

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DO USO DE *LITHOTHAMNIUM CALCAREUM* E
LEVEDURA DE CANA-DE-AÇUCAR NA CONTAGEM DE
CÉLULAS SOMÁTICAS E BACTERIANA TOTAL DO LEITE
DE VACAS**

Breno Henrique de Almeida Ribeiro
Médico Veterinário

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS- BRASIL
ABRIL – 2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DO USO DE *LITHOTHAMNIUM CALCAREUM* E
LEVEDURA DE CANA-DE-AÇUCAR NA CONTAGEM DE
CÉLULAS SOMÁTICAS E BACTERIANA TOTAL DO LEITE
DE VACAS**

**Breno Henrique de Almeida Ribeiro
Orientadora: Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

Uberlândia – MG
Abril – 2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R484a Ribeiro, Breno Henrique de Almeida, 1977-
2014 Avaliação do uso de Lithothamnium Calcareum e levedura de cana-de-açúcar na contagem de células somáticas e bacteriana total do leite de vacas / Breno Henrique de Almeida Ribeiro. – 2014.
13 f. : il.

Orientadora: Anna Monteiro Correia Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino de leite – Alimentação e rações - Teses. 3. Leite – Produção – Teses. I. Lima, Anna Monteiro Correia. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU:

619

E um homem disse: “Fala-nos do conhecimento de si próprio.”

E ele respondeu, dizendo:

“Vosso coração conhece em silêncio os segredos dos dias e das noites; mas vossos ouvidos anseiam por ouvir o que vosso coração sabe.

Desejais conhecer em palavras aquilo que sempre conhecestes em pensamento.

Quereis tocar com os dedos o corpo nu de vossos sonhos.

E é bom que o desejeis.

A fonte secreta de vossa alma precisa brotar e correr, murmurando, para o mar; e o tesouro de vossas profundezas ilimitadas precisa revelar-se a vossos olhos.

Mas não useis balanças para pesar vossos tesouros desconhecidos; e não procureis explorar as profundidades de vosso conhecimento com uma vara ou uma sonda, porque o Eu é um mar sem limites e sem medidas.

Não digais: ‘Encontrei a verdade.’ Dizei de preferência: ‘Encontrei uma verdade.’

Não digais: ‘Encontrei o caminho da alma.’ Dizei de preferência: ‘Encontrei a alma andando em meu caminho.’

Porque a alma anda por todos os caminhos.

A alma não marcha numa linha reta nem cresce como um caniço.

A alma desabrocha, qual um lótus de inúmeras pétalas.”

GIBRAN KHALIL GIBRAN, O Profeta.

**Ao meu pai, *in memoriam*, ofereço.
À minha mãe e irmãs, agradeço.
À Franciele, dedico.**

Agradeço a todos que, de forma direta ou indireta, ajudaram na realização deste trabalho.

Em especial, agradeço à minha orientadora **Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima** que foi sempre uma pessoa disponível, gentil e competente na sua função.

Ao **Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães** agradeço todo o trabalho estatístico da dissertação, sem o qual os dados não teriam conclusão.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	04
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	06
4. CONCLUSÃO.....	11
5. REFERÊNCIAS.....	12

RESUMO - Este trabalho teve como objetivo avaliar se houve redução nas CCS e CBT do leite de vacas, usando um suplemento dietético, em três diferentes dosagens e constituído basicamente de minerais orgânicos oriundos da *Lithothamnium calcareum* (92,5g/kg), principalmente cálcio e magnésio, e leveduras de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) (2,5g/kg) enriquecidas com paredes celulares destas (5g/kg). A pesquisa foi realizada na Fazenda Experimental do Glória da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia, MG. Foram utilizadas 12 vacas mestiças leiteiras que estavam com mais de 60 dias pós-parto, com produção leiteira acima de 20 kg/dia. Durante o período da pesquisa – cinco meses - todos os animais ficaram 75 dias em confinamento com ração e silagem e 75 dias com ração e pastagem. As 12 vacas foram divididas em quatro grupos de três animais cada um. Dos grupos, três receberam, respectivamente, 40, 60 e 80g/dia/animal de suplemento misturado aos quatro kg diários de ração, oferecidos durante a ordenha. Um grupo foi mantido como controle, sem receber o suplemento. Foram coletadas cinco amostras mensais de leite de cada animal, uma no início do experimento e as outras a cada 30 dias. As amostras de leite foram coletadas no início da ordenha da tarde, antes da colocação das teteiras, em recipientes com preservante bronopol (2-bromo, 2-nitro-1,3 propanediol), foram resfriadas e enviadas para o Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite, na Clínica do Leite (Esalq-USP). Através da citometria de fluxo foi determinada a CCS e da Citometria de Fluxo - PO ANA 010 foi determinada a Contagem Bacteriana Total (CBT). As médias de CCS e CBT variaram entre 107 x 1000 e 278 x 1000 células por mL e 4 x 1000 e 17 x 1000 UFC por mL, respectivamente. Não foi observada nenhuma alteração significativa nas CCS e CBT, com nenhuma dosagem utilizada.

Palavras-chave: *Lithothamnium calcareum*. **Contagem de Células Somáticas. Contagem Bacteriana Total. leite bovino.**

SUMMARY – The objective of the present study was to evaluate the reduction in somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) in bovine milk to acceptable parameters, using a dietary supplement, in three different dosages. The dietary supplement consisted basically of organic minerals derived from *Lithothamnium calcareum* (92.5 g/kg), *Saccharomyces cerevisiae* (2.5 g/kg) and yeast cell walls (5g/kg). Twelve crossbred cows that were more than 60 days postpartum and produced more than 20 Kg of milk/day were used in this research, which was conducted at the experimental farm of the Federal University of Uberlândia (Fazenda Experimental do Glória, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brazil). During the first 75 days, the animals were confined and received feed and silage. During the following 75 days, the animals were received feed and pasture. The 12 cows were divided into four groups of three animals each, the animals of each group receiving 0, 40, 60 or 80g of supplement per day. The supplement was mixed in 4 kg of feed and offered during milking. Milk samples were collected each month, the first one at the beginning of the experiment and the remaining samples every 30 days. These samples were collected at the beginning of the afternoon milking, before the placement of the teat cups, and were kept in containers with bronopol (2-bromo, 2-nitro-1, 3 propanediol). After being collected, the samples were cooled and sent to the Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite, at the Clínica do Leite (Esalq-USP). Flow cytometry was used to determine the SCC and flow cytometry – PO ANA 010 was used to determine TBC. The average SCC ranged between $1,07 \times 10^5$ cells/mL and $2,78 \times 10^5$ cells/mL. The average TBC ranged between 4×10^3 CFU/mL and 17×10^3 CFU/mL. No significant changes in SCC and TBC counts were observed, regardless of the dosage used was observed.

Keywords: *Lithothamnium calcareum*. *Somatic Cell Count*. *Total Bacterial Count*. *bovine milk*.

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira, no Brasil, é hoje um dos setores mais importantes da pecuária, o que favorece a procura por melhorias na produção e no desempenho dos animais. A inclusão de aditivos seguros na dieta de bovinos tem sido utilizada objetivando elevar a produção, diminuir os problemas com resíduos, sem causar prejuízos aos animais.

Um artifício de grande importância e que vem sendo estudado recentemente é o emprego da farinha de algas marinhas. De acordo com Melo e Moura (2009), as algas marinhas calcárias retêm elevado índice de elementos minerais do meio marinho, além de considerável quantidade de substâncias nutritivas. Uma destas algas é o *Lithothamnium calcareum*, pertencente à família das coralináceas e ao grupo das algas vermelhas ou rodofíceas. O *Lithothamnium sp* é uma alga marinha calcária encontrada em todos os mares do mundo. Ao absorverem os minerais do ambiente, elas transformam os componentes químicos em compostos de fácil absorção pelo nosso organismo. A principal função desses minerais é a formação de enzimas, que funcionam como catalisadores orgânicos nas trocas químicas das células. Por isso, são vitais para a sobrevivência das células e do corpo.

O *Lithothamnium sp* é utilizado, há anos, em países europeus e asiáticos em diversos segmentos e indústrias, notadamente na nutrição vegetal e na nutrição animal. O Brasil é comprovadamente o país que detém as maiores reservas desta alga do mundo, seja em quantidade ou qualidade (MELO e MOURA, 2009).

De acordo com Melo et al. (2004) *Lithothamnium sp* é um suplemento alimentar notavelmente equilibrado. Devido a sua origem orgânica, os nutrientes contidos no *Lithothamnium sp* são de fácil absorção pelo organismo animal, suprimindo eficazmente deficiências nutricionais. Análises realizadas, no Brasil, demonstram que este produto tem em sua composição mais de 48 elementos (macro e micronutrientes), contendo ainda fitohormônios, vitaminas e aminoácidos na matéria orgânica. Tem aspecto calcário, absorve o carbonato de cálcio e o magnésio, é 100% natural e os seus nutrientes e compostos são metabolizados organicamente e absorvidos pelo animal. Magnésio e cálcio são elementos minerais relacionados de forma muito íntima a diversos processos metabólicos no organismo animal. Em vacas leiteiras, principalmente de alta produção, há grande mobilização de cálcio

para a glândula mamária para a produção de leite, predispondo a vaca a uma hipocalcemia. Além disso, níveis reduzidos de cálcio e magnésio em vacas leiteiras podem levar à retenção de placenta, redução da involução uterina e contração da musculatura lisa e aumento da incidência de deslocamento do abomaso (HORTA, 1994; DIAS, 2000; SAUT et al., 2010).

Sabe-se que principalmente em gado leiteiro, as maiores necessidades minerais são em cálcio, fósforo e magnésio. Esses minerais constituem 75% das necessidades essenciais do rebanho. Deficiência de tais elementos se traduz primeiramente em falta de apetite, a qual pode se agravar, podendo se instalar quadro de anorexia. Quando há este sintoma observa-se um processo de deficiência energética e logo após uma deficiência protéica (PEIXOTO et al., 1995). A nutrição como ferramenta para modular o sistema imune, produzindo um estado ideal de imunidade, tem se tornado um fato real não apenas em estados patológicos imunossupressores, como também para a manutenção dos saudáveis (MENEZES e BERTOLA, 2001), já que nas infecções o sistema imune é peça chave no seu controle.

Melo et al. (2004) ainda afirmaram que alguns pesquisadores atribuem ações extra-nutricionais às moléculas orgânicas, dentre elas maior tolerância aos fatores estressantes; melhor eficiência no sistema imunológico; controle eficaz na retenção de placenta; controle eficaz de até 80% nos problemas de cascos e controle de mastite clínica e sub-clínica, com redução de CCS significativamente, para patamares aceitáveis. Entretanto, Lopes (2012) observou que a suplementação dietética de 1% da Matéria Seca de farinha de algas (*Lithothamnium calcareum*) diminuiu a produção de leite de vacas em final de lactação, quando comparadas ao grupo controle.

A edição da Instrução Normativa n. 62 (IN 62), de 29 de dezembro de 2011, pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define um novo cronograma para adaptação gradativa dos produtores de leite e muda os limites da CCS. As mudanças alteram o prazo e limite da CCS, que passa a ter como limite máximo 600.000/mL, para os produtores das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, a partir de janeiro de 2012. Há um escalonamento de prazos e limites para a redução da CCS até 2016, para que se chegue a 400.000/mL (MAPA, 2011).

Vallin et al. (2009) observaram que, com práticas simples de manejo, se pode melhorar a qualidade do leite, usando como parâmetros de qualidade a Contagem

de Células Somáticas (CCS), indicativo de sanidade da glândula mamária, e a Contagem Bacteriana Total (CBT), indicativo de higiene de ordenha. A CBT indica a contaminação no leite expressa em Unidade Formadora de Colônia por mililitro (UFC/ml). A CCS alta é indicador da mamite subclínica e serve como avaliação do risco de ocorrência de resíduos de antibióticos no leite, uma vez que nestas condições, a frequência de tratamentos mamários contra mamites é maior. Foram estudados mais de 70 mil resultados de CCS e CBT, provenientes de análises automatizadas, de rebanhos leiteiros europeus e foi observado que quando a CCS era alta, o coeficiente de correlação entre CCS e CBT foi de 0,84, indicando uma alta correlação entre estes dois critérios de qualidade. Estes resultados demonstram que os rebanhos com maiores médias de CCS apresentaram as piores condições de higiene na produção de leite, o que pode ser um dos fatores relacionados com a dificuldade de controle da mamite (SANTOS, 2006).

Outro importante suplemento usado na alimentação animal é a levedura da cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*). A parede celular das leveduras constitui-se, predominantemente, de polissacarídeos mananos e glucanos, que agem como prebióticos. Os mananos, que se encontram presentes em maior proporção na parede celular mais externa, agem como protetores do mecanismo de defesa do organismo animal. Já os glucanos estimulam o sistema imune natural e a produção de macrófagos que, através do processo de fagocitose, destroem os microrganismos patogênicos (COSTA, 2004), o que faria uma diminuição nas bactérias do leite.

Diante disto, os objetivos desta pesquisa foram:

- Avaliar se houve redução na contagem de células somáticas do leite (CCS) e na contagem bacteriana total (CBT) usando uma associação de *Lithothamnium calcareum* (92,5g/kg), levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) (2,5g/kg) e paredes celulares destas (5g/kg), como suplemento, em três diferentes dosagens.
- Distinguir qual a dosagem usada apresentou queda maior na CCS e CBT.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada na Fazenda Experimental do Glória da Universidade Federal de Uberlândia, situada no município de Uberlândia, MG. Possui clima tropical semiúmido, com temperatura média anual de 23°C. A precipitação pluviométrica média anual é de 1300 mm, distribuída entre os meses de novembro a março (verão chuvoso). O período seco estende-se de abril a outubro (inverno seco).

Foram utilizadas 12 vacas mestiças leiteiras (Zebu x holandês) que possuíam uma genética próxima, em bom estado de saúde, com peso vivo médio de 580 kg, e que estavam com mais de 60 dias pós-parto, com produção leiteira acima de 20 kg/dia. Durante o período do experimento – cinco meses (novembro/2012 a março/2013) - todos os animais ficaram 75 em confinamento com ração e silagem e os 75 dias seguintes com ração e pastagem.

As 12 vacas foram divididas em quatro grupos de três animais cada um. Três grupos receberam, respectivamente, 40, 60 e 80g/dia/animal de suplemento misturado aos quatro kgs diários de ração, oferecidos durante a ordenha. Um dos grupos foi mantido como controle, sem receber o suplemento (Figura 1).

Cinco amostras mensais de leite foram coletadas de cada animal, uma no início do experimento e as outras a cada 30 dias, de novembro de 2012 a março de 2013, através de ordenha manual.

As amostras de leite foram colhidas mediante sistema acionado do tanque individual, na ordenha da tarde, em recipientes com preservante bronopol (2-bromo,2-nitro-1,3 propanediol), foram resfriadas e enviadas para o laboratório. Através da citometria de fluxo foi determinada a contagem de células somáticas (CCS). Através da Citometria de Fluxo - PO ANA 010 foi determinada a Contagem Bacteriana Total (CBT) (CASSOLI et al., 2007). As análises laboratoriais foram realizadas no Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite, na Clínica do Leite (Esalq-USP).

As análises estatísticas para os testes da CCS e da CBT foram feitas com a aplicação do Teste de Normalidade de ANDERSON-DARLING (PORTAL ACTION, 2013, 2) e do Teste de KRUSKAL-WALLISS (PORTAL ACTION, 2013, 1).

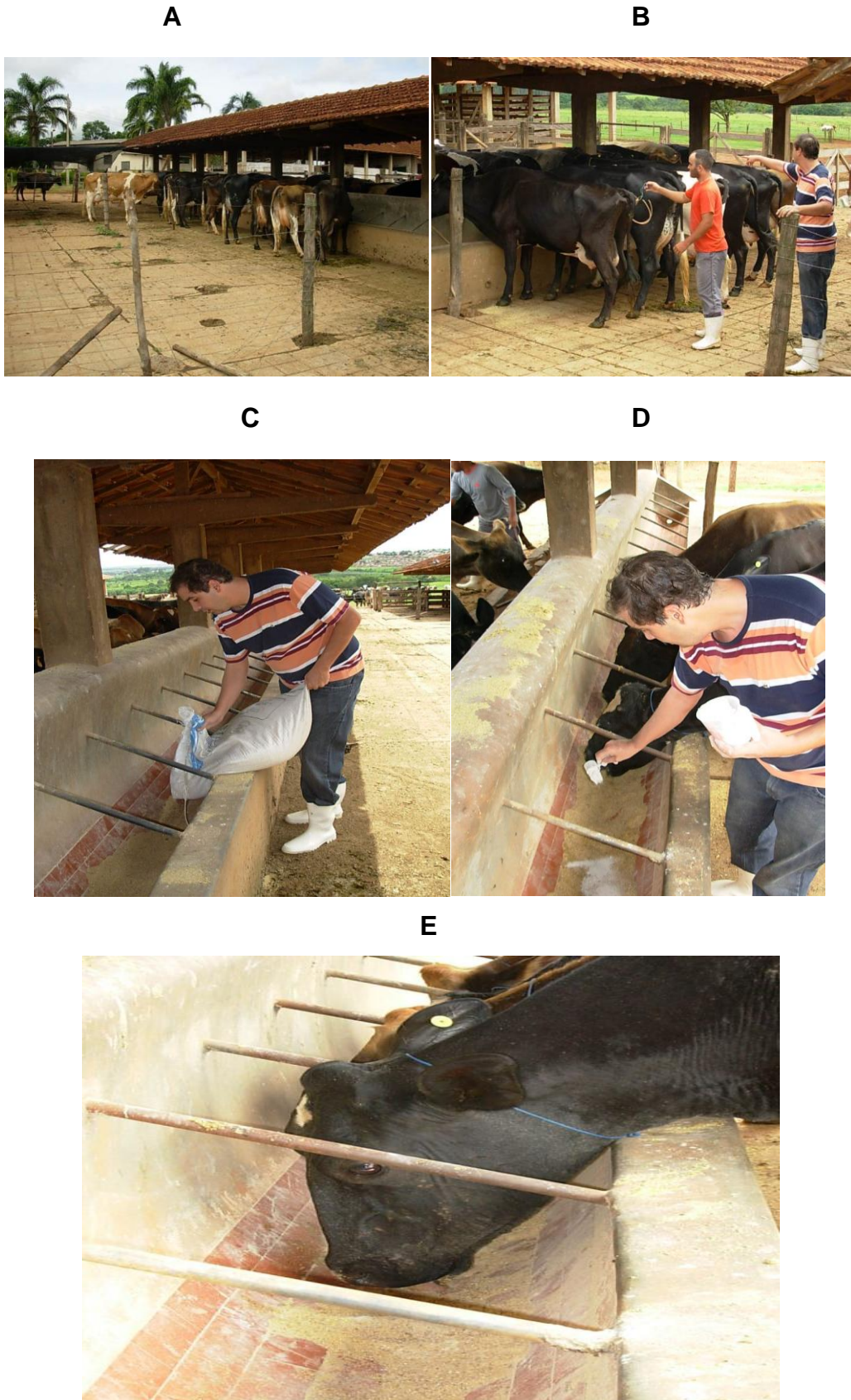


Figura 1. Administração do suplemento dietético (A e B – separação dos animais. C – colocação da ração. D – colocação do suplemento. E – ingestão)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos alguns valores da CCS. Os dados de comparação do valor numérico da CCS com os períodos do experimento (confinamento e pastagem), dosagem do suplemento contendo *Lithothamnium* sp (92,5g/kg) e levedura de cana-de-açúcar (2,5g/Kg) e paredes celulares destas (5g/Kg) e meses do ano durante a realização do experimento estão registrados nas TABELAS 1 e 2.

TABELA 1. Contagem de Células Somáticas das amostras de leite de 12 vacas, da Fazenda do Glória, UFU, 2014.

Períodos		Confinamento		Confinamento Pastagem	Pastagem			CCS Média do Animal
Grupo (g)	No. do animal	CCS nov (x1000/mL)	CCS dez (x1000/mL)	CCS jan (x1000/mL)	CCS fev (x1000/mL)	CCS mar (x1000/mL)		
controle	15	321	105	107	351	173	211,4	
controle	702	287	15	16	69	36	84,6	
controle	838	215	35	315	124	168	171,4	
40	491	204	117	972	427	205	385	
40	698	221	159	479	364	241	292,8	
40	831	68	24	101	24	76	58,6	
60	320	215	41	112	208	52	125,6	
60	703	175	23	64	27	65	70,8	
60	777	23	22	60	26	33	32,8	
80	466	375	280	331	339	152	295,4	
80	528	220	75	365	174	515	269,8	
80	720	352	392	416	751	650	512,2	
CCS Média Mensal		223	107,33	278,17	240,33	197,17		

Aplicado o Teste de Normalidade de ANDERSON-DARLING constatou-se que a distribuição não era normal, portanto, não paramétrica e não necessitando assim ser feita a análise de variância. Foi usado então, para uma análise não paramétrica, o Teste de KRUSKAL-WALLIS, no qual foram comparados as dosagens do suplemento, os meses do ano e os períodos do experimento com os resultados da CCS.

Comparadas as dosagens com os resultados da CCS, independente dos períodos e dos meses, houve diferenças significativas, no nível de significância de 0,05 entre o grupo controle, e o grupo que recebeu 80 gramas diárias do

suplemento. Contudo, não houve diferenças entre os grupos controle e os que receberam 40 e 60 gramas.

TABELA 2. Sumário Básico por Fator. Dados do Processo. Uberlândia, MG, 2014.

Fator (g)	Períodos	Meses	Mínimo	Média	Mediana	Máximo	Desvio Padrão
0	CONF	DEZ	15	51,67	35	105	47,258156
0	CONF	JAN	16	146	107	315	153,26774
0	CONF	NOV	215	274,33	287	321	54,123316
0	PAST	FEV	69	181,33	124	351	149,4869
0	PAST	JAN	16	146	107	315	153,26774
0	PAST	MAR	36	125,67	168	173	77,693844
40	CONF	DEZ	24	100	117	159	69,086902
40	CONF	JAN	101	517,33	479	972	436,76348
40	CONF	NOV	68	164,33	204	221	83,859009
40	PAST	FEV	24	271,67	364	427	216,78638
40	PAST	JAN	101	517,33	479	972	436,76348
40	PAST	MAR	76	174	205	241	86,758285
60	CONF	DEZ	22	28,67	23	41	10,692677
60	CONF	JAN	60	78,67	64	112	28,936713
60	CONF	NOV	23	137,67	175	215	101,29824
60	PAST	FEV	26	87	27	208	104,79027
60	PAST	JAN	60	78,67	64	112	28,936713
60	PAST	MAR	33	50	52	65	16,093477
80	CONF	DEZ	75	249	280	392	160,75758
80	CONF	JAN	331	370,67	365	416	42,782395
80	CONF	NOV	220	315,67	352	375	83,644087
80	PAST	FEV	174	421,33	339	751	297,18064
80	PAST	JAN	331	370,67	365	416	42,782395
80	PAST	MAR	152	439	515	650	257,55194

Não houve ainda diferença significativa entre os grupos que receberam 40 e 80 gramas, como pode ser visualizado na TABELA 3. Considerando apenas períodos, independente de dosagens e meses, no nível de significância de 0,05, não houve diferença significativa entre confinamento e pastagem. E considerados meses, independente de dosagens e períodos também, no nível de significância de 0,05, não houve diferença significativa, entre os meses do experimento.

Pelos cálculos das medianas, pode-se perceber que o melhor desempenho foi do grupo que recebeu 60 gramas, seguido pelo grupo controle, depois o de 40 gramas, e o de 80 gramas (TABELA 3). Ou seja, o grupo que recebeu 60 gramas de suplemento teve a maior queda na CCS, porém não houve diferença significativa com os outros grupos.

TABELA 3. Dosagem do suplemento X Mediana, na CCS, Uberlândia, MG. 2014

GRUPOS (DOSAGEM) (g)	MEDIANA	DIFERENÇAS
0	115,5	A B
40	204,5	B C
60	60	A
80	385,5	C

A diminuição da CCS, pelo uso da suplementação da ração com a alga marinha *Lithothamnium* sp, foi observada por Melo et al. (2004). A correção de qualquer deficiência mineral existente no rebanho com a administração das algas marinhas na alimentação, como sugere Dias (2000), permite a atuação satisfatória do sistema imune dos animais no combate a agentes infecciosos. A deficiência mineral pode levar a uma deficiência protéica, como relataram Peixoto et al. (1995), que irá prejudicar a resposta imunológica do organismo, constituída basicamente de proteína e tornará o indivíduo altamente susceptível a infecções. Menezes e Bertola (2001) observaram que é necessário se ter um estado nutricional ideal para se conseguir uma imunidade adequada a infecções.

Os valores da CBT foram de dezembro de 2012 a março de 2013, pois os de novembro não foram processados devido ao fato de terem atingido uma temperatura superior à temperatura desejável, durante o transporte. Os dados de comparação do valor numérico da CBT com os períodos do experimento (confinamento e pastagem), dosagem do suplemento e meses do ano estão computados nas TABELAS 4 e 5.

TABELA 4. Meses do Experimento X Mediana, na CBT Uberlândia, MG, 2014.

MESES	MEDIANA	DIFERENÇAS
D	2	A
J	6	B
F	17	AB
M	5	AC

Tabela 5. Contagem Bacteriana Total (x 1000 UFC/mL) das amostras de leite de 12 vacas, da Fazenda do Glória, UFU, 2014.

Períodos		Confinamento		Confinamento Pastagem		Pastagem
Grupo (g)	No. do animal	CBTdez	CBTjan	CBTfev	CBTmar	CBT Média do animal
controle	15	27	9	7	2	11,25
controle	702	1	4	4	3	3
controle	838	1	19	7	13	10
40	491	1	29	4	3	9,25
40	698	6	22	4	7	9,75
40	831	1	15	5	16	9,25
60	320	2	11	12	2	6,75
60	703	3	21	20	12	14
60	777	1	29	7	5	10,5
80	466	3	12	4	5	6
80	528	2	27	5	1	8,75
80	720	5	8	16	7	9
CBT Média Mensal		4,42	17,17	7,92	6,33	

Aplicado o Teste de Normalidade de ANDERSON-DARLING constatou-se que a distribuição não era normal, portanto, não paramétrica e não necessitando assim ser feita a análise de variância. Foi usado então, para uma análise não paramétrica, o Teste de KRUSKAL-WALLIS, no qual foram comparados as dosagens do suplemento, os meses do ano e os períodos do experimento com os resultados da CBT.

Comparada então, a CBT em relação a grupos de dosagem do suplemento e períodos (pastagem – confinamento) não houve diferença estatística. Contudo,

quando se comparou a CBT com os meses testados, ocorreu uma diferença significativa entre os meses de Dezembro e Janeiro e entre Janeiro e Março.

Apesar da pouca literatura que há sobre a utilização do *Lithothamnium calcareum* como agente imunoestimulante, este benefício não foi estatisticamente notado no experimento, correlacionando, em parte, com o trabalho de Lopes (2012) que notou que a farinha de algas deprimiu o desempenho de vacas em final de lactação, diminuindo a produção leiteira, quando associada à dieta.

Vários fatores podem explicar a ineficiência no uso da farinha de algas.

Na amostragem, foi constatado, depois dos primeiros exames laboratoriais, que alguns animais apresentavam mastite crônica, e nestes casos se fazia necessário o uso de antibióticos, como única solução.

O estresse do manejo, causado pela separação dos animais do experimento do restante do rebanho, todos os dias, pelo arração feito em cocho separado. Além disto, pela mudança de tratadores – quatro diferentes - (que davam a alimentação) diariamente pode ter causado a diminuição do efeito imunoestimulante com a imunossupressão causada pelo stress.

O produto usado poderia não ter as substâncias nas concentrações citadas (*Lithothamnium calcareum* e leveduras), uma vez que este produto foi cedido, já formulado, por um laboratório e pronto para comercialização.

Este suplemento não foi efetivo nos benefícios que eram esperados.

4. CONCLUSÃO

O uso de suplementação alimentar com *Lithothamnium calcareum*, levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*) e sua parede celular na dosagem de 40 g, 60 g ou 80 g por animal, em vacas leiteiras, não contribuiu com a saúde do úbere e não teve alteração significativa no número de células somáticas no leite. Os meses do ano e os períodos de confinamento ou pastagem dos animais também não influenciaram significativamente na CCS. Com relação à CBT, não houve diferença significativa entre a dosagem do produto e os períodos de confinamento ou pastagem. Houve diferença significativa entre os meses de Dezembro e Janeiro e Janeiro e Março.

5. REFERÊNCIAS

CASSOLI, L. D; MACHADO, P. F.; SANTOS, M. V.; SUSIN, I.. Correlation study between standart plate count and flow cytometry for determination of raw milk total bacterial count. **International Journal of Dairy Technology**, 2007, v. 60, p. 44-48.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, nº1, p.01-06, 2004.

DIAS, G. T. M. Granulados bioclásticos – algas calcárias. **Revista brasileira de geofísica**, v. 18 n. 3, 2000, p. 308-318.

HORTA, A. E. M. **7as Jornadas Internacionales de Reproducción Animal**, Murcia, p. 181-192, 1994.

LOPES, N. M. **SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS COM FARINHA DE ALGAS (*Lithothamnium calcareum*)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras. Lavras – MG, 2012. 61p.

MELO, P.C et al. **Efeitos de doses do *Lithothamnium* sp na produção leiteira**. Disponível em: <<http://www.calmarmineracao.cm.br/calmar/farinha2.htm>>. Acesso em 20/11/2013. 2004.

MELO, T.V.; A. M. A. MOURA. Utilização da farinha de algas calcárias na alimentação animal. **Archivos de zootecnia**, v. 58, p. 100, 2009.

MENEZES, H.; BERTOLA, E. **A interrelação entre nutrição e imunidade. Nutrição em pauta – o site do profissional de nutrição. 2001**. Disponível em: <<http://www.nutricaoempauta.com.br/novo/49/nutrihospitalar.html>>. Acesso em: 17/11/2013.

Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa no. 62.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2011/12/publicada-in-que-altera-normas-de-producao-de-leite>>. Acesso em: 15/11/2013. 2011.

PORTALACTION. **Teste de Kruskal Wallis.** Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br/976-4-teste-de-kruskal-wallis>>. Acesso em: 05/11/2013 (1).

PORTAL ACTION. **Transformação de Box-Cox – Anderson-Darling.** Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br/601-modelo-normal-com-transforma%C3%A7%C3%A3o-de-box-cox>>. Acesso em: 05/11/2013 (2).

PEIXOTO, A. M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P.; **Nutrição de bovinos, conceitos básicos e aplicados.** 5. ed. Piracicaba: FEALQ, 1995. 563p.

SANTOS, M. V. **CCS como indicador de higiene de produção de leite.** 2006. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/ccs-como.aspx>>. Acesso em: 17/03/2014.

SAUT, J. P. E. et al. Análise do perfil metabólico mineral de vacas mestiças leiteiras durante período puerperal. Simpósio Nacional em Ciência Animal da Universidade Federal de Uberlândia. **Anais...**, 2010.

VALLIN, V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. V.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; DA ANGELA, H. L.; SILVA, L. C. C. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 181-188, jan./mar. 2009.