

Evaluación de contaminantes microbianos en muestras de cannabis incautadas en Costa Rica

Evaluation of microbial contamination in samples of cannabis seized in Costa Rica

Sandra Badilla-Chaves^a, Jonathan Pérez Rocha^b, Sandra Hernández Salon^c, Nien Tzu Weng Wang^d, Jessica Morera Huertas^{a,e}

^a Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR)

^b Universidad de Costa Rica, Escuela de Psicología, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR)

^c Universidad de Costa Rica, Estudiante de la Maestría Académica en Bioquímica y Fisiología Celular

^d Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR)

^e Lic. en Biología y estudiante de la Maestría Académica en Bioinformática y Biología de Sistemas

Recibido: 29/06/2015 · Aceptado: 12/02/2016

Resumen

Diferentes literaturas sugieren que el consumo de cannabis es un importante problema para la salud pública. El cannabis, por su naturaleza ilegal, llega a sus usuarios sin cumplimiento de normas adecuadas de cultivo, almacenamiento, procesamiento y tráfico; lo que puede generar diversos contaminantes, que pueden ser químicos, físicos o microbianos. La presencia de contaminantes microbianos es un riesgo para la salud de los usuarios, sobre todo en pacientes con el sistema inmune comprometido. Costa Rica no cuenta con estudios sobre la presencia de contaminantes microbianos en el cannabis comercializado, por lo que este estudio pretendía establecer si los hay en las muestras incautadas en seis regiones del territorio costarricense y relacionar este hecho con riesgos para la salud de sus consumidores. En dichas muestras se realizaron pruebas de conteo total de bacterias aeróbicas, levaduras y hongos según los procedimientos establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP). Para la identificación de microorganismos potencialmente patógenos, se realizaron los procedimientos descritos por la USP, el uso del sistema API y metodología de identificación morfológica de hongos. Los conteos totales de bacterias, de levaduras y hongos superan los límites establecidos por USP en la mayoría de las muestras. Se hallaron cuatro tipos de hongos: *Aspergillus* sp., *Scopulariopsis* sp, *Fusarium* sp y *Penicillium* sp y cinco especies bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *S. xylosum*, *S. lentus*, *Enterobacter cloacae* y *E. sakazakii*. La contaminación hallada requiere de un debate para el establecimiento de una verdadera política de regulación, tanto para fin terapéutico como para fines recreativos.

Correspondencia a:

Sandra Badilla

e-mail: sandra.badilla@ucr.ac.cr



Palabras Clave

Contaminantes microbianos, cannabis, infecciones y enfermedad.

Abstract

Different literature suggests that cannabis use is a major problem for public health. Cannabis, through its illegal nature, reaches its users without complying with any suitable standards of growth, storage, processing and transport, which may generate diverse pollutants, which can be chemical, physical or microbial. The presence of microbial pollutants is a risk for the user's health, especially in patients whose immune system is compromised. In Costa Rica there are no studies on the presence of microbial pollutants in commercialized cannabis, which is why the aim of this study was to establish the presence of the aforementioned pollutants in cannabis samples seized in six regions of Costa Rican territory and to relate this fact to risks for the health of its consumers. These samples were tested for their total count in aerobic bacteria, yeast and fungi according to procedures established by the Pharmacopoeia of the United States (USP). Identification of potentially pathogenic microorganisms was performed using methods described by USP; using the API system and methodology for morphological identification of fungi. The total counts of bacteria, yeast and fungus exceed limits set by USP on most of the seized samples. Four types of fungus were found: *Aspergillus* sp, *Scopulariopsis* sp, *Fusarium* sp and *Penicillium* sp, and five bacterial species: *Staphylococcus aureus*, *S. xylosum*, *S. lentus*, *Enterobacter cloacae* and *E. sakazakii*. The contamination found requires a debate for establishing a genuine policy of cannabis regulation, both for therapeutic or recreational purposes.

Key Words

Microbiological contaminants, cannabis, infections and disease.

INTRODUCCIÓN

Según UNODC, hay entre 119 y 224 millones de consumidores de marihuana en el mundo. Se considera que esta tendencia no ha variado, inclusive se habla de una reducción, especialmente por los datos emanados de los países de Europa Occidental y Central (UNODC, 2012). Por otra parte para otros autores, la percepción de no ser una droga peligrosa ha causado un aumento de consumo de marihuana que se puede evidenciar

en la mayor cantidad de personas que optan por un tratamiento para abandonar su uso en continentes como América, Oceanía y Europa. Este aumento en consumo también puede ser consecuencia de la expectativa de usar cannabis como alternativa terapéutica para tratar algunas enfermedades y con ello prolongar o mejorar la calidad de vida de los pacientes (UNODC, 2014), aunque de acuerdo Sanz et ál. (2014) la opinión de estas personas, *suelen estar sesgadas por una valoración demasiado positiva.*



Estas percepciones en la mayoría de los casos están ligadas a la mala información que manejan algunos grupos de población, por ejemplo son muchos los jóvenes que consideran que ésta droga no les produce daño y más bien les puede generar beneficios (Perretti, 2003; Pérez, 2009) y equívocamente se aduce que el cannabis es una droga blanda. (Más-Bagá, 2005), lo que también suele ser causa de compararla con drogas como la cocaína, las anfetaminas y sus derivados, así como aquellas que tienen un efecto alucinógeno y estimulante (Jones, 2011). En nuestro país pareciera que los jóvenes opinan de igual manera, si consideramos que: *...es la droga ilícita de mayor consumo, principalmente entre personas jóvenes (12 a los 35 años); aunque en general los hombres triplican las tasas de consumo en relación a las mujeres* (Cortés, 2012).

Los medios de comunicación, principalmente Internet, favorecen que los adolescentes internalicen argumentos erróneos en una cultura que cada vez más, alienta, justifica y defiende el consumo de marihuana, ya sea con fines terapéuticos o con fines recreativos (Lariscy, Reber y Paek, 2011; Cavazos-Rehg, Krauss y Bierut, 2014). Sin embargo, muchas de estas fuentes no poseen un verdadero respaldo científico, en especial si se tiene en cuenta que, a pesar de numerosas investigaciones, aún no hay suficientes datos concluyentes que permitan confirmar la totalidad de efectos atribuidos en el ser humano (Kashyap y Kashyap, 2014), posiblemente debido a las múltiples variedades que se encuentran en el mercado y/o a las diferencias que presentan plantas de la misma variedad al desarrollarse en diferentes condiciones ambientales (Masuelli y Marfil, 2011). Es un hecho el desarrollo continuo de diferentes variedades a través de hibridación, en las cuales se ha buscado intensificar ciertas características fenotípicas como: adaptabilidad ambiental, productividad, porcentaje de principios ac-

tivos como CBD o THC, etc. Por ejemplo, la variedad "Jack the Ripper", contiene un 26.6 % de THC, lo que hace que sea una de las preferidas por los consumidores. (Clark, 1981; Rosenthal, 2007).

Por otro lado, la ley no visibiliza su ilegalidad, debido a que es posible que un individuo pueda portar pequeñas cantidades de marihuana para consumo personal, sin que esto le implique un problema legal, o sea no se ha establecido cual es la cantidad máxima que se puede portar sin que ello se considere como un delito de acuerdo a la ley 8204 en Costa Rica. En este sentido, han existido anulaciones de sentencias a personas que portaban cantidades no superiores a los 200 g de marihuana o cocaína (Transnational Institute, s.f.).

Teniendo en cuenta que el propósito de las investigaciones científicas con marihuana apuntan en su mayoría al uso medicinal, indagar sobre sus contaminantes introduce una discusión importante acerca de si el estado debe tomar medidas legales más rígidas, o por el contrario, debe encargarse de regular su uso con este fin. Esta falta de definición de políticas sobre tenencia e investigación se constituyó en una de las principales limitantes de este estudio, debido a que los permisos se otorgaron después de un trámite burocrático que incluyó varias instituciones, al final el permiso lo dio la Corte Suprema de Justicia, siendo la cantidad de material que se entregó muy limitada, lo que impidió hacer ensayos por triplicado de algunas pruebas. Esto se vendría a resolver en futuros estudios, si se aprobara en Costa Rica el proyecto de Ley 19256: "Ley para la investigación, regulación y control de las plantas cannabis y cáñamo para uso medicinal, alimentario e industrial"; lo cual se constituye en un intento formal para devolver al cannabis a los círculos de investigaciones científicas (La Gaceta, 2014).



Contaminantes microbianos en la marihuana

Los procedimientos inadecuados durante el manejo agronómico y de post-cosecha de el cannabis u otras plantas, pueden permitir el desarrollo de hongos, como es el caso del *Aspergillus* sp. (Hager, 1998). Además del almacenaje inadecuado, las malas condiciones de secado han sido asociados con la proliferación de hongos que pueden producir alergias en personas “hipersensibles o inmunosuprimidas” (Darini, Soares y Cazenave, 2003), muchos de estos hongos producen infecciones que podrían causar la muerte solo en personas con esta última deficiencia (Pagano et al., 2006).

Las malas prácticas de cultivo y almacenaje también pueden generar contaminación por bacterias patógenas. (Hwang y Huang, 2010). Estos contaminantes microbianos pueden producir infecciones en vías respiratorias, boca y esófago y causar un amplio espectro de enfermedades que van desde una colonización saprofita y reacciones de hipersensibilidad hasta una neumonía necrotizante con angioinvasión (Arteaga y Grande, 1999).

Como parte de un estudio de control de calidad de marihuana vendida en los coffee shops, realizado en los Países Bajos, se encontró la presencia de *Escherichia coli*, *Penicillium*, *Cladosporium* y varias especies de *Aspergillus* (Hazekamp, 2006). Otro estudio reciente, realizado por la empresa Israelí *Cannabliss Company*, mostró una gran cantidad de organismos de *Enterobacteriaceae* y gran número de diferentes colonias de hongos, siendo el principal del género *Aspergillus* (Ruchlemer, Amit-Kohn, Raveh y Hanus, 2015). En Costa Rica no se han realizado estudios de contaminación microbiológica en muestras de cannabis. Por lo tanto, se pretende establecer en este estudio la presencia de contaminantes microbianos en las muestras incautadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras analizadas en este estudio fueron suministradas en el Complejo Médico Forense, ubicado en San Joaquín de Flores, previa autorización de la Corte Suprema de Justicia. Las muestras fueron incautadas en seis regiones de Costa Rica: en las provincias de San José (Cantón Central, Desamparados y Pérez Zeledón), Limón (Cantón Central y Bribri) y Puntarenas.

Todas las pruebas microbiológicas fueron realizadas en la Sección de Bioanálisis, del Laboratorio de Análisis y Asesoría Farmacéutica (LAYAFA), que pertenece al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR) de la Universidad de Costa Rica.

El recuento total de bacterias aeróbicas, se realizó de la siguiente manera: 1 gramo de cada muestra incautada, fue suspendida en caldo de soya tripticasa (catálogo Bacto, número 211825) para obtener 10 mL (dilución 10^{-1}). A continuación, se tomó 1 mL de esta muestra y se vertió en 9 mL de caldo soya tripticasa Bacto® (dilución 10^{-2}). Este último paso se repitió para tener una dilución 10^{-3} . Se tomaron seis placas de Petri, dos para cada una de las diluciones y a cada una se le colocó un mililitro de la respectiva dilución. Se agregaron 20 mL de agar soya tripticasa (catálogo Bacto, número 236950) que se encontraba a alrededor de 50 °C. Las placas se rotaron suavemente para esparcir uniformemente la muestra en el medio y se esperó a la solidificación de su contenido a temperatura ambiente; posteriormente las placas se invirtieron y se incubaron a 33,5 °C durante 48 horas. Se realizó un conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en las placas con las diluciones donde fuera adecuado el conteo y se obtuvo un promedio de ambas. El producto se encontraba conforme si el conteo era menor a 10^7 UFC/gramo de muestra (The United States Pharmacopeia Convention, 2014).



El recuento total de levaduras y hongos se realizó de la misma manera del procedimiento anteriormente descrito, para el recuento total de microorganismos aerobios para la obtención de las diluciones requeridas y la preparación de las placas de Petri. Seguidamente, se agregaron 20 mL de agar papa dextrosa (catálogo Difco, número 213400), el cual se encontraba a alrededor de 50 °C, cada placa se rotó suavemente y se esperó a la solidificación de su contenido a temperatura ambiente. Las placas se invirtieron y se incubaron a 22,5 °C durante 5 días. Finalmente, se realizó el mismo conteo indicado para el recuento total de microorganismos aerobios. El producto se encontraba conforme, si el conteo era menor a 10^5 UFC/gramo de muestra. (The United States Pharmacopeia Convention, 2014)

Para cada muestra, se realizó la identificación de los patógenos citados en la metodología de la USP (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*) y algunos otros microorganismos potencialmente patógenos: *S. xylosum*, *S. lentus*, *Enterobacter cloacae* y *E. sakazakii*, utilizando el sistema API® (Bou-

illard, Michel, Dramaix, & Devleeschouwer, 2005), así como la identificación morfológica de los hongos de los siguientes géneros: *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Fusarium* y *Penicillium* (Watanabe, 2010).

RESULTADOS

Los resultados de recuento total de bacterias aeróbicas (ver tabla I) señalan que solamente dos de las seis muestras incautadas (Cantón Central de San José y Puntarenas), cumplieron el límite establecido por USP que no puede ser mayor de 1×10^7 . Sin embargo, estos valores se ubican en el rango superior del límite permitido.

En ninguna de las muestras se detectó la presencia de otras bacterias patógenas como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica*.

Los datos de la tabla I muestran que las bacterias identificadas fueron: *Staphylococcus aureus* (Pérez Zeledón), *S. xylosum* (San José Cantón Central, Desamparados, Puntarenas Cantón Central y Limón Cantón Central), *S. lentus* (Bibri), *Enterobacter*

Tabla I. Recuento total microbiano e identificación de bacterias potencialmente patógenas, según zona geográfica de Costa Rica

	San José Cantón Central	Desamparados	Pérez Zeledón	*Puntarenas Cantón Central	Limón Cantón Central	Bibri
Recuento total microbiano	$7,3 \times 10^6$ UFC/g	Más de 1×10^7 UFC/g	Más de 1×10^7 UFC/g	$9,1 \times 10^6$ UFC/g	Más de 1×10^7 UFC/g	Más de 1×10^7 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	-	-	-
<i>S. xylosum</i>	+	+	-	+	+	-
<i>S. lentus</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Enterobacter cloacae</i> +	+	+	-	-	+	+
<i>E. sakazakii</i>	-	-	+	-	-	-

Presencia (+), ausencia (-)

* *Enterobacter* sp, sin determinar la especie.



cloacae (San José Cantón Central, Desamparados, Limón Cantón Central y Bibrí) y *E. sakazakki* (Pérez Zeledón).

Los resultados de las pruebas de recuento total de hongos y levaduras (ver tabla 2), indican que todas las muestras incautadas superan el límite permitido según la USP y no se detectó la presencia de *Cándida albicans* en las muestras incautadas.

Los hongos detectados de las muestras incautadas pertenecen a cuatro géneros: los del género *Aspergillus* están presentes en todas las muestras incautadas; los del género *Scopulariopsis* están presentes en el Cantón Central de San José, Desamparados y Cantón Central de Limón. Los hongos del género *Fusarium* están presentes en las muestras de Pérez Zeledón y Cantón Central de Limón. Por último el género *Penicillium* fue hallado únicamente en muestras provenientes de Bibrí.

DISCUSIÓN

Esta investigación es parte del proyecto 817-A3-073, inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, en donde se estudió el efecto analgésico e inmunomodulador del extracto crudo

de cannabis. Durante el proceso de investigación, se observaba que las muestras incautadas de cannabis mostraban cierto grado de contaminación, por lo cual se propuso determinar la posible presencia de contaminantes microbianos en ellas.

Como se aprecia en las tablas 1 y 2, la gran mayoría de muestras incautadas en diferentes zonas de Costa Rica estaban contaminadas tanto por bacterias como con hongos filamentosos, los cuales según la literatura representan riesgos importantes para la salud humana

De las casi seiscientas especies conocidas de hongos del género *Aspergillus*, sólo una decena afectan al ser humano, encontrándose asociación con diferentes patologías, entre ellas la neumonía necrotizante con angioinvasión (Arteaga y Grande, 1999), un caso particular fue el reportado en relación con el desarrollo de miocarditis, al utilizar el paciente una marihuana contaminada (Rodríguez-Castro, Alkhateeb, Elfar, Saifuddin, Abbas y Siddiqui, 2014).

Una de las infecciones más conocidas producidas por estos hongos es la aspergilosis, cuya probabilidad de desarrollarse aumenta en el caso de personas con pro-

Tabla 2. Conteo de hongos y levaduras e identificación de hongos potencialmente patógenos, según zona geográfica de Costa Rica

	San José Cantón Central	Desamparados	Pérez Zeledón	Puntarenas Cantón Central	Limón Cantón Central	Bibrí
Hongos y levaduras	8,7X10 ⁶	7,0X10 ⁶	7,0X10 ⁶	Más de 1x10 ⁷	Más de 1x10 ⁷	2,1x10 ⁶
	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g	UFC/g
<i>Aspergillus</i> sp	+	+	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis</i> sp.	+	+	-	-	+	-
<i>Fusarium</i> sp.	-	-	+	-	+	-
<i>Penicillium</i> sp.	-	-	-	-	-	+

Presencia (+), ausencia (-)



cesos de hipersensibilidad (Gavaldá y Auzina, 2002; Mertz et ál., 2007), siendo las especies que más se asocian con la aspergilosis el *Aspergillus fumigatus*, seguida por *A. flavus* y *A. niger* (Gassiot, Pino, Rodríguez, Ramos, Páez y Gundián, 2000). Las especies anteriores también están asociadas a otros tipos de infecciones, siendo el *A. fumigatus* asociado a absceso cerebral (Touza, Martínez, Alonso, Méndez, Rubianes y Crespo, 1984), el *A. flavus* es considerado el principal causante de infecciones superficiales (Hedayati, Pasqualotto, Warn, Bowyer y Denning, 2007) y *A. niger* es el principal agente causante de otomicosis (Gharaghani, Seifi y Zarei, 2015).

Otros hongos con potencial patógeno son los del género *Scopulariopsis* sp, los cuales pueden causar varios tipos de infecciones (Shaver et ál., 2014). De igual forma varias especies del género *Fusarium* pueden producir infecciones cutáneas, oftálmicas, sinusitis y hasta pulmonía (Martínez-Hernández, Caro-Sánchez y Bonifaz, 2014) y con respecto al *Penicillium* sp, también se ha visto que tienen la capacidad de producir infecciones en personas que padecen neoplasias hematológicas (Pagano et ál., 2006). La literatura científica confirma que el fumado de marihuana de manera crónica es una causa de infecciones por estos hongos (Gargani, Bishop y Denning, 2011).

Con respecto a la contaminación bacteriana es conocido que la contaminación con *Staphylococcus aureus*, una bacteria gram positiva, puede afectar la salud de dos formas: mediante las toxinas que libera en los alimentos, siendo la principal causa de gastroenteritis (Le Loir, Baron y Gautier, 2003) o mediante la infección en cualquier sistema de órganos, incluyendo la septicemia (Rubin, Harrington, Poon, Dietrich, Greene y Moiduddin, 1999; Powers y

Bubeck, 2014). Otras especies como el *S. xylosus*, una especie oportunista puede causar infecciones principalmente en personas inmunocomprometidas (Akhaddar, Elouennass, Naama y Boucetta, 2010), como la pielonefritis aguda (Tseleniskotsowilis, Koliomichalis y Papavassiliou, 1982).

Por otra parte el *S. lentus* es una especie que afecta principalmente animales domésticos y algunos silvestres, sin embargo, se ha aislado esta especie en muestras de orina de pacientes con infecciones del tracto urinario (Stepanovic, Ježek, Vukovic, Dakic, y Petráš, 2003). Esta especie solo se identificó en la muestra de Bribri que pertenece al cantón de Talamanca, en donde se concentra una gran parte de la población indígena del país. El cantón de Talamanca es uno de los tres cantones del país que presentan el índice de desarrollo más bajo del país (Dirección de Vigilancia de la Salud, Ministerio de Salud, 2014).

El *Enterobacter cloacae* es uno de los causantes de endocarditis y bacteremias (Yoshino et ál., 2012). En el caso del *E. sakazakii*, aunque es poco frecuente que cause alguna patología se ha podido asociar con enterocolitis necrotizante, bacteremia, infecciones en el sistema nervioso central e infecciones urinarias (Bhat, Anandhi, Dhanya y Shenoy, 2009).

La diferencia en los contaminantes microbianos presentes en las diferentes muestras de marihuana podría deberse a las diferencias en los microclimas que pueden facilitar la proliferación de ciertos microorganismos donde fueron cultivadas, así como a la manipulación durante la cosecha, el almacenamiento, el transporte y hasta que se da la entrega al consumidor. Lo anterior se reafirma en los hallazgos que se presentan en las tablas 1 y 2, donde las muestras procedentes



de San José y Desamparados que son cantones que colindan, presentan contaminación con los mismos microorganismos. Un contaminante presente en todas las muestras, es el *Aspergillus* sp., que de acuerdo con Negroni (2009), concuerda con su amplia distribución a nivel mundial (ver tabla 2), debido a que la presencia de esporas de especies del género *Aspergillus* se encuentra en el aire, tanto en exteriores como en los interiores del ambiente, siendo de las concentraciones de esporas más elevadas cuando se compara con la concentración de esporas de otros hongos (Rahman, Rasul y Khan, 2008).

Con respecto a los otros géneros de hongos, el *Scopulariopsis* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. (Pagano et al, 2006) y a la especie bacteriana *Staphylococcus xylosum*, infectan principalmente a personas inmunosuprimidas (Akhaddar, Elouennass, Nama y Boucetta, 2010), esto es de suma importancia debido a que existe un grupo de usuarios de marihuana con fines terapéuticos para tratar el VIH/SIDA y diversos tipos de cáncer.

Es preocupante la presencia de *S. aureus* en una de las muestras, esta bacteria como se mencionó anteriormente, se considera en los Países Bajos que no debe estar presente, dadas las enfermedades que puede causar. (Hazekamp, 2006); aunado a que el fumado de marihuana reduce la capacidad de los macrófagos a eliminar esta especie de estafilococo (Joy, Watson y Benson, 1999).

Es positivo el hecho de que no se encontrara la *Escherichia coli* o *Salmonella*, como sí sucede en muestras de cannabis analizadas en otros países. (Taylor et ál., 1982). Sin embargo sí están presentes el *Enterobacter cloacae* y *E. sakazakki*, de cuya patogenicidad se hace referencia anteriormente.

Los resultados aquí presentados, indican que la marihuana que se comercializa en Costa Rica está contaminada con diversos patógenos y que deben tener un especial cuidado con su uso las personas inmunosuprimidas. Este estudio es un intento de contribuir al debate acerca de la necesidad de tener una verdadera política de regulación del *cannabis* sp, sea ésta para uso recreativo o con un fin terapéutico. Por lo tanto, uno de los objetivos es también contribuir con información científica que ayude a los consumidores a meditar sobre el riesgo que conlleva el consumir droga que no ha sido manipulada adecuadamente, desde el proceso de cultivo hasta el momento en que le es entregada por un vendedor callejero; lo que conlleva a procesos patológicos causados por la droga propiamente dicha, lo cual no es la razón de ser de este estudio.

Durante el proceso de investigación, hubo mucha traba burocrática, especialmente para la obtención de las muestras por parte del Poder Judicial, pues fue necesario la obtención de múltiples permisos en diferentes instancias gubernamentales. Inclusive, no se evidenciaba un criterio uniforme entre esos entes. Por tanto, a juicio de los autores, los procedimientos para la obtención y el estudio con cannabis por parte de investigadores con reconocimiento en este campo, deberían ser más explícito, porque es a partir de estos estudios donde se puede obtener resultados que contribuyan a la salud pública.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Superior del Poder Judicial, Juzgado Penal de San Joaquín de Flores, Departamento de Laboratorio de Ciencias Forenses (Sección de Química Analítica), por la entrega de las muestras.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akhaddar, A.; Elouennass, M.; Naama, O. y Boucetta, M. (2010). Staphylococcus xylo-
sus Isolated from an Otogenic Brain Abscess
in an Adolescent. *Surg Infect*, 11, (6), 559-61.
- Arteaga, E. y Grande, E. (1999). Asper-
gilosis pulmonar invasora en el síndrome de
inmunodeficiencia adquirida. *Rev Iberoam
Micol*, 16, 211-215.
- Bhat, G.K.; Anandhi, R.S.; Dhanya, V.C. y
Shenoy, S. M. (2009). Urinary tract infection
due to Enterobacter sakazakii. *Indian J Pathol
Microbiol*, 52, 430-431.
- Bouillard, L., Michel, O., Dramaix, M. y
Devleeschouwer, M. (2005). Bacterial con-
tamination of indoor air, surfaces, and set-
tled dust, and related dust endotoxin con-
centrations in healthy office buildings. *Annals of
Agricultural and Environmental Medicine*,
12(2), 187-192.
- Cavazos-Rehg, P.; Krauss, M. y Bierut, R.
(2014). Characterizing the Followers and
Tweets of a Marijuana-Focused Twitter
Handle. *J Med Internet Res*; 16, (6). Extraído
el 12 de setiembre 2014 en: [http://www.
jmir.org/2014/6/e157/](http://www.jmir.org/2014/6/e157/)
- Clark, R. (1981). *Marijuana Botany: An Ad-
vanced Study: The Propagation and Breeding
of Distinctive Cannabis*. USA: Ronin Publi-
shing, Inc.
- Cortés, E. (2012). *Consumo de Cannabis
en Costa Rica*. En Encuesta Nacional sobre
Consumo de Drogas en Costa Rica, San
José: IFAA.
- Darini, M.; Soares, M. y Cazenave, S.
(2003). Isolamento e identificação de fun-
gos filamentosos a partir de "Cannabis Sati-
va L." *Retel*. 3. Extraído el 8 de enero 2015
en: [http://www.sertox.com.ar/retel/de-
fault.htm](http://www.sertox.com.ar/retel/default.htm)
- Dirección de Vigilancia de la Salud, Minis-
terio de Salud (2014). Análisis de situación
de salud Costa Rica.
- Gargani, Y.; Bishop, P. y Denning, D.
(2011). Too Many Mouldy Joints - Marijuana
and Chronic Pulmonary Aspergillosis. *Me-
diterr J Hematol Infect Dis*, 3, (1). Extraído el
8 de enero 2015 en: [http://www.ncbi.nlm.
nih.gov/pmc/articles/PMC3103256/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3103256/)
- Gassiot, C.; Pino, P.; Rodríguez, J.C.; Ra-
mos, M.; Páez, I. y Gundián, J. (2000). As-
pergilosis pulmonar: un nuevo enfoque en la
reemergencia. *Acta médica*, 9, (1-2), 67-72.
- Gavaldá, J. y Ausina, V. (2002). Infección
por Aspergillus. *Medicine*, 8, (68), 3625-3630.
- Gharaghani, M.; Seifi, Z.; y Zarei, A.
(2015). Otomycosis in Iran: A Review. *Myc-
opathologia*, 179, 415-424.
- Hager, S. (1998). *High times cultivation
tips: Twenty years and still growing*. New
York: High times book.
- Hazekamp, A. (2006). An evaluation of
the quality of medicinal grade Cannabis in
the Netherlands. *Cannabinoids*, 1, (1), 1-9.
- Hedayati, M.T.; Pasqualotto, A.C.; Warn,
P.A.; Bowyer, P. y Denning, D.W. (2007).
Aspergillus flavus: human pathogen, allergen
and mycotoxin producer. *Microbiology*; 153,
(6), 1677-1692.
- Hwang, A. y Huang, L. (2010). *Ready-
to-Eat Foods: Microbial concerns and control
measure*. Boca Ratón: CRC Press.
- Jones, D. (2011). The Thin White Line:
Pharmaceuticals and Illicit "Street Drugs" at
UCSB. Extraído el 06 de agosto 2014 en:
[https://www.yumpu.com/en/document/
view/24458011/pharmaceuticals-and-illicit-
aaeuroastreet-drugsaaeura-at-ucsb-wri-
ting-program](https://www.yumpu.com/en/document/view/24458011/pharmaceuticals-and-illicit-aaeuroastreet-drugsaaeura-at-ucsb-writing-program)



- Joy, J.; Watson, S. y Benson, J. (1999). *Marijuana and Medicine: Assessing the Science Base*. Washington: National Academy Press.
- Kashyap, S. y Kashyap, K. (2014). Medical marijuana. A panacea or scourge. *Lung India*, 31, (2), 145-148.
- La Gaceta. (2014). *Ley para la investigación, regulación y control de las plantas cannabis y cáñamo para uso medicinal, alimentario e industrial*. 175. San José: Imprenta Nacional de Costa Rica.
- Lariscy, R.; Reber, B. y Paek, H. (2011). Exploration of Health Concerns and the Role of Social Media. Information among Rural and Urban Adolescents: A Preliminary Study. *International Electronic Journal of Health Education*, 14, 16-36.
- Le Loir, Y.; Baron, F. y Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet. Mol. Res*, 2, (1), 63-76.
- Más-Bagá, M. (2005). Editorial. *Revista de Toxicomanías*, 43, 1-2.
- Martínez-Hernández, L.; Caro-Sánchez, C. y Bonifaz, A. (2014). Infecciones por Fusarium. *Dermatol Rev Mex*, 58, 432-442.
- Masuelli, R. y Marfil, C. (2011). Variabilidad epigenética en plantas y evolución. *Journal of Basic & Applied Genetics*, 22, (1), 01-06.
- Mertz, D.; Frei, R.; Jaussi, B.; Tietz, A.; Stabler, C.; Fluckiger, U. y Widmer, A. (2007). Throat swabs are necessary to reliably detect carriers of Staphylococcus aureus. *Clin. Infect. Dis*, 15, (4), 475-477.
- Negrón, M. (2009). *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Pagano, L.; Caira, M.; Candoni, A.; Offidani, M.; Fianchi, L.; Martino, B.; Pastore, D.; Picardi, M.; Bonini, A.; Chierichini, A.; Fanci, R.; Caramatti, C.; Invernizzi, R.; Mattei, D.; Enza, M.; Melillo, L.; Aversa, F.; Van Lint, M.; Falucci, P.; Valentini, C.; Girmenia, C. y Nosari, A. (2006). The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica*, 91, 1068-1075.
- Peretti, P. (2003). Neutralization theory and the denial of risk: some evidence from cannabis use among French adolescents. *Brit. J. Sociol.*, 54, (1), 21-42.
- Pérez, A. (2009). Transiciones en el consumo de drogas en Colombia. *Adicciones: Revista de sociodrogalcohol*, 21, (1), 81-88.
- Powers, M. y Bubeck, J. (2014). Igniting the Fire: Staphylococcus aureus Virulence Factors in the Pathogenesis of Sepsis. *PLoS Pathog*, 10, (2). Extraído el 12 febrero 2015 en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3923759/>
- Rahman, M.M.; Rasul, M.G. y Khan, M.M. (2008). Sustainability in Building Environment: A Review and Analysis on Mould Growth in a Subtropical Climate. *WSEAS TRANSACTIONS on FLUID MECHANICS*, 3, (3), 287-295.
- Rodríguez-Castro, C.; Alkhateeb, H.; Elfar, A.; Saifuddin, F.; Abbas, A. y Siddiqui, T. (2014). Recurrent myopericarditis as a complication of Marijuana use. *Am J Case Rep*, 15, 60-62.
- Rosenthal, E. (2007). *The Big Book of Buds. More Marijuana Varieties from the World's Great Seed Breeders*, 3, California: Quick American
- Rubin, R.; Harrington, C.; Poon, A.; Dietrich, K.; Greene J. y Moiduddin, A. (1999). The economic impact of Staphylococcus aureus infection in New York city hospitals. *Emerg Infect Dis*, 5, (1), 9-17.
- Ruchlemer, R.; Amit-Kohn, M.; Raveh, D. y Hanus, L. (2015). Inhaled medicinal cannabis and the immunocompromised patient. *Support Care Cancer*, 23, 819-822.



Sanz, A.; Zudaire, M.; Morejón, B.; De la Cruz, V.; Gardeazaba, I.; López-Picado, J.M.; Del Valle, M.L. y Centeno, C.; (2014). Cómo responder al paciente con cáncer avanzado que nos plantea el uso de cannabis como tratamiento sintomático. *Medicina Paliativa*, 21, (2), 79-78.

Shaver, C. M.; Castilho, J. L.; Cohen, D. N.; Grogan, E. L.; Miller, G. G.; Dummer, J. S.; Gray, J. N.; Lambright, E. S.; Loyd, J. E. y Robbins, I. M. (2014). Fatal Scopulariopsis Infection in a Lung Transplant Recipient: Lessons of Organ Procurement. *American Journal of Transplantation*, 14, 2893-2897.

Stepanovic, S.; Ježek, P.; Vukovic, D.; Dakic, I. y Petráš, P. (2003). Isolation of members of the *Staphylococcus sciuri* group from urine and their relationship to urinary tract infections. *Journal of clinical microbiology*, 41(11), 5262-5264.

Taylor, D.; Wachsmuth, K.; Shangkuan, Y.; Schmidt, E.; Barrett, T.; Schrader, J.; Scherach, C.; McGee, H.; Feldman, R. y Brenner, D. (1982). Salmonellosis Associated with Marijuana — A Multistate Outbreak Traced by Plasmid Fingerprinting. *N Engl J Med*, 306, (21), 1249-1253.

The United States Pharmacopeia Convention. (2014). United States Pharmacopeia (USP XXIV) and National Formulary (NF). EEUU: National Publishing.

Touza, F.; Martínez, C.; Alonso, J.; Méndez, M.J.; Rubianes, M. y Crespo, M. (1984). The clinical response to interferon-gamma in a patient with chronic granulomatous disease and brain abscesses due to *Aspergillus fumigatus*. *Anales de Medicina Interna*, 17, (2), 86-87.

Transnational Institute (TNI). Costa Rica: Overview of drug laws and legislative trends in Costa Rica. Extraído el 12 de febrero 2015 en: <http://www.druglawreform.info/>

en/country-information/central-america/costa-rica/item/%205017-costa-rica

Tseleniskotsowilis, A.; Koliomichalis, M. y Papavassiliou, J. (1982). Acute pyelonephritis caused by *Staphylococcus xylosum*. *Journal of Clinical Microbiology*, 16, (3), 593-594.

Yoshino, Y.; Okugawa, S.; Kimura, S.; Makita, E.; Seo, K.; Koga, I.; Matsunaga, N.; Kitazawa, T. y Ota, Y. (2012). Infective endocarditis due to *Enterobacter cloacae* resistant to third- and fourth-generation cephalosporins. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 48, (2), 226-228.

UNODC (2012). *Informe Mundial sobre las Drogas*. Viena.

UNODC (2014). *Informe Mundial sobre las Drogas*. Resumen Ejecutivo. Extraído el 04 de marzo 2015 en: www.unodc.org/documents/wdr2014/v1403603_spanish.pdf

Watanabe, T. (2010). *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*, Third Edition, CRC Press, Boca Ratón.