

Artículo original

Caracterización microbiológica del chimó o tabaco de mascar consumido en el estado Mérida – Venezuela.

Microbiological characterization of the chimó or chewing tobacco consumed in the state of Mérida - Venezuela.

Millán-Mendoza Beatriz E.^{1,2,*}, Carrero Sarelle², Sánchez Omarvic³, Urdaneta Leonidas E.^{1,3}

¹Universidad de Los Andes, Grupo de Investigaciones Biopatológicas de la Facultad de Odontología (G.I.B.F.O.), Apartado Postal No. 133. Mérida, Venezuela. ²Universidad de Los Andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Departamento de Microbiología y Parasitología. Mérida, Venezuela. ³Universidad de Los Andes, Facultad de Odontología, Departamento de Biopatología, Mérida, Venezuela.

Recibido octubre 2009 - Aceptado enero 2010

RESUMEN

El chimó, producto derivado del tabaco, de fabricación artesanal, en forma de pasta blanda negruzca, ha sido utilizado por nuestros campesinos desde tiempos precolombinos y constituye en nuestro país, la forma principal del llamado tabaco de uso oral o tabaco masticable, causando alteraciones a nivel de la mucosa oral con daño tisular. En este trabajo se determinó la calidad microbiológica de cuatro presentaciones comerciales de chimó de uso frecuente en el estado Mérida-Venezuela, sembrándolas, después de una solubilización en agua peptonada estéril, en placas con medio agar plate count, agar sangre y agar infusión cerebro corazón las cuales fueron incubados a 37°C en condiciones de aerobiosis y las dos últimas también en condiciones de microaerofilia. Adicionalmente, las muestras también se sembraron en placas con medio agar sabouraud-dextrosa con incubación a 25°C por 5 días. Luego del tiempo de incubación, no se observó crecimiento bacteriano, pero sí abundante crecimiento fúngico de los géneros *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Helminthosporium*, y *Hormodendrum*. Estos géneros no se encuentran habitualmente en el humano pero pueden llegar a ocasionar daños en la salud de los consumidores, especialmente, de los inmunocomprometidos, causando micosis oportunistas. También pueden ocasionar intoxicaciones por la acción de las micotoxinas que son productos tóxicos elaborados por distintos tipos de hongos, y que pueden incluso, resultar carcinogénicas.

PALABRAS CLAVE

Chimó, tabaco, calidad microbiológica, tabaco de mascar.

ABSTRACT

Chimó, a hand made product derived from tobacco, in the shape of soft blackish pasta has been used by our farmers from pre-Columbian time and constitutes in our country the main form of the so-called tobacco for oral use or chewing tobacco, causing alterations in the oral mucous membrane with tissue damage. In this work the microbiological characterization of four commercial chimó presentations of frequent use in the state of Merida-Venezuela was made. Samples were diluted with sterile peptone water and then cultured in different media: plate count agar, blood agar and brain heart infusion agar, which were incubated at 37°C under aerobic conditions and the last two were also incubated under micro-aerobic conditions, the samples were also seeded in sabouraud dextrose agar media and incubated at 25°C for 5 days. After the incubation period bacterial growth was not observed in any of the cultured media different from the abundant fungal growth observed specially from the genus *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Rhodotorula*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Helminthosporium*, y *Hormodendrum* which are not habitually found in humans but could cause health damage in chimó consumers specially those who are immunodepressed and sensible to opportunistic mycosis as well as intoxication by mycotoxins which are toxic metabolites produced by different kind of fungi which can be carcinogenic.

KEY WORDS

Chimó, tobacco, microbiological quality, chewing tobacco.

*Correspondencia al autor: bmillanm@ula.ve

INTRODUCCIÓN

El tabaco es una planta originaria del continente americano y es la sustancia más dañina consumida regularmente por los humanos, su uso data desde siglos pasados y ha vivido varias etapas a lo largo del tiempo [1]. El tabaco tiene varias formas de ser consumido, aunque la principal sea la de aspirar su humo, también se puede mascar (chimó) y aspirar el polvo, lo que antiguamente era llamado rapé. Todas estas presentaciones se han ido desarrollando a través del tiempo y su consumo se encuentra muy extendido por todo el mundo [2]. El chimó es un producto derivado del tabaco curado y constituye en nuestro país, la forma principal del llamado tabaco de uso oral. Este producto consiste en un macerado de las hojas de tabaco, el cual se obtiene después de varias horas de ebullición hasta la formación de una pasta espesa de color negro. En el transcurso del proceso se le agregan los “aliños”, cuya proporción constituye el secreto de la tradición familiar y de la fórmula de elaboración de las diferentes fabricas productoras de chimó. Entre estos aliños encontramos: la harina, menta, melaza y la sal de urao que es un producto que se encuentra naturalmente en la zona de producción y además es lo que lo diferencia de otros tabacos de mascar producidos en otras zonas o en otros países. Su producción es de tipo artesanal, sin controles de calidad establecidos y sin registros de su calidad sanitaria, lo que es claramente evidenciable en las visitas realizadas a los sitios de producción. A pesar de que hoy en día el producto se ve más comercializado, no llega al punto de estar completamente industrializado con los controles de rigor del proceso. Su procesamiento no tiene fórmulas exactas de producción, sino que se basa en la experiencia del productor y en los conocimientos pasados de generación en generación [3,4]. Tal vez el único punto en donde se ha visto un adelanto en este tipo de producto es en la actual forma de presentación, pues se encuentra en papel celofán, en hojas de plátano seco y en las cajitas que hoy en día según su color indica lo concentrado del producto.

El esfuerzo mundial por disminuir el consumo del cigarrillo y la realidad de que públicamente es más difícil y costoso hacerlo, ha llevado a que la población de los países desarrollados haya dado un vuelco en su uso y ahora consumen cada vez más tabaco de mascar o el tabaco que no produce humo, hecho que se observa especialmente entre la gente joven [5,6]. Sin embargo, en Venezuela, principalmente en la región andina, el consumo del tabaco de mascar o chimó data de tiempos precolombinos. Para el año 1781, Pedro de Berástegui, visitador general de la

renta del tabaco (1782 y 1784), ya reportaba el uso del chimó en la región andina de Venezuela. Su uso se encontraba principalmente limitado a las zonas rurales, en donde los agricultores, ancianos y la gente de campo, con un nivel socio cultural bajo, encontraban, que gracias a sus efectos energizantes, de inapetencia y el efecto anestésico, les permitía trabajar una jornada más larga [4].

El conocimiento científico, que sobre el chimó han tenido los profesionales de la salud ha sido muy limitado [7]. En general, lo que se sabe del chimó se basa en las creencias populares, que sin ninguna base científica tiene la población consumidora. Por esta razón, los efectos nocivos son poco conocidos entre la población y sus consumidores. Estos últimos tratan de desligarlos de los ya bien conocidos efectos nocivos producidos por el cigarrillo. Erróneamente, justifican su conducta por la ausencia de humo, que en el caso del uso del cigarro, afecta directamente a los pulmones, ya que el chimó es masticado y escupido. Sin embargo, esta justificación no es del todo válida, y no significa que el chimó sea inocuo, al contrario, al chuparlo o masticarlo permite que la nicotina sea absorbida por el torrente sanguíneo a través de los tejidos de la mucosa oral, lo que ocasiona alteraciones en la mucosa, como enfermedades periodontales, recesión gingival, alteración de la microflora oral y del flujo salivar y otros numerosos problemas de salud oral, como periodontitis agresivas o fibrosis de la submucosa oral [8,9,10,11].

En el presente trabajo, con la finalidad de ahondar en el conocimiento científico del chimó, se evaluó la calidad microbiológica de cuatro marcas comerciales que son las que regularmente se encuentran de venta en el mercado principal de la ciudad de Mérida y además son de uso frecuente por la población consumidora del estado Mérida, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra: Un total de 36 muestras de chimó fueron recolectadas aleatoriamente en establecimientos comerciales del Mercado Principal de la ciudad de Mérida, Venezuela. Cuatro marcas comerciales con empaques diferentes fueron incluidas y distribuidas de la manera siguiente: 9 muestras con empaque metálico (marca A), 9 muestras en caja plástica (marca B), 9 muestras con envoltura de hojas de plátano (marca C) y 9 muestras con cubierta plástica (marca D). El muestreo se realizó durante un lapso de tres meses, recolectando 3 muestras diferentes de cada marca comercial por mes.

Análisis de las muestras: Inicialmente se

registraron las características macroscópicas como color y aspecto del producto, seguido por la medición del pH, utilizando un pH-metro digital con electrodo (Hanna®), para lo cual se disolvió 5 g de la muestra en 20 ml de agua destilada estéril. Posteriormente, se pesaron 10 g de chimó y se agregaron a 90 ml de agua peptonada estéril al 0,1% a 35±2 °C. Luego se agitó lentamente por 5 minutos hasta completar la disolución del producto, obteniéndose de esta manera una dilución inicial de la muestra de 1:10. Esta dilución se utilizó para inocular por agotamiento placas con agar infusión cerebro corazón (ABHI) (HiMedia®) y con agar sangre (AS), las cuales se incubaron a 35±2°C por 48 horas, tanto en condiciones aeróbicas como de microaerofilia (método de la vela). Posteriormente, de la dilución inicial (1:10) se procedió a la realización de diluciones decimales seriadas (1:100, 1:1000, 1:10000) con agua peptonada estéril al 0,1% y de las cuales se tomó 1 ml de cada dilución para sembrarlas en placas con agar para conteo estándar (HiMedia®) para la determinación de las bacterias aerobias mesófilas. Estas placas se incubaron a 30±2°C por 48h.

Para la determinación de mohos y levaduras se utilizó 0,1 ml de cada una de las diluciones arriba mencionadas para sembrar por diseminación con rastrillo en agar sabouraud dextrosa (ASD) (HiMedia®) acidificado con ácido tartárico al 1% e incubadas a 25±2°C por 5 días. Los hongos que crecieron en el medio arriba descrito fueron posteriormente sembrados en tubos de ensayo con agar Borelli (AB) y sometidos a incubación de 25 ±2°C por 5 días, para ser luego identificados microscópicamente realizando preparaciones con azul de lactofenol. En este estudio no se incluyó la búsqueda de bacterias anaeróbicas.

RESULTADOS

Las características físicas y el promedio del pH de las muestras analizadas se presentan en la Tabla 1.

TABLA 1

Características físicas y químicas de los diferentes marcas comerciales de chimó analizadas.

Características	Producto A	Producto B	Producto C	Producto D
Empaque	Caja Metálica	Caja Plástico	Hoja de Plátano	Bolsa de Plástico
Banda de Seguridad	Si	No	No	No
Color	Negro	Negro intenso	Marrón	Negro
Consistencia	Dura	Blanda	Pastosa	Dura
pH	9	9	8,5	8,5

En los diferentes medios de cultivo y en las diferentes condiciones de incubación (aerobiosis y microaerofilia), no hubo crecimiento bacteriano. Sin embargo, se observó crecimiento fúngico en todas las placas con medio ASD acidificadas con ácido tartárico que fueron sembradas con las muestras evaluadas.

En la tabla 2 se observan las especies fúngicas encontradas en las muestras de chimó analizadas. Las especies más frecuentemente recuperadas en las muestras estudiadas fueron las pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*. Se puede notar que en el producto C, se aisló el mayor número de géneros fúngicos, tales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Helminthosporium* y *Hormodendrum*. En el producto B, se encontraron dos géneros fúngicos como *Rhodotorula* y *Penicillium*, mientras que en los productos A y D se recuperaron los géneros *Rhizopus* y *Aspergillus*, respectivamente. En todas las 36 muestras analizadas (un total de 9 muestras por marca comercial), se observó una presencia constante de los hongos reportados dentro del mismo producto.

TABLA 2

Hongos presentes en las diferentes marcas comerciales de chimó estudiadas y obtenidas en el mercado principal de la ciudad de Mérida.

Producto A	Producto B	Producto C	Producto D
<i>Rhizopus</i> spp.	<i>Rhodotorula</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Helminthosporium</i> spp. <i>Hormodendrum</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.

DISCUSIÓN

En Venezuela, el chimó es un producto principalmente de tipo artesanal sin registros ni evaluación de su calidad sanitaria por parte de las autoridades competentes. Su consumo data desde tiempos de la colonia, y en la actualidad se encuentra en aumento, especialmente en la población joven, lo que es una novedad, pues anteriormente era utilizado sólo por la población adulta campesina de Venezuela. Este incremento en su consumo es debido a sus efectos analgésicos y narcótico-estimulantes, aunado al consentimiento de que no posee efectos adictivos o nocivos para la salud ya que no existe la producción del humo del tabaco o a la creencia de que no posee nicotina, hasta el punto que, mundialmente la población lo está utilizando como paliativo en el proceso de “dejar de fumar”, sustituyendo el

tradicional cigarrillo por el consumo de la llamada “pasta de tabaco sin humo” o “chimó”, como es conocido en Venezuela [12].

En este estudio, se determinó la calidad microbiológica de cuatro marcas comerciales de chimó de uso frecuente en la población del estado Mérida. Los resultados permitieron evidenciar la presencia de varias especies de hongos de origen ambiental en todas las muestras analizadas, siendo más frecuentes en los productos que se expenden con empaque de hoja de plátano y bolsa plástica y en menor proporción, en las que se comercializan en cajas selladas tipo metálico o de plástico. Resultados similares fueron reportados por Warke y col. [13], quienes encontraron un elevado número de hongos, con producción comprobada de aflatoxinas en el tabaco de mascar producido artesanalmente en la India llamado “gutkha”. Las condiciones observadas durante la visita realizada a los diferentes puntos de fábrica de chimó estudiados y los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren deficiencias en el control sanitario durante el almacenamiento de la materia prima, transporte, manipulación y fabricación del producto final.

Rubinstein y col. [14] lograron aislar cinco especies de *Bacillus*, siendo los más predominantes *Bacillus megaterium* y *Bacillus pumilis*, a partir de dos marcas comerciales de tabaco de mascar de consumo regular en los Estados Unidos, y comprobaron que dichas especies elaboraban factores de virulencia que causaban daño a la mucosa oral en animales de experimentación. Sin embargo, en este estudio no se aislaron bacterias aerobias mesófilas o microaerofilas cultivables. Probablemente, estos hallazgos estén en relación con el efecto inhibitor del crecimiento bacteriano que tiene las altas temperaturas a que es sometido el producto, la presencia de agentes alcalinos y sales de urao que son añadidos durante el proceso de fabricación del chimó, además de su bajo contenido de humedad.

Es importante resaltar que los hongos identificados en este trabajo son saprofitos del ambiente y no ocasionan enfermedad. Sin embargo, pueden ser patógenos oportunistas en personas inmunosuprimidas, tales como pacientes con neutropenia, linfomas, cáncer, SIDA, tratamientos agresivos, trasplantes de órganos, entre otros. Además, desde el punto de vista clínico se ha comprobado que el uso frecuente de productos categorizados como tabaco masticable producen cambios en el flujo salival de los consumidores [10] y alteraciones en la microflora oral ocasionando un desequilibrio en la simbiosis de la microflora bucal, lo que favorece la colonización de algunos patógenos

orales capaces de generar infecciones periodontales severas [15,16,17]. Estos cambios fisiopatológicos también fueron observados en los tejidos periodontales de animales de experimentación, cuando fueron sometidos al consumo de chimó [18]. Avasn y col. [9], en un estudio efectuado en la india reportaron la presencia de *Aspergillus* spp. en lesiones bucales de pacientes que usaban “gutkha”. Otros estudios han confirmado, que el 18% de las especies de *Aspergillus* encontrados en hojas de tabaco almacenadas son micotoxigénicas, con producción de aflatoxinas, las cuales han sido descritas como carcinogénicas [19].

Cabe resaltar, que el uso de cualquier forma de tabaco, aun el masticable, es un problema de salud pública por ser productos potencialmente carcinogénicos [20,21]. También por producir alteración en el sistema inmune, lo que podría traer como consecuencia el riesgo de contraer una micosis principalmente por *Aspergillus* spp., considerado el tercer hongo oportunista que ocasiona micosis en pacientes en estado de inmunosupresión. Por otra parte, *Aspergillus* spp., puede ocasionar intoxicaciones debido a la producción de metabolitos altamente tóxicos, capaces de ocasionar lesiones hepáticas y renales, entre otras [22,23]. Por lo tanto, el consumo de chimó o tabaco masticable representa un peligro latente para los consumidores, los cuales en su gran mayoría, desconocen los riesgos que este hábito puede tener.

CONCLUSIÓN

Es importante hacer énfasis que el haber efectuado la caracterización microbiológica del chimó producido en el estado Mérida, Venezuela, el cual es un producto artesanal frecuentemente consumido por la población local, ofrece nuevas bases científicas para concienciar al consumidor de los riesgos a que se expone con su consumo regular. El hallazgo de diferentes especies fúngicas que potencialmente pueden causar patologías en el humano, sugieren que las condiciones higiénicas de su producción no son las adecuadas, y se refuta la creencia popular de que en el chimó no existe ningún tipo de microorganismo debido a que el producto es sometido a altas temperaturas durante su producción.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su sincero agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, por el apoyo ofrecido para el desarrollo de esta

investigación, a través de los proyectos: O-206-07-C y O-215-08-07F y al laboratorio de Microbiología de los Alimentos "Dra. Cándida Díaz" de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis por facilitarnos su infraestructura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Albornoz A, Productos Naturales: Estudio de las sustancias y drogas extraídas de las plantas. 1^{ra} Ed. Publicación de la Universidad Central de Venezuela, Caracas; 1980. p 347-350.

[2] Britton J. Smokeless tobacco: friend or foe?. *Addiction*. 2003; 98(9):1199-1201.

[3] Sánchez C, Urdaneta L. Estudio Microbiológico de cuatro distintas presentaciones de chimó. [Trabajo especial de grado], Mérida: Universidad de los Andes, Facultad de Odontología; 2008.

[4] Parra M. Botánico Berástegui P. En: Fundación Polar Eds. Diccionario Historia de Venezuela, 2^a Edición. Caracas; 2007. p 503-504.

[5] Granero R, Sánchez M. Cambios en el uso de tabaco y factores relacionados en estudiantes del sexto al noveno grado, Estado Lara, Venezuela, años 2000 y 2003. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22(9): 1893-1899.

[6] Mochizuki-Kobayashi Y, Fishburn B, Baptiste J. Use of cigarettes and other tobacco products among students aged 13-15 years-worldwide, 1999-2005. *JAMA*. 2006; 295(24): 2842-2843.

[7] Granero R, Escalona N. El problema del tabaquismo en odontología: creencias, conocimientos, actitudes y práctica clínica de profesionales de la odontología en relación al tabaco de uso oral. *Acta Odontol Venez*. 2006; 44(1): 64-69.

[8] Winn D. Tobacco Use and Oral disease. *J Dent Edu*. 2001; 65(4): 306-312.

[9] Avasn M, Rao RS, Palivela H, Thakre S. Impact of gutkha chewing & smoking on microbial environment of oral cavity: a case study on slum dwellers of selected areas in Visakhapatnam. *J Environ Sci Eng*. 2004; 46(4): 268-273.

[10] Sánchez N, Sosa M, Urdaneta L, Chidiak S, Jarpa P. Cambios en el flujo y pH salival de individuos consumidores de chimó. *Rev Odontol de los Andes*. 2009; 4(1): 6-13.

[11] Ahmad MS, Ali SA, Ali AS, Chaubey KK. Epidemiological and etiological study of oral submucous fibrosis among gutkha chewers of Patna,

Bihar, India. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2006; 24(2): 84-89.

[12] Rodu B, Phillips CV. Switching to smokeless tobacco as a smoking cessation method: evidence from the 2000 National Health Interview Survey. *Harm Reduct J*. 2008; 23: 5-18.

[13] Warke RG, Kamat AS, Kamat AY. Irradiation of chewable tobacco mixes for improvement in microbiological quality. *J food Protection*. 1999; 62(6): 678-681.

[14] Rubinstein I, Pedersen GW. Bacillus species are present in chewing tobacco sold in the United States and evoke plasma exudation from the oral mucosa. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002; 9(5):1057-1060.

[15] Fisher MA, Taylor GW, Tilashalski KR. Smokeless tobacco and severe active periodontal disease, NHANES III. *J Dent Res*. 2005; 84(8): 705-710.

[16] Ling LJ, Hung SL, Tseng SC, Chen YT, Chi LY, Wu KM, Lai YL. Association between betel quid chewing, periodontal status and periodontal pathogens. *Oral Microbiol Immunol*. 2001; 16(6): 364-369.

[17] Parmar G, Sangwan P, Vashi P, Kulkarni P, Kumar S. Effect of chewing a mixture of areca nut and tobacco on periodontal tissues and oral hygiene status. *J Oral Sci*. 2008; 50(1): 57-62.

[18] Rosales A, Sosa L, Dávila L, Quiñones B, Jarpa P. Cambios clínicos ocasionados por el chimó en animales de experimentación. *Rev Odontol de los Andes*. 2008; 3(2): 21-27.

[19] Varma SK, Verma RA, Jha AK. Ecotoxicological aspects of aspergilli present in the phylloplane of stored leaves of chewing tobacco (*Nicotiana tobaccum*). *Mycopathologia*. 1991; 113(1): 19-23.

[20] Nair U, Bartsch H. Alert for an epidemic of oral cancer due to use of the betel quid substitutes gutkha and pan masala: a review of agents and causative mechanisms. *Review. Mutagenesis*. 2004; 19(4): 251-262.

[21] Lee PN, Hamling JS. Systematic review of the relation between smokeless tobacco and cancer in Europe and North America. *BMC Medicine*. 2009;7: 36.

[22] Richardson M, Lass-Flörl C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14(4): 5-24.

[23] Meersseman W, Van Wijngaerden E. Invasive aspergillosis in the ICU: an emerging disease. *Intensive Care Med*. 2007; 33(10): 1679-1681.