



La hipocalcemia en vacas lecheras y sus alternativas diagnósticas en campo: Revisión

Hypocalcemia in dairy cows and its diagnostic alternatives in field: Review

Autores

✉ ¹*Gilma Susana Gallegos Rosales

✉ ²Carolina Fonseca Restrepo

¹Estudiante del Programa de Maestría en Medicina Veterinaria, mención Salud y Reproducción en Especies Productivas, Instituto de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Técnica de Manabí, Ecuador.

²Instituto de Posgrado. Universidad Técnica de Manabí, Ecuador. Instituto de Posgrado, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá, Colombia.

*Autor de correspondencia.

Citación sugerida: Gallegos Rosales, G. S. y Fonseca Restrepo, C. (2021). La hipocalcemia en vacas lecheras y sus alternativas diagnósticas en campo: Revisión. *La Técnica*, 11(1), 34-47. DOI: https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i25.2590

Recibido: Septiembre 02, 2020

Aceptado: Diciembre 02, 2020

Publicado: Enero 08, 2021

Resumen

La hipocalcemia puerperal es una enfermedad metabólica de alta prevalencia en hatos lecheros que afecta de forma significativa la salud del animal y la rentabilidad de la explotación. Su diagnóstico es determinado por serología, siendo un método poco frecuente por la necesidad de tener un resultado rápido y oportuno para el tratamiento adecuado y de esa forma evitar la muerte del animal. La información sobre el calcio y su homeostasis, la hipocalcemia, métodos de prevención y herramientas diagnósticas disponibles de campo, fue recopilada en esta revisión literaria por medio de motores de búsqueda confiables. Las herramientas diagnósticas de campo descritas abarcaron un amplio abanico de opciones en cuanto a costo, práctica y facilidad de implementación, logrando ofrecer estrategias de prevención de la enfermedad que permitirán un mejor manejo del hato con un impacto económico positivo.

Palabras clave: calcio; DCAD; fiebre de leche; hipocalcemia; EDTA.

Abstract

Puerperal hypocalcemia is a highly prevalent metabolic disease in dairy herds that significantly affects animal's health and farm's profitability. Its diagnosis is determined by serology, a rare method due to the need of quickly and timely results for adequate treatment and thus avoid the animal's death. Information on calcium and its homeostasis, hypocalcemia, prevention methods and diagnostic tools available on field, were compiled in this literary review through reliable search engines. The described field diagnostic tools cover a wide range of options in terms of cost, practice and ease of implementation, achieving to offer disease prevention strategies that will allow a better herd management with a positive economic impact.

Keywords: calcium; DCAD; milk fever; hypocalcemia; EDTA.

Introducción

El ganado bovino lechero se caracteriza por presentar mayores requerimientos nutricionales debido a su potencial genético y su máxima producción. Cuando estos requerimientos no son cubiertos adecuadamente, el animal está predispuesto a presentar desbalances nutricionales que conllevan a desordenes metabólicos. Estas alteraciones generan un impacto económico negativo dentro de la rentabilidad de la explotación ganadera. Tanto la selección genética, como la incorporación de técnicas de manejo para incrementar la producción lechera (Reinhardt et al., 2011), buscan abastecer la alta demanda creciente de leche y productos lácteos a nivel mundial (FAO, 2020), lo que provoca en los animales una mayor susceptibilidad a enfermedades metabólicas, especialmente desequilibrios de origen mineral (Ramberg et al., 1984 ; Champness, 2007; Albornoz et al., 2016).

La hipocalcemia puerperal es una de las enfermedades metabólicas con mayor impacto dentro de una explotación ganadera, su diagnóstico es realizado por medio de pruebas serológicas a nivel de laboratorio, donde existen varios métodos que miden el calcio sanguíneo (calcio total (tCa) o calcio ionizado (iCa-forma activa del calcio)) como son la fotometría de espectro de absorción atómica, precipitación de oxalato seguido de valoración, fotometría fluorométrica, titrimétrica, fotometría de llama y determinación fotométrica (Sandholm et al., 1979 Kennedy, 2011).

Rollin (2006), Guiducci et al. (2017) y Neves et al. (2018) en reportaron que la medición del Ca en forma ionizada es catalogada como prueba gold standard, mientras que Sweeney et al. (2014), Caixeta et al. (2017) y Rodríguez et al. (2017) respaldaron la medición de tCa por su menor costo y facilidad de determinación.

En cuanto al diagnóstico en campo, al ser una enfermedad de curso rápido, es necesario un diagnóstico acertado y ágil, determinado por la observación de los signos clínicos presentados por el animal. Una prueba de laboratorio es más específica, pero conlleva mayor inversión de dinero y lo más importante, tiempo (traslado de muestra, obtención de resultados).

Por esta razón, el análisis de laboratorio no es llevado a cabo rutinariamente, pasándose directamente al tratamiento de aplicación de calcio, aun sin tener la certeza del diagnóstico definitivo de la enfermedad, ya que esta puede confundirse con otras afecciones de origen metabólico como la hipomagnesemia, hipofosfatemia, síndrome de la vaca caída, mastitis tóxica, metritis tóxica, entre otros (Manual Merck de Veterinaria, 2000; Rollin, 2006; Goff, 2008). Aun cuando en la literatura se reporta investigaciones sobre la determinación diagnóstica de esta enfermedad, no se encuentran publicaciones que recopilen varios métodos para la determinación en campo de iCa o tCa en vacas, en periodo puerperal.

Rodríguez et al. (2017) reportaron que la hipocalcemia es una enfermedad que afecta comúnmente a todos los hatos lecheros, observándose prevalencias de hasta a un 78%; por lo que, es importante identificar pruebas que permitan el diagnóstico en campo rápido y efectivo (Rollin, 2006; Kennedy, 2011; Domino et al., 2017; Sepúlveda y Wittwer, 2017; Neves et al., 2018; Wilkens et al., 2020).

El objetivo de esta revisión fue recolectar información sobre la hipocalcemia y pruebas diagnósticas, que permitieron la medición de calcio en campo de vacas lecheras en el periodo puerperal.

Metodología

Búsqueda de literatura publicada

Se realizó la búsqueda de información sobre la enfermedad hipocalcemia en el periodo puerperal y sobre los métodos desarrollados para su detección en campo, que abarcó artículos publicados en inglés, español y alemán desde 1950 hasta 2020. Para su investigación se usó motores de búsqueda como Google Scholar (<https://scholar.google.es/>), Librería Nacional de Medicina a través de Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) y ResearchGate (<https://www.researchgate.net/>). La búsqueda se llevó a cabo entre el 13 de abril y 9 de agosto del 2020, incluyendo palabras clave: hypocalcemia, cow, cattle, diagnosis, DCAD (hipocalcemia, vaca, ganado vacuno, diagnosis, DCAD). Las publicaciones incluidas para la revisión fueron escogidas por su relación con el tema y contenido relevante y actual. Artículos recomendados en referencias fueron obtenidos a través de Google (www.google.com) o solicitados por correo al autor si no estaban disponibles en web.

Desarrollo

Calcio

El calcio (Ca) es el macromineral más abundante en el cuerpo y es esencial para la formación del esqueleto, componente de la leche, transmisión de impulsos nerviosos, contracción muscular, coagulación sanguínea y actividad enzimática. Actúa como mensajero secundario entre la superficie e interior de la célula, así como participa en el crecimiento celular, proliferación celular y activación de células del sistema inmunitario (Reinhardt et al., 1988; National Research Council (NRC), 2001; Hadžimusić and Krnić, 2012; Martinez et al., 2014; Wilkens et al., 2020).

Su distribución en el organismo se encuentra en un 98-99% en los huesos, un 1-2% entre citosol y líquido extracelular. En fluidos extracelulares se presenta en un 45% ligado a proteínas plasmáticas como la albúmina, 5% ligado a componentes orgánicos o inorgánicos de la sangre y en un 50% es Ca ionizado, en forma soluble que representa su forma activa (Reinhardt et al., 1988; NRC, 2001; Albornoz et al., 2016; Plumb, 2018).

Una de las formas de secreción del calcio es por medio de la producción de leche, en donde el animal puede producir de 10 a 20 kg de calostro en 24 horas al inicio de la lactancia, equivalente a unos 20 a 80 g de Ca, cantidad que excede el contenido disponible de Ca en fluidos extracelulares, que solo alcanza de 8 a 10 g, de los cuales tan solo 2,5 a 4 g se encuentran disponibles en el plasma (Reinhardt et al., 1988; Goff, 2000; Martínez et al., 2014; Sepulveda et al., 2017).

Homeostasis del calcio

El Ca se encuentra regulado de forma hormonal a través de la Parathormona (PTH), Calcitriol más comúnmente descrita como $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ y la Calcitonina (CT) (Reinhardt et al., 1988; Horst et al., 2005; Alborno et al., 2016) la cual puede aparecer como respuesta a los altos niveles de PTH, dificultando la recuperación de los niveles normales de calcio (Rodríguez, 2015).

La PTH es secretada a nivel de la glándula paratiroides, su función es estimular la actividad de los osteoclastos a nivel de hueso para la liberación de Ca, reabsorción del mismo a nivel renal y síntesis de la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$. El Calcitriol o $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ es la forma activa de la vitamina D, es sintetizada en los riñones y en menor cantidad en piel, hígado y placenta. Actúa a través de la absorción de Ca a nivel intestinal, reabsorción en riñones y reducción de la eliminación por medio de la orina.

Tanto la PTH como el Calcitriol presentan acción hipercalcemiantes, la cual se presenta cuando se produce una disminución de Ca en fluidos extracelulares. La Calcitonina es secretada por la tiroides y presenta una acción antagonista a la PTH en respuesta a una hipocalcemia a través de la liberación de Ca mediante los riñones e inhibición de reabsorción en huesos (Adams y Hewison, 2012; Alborno et al., 2016). Durante el periodo seco, estos mecanismos se encuentran inactivos dado que los requerimientos de Ca se encuentran normalmente cubiertos por la dieta y es durante el periparto que los mecanismos actúan a fin de elevar los bajos niveles de Ca provocados por la alta producción de calostro (Horst et al., 1997; Corbellini, 2000).

Los tejidos involucrados en la homeostasis del calcio tienen un periodo diferente para reaccionar, los riñones tardan solo minutos en la reabsorción de calcio de fluidos tubulares (orina) y ocupan de 8 a 16 horas para incrementar el nivel de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ en plasma, en los intestinos se necesita de 12 a 24 horas para un incremento en las proteínas involucradas en la absorción de calcio, mientras que en los huesos el proceso de eliminación de tejido óseo para liberar calcio se inicia en minutos y puede tomar hasta 96 horas en vacas viejas (Goff, 2020).

Hipocalcemia

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica provocada por un desequilibrio en los niveles de Ca en la sangre, que se presenta especialmente en vacas lecheras con altos niveles de producción y elevados requerimientos nutricionales necesarios para mantener la producción, tanto de calostro como de leche

durante toda la lactancia (Champness, 2007; Alborno et al., 2016). Puede presentarse entre las 24 horas parto hasta 72 horas postparto (Contreras, 2002; Espino et al., 2005; Neves et al., 2017; Sepulveda et al., 2017) e incluso algunas vacas pueden permanecer en un estado de hipocalcemia subclínica durante los primeros 15 días postparto (Hadžimusić y Krnić, 2012; Fiore et al., 2020). Horst et al. (2005) reportaron que, en casos de enfermedad, hasta un 25% de los animales recaen en las siguientes 24 horas y deben recibir tratamiento adicional.

Respecto a los valores normales de calcio en las vacas adultas, la literatura reporta una gran variabilidad, encontrándose resultados de $8,5$ a $10 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (Goff, 2008), $\geq 8,9$ a $11,0 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (Herd et al., 2000), 10 a $12 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (Manual Merck de Veterinaria, 2000), entre otros; pero coincidiendo en que niveles $< 8 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ y $< 4 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ en tCa y iCa, respectivamente, fueron considerados como hipocalcemia (Herd et al., 2000). De la misma forma, cuando los valores estuvieron por debajo de $5,5 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ de tCa el animal comenzará a presentar signos clínicos (da Silva et al., 2019).

La producción súbita de calostro en el momento del parto, produce una disminución leve de los niveles sanguíneos de Ca, los cuales se recuperan durante las 48 horas posteriores al parto (Goff et al., 2014), por medio de la absorción intestinal, resorción ósea y reabsorción renal (Ramberg et al., 1984). Cuando estos mecanismos son activados rápida y correctamente no se presenta la enfermedad dando origen a una hipocalcemia fisiológica (Contreras, 2002), caso contrario, cuando los niveles de Ca no son suficientes para mantener la producción de calostro, el animal presentará una severa hipocalcemia ya sea clínica o subclínica.

El deterioro de la homeostasis del calcio puede presentarse por factores tales como la síntesis y/o excreción insuficiente de PTH o de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$, por una respuesta menor de los tejidos involucrados (huesos, riñones, intestino), disminución de calcio en la ingesta, por una hipomagnesemia que provoca reducción de la secreción del calcio y respuesta de tejidos a PTH y metabolismo de vitamina D ($1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$), por una hiperfosfatemia que interfiere en el metabolismo de la vitamina D, por alcalosis metabólica que afecta los receptores de PTH en huesos y riñones, por estrés que favorece la secreción de Calcitonina y su acción hipocalcemiantes y por el exceso de calcio en dieta lo que limita la absorción de calcio (Jorgensen, 1974; Reinhardt et al., 1988; Goff, 2000; Contreras, 2002; Goff, 2008; Alborno et al., 2016; Wilkens et al., 2020).

La hipocalcemia puede presentarse en forma clínica y subclínica y es conocida como Fiebre de leche, a pesar de ser una enfermedad afebril (Manual Merck de Veterinaria, 2000; Contreras, 2002; Horst et al., 2005) con hipotermia de $35,5^\circ\text{C}$ a $37,7^\circ\text{C}$, cuando los valores normales se encontraron dentro del rango de $38,3^\circ\text{C}$ a $39,4^\circ\text{C}$ (Horst et al., 2005). La presentación subclínica (SCH) de la enfermedad afectó a un mayor porcentaje del hato, alcanzando hasta un 48 a 50% e incluso 78% (Horst et al., 2003; Goff, 2008; Reinhardt et al., 2011; Rodríguez et

al., 2017; Sepulveda et al., 2017), mientras que la hipocalcemia clínica o Fiebre de leche (MF) alcanza un porcentaje menor de 5 a 6% (Goff, 2008; Reinhardt et al., 2011; Sepulveda et al., 2017) disminuyendo incluso hasta 1% en hatos con mayor y mejor control (Goff, 2008).

La prevalencia de la enfermedad se incrementó con el número de partos (Reinhardt et al., 2011), debido a la disminución en el número de osteoblastos disponibles, lo cual redujo la respuesta a la PTH disminuyendo la liberación de calcio, así como la reducción en receptores para la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ en el intestino (Goff, 2000; Goff, 2020; Wilkens et al., 2020).

La SCH es la presentación asintomática de la enfermedad y por ello de más difícil detección. La MF, por lo contrario, presentó una variedad de signos que pueden agruparse en tres estadios. Durante el estadio 1, la vaca puede mantenerse en pie, pero se muestra atáxica, con excitabilidad y sensibilidad, con movimientos de orejas y cabeza. En el estadio 2, el animal no puede mantenerse de pie y cae a una posición decúbito esternal, con signos de depresión, anorexia, hipotermia, taquicardia e intensidad cardíaca disminuida, rumen meteorizado, retención de orina y heces, pérdida de tono del esfínter anal y la cabeza extendida con cuello en forma de S. Durante el estadio 3, el animal pierde el conocimiento de forma progresiva hasta el estado comatoso, presentando flacidez muscular completa, disminución de latidos cardíacos y pulso indetectable hasta llegar a la muerte (Manual Merck de Veterinaria, 2000; Contreras, 2002).

Si el animal no es diagnosticado a tiempo, y llega al estadio 2 o 3 de la enfermedad, éste presentará un aplastamiento de los miembros posteriores que conllevará a un daño muscular, fracturas, dislocación y presión sobre la ubre. De esta manera, la confirmación del diagnóstico oportuno e instauración rápida del tratamiento evitará el avance acelerado de la enfermedad (Kennedy, 2011). Hibbs (1950) reportó que, sin el uso adecuado del tratamiento para la hipocalcemia, un 60 a 70% de los animales mueren.

El gran impacto de la hipocalcemia en la salud del animal y en la rentabilidad de la explotación se debe no solo por los gastos que concurren con la enfermedad, sino a los problemas asociados a la misma como es el caso de las distocias (Curtis et al., 1983; Houe et al., 2001), prolapso uterino (Risco et al., 1984; Houe et al., 2001; Hadžimusić y Krnić, 2012), reducción de motilidad uterina (Robalo Silva y Noakes, 1984), así como los posteriores al parto como son las retenciones placentarias (Curtis et al., 1983; Houe et al., 2001), metritis (Houe et al., 2001; Martínez et al., 2012), disminución en función ovárica (Caixeta et al., 2017), retraso en presentación de primer estro (Rodríguez et al., 2017), disminución de respuesta a los protocolos de sincronización relacionada a una involución uterina lenta y retraso en la primera ovulación postparto (McNally et al., 2014), disminución de

probabilidad de preñez al primer servicio (Chapinal et al., 2012; Caixeta et al., 2017; Venjakob et al., 2018), aumento de hasta 15 días en IEP (Martínez et al., 2012) y mastitis (Curtis et al., 1983; Houe et al., 2001; Goff, 2008).

También se encontraron estudios en donde se argumentaron alteraciones digestivas como la disminución de motilidad del abomaso y rumen (Goff, 2008) provocando desplazamiento del abomaso (Goff, 2008; Chapinal et al., 2011; Seifi et al., 2011; Hadžimusić y Krnić, 2012; Patelli et al., 2017), y a nivel humoral, celular y hormonal, la supresión de función de células inmunitarias mononucleares (Kimura et al., 2006; Sweeney et al., 2014) y de células polimorfonucleares alterando actividad fagocitaria dada por la reducción de Ca en citosol (Ducusin et al., 2003; Martínez et al., 2012), aumento en los niveles de cortisol (Horst y Jorgensen, 1982) que exacerba la inmunosupresión del parto (Goff y Horst, 1997b), disminución de concentraciones de insulina en plasma aumentando niveles de glucosa y movilización de lípidos (Littledike et al., 1968; Goff y Horst, 1997b; Martínez et al., 2014) los cuales incrementaron el riesgo de cetosis (Curtis et al., 1983; Goff y Horst, 1997b), así como también alteraciones en el metabolismo hepático (Chamberlin et al., 2013).

En cuanto a los resultados de producción animal, la hipocalcemia redujo la ingesta de alimento (Charbonneau et al., 2006; Martínez et al., 2014), produjo efecto negativo sobre la producción de leche (Block, 1984; Venjakob et al., 2018), generó mayor pérdida de peso en animales de segundo parto (Caixeta et al., 2015), e incrementó el porcentaje de eliminación de ganado durante los primeros 60 días postparto (Seifi et al., 2011; Venjakob et al., 2018).

Muchos de los problemas descritos anteriormente pueden presentarse en la SCH. Por esta razón es importante como medida diagnóstica realizar mediciones de los niveles de Ca (Van Saun, 2016; da Silva et al., 2019) en el periodo de estrés metabólico; es decir, antes del parto y después para identificar vacas que presentaron problemas (Van Saun, 1997). Al no estar familiarizados con métodos rentables (económicos y efectivos) para la medición de Ca en campo, suele ser imposible saber si la aplicación del Ca al postparto fue usado como tratamiento preventivo o curativo de la enfermedad (McArt y Oetzel, 2015).

El tratamiento de elección para restablecer la normocalcemia es la aplicación de borogluconato de calcio. Este puede administrarse de diferentes formas, en la vía intravenosa se utiliza en cantidades de 8,5 a 11,5 g $\text{Ca} \cdot 500 \text{ ml}^{-1}$ o realizando el cálculo de 2 g $\text{Ca} \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ de peso vivo corporal a una velocidad de 1 g $\cdot \text{minuto}^{-1}$ (Goff, 2008). Por la vía subcutánea, en aplicaciones de 0,5 a 1,0 g $\text{Ca} \cdot \text{inyección}^{-1}$ en 6 a 10 sitios diferentes. Respecto a la vía oral, éste tratamiento no fue recomendado cuando el animal se encontraba caído debido a la falta de motilidad en el sistema digestivo (Goff, 2008; Plumb, 2018).

Si el diagnóstico no es el acertado, los animales pueden presentar una hipercalcemia durante el tratamiento administrado, presentando problemas cardíacos o renales, así como también irritación venosa en el sitio del tratamiento o reacciones tisulares en los sitios de aplicación intramuscular o subcutánea (Plumb, 2018).

Prevención

En las explotaciones ganaderas es muy común encontrar el uso de métodos preventivos en el período preparto para estimular los mecanismos de absorción de calcio. Dentro de estos se encontraron: la administración en la dieta de sales aniónicas (DCAD), suplementación con bolos de calcio oral y dietas bajas en calcio (Thilising-Hansen et al., 2002).

Otros métodos menos usados fueron la administración de Parathormona, vitamina D y análogos, así como el control de los niveles de magnesio y carbohidratos dentro de la dieta. En los métodos productivos se encontraron la reducción de los días del período seco, el control de la condición corporal (Jorgensen, 1974 ; Manual Merck de Veterinaria, 2000; Oetzel, 2000; Thilising-Hansen et al., 2002; Horst et al., 2005; Alborno et al., 2016; Goff, 2020; Wilkens et al., 2020), ordeño a las vacas próximas en el período preparto y disminución del ordeño al inicio de la lactancia. Estos dos últimos métodos son menos usados por tener menos efectividad como aseguraron Salgado-Hernández et al. (2014), donde no registraron relación entre el Ca en suero y el Ca secretado a través del calostro.

Sales aniónicas con diferenciación catión-anión (DCAD)

Estas son administradas en la dieta por lo menos 10 días antes del parto (Oetzel, 2000; Thilising-Hansen et al., 2002). Su objetivo es provocar una acidosis compensatoria en el organismo del animal aumentando la capacidad de movilización del calcio desde los huesos, así como el incremento de la producción de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ para la respectiva absorción intestinal. Estos mecanismos lograron equilibrar los niveles séricos de Ca cuando se presentó el descenso brusco en el momento del parto.

La forma de corroborar la efectividad de estas sales es a través del monitoreo del pH urinario, donde los rangos normales se encuentran entre 5,5 a 6,2 siendo <6,5 el valor para considerarse exitoso (Thilising-Hansen et al., 2002; Espino et al., 2005; Constable et al., 2009; Santos et al., 2019; Caixeta et al., 2020;). Según describió Wang et al. (2002) cuando se presentaron cambios en el pH, la unión de iones de Ca a proteínas plasmáticas como la albúmina se afectó debido a que estos iones compitieron con los iones de hidrógeno por los sitios de unión en estas proteínas.

De esta manera, cuando disminuyeron los niveles de calcio ionizado el pH aumentó (hubo incremento de la cantidad de iones H libres) y viceversa, indicando una unión más fuerte de calcio a proteínas en ambientes alcalinos. La importancia fisiológica de porque la unión de iones a proteínas dependió del pH y porque un estado de acidosis afectó el metabolismo del calcio, no se ha establecido (Thilising-Hansen et al., 2002; Wang et al., 2002), pero al registrarse niveles de iCa sanguíneo bajos se activaron los mecanismos de regulación del Ca, razón por la cual, es una herramienta adecuada para controlar los niveles de calcio.

El valor óptimo de DCAD aún no ha sido establecido como parámetro específico dentro de la literatura, esto se debe a que varios estudios han logrado resultados favorables con diferentes valores. Santos et al. (2019) en su meta-análisis determinaron que al reducir el DCAD de +200 a -100 mEq·kg⁻¹, se produjo un incremento de tCa sanguíneo en el día del parto de $1,86 \pm 0,05 \text{ mM}$ o $7,45 \text{ a } 8,18 \text{ mg·dL}^{-1}$. Esta revisión determinó que en los datos analizados el DCAD negativo no necesita ser menor a -150 mEq·kg⁻¹ de materia seca para lograr la disminución de la enfermedad y sus consecuentes complicaciones.

Para calcular el DCAD se requiere conocer que los aniones como cloruro, azufre y fósforo tienen carga negativa, mientras que los cationes como sodio, potasio, calcio y magnesio presentan carga positiva; los iones sodio, potasio, cloruro y azufre son considerados iones fuertes que tienen mayor impacto en el balance ácido-base (Oetzel, 2000). Las dietas DCAD altas en potasio y/u otros cationes, reducen la sensibilidad de tejidos a la PTH, produciendo un estado de pseudohipoparatiroidismo que disminuye la respuesta homeostática para el calcio (Goff y Horst, 1994; Goff et al., 2014).

Block (1984), Oetzel (2000), Charbonneau et al. (2006) y Goff et al. (2014) reportaron que la fórmula estándar más acertada para el cálculo del DCAD es:

$$[(\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S})]$$

mientras que Charbonneau et al. (2006) reportaron en su meta-análisis otra fórmula como la más correlacionada con la incidencia de fiebre de leche y el pH urinario:

$$[(\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + 0,6 \text{ S})]$$

A pesar de lograr equilibrar la dieta para los animales con el DCAD adecuado como método de prevención de la enfermedad, existe un gran problema por su baja palatabilidad. Por esta razón, ha sido incluida dentro de la sal mineralizada como alternativa para incrementar su consumo en el preparto (Reinhardt et al., 1988; Goff y Horst, 1997a; Thilising-Hansen et al., 2002; Espino et al., 2005; Alborno et al., 2016; Caixeta et al., 2020; Goff, 2020). A pesar de esto, Santos et al. (2019) y Goff et al. (2020) reportaron que este tipo de dietas ayudaron a aumentar la ingesta del animal en el postparto.

Suplementación de calcio oral

El suministro de los bolos se realiza con una dosis inicial justo después del parto y una repetición a las 12 horas como tratamiento preventivo, mientras que se inician los mecanismos reguladores que propicien la normocalcemia (Jorgensen, 1974 ; Wilkens et al., 2020). En algunos casos se recomienda 4 dosis, una preparto, la siguiente al parto y dos en las subsiguientes 12 y 24 horas (Alborno et al., 2016). Cada bolo aporta entre 40 a 50 g de calcio (Thilising-Hansen et al., 2002).

Este método presenta algunas desventajas dentro de las cuales está su periodo de acción ya que es de corta duración, pudiendo necesitarse más suplementación, además puede generar irritación en las mucosas del tracto gastrointestinal (Goff & Horst, 1994 Thilising-Hansen et al., 2002), así como la presentación de acidosis excesiva (Goff y Horst, 1993; Goff y Horst, 1994).

Dietas bajas en calcio

El requerimiento de calcio para una vaca seca en sus últimos 40 días de gestación es de 22,5 g (NRC, 2001). Por tal motivo, mantener los niveles de calcio en la dieta por debajo de esos valores, ayuda a prevenir que los mecanismos homeostáticos del calcio permanezcan inactivos y puedan por medio del feedback ser activados en el momento del parto, evitándose la caída brusca de las concentraciones de calcio en plasma (Boda & Cole, 1954; Goings et al., 1974; Green et al., 1981; Kichura et al., 1982; Ramberg et al., 1984; Wilkens et al., 2020). Kichura et al. (1982) argumentaron en su investigación, que para que este método sea efectivo, debe iniciarse al menos 14 días antes del parto, aunque Thilising-Hansen et al. (2002) y Wilkens et al. (2020) mencionaron que presentaron la dificultad del mantenimiento de una dietas con <20 g de calcio al día.

Después de dar una leve revisión a la enfermedad y sus posibles métodos de prevención y tratamiento, se enfocara en los métodos existentes de diagnóstico en campo de la enfermedad.

Herramientas de diagnóstico

Tests para medición de dureza del agua

Una forma de medir niveles de tCa es por medio del método de titulación o test comerciales en forma de tirillas (Kennedy, 2011). Fiore et al. (2020) determinaron, con un kit de química titrimétrica, niveles de tCa en muestras de plasma sanguíneo con una sensibilidad y especificidad de 88% y 83% respectivamente y resultados de $R^2 = 0,72$, $P < 0,001$ correlacionado con la prueba de referencia.

Dentro de los beneficios otorgados a esta técnica, se encuentra su facilidad de uso, rapidez (menos de 5 minutos) y bajo costo (€ 1,4 o \$ 1,65), aunque la desventaja existente es la necesidad de disponer de una centrífuga para obtención del suero sanguíneo y en las cantidades necesarias para la prueba (7 mL). Matsas et al. (1999) reportaron una sensibilidad y especificidad de 100 y 73% respectivamente, corroborando también la desventaja de la disposición de la centrífuga en campo. Este tipo de test también ha sido probado con éxito en ovejas, con unos resultados de correlación de $R^2 = 0,77$, $P < 0,001$ con el método estándar en laboratorio y con una sensibilidad de 83,3% y especificidad de 100% (Aktas et al., 2010).

Kennedy (2011) analizó la correlación existente entre los niveles de calcio encontrados en sangre y en la sudoración nasal (1 μL), reportando una correlación altamente significativa de $R^2 = 0,54$ y estableciendo niveles normales de calcio para sangre de 8 a 10 $\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$ y para sudor nasal de 8,5 a 9,9 $\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$, sugiriendo el uso del test de dureza de agua en sudor nasal como método diagnóstico en la determinación de los niveles de calcio.

Tests de tirillas y papel para medición de pH

Algunos autores (Nappert & Naylor, 2001; Rollin, 2006; Kennedy, 2011; Lynch, 2016) recomendaron como método práctico y económico, el uso de tirillas para medición de pH en orina, normalmente usados para agua de piscinas, en determinación de niveles de acidificación y su relación con los niveles de calcio en vacas en dietas DCAD.

La desventaja existente de éste método recae en la poca iluminación disponible en campo en las horas de la madrugada, lo que podría afectar la lectura y el poder coincidir con el indicador de color correcto al resultado (Nappert y Naylor, 2001). Constable et al. (2019) evaluaron las tirillas de orina y papel reactivo de pH como método diagnóstico, reportando sensibilidad de 0,926; 0,960 y especificidad de 0,987; 0,968, respectivamente. A su vez, ellos ratificaron que el uso de tirillas o papel de medición de pH pueden ser usados como métodos precisos, prácticos y de bajo costo (\$ 0,30/\$ 0,04; respectivamente) en la determinación de pH urinario en vacas alimentadas con dietas acidogénicas, especificando que el papel de medición presenta una mayor precisión por su estrecho rango de medición de pH y su menor costo.

El uso de este método ha sido investigado en otras especies como perros y gatos donde también se obtuvieron resultados aceptables (perro: $rs = 0,96$, gato: $rs = 0,91$, bovino: $rs = 0,94$), que lo hacen adecuado para la estimación del pH, a pesar de tener la desventaja de ser un método subjetivo dependiendo del operador que realice la prueba (Defontis et al., 2013).

A pesar de las desventajas expuestas anteriormente, las tirillas reactivas presentan beneficios como el no necesitar de reactivos, fácil manejo, corto tiempo de análisis, poco uso de instrumental y bajo costo (Capitán-Vallvey et al., 2002).

Test de coagulación sanguínea con el uso de EDTA

Basándose en la presencia obligatoria del calcio para el proceso de la cascada de coagulación (Rollin, 2006; Flores-Rivera et al., 2014) y que el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) funciona como agente quelante, algunos autores han desarrollado pruebas para la determinación de calcio sanguíneo. Se ha demostrado en investigaciones, que el EDTA secuestra al calcio circulante en la sangre provocando una hipocalcemia, en esta reacción el ion de sodio presente en el EDTA es desplazado por el calcio, formando un complejo no tóxico, soluble y fisiológicamente no disponible que se excreta a través de los riñones (Rubin et al., 1960; Desmecht et al., 1995).

Linhart (1989) argumentó que al agregar determinada cantidad de EDTA a una muestra de sangre, los iones calcio presentes formarán un complejo, de tal forma que, si todo el calcio está quelado, la muestra sanguínea no podrá coagularse. Mayer et al.

(1965) reportaron la primera investigación con el uso de EDTA como método diagnóstico. Durante su proceso, ellos usaron 0,01 mL de solución acuosa de EDTA a una concentración de 5 mEq·L⁻¹ combinada con 1 mg de calcio.

La metodología descrita argumentó seis tratamientos repartidos en seis tubos, un testigo sin EDTA y cinco restantes con distintas cantidades de EDTA, a fin de determinar diferentes concentraciones de calcio. Para llevar a cabo este proceso, era necesario calentar los tubos para evaporar el agua presente, lo que determinaría una lectura de diagnóstico en un tiempo transcurrido entre 15 minutos a 2 horas cuando se realizaba la prueba a temperatura ambiente.

El resultado final determinó que si se presentaba la formación de un coágulo dentro del tubo, significaría que se presenta un exceso de calcio que no fue quelado por el EDTA, situando la muestra sobre cierto límite de medición de 6 a 10 mg·dL⁻¹. Martig et al. (1974) comprobaron la factibilidad de esta prueba con 50 vacas, obteniendo una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100%.

En 1979 se publicó una modificación al método descrito por Mayer et al. (1965) usando tromboplastina obtenida de cerebro bovino, como acelerador del proceso de reacción, donde los resultados estaban disponibles a los 5 minutos (Sandholm et al., 1979). Esta investigación fue analizada posteriormente por Klee et al. (1985), donde describieron que el proceso de obtención de tromboplastina de Sandholm et al. (1979) presentaba rendimientos de actividad diferentes, debido a que la cantidad de tromboplastina debía determinarse en cada lote de pruebas. Ellos realizaron la misma prueba con el uso de tromboplastina de origen comercial obteniendo resultados similares a los descritos por Sandholm et al. (1979).

Posteriormente, en 1989 se presentó una patente de una prueba para determinación de calcio basada en la prueba de Sandholm nuevamente modificada, en donde se reemplazó la tromboplastina por trombina por su actividad estandarizada (Linhart, 1989). De esta patente existe actualmente una versión comercial (KRUUSE Calcium Test, JØRGEN KRUUSE A/S). Sandholm et al. (1979), Klee et al. (1985) y Linhart (1989) reportaron que este tipo de pruebas de coagulación deben tener un aproximado de 33,5% de hematocritos pues, de lo contrario, se afectará la fiabilidad del test impidiendo la coagulación.

En la región de Latinoamérica, se ha descrito un test más simplificado basado en EDTA para la estimación de calcio, “utilizando un tubo de ensayo con 0,8 ml de EDTA al 1 por mil, cantidad suficiente para quelar todo el calcio presente en 2 mL de sangre con una concentración inferior a 1,5 mmol·L⁻¹ (6,01 mg·dL⁻¹)” (Contreras, 2002), para esta prueba es necesario homogenizar el contenido del tubo correctamente y esperar 30 minutos para observar si se produce coagulación, si no es así, se establece que los niveles de calcio presentes fueron menores a 1,5 mmol·L⁻¹ y debe iniciarse un tratamiento.

Equipos Point-of-care (POC) o Point-of-care Testing (POCT)

Debido a la importancia del efecto económico de la hipocalcemia en la producción, se ha incrementado el interés de monitorear los

niveles de calcio en granja, con el fin de identificar eficazmente los animales que requieren tratamiento (Leno et al., 2017).

Estos equipos fueron diseñados originalmente para medicina humana por la facilidad de proveer resultados cerca del paciente, pero con el tiempo, han tomado gran acogida en veterinaria. Su uso ha sido probado no solo en análisis de muestras bovinas sino también en otras especies. Grosenbaugh et al. (1998) reportan muestras de 50 gatos, 50 perros y 28 caballos para análisis químico sanguíneo con coeficientes de correlación >0,90 para los datos analizados. Looney et al. (1998) obtuvieron una alta correlación en muestras de 22 perros y 17 caballos ($r^2 \geq 0,83$ y $r^2 \geq 0,79$; respectivamente) con similares resultados a los obtenidos con el método de referencia en el análisis de electrolitos sanguíneos.

Verwaerde et al. (2002) y Tappin et al. (2008) usaron equipos iSTAT en análisis sanguíneos de perros, alcanzando una correlación de excelente a aceptable respectivamente, en los valores estudiados ($r > 0,968$ y $r = 0,90$). Otros autores como Silverman & Birks (2002) y Bardell et al. (2017) evaluaron equipos iSTAT además de otro POC (EPOC, Epocal Inc.) en caballos, en donde los resultados obtenidos en el primer estudio presentaron concordancia entre los dos POC para la mayoría de las variables >0,94, mientras que Silverman y Birks (2002) indicaron que el iSTAT demostró exactitud y precisión aceptable para determinación de los parámetros evaluados con un coeficiente de correlación de concordancia $\geq 0,85$ respecto al método de referencia.

Steinmetz et al. (2007) reportaron en gallinas el uso de iSTAT, donde la mayoría de los parámetros analizados tuvieron una correlación respecto a los valores de control de $r \geq 0,77$. El uso de POC se reporta además en especies como ratones (Tinkey et al., 2006), elefantes (Tarbert et al., 2017) y elefantes marinos (Larsen et al., 2002).

Leno et al. (2017), utilizaron el método de POC (VetTest, IDEXX Laboratories) como herramienta de campo para la medición del tCa, para el diagnóstico de hipocalcemia, obteniendo una especificidad y sensibilidad mayor a 85%, argumentando que esta técnica fue de fácil manejo y relativo bajo costo en comparación con las pruebas de laboratorio. Este equipo usa tecnología de slide seco, la cual consiste en una serie de capas que filtran la muestra y contienen reactivos que al activarse dan como resultado una lectura por medio de un espectrofotómetro.

A su vez, en la misma investigación, utilizaron otro POC (iSTAT, Abbott Point of care Inc.) para medición en suero de iCa, obteniendo una sensibilidad y especificidad de 94,3 y 80,2%, respectivamente. Este equipo usa un lector de electrodos ion selectivo (ISE), los cuales no son más que sensores que convierten la actividad de un ion en un potencial eléctrico que genera un valor numérico medible (Štulík, 2004).

Peiró et al. (2010) reportaron también concentraciones de iCa usando el mismo POC (i-STAT, Abbott Laboratories) en muestras de 24 vacas, 22 caballos y 22 ovejas analizadas, en donde los resultados obtenidos fueron similares al método de referencia (AVL Omni, Roche) con una correlación de 0,94 (excelente, $r \geq 0,93$).

Yilmaz y Karapinar (2019) reportaron el uso de POC iSTAT (Abbott Point of care Inc.) para la medición de iCa, con resultados en aproximadamente 2 minutos, en 121 bovinos diagnosticados con diferentes enfermedades como enteritis, neumonía, mastitis, entre otras, a fin de obtener amplios rangos de valores de iCa. Por esta razón argumentan que el POC tiene un alto valor diagnóstico al momento de identificar hipocalcemia subclínica con una sensibilidad y especificidad que sobrepasaban el 98,9%.

Yildirim et al. (2015) validaron este tipo de equipos en otros electrolitos importantes como sodio, potasio y cloro con alta exactitud en ganado vacuno, mientras que, Peiró et al. (2010) reportaron medición de valores de pH, proponiendo que podrían ser usados también para la determinación de acidosis.

Neves et al. (2018) compararon dos equipos, un POC (VetScan, Abaxis Inc.) y un prototipo de electrodo ion selectivo específico para calcio (HORIBA Advanced Techno), demostrando que ambos pueden ser considerados como herramientas diagnósticas en la medición de iCa en la práctica bovina, con una sensibilidad y especificidad superior al 93%. El prototipo está actualmente disponible comercialmente como LAQUATwin Ca-11C (HORIBA). Kandeel et al. (2019) analizaron este mismo prototipo de ISE para determinar la cantidad de calcio en leche para diagnosticar mastitis subclínica e infección intramamaria, reportando que las concentraciones de Ca se ven afectadas por el pH de la leche reflejando un bajo AUC ($P < .001$).

A futuro podrían adaptarse técnicas que se encuentran en desarrollo, como un test de tirilla óptico diseñado originalmente para determinación de calcio en agua, basado en un ionóforo neutro, éste se encuentra compuesto por una membrana de intercambio iónico que al activarse con el Ca provoca un cambio de color (Capitán-Vallvey et al., 2002). O la investigación de Janle et al. (2001) quienes reportaron el uso de sondas de ultrafiltración de partículas de peso molecular menor a 40.000 Dalton (como el iCa), que pueden ser implantados en tejidos, con fines investigativos sobre el metabolismo del Ca en tiempo real. O un sistema analítico basado en transistores de selección de iones (ISFET) que pueden ser adaptados al diagnóstico en campo (Abramova et al., 2013).

Calamari et al. (2016) reportaron resultados prometedores con el uso de tecnología de Espectroscopia infrarroja media con transformadora de Fourier (FT-MIR) en la determinación de biomarcadores, incluido el calcio, en perfiles metabólicos de vacas, pero Newman y Behling-Kelly (2016) hicieron referencia en que éstos equipos para ser usados a nivel de veterinaria, deben ser calibrados y validados según la norma para cumplir con el control de calidad requerido y minimizar errores.

Los métodos aquí descritos podrían ser usados también en periodo preparto (Van Saun, 1997; Neves et al., 2017; Xiao et

al., 2017), en donde Neves et al. (2017) identificaron un punto de corte de los valores de calcio ($\leq 2,4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) hasta una semana antes del parto, que permite identificar con antelación los animales predispuestos a la hipocalcemia subclínica.

Conclusiones

La implementación del monitoreo constante de los niveles de calcio en las explotaciones ganaderas ayudará a disminuir la prevalencia de hipocalcemia en el hato. La incorporación del uso de herramientas diagnósticas de campo en el periodo postparto permitirán establecer diagnósticos definitivos que conlleven a determinar el plan de acción terapéutica adecuado. El fácil monitoreo y los resultados adecuados de los suplementos aniónicos (DCAD), así como la identificación de animales en grupos específicos como multíparas con suplementación oral de calcio permitirán obtener un impacto económico positivo y permitirán la toma de decisiones adecuadas dentro de la explotación.

A nivel de la producción ganadera Ecuatoriana, tal vez la prueba más fácil de implementar para la estimación de Ca en los hatos lecheros por su fácil obtención de materiales y bajo costo, aunque los test de dureza de agua y tirillas para pH son también una buena opción económica y que no requieren mayor entrenamiento para su uso. Los equipos POC requieren una mayor inversión y deben ser importados, ya que no se encuentran con facilidad disponibles en el mercado nacional. De esta manera, el uso de qué tipo de herramienta usar dentro de la explotación dependerá del presupuesto y necesidad dentro de la ganadería.

El material disponible dentro de este texto, coincide con la recopilación de información actualizada sobre hipocalcemia y las herramientas diagnósticas de campo disponibles para estimación de calcio total o ionizado, esperando que, en el futuro, se desarrollen equipos más precisos de bajo costo y de fácil implementación en campo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la presente publicación en ninguna de sus fases.

Referencias bibliográficas

- Abramova, N., Bratov, A., Ipatov, A., Levichev, S., Aris, A. and Rodríguez, E. (2013). New flowthrough analytical system based on ion-selective field effect transistors with optimised calcium selective photocurable membrane for bovine serum analysis. *Talanta*, 113, 31-35. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.03.084>
- Adams, J. and Hewison, M. (2012). Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1- hydroxylase. *Archives of*



- Biochemistry and Biophysics*, 523(1), 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2012.02.016>
- Aktas, M., Kaynar, O., Ozkanlar, S. and Ozkanlar, Y. (2010). Diagnosis of milk fever by a water hardness test kit in ewes. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 65(3), 108-110.
- Albornoz, L., Albornoz, J., Morales, M., y Fidalgo, L. (2016). Hipocalcemia puerperal bovina. Revisión. *Veterinaria* (Montevideo), 52(201), 28-38. http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092016000100004&lng=es&nrm=iso
- Bardell, D., West, E. and Mark Senior, J. (2017). Evaluation of a new handheld point-of-care blood gas analyser using 100 equine blood samples. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 44(1), 77-85. <https://doi.org/10.1111/vaa.12392>
- Block, E. (1984). Manipulating Dietary Anions and Cations for Prepartum Dairy Cows to Reduce Incidence of Milk Fever. *Journal of Dairy Science*, 67(12), 2939-2948. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81657-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81657-4)
- Boda, J. M. and Cole, H. H. (1954). The influence of dietary calcium and phosphorus on the incidence of milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 37(4), 360-372. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(54\)91268-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(54)91268-0)
- Caixeta, L., Ospina, P., Capel, M. and Nydam, D. (2015). The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. *Veterinary Journal*, 204(2), 150-156. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.021>
- Caixeta, L., Ospina, P., Capel, M. and Nydam, D. (2017). Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 94, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.01.039>
- Caixeta, L., Weber, W., Johnson, D., Faser, J., Visser, B. and Crooker, B. (2020). Effects of anionic supplement source in prepartum negative dietary cation-anion difference diets on serum calcium, feed intake, and lactational performance of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(5), 4302-4314. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16991>
- Calamari, L., Ferrari, A., Minuti, A. and Trevisi, E. (2016). Assessment of the main plasma parameters included in a metabolic profile of dairy cow based on Fourier Transform midinfrared spectroscopy: Preliminary results. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0621-4>
- Capitán-Vallvey, L. F., Fernández Ramos, M. D. and Álvarez de Cienfuegos-Gálvez, P. (2002). Optical test strip for calcium determination based on a neutral ionophore. *Analytica Chimica Acta*, 451(2), 231-241. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01420-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01420-9)
- Chamberlin, W., Middleton, J., Spain, J., Johnson, G., Ellersieck, M. and Pithua, P. (2013). Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7001-7013. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6901>
- Champness, D. (2007). *Milk fever (hypocalcaemia) in cows*. Agriculture Victoria. <https://www.lowlinecattleassoc.com.au/wp-content/uploads/pdf/Milk-Fever---Treatment-Prevention.pdf>
- Chapinal, N., Carson, M., Duffield, T., Capel, M., Godden, S., Overton, M., Santos, J. and LeBlanc, S. (2011). The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 94(10), 4897-4903. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4075>
- Chapinal, N., LeBlanc, S., Carson, M., Leslie, K., Godden, S., Capel, M., Santos, J., Overton, M. and Duffield, T. (2012). Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5676-5682. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5132>
- Charbonneau, E., Pellerin, D. and Oetzel, G. (2006). Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 537-548. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72116-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72116-6)
- Constable, P., Gelfert, C., Füll, M., Staufienbiel, R. and Stämpfli, H. (2009). Application of strong ion difference theory to urine and the relationship between urine pH and net acid excretion in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 70(7), 915-925. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.7.915>
- Constable, P., Megahed, A. and Hiew, M. (2019). Measurement of urine pH and net acid excretion and their association with urine calcium excretion in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 11370-11383. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16805>
- Contreras, P. (2002). *Paresia puerperal hipocalcémica*. Libro de Ponencias del Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria, 31-37.
- Corbellini, C. (2000). Influencia de la nutrición en las enfermedades de la producción de las vacas lecheras en transición. XXI Congreso Mundial de Buiatría, Punta Del Este, Uruguay, 689, 16. <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2017/01/Influencia-de-la-nutricion-en-lavaca-lechera-en-transicion-Carlos-Corbellini.pdf>
- Curtis, C., Erb, H., Sniffen, C., Smith, R., Powers, P., Smith, M., White, M., Hillman, R. and Pearson, E. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the*

- American Veterinary Medical Association, 183(5), 559-561.
- da Silva, D., Fernandes, B., dos Santos Lima, J., Rodrigues, G., Dias, D., de Oliveira Souza, E., & Filho, M. (2019). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy cows in the Sousa city micro-region, Paraíba state. *Tropical Animal Health and Production*, 51(1), 221-227. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1680-x>
- Defontis, M., Bauer, N., Failing, K. and Moritz, A. (2013). Automated and visual analysis of commercial urinary dipsticks in dogs, cats and cattle. *Research in Veterinary Science*, 94(3), 440-445. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.01.002>
- Desmecht, D., Linden, A., Godeau, J. and Lekeux, P. (1995). Experimental production of hypocalcemia by EDTA infusion in calves: a critical appraisal assessed from the profile of blood chemicals and enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 110(2), 115-130. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)00156-N](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)00156-N)
- Domino, A., Korzec, H. and McArt, J. (2017). Field trial of 2 calcium supplements on early lactation health and production in multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9681-9690. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12885>
- Ducusin, R., Uzuka, Y., Satoh, E., Otani, M., Nishimura, M., Tanabe, S. and Sarashina, T. (2003). Effects of extracellular Ca^{2+} on phagocytosis and intracellular Ca^{2+} concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 75(1), 27-32. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00038-9)
- Espino, L., Suárez, M., Santamarina, G., Goicoa, A. y Fidalgo, L. (2005). Utilización de las sales aniónicas en la prevención de la paresia puerperal hipocalcémica. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 37(1), 7-13. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2005000100002>
- FAO. (2020). Dairy production and products: Products. Food and Agriculture Organisation. <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/en/>
- Fiore, F., Cocco, R., Musina, D. and Spissu, N. (2020). On-farm use of a water hardness test kit to assess total blood calcium level in dairy cattle. *Journal of Dairy Research*, 87(1), 56-59. <https://doi.org/10.1017/S0022029920000023>
- Flores-Rivera, O., Meza-Márquez, J., Nava-López, J. y Ramírez-Morales, K. (2014). Fisiología de la coagulación. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 37, S382-S386. <https://doi.org/https://doi.org/10.29057/estr.v7i13.5080>
- Goff, J. (2000). Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. The Veterinary Clinics of North America. *Food Animal Practice*, 16(2), 319-337. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30108-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30108-0)
- Goff, J. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary Journal*, 176(1), 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.020>
- Goff, J. (2020). *Hypocalcemia and strategies to reduce it-Update*. The Nutritionist 2020. <https://agmodelsystems.com/the-nutritionist-2020-goff/>
- Goff, J., Hohman, A. and Timms, L. (2020). Effect of subclinical and clinical hypocalcemia and dietary cation-anion difference on rumination activity in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2591-2601. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17581>
- Goff, J. and Horst, R. (1993). Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *Journal of Dairy Science*, 76(1), 101-108. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77328-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77328-2)
- Goff, J. and Horst, R. (1994). Calcium salts for treating hypocalcemia: Carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. *Journal of Dairy Science*, 77(5), 1451-1456. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77083-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77083-1)
- Goff, J. and Horst, R. (1997a). Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(1), 176-186. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75925-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75925-3)
- Goff, J. and Horst, R. (1997b). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1260-1268. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76055-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7)
- Goff, J., Liesegang, A. and Horst, R. (2014). Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1520-1528. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7467>
- Goings, R., Jacobson, N., Beitz, D., Littledike, E. and Wiggers, K. (1974). Prevention of parturient paresis by a prepartum, calcium-deficient diet. *Journal of Dairy Science*, 57(10), 1184-1188. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(74\)85034-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(74)85034-4)

- 44

- 100(11), 9285-9293. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12971>
- Leno, B., Neves, R., Louge, I., Curler, M., Thomas, M., Overton, T., and McArt, J. (2018). Differential effects of a single dose of oral calcium based on postpartum plasma calcium concentration in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3285-3302. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13164>
- Linhart, A. (1989). *Process and test kit for the semi-quantitative detection of the calcium content in blood - Verfahren und Test-Kit zur semiquantitativen Bestimmung des Kalziumgehaltes im Blut*. In Bulletin. <https://patents.google.com/patent/EP0325106B1/en>
- Littledike, E., Witzel, D. and Whipp, S. (1968). Insulin: Evidence for inhibition of release in spontaneous hypocalcemia. *Experimental Biology and Medicine*, 129(1), 135-139. <https://doi.org/10.3181/00379727-129-33269>
- Looney, A., Ludders, J., Erb, H., Gleed, R. and Moon, P. (1998). Use of a handheld device for analysis of blood electrolyte concentrations and blood gas partial pressures in dogs and horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(4), 526-530. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9713538>
- Lynch, R. (2016). *Cow-side diagnostics*. *DairyBusiness*, April, 33-34. https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/43797/April_2016_Lynch.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Manual Merck de Veterinaria. (2000). Merck veterinary manual. In: *Manual Merck Veterinaria* (pp. 834-836). Merck & Co., INC.
- Martig, J., Gerber, H. and Berger, M. (1974). Examination of the reliability of field test for the determination of blood calcium concentration in cows. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 81(6), 132-135. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4596265>
- Martinez, N., Risco, C., Lima, F., Bisinotto, R., Greco, L., Ribeiro, E., Maunsell, F., Galvão, K. and Santos, J. (2012). Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7158-7172. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5812>
- Martinez, N., Sinedino, L., Bisinotto, R., Ribeiro, E., Gomes, G., Lima, F., Greco, L., Risco, C., Galvão, K., Taylor-Rodriguez, D., Driver, J., Thatcher, W. and Santos, J. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 874-887. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7408>
- Matsas, D., Warnick, L., Mechor, G., Seib, L., Fatone, S., White, M. and Guard, C. (1999). Use of a water hardness test kit to measure serum calcium concentration in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(6), 826-828. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10101416>
- Mayer, G., Raggi, F. and Ramberg, C. (1965). A rapid semiquantitative test for serum calcium suitable for field use. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 146(6), 839-842. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14286284>
- McArt, J. and Oetzel, G. (2015). A stochastic estimate of the economic impact of oral calcium supplementation in postparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7408-7418. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9479>
- McNally, J., Crowe, M., Roche, J. and Beltman, M. (2014). Effects of physiological and/or disease status on the response of postpartum dairy cows to synchronization of estrus using an intravaginal progesterone device. *Theriogenology*, 82(9), 1263-1272. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.006>
- Nappert, G. and Naylor, J. (2001). A comparison of pH determination methods in food animal practice. *Canadian Veterinary Journal*, 42(5), 364-367.
- National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. In: *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/9825>
- Neves, R., Leno, B., Stokol, T., Overton, T. and McArt, J. (2017). Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3796-3804. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11970>
- Neves, R., Stokol, T., Bach, K. and McArt, J. (2018). Method comparison and validation of a prototype device for measurement of ionized calcium concentrations cow-side against a point-of-care instrument and a benchtop blood-gas analyzer reference method. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1334-1343. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13779>

- Newman, A. W. and Behling-Kelly, E. (2016). Quality assurance and quality control in point-of-care testing. *Topics in Companion Animal Medicine*, 31(1), 2-10. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2016.05.003>
- Oetzel, G. (2000). Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders. The Veterinary Clinics of North America. *Food Animal Practice*, 16(2), 369-386. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30110-9](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30110-9)
- Oetzel, G., & Miller, B. (2012). Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7051-7065. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5510>
- Patelli, T., Fagnani, R., da Cunha Filho, L., Souza, F., Wolf, G., Cardoso, M., Seiva, F. and Matsuda, J. (2017). Hipocalcemia no deslocamento de abomaso de bovinos: Estudo de 39 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(1), 17-22. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000100003>
- Peiró, J. R., Borges, A. S., Gonçalves, R. C. and Mendes, L. C. N. (2010). Evaluation of a portable clinical analyzer for the determination of blood gas partial pressures, electrolyte concentrations, and hematocrit in venous blood samples collected from cattle, horses, and sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 71(5), 515-521. <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.5.515>
- Plumb, D. (2018). *Plumb's Veterinary Drug Handbook: Desk*, 9th Edition. Wiley-Blackwell.
- Ramberg, C., Johnson, E., Fargo, R. and Kronfeld, D. (1984). Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 15(5). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1984.246.5.r698>
- Reinhardt, T., Horst, R. and Goff, J. (1988). Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. Veterinary Clinics of North America: *Food Animal Practice*, 4(2), 331-350. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)31052-5](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)31052-5)
- Reinhardt, T., Lippolis, J., McCluskey, B., Goff, J. and Horst, R. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Veterinary Journal*, 188(1), 122-124. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.03.025>
- Risco, C., Reynolds, J. and Hird, D. (1984). Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(12), 1517-1519.
- Robalo Silva, J. and Noakes, D. (1984). The effect of experimentally induced hypocalcaemia on uterine activity at parturition in the ewe. *Theriogenology*, 21(4), 607-623. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(84\)90446-1](https://doi.org/10.1016/0093-691X(84)90446-1)
- Rodríguez, E. (2015). *Study of cow subclinical hypocalcemia and development of new tools for its diagnostic and prevention* [Universitat Autònoma de Barcelona]. https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2015/hdl_10803_323908/emrplde1.pdf
- Rodríguez, E., Arís, A. and Bach, A. (2017). Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7427-7434. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12210>
- Rollin, F. (2006). *Tools for a prompt cowside diagnosis: What can be implemented by the bovine practitioner?* Twenty-Fourth World Buiatrics Conference.
- Rubin, M., Alexander, R. and Lindenblad, G. (1960). Utilization of synthetic chelates for study of calcium metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 88(2), 474-478. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1960.tb20044.x>
- Salgado-Hernández, E., Aparicio-Cecilio, A., Velásquez-Forero, F., Castillo-Mata, D. and Bouda, J. (2014). Effect of the first and second postpartum partial milking on blood serum calcium concentration in dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, 59(3), 128-133. <https://doi.org/10.17221/7292-cjas>
- Sandholm, M., Jönsson, G., Pehrson, B. and Zewi, G. (1979). A New rapid method for determination of blood calcium in cows. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A*, 26(5), 411-416. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1979.tb01772.x>
- Santos, J., Lean, I., Golder, H. and Block, E. (2019). Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(3), 2134-2154. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14628>
- Seifi, H., LeBlanc, S., Leslie, K. and Duffield, T. (2011). Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *Veterinary Journal*, 188(2), 216-220. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.007>
- Sepulveda, P., Wittwer, F. and Meléndez, P. (2017). *Periodo de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras*. Universidad Austral de Chile (Primera ed).
- Silverman, S. and Birks, E. (2002). Evaluation of the i-STAT handheld chemical analyser during treadmill and endurance exercise. *Equine Veterinary Journal*. Supplement, 34(34), 551-554. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2002.tb05481.x>
- Steinmetz, H., Vogt, R., Kästner, S., Riond, B. and Hatt, J. (2007). Evaluation of the i-STAT portable clinical analyzer in chickens (*Gallus gallus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19(4), 382-388. <https://doi.org/10.1177/104063870701900407>
- Štulík, K. (2004). *Ion-selective electrodes-overview*. pp. pp. 493-498. In: Encyclopedia of Analytical Science: Second

- Edition (2nd Editio.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00291-0>
- Sweeney, B., Martens, E. and Overton, T. (2014). *Calcium and fresh cows*. DairyBusiness East, November, 18. <https://hdl.handle.net/1813/38002>
- Tappin, S., Rizzo, F., Dodkin, S., Papasouliotis, K., Tasker, S. and Murphy, K. (2008). Measurement of ionized calcium in canine blood samples collected in prefilled and selffilled heparinized syringes using the i-STAT point-of-care analyzer. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(1), 66-72. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2008.00001.x>
- Tarbert, D., Behling-Kelly, E., Priest, H. and Childs-Sanford, S. (2017). Evaluation of the i-stat portable clinical analyzer for measurement of ionized calcium and selected blood chemistry values in asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 48(2), 319-327. <https://doi.org/10.1638/2016-0150R1.1>
- Thilising-Hansen, T., Jørgensen, R. and Østergaard, S. (2002). Milk fever control principles: A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-1>
- Tinke, P., Lembo, T., Craig, S., West, C. and Van Pelt, C. (2006). Use of the i-STAT portable clinical analyzer in mice. *Lab Animal*, 35(2), 45-50. <https://doi.org/10.1038/labon0206-45>
- Van Saun, R. (1997). Prepartum nutrition: the key to diagnosis and management of periparturient disease. *Bovine Practitioner*, 33-42.
- Van Saun, R. (2016). Indicators of dairy cow transition risks: Metabolic profiling revisited. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Grosstiere-Nutztiere*, 44(2), 118-126. <https://doi.org/10.15653/TPG-150947>
- Venjakob, P., Pieper, L., Heuwieser, W. and Borchardt, S. (2018). Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9396-9405. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14202>
- Verwaerde, P., Malet, C., Lagente, M., De La Farge, F. and Braun, J. (2002). The accuracy of the i-STAT portable analyser for measuring blood gases and pH in whole-blood samples from dogs. *Research in Veterinary Science*, 73(1), 71-75. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00065-6](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00065-6)
- Wang, S., McDonnell, E., Sedor, F. and Toffaletti, J. (2002). pH effects on measurements of ionized calcium and ionized magnesium in blood. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 126(8), 947-950. [https://doi.org/10.1043/0003-9985\(2002\)126<0947:PEOMOI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1043/0003-9985(2002)126<0947:PEOMOI>2.0.CO;2)
- Wilkens, M., Nelson, C., Hernandez, L. and McArt, J. (2020). Symposium review: Transition cow calcium homeostasis -Health effects of hypocalcemia and strategies for prevention. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2909-2927. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17268>
- Xiao, X., Xu, C., Xu, S., Xia, C., Wang, G., Bai, Y., Wu, L. and Zheng, J. (2017). Critical thresholds of ion concentration in plasma for hypocalcemia prediction in dairy cows using receiver operating characteristic (ROC) analysis. *Indian Journal of Animal Research*, OF. <https://doi.org/10.18805/ijar.v0iOF.8476>
- Yildirim, E., Karapinar, T. and Hayirli, A. (2015). Reliability of the i-STAT for the determination of blood electrolyte (K⁺, Na⁺, and Cl⁻) concentrations in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(1), 388-394. <https://doi.org/10.1111/jvim.12526>
- Yilmaz, O. and Karapinar, T. (2019). Evaluation of the i-STAT analyzer for determination of ionized calcium concentrations in bovine blood. *Veterinary Clinical Pathology*, 48(1), 31-35. <https://doi.org/10.1111/vcp.12705>

Contribución de los autores

Autores	Contribución
Gilma Susana Gallegos Rosales	Concepción y diseño, investigación, metodología, redacción y revisión del artículo.
Carolina Fonseca Restrepo	Investigación, búsqueda de información, análisis e interpretación de datos y revisión del artículo.

