C (Mediterráneo-Latinoamericano) como los grupos más frecuentes y prevalentes, de estos se seleccionaron representantes de estos clústers y fueron sometidos a WGS, lo que permitió identificar SNP específicos para cada uno tras su comparación con una base global de 4,598 genomas de *M. tuberculosis*. Se seleccionaron tres SNP para el clúster A y cuatro para los clústeres B y C, que sirvieron como base para el diseño de la ASO-PCR.

A partir de estos SNP se desarrollaron ensayos multiplex capaces de generar patrones de amplificación únicos que distinguieran las cepas de interés. En el clúster A, se diseñó un cebador selectivo dirigido al alelo característico de las cepas Beijing y dos más hacia alelos alternativos, mientras que en los clústeres B y C se usaron 2 cebador selectivo dirigido al alelo característico de las cepas y dos hacia alelos alternativos. De esta

manera, se estableció un esquema de ASO-PCR que permite diferenciar los clústers prioritarios de *M. tuberculosis*, ofreciendo una estrategia práctica para fortalecer la vigilancia molecular de la tuberculosis en Panamá.

Análisis genómicos y diseño de la ASO-PCR

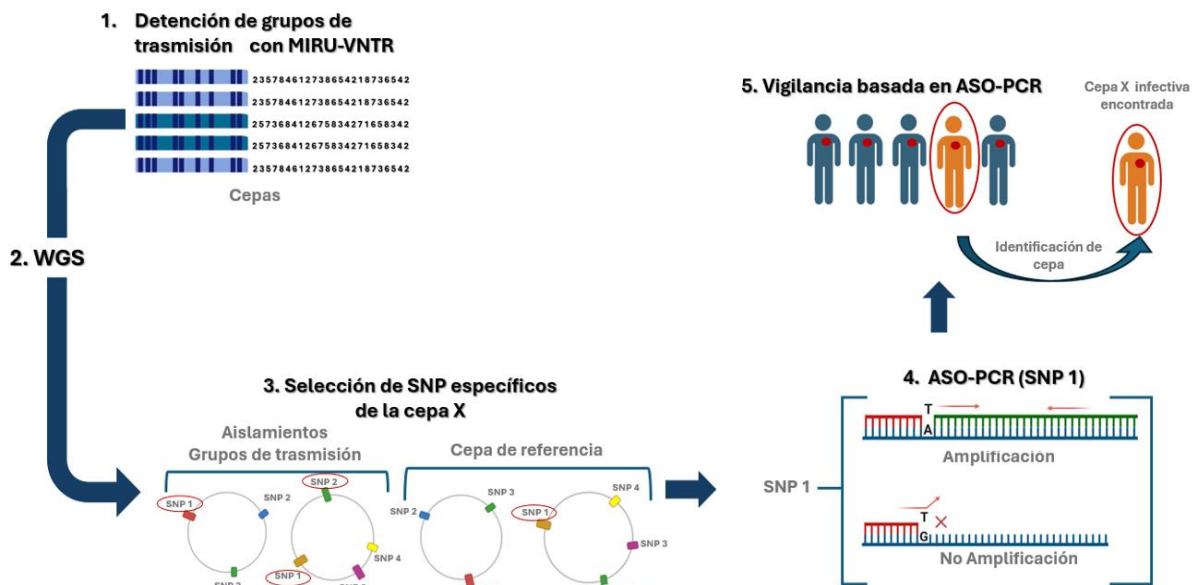


Figura 13. Representación esquemática del diseño de la ASO-PCR. (1) Aplicación de MIRU-VNTR en cepas aisladas para identificar los clústeres de mayor incidencia. (2) Aplicación de WGS a los tres clústeres más incidentes con el fin de detectar los SNP presentes en cada uno. (3) Selección y verificación de SNP idóneos para su uso como biomarcadores de cepas/clústeres específicos. (4) Diseño de cebadores a partir de los SNP seleccionados y ensayos para verificar su funcionalidad. (5) Uso de la técnica ASO-PCR para vigilancia e identificación de nuevos casos de *M. tuberculosis*. Fuente: creación basada en el diagrama de flujo de trabajo de (**Pérez-Lago et al., 2015**)

Un estudio, realizado en Georgia entre 2011 y 2016 con 1,613 cepas de *M. tuberculosis* resistentes a múltiples fármacos (MDR-TB), recolectadas a partir de individuos encarcelados y no encarcelados, demostró que las prisiones desempeñan un papel central en la transmisión y evolución de estas cepas. Empleando WGS, análisis filogenéticos y modelos estadísticos, se evidenció que el 63% de los casos de MDR-TB

se originaron por transmisión de persona a persona, más que por mutaciones nuevas. **(Gygli et al., 2021)**

La alta frecuencia de mutaciones compensatorias en genes de la ARN polimerasa (rpoA, rpoB y rpoC), fueron más comunes en cepas provenientes de reclusos (82%) que en las de personas no encarceladas (67%). Los resultados también mostraron que las prisiones actúan como focos de diseminación hacia la comunidad, con hasta un 31% de los casos de MDR-TB del país vinculados directa o indirectamente al entorno carcelario, generando cadenas de transmisión que se extienden más allá de las cárceles. **(Gygli et al., 2021).**

El sistema penitenciario de Mato Grosso do Sul, Brasil es una de las regiones con mayor carga de tuberculosis en prisiones a nivel mundial, en esta zona se llevó a cabo un estudio en las 3 prisiones más grandes de este estado y se analizó las dinámicas de transmisión de *M. tuberculosis* mediante la integración de epidemiología genómica, datos detallados de movimientos y contactos entre reclusos; en este estudio se procesaron más de 500 muestras diagnosticadas entre 2013 y 2022, a las cuales se les realizó WGS y se logró identificar variaciones genéticas y clústeres de transmisión con umbrales de 5 y 12 SNP. **(Walter K. et al.,2022)**

Los resultados de este trabajo mostraron que compartir celda aumenta el riesgo de transmisión hasta 54% tras seis meses de exposición, además que los frecuentes traslados dentro y entre prisiones generan redes de contacto extensas que exponen a los individuos a múltiples cepas, además en este estudio se vio la presencia de 8 sub-linaje circulando simultáneamente en un solo año, pertenecientes al linaje 4. La circulación de múltiples cepas y condiciones como el hacinamiento extremo y la falta de ventilación favorece una la propagación. **(Walter K. et al.,2024).**

Un estudio en España analizó la presencia de tuberculosis multidrogorresistente en reclusos transferidos desde la prisión de El Callao, Perú, tras detectarse cinco casos en ese país, a estos casos se les emplearon herramientas genómicas como MIRU-VNTR, secuenciación completa, la cual se usó para emplear una ASO-PCR específico; gracias a esto análisis se logró caracterizaron dos cepas predominantes una persistente dentro

de la prisión peruana y en la población general de Lima, incluso con un caso en España, evidenciando transmisión activa. **(Abascal et al., 2020)**

La otra presentó una mayor diversidad genética, presentándose en Lima y en migrantes peruanos en Argentina e Italia, lo que confirma diseminación internacional, a esto se identificaron coinfecciones con cepas resistentes y susceptible, dando a conocer que las cárceles pueden actuar como focos de amplificación de la tuberculosis multidrogorresistente (MDR-TB), favoreciendo su propagación más allá de los muros penitenciarios, y que la movilidad humana contribuye a la expansión de estas cepas. **(Abascal et al., 2020)**

2.12. AVANCES MOLECULARES Y GENÓMICAS DE LA TUBERCULOSIS EN PANAMÁ

En Panamá, se han realizado múltiples investigaciones sobre tuberculosis, reflejando el interés en comprender la dinámica de transmisión de la enfermedad y el comportamiento de las cepas circulantes.

Uno de los enfoques prioritarios ha sido la identificación de las cepas circulantes, como ha sido la presencia de la cepa Beijing en la provincia de Colón, otro abordaje ha sido el alto grado de agrupamiento genético de cepas multidrogorresistente, especialmente en Ciudad de Panamá y Colón, donde se concentró la mayoría de los casos analizados. **(Rosas et al., 2013)**

Se identificaron al menos ocho (8) clústers distintos que sugieren una transmisión comunitaria reciente de cepas resistentes, favorecida por factores sociales y epidemiológicos como la pobreza, el hacinamiento y la coinfección con VIH. Además, se observó un predominio de la familia LAM9, frecuente en América Latina, lo que refuerza la importancia de la vigilancia molecular como herramienta complementaria a la epidemiología tradicional. **(Rosas et al., 2013) (Lanzas et al., 2013).**

Otros estudios han demostrado que la MDR-TB en Panamá se encuentra impulsada principalmente por la expansión clonal de cepas resistentes y no por resistencia adquirida caso por caso; La mayoría de los aislamientos se agruparon en cepas de la familia Latín

American-Mediterránea (LAM), destacando la cepa LAM9, asociada a una alta mortalidad y mayor frecuencia en hombres en edad laboral, lo que evidencia su transmisión activa en la comunidad, esta cepa se encuentra distribuida en varias regiones del país y guarda relación genética con la cepa KZN de Sudáfrica, responsable de brotes de tuberculosis extensivamente resistente, lo que sugiere un ancestro común, aunque con mutaciones de resistencia particulares. **(Lanzas et al., 2013)**

A su vez, se ha descrito una amplia diversidad genética de *M. tuberculosis* en la ciudad de Panamá, más del 70% de las muestras analizadas presentaron un patrón único, mientras que un 20% se agrupó en pequeños clústeres que sugieren cadenas de transmisión entre pacientes. Se identificaron al menos 16 familias distintas, entre ellas LAM, Haarlem y Beijing, lo que refleja la complejidad de la transmisión local y la influencia de procesos migratorios históricos y recientes en la diversidad de cepas presentes en el país, esta heterogeneidad genética plantea un reto para el control de la enfermedad y subraya la necesidad de mantener una vigilancia activa que permita detectar brotes y coinfecciones de manera temprana. **(Sambrano et al., 2014).**

Los estudios realizados en Panamá, evidencian que la transmisión de la tuberculosis es un fenómeno complejo, en el que confluyen factores biológicos, sociales y epidemiológicos. La identificación de clústeres activos, la expansión clonal de cepas MDR, la diversidad genética en áreas urbanas y la vulnerabilidad de poblaciones específicas resaltan la urgencia de fortalecer la vigilancia molecular y epidemiológica, así como de diseñar estrategias de control adaptadas a las realidades sociales y sanitarias del país.

Ahora bien, en la provincia de Colón, República de Panamá, algunos estudios han investigado la dinámica de transmisión de *M. tuberculosis* y la presencia de cepas de alto interés epidemiológico. En 2019, se desarrolló un modelo simplificado para la vigilancia de la tuberculosis en contextos con limitaciones en programas de epidemiología molecular, aplicando MIRU-VNTR y WGS a aislamientos de Colón y otras regiones del país.

El análisis genotípico agrupó el 50% de los aislamientos en seis clústeres (A-F), destacando los clústeres A (Beijing), B (Haarlem) y C (Mediterráneo-Latinoamericano); a partir del WGS se identificaron los SNP específicos y se diseñaron multiplex ASO-PCR para los clústeres (A, B y C), la cual permitieron diferenciar de manera precisa las cepas circulantes, evidenciando la utilidad de estas herramientas para optimizar la vigilancia molecular y detectar transmisión activa. **(Domínguez et al., 2019)**

Estudios posteriores centrados en la cepa Beijing A, enfocada en su transmisión, revelaron su presencia significativa en Colón. Un análisis retrospectivo entre enero y agosto de 2018 tipificó 42 aislamientos mediante MIRU-VNTR, identificando que el 40,5% correspondían a la cepa Beijing-A, la vigilancia prospectiva de septiembre de 2018 a marzo de 2020, utilizando PCR específica, confirmó su alta prevalencia (44,1%) de los casos.

El análisis de 25 aislamientos seleccionados para WGS mostró que la cepa presentaba una diversidad genética mayor a la esperada para un brote reciente, sugiriendo que ha circulado en la región durante un periodo prolongado (2000–2012), acumulando variaciones genéticas a través de múltiples eventos de transmisión superpuestos; La cepa filogenéticamente pertenece al sub-linaje moderno Beijing ubicada comúnmente en “África-Asiática” (L2.2.5), con parientes más cercanos localizados en Vietnam. A pesar de su amplia presencia, la mayoría de los aislamientos eran pan-susceptibles, lo que indica que la alta prevalencia no se debe a un brote explosivo reciente, sino a una circulación estable y prolongada. **(Acosta et al., 2020)**

Un estudio sistemático y prospectivo, publicado en abril de 2025, sobre la circulación de la cepa Beijing, previamente descrita y categorizada dentro del sub-linajes L2.2.M3, sugirió su transmisión endémica en la provincia de Colón, a partir del análisis de 274 aislamientos recolectados entre 2021 y 2023. Los resultados mostraron que el 31,7% de los aislamientos correspondían a linaje 2, mientras que el 68,3% pertenecían a otros linajes; el 96,9% de las cepas L2.2.M3 fueron susceptibles, y solo el 3,1% mostró resistencia a rifampicina y pirazinamida. **(Acosta et al., 2025)**

El análisis filogenético indicó que las cepa L2.2.M3 de Colón formaron un clúster único, reflejando transmisión endémica local con baja tasa evolutiva y estrecha relación genética con cepas de Perú, Colombia y Guatemala. Los hallazgos sugieren que la sub línea L2.2.M3 ha estado involucrada en aproximadamente un tercio de los casos de tuberculosis en Colón durante al menos ocho años, con transmisión persistente.

Algunas hipótesis apuntan a las posibles vías de introducción de la cepa Beijing en la provincia, podría averse dado mediante la construcción y expansión del Canal de Panamá entre 2008 y 2016, a través de migraciones internacionales desde Asia, o por la transmisión asociada al hacinamiento en la prisión local, que podría actuar como foco de diseminación hacia la comunidad. (**Acosta et al., 2025**)

En resumen, en la provincia de Colón se ha descrito la circulación del linaje 2 (sub-linaje L2.2.M3), con transmisión activa y endémica, lo que resalta la necesidad de mantener vigilancia molecular continua y estrategias de control adaptadas a las particularidades epidemiológicas y sociales de la región.

2.13. TUBERCULOSIS EN LA POBLACIÓN PRIVADAS DE LIBERTAD (PDL) A NIVEL GLOBAL.

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa y contagiosa que continúa siendo un desafío de salud pública a nivel global. La mayor parte de los estudios sobre tuberculosis se ha enfocado en la población general, dejando de lado a grupos vulnerables como las persona PDL y los centros penitenciarios, que representan entornos propensos a brotes particulares de tuberculosis con dinámicas que pueden diferir significativamente de las observadas en la comunidad general.

Los centros penitenciarios surgieron como espacios destinados a sancionar a individuos que transgreden el orden legal establecido por la sociedad. Esta función ha evolucionado con el tiempo, transformando también las condiciones de confinamiento, que implican en muchos casos un aislamiento social prolongado. Estas instalaciones, caracterizadas por el hacinamiento, limitaciones en la atención médica, y condiciones de vida precarias, se

han convertido en reservorios importantes para enfermedades infecciosas como la tuberculosis y el VIH (*Sequera et al., 2020*).

Los PDL están expuestas a múltiples factores de riesgo para la tuberculosis como la sobrepoblación carcelaria, la desnutrición, el consumo de sustancias, la coinfección con VIH y la deficiente atención médica; Estas condiciones facilitan no solo la propagación de la enfermedad, sino también el desarrollo de formas resistentes a los medicamentos, representando una amenaza significativa para la salud pública (*Baussano et al., 2010*).

La dinámica de transmisión entre la población carcelaria y la comunidad general hace que la tuberculosis en las cárceles sea un problema de salud pública de gran relevancia, requiriendo intervenciones coordinadas para su control y prevención (*V. G. Sequera et al., 2020*).

Los datos de la OMS sobre tuberculosis en PDL evidencian que esta población presenta un riesgo significativamente mayor que la comunidad general. En 2019 se estimaron 125,105 casos de TB en prisiones a nivel mundial, lo que representó alrededor del 1% de la incidencia global y una tasa de 1,148 por cada 100 000 años-persona, aproximadamente diez veces superior a la de la población general. La incidencia mostró variaciones regionales, con cifras de 793 en el Mediterráneo Oriental y hasta 2,242 en África. Además, entre 2000 y 2019, la población penitenciaria se redujo un 27% en Europa, mientras que en Oceanía se incrementó un 82%, lo cual también influye en la carga reportada de TB (*WHO Global Tuberculosis Report, 2023*).

En el caso específico de Europa, el número de reclusos diagnosticados con tuberculosis descendió de 15,492 casos en 2014 a 6,068 en 2022; sin embargo, la enfermedad continúa concentrándose en Europa oriental y Asia central, donde los reclusos representaron hasta el 7% de los nuevos casos notificados, frente al 1,5% registrado en Europa central y occidental. En la Región de las Américas, la reducción fue menor, con un descenso de 20,888 casos en 2018 a 19,957 en 2022, lo que evidencia la persistencia de la TB en los sistemas penitenciarios del continente (*WHO Global Tuberculosis Report, 2023*).

Aunque en la región de las Américas se observa una cierta disminución de los casos, en algunos países, como Panamá, aún pueden registrarse aumentos debido a una combinación de factores como el hacinamiento carcelario, las limitaciones en la atención médica y en el seguimiento de los tratamientos, así como la presencia de condiciones de vulnerabilidad (VIH, desnutrición, consumo de drogas y tabaquismo). **(WHO, 2023)**.

A ello se suman posibles deficiencias en el compromiso político y en la colaboración multisectorial o interministerial, lo que refuerza la necesidad de redoblar esfuerzos para mejorar las condiciones penitenciarias y garantizar servicios de salud de calidad, evitando así un incremento de casos no solo en el entorno carcelario, sino también en la población general

En cuanto al tratamiento, en 2021 la tasa de éxito terapéutico entre reclusos en Europa fue del 62%, una de las principales causas de esta diferencia fue que aproximadamente el 23% de los casos no pudieron ser evaluados, debido al traslado de reclusos entre centros penitenciarios o la comunidad, lo que dificulta la continuidad de la atención y su seguimiento. En los países de Europa Oriental y Asia Central las tasas de éxito fueron bajas, reflejando importantes desigualdades en el acceso y la calidad de los servicios de salud en las prisiones **(WHO Global Tuberculosis Report, 2023)**.

Se estima que las tasas de incidencia de tuberculosis son sistemáticamente mucho más altas en las prisiones que en la población general, con cifras que oscilan entre 4,1 casos por cada 100,000 personas en Norteamérica y 26,9 en Sudamérica, y un promedio mundial de 10,1 **(Cords et al., 2021)** Este elevado riesgo se debe a múltiples factores presentes en el entorno carcelario, como el hacinamiento, las malas condiciones de higiene, el confinamiento prolongado, la escasa ventilación en las celdas, la limitada exposición a la luz solar y los altos índices de coinfección por VIH. En conjunto, estos factores hacen que el riesgo de desarrollar tuberculosis en prisión sea de 28 a 32 veces mayor que en la población general. **(Souza et al., 2025)**

La región de las Américas comprende 46 países y territorios de la cual Brasil y Perú se encuentran entre los países con mayor carga de tuberculosis según la OMS; la cual 12 países de América Latina (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, El Salvador,

México, Panamá, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela), juntos representan el 80% de los casos de tuberculosis en la región. En los últimos años, América Latina ha experimentado diversas crisis económicas, sociales y políticas que han contribuido a incrementar la vulnerabilidad de su población ante la tuberculosis (*OMS_2020*).

País	Población total de Reclusos	Fecha (Año)	Población nacional estimada (Millón de habitantes)	Tasa de población carcelaria
Argentina	117,81	2022	46.32	254
Bolivia	25,291	2023	12.09	209
Brasil	839,672	2022	215.3	390
Chile	54,462	2024	18.97	287
Colombia	101,622	2023	51.41	198
Costa Rica	17,829	2022	5.2	343
Ecuador	30,804	2023	18.43	167
México	232,684	2024	133.66	174
Paraguay	17,006	2023	7.31	233
Perú	94,502	2023	34.06	277
El Salvador	71,000	2022	6.54	1086
U.S.A.	1,767,200	2021	332.7	531
Uruguay	14,965	2023	3.53	424
Venezuela	67,200	2022	33.84	199

Tabla 5. Población y tasa de privados de libertad en países de América; posible población en riesgo en contraer TB”; *Fuente:(WPB, 2024)*

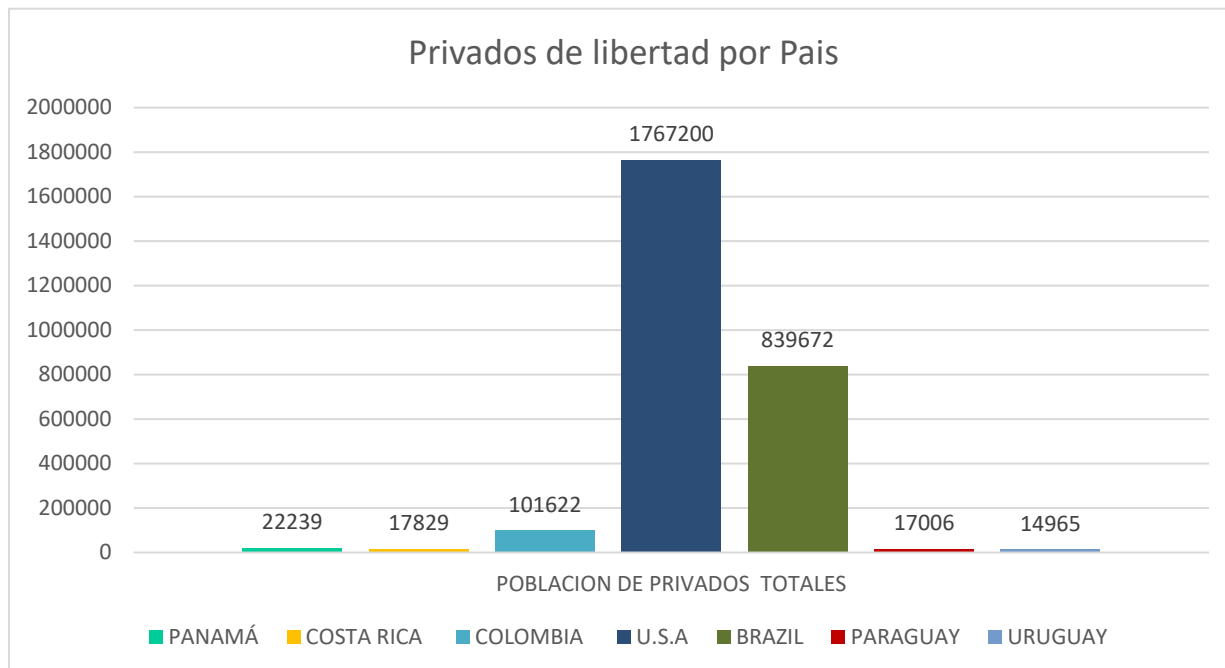


Figura 14. “Datos de privados de libertad por países en relación a Panamá; *Fuente (WPB, 2024)*”

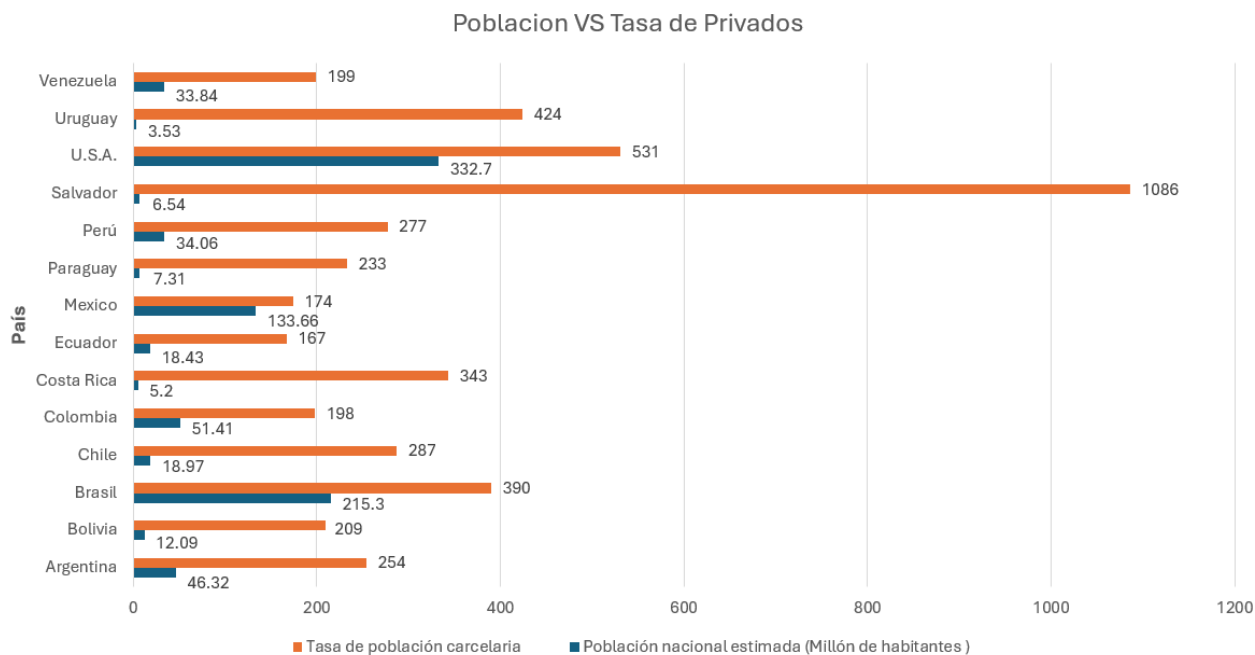


Figura 15. Datos por país de tasa de PDL vs Población estimada por millón de habitantes por país; **Fuente:** *(WPB, 2024)*.

El crecimiento de la población carcelaria ha sido significativo, con un aumento del 24% a nivel mundial, alcanzando los 3,8 millones de personas en el continente americano. En Centroamérica y el Caribe, este incremento ha sido de aproximadamente 206% desde el año 2000 *(OPS, 2024) (CIDH, 2024)*.

Un estudio respecto a la tuberculosis en la región de América Central y Suramérica menciona que la incidencia de la tuberculosis respecto a la población PDL es mayor que la incidencia de la tuberculosis en la población libre *(Walter et al., 2021) (Brites & Gagneux, 2015)*.

Según el último informe de la World Prison Brief hasta mayo de 2024, a nivel mundial se encuentran 10.99 millones de personas encarceladas *(Walter et al., 2021)*.

Esta población vulnerable corre un alto riesgo de desarrollar TB; según un estudio de estimación poblacional de encarcelados; la tasa de incidencia más alta (26,9) se observa en América del Sur, donde las notificaciones de tuberculosis en prisiones e instituciones penitenciarias han aumentado un 250% desde el año 2000 *(Charalambous et al., 2023)*.

Esta transmisión podría explicarse por la alta proporción de personas privadas de libertad que no reciben un adecuado seguimiento tras su liberación y que, en consecuencia, pueden continuar propagando la enfermedad. Asimismo, existe el riesgo de transmisión de los reclusos hacia el personal que labora en el sistema penitenciario, además, se ha planteado que las prisiones funcionan como entornos que favorecen la aparición y propagación de mutaciones compensatorias, las cuales podrían amplificarse y extenderse hacia la población general no encarcelada *(Gygli et al., 2021)*.

La alta incidencia de tuberculosis en las cárceles no solo afecta a los reclusos, sino que también representa un grave peligro para la salud pública en general, el riesgo de contraer la enfermedad se mantiene elevado incluso después de que los individuos son liberados, lo que significa que pueden seguir propagándola fuera de prisión

(Charalambous et al., 2023). En este sentido, es necesaria la intervención oportuna para que las personas cumplan los tratamientos y puedan curarse.

En Brasil, el panorama de uno de los países con mayor índice de PDL **(Mabud et al., 2019)** revela que el riesgo de contraer tuberculosis aumenta drásticamente en prisión, llegando a ser mayor que en la población. Esta situación se agrava cuando los exreclusos son liberados, ya que su riesgo de desarrollar la enfermedad es 5,5 veces mayor que el de la población general y se mantiene elevado durante 7 años **(Mabud et al., 2019)**.

Desde 2020, la población PDL ha aumentado su población junto a los casos de tuberculosis en la región de centro y Sudamérica, por lo cual el 11% de todos los casos de tuberculosis notificados de dichas zonas son de PDL **(Leonardo Martínez, 2023)**.

Algunos estudios han demostrado que la tuberculosis que circula en las prisiones podría extenderse a las comunidades, amplificando la transmisión **(Walter et al., 2022)**.

Algunos datos indican que, aproximadamente, entre el 30% y el 40% de las personas que desarrollan tuberculosis permanecen sin diagnosticar durante largos períodos de tiempo o nunca son diagnosticadas de las estimaciones de casos registrados a nivel mundial **(Leonardo Martínez; Julio Croda, 2023)**.

A nivel mundial, las prisiones son lugares con una alta incidencia de tuberculosis la incidencia de tuberculosis en las poblaciones encarceladas es más de diez veces mayor que en la población general **(Cords et al., 2021) (Walter et al., 2022)**.

Cada región tiene ciertas características epidemiológicas debido al tipo de tuberculosis que afecta a la población, ya que un estudio realizado en Uruguay determinó que una gran parte de los casos de tuberculosis que afectan a los PDL en este país señala que circula una cepa específica que afecta y se encuentra presente solamente en esta población de riesgo **(Hurtado et al., 2024)**.

Los resultados de dicho estudio indicaron que, dentro de la población PDL, el 39% de las cepas fueron identificadas como LAM (linaje 4.3), el 34% como X (linaje 4.1.1) que

fue un sub-linajes desconocido, el 25% como Haarlem (linaje 4.1.2.1) y el 2% como S (linaje 4.4.1.1) (*Hurtado et al., 2024*).

En un estudio retrospectivo realizado en Uruguay en 5 centros penitenciarios, la incidencia de tuberculosis y reinfección de encarcelados y excarcelados determinó que el riesgo de contraer tuberculosis se incrementa drásticamente tras el ingreso en prisión, alcanzando niveles 100 veces superiores al de la comunidad. A su vez, cuando son liberados, el riesgo de desarrollar tuberculosis es mucho mayor que en la población general, más de 30 veces en los primeros dos años. Aunque este riesgo disminuye gradualmente, sigue siendo 10 veces mayor que el riesgo de tuberculosis en la población general durante 8 años de seguimiento (*G. Sequera et al., 2024*).

2.14. TUBERCULOSIS EN LA POBLACIÓN PRIVADAS DE LIBERTAD EN PANAMÁ

Al igual que en otras regiones del mundo, la tuberculosis continúa representando un problema de salud pública, el conocimiento disponible acerca de las características genéticas de *Mycobacterium tuberculosis* en la población privada de libertad en Panamá es aún limitado.

Si bien se han desarrollado investigaciones en diferentes contextos comunitarios, estas no se han enfocado de manera específica en el entorno penitenciario. En este sentido, el presente trabajo busca contribuir al conocimiento de la tuberculosis en dicho contexto, proporcionando información relevante para la salud pública y la atención de esta población vulnerable.

Por otra parte, en 2014 se publicó el reporte de un interno de 55 años que, tras ser referido desde una clínica penitenciaria al Hospital Santo Tomás, fue diagnosticado con tuberculosis pleural y meningitis tuberculosa (*Musharaf T., 2014; Tarajia et al., 2014*). El paciente presentaba dificultad respiratoria, dolor torácico, fiebre, cefalea y pérdida de peso, además de un antecedente de contacto con otro recluso con tos crónica.

Los estudios radiológicos evidenciaron un derrame pleural, confirmados por tomografía, y el análisis del líquido pleural confirmó el diagnóstico de tuberculosis pleural; posteriormente, el paciente desarrolló síntomas neurológicos que llevaron a la

confirmación de meningitis tuberculosa mediante punción lumbar, identificándose *M. tuberculosis* sensible a rifampicina. Este caso ilustró no solo las dificultades diagnósticas de las formas extrapulmonares, debido a su carácter paucibacilar, sino también la importancia de aplicar múltiples pruebas complementarias para un diagnóstico certero. **(Musharaf T., 2014).**

La coexistencia de tuberculosis pleural y meningitis tuberculosa puede tener un pronóstico desfavorable si no se detecta oportunamente, lo que resalta la necesidad de un abordaje clínico integral. Además, este caso muestra cómo factores estructurales como el hacinamiento, la deficiente ventilación y las condiciones de vida precarias incrementan la vulnerabilidad de la población privada de libertad a desarrollar y transmitir la enfermedad. **(Musharaf T., 2014).**

Hasta la fecha, este sigue siendo el único caso publicado de tuberculosis en personas privadas de libertad en Panamá. Este reporte evidencia las dificultades diagnósticas presentes en el sistema penitenciario y resalta la falta de información e investigación sobre vigilancia de cepas de caso de *M. tuberculosis*, en un entorno considerado de alto riesgo para la transmisión de esta enfermedad.

En Panamá, existen 19 centros penitenciarios para adultos y 10 centros de custodia y cumplimiento de adolescentes. Según el último informe del Ministerio de Gobierno, entidad gubernamental encargada de la Dirección General del Sistema Penitenciario **(Asamblea Legislativa de Panamá, 2003)**, hasta diciembre de 2024 se encuentran 24,305 reclusos a nivel nacional, población que podría desarrollar la enfermedad y propagarla a la comunidad.

De acuerdo con el Programa Nacional para el Control de la Tuberculosis de Panamá sobre TB nacional, para lo que fue el 21 de marzo de 2024 se reportaba una tasa de 8.9 casos por 100,000 habitantes en el país. Al cierre del 2024, se registraron 2,210 casos de tuberculosis pulmonar, con una tasa de 49.0 por 100,000 habitantes. Los informes más recientes de denominación #34 del 23 de agosto del 2025, señalan que se han notificado 1,361 casos de tuberculosis pulmonar a nivel nacional, con una tasa de 29.8, y 98 casos de tuberculosis extrapulmonar.

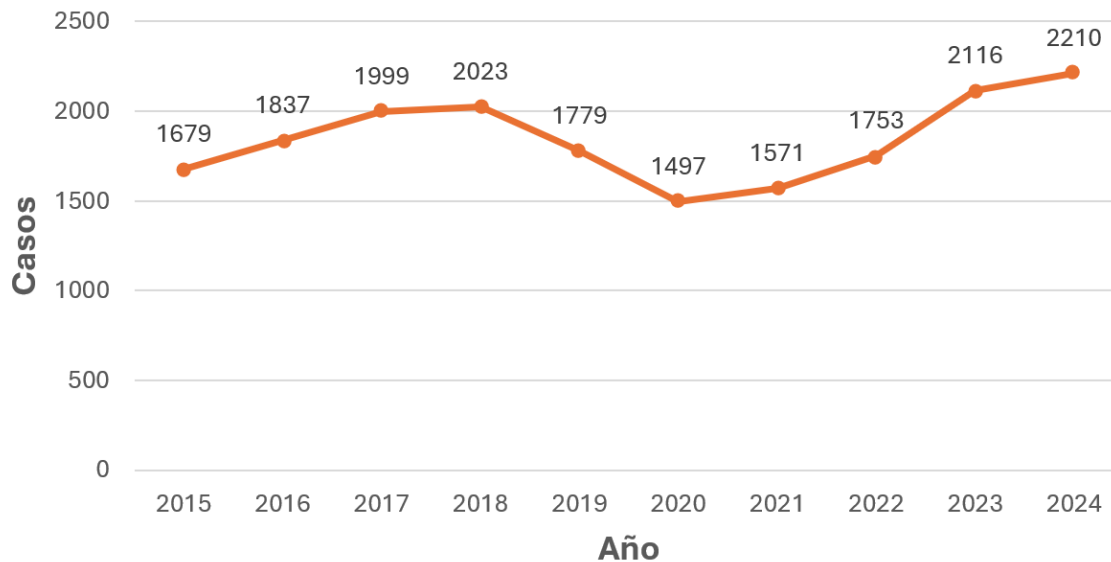


Figura 16. Casos de tuberculosis a nivel nacional durante el periodo 2015-2024. **Fuente:** (MINSA 2024).

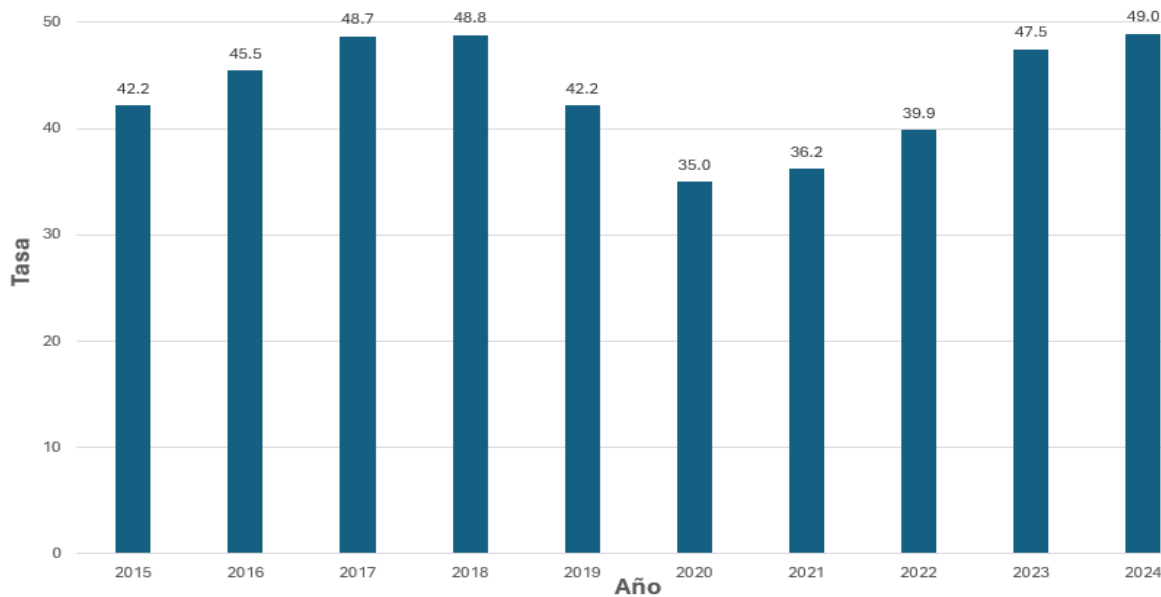


Figura 17. Tasa de tuberculosis a nivel nacional durante el periodo 2015-2024. **Fuente:** (MINSA, 2024)

La provincia de Colón, zona que será nuestra área de estudio, se ha registrado en el 2023, ciento veinticinco casos lo que represento el 5.9% de caos registrados a nivel nacional y en el cierre de año 2024 se registraron 135 representando un 6.1% de casos nacionales.

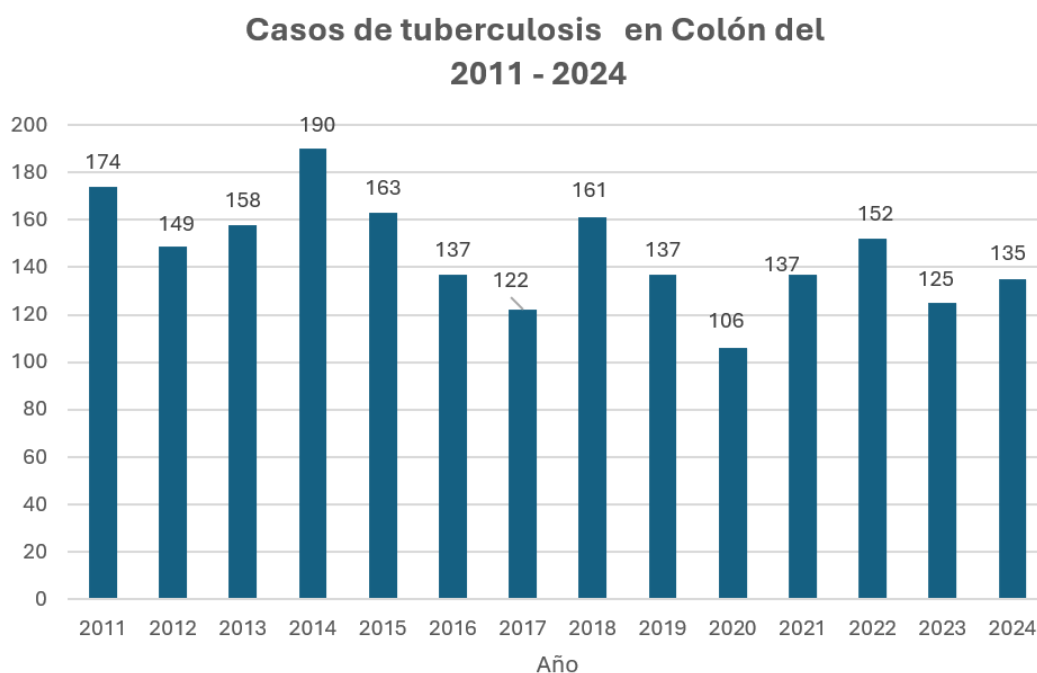


Figura 18. Casos de tuberculosis en la provincia de Colón del 2011 - 2024; **Fuente:** (MINSA, 2024).

De los casos reportados de tuberculosis por el sistema de salud panameño (MINSA), para el año 2016 se registraron 1,837 casos, de los cuales el 5% correspondía a personas privadas de libertad. En el año 2023 se notificaron 164 casos de tuberculosis en esta población a nivel nacional, lo que representó el 7.8% de los casos registrados en el país. Para el año 2024, la cifra aumentó a 213 casos en la misma población, equivalente al 9.6% del total nacional, evidenciando que las cifras de casos a nivel nacional han aumentado.

De acuerdo con los datos recopilados, se observa un incremento progresivo desde el año 2021 en las cárceles, cuando se reportaron 77 casos, seguido de 128 casos en 2022, hasta alcanzar la cifra más alta en 2024. Hasta la fecha, este último año representa el período con el mayor número de casos de tuberculosis en la población privada de libertad registrados en los últimos nueve años.

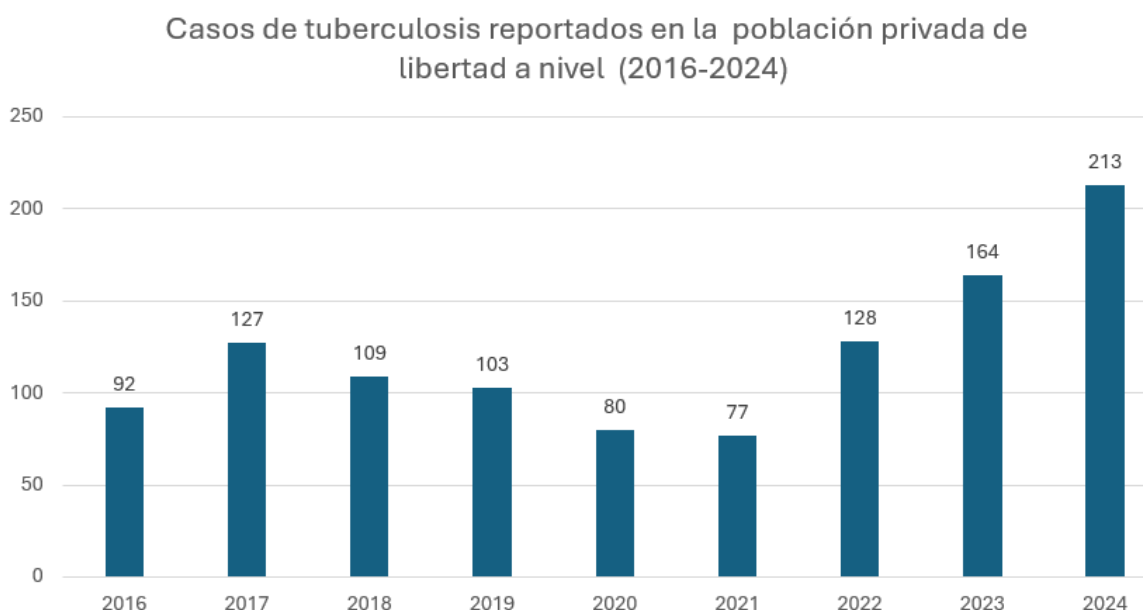


Figura 19. Casos registrados de tuberculosis en la población privada de libertad a nivel nacional. **Fuente: (MINSA, 2024).**

Los datos del 2016 al 2020 sobre la tasa de prevalencia de tuberculosis en la población privada de libertad en los centros penales, según región de salud, evidencian que la región de Panamá Este presenta la mayor prevalencia. Dentro de esta región, el Complejo Penitenciario La Joya concentra el mayor número de casos registrados hasta el 2020, lo que se relaciona directamente con la gran cantidad de personas privadas de libertad que alberga. **(MINSA.2022)**

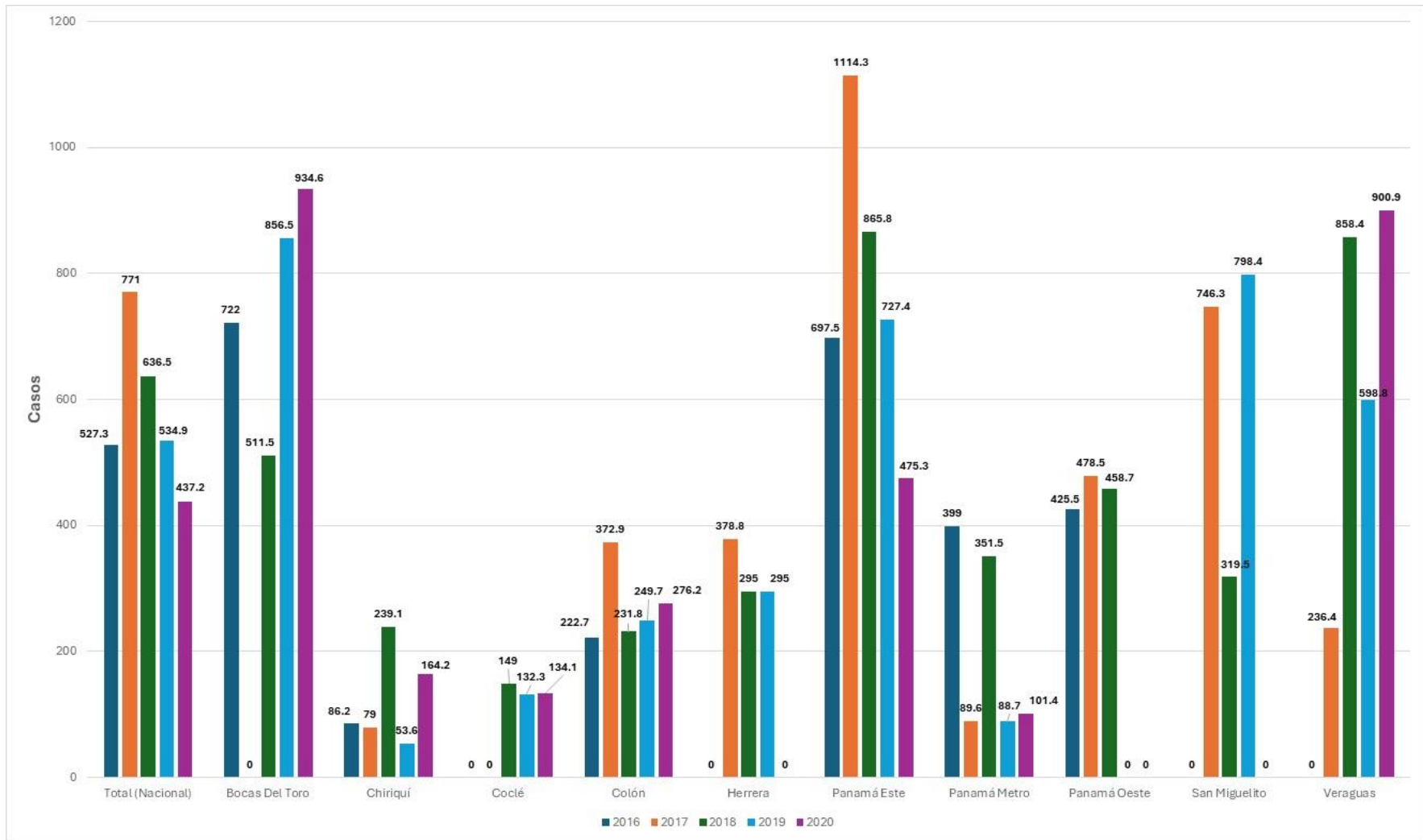


Figura 20. Tasas de prevalencia de tuberculosis en la población privada de libertad en los centros penales según región de salud del 2016 -2020. *Fuente: (MINSA,2022)*

CAPÍTULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo investigativo se apoya en el desarrollo de protocolo de investigación debidamente aprobados por el Comité de Bioética en Investigación. En este sentido este estudio forma parte de los protocolos de investigación previamente aprobados por la Universidad de Santander de Panamá con código CBIUSantander-M041-2022, CBI-USantander-M-081-2022 del 2022 y CBI-USantander-M- 108-2025, 2025.

3.2. LÍNEA DE INVESTIGACIÓN A LA QUE PERTENECE EL ESTUDIO

Esta investigación puede ser enmarcada dentro del campo de la epidemiología molecular de enfermedades infecciosas de interés en salud pública, ya que contempla la genotipificación de cepas bacterianas de *Mycobacterium tuberculosis* detectadas en el período comprendido entre 2021 y 2024.

3.3. VARIABLES

3.2.1. Variables dependientes

- Aislado de *Mycobacterium tuberculosis* que circulan en la cárcel.

3.2.2. Variables independientes

- Año de aislamiento: Fechas en que se obtuvo las muestras durante los periodos 2021, 2022, 2023, 2024.
- Origen de las cepas: Diagnóstico de tuberculosis en privados de libertad.
- La resistencia a fármacos: Presencia o ausencia de bacterias resistentes.
- Perfil de transmisión: Si pertenece o no a un grupo de cepas genéticamente relacionadas (linajes o genotipos).

3.4. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Durante el periodo 2021 al 2024, las muestras fueron recogidas durante el diagnóstico rutinario en los centros de atención del complejo penitenciario. El aislamiento de las bacterias fue realizado durante el diagnóstico clínico de los casos de TB realizada por el sistema de salud MINSA.

El proceso de recolección consistió en que los PDL sospechosos de tuberculosis realizar una expectoración (esputo), la cual fue recolectada y almacenada en un vaso recolector de muestra, para realizarle pruebas como baciloscopia, PCR molecular y cultivos líquidos en un sistema semiautomatizado, una vez recolectadas, fueron enviadas al laboratorio regional del MINSA en la provincia de Colón donde se realiza la confirmación diagnóstica de TB. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio clínico regional por el personal del MINSA, en conjunto con el profesional capacitado del INDICASAT-AIP, pertenecientes al Centro de Biología Celular y Molecular de Enfermedades (CBCMe).

3.5. AISLAMIENTO DE BACTERIAS Y RECOLECCIÓN DE DATOS.

Las muestras con sospecha clínica fueron analizadas empleando prueba de baciloscopia, diagnóstico molecular por PCR mediante el equipo GeneXpert, cultivo en medio líquido MGIT, los cultivos de MGIT positivos fueron sub cultivadas en medio Löwenstein-Jensen (LJ) para el aislamiento de las colonias de las bacterias. Tras su crecimiento y aislamiento, las colonias de las bacterias fueron cosechadas y colocadas en tubos tapa rosca (1.5 ml) junto a buffer de lisis, inactivadas o atenuadas a una temperatura de 95°C durante 20 minutos. Posteriormente, estas fueron transportadas al Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología de Panamá (INDICASAT AIP), donde se realizaron las extracciones de ADN de las bacterias mediante el método por solventes orgánicos y CTAB.

Retrospectivamente, desde el año 2021 a 2024, se obtuvieron un total de 24 aislados de *M. tuberculosis* y fueron aisladas de los casos de TB del entorno penitenciario de la provincia de Colón, como parte de programa de control de la tuberculosis del Ministerio de Salud (MINSA).

3.6. EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO.

La obtención del ADN se llevó a cabo utilizando solventes orgánicos y el detergente iónico bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), conforme al protocolo descrito por van Soolingen (Van Soolingen et al., 1991).

3.6.1. Materiales para extracción de DNA

Materiales	Volumen por muestra
Tampón TE (1X); (Tris 10mM, EDTA 1mM, pH:80)	500 μ l
Lisozima (solución 10 mg/ml).	50 μ l
SDS 10%	70 μ l
Proteínasa K (20 mg/ml).	3 μ l
NaCl 5M.	100 μ l
CTAB/NaCl.	80 μ l
Fenol- Cloroformo – Isomilico Alcohol (24:25:1)	800 μ l
Etanol 70% frío.	1 ml
Isopropanol grado molecular.	500 μ l
Agua grado molecular.	100 μ l

Tabla 6. Reactivos y volúmenes para usar por muestras.

3.6.2. Proceso de extracción de ADN

- 1) Calentar a 95° C por 7 minutos y centrifugar 2 min. a 12,200 g. Retirar el sobrenadante por aspiración y añadir 500 µl de TE 1x y resuspender los pellets con cuidado para no producir aerosoles.
- 2) Tras este paso se puede proseguir en campana de Área 2 (área de extracción).
- 3) Añadir 50 µl de solución de Lisozima a cada tubo. Hacer Vortex para que los pellets queden completamente resuspendidos.
- 4) Incubar 1 h. a 37 °C en termobloque de Área 2.
- 5) Añadir 70 µl de SDS 10 %. Agitar en Vortex. Añadir 3 µl de Proteinasa K. Realizar Vortex brevemente.
- 6) Incubar en termobloque por 10 min. a 65 °.
- 7) Añadir 100 µl de NaCl 5M y mezclar bien invirtiendo los tubos.
- 8) Añadir 80 µl de CTAB/NaCl, precalentado a 65 °C (se calientan alícuotas en el termobloque). Hacer Vortex hasta obtener una solución lechosa e incubar por 10 min. a 65 °C.
- 9) Luego se añaden 800 µl de fenol: cloroformo: isoamílico (24:25:1). Realizar Vortex por 10 seg. cada tubo.
- 10) Marcar los tubos con una señal hacia fuera para poder luego recuperar el pellet y centrifugar por 5 min. a 14,000 rpm a 25 °C.
- 11) Transferir cuidadosamente el sobrenadante (sin tocar la capa intermedia) a un nuevo tubo. Si se mueve el tubo o si el sobrenadante es turbio, hacer una nueva extracción desde el cloroformo/isoamílico. Rotular bien los tubos y evitar que sean borradas durante el proceso.
- 12) Añadir 500 µl de la solución de isopropanol. Realizar Vortex a los tubos e incubar a -70 °C durante 2 h o a -20 °C toda la noche.

- 13) Retirar los tubos del congelador e inmediatamente centrifugar 15 min a 13,000g.
- 14) Retirar cuidadosamente el sobrenadante. Invertir los tubos sobre papel de filtro hasta que se sequen y lavar con 1 ml de etanol 70 % frío. Centrifugar por 5 min. a 14,000 rpm.
- 15) Decantar el sobrenadante y secar los tubos, invirtiéndolos sobre papel de filtro, hasta que estén secos.
- 16) Resuspender el pellet de ADN en 100 µl de agua grado molecular e incubar 1 h a 37 °C en termobloque, las muestras pueden ser almacenadas a -80°C /-20°C hasta posteriores análisis.
- 17) La cuantificación de los DNAs fue realizada, empleando el equipo NanoDrop, mediante las mediciones de 260nm, 260/280 nm y cuantifican el DNA a un mínimo de 4ng/ul y 1500 ng /ul.

3.7. IDENTIFICACIÓN DE CEPAS POR ASO-PCR

Se emplearon protocolos previamente establecidos para la identificación de cepas de *M. tuberculosis* (**Domínguez et al., 2019**). Cada prueba se realizó a partir de ADN purificado de cultivos aislados, utilizando pares de cebadores en orientación forward (FW) y reverse (RV).

Para la detección de los clústeres de interés se usaron cebadores específicos que permitieron identificar de manera precisa las cepas objetivo, mientras que los cebadores alternativos empleados, se orientaron a alelos no característicos, confirmando únicamente la pertenencia a la especie *M. tuberculosis*.

3.7.1. Primers de ASO-PCR

Clúster	SNP por clúster	Posición	SNP	Gen	Secuencia del cebador (5' a 3')	Concentración inicial (µl)	Concentración final (µM)	Volumen por pool (µl)	Cepa objetivo	Tamaño del fragmento de PCR (pb)
Cepa A, L2/Beijing	SNP1	204386	G>A	Rv0173	Fw-Rv0173: GCTACCGAAAAAT GCCACCG	100	0.2	2	No cepa A	400
					Rv-Rv0173: GAGCACCCGATTG AGGACT	100	0.2	2		
	SNP2	518748	G>A	Rv0430	Fw-Rv0430: CGATATGGACAGC GCCATGA	100	0.6	6	Cepa A	308
					Rv-Rv0430: TCACCTCGAAGCC AAGGC	100	0.6	6		
	SNP3	3479530	G>A	Rv3111	Fw-Rv3111: TGGAAATGGAAGC GTTGACC	100	0.5	5	No cepa A	228
					Rv-Rv3111: ACGAACGGCACCG AAGTAA	100	0.5	5		
Cepa B, L4/Haarlem	SNP1	261991	G>A	Rv0218	Fw-Rv0218: CACCTGGAGCGGC GTA	100	0.2	2	Cepa B	297
					Rv-Rv0218: GCGTTGCAATGTC GAACATT	100	0.2	2		
	SNP2	825060	C>T	Rv0732	Fw-Rv0732: TGCCCTACATCAC CGCC	100	0.2	2	No cepa B	209
					Rv-Rv0732: GATGTCCAGCGAG CAACC	100	0.2	2		
	SNP3	2425513	G>T	RV2163c	Fw-RV2163: CATCGAGCACGGG TTGAG	100	0.2	2	No cepa B	406
					Rv-RV2163: GGCCTTGATAATG CGTGGG	100	0.2	2		
	SNP4	568395	G>T	Rv0479c	Fw-Rv0479: GCATCCTTCGGTG TGCC	100	0.2	2	Cepa B	127
					Rv-Rv0479: GGATCGTGAGCTT TATCTGCATT	100	0.2	2		
Cepa C, L4/LAM	SNP1	516278	G>T	Rv0427c	Fw-Rv0427: CGCACGTTTCCGA ACCC	100	0.2	2	No cepa C	207

					Rv-Rv0427: CGATCTGGGCGTC CATCA	100	0.2	2		
SNP2	781859	T>C	Rv0 682	Fw-Rv0682: ACAACCTGCAGGA GCACTC	100	0.6	6	No cepa C	103	
				Rv-Rv0682: CCCTGCGTATCCA GCGAA	100	0.6	6			
SNP3	1802486	G>T	Rv1 601	Fw-Rv1601: ACGCCAGCTTCGA CCTC	100	0.2	2	Cepa C	307	
				Rv-Rv1601: AACGATTCGAACA CGTGCA	100	0.2	2			
SNP4	4403893	T>C	Rv3 915	Fw-Rv3915: AAGGACGGATGGC AGCC	100	0.6	6	Cepa C	413	
				Rv-Rv3915: GAGAATGCCTTCG GCGATG	100	0.6	6			

Tabla 7. Características específicas de los SNP y cebadores con sus concentraciones a emplear en la identificación por técnica de ASO-PCR (A; B; C). Verde (primer /cebadores de tipo específico para identificar cepas), Rojo (primer /cebadores alternativos, identifican la presencia de casos de M. tuberculosis, pero no una cepa en específica de interés, que corresponden a otros linajes). **Fuente: (Domínguez et al., 2019)**

Representación in silico de ASO-PCR.

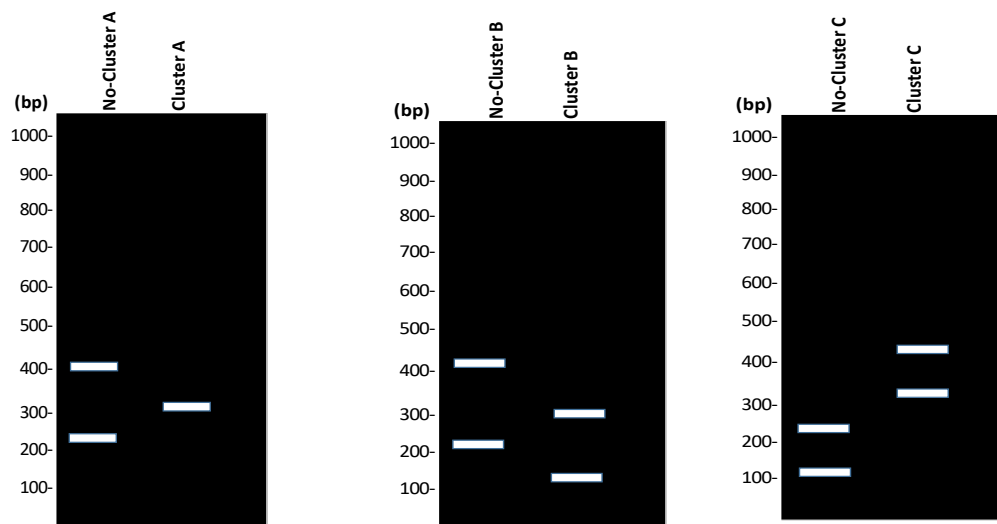


Figura 21. Representación in silico de los cebadores empleados en la técnica ASO-PCR (A, B y C). Los resultados identificados como “clúster” corresponden a cepas positivas para cada grupo, mientras que “no clúster, indican que no corresponden a las cepas de nuestro interés (Clúster=Cepa; No-Clúster = No Cepa). Los productos de amplificación presentan longitudes específicas: Cepa A (308pb; no clúster 228pb y 400 pb), Cepa B (127pb y 297 pb; no clúster: 209pb y 406 pb) y cepa C (307pb y 413 pb; no clúster: 103pb y 297 pb).

3.7.2. Reactivos

Los reactivos moleculares para las ASO-PCR, se usaron los productos en la siguiente tabla (8), se indican las cantidades y variaciones de las concentraciones para cada una de las PCR.

- **Master Mix de PCR:** es una solución que contiene las principales componentes para realizar la PCR, Por ejemplo, Master mix Promega 2X (Cat. M750C) que contiene Taq ADN polimerasa, dNTP, $MgCl_2$ y tampones de reacción en concentraciones óptimas para la amplificación eficiente por PCR de moldes de ADN.
- **Pool primers:** mezcla de varios cebadores (primers) combinados en una única reacción.

- ADN extraído.
- Agua ultrapura libre de nucleasas.

Concentración de reactivos para la PCR.

Reactivo	Volumen
Máster Mix de PCR	12.5 μ l
Pool primers	2.5 μ l
ADN	2.5 μ l
Agua ultrapura libre de nucleasas.	7.5 μ l
TOTAL	25 μl

Tabla 8. Mezcla de elementos para la PCR.

Condiciones de la PCR

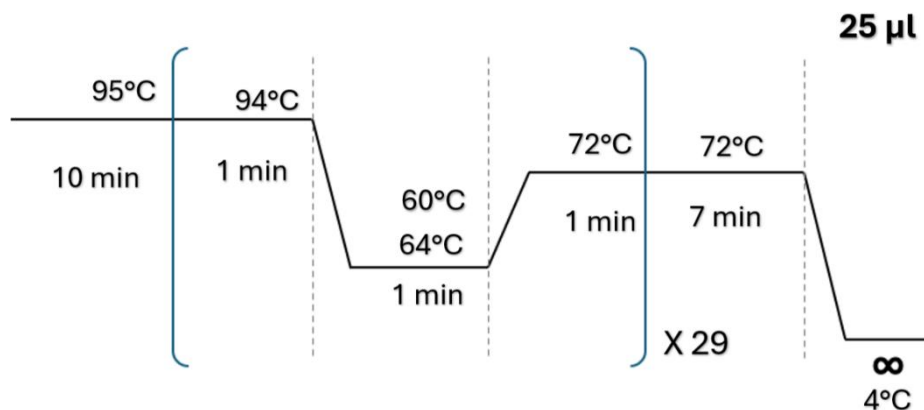


Figura 22. Condiciones a usar para la PCR en el termociclador; Su única variación es que para el ensayo de ASO-PCR tipo A en la sección de hibridación ese realiza a 64°C, mientras que la ASO-PCR tipo B y C, se realiza a 60°C.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. COLECCIÓN DE CEPAS

En este estudio se obtuvo acceso a una colección de cepas de *M. tuberculosis* aisladas en Privados de libertad de la provincia de Colón, en lo que fue el periodo 2021 al 2024, con un total de 24 cepas origen pulmonar de tipo esputo.



Figura 23. Distribución de casos tuberculosis en un entorno penitenciario de la provincia de Colón. 2021 al 2024.

4.2. DISTRIBUCIÓN POR SEXO

Del periodo de estudio 2021 al 2024, el 100% de los casos de tuberculosis en la cárcel corresponde fueron exclusivamente de privados de sexo masculino.

4.3. DISTRIBUCIÓN ETARIA

La distribución de los casos según la edad de los PDL de los cuales provienen las cepas más representativas mostró que la mayoría de los casos 70.8%¹ o diecisiete cepas, se encontraban en un rango de edad entre 21 a 30 años, siendo el segundo grupo aquella en un rango de edad entre 31 a 40 el cual representa un 16.7% con cuatro cepas.

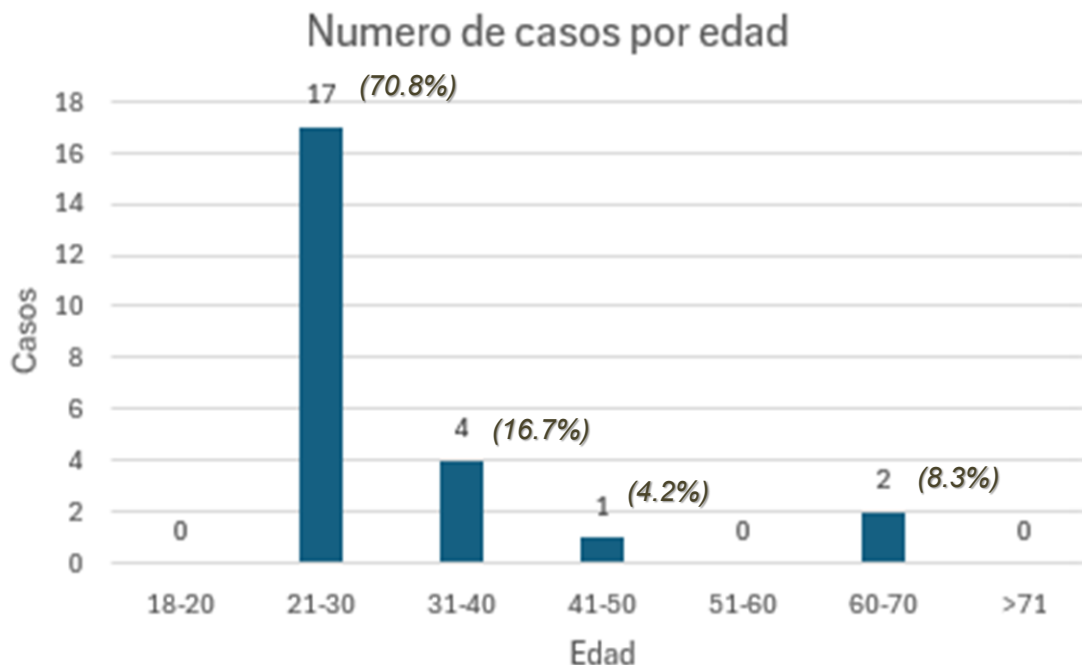


Figura 24. Distribución de casos de tuberculosis por edad, de privados de libertad del Centro Penitenciario Nueva Esperanza, Colón del 2021 al 2024.

4.4. COINFECCIÓN TB-VIH

Dentro de los casos estudiados un 8.33% o dos de los casos era VIH positivo junto a la infección con *Mycobacterium tuberculosis*, el resto de los casos, 91.57% o veintidós, no padecían de VIH.

4.5. ESTADO CLÍNICO DE CASOS.

Respecto a los estados clínicos de los casos reportados durante el periodo 2021 al 2014, se puede ver que el 70.83% o diecisiete de los casos fueron curado exitosamente, el 8.33% o dos casos fueron trasferido a otro centro penitenciario, otro 8.33% de los casos fallecieron dos pertenecientes al año 2024 y uno del 2021.

Además, se reportó una pérdida de seguimiento del 8.33% o dos casos; el Ministerio de Salud quien lleva registros agrupa estos casos de tuberculosis como pacientes que *rompieron* el esquema de tratamiento de medicación y no lo continuaron o no recibieron un tratamiento desde el inicio.

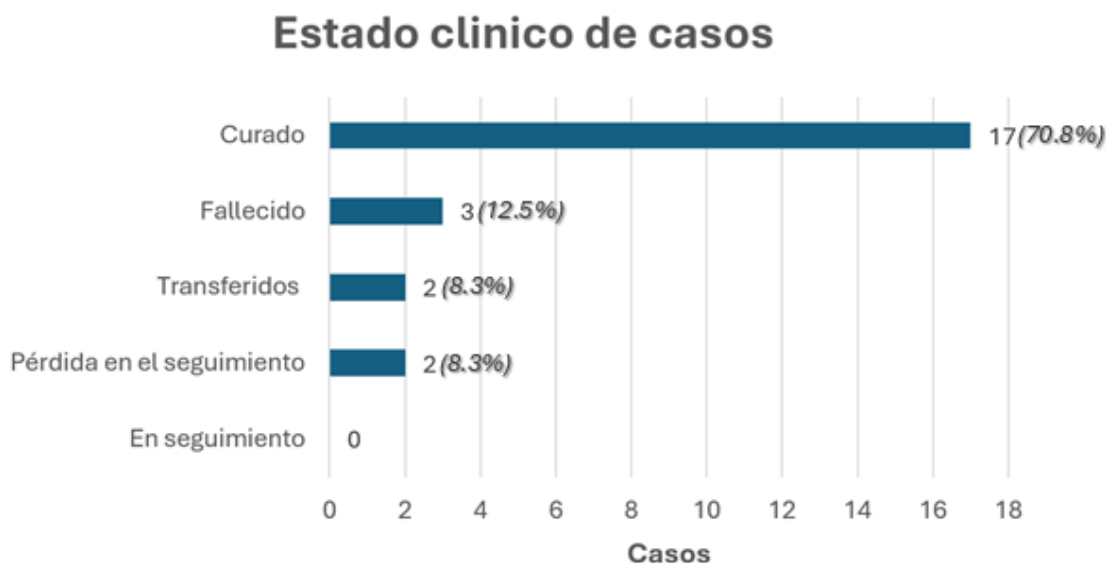


Figura 25. Grafica. Clasificación de estado clínico de los casos de TB reportados entre el periodo 2021-2024.

4.6. CONCENTRACIÓN DE ADN GENÓMICO DE LAS BACTERIAS.

Realizada la extracción de ADN bacteriano por el método de CTAB, a partir de los aislados de las cepas recolectadas el cual se evaluó en un Nanodrop 2000, por el cual se vio su cuantificación y concentración del material genético “ADN”

Rango	Concentración (ng/ul)	A (260/280nm)
Máximo	1225.5	2.19
Promedio	310.97	1.96

Tabla 9. Promedio y máximo de la cuantificación de ADN de *M. tuberculosis* extraída mediante CTAB.

4.7. ASO-PCR ESPECÍFICA (CEPAS).

Identificación de cepas aisladas empleando tres PCR específicas para rastrear la presencia de las cepas A, B y C

PCR específica de cepa A (L2/Beijing)

Identificación de cepas pertenecientes a L2/Beijing

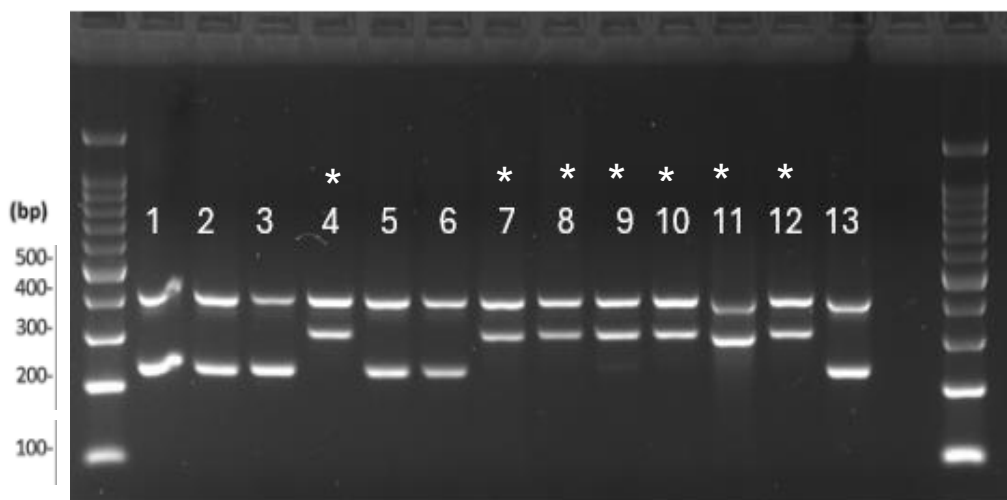


Figura 26. Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa A (L2/Beijing). La primera corrida electroforética corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). Las demás corridas numerados del 1 al 13 corresponden a las muestras a amplificar, de las cuales se identificaron como cepa Beijing las muestras 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

En las muestras analizadas se identificó y amplificó la banda 308 perteneciente a la cepa L2/Beijing, las demás bandas observadas (400pb y 228pb), corresponde a las muestras de control de *M. tuberculosis*.

PCR específica de cepa B (L4/Haarlem)

Identificación de cepas pertenecientes a L4 /Haarlem,

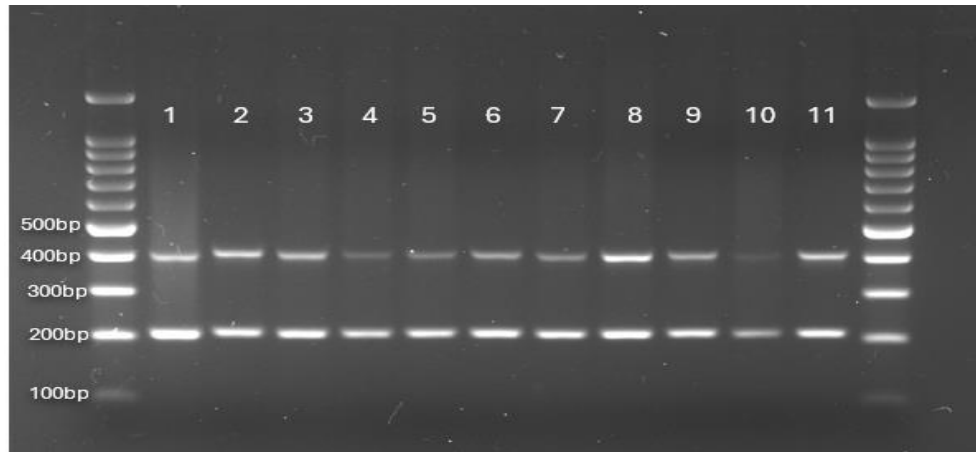


Figura 27. Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa B (L4/Haarlem). La primera corrida electroforética corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). Las demás corridas, numeradas del 1 al 11, corresponden a las muestras a amplificar, en las cuales no se obtuvo amplificación en ninguna de ellas.

PCR específica de cepa B (L4/LAM)

Identificación de cepas pertenecientes a L4/LAM.

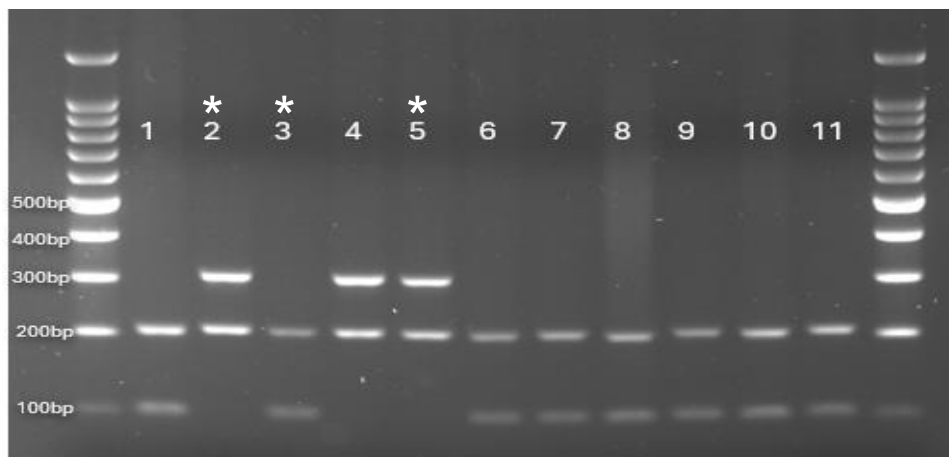


Figura 28. Electroforesis en gel de agarosa para la identificación de la cepa C (L2/LAM). La primera corrida corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega).

Las demás corridas numerados del 1 al 11 corresponden a las muestras amplificadas, de las cuales se identificaron como cepa L4/LAM las muestras 2, 4 y 5.

En las muestras analizadas se identificó y amplificó la banda 307pd pertenecientes a la cepa LAM, la ausencia de la banda 413pd, podría deberse a que estas cepas pertenecen a un subgrupo de LAM el cual varía esta sección. Las otras bandas observadas (103 pb y 207pb), corresponde a las muestras de control *M. tuberculosis*.

4.8. RESUMEN DE RESULTADOS

Los resultados de este trabajo arrojaron que 10/24 (41.7%) de las cepas identificadas pertenecían a L2/Beijing. La cepa L4/LAM se presentó con un 11/24 (45.8%). No se encontró presencia de la cepa Haarlem y las 3 (12.5%) cepas faltantes fueron secuenciadas y clasificadas dentro del linaje 4, de las cuales 2 correspondieron al genotipo L4.9 (Euro-American (H37Rv-like) y uno a L4.1.2.1 (Euro-American (Haarlem)). En consecuencia, los casos analizados se distribuyeron en un 10/24 (41.7%) perteneciente al linaje 2 y un 14/24 (58.3%) al linaje 4.

El esquema de trabajo (figura 27) resume los resultados de las PCR aplicadas sobre la colección de las 24 muestras aisladas de *M. tuberculosis* de los privados de libertad, aplicando la metodología de la figura 13.

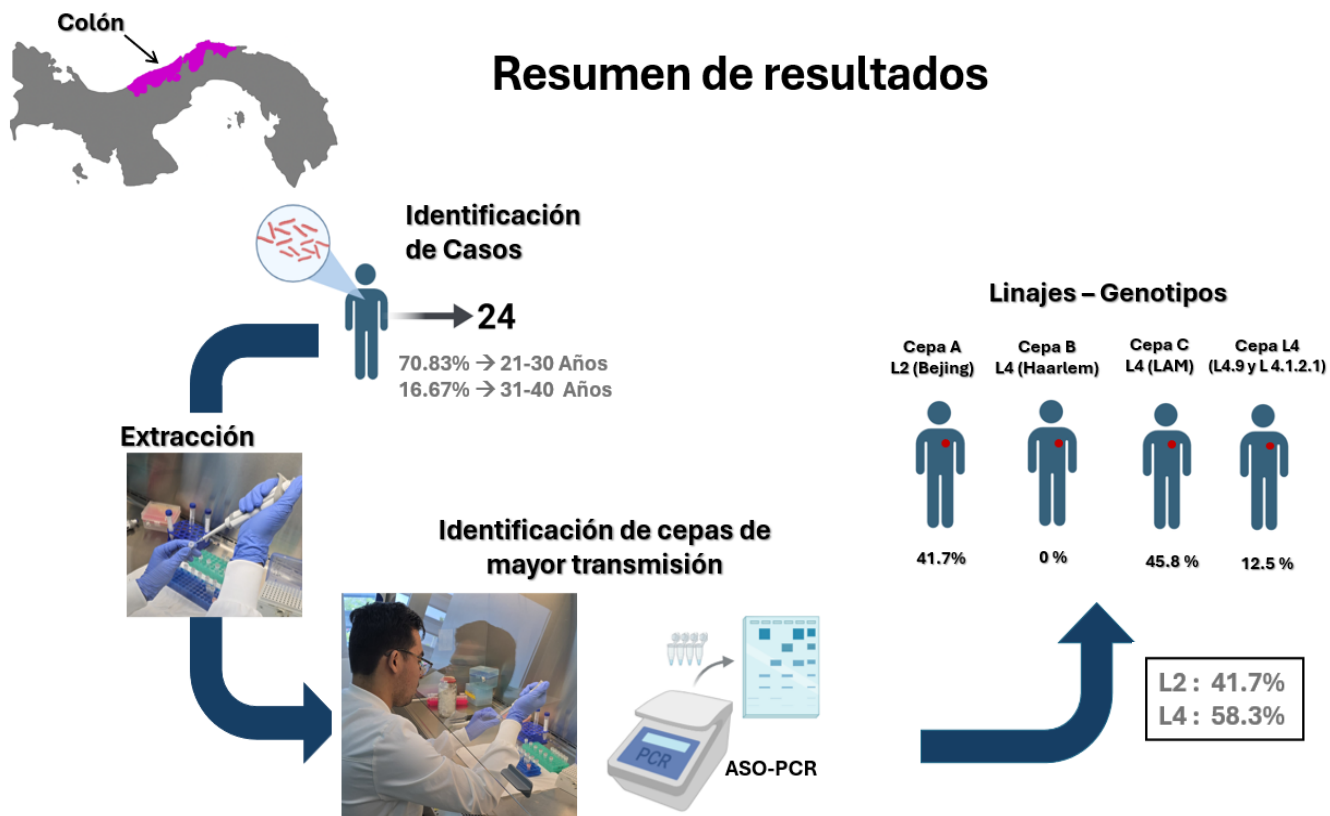


Figura 29. Esquema de trabajo para la Aplicando las ASO-PCR para identificar *M. tuberculosis* y resultados finales, el cual se encontró que los linajes 2 y 4 son los predominante y existente dentro de complejo penitenciario nueva esperanza.

4.9. ALCANCE Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.

Alcance

- **Caracterización genética de *M. tuberculosis*:** El estudio tiene como objetivo identificar los linajes o genotipos de *M. tuberculosis* en la población penitenciaria de la provincia de Colón, a través de técnicas avanzadas de genotipificación, incluyendo procesamiento de muestras y aplicación a ASOPCR de forma sencilla para rastrear cepas de interés.
- **Aporte a la vigilancia epidemiológica:** El estudio proporcionará datos significativos que contribuirán al fortalecimiento de los sistemas nacionales dedicados a la vigilancia y control de tuberculosis en Panamá, con un enfoque particular hacia poblaciones vulnerables tales como aquellas PDL
- **Base para futuras investigaciones:** Los hallazgos sentarán las bases para investigaciones comparativas futuras en otras instituciones penitenciarias o regiones del país e impulsarán su integración dentro redes nacionales e internacionales enfocadas en el abordaje, estudios y estrategia de control sobre la TB.

Limitaciones

Seguimiento clínico: La movilidad de la población privada de libertad, ya sea por traslados entre centros penitenciarios o por procesos de liberación, dificultó la continuidad del monitoreo de algunos casos.

Esto genera pérdida de seguimiento en cuanto a la evolución clínica y al estado de tratamiento, lo que limita la posibilidad de realizar una evaluación integral de los desenlaces clínicos.

4.10. ORGANIZACIÓN (CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES)

Actividades	Cronograma de Actividades 2025									
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Revisión bibliográfica	■	■	■	■	■	■	■	■		
Desarrollo de idea de tesis	■	■	■	■						
Entrega de documentación para aprobación de Idea de tesis por la Universidad					■					
Obtención y Procesamiento de muestras					■	■	■			
Análisis de datos Obtenidos					■	■	■	■		
Escritura (Proyecto de tesis)					■	■	■	■		
Presentación de proyecto de tesis									■	

Tabla 10. Cronograma de actividades y trabajos realizados. **Nota:** El tiempo y desarrollo del proyecto se hizo en conjunto con el periodo de Practica profesional. Meses (M).

CAPÍTULO V
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN

La caracterización genotípica de *M. tuberculosis* en la población privada de libertad de la provincia de Colón permitió obtener un panorama de la situación de la tuberculosis en este entorno de vulnerabilidad. Los hallazgos de este estudio muestran un perfil epidemiológico que revelaron particularidades que merecen ser destacadas, ya que estudio relacionados a tuberculosis y cárceles han revelado que esta población privada de libertad es 10 veces más susceptible e incluso más en adquirir esta enfermedad. **(Charalambous, S. et al.,2023) (Lôbo, N., 2022) (Busatto, C. et al., 2022).**

En Paraguay, el 15% de las personas desarrollaron TB durante el encarcelamiento, y el 42% de los casos ocurrieron después de la liberación, con un riesgo 30 veces mayor que en la población general. **(Soto, A.,2024) (Sequera, G.,2024)**

En primer lugar, la totalidad de los casos correspondió a personas de sexo masculino, presentándose menos frecuente en mujeres o adultos mayores, lo cual refleja la composición demográfica predominante en el complejo penitenciario que coincide con lo reportado en Brasil, Colombia, Paraguay, Perú y el resto del mundo. Brasil ha reportado más del del 95% de los casos de tuberculosis en prisión ocurren en varones **(Anselmo et al., 2023) (De Nóvoa-Lôbo et al., 2023).**

Esta predominancia de casos en hombres es debido a que en la gran mayoría de las cárceles a nivel mundial las personas de sexo masculinos son las que mayormente se encuentra encarceladas. **(WPB, 2024) (Soto, A.,2024)**

Además, la edad de los afectados mostró que el 70.8% de los casos correspondió al grupo de 21 a 30 años, seguido por un 16.7% en el rango de 31 a 40 años, lo que sitúa la carga de la enfermedad principalmente en adultos jóvenes. Este hallazgo coincide con los resultados de estudios en Colombia y Paraguay, donde se ha documentado que la mayor incidencia de tuberculosis en prisiones ocurre en personas de entre 20 y 39 años. **(Ribeiro et al., 2023) (Anselmo et al., 2023) (Lôbo, N., 2022)**

Este perfil etario es especialmente preocupante porque corresponde a una población en edad productiva, altamente móvil dentro del sistema penitenciario y con mayor

probabilidad de reintegrarse posteriormente a la comunidad, lo que implica un riesgo epidemiológico para la transmisión hacia el entorno ex penitenciario. **(Sequera, G.,2024)**

En cuanto a la coinfección TB/VIH, en este estudio se encontró que el 8.3% de los casos presentaban infección por VIH, mientras que el 91.7% restante no mostraban coinfección; en Brasil se ha reportado coinfección en TB/VIH de 12.9% de los nuevos casos de tuberculosis en prisiones, mientras que en otros sitios solo el 5% presentaban esta asociación, usando esta información como base la situación en Colón se puede situar en un nivel intermedio. **(Busatto, C. et al., 2022), (Ribeiro et al., 2023).**

La coinfección TB/VIH es un reto considerable porque acelera la progresión de la enfermedad, reduce la respuesta al tratamiento y aumenta la mortalidad, por lo que su identificación temprana y manejo integrado siguen siendo una prioridad en este tipo de poblaciones. **(Baussano et al., 2010). (Andrews J. et al., 2024)**

Los desenlaces clínicos mostraron que el 70.8% de los pacientes lograron la curación, lo cual refleja un desempeño relativamente favorable en comparación con lo descrito en otros sistemas penitenciarios de la región. Sin embargo, la existencia de un 12.3% de defunciones, un 8.3% de traslados y un 8.3% de pérdida de seguimiento evidencian la persistencia de vacíos en el manejo de los casos. Las defunciones ocurridas, subrayan la importancia de reforzar la atención clínica oportuna y el seguimiento en pacientes con cuadros graves.

La pérdida de seguimiento, atribuida al abandono o interrupción del tratamiento, es especialmente preocupante en el contexto penitenciario porque puede favorecer la recaída y eventualmente la emergencia de farmacorresistencia. Este fenómeno ha sido documentado en estudios de Perú y Brasil, donde se ha observado que los traslados frecuentes de prisioneros entre centros penitenciarios y la liberación sin adecuada articulación con los servicios de salud comunitarios son factores que contribuyen a la discontinuidad del tratamiento y aumentan el riesgo de transmisión **(Anselmo et al., 2023) (Gygli, S. et al.,2022).**

En este sentido, los hallazgos del presente estudio reafirman la necesidad de mejorar los mecanismos de coordinación interinstitucional para garantizar la continuidad terapéutica, independientemente de la situación judicial o penitenciaria de los pacientes.

Las características de perfiles de sensibilidad son importantes para orientar el tratamiento adecuado; el diagnóstico clínico mostró mostros que todos los casos fueron sensibles, esta situación es contraria a otros entornos penitenciarios descritos y registrados en América Latina y el mundo, donde las MDR-TB representan un problema grave en entornos penitenciarios.

Estudio realizado en Perú, se reportó que el 10.2% de los casos de tuberculosis resistente a fármacos correspondían a personas privadas de libertad, mientras que en regiones como Europa del Este y Asia Central las tasas de MDR-TB en prisiones alcanzan niveles alarmantes y han sido descritas como epidemias en expansión. **(Anselmo et al., 2023)**

La ausencia de MDR-TB en el presente estudio podría estar vinculada a la implementación adecuada de programas de tratamiento supervisado directamente observado y a una cobertura relativamente eficiente de los servicios de salud dentro del centro penitenciario estudiado **(Gygli, S. et al., 2022)**.

No obstante, este hallazgo debe ser considerado una ventana de oportunidad más que un indicador definitivo de control, ya que los factores estructurales de riesgo, como el hacinamiento, la ventilación deficiente, la movilidad de reclusos y las pérdidas de seguimiento, se mantienen presentes y constituyen factores para posibles surgimientos de cepas resistentes si no se fortalecen las medidas de control y prevención.

Desde el punto de vista molecular, la caracterización genotípica reveló la presencia predominante de dos linajes L2/Beijing (10 casos o 41.7%, L L4/LAM (11 cepas o 45.8%) y 3 (12.5%) pertenecientes al linaje 4. La predominancia del linaje LAM es coherente con lo descrito en estudios en América Latina, un estudio encontró que en cuatro cárceles colombianas la presencia de la cepa LAM fue de (56.8%) lo mismo se vio en una cárcel en Ecuador que revelo que la presencia de LAM fue de 58.2%, Haarlem un 16.7% y

Beijing: 2.8%. (**Garcés, E., 2023**); donde la cepa LAM ha sido identificado como uno de los más frecuente en el contine Américo (Stucki et al., 2016) (Napier et al., 2020); en el caso de América del sur el linaje LAM y Haarlem, son las cepas que más circulan en esta región continental, siendo Brasil y Perú son los países con mayor incidencia de tuberculosis. (**Vinueza & Arias, 2021**).

La presencia de Beijing, por otro lado, resulta de especial interés porque este linaje ha sido asociado con mayor transmisibilidad y en algunos contextos, con la emergencia de farmacorresistencia. (**Atavliyeva et al., 2024**) (**Olawoye et al., 2021**).

Aunque en este estudio no se observó resistencia a fármacos de la cepa L2/Beijing, su identificación en un entorno cerrado como la prisión debe ser monitoreada estrechamente, ya que podría indicar un potencial riesgo de diseminación futura. La observación de variantes LAM con ausencia de la banda de 413 pb también sugiere la existencia de subgrupos locales que podrían estar adaptándose a las condiciones epidemiológicas de la región, lo que resalta la necesidad de estudios más detallados mediante WGS para esclarecer la dinámica de transmisión y evolución de estos genotipos.

Al comparar estos resultados con lo reportado en otros países de la región, se observa que el centro penitenciario de Colón comparte con América Latina incidencia de caso en varones jóvenes, el predominio de LAM y la influencia de factores estructurales como el hacinamiento, son factores comunes de la presencia de *M. tuberculosis* en centros penitenciarios.

Sin embargo, nuestra zona de estudio se diferencia por la ausencia de MDR-TB, lo que la coloca en una posición más favorable frente a contextos como Brasil y Perú, donde la farmacorresistencia ya representa un desafío de gran magnitud (**Soto, A., 2024**).

Esta diferencia podría estar relacionada por la aplicación de los programas nacionales de control de tuberculosis en Colón y por una posible menor circulación de cepas resistentes en comparación con otros países con sistemas penitenciarios más complejos, una mayor población como sobrepoblación. (**WPB, 2024**).

Estudios en Paraguay, Brasil y Perú han documentado la existencia de conexiones estrechas entre cepas de tuberculosis en prisiones y en las comunidades vecinas (*Sanabria et al., 2023*), confirmando que los centros penitenciarios funcionan como reservorios y focos de propagación (*Walter, K. et al., 2022*), investigaciones en Perú han demostrado una posible propagación de cepas MDR desde las prisiones hacia la población general, lo cual representa una amenaza latente para la salud pública. (*Andrews J. et al., 2024*) (*Sequera, G., 2024*) (*Soto, A., 2024*)

Los hallazgos del presente estudio podrían interpretarse como una alerta temprana el cual permita identificar fortalezas y debilidades en el control de la TB en el sistema penitenciario panameño. La ausencia de MDR-TB constituye una fortaleza que debe ser preservada mediante la implementación sostenida de medidas de diagnóstico temprano, tratamiento supervisado y seguimiento clínico.

La presencia del linaje 2/Beijing debería de mantenerse en vigilancia molecular constante; las defunciones y pérdida de seguimiento en algunos casos, indica la necesidad de reforzar el monitoreo terapéutico para evitar recaídas y el desarrollo de resistencia como introducción de estas cepas en otros centros penitenciario.

Aunque los resultados sugieren que la población privada de libertad de la provincia de Colón se encuentra en una situación menos crítica que otros países , ya que hasta el cierre del 2024 se han diagnosticado 2210 casos de la cual el 9.6% corresponden a casos en cárceles a nivel nacional cierto factores como la sobrepoblación que conlleva al hacinamiento, la falta de ventilación y accesos a atención medica oportuna; si no son abordados adecuadamente, podrían conducir al surgimiento de escenarios similares a los observados en Brasil, Perú o Europa del Este, donde la presencia de la tuberculosis como su resistencias se volvieron una gran problemática.

5.2. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

El presente estudio permitió la caracterización genotípica de 24 cepas de *M. tuberculosis* aisladas en la población privada de libertad de la provincia de Colón durante el periodo 2021-2024, confirmando la coexistencia de dos linajes principales: L2/Beijing (41.7%) y L4/LAM (45.8%). Esta diversidad genética refleja la complejidad de la transmisión de la tuberculosis en entornos penitenciarios y subraya la importancia de realizar una vigilancia molecular continua para identificar patrones de transmisión y potenciales focos de brote.

Los resultados epidemiológicos muestran un predominio de casos de tuberculosis en hombres jóvenes, entre 21 y 30 años, así como la ausencia de aislados resistentes mediante diagnóstico molecular.

Los datos nacionales respecto a esta enfermedad evidencian un incremento sostenido de los casos de tuberculosis en Panamá, alcanzando en 2024 una de las cifras más altas registradas a nivel nacional en los últimos nueve años, con un aumento particularmente preocupante en la población privada de libertad, que pasó de representar el 5% de los casos en el 2016 a 7.8% en 2023 y 9.6% en el 2024.

Este comportamiento refleja no solo la persistencia de la enfermedad en el país, sino también la vulnerabilidad de ciertos grupos, como las personas privadas de libertad que mantiene una proporción constante de casos a nivel nacional.

La técnica molecular de ASO-PCR, basada en SNPs específicos, permitió evidenciar que las cepas del linaje 2/Beijing presentes en la comunidad también circulan en la prisión (Complejo Penitenciario Nueva Esperanza), ya que estudios previos que aplicaron la misma técnica y los mismos cebadores detectaron este linaje en aproximadamente el 31.7% de los casos de tuberculosis en la provincia.

La presencia simultánea del linaje 4, que representó un 54.2%, coincide con estudios previos en Panamá, donde esta familia genética predomina en diferentes regiones del país, incluyendo Colón, y ha sido relacionada con brotes tanto en la comunidad como en centros penitenciarios.

Este estudio valida la hipótesis de que los casos de tuberculosis en personas privadas de libertad en Colón están relacionados con la circulación de múltiples linajes de *M. tuberculosis*, lo que implica la necesidad de implementar estrategias de estudios sistemáticos, así como reforzar el control y la vigilancia de los casos.

La detección temprana y la aplicación rigurosa de los esquemas terapéuticos son esenciales para prevenir la aparición de cepas resistentes y la propagación de la enfermedad dentro y fuera de los centros penitenciarios, además de promover estudios prospectivos.

Este trabajo aporta evidencia valiosa para la salud pública en Panamá, reforzando la necesidad de coordinar esfuerzos entre instituciones penitenciarias, servicios de salud y comunidades para el control de la tuberculosis.

CAPÍTULO VI
GLOSARIO Y BIBLIOGRAFÍA

GLOSARIO

- **ASO-PCR (PCR con Oligonucleótidos Específicos de Alelo):** variación de la PCR que se usa para detectar variantes genéticas o polimorfismos de un solo nucleótido en un gen.
- **Bacilo:** bacteria que tiene forma de bastón.
- **Cepa:** grupo de organismos de la misma especie que tienen características genéticas y biológicas similares.
- **Clado:** grupo de organismos que descienden de un ancestro común y están estrechamente relacionados.
- **Complejo Mycobacterium tuberculosis (MTBC):** un grupo de bacterias estrechamente relacionadas que comparten una alta similitud genética y son la causa de la tuberculosis en humanos y animales.
- **CTAB:** también llamado “Bromuro de cetil trimetil amonio”, es un detergente catiónico utilizado en la extracción de ADN, que precipita los ácidos nucleicos y ayuda a eliminar polisacáridos e impurezas celulares.
- **CSS:** Caja de Seguro Social, es una institución de seguridad social en Panamá que ofrece servicios de salud y beneficios sociales a sus afiliados.
- **Delección:** mutación genética en la que se pierde o elimina una parte del ADN.
- **Epidemiología:** estudio de la distribución, frecuencia y determinantes del proceso salud y enfermedad en poblaciones
- **Fagocitar:** proceso en el que algunas células inmunológicas envuelven agentes extraños, envuelven para eliminarlas del cuerpo.

- **GeneXpert:** sistema de diagnóstico molecular automatizado que se utiliza para detectar rápidamente enfermedades infecciosas, como la tuberculosis o la resistencia a medicamentos.
- **Genómica:** el estudio de la totalidad del material genético de un organismo, incluyendo todos sus genes y su interacción.
- **Genotipos:** composición genética de un organismo, en este caso, de una bacteria.
- **Granuloma:** conjunto de células inflamatorias que el cuerpo forma para aislar y contener un agente infeccioso.
- **Hacinamiento:** acumulación excesiva de personas o animales en un espacio reducido.
- **Incidencia:** la cantidad de casos nuevos de una enfermedad que se registran en una población durante un período de tiempo específico.
- **Infección:** la invasión y multiplicación de microorganismos en el cuerpo de un organismo vivo.
- **Inherente:** característica propia o esencial de algo o alguien, y no se puede separar.
- **Linajes:** diferentes grupos de bacterias que han evolucionado a partir de un ancestro común.
- **MINSA:** acrónimo del Ministerio de Salud de la República de Panamá, que es la institución gubernamental responsable de las políticas de salud pública, la regulación sanitaria y el bienestar de la población panameña.
- **Mortalidad:** número de muertes en una población durante un período de tiempo determinado.
- **Mycobacterium tuberculosis (MTB):** especie de bacteria patógena que es la principal causa de la tuberculosis en humanos.

- **Nomenclatura:** sistema formal de nombres para clasificar a los organismos
- **Nucleótidos:** estructura fundamental básica de los ácidos nucleicos (ARN y ADN) estando compuesto por un grupo fosfato, un azúcar y una base nitrogenada.
- **Oligonucleótidos:** pequeñas cadenas de nucleótidos que se utilizan como sondas o cebadores en técnicas moleculares como la PCR.
- **Organización Mundial de la Salud (OMS):** es la agencia de las Naciones Unidas responsable de la salud pública a nivel internacional, se encarga de coordinar políticas de salud y de combatir enfermedades a escala global.
- **Parálogos:** genes que se originan a partir de un evento de duplicación dentro de un mismo genoma. Aunque provienen de un ancestro común, con el tiempo pueden adquirir funciones diferentes o especializadas.
- **Paucibacilar:** un término que se utiliza en medicina para describir una enfermedad en la que hay un número muy bajo de bacterias
- **PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa):** técnica de laboratorio muy utilizada en la biología molecular para amplificar sesiones específicas.
- **Polimorfismos:** variaciones en la secuencia del ADN que se encuentran en una población.
- **Prevalencia:** el número total de casos (tanto nuevos como existentes) de una enfermedad en una población en un momento determinado.
- **Privados de libertad (PDL):** personas que están encarceladas, o detenida en una prisión, cárcel o centros de detención.
- **Reservorio:** lugar donde un agente infeccioso (como una bacteria o un virus) vive y se reproduce.

- **Tasa:** medida estadística que cuantifica la frecuencia de una enfermedad (como la tuberculosis) o un evento de salud en una población específica, durante un periodo de tiempo determinado
- **Tuberculosis:** enfermedad infecciosa y contagiosa causada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, que afecta principalmente a los pulmones, pero puede dañar otras partes del cuerpo.
- **VIH/SIDA:** son las siglas de Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). El VIH es el virus que causa el SIDA, una condición que debilita el sistema inmunológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Achtman, M. (2008).** Evolution, Population Structure, and Phylogeography of Genetically Monomorphic Bacterial Pathogens. *Annual Review Of Microbiology*, 62(1), 53-70. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162832>
2. **Acosta, F., Candanedo, D., Patel, P., Llanes, A., Ku, J. E., Salazar, K., Morán, M., Sambrano, D., Jurado, J., Martínez, I., Garibaldi, L., Delgado, M., Solís, L., Luque, O., Da Silva, K., Andrews, J., & Goodridge, A. (2025).** Endemic transmission of a Mycobacterium tuberculosis L2.2.M3 sublineage of the L2 lineage within Colón, Panama: A prospective study. *Infection, Genetics and Evolution*, 131. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2025.105749>
3. **Acosta, F., Norman, A., Sambrano, D., Batista, V., Mokrousov, I., Shitikov, E., Jurado, J., Mayrena, M., Luque, O., Garay, M., Solís, L., Muñoz, P., Folkvardsen, D. B., Lillebaek, T., Pérez-Lago, L., Goodridge, A., & De Viedma, D. G. (2020b).** Probable long-term prevalence for a predominant Mycobacterium tuberculosis clone of a Beijing genotype in Colón, Panama. *Transboundary And Emerging Diseases*, 68(4), 2229-2238. <https://doi.org/10.1111/tbed.13875>
4. **Ajawanawong, P., Yanai, H., Smittipat, N., Disratthakit, A., Yamada, N., Miyahara, R., Nedsuwan, S., Imasanguan, W., Kantipong, P., Chaiyasirinroje, B., Wongyai, J., Plitphonganphim, S., Tantivitayakul, P., Phelan, J., Parkhill, J., Clark, T. G., Hibberd, M. L., Ruangchai, W., Palittapongarnpim, P., Palittapongarnpim, P. (2019).** A novel Ancestral Beijing sublineage of Mycobacterium tuberculosis suggests the transition site to Modern Beijing sublineages. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50078-3>
5. **Allix-BéGuec, C., Harmsen, D., Weniger, T., Supply, P., & Niemann, S. (2008).** Evaluation and Strategy for Use of MIRU-VNTRplus, a Multifunctional Database for Online Analysis of Genotyping Data and Phylogenetic Identification of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates. *Journal Of Clinical Microbiology*, 46(8), 2692-2699. <https://doi.org/10.1128/jcm.00540-08>

6. **Alonso-Rodriguez, N., Martínez-Lirola, M., SáNchez, M. L., Herranz, M., PeñAfiel, T., Del Carmen Bonillo, M., Gonzalez-Rivera, M., MartíNez, J., Cabezas, T., Diez-García, L. F., Bouza, E., & De Viedma, D. G. (2009).** Prospective Universal Application of Mycobacterial Interspersed Repetitive-Unit-Variable-Number Tandem-Repeat Genotyping To Characterize Mycobacterium tuberculosis Isolates for Fast Identification of Clustered and Orphan Cases. *Journal Of Clinical Microbiology*, 47(7), 2026-2032. <https://doi.org/10.1128/jcm.02308-08>
7. **Andreu, N., & Gibert, I. (2008).** Cell population heterogeneity in Mycobacterium tuberculosis H37Rv. *Tuberculosis*, 88(6), 553-559.
8. **Asamblea Legislativa de Panamá. (2003).** Ley N°55 del 30 de Julio del 2003, Que reorganiza el Sistema Penitenciario. 39, 1–39. http://www.oas.org/juridico/spanish/gapeca_sp_docs_pan1.pdf
9. **Atavliyeva, S., Auganova, D., & Tarlykov, P. (2024).** Genetic diversity, evolution and drug resistance of Mycobacterium tuberculosis lineage 2. *Frontiers In Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1384791>
10. **Baca, R., & Vivancos-Gallego, M. J. (2023).** Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in the prison population with a positive tuberculin test: a descriptive study in a prison (Burgos, Spain). *Revista Española de Sanidad Penitenciaria*, 25(3), 104-111. <https://doi.org/10.18176/resp.00076>
11. **Baussano, I., Williams, B. G., Nunn, P., Beggiato, M., Fedeli, U., & Scano, F. (2010).** Tuberculosis incidence in prisons: A systematic review. *PLoS Medicine*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000381>
12. **Bespiatykh, D., Bespyatykh, J., Mokrousov, I., & Shitikov, E. (2021).** A Comprehensive Map of Mycobacterium tuberculosis Complex Regions of Difference. *mSphere*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/msphere.00535-21>
13. **Bolado-Martínez, E., Del Carmen Candia-Plata, M., Zenteno-Cuevas, R., Damián, F. M., Avilés-Acosta, M., & Álvarez-Hernández, G. (2014).** Propuesta de un panel

MIRU-VNTR 5 para el tamizaje de aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(9), 609-612. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.010>

14. **Bos, K. I., Harkins, K. M., Herbig, A., Coscolla, M., Weber, N., Comas, I., Forrest, S. A., Bryant, J. M., Harris, S. R., Schuenemann, V. J., Campbell, T. J., Majander, K., Wilbur, A. K., Guichon, R. A., Steadman, D. L. W., Cook, D. C., Niemann, S., Behr, M. A., Zumarraga, M., ... Krause, J. (2014).** Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. *Nature*, 514(7253), 494–497. <https://doi.org/10.1038/nature13591>
15. **Burke, D. S. (1993).** Of postulates and peccadilloes: Robert Koch and vaccine (tuberculin) therapy for tuberculosis. *Vaccine*, 11(8), 795-804. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(93\)90354-z](https://doi.org/10.1016/0264-410x(93)90354-z)
16. **Busatto, C., Mespaque, J., Schwarzbald, P., Souza, C. D. D., Jarczewski, C. A., Meucci, R. D., & Possuelo, L. G. (2022).** Tuberculosis in prison inmates in Southern Brazil: investigating the epidemiological and operational indicators. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 55, e0052-2022.
17. **Cambau, E., & Drancourt, M. (2014).** Steps towards the discovery of *Mycobacterium tuberculosis* by Robert Koch, 1882. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(3), 196-201. +
18. **Cerezo-Cortés, M., Rodríguez-Castillo, J., Hernández-Pando, R., & Murcia, M. (2019).** Circulation of *M. tuberculosis* Beijing genotype in Latin America and the Caribbean. *Pathogens And Global Health*, 113(8), 336-351. <https://doi.org/10.1080/20477724.2019.1710066>
19. **Charalambous, S., Velen, K., Rueda, Z., Croda, J., Herce, M. E., Sheno, S. V., Altice, F. L., Muyoyeta, M., Telisinghe, L., Grandjean, L., Keshavjee, S., & Andrews, J. R. (2023).** Scaling up evidence-based approaches to tuberculosis screening in prisons. In *The Lancet Public Health* (Vol. 8, Issue 4, pp. e305–e310). Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(23\)00002-6](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(23)00002-6)

20. **Chitale, P., Lemenze, A. D., Fogarty, E. C., Shah, A., Grady, C., Odom-Mabey, A. R., Johnson, W. E., Yang, J. H., Eren, A. M., Brosch, R., Kumar, P., & Alland, D. (2022).** A comprehensive update to the Mycobacterium tuberculosis H37Rv reference genome. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34853-x>
21. **Coll, F., McNerney, R., Guerra-Assunção, J. A., Glynn, J. R., Perdigão, J., Viveiros, M., Portugal, I., Pain, A., Martin, N., & Clark, T. G. (2014).** A robust SNP barcode for typing Mycobacterium tuberculosis complex strains. *Nature Communications*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms5812>
22. **Coll, P., & De Viedma, D. G. (2018).** Epidemiología molecular de la tuberculosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36(4), 233-240. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.01.001>
23. **Cords, O., Martínez, L., Warren, J. L., O'Marr, J. M., Walter, K. S., Cohen, T., Zheng, J., Ko, A. I., Croda, J., & Andrews, J. R. (2021).** Incidence and prevalence of tuberculosis in incarcerated populations: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Public Health*, 6(5), e300–e308. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00025-6](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00025-6)
24. **Couvin, D., Allaguy, A., Ez-Zari, A., Jagielski, T., & Rastogi, N. (2025).** Molecular typing of Mycobacterium tuberculosis: a review of current methods, databases, softwares and analytical tools. *FEMS Microbiology Reviews*, 49. <https://doi.org/10.1093/femsre/ufaf017>
25. **Delogu, G., Sali, M., & Fadda, G. (2013).** THE BIOLOGY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS INFECTION. *Mediterranean Journal Of Hematology And Infectious Diseases*, 5(1), e2013070. <https://doi.org/10.4084/mjihid.2013.070>
26. **Día Mundial de la Tuberculosis. (2025, 14 marzo).** <https://www.who.int/es/campaigns/world-tb-day>

27. **Domínguez, J., Acosta, F., Pérez-Lago, L., Sambrano, D., Batista, V., De La Guardia, C., Abascal, E., Chiner-Oms, Á., Comas, I., González, P., Bravo, J., Cid, P. Del, Rosas, S., Muñoz, P., Goodridge, A., & García De Viedma, D. (2019).** Simplified model to survey tuberculosis transmission in countries without systematic molecular epidemiology programs. *Emerging Infectious Diseases*, 25(3), 507–514. <https://doi.org/10.3201/eid2503.181593>
28. **Enrique, G. M. J., Rigouts, L., Emilia, V. L. L., & Portaels, F. (1995).** Análisis de polimorfismos de los fragmentos de restricción (RFLP) y epidemiología de la tuberculosis. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/15575>
29. **Fair, H., & Walmsley, R. (2024).** World Prison Population List (14^a ed.). Institute for Crime & Justice Policy Research, Birkbeck, University of London. Recuperado de www.prisonstudies.org
30. **Filliol, I., Driscoll, J. R., Van Soolingen, D., Kreiswirth, B. N., Kremer, K., Valétudie, G., Anh, D. D., Barlow, R., Banerjee, D., Bifani, P. J., Brudey, K., Cataldi, A., Cooksey, R. C., Cousins, D. V., Dale, J. W., Dellagostin, O. A., Drobniewski, F., Engelmann, G., Ferdinand, S., Rastogi, N. (2002).** Global Distribution of Mycobacterium tuberculosis Spoligotypes. *Emerging Infectious Diseases*, 8(11), 1347-1349. <https://doi.org/10.3201/eid0811.020125>
31. **Filliol, I., Ferdinand, S., Negroni, L., Sola, C., & Rastogi, N. (2000).** Molecular Typing of Mycobacterium tuberculosis Based on Variable Number of Tandem DNA Repeats Used Alone and in Association with Spoligotyping. *Journal Of Clinical Microbiology*, 38(7), 2520-2524. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.7.2520-2524.2000>
32. **Flores, L. B. (2009).** Prueba de la tuberculina (PPD) aspectos técnicos y teóricos. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 66(588), 193-196.
33. **Gagneux, S. (2018).** Ecology and evolution of Mycobacterium tuberculosis. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 16, Issue 4, pp. 202–213). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.8>

34. **Gagneux, S., DeRiemer, K., Van, T., Kato-Maeda, M., De Jong, B. C., Narayanan, S., Nicol, M., Niemann, S., Kremer, K., Gutierrez, M. C., Hilty, M., Hopewell, P. C., & Small, P. M. (2006).** Variable host–pathogen compatibility in Mycobacterium tuberculosis. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 103(8), 2869-2873. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511240103>
35. **Garcé, E., Cifuentes, L., Franco, G., Rosemary-Sandoval, N., & Arias, PJ (2023).** Estudio de la distribución de linajes de Mycobacterium tuberculosis en un penal de Guayaquil, Ecuador. *Enfermedades Emergentes*, 22, 7-14.
36. **Genomics Spotlight | Learn Science at Scitable. (2014).** <https://www.nature.com/scitable/spotlight/genomics-15753080/#:~:text=In%201977%2C%20Sanger%20and%20his,of%20the%20phi%20X174%20bacteriophage.>
37. **Global Tuberculosis Report 2024. (2024, 29 octubre).** Illumina. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>
38. **Gómez-Velasco, A., Molina-Torres, C. A., Vera-Cabrera, L., Bencomo-Alarm, A., Muñoz-Jiménez, S. G., Sánchez-Pérez, H. J., Gordillo-Marroquín, C., Córdova-Solis, C. D., Enríquez-Ríos, N., Nuñez Ovilla, D. B., Sánchez-Oropeza, C., Nájera Ortíz, J. C., & Rodríguez Suárez, R. A. (2023).** Diversidad genética del Complejo de Mycobacterium tuberculosis: implicaciones clínicas y epidemiológicas. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 26. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.563>
39. **Grzybowski, A., & Pietrzak, K. (2014).** Robert Koch (1843-1910) and dermatology on his 171st birthday. *Clinics in Dermatology*, 32(3), 448-450.
40. **Guyeux, C., Senelle, G., Meur, A. L., Supply, P., Gaudin, C., Phelan, J. E., Clark, T. G., Rigouts, L., De Jong, B., Sola, C., & Refrégier, G. (2024).** Newly Identified Mycobacterium africanum Lineage 10, Central Africa. *Emerging Infectious Diseases*, 30(3). <https://doi.org/10.3201/eid3003.231466>

41. **Gygli, S. M., Loiseau, C., Jugheli, L., Adamia, N., Trauner, A., Reinhard, M., Ross, A., Borrell, S., Aspindzelashvili, R., Maghradze, N., Reither, K., Beisel, C., Tukvadze, N., Avaliani, Z., & Gagneux, S. (2021).** Prisons as ecological drivers of fitness-compensated multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature Medicine*, 27(7), 1171–1177. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01358-x>
42. **Hirsh, A. E., Tsolaki, A. G., DeRiemer, K., Feldman, M. W., & Small, P. M. (2004).** Stable association between strains of *Mycobacterium tuberculosis* and their human host populations. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 101(14), 4871-4876. <https://doi.org/10.1073/pnas.0305627101>
43. ***Historical Perspectives Centennial: Koch's Discovery of the Tubercle Bacillus. (1982, 19 marzo).*** <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000222.htm>
44. **Huaman, M. A., & Sterling, T. R. (2019).** Treatment of Latent Tuberculosis Infection—An Update. *Clinics In Chest Medicine*, 40(4), 839-848. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.07.008>
45. **Hurtado, J., Bentancor, M. N., Laserra, P., Coitinho, C., & Greif, G. (2024).** Specific *Mycobacterium tuberculosis* Strain Circulating in Prison Revealed by Cost-Effective Amplicon Sequencing. *Microorganisms*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12050999>
46. **Jason Andrews, Yiran E Liu, Julio Croda,** Enduring Injustice: Infectious Disease Outbreaks in Carceral Settings, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 229, Issue 2, 15 February 2024, Pages 307–309, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiad290>
47. **Jessica P. Sanango. (2023).** Variabilidad Genética En Aislamientos De *Mycobacterium Tuberculosis* Multirresistentes. <https://dspace.ucacue.edu.ec/bitstreams/72e90328-db6a-4d8a-b35c-9649f68bea8f/download>

48. **Jiménez, N. N. V., Cifuentes, M. S., & Del Carmen Pérez Martínez, G. (2025).** La adherencia al tratamiento tuberculoso. *Nova*, 23(44). <https://doi.org/10.22490/24629448.9969>
49. **Kalscheuer R, Palacios A, Anso I, et al.** The *Mycobacterium tuberculosis* capsule: a cell structure with key implications in pathogenesis. *The Biochemical Journal*. 2019 Jul;476(14):1995-2016. DOI: 10.1042/bcj20190324. PMID: 31320388; PMCID: PMC6698057.
50. **Kim, H., Lee, Y. J., Song, M. J., Kwon, B. S., Kim, Y. W., Lim, S. Y., Lee, Y., Park, J. S., Cho, Y., Lee, C., & Lee, J. H. (2023).** Real-world experience of adverse reactions-necessitated rifampicin-sparing treatment for drug-susceptible pulmonary tuberculosis. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38394-1>
51. **Kwong, J., Mccallum, N., Sintchenko, V., & Howden, B. (2015).** Whole genome sequencing in clinical and public health microbiology. *Pathology*, 47(3), 199-210. <https://doi.org/10.1097/pat.0000000000000235>
52. **Lanzas, F., Karakousis, P. C., Sacchetti, J. C., & Ioerger, T. R. (2013).** Multidrug-Resistant Tuberculosis in Panama Is Driven by Clonal Expansion of a Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strain Related to the KZN Extensively Drug-Resistant *M. tuberculosis* Strain from South Africa. *Journal Of Clinical Microbiology*, 51(10), 3277-3285. <https://doi.org/10.1128/jcm.01122-13>
53. **Lefkowitz, E. J., & Odom, M. R. (2008).** *Virus Databases*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00719-6>
54. **Leonardo Martinez; Julio Croda. (2013).** Global, regional, and national estimates of tuberculosis incidence and case detection among incarcerated individuals from 2000 to 2019: a systematic analysis. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(23\)00097-X](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(23)00097-X)

55. **Lin, S. Y. G., & Desmond, E. P. (2014).** Molecular diagnosis of tuberculosis and drug resistance. In *Clinics in Laboratory Medicine* (Vol. 34, Issue 2, pp. 297–314). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2014.02.005>
56. **Linda Yhiset Gómez Arias, Silvia Gómez Daza, & Víctor Núñez Zarantes. (2018).** Estandarización de protocolos de transformación genética en *Escherichia coli* y *Agrobacterium tumefaciens* para la generación de una colección de constructos génicos. 1–8. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-74882018000200009&script=sci_arttext
57. **López MP, Ulloa AP, Escobar FA.** Tuberculosis and prison overcrowding from the perspective of social inequities in health in Colombia, 2018 *Biomedica: Revista del Instituto Nacional de Salud*. 2022 Mar;42(1):159-169. DOI: 10.7705/biomedica.5894. PMID: 35471178; PMCID: PMC9075111.
58. **Mabud, T. S., de Lourdes Delgado Alves, M., Ko, A. I., Basu, S., Walter, K. S., Cohen, T., Mathema, B., Colijn, C., Lemos, E., Croda, J., & Andrews, J. R. (2019).** Evaluating strategies for control of tuberculosis in prisons and prevention of spillover into communities: An observational and modeling study from Brazil. *PLoS Medicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002737>
59. **Machado-Villaruel, L., Acosta-Loya, J. A., Orozco-Andrade, I., Bravo-Rodríguez, G., & Dimakis-Ramírez, D. A. (s. f.).** Determinación del interferón-gamma en tuberculosis: Principios básicos y utilidad. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0028-37462015000300007
60. **McNabb, S. J. N. (2004).** Added Epidemiologic Value to Tuberculosis Prevention and Control of the Investigation of Clustered Genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates. *American Journal Of Epidemiology*, 160(6), 589-597. <https://doi.org/10.1093/aje/kwh253>
61. **Merker, M., Blin, C., Mona, S., Duforet-Frebourg, N., Lecher, S., Willery, E., Blum, M. G. B., Rüsck-Gerdes, S., Mokrousov, I., Aleksic, E., Allix-Béguet, C.,**

- Antierens, A., Augustynowicz-Kopeć, E., Ballif, M., Barletta, F., Beck, H. P., Barry, C. E., Bonnet, M., Borroni, E., Wirth, T. (2015).** Evolutionary history and global spread of the Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage. *Nature Genetics*, 47(3), 242-249. <https://doi.org/10.1038/ng.3195>
- 62. Micheni, L. N., Kassaza, K., Kinyi, H., Ntulume, I., & Bazira, J. (2022).** Detection of Mycobacterium tuberculosis multiple strains in sputum samples from patients with pulmonary tuberculosis in south western Uganda using MIRU-VNTR. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05591-3>
- 63. Ministerio de Salud de Panamá (MINSA, 2022).** Análisis de situación de la tuberculosis y VIH/SIDA en la población privada de libertad en la República de Panamá, 2022. Ministerio de Salud de Panamá. ISBN: 978-9962-621-46-1.
- 64. Mousavi-Sagharchi, S. M. A., Afraze, E., Seyyedian-Nikjeh, S. F., Meskini, M., Doroud, D., & Siadat, S. D. (2024).** New insight in molecular detection of Mycobacterium tuberculosis. *AMB Express*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01730-3>
- 65. Munro, J. E., Coussens, A. K., & Bahlo, M. (2025).** TBtypeR: Sensitive detection and sublineage classification of Mycobacterium tuberculosis complex mixed-strain infections. *Communications Biology*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-025-07705-9>
- 66. Napier, G., Campino, S., Merid, Y., Abebe, M., Woldeamanuel, Y., Aseffa, A., Hibberd, M. L., Phelan, J., & Clark, T. G. (2020b).** Robust barcoding and identification of Mycobacterium tuberculosis lineages for epidemiological and clinical studies. *Genome Medicine*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00817-3>
- 67. NIH. (2025, 12 agosto).** Polimorfismo de nucleótido único (SNP). NIH/Genome.gov. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Polimorfismo-de-nucle%C3%B3tido-%C3%BAnico-SNP>

68. **O'Marr, J. M., Gonçalves, C., Arakaki-Sanchez, D., Pelissari, D. M., Costa, F. D., Croda, J., Walter, K. S., & Andrews, J. R. (2022).** The effect of incarceration on TB treatment outcomes. *The International Journal Of Tuberculosis And Lung Disease*, 26(3), 252-258. <https://doi.org/10.5588/ijtld.21.0449>
69. **Olawoye, I. B., Uwanibe, J. N., Kunle-Ope, C. N., Davies-Bolorunduro, O. F., Abiodun, T. A., Audu, R. A., Salako, B. L., & Happi, C. T. (2021).** Whole genome sequencing of clinical samples reveals extensively drug resistant tuberculosis (XDR TB) strains from the Beijing lineage in Nigeria, West Africa. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96956-7>
70. **Organización Panamericana de la Salud.** Directrices unificadas de la OMS sobre la tuberculosis. Módulo 4: Tratamiento. Tratamiento de la tuberculosis farmacosensible. Washington, D.C.: OPS; 2023. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275327326>.
71. **Panamá, MINISTERIO DE GOBIERNO. (12 de 2024).** Obtenido de <https://www.datosabiertos.gob.pa/dataset/mingob-poblacion-penitenciaria-2024>
72. **Pérez-Lago, L., Martínez Lirola, M., Herranz, M., Comas, I., Bouza, E., & García-de-Viedma, D. (2015).** Fast and low-cost decentralized surveillance of transmission of tuberculosis based on strain-specific PCRs tailored from whole genome sequencing data: A pilot study. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(3), 249.e1-249.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.003>
73. **Pope, B., & Kent, H. M. (1996).** High efficiency 5 min transformation of *Escherichia coli*. In *Nucleic Acids Research* (Vol. 24, Issue 3)
74. **Rajwani, R., Shehzad, S., & Siu, G. K. H. (2018).** MIRU-profiler: a rapid tool for determination of 24-loci MIRU-VNTR profiles from assembled genomes of *Mycobacterium tuberculosis*. *PeerJ*, 6, e5090. <https://doi.org/10.7717/peerj.5090>
75. **Región de Salud de Colón aclara que no hay brote de tuberculosis en centro penal | Ministerio de Salud de la República de Panamá. (2024, 12 noviembre).**

<https://www.minsa.gob.pa/noticia/region-de-salud-de-Colón-aclara-que-no-hay-brote-de-tuberculosis-en-centro-penal>

76. **Rendón Bautista, L. A. (2020).** Caracterización por medio de secuenciación de genoma completo (WGS) de aislados clínicos de tuberculosis presentes en el occidente de México.
77. **Rodríguez, P., Escalante, M., Díez, H., Cuervo, C., Montilla, M., Nicholls, R. S., & Puerta, C. (2002).** Estudio de la variabilidad de seis cepas colombianas de *Trypanosoma cruzi* mediante polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD). *Biomédica*, 22(3), 263-271.
78. **Rosas, S., Bravo, J., Gonzalez, F., De Moreno, N., Sanchez, J., Gavilan, R. G., & Goodridge, A. (2013).** High clustering rates of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* genotypes in Panama. *BMC Infectious Diseases*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-442>
79. **Rubio, S., Pacheco-Orozco, R. A., Milena Gómez, A., Perdomo, S., & García-Robles, R. (2020).** Dna next-generation sequencing (ngs): Present and future in clinical practice. *Universitas Medica*, 61(2), 49-63.
80. **Rueda, Z. V., Herrera, M., Marin, D. M., López, L., Realpe, T., Almeida, L., Arroyave, L., Rueda, N., Niño-Cruz, G. I., Hurtado, U., Alvarez, N., Keynan, Y., & Arbeláez, M. P. (2025).** Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in four prisons in Colombia. *Epidemiology And Infection*, 1-37. <https://doi.org/10.1017/s0950268825000184>
81. **Sambrano, D., Correa, R., Almengor, P., Domínguez, A., Vega, S., & Goodridge, A. (2014).** *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from Single Outpatient Clinic in Panama City Exhibit Wide Genetic Diversity. *American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene*, 91(2), 310-312. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0134>

82. **Sanabria, G. E., Sequera, G., Aguirre, S., Méndez, J., Santos, P. C. P. D., Gustafson, N. W., Godoy, M., Ortiz, A., Cespedes, C., Martínez, G., García-Basteiro, A. L., Andrews, J. R., Croda, J., & Walter, K. S. (2023).** Phylogeography and transmission of Mycobacterium tuberculosis spanning prisons and surrounding communities in Paraguay. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35813-9>
83. **Sánchez, A. I. M., & Figueroa, C. A. (2019).** Medidas de protección respiratoria de tuberculosis en personal de salud: revisión integrativa. *Avances En Enfermería*, 37(3). <https://doi.org/10.15446/av.enferm.v37n3.77318>
84. **Sanger, F., Air, G. M., Barrell, B. G., Brown, N. L., Coulson, A. R., Fiddes, J. C., Hutchison, C. A., Slocombe, P. M., & Smith, M. (1977).** Nucleotide sequence of bacteriophage ϕ X174 DNA. *Nature*, 265(5596), 687-695. <https://doi.org/10.1038/265687a0>
85. **Satta, G., Lipman, M., Smith, G. P., Arnold, C., Kon, O. M., & McHugh, T. D. (2018).** Mycobacterium tuberculosis and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential?. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(6), 604-609.
86. **Segura, L. E., Kirchmayr, M. R., Flores, E. P., & Gschaedler, A. C. (2010).** PCR-RFLP de las regiones ITS-5.8 S como herramienta de identificación de levaduras: ventajas y desventajas. *e-Gnosis*, 8, 1-12.
87. **Sequera C, Mónica, Delgado S, Víctor, Araque M, Wolfan, Torrealba O, Mariela, Núñez M, Raimunda, Da Mata J, Omaira, Abadía P, Edgar, Takiff, Howard, & De Waard, Jacobus. (2008).** Mycobacterium tuberculosis: Espoligotipos en el Estado Carabobo, Venezuela. *Revista chilena de infectología*, 25(5), 362-367. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182008000500009>
88. **Sequera, G., Estigarribia-Sanabria, G., Aguirre, S., Piñanez, C., Martínez, L., Lopez-Olarte, R., Andrews, J. R., Walter, K. S., Croda, J., & Garcia-Basteiro, A. L. (2024).** Excess tuberculosis risk during and following incarceration in Paraguay: a

- retrospective cohort study. *The Lancet Regional Health - Americas*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2023.100668>
89. **Sequera, V. G., Aguirre, S., Estigarribia, G., Cellamare, M., Croda, J., Andrews, J. R., Martinez, L., & García-Basteiro, A. L. (2020a).** Increased incarceration rates drive growing tuberculosis burden in prisons and jeopardize overall tuberculosis control in Paraguay. *Scientific Reports*, 10(1), 21247. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77504-1>
 90. **Silva, C., Bermúdez, V., Arraiz, N., Bermúdez, F., Rodríguez, M., Valdelamar, L., & Leal, E. (2007).** Fármacos de primera línea utilizados en el tratamiento de la tuberculosis. https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-02642007000100004&script=sci_arttext
 91. **Single Nucleotide Polymorphism | EBSCO. (2024).** EBSCO Information Services, Inc. | www.ebsco.com. <https://www.ebsco.com/research-starters/health-and-medicine/single-nucleotide-polymorphism>
 92. **Soto, A. (2024).** Prisons as boosters of tuberculosis and drug resistance tuberculosis transmission in Latin America. *The Lancet Regional Health–Americas*, 31.
 93. **Souza, P. C. de, Couto, R. de M., Lacerda, A. B., Silva, P. R. de S., Espinosa, O. A., & Lima, J. C. (2025).** Tuberculosis in the incarcerated population: epidemiology and spatial analysis between 2014 and 2020. *Cogitare Enfermagem*, 30. <https://doi.org/10.1590/ce.v30i0.97841>
 94. **Sravanthi, K., Sattiraju, K. S., Paul, S., Nihal, N. G., Salunkhe, S., & Mane, S. V. (2024).** Robert Koch: From Anthrax to Tuberculosis – A Journey in Medical Science. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.72955>
 95. **Stucki, D., Brites, D., Jeljeli, L., Coscolla, M., Liu, Q., Trauner, A., Fenner, L., Rutaihwa, L., Borrell, S., Luo, T., Gao, Q., Kato-Maeda, M., Ballif, M., Egger, M., Macedo, R., Mardassi, H., Moreno, M., Vilanova, G. T., Fyfe, J., ... Gagneux, S. (2016).** Mycobacterium tuberculosis lineage 4 comprises globally distributed and

- geographically restricted sublineages. *Nature Genetics*, 48(12), 1535–1543. <https://doi.org/10.1038/ng.3704>
96. **Supply, P., Magdalena, J., Himpens, S., & Locht, C. (1997).** Identification of novel intergenic repetitive units in a mycobacterial two-component system operon. *Molecular Microbiology*, 26(5), 991-1003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.6361999.x>
97. **Tarajia, M., Jaramillo, F., Pernet, A., Santamaría, N., & Goodridge, A. (2014).** Dyspnoea, weight loss, fever, and headache caused by extrapulmonary tuberculosis in a prison inmate. *The Lancet*, 384(9951), 1400.
98. **Thawornwattana, Y., Mahasirimongkol, S., Yanai, H., Maung, H. M. W., Cui, Z., Chongsuvivatwong, V., & Palittapongarnpim, P. (2021).** Revised nomenclature and SNP barcode for *Mycobacterium tuberculosis* lineage 2. *Microbial Genomics*, 7(11). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000697>
99. **Utpatel, C., Zavaleta, M., Rojas-Bolivar, D., Mühlbach, A., Picoy, J., Portugal, W.,... & Huaman, M. A. (2024).** Prison as a driver of recent transmissions of multidrug-resistant tuberculosis in Callao, Peru: a cross-sectional study. *The Lancet Regional Health–Americas*, 31.
100. **Varela, L., Ortiz, J., García, P. K., Luna, L., Fuertes-Bucheli, J. F., & Pacheco, R. (2023).** Factores asociados al tratamiento no exitoso para tuberculosis en pacientes previamente tratados en Cali, Colombia, en el periodo 2015-2019. *Biomédica*, 43(3), 360-373. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6961>
101. **Verma, R., Moreira, F. M. F., do Prado Moraes, A. O., Walter, K. S., Dos Santos, P. C. P., Kim, E.,... & Andrews, J. R. (2022).** Detection of *M. tuberculosis* in the environment as a tool for identifying high-risk locations for tuberculosis transmission. *Science of the Total Environment*, 843, 156970.

102. **Vinueza, L. C., & Arias, P. J. (2021).** Distribution of Mycobacterium tuberculosis lineages in South America. *Anatomía Digital*, 4(3), 34-58. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v4i3.1755>
103. **Walker, L., LeVine, H., & Jucker, M. (2006).** Koch's postulates and infectious proteins. *Acta Neuropathologica*, 112(1), 1-4. <https://doi.org/10.1007/s00401-006-0072-x>
104. **Walter, K. S., esar Pereira dos Santos, P. C., Oliveira Gonçalves, T., Oliveira da Silva, B., da Silva Santos, A., de assia Leite, A. C., Moura da Silva, A., Martinez Figueira Moreira, F., Dias de Oliveira, R., Ferreira Lemos, E., Cunha, E., Liu, Y. E., Ko, A. I., Colijn, C., Cohen, T., Mathema, B., Croda, J., & Andrews, J. R. (2022).** The role of prisons in disseminating tuberculosis in Brazil: A genomic epidemiology study. *The Lancet Regional Health - Americas*, 9, 100186. <https://doi.org/10.1016/j>
105. **Walter, K. S., Martinez, L., Arakaki-Sanchez, D., Sequera, V. G., Estigarribia Sanabria, G., Cohen, T., Ko, A. I., García-Basteiro, A. L., Rueda, Z. V., López-Olarte, R. A., Espinal, M. A., Croda, J., & Andrews, J. R. (2021).** The escalating tuberculosis crisis in central and South American prisons. In *The Lancet* (Vol. 397, Issue 10284, pp. 1591–1596). Elsevier B.V. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32578-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32578-2)
106. **Warren, J. L., Grandjean, L., Moore, D. A. J., Lithgow, A., Coronel, J. Sheen, P., Zelner, J. L., Andrews, J. R., & Cohen, T. (2018).** Investigating spillover of multidrug-resistant tuberculosis from a prison: A spatial and molecular epidemiological analysis. *BMC Medicine*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12916-018-1111-x>
107. **Weniger, T., Krawczyk, J., Supply, P., Niemann, S., & Harmsen, D. (2010).** MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria. *Nucleic Acids Research*, 38(Web Server), W326-W331. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq351>

108. Yan, X., Yang, G., Wang, Y., Wang, Y., Cheng, J., Xu, P.,... & Nie, W. (2024). Nanopore sequencing for smear-negative pulmonary tuberculosis—a multicentre prospective study in China. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 23(1), 51.
109. **Yela, E., Puig, L., De Odrizola, M., Flores-Imbernon, À., Girado, N., Jacas, A., Llopart, M., Macías, C., Mellado, S., Rue, X., Sánchez-Encomienda, P., Serrats, M., Tost, J., & Turu, E. (2024).** Tuberculin Test Measurement at 48 and 72 hours: mismatch and clinical significance. *Revista Española de Sanidad Penitenciaria*, 26(3), 92-97. <https://doi.org/10.18176/resp.00094>
110. **Zenteno-Cuevas, R., Fernández-Morales, E., Munro-Rojas, D., & Muñiz-Salazar, R. (2018).** Epidemiología molecular de la tuberculosis respiratoria en México. *La tuberculosis en México*. 1a ed. Baja California: UABC, 79-97.
111. **Zhou, G., Luo, Q., Luo, S., Teng, Z., Ji, Z., Yang, J.,... & Bao, F. (2020).** Interferon- γ release assays or tuberculin skin test for detection and management of latent tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(12), 1457-1469.
112. **Van Soolingen, D., Hermans, P. W., De Haas, P. E., Soll, D. R., & Van Embden, J. D. (1991).** Occurrence and stability of insertion sequences in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *Journal Of Clinical Microbiology*, 29(11), 2578-2586. <https://doi.org/10.1128/jcm.29.11.2578-2586.1991>
113. **Zhuang, L., Ye, Z., Li, L., Yang, L., & Gong, W. (2023).** Next-Generation TB Vaccines: Progress, Challenges, and Prospects. *Vaccines*, 11(8), 1304. <https://doi.org/10.3390/vaccines11081304>
114. **Pal, R., Bisht, M. K., & Mukhopadhyay, S. (2022).** Secretory proteins of *Mycobacterium tuberculosis* and their roles in modulation of host immune responses: focus on therapeutic targets. *FEBS Journal*, 289(14), 4146-4171. <https://doi.org/10.1111/febs.16369>

115. **Yang, Y., Chen, Y.-Z., & Xia, T. (2024).** Optimizing antigen selection for the development of tuberculosis vaccines. *Cell Insight*, 100163. <https://doi.org/10.1016/j.cellin.2024.100163>
116. **An, Y., Ni, R., Zhuang, L., Yang, L., Ye, Z., Li, L., Parkkila, S., Aspatwar, A., & Gong, W. (2025).** Tuberculosis vaccines and therapeutic drug: challenges and future directions. *Molecular Biomedicine*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s43556-024-00243-6>
117. **Wang, J., Fan, X., & Hu, Z. (2024).** Immune correlates of protection as a game changer in tuberculosis vaccine development. *Npj Vaccines*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41541-024-01004-w>
118. **Tait, D. R., Hatherill, M., Van Der Meeren, O., Ginsberg, A. M., Van Brakel, E., Salaun, B., Scriba, T. J., Akite, E. J., Ayles, H. M., Bollaerts, A., Demoitié, M., Diacon, A., Evans, T. G., Gillard, P., Hellström, E., Innes, J. C., Lempicki, M., Malahleha, M., Martinson, N.,... Roman, F. (2019).** Final Analysis of a Trial of M72/AS01E Vaccine to Prevent Tuberculosis. *New England Journal Of Medicine*, 381(25), 2429-2439. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1909953>
119. **Del Molino MI, P., Bastida, T., V., Mr, G. R., & FI, L. L. (2002b, marzo 1).** Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis. *Medicina Integral*. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-diagnostico-microbiologico-tuberculosis-13029946>
120. **Walter, K. S., Lemos, E. F., Alves, A. P. C. A., Ferreira, G. F. C., Coutinho, V. M. M., Mathema, B.,... & Andrews, J. R. (2024).** M. tuberculosis transmission dynamics in congregate settings: a genomic epidemiology study. *medRxiv*, 2024-12.