

# **UTILIZAÇÃO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA NUTRIÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

MEIRA, Clayton Cesar<sup>1</sup>  
FREITAS, Edmilson<sup>2</sup>

## **RESUMO**

Na avicultura, por muitos anos, os antibióticos foram utilizados e fornecido na alimentação dos frangos de corte para melhorar a flora intestinal, reduzir a taxa de mortalidade e aumentar a sanidade avícola dos lotes de frango de corte, reduzindo os riscos de doenças, sendo produzido um produto de melhor qualidade para o mercado externo. Mas o uso indiscriminado de alguns antibióticos utilizados de forma profilática, os mesmos utilizados na medicina humana, e usados nas aves como promotores de crescimento por algumas agroindústrias para ganhar mercado podem favorecer a colonização por *Salmonella* spp., sendo um risco à saúde pública. Esses antibióticos podem conter resíduos na carne das aves que são ingeridas pelos humanos podendo causar uma resistência aos antimicrobianos já utilizados na medicina humana. Produtos alternativos aos antibióticos como probióticos, prebióticos e enzimas já estão sendo utilizados na nutrição das aves de corte para não haver perca no rendimento zootécnico sendo aprimorados através de pesquisas científicas que dizem que a enzima fitase, prebióticos como os oligossacarídeos FOS, MOS e GOS podem dar uma resposta satisfatória tanto na resposta do sistema imunológico quanto na manutenção dos índices zootécnicos que eram obtidos com os antibióticos promotores de crescimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** aditivos. leveduras. prebióticos. probióticos. enzima fitase.

## **1. INTRODUÇÃO**

O tema desta pesquisa abordará a utilização de novos artifícios utilizando alguns aditivos que são substitutivos aos antibióticos nas dietas dos frangos de corte. O uso de enzimas, probióticos, óleos essenciais e prebióticos têm a mesma equivalência e resultados quando comparado ao uso dos antibióticos para o rendimento de carcaça, sanidade avícola e a proteção do trato digestivo. Uma simples alteração em um desses seguimentos causam distúrbios que diminuem o aproveitamento das substâncias nutricionais e também comprometem a performance das aves (RAMOS *et al*, 2014).

Na avicultura brasileira, utilizam-se aves comerciais que vem da sistematização de incubadoras com alto controle sanitário. Esse controle sanitário rígido coloca a avicultura brasileira em destaque no cenário mundial, mas em consequência deste fato o desenvolvimento da microbiota do intestino fica prorrogado quando esses animais ficam em condições sanitárias adversas tendo contato com microrganismos patológicos nas granjas, causando distúrbios principalmente nos sistemas digestório e respiratório, retardando a performance do lote (RAMOS *et al*, 2014).

Por um longo período, os antibióticos foram utilizados na avicultura comercial como principal suplemento promotor de crescimento (APC) nas dietas requeridas pretendendo reparar os inconvenientes das más circunstâncias sanitárias, estresse térmico, lotação excessiva e contato com

<sup>1</sup> Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário FAG. E-mail: [clayton\\_g2@hotmail.com](mailto:clayton_g2@hotmail.com)

<sup>2</sup> Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário FAG. E-mail: [edmilsonfreitas@hotmail.com](mailto:edmilsonfreitas@hotmail.com)

organismos patogênicos que influenciam no resultado final do lote (FERKET, 2003). Com o uso desordenado dos APC em terapias prolongadas nas aves, se observou superbactérias resistentes aos antibióticos utilizados tornando um problema sanitário para a saúde animal e humana já que a perspectiva para se ter novas linhagens de antibióticos para os próximos anos é modesta (MONTAGNE *et al*, 2003).

Com a preocupação de órgãos governamentais internacionais como a OIE (Organização Mundial de Saúde Animal), a FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) e a OMS (Organização Mundial da Saúde) a portaria nº 171, da SDA (Secretaria de Defesa Agropecuária) publicada em 13/12/2018 no diário oficial da união, vem informar a intenção de proibição do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho zootécnico em aves de corte em todo o Brasil, preservando a vida humana, dessa forma novos métodos devem ser utilizados no lugar dos antibióticos para não se perder o desempenho de carcaça das aves.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) juntamente com a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), órgãos que trabalham em conjunto no uso de suas atribuições, proibiram, através da Instrução Normativa de 13 de janeiro de 2020, o uso de melhoradores de performance compondo-se dos antimicrobianos tilosina, tiamulina e lincomicina, que são importantes para a medicina humana. Dessa forma, ficou expressamente proibida a fabricação, obtenção através de importação ou comercialização em todo o território brasileiro.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 LEVEDURAS**

As leveduras utilizadas na nutrição de frangos de corte são microrganismos fúngicos unicelulares fonte de proteína que tem sua reprodução assexuada por brotamento na fermentação, que se exibem em forma leveduróide, a mais conhecida é a *Saccharomyces cerevisiae* que é uma levedura de recuperação (SILVA, 2012). A levedura é obtida primariamente por meio laboratorial através de cultura e processo de autólise (LIMA, 2001). No processo, as leveduras são divididas de parede celular onde se encontram os mananoligossacarídeos (MOS), e o conteúdo celular onde fica o restante dos componentes intracelulares. Esse processo ocorre da degradação celular que é causada pelas enzimas da levedura (REED; NAGODAWITHANA, 1991; SOMMER, 1996), ou pelo processo de spray dried, onde o MOS evapora em baixa temperatura.

Utilizada na panificação e fermentação do caldo da cana de açúcar e cervejarias, para se fazer esse processo é produzido um excedente de levedura que não é utilizada, sendo destinada para

vários fins depois de desidratada, inclusive na alimentação animal (GRANGEIRO *et al*, 2001). Observando a composição química, verificou-se que a levedura desidratada tem um alto potencial protéico de 33 a 44% e no processo armazena glicose e lipídios (FERREIRA, 1995) tendo admirável balanço de aminoácidos, sendo rico em lisina e treonina (CAMPOS NETO, 1987). Também possui enorme riqueza em vitaminas do complexo B (CAMPOS NETO, 1987), e vitamina D sendo um suprimento para monogástricos (LIMA, 2001). As leveduras possuem cerca de 20% a 40% sua composição os carboidratos complexos denominados mananoligossacarídeos (MOS), tendo a hipótese que esses elementos possam prevenir a colonização de bactérias patogênicas, modulando e auxiliando a resposta humoral do intestino (VALADARES, 2012).

A levedura lisada obtém vários compostos imunomoduladores os principais mananoligossacarídeos, fosfoligossacarídeos, B-glucanos e nucleotídeos (SWIATKIEWICZ; ARCZEWSKA-WLOSEK; JÓZEFIAK, 2014), eles se ligam aos sítios de ligação de macrófagos que fazem fagocitose de抗ígenos patogênicos que resulta na produção de citosinas como Interleucina 1 pelo sistema imune que replica e propaga linfócitos CD4 e CD8 os quais estimulam a imunidade adquirida e inata do hospedeiro (DOITA *et al*, 1991; ABEL; CZOP, 1992), fazem a proliferação de bactérias benéficas ao intestino, aumentam as microvilosidades intestinais (SIMS *et al*, 2004; BRÜMMER; JANSEN VAN RENSBURG; MORAN, 2010) e inibem o crescimento de bactérias patogênicas (DAVIS *et al*, 2004).

As leveduras mais utilizadas na nutrição animal são a *Saccharomyces cerevisiae*, *Torula utilis*, *Kluyveromyces marxianus* (EURASYP, 2006) e a *Saccharomyces boulardii*. Existem cerca de 350 espécies de leveduras separadas em 40 gêneros (DIAS, 2014).

Utilizando como fonte protéica nas dietas, verificou-se que utilizar mais de 20% de levedura *Torula utilis* leva à diminuição no ganho de peso das aves na idade de 1 a 20 dias (LATRILLE *et al*, 1976). Em dietas contendo soja e milho diminuindo a quantidade desses ingredientes, pode utilizar até 20% de levedura seca em rações de frangos de corte (PEZZATO *et al*, 1982).

Surdzhiiska *et al* (1987) verificaram que a substituição de milho e farelo de soja e a inclusão de levedura na dieta na proporção de 5 a 10% resultou no aumento do ganho de peso das aves com a idade de 1 a 56 dias. Já na inclusão de 20% de levedura houve redução de 5 a 10% no ganho de peso. BUTOLO *et al* (1998) dizem que a levedura pode ser incluída até 5%, mas os melhores resultados obtidos foi na inclusão de 2,5% da dieta.

Subrata *et al* (1996) observaram que no estudo de vários tipos de leveduras não se viu grandes diferenças na conversão alimentar, rendimento de carcaça, sendo que a performance dos grupos foi equivalente ao grupo controle. Line *et al* (1998) aplicando leveduras do tipo *Saccharomyces boulardii* observaram uma redução na quantidade de salmonelas quando as aves foram submetidas

ao estresse de carregamento e transporte, ocorrendo uma redução de 53,3% para 40% quando se fez uso da levedura. O estresse causado pelo calor foi reduzido quando utilizado a levedura *Chromium* na dieta das aves (GUO; LIU 1997).

Utilizando leveduras e os antibióticos clortetraciclina e aureomicina na alimentação das aves juntos ou separados e observaram que não houve diferenciação na performance das aves em todos os grupos (SUBRATA *et al.*, 1997).

Não se viu alteração de performance utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na troca por farelo de soja na proporção de 10% segundo (LATRILLE *et al.*, 1976). Em outro trabalho, os mesmos autores observaram que a inclusão de 25% de levedura no lugar do farelo de soja se deu um resultado negativo no desempenho das aves (WALDROUP; HAZEN, 1975). Daghir e Abdul-Baki (1977) também concluíram que o uso de leveduras na dieta deve ser no máximo de 10%. OLIVEIRA *et al* (1998) fazendo a troca da proteína de farelo de soja pela levedura de recuperação para avaliar a performance das aves em níveis de 0, 15, 30 e 45% observaram melhor atividade das aves quando a substituição foi de 15%.

Macari e Maiorka (2000) fizeram um trabalho no qual constataram que a parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* atuou beneficamente na evolução das microvilosidades intestinais das aves. Em outro trabalho, as aves foram submetidas a um desafio sanitário por cinco semanas, aos 21 dias houve menor conversão alimentar e se manteve o ganho de peso no grupo suplementado com a levedura autolisada *Saccharomyces cerevisiae* em relação as aves do grupo controle, os grupos que receberam 2kg/t tiveram ganho de peso de 29g e as aves que receberam 4kg/t tiveram ganho de peso de 47g (BARBOSA, 2016).

## 2.2 PREBIÓTICOS

Os prebióticos são agentes que não são digeridos no intestino delgado e atingem o intestino grosso e ativam os microrganismos benéficos ao organismo, havendo o crescimento e a colonização de bactérias benéficas em todo o cólon do animal, alterando a microbiota do intestino (MANNING *et al*, 2004). Os prebióticos podem impedir a replicação de patógenos que atuam no intestino grosso, embora também possam causar impacto sobre microrganismos que colonizam o intestino delgado (GIBSON; ROBERFROID, 1995; ROBERFROID, 2001; SAAD, 2006). Tais componentes são ingredientes que não sofrem ação enzimática na digestão sofrendo fermentação pelas bactérias intestinais, dando origem a substâncias que favorecem de forma seletiva o crescimento e a atividade de bactérias benéficas que irão inibir a formação de colônias e proliferação de bactérias patogênicas.

As substâncias prebióticas mais utilizadas e estudadas são os oligossacarídeos, frutoligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), B-glucanos e galactoligossacarídeos – glucoligossacarídeos (GOS). Os oligossacarídeos são polissacarídeos de cadeias curtas de três a dez açucares que estão ligados (SILVA, 2000; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005). Os FOS são polímeros de frutose que se obtém de plantas como a chicória, dália, alho, alcachofra e cereais ou se obtém de forma sintetizada pela polimerização da frutose (GIBSON; ROBERFROID, 1995; IJI; TIVEY, 1998). O MOS e GOS, são dois açucares extraídos da parede celular das leveduras que contém manose e glucose. Os MOS se ligam aos sítios catalíticos das microvilosidades do intestino de forma que as bactérias patogênicas gram-negativas como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* que são manose específicas, se ligam aos MOS e não nas microvilosidades intestinais, sendo eliminadas nas excretas, antes de sua eliminação modula o sistema imune da microbiota intestinal (SANTOS JÚNIOR, 2005).

Já os B-glucanos são obtidos da parede celular de leveduras, alguns cereais e fungos tendo grande quantidade de glicose fazem a multiplicação de bactérias ácido lálicas que controlam bactérias patogênicas no intestino grosso (O'CONNELL *et al*, 2005), quando são reconhecidos pelo organismo ativam linfócitos, macrófagos e citocinas que modulam o sistema imune (MAGNANI; CASTRO-GÓMEZ, 2008). Os frangos de corte possuem estruturas linfóides no decorrer do trato gastrintestinal difusos como os linfócitos intraepiteliais e agregados como tonsilas cecais, Bursa de Fabricius e as Placas de Peyer. O estímulo da mucosa intestinal produz anticorpos IgA, principalmente nas Placas de Peyer, bloqueando os receptores das bactérias patogênicas no intestino (OLÁH; VERVELDE, 2008).

Os galactoligossacarídeos (GOS) são obtidos através da transgalactosilação da lactose feita pelas enzimas do leite ou misturas que contêm alta concentração de lactose, havendo uma redução da atividade água e maior conversão da lactose. Os GOS modificam a microflora que coloniza o cólon, reduz o pH do cólon, produz ácidos graxos, aumenta a umidade do bolo fecal e aumenta a quantidade de excreção fecal, proteção de infecções no trato gastrintestinal, sistema urinário e respiratório, inibição da diarréia, aumenta a capacidade de absorção de minerais, metabolização de lipídeos e carboidratos e reduz o risco de câncer de cólon (MUSSATTO; MANSILHA, 2007). Os oligossacarídeos protegem os animais recém nascidos de patógenos que causam diarréia (LORENTE; SERRA, 2001), tendo a colonização no intestino de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* que são agentes benéficos que impedem a colonização das bactérias patogênicas como *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* entre outras (SAMARASINGHE *et al*, 2003; CAO *et al*, 2005; NAVIDSHAD *et al*, 2015).

## 2.2.1 Atividade dos prebióticos no controle de bactérias patogênicas

Os prébióticos citados acima tem a capacidade de proteger o intestino contra a *Salmonella spp.* por se ligarem aos sítios de ligação do intestino fixando os patógenos para posterior expulsão intestinal através das excretas (CHARALAMPOPOLUS; RASTALL, 2009). Em um estudo conduzido por SPRING *et al* (2000) utilizando mananoligossacarídeos (MOS) retirado da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, houve aglutinação de sete de dez cepas de *Salmonella Enteritidis* e cinco em sete cepas de *E. coli*.

Em outro trabalho, as aves que receberam MOS na dieta, diminuiu a carga bacteriana de *E. coli* no intestino, enquanto que um outro grupo de aves que receberam FOS proveniente do açúcar de beterraba a nível de 4% na dieta aumentou a carga de *Bifidobacterium spp.* intestinal (MODESTO *et al*, 2009). A utilização de Bio-MOS em aves Vencob se obteve resultados como melhoramento da qualidade da carcaça, redução no peso do coração menor percentual da gordura abdominal, redução do peso do fígado e menor quantidade de *E. coli* intestinal (MUNJ *et al*, 2010). Em um estudo utilizando xarope de chicória em 0,5% na água de frangos de corte houve redução na quantidade de *C. perfringens* e de endotoxinas (KLEESSEN *et al*, 2003).

Em outra pesquisa, utilizando diferentes níveis de Isomaltoligossacarídeos (IMO) se obteve aumento de *Bifidobacterium spp.* e redução expressiva de *Salmonella entérica* sorovar Typhimurium existente no ceco das aves (THITARAM *et al*, 2005). Já em outra pesquisa ocorreu maior concentração de leveduras como *Lactobacillus spp.* no intestino e nas excretas com adição na dieta de trans-galactoligossacarídeos e FOS (MIKKELSEN *et al*, 2003). Assim como a utilização de GOS se obteve aumento de *Bifidobacterium spp.* intestinal (JUNG *et al*, 2008). De outro modo mais abrangente, utilizando o prebiótico polidextrose houve aumento nas concentrações de ácido láctico e propiônico, redução no pH intestinal e aumento ileal da população de *Lactobacillus spp.* (HERFEL *et al*, 2011).

## 2.3 PROBIÓTICOS

Probiótico é um aditivo formado por microrganismos vivos que podem ser utilizados por animais e humanos para benefício da sua microbiota intestinal (FULLER 1989; HAVENNAR *et al*, 1992). A partir de alguns estudos realizados, pode se observar que os probióticos são capazes de exercer seus efeitos disputando com os patógenos ali presentes nos sítios de ligação. Portanto, os probióticos se aderem à mucosa do intestino impedindo o desenvolvimento de microrganismos patogênicos alterando o ambiente da luz intestinal reduzindo o pH existente, fruto da fermentação

intestinal efetuada pelo probiótico, que também combate a inflamação causada pelos patógenos (MORAES; JACOB, 2006). Os microrganismos escolhidos como probióticos devem ser não patogênicos e alguns deles são de uso para humanos. Também devem suportar os processos industriais e todo o seu tempo de vida de prateleira comercial (MORAES; COLLA, 2006).

Os microrganismos devem ser produzidos em grande quantidade e devem permanecer viáveis para fins de estocagem (FULLER 1989), e serem resistentes aos processos mecânicos que ocorrem na peletização dos componentes que implicam altas taxas de temperatura no processamento, na produção de rações para frangos de corte (RAPOSO; DEFENSOR; GRAHL, 2019). Em um estudo experimental, observou-se um aumento de 3% de ganho de peso e eficácia alimentar em frangos de corte (REVOLLEDO, 2008).

De acordo com Moraes e Colla (2006), os probióticos tem a habilidade de serem resistentes à colonização e proliferação de patógenos gastrintestinais, digerem a lactose em indivíduos que não possuem a enzima lactase, melhora e fortalece a motilidade intestinal e faz melhor uso das vitaminas e minerais absorvidas. De acordo com Salminen *et al* (1996), há alguns fatos ao afirmar que um microrganismo seja efetivo: a aptidão ao associar-se às células do hospedeiro; eliminar ou limitar a ligação de bactérias patogênicas aos seus sítios catalíticos de ação no intestino; permanecer e se replicar no organismo; gerar ácidos graxos, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio que inibem a proliferação de microorganismos patogênicos; não ser hostil, desagradável ao organismo; ser de segurança; não cancerígeno e não patogênico e ter a capacidade de se agrupar as outras bactérias que são benéficas ao organismo.

Apenas as bactérias produtoras de ácido lático são probióticos importantes na nutrição e alimentação, pois elas serão transformadas em energia para o organismo (HOLZAPFEL *et al*, 2001). A produção de ácido lático deve ser o produto final proveniente da fermentação dos carboidratos (AXELSSON, 2005). Também se produz outros ácidos como o acético e propiônico, todos esses ácidos reduzem o pH no intestino (GHADBAN, 2002).

A forma que atuam os probióticos no organismo ainda não é bem esclarecida. Especula-se que há vários processos que demonstram o equilíbrio intestinal causando os efeitos desejáveis. Os probióticos produzem substâncias que inibem o crescimento e proliferação de bactérias patogênicas essas substâncias podem ser peróxido de hidrogênio, peptídeos antimicrobianos (agem sobre bactérias maléficas), ácidos graxos como acético e lático, dióxido de carbono e bacteriocinas (KURITZA; WESTPHAL; SANTIN, 2014). De acordo com Lee *et al* (2010), os probióticos que são oferecidos na dieta das aves através da ração, modulam o sistema imunológico com a produção de elementos antimicrobianos patogênicos que competem pelos sítios de ligação e leva ao equilíbrio da microbiota intestinal. Nos animais, os probióticos são usados para melhoramento de performance

zootécnica, tendo alta produtividade com menor gasto financeiro. A redução dos índices de contaminação por *Salmonella spp.* tem relação com o melhoramento de performance, e melhor imunidade das aves no seu ciclo de criação (VILÀ *et al*, 2009). O primeiro contato da ave com o ambiente, leva ao desenvolvimento epitelial e intestinal tendo contato com o trato digestivo e imunológico e esse contato pode afetá-los de forma boa ou ruim. A colonização intestinal por bactérias peculiares como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dentre outras, pode acontecer pela proliferação no muco ou pela conexão das bactérias no epitélio celular, sendo a primeira proteção intestinal contra toxinas e microrganismos patogênicos (NOUSIAINEN *et al*, 2005).

**Tabela 1- Bactérias consideradas probióticos**

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras produtoras de ácido lático	Bactérias produtoras de ácido lático	não produtoras de ácido lático	Outras bactérias probióticas do grupo das leveduras
<i>L. acidophilus</i> <sup>8</sup>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <sup>2</sup>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoji</i> <sup>2,3,8</sup>	<i>Saccharomyces boulardii</i> <sup>1,3</sup>	
<i>L. amylovorus</i> <sup>1</sup>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i> <sup>8</sup>	<i>Bacillus licheniformes</i> <sup>8</sup>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <sup>3,6</sup>	
<i>L. brevis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> <sup>4</sup>	<i>Bacillus subtilis</i> <sup>2,3,8</sup>	<i>Kluyveromyces</i> <sub>6</sub>	
<i>L. casei</i> <sup>8</sup>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Escherichia coli</i> strannissle		
<i>L. crispatus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i> <sup>4,8</sup>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> <sup>2,3</sup>		
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> <sup>4</sup>	<i>B. lactis</i> <sup>5</sup>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i> <sup>2</sup>			
<i>L. farciminis</i> <sup>8</sup>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus infantarius</i> <sup>8</sup>			
<i>L. fermentum</i>		<i>Streptococcus thermophilus</i> <sup>4</sup>			
<i>L. gallinarum</i> <sup>2</sup>					
<i>L. gasseri</i>					
<i>L. johnsonii</i>					
<i>L. paracasei</i>					
<i>L. plantarum</i> <sup>8</sup>					
<i>L. reuteri</i>					
<i>L. rhamnosus</i> <sup>8</sup>					
➤ Probióticos que aumentam o peso corporal	➤ Aspergillus oryzae <sup>7</sup> ➤ C. pintolopessi <sup>7</sup>				

Fonte: Adaptado de Holzapfel *et al* (1998).

<sup>1</sup>HOLZAPFEL *et al* (2002).

<sup>2</sup>Utilizado principalmente em animais.

<sup>3</sup>Utilizado em preparações farmacêuticas.

<sup>4</sup>Pouco se sabe sobre as propriedades probióticas.

<sup>5</sup>Certamente, igual ao *B. animalis*.

<sup>6</sup>ANADÓN *et al* (2006).

<sup>7</sup>KABIR *et al* (2004)

<sup>8</sup>Utilizados na união européia.

Os probióticos utilizados na avicultura brasileira são semelhantes aos usados na união européia (FARIA FILHO *et al*, 2006). Todoriki *et al* (2001) realizou um estudo com duas cepas de *Lactobacillus* (*L. crispatus* e *L. reuteri*) que produzem mais ácido lático que outras bactérias probióticas, essas duas cepas coibiram a aderência ao intestino de *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichiacoli* enterotoxigênica (conhecida como diarréia do viajante). Essas bactérias que produzem altas quantidades de ácidos lático e acético tem a capacidade de coibir a adesão de fungos, leveduras e bactérias patogênicas nas microvilosidades intestinais vão agir de acordo com a produção de ácidos graxos, quanto mais ácidos mais efetiva será a ação, e o pH deve estar adequado para melhor absorção, que ocorre na redução do pH.

### 2.3.1 Probióticos estimulando a imunidade

De acordo com Lee *et al* (2010), os probióticos oferecidos na dieta das aves é capaz de estimular o sistema imunológico, mas não se sabe como ocorre essa relação. Se sabe que os probióticos estimulam a produção de linfócitos T e B e das imunoglobulinas (HAGHIGHI *et al*, 2006), principalmente as IgAs e também deixa os抗ígenos mais resistentes (BORCHERS, 2009).

### 2.3.2 Atividade dos probióticos frente à *Salmonella spp.*, controle sem o uso de antimicrobianos

A união européia já possui quatro probióticos provenientes de bacilos autorizados a serem utilizados como melhoradores de performance substituindo os antibióticos nas dietas, conforme diversos trabalhos realizados (REVOLLEDO, 2008). As aves são os principais vetores das infecções por *Salmonella spp.* e o problema é ainda maior quando ocorre a infecção por salmonelas paratípicas que são transmitidas a outros animais, aves, mamíferos e o homem (HOFER *et al*, 1997). A falta de controle dessas salmoneloses causa contágios, toxinfecções alimentares através de ingestão de carnes e ovos contaminados (GUT *et al*, 2018; SCALLAN *et al*, 2011), e no momento do abate a contaminação das carcaças pelo rompimento das vísceras (RASSCHAERT *et al*, 2007).

Um trabalho *in vitro* utilizando cepas de microorganismos lácticos (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. reuteri*) extraídas de fezes de pintos com poucos dias de vida e galinhas, inibiu a proliferação da *Salmonella Typhimurium* e *Enteretidis* (YAMAZAKI *et al*, 2012). Trabalhos *in vivo* com *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 demonstraram que alterou a luz intestinal do íleo através da produção de substâncias antipatogênicas principalmente a *Salmonella spp.*, verificou também que doses altas de KUB-AC5 deixa uma similaridade de microorganismos em aves desafiados com salmonelas (NAKPHAICHIT *et al*, 2019).

O *Lactobacillus johnsonii* LT171 adicionados a outras cepas probióticas demonstrou aptidão pra inibir *S. Typhimurium*, *S. Enteretidis* e *E. coli* 078:K80 em aves (TAHERI *et al*, 2009). Os *Lactobacillus delbreuckii* subespécies *bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnsus* e *Lactobacillus paracasei* em pesquisa *in vitro* reduziram a habitação por *S. Typhimurium*, *S. Enteretidis* e *S. Heidelberg* (MUYYARIKKANDY e AMALARADJOU, 2017). O uso de *Bacillus subtilis* em dose única diminuiu a quantidade de salmonelas em amostras do ceco, na dieta com *B. subtilis* houve redução de 58% de *Salmonella spp.* obtidos através de suabes positivos, comparando com o grupo controle onde teve presença do patógeno em 100% das aves (KNAP *et al*, 2011).

Utilizando probióticos que produzem ácido lático em alguns estudos houve atenuação de 92 a 96% de *S. Typhimurium* (HIGGINS *et al*, 2007), 95% de *S. Heidelberg* (MENCONI *et al*, 2011) e 4 a 76% de *S. Enterica* (HIGGINS *et al*, 2010). Um estudo utilizando probióticos para o controle intestinal de *Salmonella* sorovar Typhimurium em que os frangos ganharam oralmente por sonda probióticos no seu 1º dia de existência e foram desafiados com *S. Typhimurium* no 2º dia de existência, foi observado que as aves que receberam o tratamento com probióticos tiveram a ação de substâncias que reduziram a ação de *S. Typhimurium* (HAGHIGHI *et al*, 2008). No tratamento contra *Salmonella enterica* utilizando probióticos, nos resultados obtidos através de sorologia, os níveis de IgG e IgA específicos para o combate da *S. entérica* sistêmica estavam baixos significando que houve diminuição da colonização intestinal da *S. enterica* (MOUNTZOURIS *et al*, 2009). Em outra pesquisa, aves foram submetidas ao desafio de *S. Enteretidis*, sendo fornecido 0,1% de *Lactobacillus plantarum*, obtendo-se melhor resposta imunológica no íleo dos frangos (ADHIKARI *et al*, 2004).

Em outro estudo recente, as aves receberam na dieta 250 a 500 g/ton, de *Bacillus subtilis*, o resultado foi melhor absorção da microbiota do intestino de nutrientes e o sistema imune ativou maior concentração de macrófagos para o fígado causando diminuição da habitação da *Salmonella entérica* sorovar Heiderberg (HAYASHI *et al*, 2018). A utilização de *Bacillus coagulans* em frangos submetidos a infecção com *S. Enteretidis*, resultou na inflamação e no crescimento do patógeno no intestino, causou a destruição das microvilosidades intestinais e diminuição de microorganismos benéficos, tendo a proliferação das salmonelas (ZHEN *et al*, 2018). A utilização do chamado probiótico de Exclusão Competitiva (EC) utilizado no pintainho neonatal, pode fazer a proteção, defendendo a microbiota da proliferação da *Salmonellaspp.* (BERGE; WIERUP, 2012; DÍAZ-LÓPEZ *et al*, 2017; MOUNTZOURIS *et al*, 2009).

De acordo com esses estudos, os probióticos são uma boa alternativa para combate de bactérias patogênicas. Porém, nos trabalhos citados, apenas o *Bacillus coagulans* teve um resultado insatisfatório.

## 2.4 SIMBIÓTICOS

Os simbióticos são a junção dos prebióticos e probióticos que são substâncias que contém em sua composição microrganismos benéficos que fortificam a microbiota do intestino e auxiliam na boa atividade do trato gastrointestinal, prevenindo doenças. É um alimento que suporta a ação do ácido clorídrico e ação enzimática no processo de digestão e atingem a microbiota intestinal fortificando o desenvolvimento intestinal (STEFÉ *et al*, 2008).

Para se ter um simbiótico de qualidade, deve-se obter uma sinergia plena entre o prebiótico e o probiótico, pois o estímulo de cepas probióticas e prebióticas designa o simbiótico perfeito (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002). Os simbióticos contribuem para melhor permeabilidade e absorção intestinal, melhor resposta imune, e se transforma em uma barreira intestinal (USAMI *et al*, 2011).

Os simbióticos são produzidos através da mistura ou combinação de um ou mais probióticos como *Lactobacillus spp*, *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus subtilis* e um prebiótico podendo utilizar frutoligossacarídeos (FOS) ou mananoligossacarídeos (MOS), entre outros que são componentes e substâncias que afetam de forma benéfica o desenvolvimento da microbiota intestinal do hospedeiro. Em um trabalho usando um simbiótico composto por prebióticos provenientes de algas e da chicória e o probiótico *Enterococcus faecium*, houve melhor desempenho na absorção de nutrientes e morfologia do intestino (AWAD *et al*, 2008). Em outro estudo com três grupos distintos grupo controle, grupo com probiótico *Lactobacillus spp.* e outro simbiótico comercial, o grupo que recebeu dosagens de simbiótico obteve maior ganho de peso diário, melhor conversão alimentar, rendimento de carcaça e peso corporal comparado com os demais grupos (AWAD *et al*, 2009).

Em outra pesquisa, obteve-se maior peso corporal e redução no consumo de ração utilizando simbiótico em relação aos outros grupos que utilizaram outros aditivos (DIZAJI *et al*, 2012). Utilizando um simbiótico para avaliação microbiana cecal, em vários níveis de dosagens houve aumento de lactobacilos e diminuição de *E. coli* e coliformes no ceco. Altas concentrações do simbiótico elevaram a população de microorganismos acido lácticos do intestino (DIBAJI *et al*, 2014).

Em outro projeto de pesquisa usando o simbiótico contendo a mistura de isomaltoligossacarídeos e 11 diferentes gêneros de *Lactobacillus* para avaliação do ceco, houve elevação da quantidade de lactobacilos, maior quantidade gerada de ácidos graxos voláteis no ceco e redução de *E. coli* no período de 21 dias de vida das aves (MOOKIAH *et al*, 2014).

Essas pesquisas com simbióticos mostram ótimos resultados para utilização em frangos de corte, mas não relatam a quantidade e qual a melhor associação para obter melhor sinergia entre os prebióticos e probióticos visando auto desempenho (BERTECHINI, 2006).

## 2.5 ENZIMAS

As enzimas não são estruturas vivas, mas são produtos de estruturas vivas como fungos e bactérias. São definidas como substâncias biológicas que aumentam a velocidade de uma certa reação química, sendo proteínas que podem ser degradadas por fatores como temperaturas elevadas processos térmicos como peletização (HANNAS; PUPA, 2007). As enzimas tem como uma das principais funções aumentar a digestibilidade e a quebra de fontes de energia como aveia, trigo, centeio e a cevada, tendo como resultado maior absorção intestinal e diminuição de resíduos de alimentos e gases nas fezes, como amônia e nitrogênio ficando com fezes mais secas (MURAKAMI *et al*, 2007). COSTA *et al* (2004) dizem que a soja entre outros cereais contém altas quantidades de elementos pecticos como carboidratos polissacarídeos ou polissacarídeos não amiláceos (PNA) que são parte dos ingredientes não digestíveis que podem reduzir a atuação das enzimas endógenas frente aos ingredientes. Esses PNAs presentes na parede celular dos grãos podem ser quebrados a partir da inclusão de enzimas exógenas na dieta, obtendo máxima absorção dos ingredientes energéticos e protéicos.

As enzimas são específicas em suas ações, fazem a transformação de um substrato como lipídeos e proteínas. Os complexos enzimáticos devem conter uma mistura de mais de uma enzima para se ter maior aproveitamento dos nutrientes das rações. Aditivos que contém somente uma enzima diminuem a absorção de vários ingredientes que estão presentes na dieta por serem específicas cada uma ao seu substrato, tendo redução de performance zootécnica (MURAKAMI *et al*, 2007).

Os complexos enzimáticos mais utilizados até o momento são as enzimas que degradam açúcares polissacarídeos não amiláceos, enzimas como glucanases e xilanases, quebram as partículas melhorando o valor nutricional dos alimentos tendo maior digestibilidade suprindo a falta da enzima endógena no trato digestivo (BONATO *et al*, 2001; SARTORI *et al*, 2003). Com o auxilio de fungos e bactérias, a biotecnologia através da fermentação produz vários tipos de enzimas que degradam amido, proteínas, fósforo, açúcares e celulose para absorção mais rápida e contundente do sistema digestivo (COSTA *et al*, 2007), e melhora a digestibilidade de nutrientes, principalmente cálcio, zinco, cobre, fósforo e nitrogênio.

As aves e suínos não produzem em quantidade suficiente algumas enzimas endógenas como a fitase que digerem alguns componentes químicos presentes em alimentos vegetais, sendo um desses componentes o fósforo que é fundamental aos animais para o desenvolvimento ósseo (KRABBE; LORANDI, 2014). A enzima exógena Fitase degrada o ácido fítico liberando o fósforo presente nos ingredientes vegetais (WRYAWAN *et al* 1997). Somente um terço de todo o fósforo dos alimentos vegetais está disponível para os monogástricos, pois não produzem em quantidade suficiente a enzima fitase que faz a quebra e absorção do fósforo (COSTA *et al*, 2007).

Para se ter máxima eficiência da enzima, os níveis dos minerais devem estar em equilíbrio no organismo, principalmente cálcio e fósforo (VAN DER KLIS ; VERSTEEGH, 1999). A degradação do fitato ocorre somente em ambiente com pH adequado e pela velocidade da digestão intestinal (KRABBE; LORANDI, 2014). Vários são os fatores antinutricionais que podem ser corrigidos com a inclusão das enzimas exógenas. Essas enzimas quebram pequenos aminoácidos, proteínas e amido, deixando-os disponíveis ao organismo além de manter a mucosa intestinal intacta e melhorar a absorção de minerais principalmente o fósforo que fica aprisionado ao fitato (WRYAWAN *et al*, 1997).

As enzimas comercialmente utilizadas são provenientes de bactérias do gênero *Bacillus sp.* As enzimas B-glucanases são produzidas a partir de *Bacillus subtilis*, *B. circulans* e *Penicillium emersonii*. A partir dos fungos do gênero *Aspergillus sp.*, as enzimas galactosidases vêm a partir da fermentação de *Aspergillus oryzae*, *A. Níger* e *Trichoderma reesei* (VAMBELLE, 1992, citado por BORGES, 1997).

#### **2.5.1 Enzima Protease**

A enzima Protease é produzida a partir do *Bacillus subtilis* (BORGES, 1997), e podem degradar proteínas em condições adversas antinutricionais como as lectinas e inibidores de tripsina, mas degradam principalmente as proteínas de armazenagem a conglicina e B-conglicina (GARCIA *et al*, 2000).

#### **2.5.2 Enzima Lipase**

A enzima Lipase pode ser utilizada em substratos como o farelo de arroz que é rico em óleos. Tem a capacidade de quebrar moléculas de gordura. Uma melhor eficiência alimentar ocorre nas aves suplementadas com enzima Lipase na fase pré-inicial, pois as aves jovens possuem um sistema

enzimático que tem baixa eficiência ao digerir lipídeos de uma grande variedade de alimentos (PUGH, 1993).

### 2.5.3 Enzima Amilase

As amilases são classificadas em beta-amilases, glucoamilases e alfa-amilases. A alfa-amilase é a mais aplicada na nutrição animal, pois ela degrada o amido em moléculas menores liberando moléculas de maltose e glicose, e tem como habilidade a capacidade de sobreviver a processos térmicos, como a peletização (HARGER *et al*, 1982).

### 2.5.4 Enzima Xilanase

Esta enzima é da classe chamada de carboidrases. Sua produção vem da fermentação de fungos *Aspergillus* e *Trichoderma longibrachiatum* (ZANELLA, 1998). A enzima degrada o polissacarídeo chamado de hemicelulose ou xilanos/xilananas (PALOHEIMO *et al*, 2001) que estão presentes na parede celular de alimentos como cereais e vegetais utilizados para a alimentação de aves e suínos. Esses polissacarídeos também são encontrados em plantas, madeiras, ervas entre outros (SORIO *et al*, 2012). Alguns alimentos utilizados na nutrição animal são constituídos por teores de fibras e cereais que contém polissacarídeos não amiláceos (PNA's) que não são digeridos por monogástricos. A quebra da parede celular das fibras libera os açúcares xiloligossacarídeos (XOS). Já a degradação dos cereais faz com que as enzimas endógenas consigam agir nesses cereais degradando gordura, amido e proteína (ZANELLA, 1998). Essa falha na degradação atrapalha a absorção de outros nutrientes pelo organismo, havendo necessidade da aplicação da enzima Xilanase para a degradação da hemicelulose elevando a digestão de alimentos como aveia, centeio, trigo e cevada que são ricos em polissacarídeos (KRABBE; LORANDI, 2014).

### 2.5.5 Enzima Beta-glucanase

Essa enzima também vem da classe carboidrase e tem a capacidade de quebrar polissacarídeos como a celulose que contém polissacarídeos B-glucanos que são formados por varias subunidades de glicose que estão nos grãos de trigo, triticale, cevada e centeio (HENRY, 1988). A enzima Beta-glucanase é sintetizada por fungos, bactérias e leveduras, mas essa síntese não gera uma enzima Beta-glucanase gera um conjunto de enzimas com a mesma especificidade, mas com propriedades químicas diferentes que se ligam aos seus respectivos substratos (SORIO *et al*, 2012).

Em um estudo utilizando a enzima fitase na dieta de frangos de corte nas fases pré-inicial com idade de 1 a 7 dias e inicial de 8 a 21 dias teve como conclusão que a inclusão da enzima fitase na dieta se obteve um melhor índice de performance zootécnica em relação as dietas que não tinham enzima (COSTA *et al*, 2007). Em outra pesquisa utilizando complexo enzimático em nível de 400 ppm ou 500 ppm em dietas de poedeiras comerciais com 29 a 49 semanas, se pode reduzir em 7% a quantidade de farelo de soja e 9% do ingrediente energético da dieta sem haver redução de desempenho e qualidade dos ovos (MURAKAMI *et al*, 2007).

Em outra pesquisa com aves de corte, utilizou-se a associação de um complexo enzimático com xilanase, B-glucanase e fitase para avaliação de absorção e retenção de minerais como fósforo, cálcio e nitrogênio, utilizando de 25 a 50g/ton + 500 a 1000 unidades de fitase ativa (FTU/kg) do complexo enzimático se obteve como resultado aumento da retenção e menor excreção dos minerais nas excretas sem alterar o índice de performance das aves.

A suplementação de enzimas permite uma maior flexibilidade para a formulação das dietas podendo utilizar outros ingredientes mais baratos ao invés de produtos que sofrem uma inflação pelo mercado, sem perder os níveis nutricionais e de absorção da dieta.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A avicultura brasileira que sempre dependeu da utilização de antibióticos promotores de crescimento acrescido na dieta das aves, precisa manter os índices de produtividade mesmo sem o uso dos APCs, podendo agregar valor em um produto nacional, a proibição desses antibióticos coloca o Brasil novamente em destaque no cenário mundial produzindo um produto de qualidade garantida ao consumidor.

Com a utilização de novos métodos na nutrição de aves de corte como prebióticos, enzimas e probióticos podemos reduzir a taxa de resistência bacteriana tanto nos animais como em humanos frente aos antibióticos que possuímos hoje.

### **REFERÊNCIAS**

ARAUJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R.; LIMA, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasílica** v. 1. n. 3, p. 70-75 Areia-PB. 2007.

AVINEWS. Alternativas a antibióticos promotores de crescimento na avicultura. **La revista global da avicultura**. Dezembro de 2018.

AVINEWS. Mapa anuncia proibição de antibióticos promotores de crescimento. aviNews, **La revista global da avicultura**. Dezembro de 2018.

BARBOSA, J. G.M.; **Efeitos da suplementação de leveduras autolisada de *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desempenho e a imunidade intestinal de frangos de corte.** Pág. 17-31., Universidade de São Paulo. Piracicaba. 2016.

BRITO, J. M.; FERREIRA, A. H. C.; SANTANA JÚNIOR, H. A.; ARARIPE, M. N. B. A.; LOPES, J. B.; DUARTE, A. R.; CARDOSO, E. S.; RODRIGUES, V. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes – Revisão. **Revista eletrônica nutritime.** Universidade Estadual do Piauí. v. 10, n. 205, p. 2526-2538, Julho/Agosto 2013.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime** v. 2. p. 260-270. Novembro/Dezembro 2005.

CASTEJON, F. V. **Gel nutritivo e simbiótico para frangos de corte.** Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 2017.

DE LOS SANTOS, J. R. G.; GIL-TURNES, C. Probióticos em avicultura. **Revista Ciência Rural** v. 35 n.3 Santa Maria: Maio/Junho 2005.

DEMATTÊ FILHO, L. C. **Aditivos em dietas para frangos de corte criados em sistema alternativo.** Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. Junho 2004.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 171**, de 13 de dezembro de 2018. Edição 243. Seção 1. Pág 23. Publicação: 19/12/2018.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução normativa nº 1**, de 13 de Janeiro de 2020. Seção 1. Pág. 6. Publicação: 23/01/2020.

DIAS, L.; **Efeito da utilização de leveduras vivas no desempenho de leitões.** Pág. 8-13., Universidade tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos. 2014.

FERREIRA, M. S.; **Utilização de levedura viva na dieta de bubalinos em confinamento,** Universidade Federal do Amazonas. Manaus: Maio 2018.

GOBESSO, A. A. O.; TARAN, F. M. P.; GONZAGA, I. V. F.; FRANÇOSO, R.; CENTINI, T. N. Utilização de leveduras na alimentação de equinos. In: **Simpósio pós VNP FMVZ/USP.** p. 3-12, Pirassununga-SP: 2011.

GÓMEZ, N. C.; RAMIRO, J. M. P.; QUECAN, B. X. V.; FRANCO, B. D. G. M. Uso de Biofilmes Potenciais de Bactérias de Ácido Lático Probióticas (LAB) para o Controle de *Listeriamonocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* e Formação de Biofilmes de *Escherichia coli* O157: H7. **Frontiers in Microbiology**. Universidade de São Paulo. Artigo 863, v. 7, p. 2-3, Junho 2016.

GOPINGER, E.; AVILA, V. S.; KRABBE, E. L; SUREK, D.; LOPES, L. S.; MAIORKA, A. Adição de xilanase e glucanaseassociada a fitase em dietas de frango de corte sobre a retenção e

excreção de minerais. In: XIV Seminário Técnico Científico de Aves e Suínos - AveSui 2015. Curitiba-PR. Abril de 2015.

GRANGEIRO, M. G. A.; FUENTES, M. F. F.; FREITAS, E. R.; ESPÍNDOLA, G. D.; SOUZA, F. M. Inclusão da Levedura de Cana-de-Açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) em Dietas para Frangos de Corte. **Revista brasileira de zootecnia**, p. 766-767, Fortaleza-CE: 2001.

GRIGOLETTI, C.; *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de frangos de corte. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2012.

IMPERATORI, F. Uso de antibióticos na avicultura: tendência e futuro. Engormix Artigos Técnicos de Avicultura. Fevereiro de 2020.

KRABBE, E. L.; LORANDI, S. Atualidades e tendências no uso de enzimas na nutrição de aves. In: VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal. Estância de São Pedro-SP. Setembro de 2014.

KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; SANTIN, E. Probióticos na avicultura. **Ciência rural**. Santa Maria. v. 44, p. 1458-1462, Agosto 2014.

MURO, E. M. Prebióticos na alimentação de frangos de corte: desempenho e ação imunomodulatória. Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. Agosto 2018.

PLÁCIDO, V. P. Enzimas exógenas utilizadas na dieta de aves: Revisão bibliográfica. Universidade Federal de Santa Catarina. Curitibanos. 2019.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; RIBEIRO, M. N.; SILVA, F. E. S.; MERVAL, R. R.; ALBUQUERQUE, D. M. N. Aditivos alternativos a antibióticos para frangos de corte no período de 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 15 n. 4 Salvador. Outubro/Dezembro 2014.

VALADARES, L. S. C.; Avaliação de diferentes planos nutricionais utilizando leveduras na dieta de frangos de corte. Universidade de São Paulo-USP. Pirassununga-SP: 2012.

VASCONCELLOS, C. H. F.; FONTES, D. O.; BAIÃO, N. C.; VIDAL, T. Z. B.; CORRÊA, G. S.; SILVA, M. A. Enzimas exógenas para frangos de corte. Engormix **Artigos Técnicos de Avicultura**. Abril de 2011.