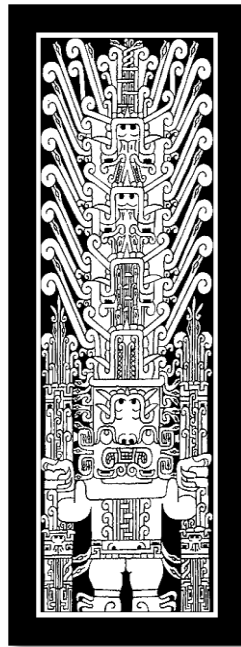


**UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA
ESCUELA DE LABORATORIO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA
ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**



BACTERIAS Y HONGOS EN EL HUMO ASPIRADO DEL CIGARRILLO

Tesis Presentada Para Obtener El Título De
Tecnólogo Médico
Universidad Nacional Federico Villarreal

Bachilleres: Capcha Sánchez Jhimer Misael, Chávez Salazar John Crismann.

LIMA – PERÚ

2017

BACTERIAS Y HONGOS EN EL HUMO ASPIRADO DEL CIGARRILLO

Tesis Presentada Para Obtener El Título De

Tecnólogo Médico

Universidad Nacional Federico Villarreal

Bachilleres: Capcha Sánchez Jhimer Misael, Chávez Salazar John Crismann.

ASESOR:

MG. CESAR GUERRERO BARRANTES.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
ABREVIATURAS.....	3
INTRODUCCION.....	4
CAPITULO I DESCRIPCION DEL PROBLEMA	
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACION DEL PROBLEMA.....	7
1.2. OBJETIVOS	8
1.3. JUSTIFICACION E IMPORTANCIA	8
1.4. LIMITACIONES	9
CAPITULO II MARCO TEÓRICO	
2.1.. BASES TEORICAS.....	10
2.2.1. TIPOS DE CONSUMO DE TABACO.....	10
2.2.3. COMPONENTES QUIMICOS DEL HUMO DE CIGARRILLO Y DAÑOS EN LA SALUD.....	15
2.2.4. EL CAMBIO DEL CIGARRILLO.....	18
2.2.5. MICROBIOLOGIA DEL TABACO.....	19
2.2.6. MICROBIOLOGIA DEL HUMO DE CIGARRILLO	20
2.2.7. EL GÈNERO <i>Bacillus</i>	21
2.2.8. ENFERMEDADES ASOCIADAS A <i>Bacillus</i>	22
2.3. DEFINICION DE TERMINOS BÁSICOS.....	23
CAPITULO III MÉTODO.....	24
CAPITULO IV RESULTADOS.....	32
CAPITULO V DISCUSIÓN.....	35
CAPITULO VI CONCLUSIONES.....	37
CAPITULO VII RECOMENDACIONES.....	37
CAPITULO VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
ANEXOS.....	44
A. MATRIZ DE CONSISTENCIA	
B. FICHA DE RECOLECCION DE DATOS	
C. GLOSARIO	

DEDICATORIA

A Dios, por iluminar el camino de nuestras vidas. A nuestros padres, por sus consejos y permanente apoyo. A los profesores, por sus enseñanzas y por incentivar a la investigación, y a la universidad por formar parte de nuestras vidas.

AGRADECIMIENTOS:

A nuestro asesor, Mg. César Guerrero Barrantes, por su apoyo incondicional y desinteresado que amablemente nos brindó en la elaboración de esta investigación, estamos muy agradecidos.

Al Dr. Alfredo Guillen Oneeglio, por su amistad, confianza y valiosa cooperación que nos supo brindar al inicio de este trabajo.

A los profesores que nos formaron durante estos años de estudios en la Universidad.

RESUMEN

Los cigarrillos pueden ser considerados una fuente directa de microorganismos que llegarían a colonizar el tracto respiratorio de fumadores activos, especialmente en inmunodeprimidos y desencadenar una serie de enfermedades pulmonares. El objetivo de este estudio fue determinar bacterias y hongos en el humo aspirado de los cigarrillos. Estudio transversal y prospectivo de diseño no experimental. Se realizó en los ambientes del Laboratorio de la Facultad de Tecnología Médica-UNFV, durante los años 2016 y 2017; donde se procesaron en total 20 cajetillas de cigarrillos (200 unidades) de cuatro marcas diferentes (marca A, marca B, marca C y marca D; 5 cajetillas de 10 unidades por cada marca); de las cuales, las tres primeras marcas presentaban filtro y la marca D fueron cigarrillos sin filtro. Para estas cuatro marcas se utilizó un sistema de “aspiración mecánica” con el fin de concentrar el humo de los cigarrillos, este sistema está constituido por un matraz de kitazato (500 ml) con medios de cultivo líquidos en su interior (caldo nutritivo y caldo Sabouraud), tampón fosfato salino (PBS), pipeta graduada (10 ml), jeringa de 60 ml, conductos y tapones de jebe. Los microorganismos aislados a partir del humo aspirado mecánicamente fueron bacterias pertenecientes al género *Bacillus spp*, pero no hongos; observándose que en 4 cajetillas de las 10 analizadas de las marcas A y B (40% de crecimiento para cada marca) y en una de la marca C (20%) hubo crecimiento bacteriano, mientras que en la marca D (100%) (Cigarrillos sin filtro) se obtuvo crecimiento en todas las cajetillas. Se concluye que el humo aspirado de cigarrillos presenta bacterias esporuladas y que éstas son arrastradas a través de éste.

Palabras claves: cigarrillos, humo aspirado, *Bacillus spp*.

SUMMARY

Cigarettes can be considered a direct source of microorganisms that could colonize the respiratory tract of active smokers, especially in immunocompromised patients and trigger a series of lung diseases. The objective of this study was to determine bacteria and fungi in the smoke aspirated from cigarettes. Cross-sectional and prospective study of non-experimental design. It was carried out in the environments of the Laboratory of the Faculty of Medical Technology-UNFV, during the years 2016 and 2017; where a total of 20 packs of cigarettes (200 units) of four different brands were processed (brand A, brand B, brand C and brand D, 5 packs of 10 units for each brand); of which, the first three brands had a filter and the D brand were unfiltered cigarettes. For these four brands a system of "mechanical aspiration" was used in order to concentrate the cigarette smoke, this system is constituted by a flask of kitazato (500 ml) with liquid culture media in its interior (nutritious broth and broth Sabouraud), phosphate buffered saline (PBS), graduated pipette (10 ml), 60 ml syringe, ducts and rubber stoppers. The microorganisms isolated from the smoke mechanically aspirated were bacteria belonging to the genus *Bacillus* spp, but not fungi; observing that in 4 packs of the 10 analyzed of the marks A and B (40% of growth for each brand) and in one of the brand C (20%) there was bacterial growth, while in the brand D (100%) (cigarettes without filter) growth was obtained in all packs. It is concluded that the smoke inhaled from cigarettes presents sporulated bacteria and that they are dragged through it.

Key words: cigarettes, aspirated smoke, *Bacillus* spp.

ABREVIATURAS

IARC	: Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer.
EPOC	: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
OMS	: Organización mundial de la salud.
NTP	: Programa nacional de toxicología de los Estados Unidos.
MS	: Corriente principal.
SS	: Corriente secundaria.
LPS	: Lipopolisacáridos.
UFC	: Unidad formadora de colonias.
LAL	: Lisado de amebocitos del <i>Limulus</i> .
TLR	: Receptores tipo toll
TNFα	: Factor de necrosis tumoral tipo alfa
IL-1β	: Interleucina 1-beta
LIF	: Factor inhibidor de la leucemia
OSM	: Oncostatina M

INTRODUCCIÓN

Fumar cigarrillo es la principal causa de cáncer de pulmón según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, 2012), un organismo especializado de cáncer de la Organización Mundial de la Salud (OMS); también es considerado como el principal factor de riesgo para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (Zamarro, 2011). El tabaquismo es reconocido como un factor importante para una gran variedad de enfermedades cancerígenas tales como cáncer de pulmón, cáncer esofágico, cáncer de riñón, cáncer oral, cáncer péptico y cáncer pancreático, siendo las más prevalentes en fumadores activos (Samet, 2002). Además, la inflamación crónica asociada con el humo de cigarrillo induce la transformación maligna y proliferación de células tumorales y promueve ciertas enfermedades no neoplásicas (Pauly et. al. 2011). Muchos estudios han evaluado los productos químicos, tóxicos y elementos carcinógenos en el humo de tabaco; en 1985, diferentes grupos de investigación se reunieron para identificar los productos químicos en el humo del tabaco, que tienen más probabilidades de ser cancerígenos para los seres humanos (Borgerding, 2005). Se sabe que el humo de cigarrillo se compone de al menos 5.300 productos químicos diferentes (Rodgman, 2009), sin embargo, pocos estudios han evaluado los componentes bacterianos del cigarrillo y su posible función en las enfermedades asociadas al tabaquismo (Zamarro, 2011; Samet, 2002)

ANTECEDENTES:

Curby (1967), en Massachusetts (Brooks Hospital), realizó un estudio para determinar si los organismos biológicos que están en la hoja del tabaco, pueden ser encontrados viables en el humo aspirado al ser arrastrados a través del filtro de los cigarrillos; se observó que la actividad biológica fue detectada en 4 marcas de cigarrillos analizados, donde el tipo de bacteria predominante fue *Achromobacter*, además de *Bacillus subtilis*. Asimismo, Wood (1968), en Southampton (Inglaterra); evaluó si los microorganismos pueden transferirse, en forma viable, al humo principal del cigarrillo; para lo cual se utilizaron filtros bacteriológicos y dos sistemas de captación de humo, dando como resultados en los 6 filtros utilizados la presencia de bacterias y hongos, tales como *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp*, *Aspergillus spp* y *Penicillium spp.*; sin embargo sustentaron que hay razones para creer que estos pueden haber surgido debido a la contaminación casual. Por otro lado, Larsson et. al, (2012); en EE.UU, compararon las cantidades de ergosterol y LPS en el humo del tabaco de algunos cigarrillos populares en Estados Unidos, el tabaco para cigarrillos de las diferentes marcas contenía 6,88 a 16,17 pmol/mg de LPS y 8,27 a 21,00 ng de ergosterol /mg (correlación directa entre las cantidades de ergosterol y LPS de la hoja de tabaco y el humo de la corriente principal recogido mediante succión continua); los porcentajes correspondientes para el humo secundario recogido sin ninguna succión en curso fueron 0,30 a 0,82% (ergosterol) y 0,42 a 1,10% (LPS), y para el humo principal recogido de ocho caladas fue 2,18% (ergosterol) y 2,56% (LPS).

Por otra parte Sapkota et. al., (2010) estudiaron el metagenoma bacteriano presentes en cigarrillos disponibles comercialmente, recolectándose 20 cajetillas durante el año 2007; se reportaron quince clases diferentes de bacterias y una amplia gama de microorganismos potencialmente patógenos en todas las muestras de cigarrillos analizados. Se detectó *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia spp* en más del 90% de todas las muestras de cigarrillos, otras bacterias detectadas incluyen *Campylobacter*, *Enterococcus*, *Proteus*, y *Staphylococcus spp*. Asimismo, Hasday et. al., (1999) determinaron si el Lipopolisacárido presente en el humo del cigarrillo, es un componente biológicamente activo, se utilizó el lisado de amebocitos del limulus (LAL) midiéndose LPS en los componentes del tabaco y la punta del filtro de los cigarrillos sin fumar, además en las partículas del humo principal y secundario aspirados mediante una máquina de fumar. Se detectó LPS tanto en el tabaco como en el humo principal y secundario.

De ahí que el objetivo de este estudio es evaluar la presencia de bacterias y hongos que pueden presentarse en forma de aerosol en el humo del cigarrillo y pueden llegar por arrastre y colonizar de alguna forma el tracto respiratorio.

CAPITULO I

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

El tabaquismo es un problema social y de salud pública, reconocido como un factor de riesgo para una amplia gama de enfermedades respiratorias en niños y adultos, incluyendo el resfriado común, la gripe, el asma, la neumonía bacteriana, y la enfermedad pulmonar intersticial (Murin, 2000). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016), la mortalidad es de 6 millones de personas al año, de las cuales más de 5 millones son consumidores directos y más de 600 000 son no fumadores expuestos al humo ajeno. Diversos estudios revelan que pocas personas comprenden los riesgos específicos para la salud que encierra el consumo de tabaco; por ejemplo, un estudio realizado en China en el 2009, reveló que un 38% de los fumadores activos sabían que el tabaco provocaba cardiopatía coronaria y solo un 27%, que ocasionaba accidentes cerebrovasculares (OMS, 2016). Por otro lado, el tabaquismo en gestantes ha sido asociada a un gran número de patologías obstétricas, neonatales y del desarrollo; siendo considerada la exposición al cigarrillo in útero como una forma de exposición pasiva, ya que el feto no está directamente expuesto al humo (Maggiolo, 2017). Los fumadores muestran mayor colonización bacteriana subgingival que los no fumadores, el cual guarda relación directa con el número de cigarrillos consumidos al día, de tal manera que los fumadores de al menos 10 cigarrillos por día presentan entre 2,5-6 veces más periodontitis que los no fumadores (Tomar, 2000). Un estudio *in vitro* ha demostrado una mayor adherencia de *Streptococcus pneumoniae* a las células epiteliales en la cavidad oral del fumador, persistiendo hasta tres años después del abandono del hábito de fumar; además, el tabaquismo está asociado a un aumento significativo del riesgo de neumonía y enfermedad neumocócica invasiva (Raman, 1983).

Asimismo, uno de los problemas que se ha visto en los fumadores crónicos es el desarrollo de candidiasis oral, ya que dicho hábito conlleva a alteraciones epiteliales que facilitan la colonización por esta levadura (Soysa, 2005).

Por todo lo expuesto anteriormente, los microorganismos presentes en la hoja de tabaco podrían considerarse un factor de riesgo importante que llegaría por arrastre, a través del humo, al tracto respiratorio y provocar una serie de enfermedades pulmonares.

1.2.FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

1.2.1. PREGUNTA GENERAL:

- ¿Habrá microorganismos en el humo aspirado del cigarrillo?

1.2.2. PREGUNTAS ESPECÍFICAS:

- ¿Qué bacterias están presentes en el humo aspirado del cigarrillo?
- ¿Qué hongos están presentes en el humo aspirado del cigarrillo?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la presencia de microorganismos en el humo aspirado del cigarrillo

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la presencia de bacterias en el humo aspirado del cigarrillo
- Determinar la presencia de hongos en el humo aspirado del cigarrillo

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:

Diversos estudios confirman la presencia de microorganismos potencialmente patógenos en la hoja de tabaco, estos podrían llegar por arrastre a través del humo a las vías respiratorias y desencadenar una serie de enfermedades pulmonares. Por lo tanto, los cigarrillos podrían considerarse una fuente directa de microorganismos que llegarían a colonizar el tracto respiratorio de fumadores activos, especialmente en inmunodeprimidos.

Por tal razón sería importante, en primera instancia, demostrar que estos microorganismos presentes en la hoja de tabaco son arrastrados en el proceso de aspirado.

1.5. LIMITACIONES:

Entre las limitaciones resaltantes del estudio se puede mencionar que:

- i.** No se contó con equipos automatizados ni pruebas de Biología Molecular para la identificación de las bacterias y hongos presentes en el humo aspirado del cigarrillo.

CAPITULO II


MARCO TEÓRICO

2.1. BASES TEÓRICAS

2.1.1. Tipos de consumo de tabaco.

Las hojas de tabaco representan un cincuenta por ciento de la composición del cigarrillo, un treinta por ciento por tabaco reconstituido y el veinte por ciento está constituido por tabaco expandido con CO₂; el principal componente de la hoja de tabaco es la nicotina, que tiene una absorción rápida llegando al cerebro en tan solo 10 segundos, esto explica su elevado poder adictivo; diversos estudios confirman que la nicotina que el fumador consume, aumentó en diez por ciento en los seis últimos años, haciendo que el dejar de fumar resulte mucho más difícil (Ministerio de salud, Argentina).




Los cigarrillos representan el mayor porcentaje de productos de tabaco elaborados en todo el mundo: con un 96 % de todas las ventas, a excepción del tabaco de mascar en la India y fumar Kreteks en Indonesia, los cigarrillos constituyen las formas de consumo más popular en todo el mundo (Shafey et. al., 2009). La introducción al mercado de la maquinaria enrolladora de cigarrillos en el año de 1881, multiplicó el consumo del tabaco al hacer factible la elaboración en cantidad del “cigarrillo de bolsillo”, con esto se logró que el cigarrillo pueda ser trasladado de manera portátil, contribuyendo a la adicción del consumidor (Shafey et. al., 2009).

TABACO SIN HUMO	DESCRIPCION
<p>Rapé húmedo</p> 	<p>Es una pequeña cantidad de tabaco molido sostenido en la boca entre la mejilla y la encía. También son conocidos khaini, snus, shammaah, nass o naswa. Mayor prevalencia: Todo el mundo</p>
<p>Rapé seco</p> 	<p>Es un tabaco en polvo que se inhala a través de la nariz y se absorbe a través de la mucosa nasal o se toma oralmente. Aunque alguna vez su uso fue extendido actualmente está en declive. Mayor prevalencia: Europa</p>
<p>Tabaco de mascar</p> 	<p>Estos productos se colocan en la boca, mejillas o labio interno y se chupan o mastican. Algunas veces llamados "tabaco de escupir" porque los usuarios escupen la acumulación de jugos y saliva de tabaco,. El tabaco sin humo causa cáncer en humanos y lleva a una adicción a la nicotina similar a aquella que produce el fumar un cigarrillo. Mayor prevalencia: India</p>

Cuadro 1: Tabaco sin humo.

Fuente: Shafey et. al.. (2009). El atlas del Tabaco. Recuperado de <https://coalicioncmct.files.wordpress.com/2010/07/atlas-del-tabaco.pdf>

HUMO DE TABACO	DESCRIPCION
<p data-bbox="225 266 419 297">Roll-your-own</p> 	<p data-bbox="810 266 1350 813">Son cigarrillos de tabaco enroscados, con papel, por los funadores. Por lo que están expuestos a altas concentraciones de partículas de tabaco, alquitrán, nicotina y nitrosaminas específicas del tabaco (TSNA), y están en un gran riesgo de desarrollar cánceres de la boca, faringe, laringe, pulmones y esófago.</p> <p data-bbox="810 853 1315 884">Prevalencia: Europa y Nueva Zelanda</p>
<p data-bbox="225 929 363 960">Cigarrillos</p> 	<p data-bbox="810 929 1331 1104">Representa el producto de tabaco más consumido a nivel mundial. Presenta un filtro de acetato de celulosa.</p> <p data-bbox="810 1220 1289 1252">Mayor prevalencia: Todo el mundo</p>
<p data-bbox="225 1296 336 1328">Cigarros</p> 	<p data-bbox="810 1296 1358 1619">Están compuestos de tabacos curados y fermentados con una envoltura de hoja de tabaco. Las concentraciones de toxinas e irritantes en los cigarros son más altas que en los cigarrillos.</p> <p data-bbox="810 1659 1289 1691">Mayor prevalencia: Todo el mundo</p>

<p>Bidis</p> 	<p>Contituido por una pequeña cantidad de tabaco secado al sol y escamado, enrollado a mano en hojas de temburni o tendu (<i>Diospyros</i> sp.). Los bidis producen más alquitrán y monóxido de carbono que los cigarrillos porque los usuarios se ven forzados a absorber con más fuerza para mantener los bidis encendidos.</p> <p>Mayor prevalencia: Sur de Asia, india.</p>
<p>Kreteks</p> 	<p>Estos son cigarrillos con sabor a clavo de olor, contienen un amplio rango de sabores exóticos y eugenol, que tiene un efecto anestésico.</p> <p>Mayor prevalencia: Indonesia</p>
<p>Pipas</p> 	<p>Están fabricadas de brezo, pizarra, arcilla u otras sustancias. El tabaco se coloca en el cuenco y el humo se inhala a través del tallo. En el Asia las pipas de arcilla son conocidas como sulpa, chillum y hookly son muy utilizadas.</p> <p>Mayor prevalencia: Todo el mundo</p>

<p>Pipas de agua</p> 	<p>También son conocidas como shishas, narguiles o pipas turcas, operan por filtración de agua y calor indirecto. Se quema tabaco saborizado en un cuenco cubierto con láminas de metal y carbón. El humo se enfría por filtración a través de un tazón de agua y se consume a través de una manguera y una pieza bucal.</p> <p>Mayor prevalencia: Norte de África, región del Mediterráneo y partes de Asia.</p>
<p>Bastones</p> 	<p>Fabricados con tabaco curado al sol y envueltos en papel de cigarrillo, por ejemplo, los “brus” enrollados a mano.</p> <p>Mayor prevalencia: Papúa Nueva Guinea</p>

Cuadro 2: Humo de tabaco.

Fuente: Shafey et. al.. (2009). El atlas del Tabaco. Recuperado de <https://coaliccioncmct.files.wordpress.com/2010/07/atlas-del-tabaco.pdf>

2.1.2. Componentes químicos del humo de cigarrillo y daños en la salud

El humo del cigarrillo se produce al quemar un material orgánico complejo, como es el tabaco, junto con varios aditivos y papel a una temperatura elevada (U.S.DHEW, 1964).

A lo largo de los años se han realizado estudios para definir la composición química del humo del tabaco, con la finalidad de identificar productos que pueden representar un riesgo significativo para la salud (Borgerding, 2005).

En la actualidad se sabe que el humo de tabaco se compone de aproximadamente 5.300 productos químicos diferentes y la mayoría de estos son tóxicos y carcinógenos que se deben a la quema (pirólisis) del tabaco; adicionalmente, se han encontrado restos de pesticidas y otros productos agroquímicos en la hoja de tabaco (Rodgman y Perfetti, 2009). La capacidad adictiva del tabaco se debe principalmente a la nicotina, el principal alcaloide del humo de cigarrillo (Hukkanen et al., 2005), debemos hacer énfasis que todas las formas de consumo de tabaco son “adictivas y letales” (Shafey et al., 2009). Hay una gran evidencia en de que el tabaquismo causa enfermedad, en el humo existen compuestos que causan toxicidad, como el cianuro de hidrógeno, la benzo(a) pirina, monóxido de carbono y oxidos de nitrógeno, esta toxicidad lo estudiaron exponiendo a animales y líneas celulares al humo y su condensado; por otro lado, valoraron biomarcadores como: niveles de enzimas y citocinas, cambio de tejido en lesiones de fumadores como consecuencia del tabaquismo (Samet , 2002). Se han descritos daños permanentes de pequeñas vías respiratorias de fumadores (Niewoehner, 1974), también se sabe que el fluido de los pulmones presenta mayor cantidad de células inflamatorias en comparación de los no fumadores (U. S. DHHS, 1990). Por medio del desarrollo de la biología molecular se puede detectar los cambios específicos que producen los componentes cancerígenos del humo (Denissenko, 1996).

Los fumadores enfrentan riesgos significativos de muerte por numerosos cánceres especialmente cáncer de pulmón (Shafey et. al.. 2009); se conoce también que la inflamación crónica provocada por diversos agentes tiene una asociación directa con la transformación maligna, el crecimiento tumoral y probablemente metástasis tumoral (Coussens , 2002), dentro de los ejemplos prototípicos de la asociación de inflamación crónica y cáncer tenemos: el humo de cigarrillo y el cáncer de pulmón, amianto y mesotelioma maligno, *Helicobacter pylori* en el cáncer de estómago, la exposición a la luz solar con melanoma maligno, aflatoxina y cáncer de hígado, el virus del papiloma en el cáncer de cuello uterino (Pauly, 2011); por lo cual, de esto podemos afirmar que la transformación maligna en diversos tejidos se debe a la inflamación crónica que producen diversos agentes, en este caso el “humo de cigarrillo” (Pauly, 2011), una considerable cantidad de literatura científica mencionan: que el tabaquismo prolongado tiene efectos adversos sobre el sistema inmune tanto en la respuesta inmune inata como adaptativa (Stämpfli, 2009).

En la Figura N° 1 se detalla cómo el sistema inmune reacciona frente al tabaquismo

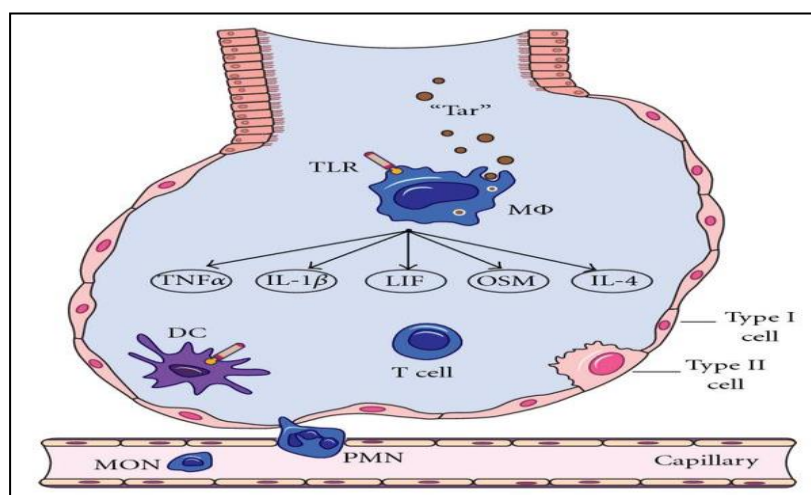


Figura N° 1: Esquema de un alvéolo que representa el efecto del humo de cigarrillo inhalado sobre la estructura terminal del pulmón. Las partículas "Tar" del humo del cigarrillo inhaladas profundamente en el pulmón, son reconocidas por los macrófagos. La fagocitosis de macrófagos del "Tar" rico en químicos, provoca la producción de diversos mediadores pro-inflamatorios. Los macrófagos tienen receptores tipo toll (TLR) que reconocen diversos microbios y toxinas (LPS

es reconocido por TLR-4). La imagen muestra la producción de 5 citocinas pro-inflamatorias: factor de necrosis tumoral tipo alfa ($TNF\alpha$), interleucina 1-beta ($IL-1\beta$), factor inhibidor de la leucemia (LIF), oncostatina M (OSM) e Interleukin-4 IL-4. Estos factores solubles interactúan con otras células del pulmón, y se cree que la respuesta de estas células acelera, amplifica y prolonga la inflamación pulmonar.

Fuente: Pauly J. et. al.. (2011). Cigarette Smoke, Bacteria, Mold, Microbial Toxins, and Chronic Lung Inflammation. Recuperado de <https://www.hindawi.com/journals/jo/2011/819129/fig1/>

El tabaquismo también produce accidentes cerebrovasculares, problemas cardíacos y enfermedades respiratorias (Shafey et. al.. 2009), los fumadores muestran desarrollo de una mayor colonización bacteriana subgingival que los no fumadores, de la misma forma, tienen más probabilidad de desarrollar periodontitis que los no fumadores (Tomar, 2000). Asimismo, el tabaquismo está asociado a un riesgo significativo de padecer neumonía (Raman, 1983). Inclusive, uno de los problemas que se ha visto en los fumadores crónicos es el desarrollo de Candidiasis oral, ya que dicho hábito conlleva a alteraciones epiteliales que facilitan la colonización por esta levadura (Soysa, 2005). Así mismo, los consumidores de cigarros, pipas, y bidis presentan los mismos riesgos de salud que los fumadores de cigarrillos, los famosos cigarrillos bajos en alquitrán no reducen los peligros del tabaquismo, resaltar que las personas que mascan tabaco presentan riesgos elevados de cánceres a nivel bucal, labios, lengua, paladar y a nivel faríngeo (Shafey et. al.. 2009). Los fumadores activos y pasivos presentan riesgos sumamente graves para las mujeres embarazadas, los bebés y los niños, los efectos del tabaco durante el embarazo son diversos, lo más importantes son el desprendimiento de placenta, placenta previa, embarazo ectópico, aborto espontáneo, parto prematuro y mortinato (Cnattingius, 1997). Se ha demostrado que reduce el peso del bebé en el nacimiento en cerca de 200 gramos en promedio y el grado de reducción se relaciona con la cantidad que se fuma (Charlton, 1996). Se estima que el tabaquismo sería el responsable de cerca del 18% de los casos de bajo peso de nacimiento, de un riesgo

aumentado de muerte súbita del lactante y mortalidad perinatal, además de alteraciones neurocognitivas, cáncer y malformaciones congénitas (Cnattingius, 2004).

En esencia podemos expresar que el tabaquismo causa una gran variedad de enfermedades y los riesgos para la salud son abrumadores, “El tabaco puede matar de tantas maneras que es considerado como un factor de riesgo para seis de las ocho mayores causas de muerte en el mundo” (Chan M.; OMS, 2008) pero abandonar el hábito de fumar reduce considerablemente todos estos riesgos y produce beneficios inmediatos, debemos recordar que las consecuencias del tabaquismo activo o pasivo son totalmente “prevenibles” solo es cuestión de cambiar la cultura de la sociedad actual (Shafey et. al.. 2009).

2.1.3. **El cambio del cigarrillo**

También debemos resaltar que el cigarrillo presentó cambios en cuanto a su estructura, tales como aumento de la longitud (85 mm extra grande y extra larga de 120), para algunas marcas, reducción de la circunferencia (23 mm cigarrillos "slim"), y variación en la mezcla de tabacos naturales y los procesos de curado, así como también la introducción de aditivos al tabaco (carcasas) que incluyen diversos aromas (regaliz y miel), humectantes para retener la humedad del tabaco, mentol para aliviar la irritación del humo, la nicotina para mejorar el efecto farmacológico, así como la adicción, la aplicación de diversos pegamentos y tinta de impresión, la configuración de los diversos materiales del filtro del cigarrillo (acetato de celulosa, papel o combinación de ambos), la variación en el diseño del filtro (longitud del filtro, la empaquetadura de fibra, la densidad y la ventilación del filtro) para efectuar la entrega de alquitrán (cigarrillos de sabor completo frente a los cigarrillos bajos en alquitrán ultraligeros), el tipo de papel, la porosidad del papel, con aceleradores de quemaduras para promover la quema (Wayne, 2009).

Estas variaciones de los cigarrillos detalladas líneas atrás que incluyen: incorporación de los filtros, cigarrillos bajos en alquitrán, etc., no han disminuido los riesgos del tabaquismo sobre la salud, según una revisión científica especializada (U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA; Washington, 2010).

2.1.4. Microbiología del tabaco.

Existe una preocupación de los posibles riesgos para la salud asociados con diversos elementos microbianos que se sabe que existen en el tabaco que se comercializan actualmente (Pauly, 2011). Desde 1970 se realizaron diversos estudios acerca de la composición microbiológica del tabaco; en estas investigaciones se hizo el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC), determinaron el número de bacterias y mohos después de ser cosechados; además, se comparó con el tabaco obtenido en las etapas de curado (proceso de secado), la fermentación y almacenamiento por periodos prolongados, en sus resultados se obtuvieron más de un millón de bacterias en cigarrillos de 100 mm que tiene alrededor de 0.9 gr (Pauly, 2011). En otros estudios se realizó el aislamiento de bacterias, así como la identificación de ocho especies de *Bacillus spp.* en los cigarrillos recogidos del personal militar durante una investigación de neumonitis eosinofílica aguda, entre las personas que fueron desplegados durante la Operación Libertad Iraquí (Rooney, 2005); en otro estudio recuperaron *Bacillus sp.*, incluyendo *Bacillus subtilis* de las hojas de tabaco frescas recogidas en una planta de fabricación de tabaco (Larsson et al., 2008). En un estudio realizado en el 2010 “La metagenómica bacteriana de cigarrillos”, en el que se usó un microensayo de taxonomía por rRNA 16S, métodos de clonación y secuenciación; se analizaron marcas como: Camel, Marlboro, Kool, y Lucky Strike, presentaron resultados interesantes ya que mostraron que el número de microorganismos puede ser tan grande como los productos químicos, se identificaron quince clases de bacterias, lo

relevante fue que se identificaron microorganismos patógenos para el hombre, más del 90% de las muestras de tabaco de los cigarrillos contenían *Actinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Campylobacter*, *Enterococcus*, *Proteus* y *Staphylococcus spp.* (Sapkota, 2010).

Asimismo, (Forgacs, 1966) afirmó haber examinado micológicamente una serie de productos de tabaco, incluidos los cigarrillos comprados en el mercado abierto, observó que el tabaco de todos los cigarrillos contenía micelios de hongos y esporas. De esto podemos afirmar, sin lugar a duda que el tabaco se encuentra poblado de microorganismos (bacterias y hongos), y que probablemente tenga alguna implicancia con las infecciones desarrolladas en los fumadores crónicos.

2.1.5. Microbiología del humo de cigarrillo

En un informe señalan la posible transferencia de microorganismos viables en el humo de tabaco MS (corriente principal), se utilizaron dos esquemas para atrapar el humo del cigarrillo, se observó el crecimiento de microbios, sin embargo, se encontraron problemas técnicos que incluían una baja reproducibilidad y toxicidad por humo (Wood, 1968). En otra investigación se realizó estudios comparativos para determinar la actividad microbiológica en el humo de cigarrillos con filtro y sin filtro, diferentes marcas populares de cigarrillos se obtuvieron de los vendedores locales en Brookline, Massachusetts, EE.UU. Se realizaron análisis comparativos de las bacterias liberadas de los cigarrillos que habían sido "ahumados en frío" (no encendidos) o fumados de la manera habitual (encendidos). Se hallaron bacterias viables en el humo de todos los cigarrillos probados, pero los resultados no fueron concluyentes (Curby, 1967).

Wood, (1968), sostiene "la posibilidad de que las esporas viables puedan ser transferidas al humo principal y así entrar en los pulmones, incluso en pequeñas cantidades podrían tener claramente efectos nocivos, mientras que un gran número de

microorganismos por lo demás inofensivos podría conducir a una concentración significativa de material genético, incluso durante la etapa vegetativa de su residencia en el tabaco, los microorganismos podrían producir toxinas que podrían transferirse directamente al humo o metabolitos que al quemar podrían dar componentes tóxicos del humo”. Según lo expuesto anteriormente y hasta donde sabemos en términos de humo del cigarrillo, la microbiología del humo aún no ha sido estudiada al detalle. Hasta la fecha, la mayoría de los estudios sobre los componentes microbiológicos del humo del cigarrillo se han centrado en endotoxinas, se demostró por primera vez, que tanto la corriente principal y secundaria del humo del cigarrillo contiene niveles significativos de endotoxinas bacterianas (que van desde $18 \pm 1,5$ ng / cigarrillo a 120 ± 64 ng / cigarrillo) (Hasday, 1999). Desde entonces, otros grupos han demostrado que fumar en lugares cerrados aumenta significativamente las concentraciones de endotoxinas en el aire interior en parámetros experimentales, así como en los hogares (Rennie, 2008). En otro estudio demostraron que los niveles elevados de ácido murámico, un marcador de peptidoglicano, también están presentes en el humo del tabaco (Larsson, 2008). Sin embargo, más allá de estos indicadores bacterianos, muy poco trabajo se ha realizado para evaluar las células viables que podrían estar presente en el humo del cigarrillo.

2.1.6. El género *Bacillus*

El género *Bacillus*, esta dentro de la familia *Bacillaceae*, incluyen más de 60 especies de bacilos gram positivos aerobios o anaerobios facultativos que forman endosporas, tienen un tamaño que oscila entre $0,5 \times 1,2$ a $2,5 \times 10$ um; en el agar sangre producen colonias grandes, extendidas, blanco-grisáceas, con bordes irregulares, muchas especies presentan hemolisis característica típica que permite diferenciar a *Bacillus anthracis* de otras especies de *Bacillus*. Otra característica es que la mayoría son catalasa positiva y

la esporulación no es inhibida en aerobiosis, características que permiten diferenciar al genero *Clostridium* de *Bacillus* (Koneman et. al., 2001).

Los *Bacillus* habitan en suelos, agua y polvo ambiental. Los miembros termófilos se desarrollan a 75 ° C, los psicrófilos pueden desarrollarse a temperaturas bajas como – 5 ° C, también pueden desarrollarse en condiciones de acidez y alcalinidad, con un pH de 2 – 10. Algunas especies de *Bacillus* forman parte de la flora intestinal del hombre.

(Koneman et. al., 2001)

2.1.7. Enfermedades asociadas a *Bacillus spp.*

Bacillus anthracis:

El compromiso respiratorio y gastrointestinal ocurre en 5% de los casos cuando el ingreso de las esporas es por vía respiratoria o gastro-intestinal respectivamente. Las manifestaciones clínicas son inespecíficas, a diferencia del cuadro cutáneo, por lo que la sospecha clínica es más difícil. En el ántrax pulmonar, con un período de incubación descrito entre 2 y 43 días, el paciente presenta febrículas, tos y dolor muscular generalizado. Al cabo de 2 a 4 días se puede desarrollar un cuadro grave de *distress* respiratorio, fiebre y tos con expectoración hemoptoica, siendo un hecho característico la rapidez del ensanchamiento mediastínico. Esta forma es frecuentemente fatal, ya sea por el compromiso respiratorio o por septicemia (Iew, 2000)

Bacillus cereus:

Este microorganismo está involucrada, además de su capacidad para producir intoxicaciones alimentarias, a infecciones locales y sistémicas, especialmente asociadas con pacientes inmunocomprometidos, neonatos, drogo-dependientes y pacientes con heridas quirúrgicas traumáticas y catéteres. Las cepas aisladas de este tipo de

infecciones han mostrado su habilidad para sintetizar exotoxinas necrotizantes semejantes a hemolisinas y fosfolipasas (Turnbull, 1979).

Debemos resaltar que no todos los aislamientos de *Bacillus* son contaminantes o saprófitos inofensivos, sobre todo si se trata de una infección oportunista, la especie encontrada con mayor frecuencia en infecciones oportunistas, es *Bacillus cereus*. Además, las especies que en ocasiones pueden tener importancia clínica y deben ser considerados patógenos oportunistas potenciales son *B. subtilis*, *B. sphaericus*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. circulans*, *B. licheniformis*, *B. mycoides*, *B. macerans*, *B. coagulans* y *B. thuringiensis*. (Koneman et. al., 2001)

2.2. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS:

- ✓ **Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC):** es un trastorno pulmonar que se caracteriza por la existencia de una obstrucción de las vías respiratorias generalmente progresiva e irreversible.
- ✓ **Toxina:** secretada por microorganismos tales como bacterias (Gram positivos y negativos), protozoos y algunos hongos y algas; pueden provocar gran daño al hospedador al destruir sus células o perturbar el normal metabolismo celular.
- ✓ **Nicotina:** La nicotina es un compuesto orgánico, del tipo alcaloide, que se puede hallar en las plantas de tabaco con una importante concentración en sus hojas, actúa como un anabolizante al llegar al cerebro.
- ✓ **Cultivo:** método para la multiplicación de microorganismos, tales como bacterias, hongos y parásitos, en el que se prepara un medio óptimo para favorecer el proceso deseado.
- ✓ **Ácido murámico:** es un azúcar ácido que se sintetiza de forma natural como un derivado del ácido N-Acilmurámico en el peptidoglicano que conforma la pared celular de las bacterias.

- ✓ **Cigarrillo:** rollo de hojas de tabaco, que se enciende por un extremo y se chupa o fuma por el opuesto
- ✓ **Humo aspirado:** suspensión de partículas producto de la combustión del tabaco que es succionado por un sistema de aspiración mecánica.

CAPÍTULO III

MÉTODO

3.1. TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO:

- **Tipo:** Estudio descriptivo de corte transversal y prospectivo.
- **Diseño:** No experimental

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA:

3.2.1. Población: Cigarrillos recolectados en el Distrito del Rímac y Cercado de Lima.

3.2.2. Muestra: 20 cajetillas de cigarrillos (10 unidades por cajetilla) de 4 marcas diferentes (Marca A: 5 cajetillas; Marca B: 5 cajetillas; Marca C: 5 cajetillas y Marca D: 5 cajetillas), haciendo un total de 200 cigarrillos.

3.2.3. Unidad de análisis: Humo aspirado desde 10 cigarrillos (una cajetilla).

3.2.4. Criterio de inclusión: cajetillas de cigarrillos todas nuevas.

3.2.5. Criterio de exclusión: No se consideró cajetillas abiertas ni en mal estado.

3.3. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN:

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADOR	CATEGORÍA	ESCALA DE MEDICIÓN
Bacterias	Microorganismos unicelulares procariontes, están formadas por una sola célula carente de núcleo.	Bacilos gram positivos	Positivo Negativo	Nominal
Hongos	Organismos eucarióticos pertenecientes al reino fungi.	Células unicelulares, estructuras miceliares	Positivo Negativo	Nominal
Humo aspirado	Humo succionado que se produce tras la combustión del tabaco.	Presencia de humo dentro del matraz	Presencia Ausencia	Nominal

3.4. RECOLECCIÓN DE DATOS Y DESCRIPCIÓN DE LOS

INSTRUMENTOS: Para la recolección de información de los datos de los resultados del análisis microbiológico se utilizará un Formato de recolección de datos especificando: crecimiento de colonias, características morfológicas de las colonias, pruebas complementarias. **Anexo (Cuadro 1).**

3.5. MATERIALES, EQUIPOS Y PROCEDIMIENTOS:

1. Materiales:

5 Matraces de Kitazato (500 ml), 10 matraces de Erlenmeyer (500 ml), pipeta volumétrica (5ml), jeringa (60ml), conducto y tapón de jebe, probeta (100ml), **(todos estériles)**, espátula, pisceta, Asa de siembra, Mechero de bunsen.

2. Medios de cultivo:

Caldo nutritivo, agar MacConkey, Agar Manitol salado, TSA, Agar sangre, agar almidón, Agar Saboraud, caldo Saboraud con antibiótico y buffer fosfato salino.

3. Reactivos y colorantes

Peróxido de hidrógeno, coloración verde de Malaquita, coloración Gram.

4. Equipos

Autoclave, horno de esterilización, balanza, incubadora.

5. Procedimientos:

i. Constitución del sistema.

El sistema estará constituido por un matraz de kitazato, una jeringa de 60 ml, un conducto de jebe de 10cm x 8mm y otro de 3cm x 8mm, una pipeta volumétrica de 5 ml, un corcho de jebe de 3cm x 4cm con un agujero de 9mm y un cigarrillo (ver esquema).

ii. Preparación del Sistema.

- i. **Primer paso:** se conectó un extremo del conducto de jebe de 10cm x 8 mm en la punta de la jeringa y en el otro extremo, en la parte superior de la pipeta volumétrica.
- ii. **Segundo paso:** Se introdujo el extremo inferior de pipeta estéril en el agujero del tapón de jebe y éste en la boca del matraz de kitazato.
- iii. **Tercer paso:** se conectó el conducto de jebe de 3 cmx 8mm en el pico del matraz de kitazato, y en el extremo libre del conducto introducir la boquilla del cigarrillo hasta que el conducto cubra el filtro.

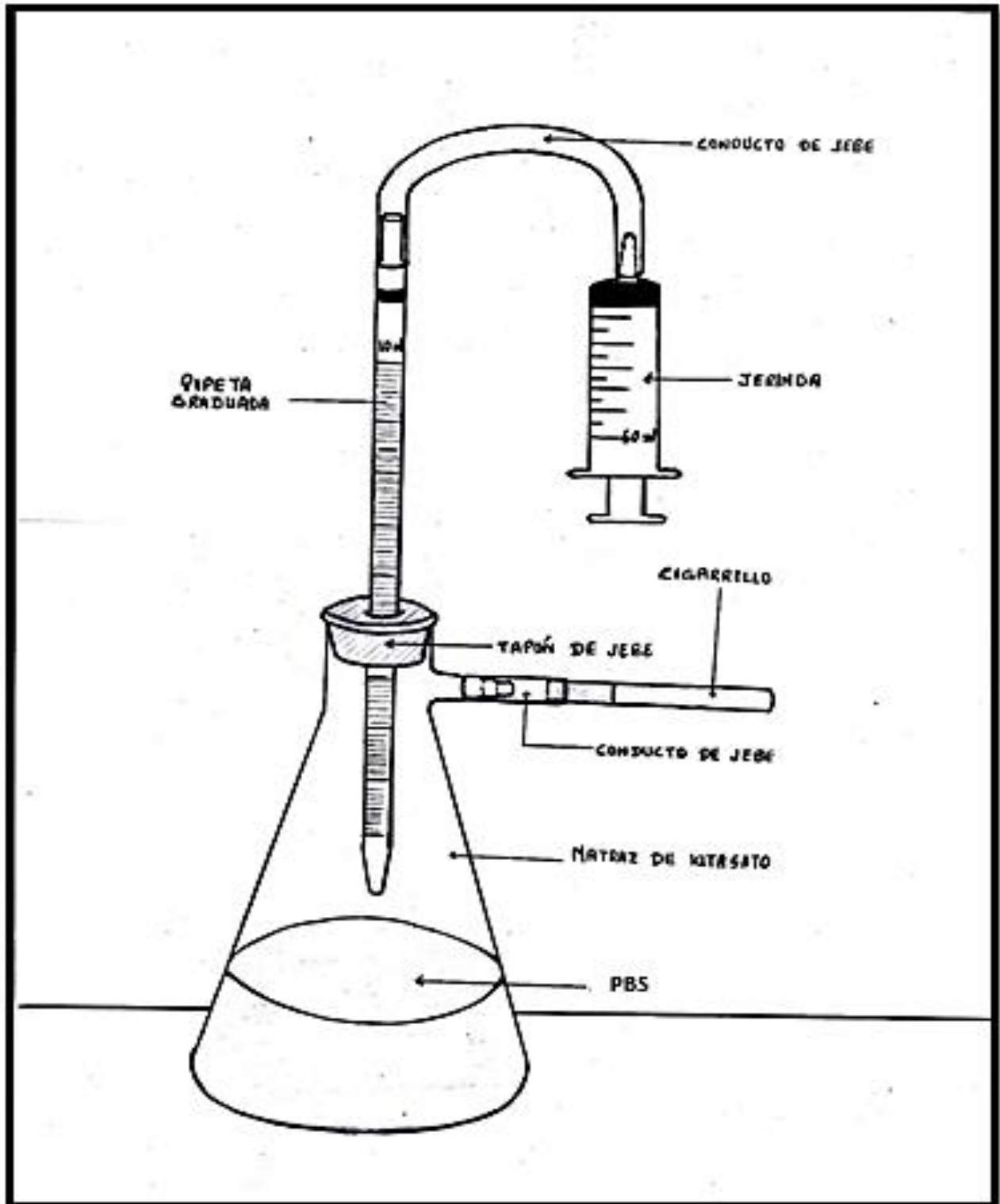


Figura. 3: Constitución del sistema.

iii. Aspiración del humo:

- i. **Primer paso:** se vertió 250 ml de buffer fosfato salino en un matraz de kitazato y se procedió a encender el cigarrillo y jalar el émbolo de la jeringa de tal forma que se logre concentrar la mayor cantidad de humo en el interior del matraz.

- ii. **Segundo paso:** Una vez consumido el cigarrillo, se procedió a quitar el filtro y se colocó otro cigarrillo, haciendo un total de 10 unidades por matraz (una cajetilla), luego de terminado el proceso de aspiración, se retiró el filtro restante y se introdujo un trozo de algodón en el pico del matraz (para proteger el cultivo de la contaminación), de la misma manera se quitó el tapón de jebe e introdujo un pedazo de algodón en la boca del matraz.

- iii. **Tercer paso:** se agitó el matraz suavemente para lograr la mezcla con el humo contenido en el interior, luego se tomó 100 ml de buffer fosfato con una probeta esteril y se vertió en un Matraz de Erlenmeyer cuyo contenido es 100 ml de caldo nutritivo, de la misma forma se tomó 100 ml del buffer restante y se vertió en otro matraz de Erlenmeyer conteniendo 100 ml caldo Saboraud más un inhibidor bacteriano (cloranfenicol). Este procedimiento se realizó para cada marca de cigarrillos.

iv. Cuarto paso: se procedió a incubar los matraces de Erlenmeyer de la siguiente manera: con el caldo nutritivo a 37 °C por 72h y el caldo Saboraud fue incubado a 37°C por 24h y luego a T° ambiental por 3 días más.

v. Aislamiento e identificación:

- i. Pasado el tiempo de incubación para cada medio de cultivo, se observó turbidez en el caldo nutritivo, mas NO en el caldo Saboraud; luego a partir del caldo nutritivo se tomó una asada y se resembró por agotamiento a las placas de Agar tripticosa de soya (TSA), Agar manitol salado, Agar MacConkey, Agar almidón y Agar sangre, luego se incubó las placas a 37°C x 48h. Asimismo, se tomó otra asada y se extendió en una lámina portaobjeto, se dejó secar a T° ambiente y se realizó las coloraciones de verde malaquita y Gram.
- ii. A partir del caldo Saboraud (CS) se realizó la siembra por el método de placa vertida, es decir, se tomó 1 ml del CS y se vertió en una placa Petri vacía, seguidamente se adicionó agar Saboraud y se homogenizó hasta lograr una mezcla total entre el inculo y el agar, luego se llevó a incubar a 37 °C por 72 h.
- iii. Pasado el tiempo de incubación, tomó una porción de las colonias de las placas de TSA y con un palillo de madera se colocó sobre la superficie de la tira del reactivo de oxidasa, también se hizo la prueba de catalasa, luego se vertió unas gotas de lugol en el agar Almidón hasta cubrir toda la superficie de la placa.

3.6. ANÁLISIS DE DATOS:

La información recogida fue ingresada a una base de datos para lo cual se utilizó Microsoft Excel 2010. Los resultados se muestran en tablas.

3.7. ASPECTOS ÉTICOS:

El estudio contó con el consentimiento informado de las autoridades correspondientes.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

De 5 cajetillas analizadas de la marca **A** se obtuvieron crecimiento en el 40%, es decir, en 2 de los 5 matraces con caldo nutritivo (CN) se observó desarrollo bacteriano. En la marca **B** también se obtuvo un 40% de crecimiento bacteriano, vale decir, 2 de los matraces con CN analizados mostraron desarrollo bacteriano. En la marca **C** se obtuvo un 20% de crecimiento bacteriano, es decir, 1 de los 5 matraces con CN analizados presentó crecimiento y en la marca **D** se obtuvo desarrollo bacteriano en un 100%, es decir, se observó crecimiento bacteriano en los 5 matraces con CN. No se observó turbidez en el caldo Saboraud ni crecimiento fúngico en las placas sembradas por el método de placa vertida.

Se observó bacilos Gram positivos con tamaño uniforme y distribución variable, bacilos en cadena (estreptobacilos), en pareja (diplobacilos) y libres (**figura 6**); también se observó esporas bacterianas de color verde sobre un fondo azul tomado por el colorante de contraste (**figura 7**).

Las colonias expuestas al reactivo de oxidasa dieron un resultado negativo y las que fueron expuestas al reactivo de catalasa (peróxido de hidrógeno), resultaron positivas.

En el agar almidón se observó un halo alrededor de las colonias después de la adición del lugol, y en el agar sangre se observó beta hemólisis alrededor de las colonias.

No se observó crecimiento en los matraces de caldo Sabouraud y placas de agar Sabouraud

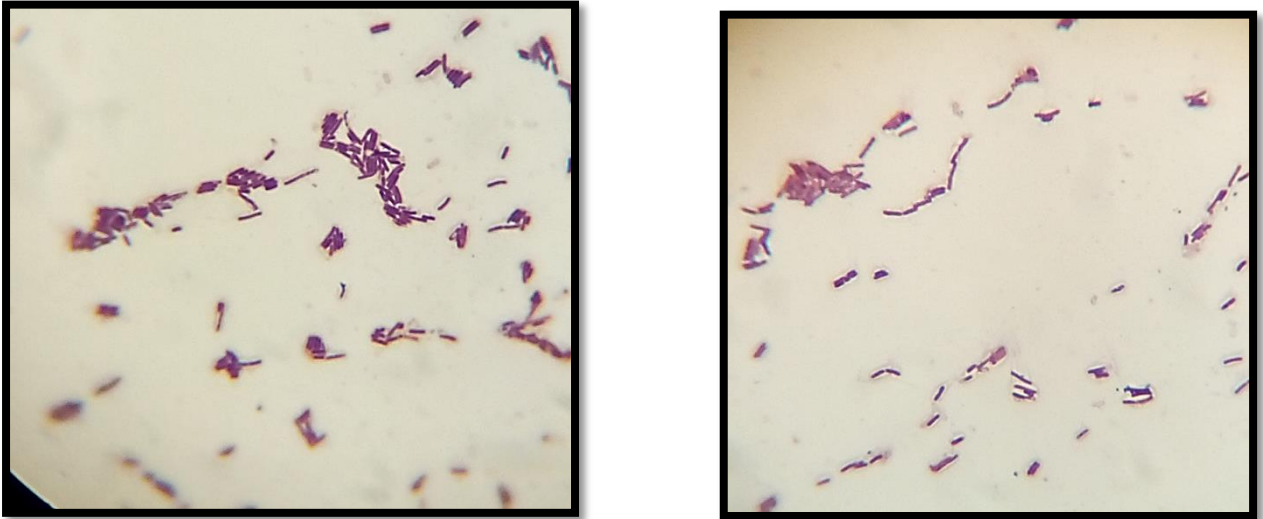


Figura 6. Coloración Gram: bacilos gram positivos en pareja y cadenas (1000x)



Figura 7. Coloración Verde Malaquita: esporas teñidas de verde (1000x)

4.1.- DESARROLLO EN LOS MEDIOS DE CULTIVO:



**Fig. 8. Caldo Nutritivo:
desarrollo bacteriano
después de la incubación**



**Fig. 9. Caldo
Saboraud: no
se observó desarrollo
alguno después de la
incubación**

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Al explorar la hoja de tabaco de 4 marcas de cigarrillos comercialmente disponibles en el mercado independientemente de la marca, se logró aislar bacilos Gram positivos compatibles a bacterias del género *Bacillus spp.*, lo cual guarda relación con algunos de los estudios que se han enfocado en demostrar endotoxinas en el humo del cigarrillo. Hasday et. al. (1999), demostraron por primera vez que el humo principal y secundario contienen niveles significativos de endotoxina bacteriana, por otro lado, Learsson et al. (2008), demostraron que el humo de cigarrillo contiene niveles elevados de peptidoglican que es un marcador de bacterias Gram positiva, sin embargo, Curby (1967) y Wood (1968) identificaron componentes viables en el humo del tabaco, no obstante, los resultados que obtuvieron no fueron concluyentes debido a problemas técnicos. Estos estudios proporcionaron indicios adicionales para encontrar organismos viables en el humo del cigarrillo.

Con el sistema de aspiración elaborado se logró concentrar la mayor cantidad de humo aspirado; permitiendo de esta manera, el desarrollo óptimo de los microorganismos en el medio líquido de cultivo, el aislamiento de bacterias pertenecientes al género *Bacillus sp.* se debe probablemente a que son transportados a través de humo en forma de esporas, también a sus características típicas como presentar cápsula y resistencia a temperaturas elevadas como 75 °C. La mayor parte de nuestros resultados proporcionan información de que los cigarrillos pueden considerarse una fuente directa de organismos bacterianos.

Es importante mencionar que los fumadores tienen 18 veces más probabilidad de albergar patógenos bacterianos en la cavidad oral que los no fumadores (Siloé et. al. 2000); también, se ha descrito que los fumadores crónicos pueden tener mecanismos menos eficaces de aclaramiento mucociliar (Wanner et. al., 1996), inflamación crónica de los pulmones (Yanbaeva et. al., 2008), y compromiso de mecanismos de defensa inmunológica (Birrell et. al., 2008), todos estos procesos producidos por el humo del cigarrillo podría contribuir a niveles más altos de colonización bacteriana. Finalmente, la significancia del aislamiento de dichas bacterias, radica en la capacidad que tienen éstas de formar esporas ante situaciones hostiles, y al ser aspirados a través del humo del cigarrillo, podrían llegar a colonizar las vías respiratorias en fumadores activos, y más aún si estos llegan a invadir a personas inmunodeprimidas; por ende, es imprescindible realizar investigaciones futuras para determinar si las bacterias presentes en los cigarrillos podrían desempeñar un papel importante en el desarrollo de enfermedades respiratorias, tanto agudas como crónicas.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Con base en los hallazgos de este trabajo se concluye que:

1. Los microorganismos aislados a partir del humo de tabaco fueron bacterias pertenecientes al género *Bacillus spp.*
2. No se aislaron hongos en ningún cigarrillo procesado.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- 7.1.- Realizar cultivos en anaerobiosis para aislar microorganismos que se desarrollen en estas condiciones.
- 7.2.- Usar técnicas de Biología Molecular para determinar la diversidad bacteriana en el humo aspirado del cigarrillo.
- 7.3.- Realizar estudios para evaluar si las bacterias presentes el humo aspirado del cigarrillo son capaces de colonizar el tracto respiratorio.
- 7.4.- Evaluar la presencia de microorganismos en otros productos de Tabaco como: cigarros, pipas, bidis, krekets y bastones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Association for Research on Cancer (IARC), 2012.
2. Bogden JD, Kemp FW, Buse M, Thind IS, Louria DB, Forgacs J, et al. (1981). Composition of tobaccos from countries with high and low incidences of lung cancer. I. Selenium, polonium-210, Alternaria, tar, and nicotine. *J Natl Cancer Inst* 66:27–31
3. Borgerding M. and Klus H., (2005). “Analysis of complex mixtures cigarette smoke,” *Experimental Toxicology and Pathology*. vol. 57, supplement 1, pp. 43–73,. [View at Google Scholar](#)
4. Charlton, (1996); smoking: risk, perception and policy; *Scientific Committee on Tobacco and Health*, <http://www.redalyc.org/pdf/106/10613242020.pdf>
5. Chan fung fu-chun margaret,directora general, oms, (2008). http://www.who.int/tobacco/mpower/mpower_report_full_2008.pdf.),
6. Cnattingius s, Mills J L, Yuen J, Eriksson O, Salonen H. (1997) The paradoxical effect of smoking in preeclamptic pregnancies: Smoking reduces the incidence but increases the rates of perinatal mortality, abruptio placentae, and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*; 177: 156-61
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9240600>
7. Cnattingius, S. (2004). The epidemiology of smoking during pregnancy: smoking prevalence, maternal characteristics, and pregnancy outcomes *Nicotine Tob Res*; 6:125-40
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15203816>

8. Curby W. A., (1967) “A preliminary study of the biological activity in cigarette smoke,” Bates Number 11330877-0905. Retrieved on March 23, 2011. <http://legacy.library.ucsf.edu/tid/jtp6aa00>.
9. Coussens L. M. and Werb, Z., (2002). “Inflammation and cancer”. *Nature*, vol. 420, no. 6917, pp. 860–867,.[View at Publisher](#) · [View at Google Scholar](#) · [View at PubMed](#)
10. Denissenko MF, Pao A, Tang M, Pfeifer GP. (1996). Preferential formation of benzo[a]pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in P53. *Science* 274(5286):430-432.
11. Eaton T, Falkinham JO III, von Reyn CF. (1995). Recovery of *Mycobacterium avium* from cigarettes. *J Clin Microbiol* 33:2757–2758.
12. Forgacs J. and Carll, W. T (1966) “Mycotoxicoses: toxic fungi in tobaccos,” *Science*,. vol. 152, no. 3729, pp. 1634–1635, [View at Google Scholar](#)
13. Hasday JD, Bascom R, Costa JJ, Fitzgerald T, Dubin W., (1999). Bacterial endotoxin is an active component of cigarette smoke. *Chest*.;115:829–835. [[PubMed](#)]
14. Hukkanen J, Jacob P 3rd, Benowitz NL (2005). Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev*, 57:79–115. doi:10.1124/pr.57.1.3 PMID:15734728
15. International Agency for Research on Cancer (2012). Tobacco Smoking Notificación de salida, Second-hand Tobacco Smoke Notificación de salida, and Smokeless Tobacco Notificación de salida. Lyon, France:. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 100E
16. Kurup,V., Resnick P. A., Kagen S. L, Cohen S. H., and Fink, J. N. (1983) “Allergenic fungi and actinomycetes in smoking materials and their health

- implications,” *Mycopathologica*,. vol. 82, no. 1, pp. 61–64,. [View at Google Scholar](#)
17. Koneman.E.W., (2001).Diagnostico microbiológico: Texto y atlas de color. Quinta Edicion. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
18. Larsson L, Szponar B, Ridha B, Pehrson C, Dutkiewicz J, Krysinska-Traczyk E, et al. (2008). Identification of bacterial and fungal components in tobacco and tobacco smoke. *Tob Induc Dis*; 4:4. doi: 10.1186/1617-9625-4-4. [[PMCFree article](#)] [[PubMed](#)][[Cross Ref](#)].
19. larsson L. (2012)., Microbiological components in mainstream and sidestream cigarette smoke, *biomed central* 10 (1): [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3444954/>]
20. Lew D P. *Bacillus anthracis* (Anthrax). En Mandell, Douglas & Bennett's (2000) Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition,. Mandell G L, Bennett J E, Dolin R, editors. Churchill Livingstone Inc, Philadelphia,. pp: 2215-20. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000400008#**
21. Maggiolo Julio, (2017) “Tabaquismo durante el embarazo” *Neumología Pediátrica*,; vol. 12, N° 1:1-44
<http://www.neumologia-pediatria.cl/#>
22. Murin S, Bilello KS, Matthay R. (2000). Other smoking-affected pulmonary diseases. *Clin Chest Med* 21:121–137.
23. Ministerio de Salud de Argentina - Programa Nacional de Control del Tabaco
<http://www.msal.gob.ar/tabaco/index.php/informacion-para-profesionales/tabaquismo-en-el-mundo-generalidades/ique-hay-en-un-cigarrillo>

24. Niewoehner DE, Kleinerman J, Donald BR. (1974). Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 291(15): 755-758.
25. Organización mundial de la salud (OMS), (2016). <http://www.who.int/topics/tobacco/es/>.
26. Papavassiliou, J. Piperakis,G. and Marcelou-Kinti U. (1971) “Mycological flora of cigarettes,” *Mycopathology Mycology Applied.* vol. 44, no. 2, pp. 117–120, [View at Google Scholar](#).
27. Pauly J. and Paszkievicz G. (2011), “Cigarette Smoke, Bacteria, Mold, Microbial Toxins, and Chronic Lung Inflammation”, *Journal of Oncology* Volume 2011, Article ID 819129, 13 pages, disponible en <https://www.hindawi.com/journals/jo/2011/819129/>
28. Raman, A.J. Swinburne,A. Q .J. (1983) Fedullo Pneumococcal adherente to the bucal epithelial cells of cigarette smokers *Chest*, 83, pp. 23-27.
29. Rodgman A. and Perfetti T. A., (2009). *The Chemical Components of Tobacco and Tobacco Smoke*, CCRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, Fla, USA.
30. Rooney AP, Swezey JL, Wicklow DT, McAtee MJ. (2005) Bacterial species diversity in cigarettes linked to an investigation severe pneumonitis in U.S. military personnel dep. Operation Iraqi Freedom. *CurrMicrobiol* 51:46–52.
31. Samet, Jonathan M. (2002). Los riesgos del tabaquismo activo y pasivo. *Salud Pública de México*, vol. 44, , pp. s144-s160. *Instituto Nacional de Salud Pública* <http://www.redalyc.org/pdf/106/10613242020.pdf>

32. Sapkota A.R., Berger S., and Vogel, T. M. (2010). “Human pathogens abundant in the bacterial metagenome of cigarettes,” *Environmental Health Perspectives*. vol. 118, no. 3, pp. 351–356, [View at Publisher](#) · [View at Google Scholar](#) · [View at PubMed](#).
33. Shafey O., Eriksen M., Ross H., MacKay J., (2009). “ El atlas del Tabaco”, 3. ra ed., disponible en <https://coalicioncmct.files.wordpress.com/2010/07/atlas-del-tabaco.pdf>.
34. Soysa NS, Ellepola ANB (2005). The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: an overview. *Oral Dis*; 11:268–73.
35. Stämpfli M. R. and Anderson G. P. (2009) “How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer,” *Nature Reviews Immunology*, vol. 9, no. 5, pp. 377–384,. [View at Publisher](#) · [View at Google Scholar](#) [View at PubMed](#)
36. Tomar, S.L. (2000). Asma Smoking-attributable periodontitis in the United States: Findings from NHANES III: Nacional Health and Nutrition Examination Survey *J Periodontol*, 71 pp. 743-751.
37. Turnbull PCB, Jørgensen K, Kramer JM, GilbertRJ, Parry JM. (1979). Several clinical conditions associated with *Bacillus cereus* and apparent involvement of exotoxins. *J Clin Pathol*. 32:89-293.
38. US Department of Health Education and Welfare (DHEW) (1964). Smoking and health. Report of the Advisory Committee to the Surgeon General. Washington, DC: U.S. *Government Printing Office*. DHEW Publication No. [PHS] 1103.
39. US Department of Health and Human Services (USDHHS). (1990). The health benefits of smoking cessation. A report of the Surgeon General, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

40. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA (2010). Office on Smoking and Health, U.S. *Government Printing Office*, Washington, DC 20402, A Report of the Surgeon General, “How tobacco smoke causes disease. The biology and behavior basis for smoking-attributable disease,” 704 pgs, http://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/2010/index.htm
41. Wood, D. “British-American Tobacco Company,” (2011). Preliminary observations on the possible transfer of viable micro-organisms to mainstream smoke. 1968. Bates number 570343882/3901. Retrieved on June 24, <http://legacy.library.ucsf.edu/tid/jnd51f00>.
42. Wayne G. F. and Connolly G. N., (2009). “Regulatory assessment of brand changes in the commercial tobacco product market,” *Tobacco Control*, vol. 18, no. 4, pp. 302–309,. [View at Publisher](#) · [View at Google Scholar](#) · [View at PubMed](#) · [View at Scopus](#).
43. Yang J. Duan, et al., (2010) “Bacterial diversities on unaged and aging flue-cured tobacco leaves estimated by 16S rRNA sequence analysis,” *Applied Microbiology and Biotechnology*.. vol. 88, pp. 553–562, [View at Google Scholar](#).
44. [Zamaro C., Bernabé J., Santamaria B., Rodriguez J.](#) (2011) “Tabaquismo en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica”, *Arch Bronconeumol.*; 47 (Supl 8):3-9.

CAPÍTULO VIII

A. ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TEMA	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA
Bacterias y hongos en el humo aspirado del cigarrillo	<p>Pregunta general:</p> <p>¿Habrá microorganismos en el humo aspirado del cigarrillo?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar la presencia de microorganismos en el humo aspirado del cigarrillo</p>	<p>1.- Los microorganismos presentes el humo aspirado del cigarrillo son bacterias y hongos</p>	<p>- Bacterias</p> <p>- Hongos</p> <p>- Humo aspirado</p>	<p>- <i>Bacillus sp</i></p> <p>- Levaduras</p> <p>- Presencia de humo dentro del matraz</p>	<p>Niveles de estudio:</p> <p>Estudio transversal y prospectivo</p> <p>Diseño de estudio:</p> <p>No experimental</p> <p>Población: Rímac y Cercado de lima</p>

B. ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TEMA	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA
Bacterias y hongos en el humo aspirado del cigarrillo	<p>Preguntas específicas:</p> <p>-¿Qué tipos de bacterias están presentes en el humo aspirado del cigarrillo?</p> <p>-¿Qué tipos de hongos están presentes en el humo aspirado del cigarrillo?</p>	<p>-Evaluar los tipos de hongos presentes en el humo aspirado de cigarrillo</p> <p>-Evaluar los tipos de hongos presentes en el humo aspirado de cigarrillo.</p>	<p>2.- Los agentes microbianos y fúngicos son bacterias pertenecientes al género <i>bacillus sp</i> y hongos</p>	<p>-Bacterias</p> <p>- Hongos</p> <p>- Humo aspirado</p>	<p>-<i>Bacillus sp</i></p> <p>- Levaduras</p> <p>- Presencia de humo dentro del matraz</p>	<p>Muestra: 5 cajetillas nuevas de cigarrillos de cuatro marcas diferentes: marca A, marca B, marca C y marca D. tres marcas CON filtro y una SIN filtro</p> <p>Unidad de análisis: Humo aspirado.</p>

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS- HUMO ASPIRADO (MARCA A)

	SIEMBRA				RESIEMBRA Y TINCIONES COMPLEMENTARIAS				
	Crecimiento a 37° C en 24 h (Caldo Nutritivo y Saboraud)	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (C. Saboraud) en 48 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 72 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 96 h	Agar Sangre:	Agar TSA:	Agar Almidón:	Coloración Gram	Coloración Verde Malaquita
Matraz 1A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó bacilos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 1B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 2A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas, de borde irregular alfa hemolíticos	UFC amarillas de aspecto seco	UFC de aspecto seco con borde irregular	Bacilos en cadena cortas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 2B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas

Matraz 3A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 3B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas de color blanco alfa hemolíticas	UFC mucoides de borde irregular	UFC mucoides de borde irregular	Bacilos largos Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 5B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS- HUMO ASPIRADO (MARCA B)

	SIEMBRA				RESIEMBRA Y TINCIONES COMPLEMENTARIAS				
	Crecimiento a 37° C en 24 h (Caldo Nutritivo y Saboraud)	Crecimiento 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (C. Saboraud) en 48 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 72 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 96 h	Agar Sangre:	Agar TSA:	Agar Almidón:	Coloración Gram	Coloración verde malaquita
Matraz 1A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas, de borde irregular alfa hemolíticos	UFC amarillas de aspecto seco	UFC de borde irregular y aspecto seco	Bacilos en cadenas y en parejas Gram positivos	Se observó esporas
Matraz 1B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 2A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 2B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas

Matraz 3A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 3B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas de color blanquecino alfa hemolít.	UFC mucoides de borde irregular	UFC mucoides de borde irregular	Bacilos largos Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 4B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS- HUMO ASPIRADO (MARCA C)

	SIEMBRA				RESIEMBRA Y TINCIONES COMPLEMENTARIAS				
	Crecimiento a 37° C en 24 h (Caldo Nutritivo y Saboraud)	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (C. Saboraud) en 48 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 72 h	Crecimiento a 37°C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 96 h	Agar Sangre:	Agar TSA:	Agar Almidón:	Coloración Gram	Coloración verde malaquita
Matraz 1A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó bacilos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 1B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 2A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas, de borde irregular con alfa hemólisis	UFC de color crema con aspecto seco	UFC de aspecto seco y borde irregular	Bacilos cortos en cadena Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 2B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas

Matraz 3A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 3B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5A: Caldo nutritivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS- HUMO ASPIRADO (MARCA D)

	SIEMBRA				RESIEMBRA Y TINCIONES COMPLEMENTARIAS				
	Crecimiento a 37° C en 24 h (Caldo Nutritivo y Saboraud)	Crecimiento a 37° C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (C. Saboraud) en 48 h	Crecimiento a 37° C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 72 h	Crecimiento a 37° C (Caldo Nutritivo) y a T° Amb. (Caldo Saboraud) en 96 h	Agar Sangre:	Agar TSA:	Agar Almidón:	Coloración Gram	Coloración verde malaquita
Matraz 1A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC secas, con borde irregular alfa hemolíticas	UFC amarillas de aspecto seco	UFC con aspecto seco y borde irregular	Bacilos en cadenas cortas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 1B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 2A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC mucoides opalescentes de borde irregular	UFC amarillas de aspecto seco	UFC con borde irregular y de aspecto seco	Diplobacilos en parejas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas

Matraz 2B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se observó UFCs.	No se visualizó M.O	No se observó esporas
Matraz 3A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC con borde irregular y secas	UFC de color crema y de aspecto seco	UFC de aspecto seco con borde irregular	Bacilos en cadena largas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 3B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 4A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC mucoides con borde irregular alfa hemolíticas	UFC amarillas de aspecto mucoides	UFC mucoides con borde irregular	Bacilos en cadena cortas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 4B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas
Matraz 5A: Caldo nutritivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	UFC mucoides de color opalescente	UFC de borde irregular y aspecto mucoides	UFC mucoides de borde irregular	Bacilos en cadenas largas Gram positivos	Se observó esporas bacterianas
Matraz 5B: Caldo Saboraud	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se observó UFCs	No se visualizó microorganismos	No se observó esporas bacterianas

ANEXO 3

GLOSARIO

1. **Aflatoxinas:** micotoxinas producidas en pequeñas concentraciones por hongos del género *Aspergillus*. Los hongos que producen aflatoxinas pueden contaminar los cultivos en los campos durante la cosecha o almacenamiento.
2. **Endosporas:** son formas de perdurabilidad de ciertos grupos de bacterias frente al calor, la desecación, la radiación y las influencias químicas.
3. **Endotoxinas:** Toxina proteica de origen bacteriano retenida al interior de la célula que la ha producido.
4. **Metagenómica:** es un campo nuevo en el que se persigue obtener secuencias del genoma de las bacterias que componen una comunidad, extrayendo y analizando su ADN de forma global.
5. **Periodontitis:** inflamación del periodonto (conjunto de tejidos que rodean y sostienen el diente).
6. **Aislamiento:** acción y efecto de aislar
7. **Aislar:** separar una cepa de un conjunto de microorganismos.
8. **Cepa:** microorganismo completamente identificado.