Monoglicéridos de ácidos orgánicos para el control de patógenos y mejora de la salud intestinal en pollos

Sergi Carné

Director Unidad Técnica, Industrial Técnica Pecuaria, S.A. (ITPSA); scarne@itpsa.com

Introducción

La protección de la integridad de la mucosa intestinal es un objetivo clave en la producción animal actual, no solo por su implicación en la digestión y absorción de los nutrientes de la dieta, sino porque es la barrera principal frente a patógenos ambientales. El volumen de trabajos de investigación y las herramientas analíticas y diagnósticas disponibles a día de hoy han permitido profundizar en la relación directa entre los factores que ponen en riesgo la integridad intestinal y los resultados productivos en términos de calidad del alimento, el bienestar animal, y la eficiencia alimentaria y medioambiental. Así, en la era post-antimicrobianos promotores del crecimiento, la industria sigue trabajando en el desarrollo y aplicación práctica de elementos en la dieta destinados a preservar la salud intestinal del animal y el control de microorganismos patógenos.

Una de las opciones más estudiadas y consolidadas es el uso de ácidos orgánicos de cadena corta y media. De hecho, la fermentación de la fibra de la dieta por parte de la flora intestinal de los animales genera de forma endógena ciertos niveles de algunos de estos ácidos orgánicos.

Su utilización puede dirigirse a objetivos varios tales como conservantes de materias primas y el pienso frente al crecimiento fúngico, como acidificantes del contenido gastrointestinal en animales jóvenes, como antimicrobianos intestinales, así como estimuladores de la funcionalidad intestinal.

Sin embargo, como describiremos a continuación, la eficacia de los productos en el mercado dependerá no solo de los ácidos orgánicos a que nos refiramos sino de su presentación en el tracto gastrointestinal del animal.

Actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos

La eficacia antimicrobiana de los ácidos orgánicos cuando están libres o en forma de sales con cationes metálicos depende de su grado de disociación, y ésta depende del pH del contenido intestinal. Esto viene determinado por el valor pKa, que es el pH al cual el 50% del ácido en cuestión está disociado -molécula hidrosoluble- y el otro 50% está en forma no disociada -molécula liposoluble-. Así, a priori sería deseable disponer de ácidos débiles -pKa elevados: 5-6-, de modo que a los pH relativamente elevados habituales en el intestino -pH 5-7- dispongamos de la mayor cantidad posible del ácido en forma no disociada y por tanto tenga capacidad antimicrobiana. La combinación con ácidos fuertes -pKa 2-3- como el fosfórico puede favorecer la reducción del pH intestinal y favorecer que una mayor proporción de los ácidos débiles que lo acompañen estén en su forma activa no disociada.

Patrocinado por itpsa

Los ácidos no disociados y apolares atraviesan de forma más eficaz la membrana liposoluble de la bacteria. Una vez dentro de la misma, el ácido se disocia, liberando protones de hidrógeno y reduciendo drásticamente el pH intracelular, lo que provoca que la bacteria se proteja invirtiendo energía en expulsar estos protones. Este gasto de energía conduce a la muerte de la célula. Por otro lado, el ácido disociado también tiene actividad antimicrobiana interfiriendo en la transcripción de genes y la posterior síntesis de proteínas, lo que afecta a la multiplicación bacteriana y su capacidad infectiva sobre la mucosa intestinal.

El elevado pH -alrededor de 7- en tramos posteriores del intestino delgado, intestino grueso y ciegos provoca que los ácidos libres en la solución acuosa se presenten mayoritariamente en su forma disociada, lo que limita su capacidad de atravesar la pared bacteriana y reduce drásticamente su efecto antimicrobiano.

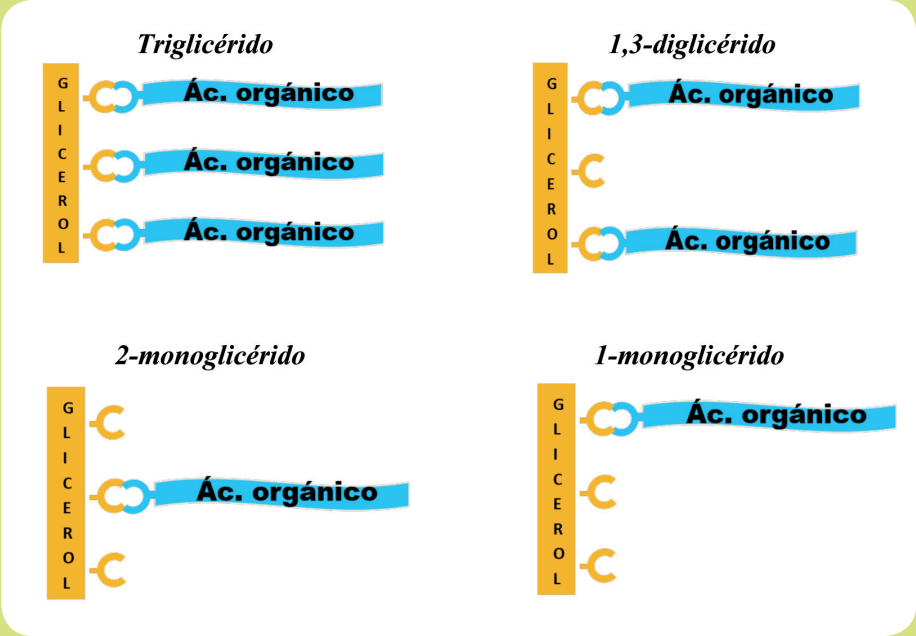

Fig. 1. Esquema molecular de glicéridos a partir de la molécula inicial de triglicérido.

Absorción intestinal vs. eficacia antimicrobiana

Además de la necesidad de presentarse en su forma no disociada, otro inconveniente de los ácidos orgánicos, tanto libres como en forma de sal, es su rápida absorción intestinal, que está estrechamente relacionada con su solubilidad en el contenido intestinal acuoso. Así, los ácidos de cadena media-corta son bastante solubles y como resultado tienden a difundir directamente al interior de los enterocitos, mostrando poca dependencia de las sales biliares u otras sustancias emulsionantes.

Esta rápida absorción reduce drásticamente la presencia de los ácidos en el intestino, especialmente en sus tramos finales. Es por ello que frecuentemente son necesarios niveles de inclusión en pienso superiores al 0,5-1% para asegurar una actividad antimicrobiana prolongada y asimismo revertir posibles efectos tampón de otros componentes de la dieta.

Una alternativa para evitar la temprana absorción intestinal es su encapsulación en una matriz de lípidos hidrogenados. Esta matriz es degradada en el intestino por acción de las lipasas pancreáticas endógenas con el fin de permitir una liberación lenta de los ácidos contenidos en su interior. Sin embargo, una óptima eficacia en el control de la degradación de esta matriz dependerá de la propia cantidad y digestibilidad de los lípidos de la matriz, así como los niveles de lipasa secretada por el animal. Ello con el objetivo de evitar que por un lado se produzca una degradación demasiado rápida de la matriz, lo que limitaría la presencia del ácido orgánico en el tramo posterior del intestino; y por otro lado, que la degradación lipídica sea incompleta y se eliminen parte de estos ácidos en las deyecciones.

> Recientemente se ha desarrollado una nueva forma de trabajar con ácidos orgánicos, en forma de1,3-diglicéridos y 1-monoglicéridos

1-monoglicéridos: Nueva generación de ácidos orgánicos protegidos

Más recientemente se ha desarrollado una nueva forma de trabajar con ácidos orgánicos, en forma de1,3-diglicéridos y 1-monoglicéridos. Estos lípidos son ésteres obtenidos a partir de ácidos orgánicos unidos de forma covalente a los átomos de carbono en los extremos de la molécula de glicerol -figura 1-. Los 1,3-diglicéridos también son una fuente adecuada de 1-monoglicéridos, previa actuación de la lipasa endógena del animal.

No es así en cambio para los triglicéridos, 1,2-diglicéridos y 2,3-diglicéridos, puesto que por acción de la lipasa endógena acaban resultando en 2-monoglicéridos -figura 1-, los cuales son rápidamente absorbidos en el intestino y carecen de actividad antimicrobiana relevante.

Los 1-monoglicéridos tienen diversas ventajas respecto a los ácidos en forma de sales o contenidos en matrices de grasas saturadas:

- Su absorción intestinal es reducida gracias al proceso tecnológico de producción que consigue que el ácido

Patrocinado por itpsa

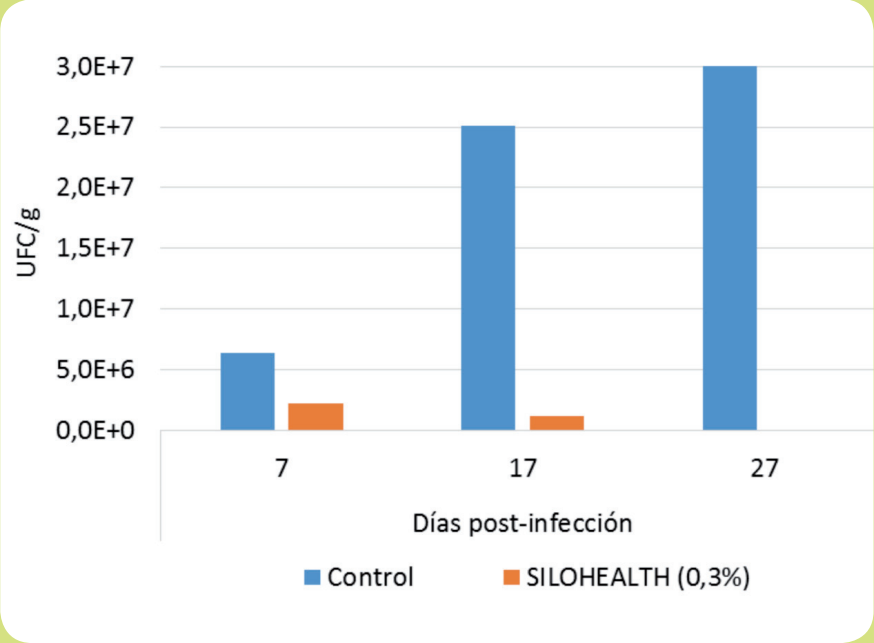

Fig. 2. Recuento de *Salmonella typhimurium* cecal en pollos de 35 días suplementados con SILOHEALTH (Instituto Zooprofillatico Sperimentale Lombardia).

orgánico quede ligado a la posición 1 o 3 en los carbonos del glicerol -figura 1-. Esta disposición del ácido en los monoglicéridos hace que sean mucho más solubles en el líquido acuoso del contenido intestinal y que no se incorporen con facilidad a las micelas grasas, escapando así a la ruta metabólica mayoritaria de las grasas. La forma 1-monoglicérido no es la que se produce de forma fisiológica en el animal puesto que las lipasas endógenas de animal hidrolizan primero los enlaces de los ácidos orgánicos de los extremos del glicerol -figura 1-.

- Su eficacia no se ve condicionada por los tratamientos térmicos durante los procesos de granulación y extrusionado del pienso.
- Son pH-independientes, es decir que su actividad antimicrobiana no se ven afectadas por las diferencias de pH que existen de forma fisiológica en las diferentes regiones a lo largo del tracto gastrointestinal. Esto asegura que todo el ácido adicionado al pienso será activo, y que realizará su acción a lo largo de todo el intestino, especialmente en ciegos e intestino grueso.
- Son sustancias no corrosivas para las instalaciones y equipos, y pueden utilizarse en su forma líquida natural o añadidos a un excipiente para su uso en formato en polvo. De esta forma se facilita enormemente su manejo en la fábrica de piensos y su utilización en la granja en el agua de bebida.
- Neutralizan tanto el fuerte olor que liberan algunos ácidos orgánicos, como los problemas de palatabilidad que ocasionan en el pienso al que se adicionan. Esto es especialmente relevante en el caso del ácido butírico, cuyo olor desagradable impide su uso como tal en las fábricas de piensos. Las formas actualmente disponibles en el mercado como sal sódica o de calcio y encapsuladas en una matriz grasa permite reducir este problema, aunque no eliminarlo de forma definitiva.
- Adicionalmente también contribuyen al efecto emulsionante de las sales biliares, favoreciendo la absorción de las grasas y nutrientes liposolubles de la dieta como los carotenoides y determinadas vitaminas.

> Los monoglicéridos hace que sean mucho más solubles en el líquido acuoso del contenido intestinal

1-monobutirina

El ácido butírico, así como otros ácidos orgánicos, se producen de forma endógena en ciertas cantidades en el intestino, derivados de la fermentación por la microbiota celulolítica de la fibra de la dieta. El ácido butírico es ampliamente conocido por sus efectos sobre la funcionalidad del intestino:

- Fuente energética principal de los colonocitos, favoreciendo su proliferación y regeneración.
- Antiinflamatorio e inmunoestimulador a nivel intestinal.
- Aumento de la longitud y regeneración de las microvellosidades intestinales.
- Aumento de las secreciones enzimáticas en el tracto gastrointestinal.
- Mejora de la función barrera intestinal al favorecer la integridad de las uniones estancas o 'tight junctions' entre los enterocitos de la mucosa.

Además de lo anterior, la 1-monobutirina - 1-monoglicérido de ácido butírico - tiene un efecto vasodilatador y angiogénico, es decir, la formación de nuevos vasos sanguíneos a nivel del epitelio intestinal -Dobson y col., 1990; Wilkinson y col., 1991-. Esto mejora el transporte de nutrientes y la capacidad de regeneración de la mucosa, mejorando de forma global la funcionalidad intestinal.

Actividad antimicrobiana de 1-monoglicéridos

El carácter mixto hidro-liposoluble favorece la entrada de los 1-monoglicéridos a través de la membrana bacteriana. Por otro lado,

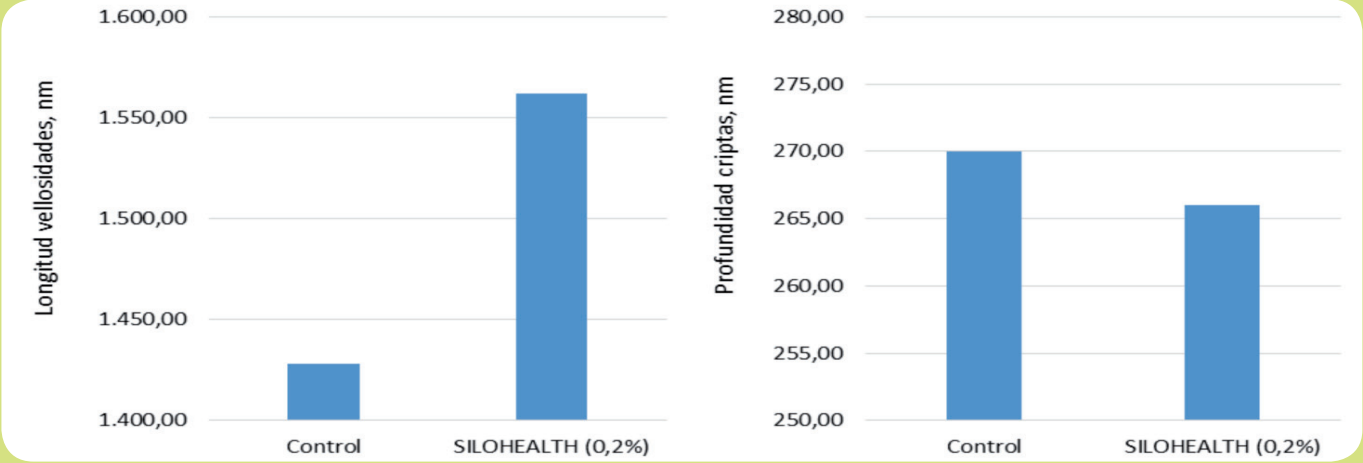

Fig. 3. Efecto de SILOHEALTH sobre la morfología de la mucosa duodenal en pollos de 27 días de vida tras infección por coccidia (Leeson y col., 2005).

el modo de acción específico está relacionado con la presencia de acuagliceroporinas en la pared bacteriana. Estas son estructuras proteicas que actúan como canales que permiten la entrada de glicerol, el cual es utilizado por la bacteria como fuente de energía. Este mismo mecanismo permite la entrada de 1-monoglicéridos y una vez dentro de la célula actúan sobre la isla de patogenicidad - fracción de ADN genómico implicado en la capacidad infectiva de la bacteria - y la inhabilita.

Esta actividad antimicrobiana ha sido confirmada para distintos monoglicéridos de ácidos de cadena media y corta tales como 1-monobutirin -Namkung y col., 2011-, 1-monocaprin -Thormar y col., 2006 -, 1-monolaurin - Razavi-Rohani y Griffiths, 1994 - o 1-monopropionin, para patógenos intestinales como *S. typhimurium, E. coli, C. jejuni* o *Clostrium spp.*

> Esta actividad antimicrobiana ha sido confirmada para distintos monoglicéridos de ácidos de cadena media y corta

El uso de 1-monoglicéridos de cadena media y corta en nutrición animal está sujeto a una patente internacional y consiste en una mezcla de glicéridos ricos en 1-monobutirin, 1-monolaurin y 1-monocaprilin, así como diglicéridos y glicerol libre.

En una prueba se estudió la eficacia antimicrobiana de este producto SILOHEALTH frente a *S. typhimurium* en 90 pollos comerciales Ross 308 infectados a la semana de edad -107 UFC- y llevados hasta los 34 días de edad. En el grupo tratamiento se añadió SILOHEALTH al 0,3%. -figura 2-. Los resultados

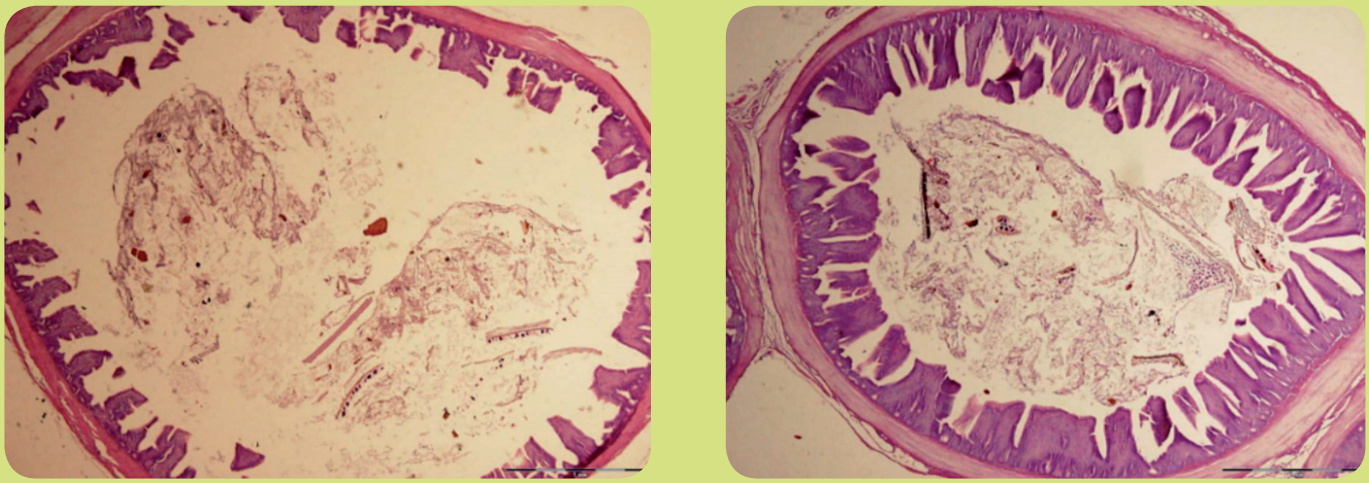

Fig. 4. Aumento de la longitud de las vellosidades en la región de la válvula ileocecal en pollos de engorde suplementado con SILOHEALTH al 0,2% de inclusión durante los primeros 15 días (University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno).

Patrocinado por itpsa

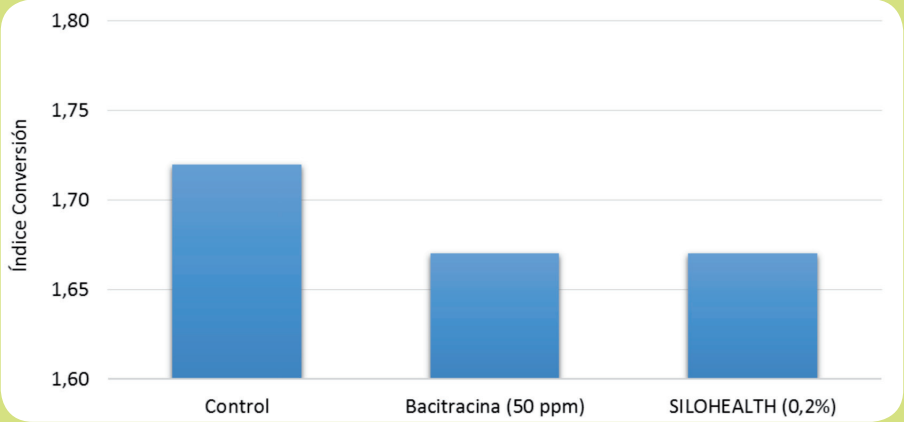

Fig. 5. Índice de conversión del pienso en pollos a la edad de sacrificio (42 días) (Leeson y col., 2005).

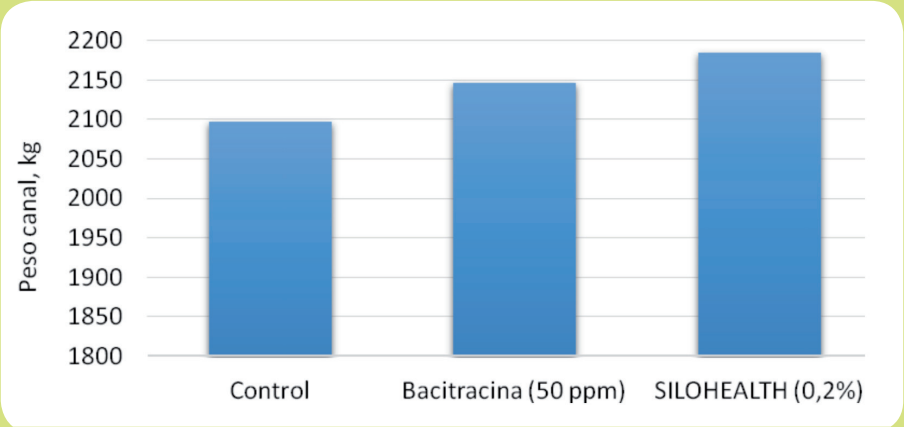

Fig. 6. Peso de la canal en pollos Ross 308 sacrificados a 42 días de edad.

muestran como la capacidad infectiva de Salmonella desde el primer momento tras la inoculación se redujo más de un 70%. En las semanas posteriores el recuento de Salmonella cecal en el control se incrementó drásticamente hasta niveles superiores a 3·107 UFC/g mientras que en el grupo que recibió el preparado de 1-monoglicéridos la infección remitió totalmente a las 3 semanas post-infección.

Efecto sobre la salud intestinal y resultados en la explotacion

También se ha observado como la inclusión de la combinación de glicéridos de SILOHEALTH contribuye a proteger la mucosa intestinal de la infección y daños tisulares. Así, en la figura 3 se muestra el efecto tras la infección experimental por coccidia en pollos de 2 semanas, donde se observa un aumento de la longitud de las vellosidades y en menor medida la reducción de la profundidad de las criptas, aumentando la superficie de absorción y mejorando la salud intestinal. En la figura 4 se puede identificar claramente el efecto mencionado sobre la mucosa intestinal en una muestra tomada en la región de la válvula íleocecal en pollos, tras 2 semanas de inclusión de SILOHEALTH en la dieta.

Centrándonos específicamente en el rendimiento productivo derivado de la mejora en la función intestinal, se estudió el rendimiento productivo en 840 pollos comerciales Ross 308 llevados hasta el sacrificio a 42 días de edad. Se utilizó un control negativo y un control con bacitracina para su comparación. Al final del estudio el peso al sacrificio en el tratamiento con bacitracina -2.808 g- fue superior que en el grupo control y el que recibió SILOHEALTH -2.667 g-. Sin embargo, la conversión del alimento mejoró en el grupo suplementado con SILOHEALTH - 1,68 - y fue sensiblemente mejor a la del grupo control -figura 5-.

Por otro lado, se observó una mejora en el rendimiento de la canal en el grupo que recibió los glicéridos, aumentando en más de un 4% respecto al grupo control -figura 6-. Asimismo, el porcentaje de pechuga fue superior en el grupo suplementado con SILOHEALTH -22,3 %- que en el grupo control -22,2 %- y el del antibiótico -22,6 %-.

La inclusión de la combinación de glicéridos de SILOHEALTH contribuye a proteger la mucosa intestinal de la infección y daños tisulares

Conclusión

Los ácidos orgánicos de cadena corta y media dispensados en forma de 1-monoglicéridos y 1,3-diglicéridos en SILOHEALTH dan respuesta a los problemas de manejo -olores, corrosividad-, de palatabilidad y de baja disponibilidad en el tracto intestinal respecto a otras formas de administrar estos ácidos en el pienso o la bebida.

Su eficacia antimicrobiana está ampliamente documentada y su modo de acción difiere en parte de la de los ácidos libres o en forma de sal. Asimismo, se observan beneficios añadidos de 1-monobutirin sobre la salud y función intestinal respecto a los ya reconocidos en el ácido butírico.

El control de patógenos y la mejora de la salud intestinal que aseguran se traducen en una mejora de los parámetros productivos del pollo de engorde. •