

Quitosano: actividad antimicrobiana y mecanismos de acción

¹Rafael Jiménez Mejía, ²María Teresa Arceo Martínez y ¹Pedro Damián Loeza Lara*

Chitosan: antimicrobial activity and mechanisms of action

¹Licenciatura en Genómica Alimentaria, Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo. Avenida Universidad No. 3000, Colonia Lomas de la Universidad, Sahuayo, Michoacán, México. C.P. 59103.

²Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México.

*autor de correspondencia: pd-loeza@ucienegam.edu.mx

Resumen

En la actualidad, las restricciones en el uso de compuestos químicos sintéticos en la producción, procesamiento y conservación de los alimentos, así como en la salud humana y animal, han permitido una demanda importante de materiales versátiles para su uso en dichas áreas. El quitosano es un biopolímero catiónico que, además de ser un compuesto seguro, posee propiedades antifúngicas y antibacterianas, características que lo posicionan como un material importante. Los reportes de la actividad antimicrobiana del quitosano datan de los años 80's; sin embargo, estudios *in vitro* e *in vivo* muestran la importancia de analizar las nuevas características de esta molécula. Asimismo, en la última década, diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de estudiar sus mecanismos de acción, cuyos resultados han permitido el planteamiento de diversos modelos, los cuales se basan en la interacción del quitosano con diferentes blancos celulares.

Palabras clave: Policación, antifúngico, antibacteriano, mecanismos de acción.

Abstract

At the present, the restrictions on the use of synthetic chemical compounds in the production, processing and food conservation, as well as in human and animal health, have allowed a significant demand for versatile materials for use in these areas. Chitosan is a cationic biopolymer that, in addition to being a safe compound, has antifungal and antibacterial properties, characteristics that position it as an important material. The reports of the antimicrobial activity of chitosan date from the 80's; however, *in vitro* and *in vivo* studies show the importance of analyzing the new characteristics of this molecule. Also, in the last decade, various research groups have been given the task of studying their mechanisms of action, whose results have allowed the approach of various models, which are based on the interaction of chitosan with different cell targets.

Key words: Polycation, antifungal, antibacterial, mechanisms of action.

Introducción

La quitina (polímero de 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucosa) es una molécula que se encuentra de manera abundante en la naturaleza y representa el principal componente del exoesqueleto de insectos, crustáceos, cangrejos y langostas, así como de la pared celular de hongos, cuya extracción arroja un producto

que tiene poca solubilidad y baja reactividad. Para darle utilidad a dicho extracto, éste puede ser modificado removiendo los grupos acetilo, lo que produce la forma desacetilada conocida como quitosano (Goy *et al.* 2009).

El quitosano es un polisacárido lineal reconocido como seguro (GRAS, Generally Recognized as Safe, *por sus siglas en inglés*),

no tóxico, biodegradable y compatible con el ambiente, por lo que tiene aplicaciones en áreas que incluyen a la industria de los cosméticos y la textil. Asimismo, diversos estudios muestran que posee propiedades antifúngicas y antibacterianas (Zhang *et al.* 2011). Las primeras investigaciones al respecto datan de los años 80's y 90's; no obstante, los estudios básicos del polisacárido y su efecto sobre hongos y bacterias se incrementaron en la última década debido a las continuas restricciones establecidas en el uso de antibióticos, conservadores químicos de alimentos y plaguicidas, lo que muestra la importancia de estudiar esta molécula (Ahmed & Ikram 2015).

En la actualidad, existe demanda por materiales antimicrobianos para darles nuevas utilidades. El objetivo del presente artículo consistió en revisar las características generales del quitosano, su efecto antifúngico y antibacteriano, así como sus mecanismos de acción.

Características generales del quitosano

El quitosano está formado por cadenas lineales de unidades de glucosamina [β -(1-4)-D-glucosamina] y en menor medida de N-acetil D-glucosamina [β -(1-4)-N-acetil-D-glucosamina], destacando la presencia de grupos funcionales como el hidroxilo y el amino. Asimismo, es considerado un polication, ya que posee una alta densidad de cargas positivas. Dicha capacidad permite explicar su habilidad para unirse a moléculas con carga negativa (Zhang *et al.* 2011).

Propiedades antifúngicas del quitosano y mecanismos de acción

La actividad antifúngica del quitosano se reporta en estudios en los que destaca la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de esporas de hongos fitopatógenos como *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* y *Penicillium digitatum* (El Ghaouth *et al.* 1992a; El Ghaouth *et al.* 1992b; Bautista-Baños *et al.* 2017; Verlee *et al.* 2017). Incluso se reporta efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de oomicetos como *Phytophthora capsici* (Xu *et al.* 2007a), lo que podría resultar importante por el impacto de los pseudohongos en la producción agrícola.

En poscosecha, el quitosano ejerció el control del moho gris y pudriciones en frutos de fresa (*Fragaria x ananassa*), causados por *B. cinerea* y *R. stolonifer*, respectivamente (Romanazzi *et al.* 2013), así como en el moho azul en jitomate (*Solanum lycopersicum*), inducido por *P. expansum* (Liu *et al.* 2007). Lo cual demuestra su capacidad en el control de enfermedades en frutos en poscosecha.

En humanos, la candidiasis es una enfermedad que ha ido en aumento debido a la utilización de catéteres de plástico, de los que se ha aislado *Candida albicans*. Este hongo ocasiona graves problemas, ya que es resistente a diversos fármacos, principalmente a anfotericina B y sus derivados. Se ha documentado que la resistencia se debe a cambios en la síntesis de ergosterol, el blanco principal de la anfotericina B (Kelly *et al.* 1997). Lo anterior promueve la búsqueda de

alternativas, en donde el quitosano ha mostrado resultados importantes al inhibir el crecimiento micelial del hongo (Costa *et al.* 2014), y la formación de biopelículas (Martínez *et al.* 2010); resultados que muestran que el quitosano podría ser importante en el diseño de superficies plásticas protegidas de *C. albicans*.

Una de las principales hipótesis del mecanismo de acción del quitosano sobre hongos asume que los grupos amino de las unidades de glucosamina (carga positiva) interactúan con componentes extracelulares de la pared y la membrana celular de los hongos (carga negativa), mediante atracciones electrostáticas. Lo anterior provoca la formación de poros y la salida del contenido intracelular (Ca^+ y K^+ , proteínas), lo que ocasiona inestabilidad y muerte celular (Figura 1A) (Guo *et al.* 2008; Palma-Guerrero *et al.* 2009; García-Rincón *et al.* 2010; Kong *et al.* 2010; Hernández-Lauzardo *et al.* 2011; Verlee *et al.* 2017).

Sin embargo, otra hipótesis indica que oligómeros de quitosano difunden hacia el interior de las hifas, los cuales interfieren con componentes esenciales para el crecimiento celular (Eweis *et al.* 2006), además de ocasionar la desorganización del citoplasma y la pérdida del contenido extracelular en las esporas de *F. oxysporum* (Palma-Guerrero *et al.* 2008), así como la ruptura de vacuolas en *P. capsisi* (Figura 1B) (Xu *et al.* 2007a; Xu *et al.* 2007b). De acuerdo a lo anterior, el quitosano es una molécula versátil que tiene la capacidad de interactuar con diversos blancos celulares, ya sean estructurales o metabólicos, lo que dificulta los procesos

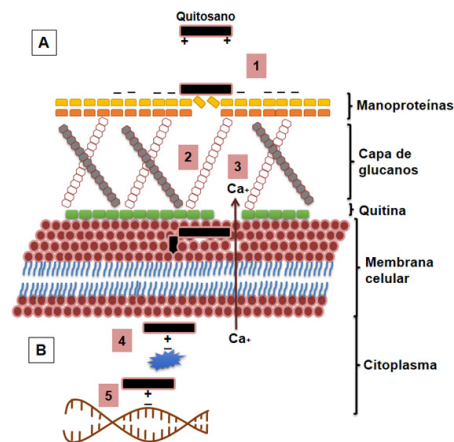


Figura 1. A) Mecanismo de acción antifúngico del quitosano a nivel extracelular. 1) Unión del quitosano a la pared celular mediante atracción electrostática. 2) Alteración de la pared y la membrana celular y formación de poros. 3) Salida de componentes esenciales como el Ca^+ . B) Mecanismo de acción intracelular. 1) Unión a la pared celular. 2) Alteración de la pared y la membrana celular y formación de poros. 4) Ingreso del quitosano al citoplasma e interacción con enzimas esenciales. 5) Interacción con ácidos nucleicos (Elaboración propia a partir de los datos de Eweis *et al.* 2006, Xu *et al.* 2007a, Xu *et al.* 2007b, Guo *et al.* 2008; Palma-Guerrero *et al.* 2008, 2009, García-Rincón *et al.* 2010, Kong *et al.* 2010, Hernández-Lauzardo *et al.* 2011).

fisiológicos normales de los microorganismos.

Propiedades antibacterianas del quitosano y mecanismos de acción

En lo que concierne a las propiedades del quitosano como agente antibacterial, estudios *in vitro* mostraron inhibición sobre bacterias patógenas de humano transmitidas por alimentos como *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, entre otras (Tsai

et al. 2002; Raafat *et al.* 2008; Ganan *et al.* 2009; Kong *et al.* 2010). Asimismo, inhibe el crecimiento y la formación de biopelículas de patógenos orales como *Streptococcus mutans*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* (Choi *et al.* 2001; Bae *et al.* 2006; Costa *et al.* 2013).

Estudios *in vivo* mostraron el efecto antibacteriano del quitosano al tratar ratones infectados de *P. aeruginosa* y *P. mirabilis* con vendas impregnadas de quitosano-acetato (HemCon) (Burkatovskaya *et al.* 2006). Asimismo, Bae *et al.* (2006), determinaron el efecto antibacteriano sobre *S. mutans*, así como la reducción de placa y la formación de biopelícula. Costa *et al.* (2014), evaluaron una solución de quitosano, encontrando que ésta tuvo mejor actividad contra *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp., que un enjuague comercial. Todo lo anterior indica que el quitosano podría representar una alternativa importante en la conservación de alimentos procesados y poco procesados, así como en la prevención de infecciones, tratamiento de heridas y quemaduras, mediante el diseño de vendas, hidrogeles y enjuagues bucales.

Los mecanismos de acción antibacterianos del quitosano muestran que éste interactúa, mediante atracciones electrostáticas, con lipopolisacáridos de la membrana externa de bacterias Gram negativas, desestabilizándola, lo cual altera su permeabilidad, tanto de la pared como de la membrana interna, favoreciendo la entrada y salida de componentes celulares esenciales (Figura 2) (Liu *et al.* 2004; Ganan *et al.* 2009; Kong *et al.* 2010). Asimismo, en bacterias Gram

positivas el polímero se une a los ácidos teicoicos y lipoteicoicos ubicados en la pared celular, lo que altera la interacción entre ésta y la membrana celular, induciendo la salida de componentes esenciales y el desequilibrio osmótico de la célula (Figura 3) (Raafat *et al.* 2008; Kong *et al.* 2010; Verlee *et al.* 2017). De acuerdo a lo anterior, el quitosano puede actuar sobre diversos blancos celulares, ya sea en la pared y en las membranas de las bacterias Gram negativas, así como en la pared celular de las Gram positivas, lo que le permite desestabilizar a la célula mediante la pérdida de componentes esenciales (Raafat *et al.* 2008).

Conclusiones

El quitosano es una molécula versátil ampliamente investigada, que muestra propie-

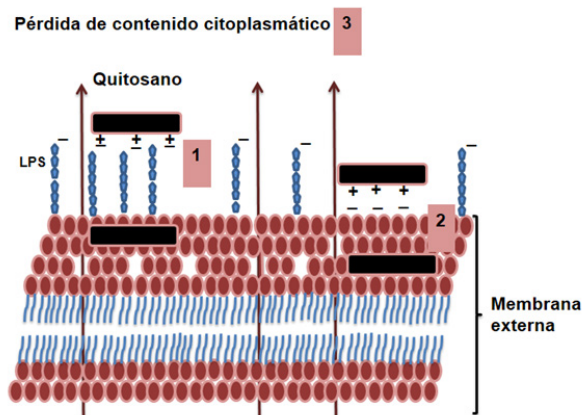


Figura 2. Mecanismo de acción del quitosano sobre bacterias Gram negativas. 1) Atracción electrostática entre el quitosano (carga +) y los lipopolisacáridos (LPS) de la membrana externa (carga -). 2) Unión de moléculas a la membrana externa. 3) Alteración de la membrana y salida de moléculas esenciales (Modificado de Kong *et al.* 2010).

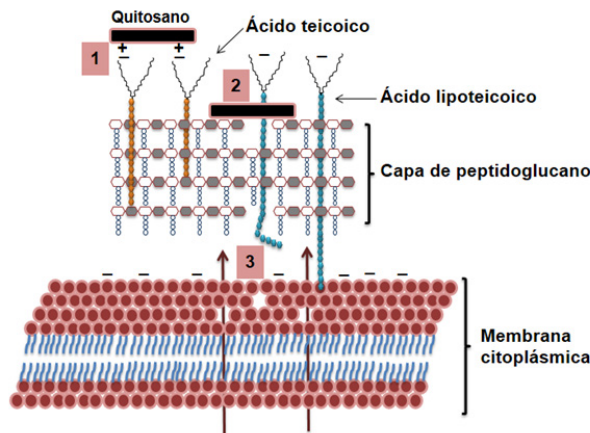


Figura 3. Mecanismo de acción de quitosano sobre bacterias Gram positivas. 1) Atracción electrostática entre el quitosano (carga +) y el ácido teicoico y lipoteicoico de la pared celular (carga -). 2) Unión de quitosano a la pared celular. 3) Se altera la interacción entre la membrana y la pared, lo que lleva a la salida de moléculas esenciales (Modificado de Kong *et al.* 2010).

dades interesantes con posibles aplicaciones en diferentes campos. Una de las características más prometedoras es la actividad antimicrobiana (antifúngica y antibacteriana), la cual se basa fundamentalmente en la atracción electrostática del quitosano con diversos componentes de la pared y la membrana celular de hongos y bacterias que tienen componentes con carga negativa. Gracias a esta característica, actualmente, la utilización de la molécula en agricultura sostenible se justifica, ya que no genera problemas de salud pública ni de contaminación ambiental, lo que incluye la conservación de alimentos mediante el desarrollo de recubrimientos y películas comestibles biodegradables. De la misma manera, podría tener aplicaciones biomédicas en el diseño de superficies plásticas protegidas de patógenos como *C. albicans*, así como en el

diseño de materiales útiles en la prevención de heridas y quemaduras.

Literatura Citada

Ahmed, S. & S. Ikram. 2015. Chitosan & its derivatives: a review in recent innovations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **6**: 14-30.

Bae, K., E.J. Jun, S.M. Lee, D.I. Paik & J.B. Kim. 2006. Effect of water-soluble reduced chitosan on *Streptococcus mutans*, plaque regrowth and biofilm vitality. *Clinical Oral Investigations* **10**: 102-7.

Bautista-Baños, S., R.I. Ventura-Aguilar, Z. Correa-Pacheco & M.L. Corona-Rangel. 2017. Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest a review. *Revista Chapingo Serie Horticultura* **23**: 103-121.

Burkatovskaya, M., G.P. Tegos, E. Swietlik, T.N. Demidova, A.P. Castano & M.R. Hamblin. 2006. Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice. *Biomaterials* **27**: 4157-4164.

Choi, B.K., K.Y. Kim, Y.J. Yoo, S.J. oh, J.H. Choi & C.Y. Kim. 2001. *In vitro* antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *International Journal of Antimicrobial Agents* **18**: 553-557.

Costa, E., S. Silva, F. Tavaría & M. Pintado. 2014. Antimicrobial and antibiofilm activity of chitosan on the oral pathogen *Candida albicans*. *Pathogens* **3**: 908-919.

Costa, E.M., S. Silva, F.K. Tavaría & M.M. Pintado. 2013. Study of the effects of chitosan upon *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation. *Anaerobe* **20**: 27-31.

El Ghaouth, A., J. Arul, A. Asselin & N. Benhamou. 1992a. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycological Research* **96**: 769-779.

El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grenier & A. Asselin. 1992b. Antifungal activity of chitosan on two postharvest

- pathogens of strawberry fruits. *Phytopathology* **82**: 398-402.
- Eweis, M., S.S. Elkholy & M.Z. Elsabee. 2006. Antifungal efficacy of chitosan and its thiourea derivatives upon the growth of some sugar-beet pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules* **38**: 1-8.
- Ganan, M., A.V. Carrascosa, & A.J. Martínez-Rodríguez. 2009. Antimicrobial activity of chitosan against *Campylobacter* spp. and other microorganisms and its mechanism of action. *Journal of Food Protection* **72**: 1735-1738.
- García-Rincón, J., J. Vega-Pérez, M.G. Guerra-Sánchez, A.N. Hernández-Lauzardo, A. Peña-Díaz & M.G. Velázquez-Del Valle. 2010. Effect of chitosan on growth and plasma membrane properties of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **97**: 275-278.
- Goy, C.R., D. De Britto & O.B.G. Assis. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros: Ciencia e Tecnologia* **19**: 241-247.
- Guo, Z., R. Xing, S. Liu, Z. Zhong, X. Ji, L. Wang & P. Li. 2008. The influence of molecular weight of quaternized chitosan on antifungal activity. *Carbohydrate Polymers* **71**: 694-697.
- Hernández-Lauzardo, A.N., M.G. Velázquez-Del Valle & M.G. Guerra-Sánchez. 2011. Current status of action mode and effect of chitosan against phytopathogens fungi. *African Journal of Microbiology Research* **5**: 4243-4247.
- Kelly, S.L., D.C. Lamb, D.E. Kelly, N.J. Manning, J. Loeffler, H. Hebart, U. Schumacher & H. Einsele. 1997. Resistance to fluconazole and cross-resistance to amphotericin B in *Candida albicans* from AIDS patients caused by defective sterol $\Delta 5,6$ -desaturation. *FEBS Microbiology Letters* **400**: 80-82.
- Kong, M., X.G. Chen, K. Xing & H.J. Park. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology* **144**: 51-63.
- Liu, H., Y. Du, X. Wang & L. Sun. 2004. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *International Journal of Food Microbiology* **95**: 147-55.
- Liu, J., S. Tian, X. Meng & Y. Xu. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* **44**: 300-306.
- Martínez, L.R., M.R. Mihu, M. Tar, R.J.B. Cordero, G. Han, A.J. Friedman, J.M. Friedman & J.D. Nosanchuk. 2010. Demonstration of antibiofilm and antifungal efficacy of chitosan against candidal biofilms, using an in vivo central venous catheter model. *The Journal of Infectious Diseases* **201**: 1436-1440.
- Palma-Guerrero, J., I. Huang, H. Jansson, J. Salinas, L. López-Llorca & N. Read. 2009. Chitosan permeabilizes the plasma membrane and kills cells of *Neurospora crassa* in an energy dependent manner. *Fungal Genetics and Biology* **46**: 585-594.
- Palma-Guerrero, J., H. Jansson, J. Salinas & L. López-Llorca. 2008. Effect of chitosan on hyphal and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of Applied Microbiology* **104**: 541-553.
- Raafat, D., K. Von Barga, A. Haas & H.G. Sahl. 2008. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied and Environmental Microbiology* **74**: 3764-3773.
- Romanazzi, G., E. Feliziani, M. Satini & L. Landi. 2013. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and others resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest Biology and Technology* **75**: 24-27.
- Tsai, G.J., W.H. Su, H.C. Chen & C.L. Pan. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science* **68**: 170-77.
- Verlee, A., S. Mincke & Ch.V. Stevens. 2017. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers* **164**: 268-283.
- Xu, J., X. Zhao, X. Han & Y. Du. 2007a. Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and

other pathogenic fungi *in vitro*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **87**: 220-228.

- Xu, J., X. Zhao, X. Wang, Z. Zhao & Y. Du. 2007b. Oligochitosan inhibits *Phytophthora capsici* by penetrating the cell membrane and putative binding to intracellular target. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **88**: 167-175.
- Zhang, H., R. Li & W. Liu. 2011. Effects of chitin and its derivative chitosan on postharvest decay of fruits: A review. *International Journal of Molecular Sciences* **12**: 917-934.