



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**HIPOCALCEMIA PUERPERAL
VARIACIONES DE MINERALES
EN EL PERIPARTO Y EVALUACIÓN DE
TRATAMIENTOS**

Dr. Luis Albornoz

TESIS DE MAESTRIA EN SALUD ANIMAL

**Uruguay
2006**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**HIPOCALCEMIA PUERPERAL
VARIACIONES DE MINERALES EN EL
PERIPARTO Y EVALUACIÓN DE
TRATAMIENTOS**

Dr. Luis Albornoz

Dr. Luis Barros
Director de Tesis

Uruguay
2006



INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

Año 2006

Dr. Felix Díaz Gonzalez, MSc, PhD
Dr. Medicina Veterinaria; Maestría en Fisiología Animal;
Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria, Departamento de
Patología Clínica Veterinaria, Universidade Federal do Rio
Grande do Sul – UFRGS - Brasil

Ing.Agr. Yamandú Acosta, MSc
Programa Nacional de Lechería. INIA La Estanzuela - Uruguay

Dr. Francisco Santini, PhD
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Balcarce.
Argentina

Agradecimientos

Con estas líneas quiero agradecer a todas aquellas personas, que no solo hicieron posible la realización de este trabajo, sino que también fueron en alguna medida un valioso e imprescindible apoyo para lograr este objetivo.

A Luis Barros, no solo por su entrega como profesional, profesor e investigador, sino también como amigo y formador.

A Profesores y administrativos de Posgrado por la profesionalidad con que han ejercido sus funciones.

A los Productores donde ejerzo mi profesión por apoyarme incondicionalmente en la superación de mi formación técnica.

A los Laboratorios que contribuyeron en la realización de los análisis y a los que proporcionaron reactivos y productos.

A mis compañeros de Posgrado por la solidaridad y compañerismo mostrado en este tiempo.

A mi familia por la ayuda, el esfuerzo y a veces privaciones que nos hemos sometido en pos de llegar a este objetivo.

Muchas gracias a todos.

Luis.

INDICE

Agradecimientos	5
Resumen	10
Summary	11
1. Introducción	12
1.1 El Calcio en el organismo	12
1.2 Fisiopatología de la Hipocalcemia	12
1.3 Regulación hormonal del Calcio	14
1.3.1 Parathormona	14
1.3.2 Calcitonina	15
1.3.3 Vitamina D3	15
1.3.4 Hipomagnesemia	17
1.3.5 Desarrollo de la Hipocalcemia	17
1.4 Factores predisponentes	18
1.4.1 Raza	18
1.4.2 Edad	18
1.4.3 Dieta	18
1.4.5 Condición corporal	18
1.4.6 Producción de Leche	19
1.5 Desórdenes relacionados con la Hipocalcemia	19
1.6 Prevención	20
1.6.1 Restricción de ingesta de Ca durante las últimas semanas de la preñez	21
1.6.2 Ingesta de Magnesio	21
1.6.3 Fundamentos de los tratamientos propuestos	22
1.7 Medidas profilácticas	22
1.7.1 Dietas con bajo contenido de Ca o con bajo cociente Ca/P (Tipo I)	22
1.7.2 Dietas con bajo contenido de Ca o con bajo cociente Ca/P (Tipo II)	22
1.7.3 Empleo del balance iónico	23
1.7.4 Balance iónico de la dieta	23
1.7.5 Administración de geles de Ca	26
1.8 Pérdidas económicas	27
1.9 Abordaje diagnóstico	28
1.10 Valores de referencia	29

1.11	Objetivos	30
1.11.1	Objetivo General	30
1.11.2	Objetivos particulares	30
2.	Materiales y Métodos	31
2.1	Materiales	31
2.1.1	Establecimientos	31
2.1.2	Animales	31
2.1.3	Alimentación	31
2.2	Métodos	31
2.2.1	Formación de grupos	31
2.2.2	Parámetros a estudiar	31
2.2.3	Protocolo de los tratamientos	32
2.2.4	Criterio clínico para determinar la enfermedad	33
2.2.5	Determinación del Ca total, iónico y otros parámetros sanguíneos	33
2.2.6	Técnicas utilizadas	33
2.2.7	Monitoreo de las variables clínicas	33
2.3	Método Estadístico	33
2.4	Cronograma de actividades	34
2.4.1	Cronograma para tratamiento con Fósforo	34
2.4.2	Cronograma para tratamiento con Fósforo + Magnesio	35
2.4.3	Cronograma para tratamiento con Sales Aniónicas	36
2.4.4	Cronograma para tratamiento con Geles de Calcio	37
3.	Resultados	38
3.1	Valores sanguíneos	38
3.1.1	Valores promedio sanguíneos en general	38
3.1.2	Valores promedio sanguíneos en general al día del parto	38
3.1.3	Equivalencia de resultados	38
3.2	Resultados de las variaciones del Ca iónico	39
3.3	Resultados de las variaciones del Ca total	41
3.4	Resultados de las variaciones de Mg⁺⁺	43
3.5	Resultados de las variaciones de P	44
3.6	Resultados de las variaciones de K⁺	45
3.7	Resultados de las variaciones de pH	47
3.8	Resultados de las variaciones de Na⁺	48
3.9	Estudio de relaciones entre parámetros	50
3.9.1	Calcio Total vs. Calcio iónico	50
3.9.2	Calcio Total vs. Fósforo	51

3.9.3 Calcio Total vs. Magnesio	52
3.9.4 Calcio Total vs. Potasio	53
3.9.5 Calcio Total vs. Sodio	54
3.9.6 Calcio Total vs. pH	55
3.10 Tratamientos	56
3.10.1 Valores sanguíneos generales	56
3.10.2 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con Geles	56
3.10.3 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con P	56
3.10.4 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con P+Mg	56
3.10.5 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con sales	57
3.10.6 Valores sanguíneos del día del parto de vacas testigo	57
3.11 Calcio Total	58
3.12 Calcio iónico	60
3.13 Fósforo	62
3.14 Magnesio	63
3.15 Potasio	65
3.16 Sodio	66
3.17 pH sanguíneo	67
3.18 Producción de Leche vs. Tratamientos	68
3.19 Producción por litros de leche vs. tratamientos	69
3.20 Período Parto-Concepción	71
3.21 Variaciones Clínicas	72
3.22 Resultados del control de pH urinario	72
4. Discusión	73
4.1 Ca iónico	73
4.2 Ca Total	73
4.3 Magnesio	74
4.4 Fósforo	75
4.5 Potasio	75
4.6 pH	75

4.7	Sodio	75
4.8	Tratamientos	75
4.8.1	Calcio iónico	75
4.8.2	Calcio total	76
4.8.3	Fósforo	76
4.8.4	Magnesio	76
4.8.5	Potasio	76
4.8.6	Sodio y pH	76
4.9	Efecto de los tratamientos: producción de leche, intervalo parto-concepción y variables clínicas	77
4.9.1	Leche corregida	77
4.9.2	Leche producción vaca individual	77
4.9.3	Período parto-concepción	77
4.9.4	Variables clínicas	77
4.9.5	Tratamientos contra variables sanguíneas	77
5.	Conclusiones	79
6.	Agradecimientos	80
7.	Referencias bibliográficas	81

RESUMEN

La Hipocalcemia puerperal es una enfermedad de la vaca lechera caracterizada por un cuadro clínico nervioso al periparto. En el país se han realizado variados tratamientos para su prevención.

Como objetivos se estudiaron variaciones de Ca total e iónico y otros parámetros sanguíneos, fisiológicos y clínicos del pre y periparto en vacas lecheras, determinando el efecto del tratamiento preventivo con sales aniónicas y geles de calcio orales y con administración parenteral de fósforo y de P+Mg

En un tambo se seleccionaron 50 vacas, divididas en 4 grupos tratados y 1 testigo. Se controlaron clínicamente: distocia, hipocalcemia, retención placentaria, producción láctea y % preñez. Se analizaron los iones Ca, K, Na y pH sanguíneos entre -90 a +2 días y Ca, P y Mg en el periparto.

Los niveles de Ca iónico, Ca total, P, K⁺ y Na⁺ demostraron una variación fisiológica significativa en el periparto y un efecto vaca individual. Las variaciones sanguíneas mostraron correlaciones significativas de Ca total con Ca iónico, P y K.

No se encontraron diferencias significativas de Ca total e iónico contra todos los tratamientos pero sí disminución fisiológica al día del parto. Entre los días 0 al +2 posparto se observó que sólo Mg varió significativamente y con el tratamiento de P+Mg

La producción láctea a 135 días posparto fue superior significativamente con los tratamientos de sales aniónicas y P+Mg, pero no en parto-concepción o variables clínicas.

Se concluye que hubo efectos fisiológicos, individuales y de tratamiento sobre los parámetros sanguíneos y productivos.

SUMMARY

Peripartum hypocalcemia is a metabolic disease of the dairy cow characterized by nervous clinical symptoms during the peripartum. Several different preventive treatments have been performed in the country.

The variations in total and ionic Ca were studied as main objectives as well as other blood parameters, both physiological and clinical of the pre and peripartum of dairy cows, in order to determine the effect of the preventive treatment with anionic salts, and calcium gels per os with the parenteral administration of phosphorus and phosphorus + magnesium.

In one dairy farm, 50 cows were chosen and divided in 4 treatment and one control groups. Among the clinical parameters measured were: dystocia, hypocalcemia, membrane retention, milk production and percent pregnancy. Analyses were performed for the ions Ca, K, Na and blood pH between -90 until +2 days and Ca, P and Mg during the peripartum.

The levels of ionic Ca, total Ca, P, K⁺ and Na⁺ showed a significant physiological variation during the peripartum and an effect in individual cows. Blood variations showed significant correlations between total Ca and ionic Ca P and K.

There were no significant differences found in total and ionic Ca between treatments but there was a physiological drop at calving between day 0 and +2 postpartum Mg was observed to vary significantly with the P+Mg treatment.

Milk production at 135 days postpartum was significantly higher with anionic salts and P+Mg treatments, but no differences were observed in the calving-conception period or other clinical variables.

It was concluded that there were physiological and individual effects due to treatment on the blood and productive parameters.

1. INTRODUCCIÓN.

La hipocalcemia puerperal es un complejo desorden metabólico que ocurre en el periparto especialmente en vacas altas productoras de leche. La enfermedad es caracterizada por un cuadro clínico de sintomatología nerviosa y una rápida disminución de las concentraciones de calcio en la sangre relacionada con la formación de calostro (Horst R.L. et al. 1997, Horst R.L. et al. 1998, Houe H. et al. 2001).

Los niveles sanguíneos normales de calcio en vacas lecheras fluctúan entre 8,60 y 9,63 mg/dl (Blood D.C., Radostitis O.M. 1992). Cuando el calcio en el plasma y el líquido extracelular están por debajo de estos límites normales, las funciones del calcio como la neurotransmisión, contracción muscular y regulación hormonal puede verse afectada. (Blood D.C., Radostitis O.M. 1992).

1.1 El Calcio en el organismo.

El calcio es un catión multivalente fisiológico muy importante en el organismo. Este mineral mantiene la integridad de la estructura de los huesos y dientes y es fundamental para controlar una gran cantidad de procesos bioquímicos. El calcio es absorbido a través del lumen intestinal por difusión pasiva entre las células epiteliales (transporte pasivo) y por transporte activo a través de las mismas. En todos los segmentos del intestino, el ion calcio puede ser absorbido activamente, especialmente en el duodeno y el yeyuno, en donde se puede absorber contra un gradiente de concentración diez veces mayor (Holmes T. 2003).

En el organismo aproximadamente el 99 % del calcio se encuentra en los huesos, un 1% en el citosol de las células y un 0,1% en el líquido extracelular. El 50% del calcio plasmático total se encuentra en forma ionizada, como Ca^{++} activo, el 40% está unido a proteínas, principalmente albúmina y el 10% constituye complejos en formas no iónicas como el bicarbonato de calcio (Holmes T. 2003). El equilibrio entre el Ca ionizado y el unido a proteínas depende del pH sanguíneo. La alcalosis aumenta este último y disminuye la concentración de Ca mientras que la acidosis tiene el efecto opuesto (Holmes T. 2003).

1.2 Fisiopatología de la Hipocalcemia.

La Hipocalcemia Puerperal es una enfermedad metabólico-nutricional caracterizada por un momentáneo desequilibrio en la regulación de la concentración del Ca en sangre durante el periparto, no siendo en realidad una verdadera deficiencia del mineral (Corbellini C. 2000).

Otra definición es que la Hipocalcemia Puerperal es una enfermedad metabólica que en su forma clásica afecta a la vaca, entre las 24 horas antes del parto hasta las 72 horas después del parto; bioquímicamente se produce un descenso brusco de las concentraciones de calcio en sangre y clínicamente se caracteriza por una disminución de las funciones orgánicas, dificultad para caminar, descenso de la temperatura, paresia, decúbito y muerte (Contreras P. 2002 b).

En el periparto, el Calcio sufre una rápida depleción pasando del plasma a la glándula mamaria sin dar tiempo a que pueda ser compensado por los mecanismos

hormonales de compensación (Alonso A.J. 1997, Dhiman T.R. & Sasidharan 1998, Horst R.L. et al. 1998).

Durante el parto o poco después la hipocalcemia es inevitable en las vacas lecheras y es caracterizada por concentraciones de Ca en sangre <8 mg/dl (Risco C. 2001 a, Risco C. 2001 b). Si tenemos en cuenta las diferencias entre las necesidades de Ca para el feto y el inicio de la lactancia, el feto necesita 5.3g de Ca cada día mientras que se requieren entre 13 y 18g para la secreción de calostro según la producción individual de leche por la vaca. Alrededor del primer día del parto las vacas que producen cerca de 10 litros de calostro utilizan como mínimo 23 g de Ca, aproximadamente 6 a 9 veces más que el Ca contenido en el líquido extracelular. Por lo tanto las necesidades de Ca totales aumentan radicalmente tras el parto pasando a ser de 10-15 g/día a 30, 50 o más g/día (Alonso A.J. 1997, Corbellini C. 1998, Horst R.T. et al. 1998, Risco C. 2001 b) Durante el periodo seco cuando los requerimientos de calcio son mínimos (las necesidades del feto y el drenaje fetal son de 10 a 12 g/día (Horst R.L. et al. 1997) estos mecanismos se encuentran relativamente inactivos (Horst R.L. et al. 1997). Al momento del parto las necesidades de calcio crecen súbitamente y casi todas las vacas experimentan un momentáneo desequilibrio en la regulación del Ca en sangre durante el periparto no siendo en realidad una verdadera deficiencia de Ca (Corbellini C. 2000), esencialmente no es más que una profundización en intensidad y duración de la hipocalcemia fisiológica que sufre al parto toda vaca lechera y que es reflejo de los bruscos cambios en el flujo del catión entre los diferentes compartimentos fisiológicos que se producen al momento del parto (Corbellini C. 2000).

Los mecanismos de homeostasis que regulan la concentración de calcio intervienen rápidamente restituyéndolo por tres vías (Holmes T. 2003):

- Absorción intestinal de calcio
- Liberación de calcio desde los huesos a la sangre
- Reabsorción de calcio a nivel renal

El retraso en la puesta en marcha de los mecanismos de homeostasis es la causa más importante de la hipocalcemia puerperal (Alonso A.J. 1997). Existen tres factores que afectan a la homeostasis del Ca y las variaciones en uno o más de ellos parecen tener importancia decisiva en el desencadenamiento de la enfermedad:

- a) La pérdida excesiva de Ca hacia el calostro (Alonso A.J. 1997), es indudable que un alto potencial genético y una muy buena alimentación energética preparto, sobre todo si se permiten mejoras importantes en la Condición Corporal 20 a 30 días preparto, predisponen a la enfermedad, porque la secreción inicial de calostro es más copiosa (Corbellini C. 2000, Roche J.R. 2003).
- b) Puede existir un trastorno en la absorción de Ca en el intestino, en la absorción intestinal de Ca participan 2 mecanismos, el transporte activo y el transporte pasivo a través de las células epiteliales del intestino delgado. El transporte activo, que es el más importante, se realiza por la mediación de la PTH y la vitamina D₃, mientras que el transporte pasivo se produce por la diferencia de gradientes de concentración (Alonso A.J. 1997).
- c) La movilización de Ca a partir de los depósitos de Ca óseo que puede no ser suficientemente rápida como para mantener una calcemia normal (Alonso A.J. 1997). Durante periodos de baja ingesta de Ca el hueso es la mayor fuente de este mineral (Horst R.L. et al. 1997). El Ca existe en el hueso en dos estados:

- Una pequeña cantidad de Ca es fácilmente disponible existe en solución alrededor de las células trabeculares óseas y en los canalículos óseos (Horst R.L. et al. 1997).
- El Ca soluble que se encuentra en los fluidos del hueso es separado de los fluidos extracelulares del organismo por las células óseas sincitiales bajo la estimulación de la PTH, estas células rápidamente transfieren los fluidos cálcicos del hueso al torrente sanguíneo (Horst R.L. et al. 1997, Goff J.P. 2004). Según los trabajos de Vagg y Payne (Payne J.M. 1981, *in* Goff J.P. & Horst R.L. 1997) la cantidad de Ca proveniente de los fluidos óseos para vacas lecheras adultas que se han alimentado con dietas de alto contenido de forrajes puede ser estimado entre 6 a 10g de Ca por día (Horst R.L. et al. 1997, Goff J.P. 2004).

1.3 Regulación hormonal del Calcio.

Muchas hormonas están involucradas en el metabolismo del calcio y el fósforo. Dos de estas hormonas, la parathormona (PTH) y la calcitonina (CT), tienen efecto en la actividad del calcio del líquido extracelular y hueso (Holmes T. 2004). La glándula paratiroides segrega PTH en respuesta a una baja del calcio sérico o a un aumento de la fosfatemia y tiene una acción hipercalcemiante (Thiede M.A. 1994). Por el contrario la CT se segrega en respuesta a una hipercalcemia (Payne J.M. 1981, Underwood E. 1983). Una tercera hormona la 1,25 dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) es derivada de la vitamina D sintetizada en la piel, hígado y riñones. Estas tres hormonas actúan juntas para mantener constante el nivel de calcio y fósforo en el líquido extracelular y regular el metabolismo óseo (Horst R.L. et al. 1997, Holmes T. 2004). Otras hormonas como los estrógenos, andrógenos, hormona del crecimiento y cortisol también afectan el metabolismo del calcio (Holmes T. 2004).

1.3.1 Parathormona.

La Parathormona (PTH) es una proteína de cadena única que contiene 84 aminoácidos, secretada en la glándula paratiroides. La actividad biológica de la hormona reside en la porción N-terminal de la molécula, en los aminoácidos 1 a 34. Su efecto fundamental es mantener o aumentar los niveles plasmáticos de calcio y esto lo logra estimulando el paso de calcio al plasma a partir del hueso, orina tubular y tracto intestinal. (Holmes T. 2004).

El regulador dominante de la actividad de la glándula paratiroides depende del nivel plasmático de calcio. La PTH y el Ca tienen retroalimentación negativa, estando la secreción de PTH inversamente relacionada con la concentración plasmática de calcio. (Holmes T. 2004)

La PTH es segregada en respuesta a la hipocalcemia e incrementa la concentración del mineral mediante un efecto lento pero ejercido a lo largo de varias horas (Payne J.M. 1981). La PTH para regular los niveles normales de calcio en el organismo cumple con cuatro acciones directas (Holmes T. 2004):

- 1- Aumenta el movimiento de Ca desde los huesos al plasma.
- 2- Aumenta la reabsorción de Ca desde los túbulos renales.
- 3- Aumenta la actividad de la enzima renal 1-alfa hidroxilasa.
- 4- Disminuye la reabsorción de fósforo inorgánico en los túbulos renales.

Otro efecto de la PTH es el aumento de la absorción intestinal de Ca, aunque esta acción es indirecta y mediada por la vitamina D3. (Holmes T. 2004)

Cualquier disminución de calcio sanguíneo la glándula paratiroides segrega PTH y en pocos minutos esta actúa aumentando la reabsorción renal a nivel del filtrado glomerular (Horst R.L. et al. 1997). Si las necesidades de calcio son pequeñas, este retorna a la normalidad y la secreción de PTH retorna a valores basales, sin embargo si las necesidades de calcio son grandes, la secreción de PTH estimula la liberación de calcio del sistema óseo (Underwood E. 1983, Horst R.L. et al. 1997, Oetzel GR. 2002).

En el riñón, la PTH cumple tres acciones: aumenta la reabsorción de calcio en el asa de Henle ascendente y túbulo distal e induce a la fosfaturia y a la enzima renal 1-alfa hidroxilasa para la transformación de 25-(OH)₂D₃ a su forma activa 1,25(OH)₂D₃ (Horst R.L. et al. 1997, Holmes T. 2004). La actividad fisiológica de la PTH depende del equilibrio acido-base del animal. La alcalosis metabólica afecta la actividad fisiológica de la PTH de modo que la liberación ósea y la producción de 1,25(OH)₂D₃ esta afectada reduciendo la habilidad de sucesivos ajustes para aumentar los niveles de Ca según lo requieran las demandas (Oetzel GR. 2002). La alcalosis metabólica puede inducir cambios en la conformación de los receptores impidiendo que se unan a la PTH (Oetzel GR. 2002, Goff J.P. 2004 a, Goff J.P. et al. 2004 b).

1.3.2 Calcitonina

Es una hormona peptídica de cadena simple con 32 aminoácidos, secretada por la glándula tiroides. En contraste a la PTH, protege al organismo de una hipercalcemia y reduce la concentración de calcio y fósforo en el plasma (Payne J.M. 1981). La calcitonina actúa, principalmente, en dos órganos: hueso y riñón. Induce sus efectos aumentando la salida de calcio y fósforo desde el líquido extra celular o disminuyendo la tasa de entrada de estos iones al líquido extracelular o ambas simultáneamente. La magnitud de la disminución plasmática de calcio es directamente proporcional a la tasa basal de recambio óseo. Por tanto, los animales jóvenes y en crecimiento son más afectados por la CT, mientras que los adultos con esqueletos más estables responden mínimamente a la hormona. La acción hipocalcemiante de la CT se debe a la inhibición de la osteólisis osteocítica y de la liberación ósea osteoclastica, especialmente cuando se encuentran estimuladas por la PTH.

Aunque tenga un efecto menos importante que en los huesos, la calcitonina reduce la reabsorción renal de calcio y fósforo y el aumento en la liberación renal de estos iones para conducir a una hipocalcemia y una hipofosfatemia. También actúa para reducir la reabsorción de sodio, magnesio y potasio en el túbulo proximal del riñón (Holmes T. 2004).

1.3.3 Vitamina D3

La Vitamina D se comporta como una hormona, en cuanto puede ser sintetizada en el organismo aunque no por ninguna glándula endocrina, también es una vitamina ya que, si no puede ser sintetizada en cantidades suficientes, debe ser ingerida. (Holmes T. 2004). La Vitamina D₃ actúa sinérgicamente con la PTH aumentando el Ca sanguíneo por estimulación de la liberación ósea de Ca y aumento de la reabsorción

renal de Ca (Horst R.L. et al. 1997). Algunas veces la 1,25-dihidroxicolecalciferol es más importante por estimular el transporte de Calcio ingerido en la dieta a través el epitelio intestinal (Horst R.L. et al. 1997). El Calcio puede ser absorbido a través del intestino por mecanismos Vit. D-dependiente y Vit. D-independiente. En el caso del mecanismo Vit. D-independiente la absorción de Ca es primariamente por difusión pasiva (Oetzel GR. 2002) mientras que en el mecanismo Vit. D-dependiente la absorción ocurre por un transporte activo a través de las células del epitelio intestinal y esto ocurre cuando la dieta en Ca es baja o cuando la demanda de Ca es alta. (Horst R.L. et al. 1997, Hove K. & Hilde B. 1984, Oetzel GR. 2002). Este proceso requiere 1,25(OH)₂D₃ el cual estimula la síntesis de una proteína que liga el Ca a través de las células del epitelio intestinal (Horst R.L. et al. 1997).

En vacas lecheras de alta producción las demandas de Ca antes del parto se encuentran en su punto mas bajo (Oetzel GR. 2002). Las demandas de Ca por el esqueleto fetal son relativamente bajas similares a las cantidades de Ca que se necesitan para enfrentar la última etapa de la lactación (Oetzel GR. 2002). Así los mecanismos de liberación ósea permanecen inmóviles y la absorción de Ca intestinal se encuentra en su forma pasiva en este momento (Oetzel GR. 2002). Las dietas típicas que se usan para alimentar las vacas en esta etapa de su vida reproductiva exceden los requerimientos de Ca, de modo que las demandas de Ca para el mantenimiento de los tejidos corporales y el desarrollo del feto pueden realizarse totalmente sin necesidad de utilizar la Vit. D-dependiente. (Oetzel GR. 2002).

Durante los primeros días de la lactancia, la homeostasis del Ca es restaurada por la descarga de PTH que reduce la pérdidas urinarias de Ca, estimula la liberación de Ca de los huesos y aumenta la síntesis de 1,25(OH)₂D₃ mejorando el transporte intestinal activo del Ca (Oetzel GR. 2002).

La habilidad de adaptación a la hipocalcemia es influenciada por numerosos factores, las restricciones de Ca mejoran la habilidad para responder a la hipocalcemia pero tienen relativamente efectos pequeños en la incidencia de la Hipocalcemia clínica (Oetzel GR. 2002). El riesgo más importante en la producción de hipocalcemia es el nivel acido-base del animal al momento del parto. Existe actualmente una tendencia a considerar a la Hipocalcemia como prácticamente una intoxicación nutricional subclínica por K, principal inductora de alcalosis metabólica (Corbellini C. 2000).

El Ca es requerido para el normal funcionamiento de una extensa variedad de tejidos y procesos fisiológicos, es necesario para la formación del hueso, contracciones musculares, transmisiones nerviosas, coagulación de la sangre y como regulador de algunas hormonas (Horst R.L. et al. 1994). En general los vertebrados mantienen el Ca con muy buena precisión, con excepción de las vacas parturientas adultas lecheras las cuales desarrollan esta enfermedad metabólica (Horst R.L. et al. 1994). Los procesos de absorción intestinal (Hove K. & Hilde B. 1984) y de liberación ósea de Ca están bajo la influencia de la regulación hormonal del Ca, la hormona paratiroidea la cual es segregada por la glándula paratiroides y la 1,25-dihidroxi-vit. D, la cual es producida por el riñón. Algunos desordenes endocrinos resultantes de deficiencia o excesos de PTH o 1,25(OH)₂D₃ fueron hipotetizados como defectos primarios en vacas con hipocalcemia, sin embargo esta hipótesis fueron refutadas cuando investigadores encontraron niveles altos de PTH y 1,25(OH)₂D₃ en sangre en animales que padecían fiebre de leche (Horst R.L. et al. 1994, Corbellini C. 1998).

Las lesiones celulares involucradas en la fiebre de leche todavía permanecen sin ser identificadas (Horst R.L. et al. 1994), si bien la etiología de la Hipocalcemia puerperal es aún motivo de investigación, no conociéndose en forma detallada todos los mecanismos metabólicos involucrados, una falta de respuesta del tejido óseo a la acción movilizador del Ca y P por parte de la PTH y el 1,25(OH)₂D₃, debido a un estado de alcalosis metabólica, parece ser la causa más probable (Corbellini C. 1998, Corbellini C. 2000, Contreras P. 2002 b).

1.3.4 Hipomagnesemia.

Produce un efecto alterando el metabolismo del Ca y P , se ha comprobado que la hipomagnesemia provoca una disminución en la capacidad de movilizar Ca en respuesta a un estímulo hipocalcémico (Bednarek D. et al. 2000). Esto explica la mayor susceptibilidad a la hipocalcemia en las vacas hipomagnésémicas que las normomagnésémicas. Lo que sería provocado por una menor producción de PTH (Corbellini C. 1998, Roche J.R. 2003, Goff J.P. 2004 a), reduciendo el tejido sensitivo de PTH (Goff J.P. 2004 a) y una menor respuesta a los tejidos “blanco” la interferencia del metabolismo de la vit. D₃, ya que se requiere Mg para la hidroxilación en el hígado de un metabolito intermedio en la síntesis del principio activo de la vitamina D (1,25 (OH)₂D₃ para la movilización de Ca o (Contreras P 2002 b). El exceso de K (>2 % MS) altera el metabolismo del Mg interfiriendo la absorción del mismo a nivel ruminal no obstante en posruminal hay una compensación de la absorción de Mg, un aumento de la concentración de K en la dieta entre 2,6 a 4,3 % reduce la absorción de Mg en aproximadamente 82 % (Roche J.R. 2003), también el exceso de amonio a nivel ruminal, producido por un exceso de proteína degradable o deficiencia de energía en la alimentación, los que provocan interferencia en la absorción del Magnesio (Contreras P. 2002 a). Se observó que un 70 % de las vacas en sistemas pastoriles eran hipomagnésémicas(<0.8 mmol/l) en el día del parto (Roche J.R. 2003).

1.3.5 Desarrollo de la Hipocalcemia

Las concentraciones sanguíneas de calcio y fósforo en el bovino son 2.0 - 2.6 mmol/l (8-10.6 mg/100 ml) y 1.1 - 2.3 mmol/l (3.2 - 7.1 mg/100 ml) respectivamente. En el animal sano al momento del parto las concentraciones de calcio y fósforo disminuyen levemente y luego se recuperan, es lo que se llama hipocalcemia fisiológica, pero cuando el descenso es intenso, por insuficiente capacidad de movilización de calcio, se produce la enfermedad. Las causas de una movilización insuficiente de calcio son:

1. Síntesis o excreción insuficiente de la hormona Paratiroidea (PTH), que es responsable de la extracción de calcio y fósforo desde el hueso, para aumentar sus concentraciones en la sangre.
2. Síntesis insuficiente del principio activo de la vitamina D (1,25(OH)₂D₃), que promueve la absorción de calcio desde el intestino.
3. Insuficiente respuesta de los tejidos (riñones, huesos o intestinos) a los estímulos de PTH y/o 1,25(OH)₂D₃.
4. Disminución del apetito, que impide un adecuado consumo de alimentos.

5. La hipomagnesemia, que altera la secreción de PTH y el metabolismo de la vitamina D.
6. El estrés, que favorece la secreción de la hormona Calcitonina, que es hipocalcemiante.

Esta disminución de los minerales en la sangre, provoca alteración del sistema nervioso, disminución de la tonicidad y funcionamiento muscular y altera el funcionamiento del aparato cardiovascular. Por ello se producen los signos clínicos y la muerte del animal. (Contreras P. 2002 b).

1.4 Factores predisponentes.

1.4.1 Raza.

Numerosas investigaciones sugieren que ciertas razas de ganado de leche son más susceptibles a la hipocalcemia: Channel Island, Swedish Red and White y Jersey (Horst R.L. et al. 1997, Lean I.J. et al. 2006, Roche J.R. 2003) . La exacta razón de este aumento en la susceptibilidad no esta clara (Horst R.L. et al. 1997, Goff et al. 1995) han demostrado que los receptores intestinales para $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ son más bajos en ganado Jersey que en Holando ajustados a la misma edad (Horst R.L. et al. 1997). El bajo número de receptores puede resultar por una pérdida del tejido sensitivo a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Sánchez W.K. et al. 1995 b, Horst R.L. et al. 1997, Houe H. et al. 2001).

1.4.2 Edad.

A medida que la edad de las vacas aumenta también aumenta la incidencia de hipocalcemia (Alonso A.J. 1997, García F. 1995, Horst R.L. et al. 1997, Houe H. et al. 2001, Kaneko J. 1980), la Hipocalcemia es muy rara en vacas de primera lactancia pero la incidencia aumenta de gran manera a partir de la tercera o más lactancias (Horst R.L. et al. 1997). Numerosos factores contribuyen a que la edad avanzada sea un importante factor predisponente de las hipocalcemias, tales como que las vacas adultas producen mas leche y esto provoca una mayor demanda de Ca (Horst R.L. et al. 1997), la mayor edad provoca un descenso de la habilidad para movilizar el Ca de los huesos, una disminución del transporte activo de Ca en el intestino (Horst R.L. et al. 1997) y una menor producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Horst R.L. et al. 1997) colectivamente todos estos problemas producen una falta de respuesta a las necesidades agudas de Ca (Horst R.L. et al. 1997).

1.4.3 Dieta.

Cuando las vacas son alimentadas con niveles bajos de Ca o cuando se ajusta la relación Ca/P a razón de 2:1 se ha notado una baja en la incidencia de Hipocalcemias (Horst R.L. et al. 1997, Kaneko J. 1980) .

1.4.5 Condición corporal.

Un alto puntaje en la condición corporal aumentan los riesgos de Hipocalcemia (Houe H. et al. 2001). La condición corporal puede ser medida en una escala que va del 1 al 5 con fracciones de 0.25, en la que 1 significa un animal extremadamente flaco -

caquéctico- y 5 uno extremadamente obeso (Houe H. et al. 2001, Ferguson J.D. et al. 1994). En un estudio realizado en 16 rodeos se observó que vacas con estado corporal mayor a 4 tenían un riesgo de Hipocalcemia clínicamente mayor (Odds Ratio de 4.3) (Heuer et al, 1999 in Houe H. et al. 2001).

1.4.6 Producción de Leche.

Numerosos estudios han demostrado que la incidencia de la Hipocalcemia está asociada positivamente con la producción de leche de la lactancia anterior (Houe H. et al. 2001) . En algunos estudios se pudo cuantificar los efectos de la producción de leche y se observó que hay un aumento de 0,05 % en la incidencia de Hipocalcemia por Kg de gasa butirométrica producida en la lactancia (Houe H. et al. 2001). Otros estudios demuestran que el riesgo para la Hipocalcemia fue OR =1,5 para vacas que produjeron 7,050 Kg de leche corregidos por gasa comparadas con vacas que produjeron 4,070 Kg de leche en las mismas condiciones (Houe H. et al. 2001).

1.5 Desórdenes relacionados con la Hipocalcemia.

Por la acción coordinada de órganos como el hígado, riñón, intestino delgado y hueso y a través de la acción homeostática de las hormonas calciotrópicas, aumenta la capacidad intestinal de absorción de Ca, su movilización ósea y la reabsorción renal de Ca. Una falla en estos mecanismos generalmente por errores en el parto, puede dar lugar no solamente a una alta incidencia de Hipocalcemia clínica (Paresia puerperal o Fiebre de Leche) sino de Hipocalcemia subclínica responsable de trastornos como partos lánguidos, retención de placenta, etc. (Corbellini C. 1997).

La Paresia Puerperal o Fiebre de Leche es la manifestación clínica de la Hipocalcemia puerperal y es uno de los más comunes desórdenes del parto en la vaca lechera múltipara (Risco C. 2001 b), los síntomas clínicos ocurren por cambios en el tono neuromuscular, parálisis flácida y eventualmente coma, la mayoría de los casos no tratados mueren entre 1 a 2 días (Risco C. 2001 b, Oetzel G 1996, Houe H. et al. 2001). En un estudio en el cual se estudiaron 39 vacas con signos clínicos de la enfermedad se observó que la paresia o parálisis fue asociado con niveles de Ca inferiores a 5 mg/100ml (Risco C. 2001 a).

No todas las vacas que sufren Hipocalcemia desarrollan síntomas clínicos de la enfermedad, la Hipocalcemia puerperal ha sido definida cuando las concentraciones de Ca iónico en suero es <4.0 mg/dl (Oetzel G 1996) (el porcentaje de Ca iónico es del 50- 51 % del Calcio total (Lincoln S.D. 1990, Houe H. 2001) en el día del parto con o sin signos clínicos de paresia o parálisis (Oetzel G 1996) en un estudio (Oetzel GR. et al. 1988) fueron detectadas con Hipocalcemia el 67 % de las vacas control pero solamente el 25 % de las vacas con Hipocalcemia desarrollaron Paresia Puerperal. Se producen pérdidas económicas de importancia debida a los casos subclínicos, asociados con menor motilidad del aparato gastrointestinal, menor consumo voluntario, menor producción de leche, aumento de la retraso en la involución uterina y aumento de la prevalencia de mastitis clínica (Oetzel GR. 1993, García F. 1995, Oetzel GR. 1996 Horst R.L. et al. 1997, Hernández et al. 1999, Corbellini C. 2000, Risco C. 2001 b.). La hipocalcemia puede afectar órganos que posean musculatura lisa tales como el útero, rumen, abomaso, etc., aumentando la

prevalencia de: desplazamiento de abomaso, retención de placenta, mastitis, etc. (Risco C. 2001 b). Se ha encontrado una asociación significativa entre la hipocalcemia puerperal, distocia y retención de membranas fetales en vacas lecheras (Hernández J. et al. 1999). Vacas con hipocalcemia puerperal tuvieron 6,5 veces más probabilidad de sufrir distocia, 3,2 veces más probabilidad de tener retención de membranas fetales y 3,4 veces más probabilidad de tener desplazamiento de abomaso a izquierda (Oetzel G 1996, Risco C. 2001 a).

En vacas que han sufrido Hipocalcemia puerperal se ha encontrado un factor de riesgo (Odd Ratio= OR) significativo relacionado con las distocias (OR 2.8 a 2.6 (Corbellini C. 1998, Houe H. et al. 2001), retención de membranas fetales (OR 1.5 a 3.2 (Corbellini C. 1998, Houe H. et al. 2001), metritis (OR 1.6 a 1.7 (Houe H. et al. 2001) y cetosis clínica (Risco C. 2001 a), se encontraron asociaciones significativas entre Hipocalcemia y Prolapso uterino (Risco C. et al. 1984, Gardner I.A. et al. 1990, Corbellini C. 1998, Houe H. et al. 2001) se encontró asociación con celos silenciosos, quistes ováricos e infertilidad (Corbellini C. 1998, Risco C. 2001 a, Houe H. et al. 2001).

La producción de leche también se ve afectada por la Hipocalcemia (Houe H. et al. 2001), en un estudio sobre 23,416 vacas Ayrshire se encontró que vacas con Hipocalcemia tuvieron una reducción en la producción de leche entre 1,1 a 2,9 kg/día (Houe H. et al. 2001), esto tomado solo como efecto directo, ya que si se tomarán también los efectos indirectos la pérdida de leche sería mayor, por ejemplo efectos indirectos por infección del tracto reproductivo y alargamiento del período parto-concepción (Houe H. et al. 2001, Jonson N.N. et al. 1998)

El peso corporal también se afecta pasajeramente notándose pérdidas del estado de peso en el entorno de los 18 Kg (Houe H. et al. 2001)

1.6 Prevención.

Numerosos principios de control de la enfermedad han sido descriptos por la literatura en los últimos 50 años pero solamente algunos se han extendido a los predios comerciales (Thilsing T. et al. 2002). Dentro de ellos podemos señalar algunos tales como:

- a) Restricción de la ingesta de Ca durante las últimas semanas de la preñez (Thilsing T. et al. 2002, Contreras P. 2002 b) o disminución relativa por incremento del P
- b) Suplementar con Sales aniónicas de manera de acidificar la ración durante las últimas semanas de la preñez (Thilsing T. et al. 2002, Contreras P. 2002 b, Dishington I.W. 1975).
- c) Suplementar con Ca por vía oral alrededor del parto (Thilsing T. et al. 2002, Dhiman T.R. & Sasidharan 1998, Bostedt H. & Bless S. 1993, Queen G 1993, Jonsson G & Pehrson B. 1970).
- d) Administrar durante el pre-parto Vit.D o metabolitos análogos (Thilsing T. et al. 2002, Goff J.P. 1989, Bostedt H. & Bless S. 1993 , Jonsson G & Pehrson B. 1970).

Existen otras medidas de control menos específicas y menos comunes para la prevención de la Hipocalcemia que incluyen algunas de las siguientes prácticas de manejo (Thilsing T. et al.2002):

- a) Controlar los niveles de Mg; K y Na durante el parto (Thilsing T. et al. 2002, Roche J.R. 2003)
- b) Controlar la Condición Corporal (Thilsing T. et al. 2002)
- c) Controlar la ingesta de carbohidratos durante el parto (Thilsing T. et al. 2002)
- d) Acortar el periodo seco (Thilsing T. et al. 2002)
- e) Ordeñar durante el pre-parto (Thilsing T. et al. 2002)
- f) Reducir el ordeño en la lactación temprana (Thilsing T. et al. 2002)
- g) Infusiones de hormona paratiroidea (PTH) (Goff J.P. et al. 1989)

1.6.1 Restricción de ingesta de Ca durante las últimas semanas de la preñez.

El método tradicional para prevenir la Hipocalcemia puerperal en vacas lecheras es restringir la ingesta de Ca a niveles muy bajos (< 20 g de calcio por día) antes del parto y niveles altos de Ca después del parto, la incidencia de la hipocalcemia disminuye drásticamente (Goff J.P. et al 1989, Wang C. et al 1994, Alonso A.J. 1997, Goff J.P. & Horst R.L. 1997, Oetzel J.R. 2000, Corbellini C. 2000).

Dietas bajas en Ca previenen que los mecanismos de absorción de Ca intestinal y la liberación de Ca de los huesos por parte de las vacas no se vuelvan mecanismos incapaces de movilizar Ca de manera rápida (Goff J.P. & Horst R.L. 1997, Contreras P. 2002 b, Goff J.P. et al 2004). El hecho de disminuir al mínimo el ingreso pre-parto de Ca (< 20 g/d), demostró ser muy efectivo desde el punto de vista experimental, pero difícil de llevar a cabo en dietas convencionales (Oetzel GR. 1993 a, Wang C. et al 1994). La ingesta de Ca durante el parto puede ser restringida reemplazando en parte o totalmente el forraje de alfalfa en la dieta por forraje de gramíneas, silo de maíz y/o concentrados, sin embargo es muy difícil llegar a menos de 50 g por día, lo cual no es efectivo para prevenir la Hipocalcemia. (Oetzel GR. 1993 b). Restringir mas el consumo de Ca usualmente no es posible sin perjudicar el balance de otros nutrientes (Oetzel GR. 1993 a). Modificando los ingredientes en las dietas pre-parto con la exclusiva finalidad de disminuir la ingesta de Ca puede traer aparejado severos inconvenientes (Oetzel GR. 1993 a) como trastornos digestivos, trastornos reproductivos (contracción uterina) y cetosis (Wang C. 1994). La baja ingesta de Ca antes del parto puede reducir la habilidad de la vaca para alcanzar una potencial producción en el post-parto (Wang C. et al 1994).

Alimentando con altas cantidades de silo de maíz y concentrados durante el parto es de alto costo económico y puede predisponer a torsiones de abomaso si consumen en exceso (Oetzel GR. 1993 a). Evitar la alfalfa en las dietas parto porque es muy alta en Ca no es una buena medida de manejo ya que la alfalfa es una fuente fácil y barata de proteínas. La alfalfa es frecuentemente el forraje principal usado en las dietas de las vacas en producción y está la ventaja de mantener un tipo similar de forraje durante el periodo del parto (Oetzel GR. 1993 a, Oetzel GR. 2000).

1.6.2 Ingesta de Magnesio

Rodeos lecheros con alta incidencia de Hipocalcemia a menudo tienen concentraciones de Mg en sangre por debajo de lo normal durante el parto (Wang

C. et al 1994, Contreras P. 2002 a, Bednarek D. et al 2000) parecería que existe competencia entre el Mg y el Ca para ser absorbidos desde el intestino y reabsorbidos desde los túbulos renales (Wang C. et al 1994, Contreras P. 2002 a), más importante es que deficiencias de Mg pueden reducir la movilización de Ca desde los huesos (Wang C. et al 1994, Corbellini C. 1998, Roche J.R. 2003), Van de Braak et al (*in* Wang C. et al 1994) demostraron que cuando se alimentaban animales con 71 g de Mg por día durante el período seco existía una mayor movilización de Ca desde los huesos, en cambio esto no ocurría cuando se alimentaba con 17g de Mg por día.

1.6.3 Fundamentos de los tratamientos propuestos

A medida que se ha ido profundizando en el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad, se ha desarrollado métodos preventivos, generalmente encaminados a aumentar lo más rápidamente posible la disponibilidad del Ca, ya sea al incrementar el ritmo de absorción digestiva o provocando su movilización desde el hueso (Alonso A.J. 1997).

1.7 Medidas profilácticas

En nuestro país aparentemente se usan en forma habitual cuatro maniobras profilácticas:

1.7.1 Dietas con bajo contenido de Ca o con bajo cociente Ca/P (Tipo I).

En el último período de gestación logado esencialmente por el suministro inyectable de fósforo entre 60 a 45 días antes del parto (fósforo orgánico 200 mg - Cloruro de Cobalto 0,04 mg). (Succi H. 1997). La hipótesis para este ensayo es que la Hipocalcemia puede prevenirse con la suplementación de fósforo y raciones pobres en Ca al final de la gestación (Manston B. 1967). Esto estimularía la actividad de las glándulas paratiroides en el período de secado y las prepararían para el aumento de actividad impuesta por el parto, a la inversa dietas ricas en Ca (entre 100 a 125g/día) en esta misma época aumentan la frecuencia de la enfermedad, probablemente por disminución de la actividad de la glándula. Se debe enfatizar más en la importancia del cociente Ca/P como preventivo de la enfermedad, que en las cantidades absolutas de cada uno por separado (Alonso A.J. 1997, Rajaratne A.A.J. et al 1994, Kaneko J. 1980).

En recientes trabajos se ha concluido que la hipofosfatemia es la mayor causa de recidivas y pobres respuestas en la rutina de terapia para la hipocalcemia. (Kojouri GA. & Karimzadeh J. 2002). El National Research Council (N.R.C.) recomienda para rodeos productores de leche una ingesta de 0,42% de P. (Gerloff B. et al 1996, Call J.W. et al 1987).

1.7.2 Dietas con bajo contenido de Ca o con bajo cociente Ca/P (Tipo II).

Idem anterior pero además de fósforo se suministra Magnesio, también dos aplicaciones 60 y 45 días preparto.

1.7.3 Empleo del balance iónico. Los organismos vivos deben mantener la electroneutralidad del medio interno, es decir que la suma de los cationes (iones cargados positivamente) en solución debe equilibrarse con la de los aniones (iones cargados negativamente) (García A. 1997). Este es el concepto básico en lo que hoy es denominado como: balance cationes/aniones de la dieta (BCAD), balance electrolítico de la dieta, balance cationes/aniones, diferencia cationes/aniones o diferencia iónica (García A. 1997). Los cationes sodio (Na) y potasio (K) y los aniones cloro (Cl) y azufre (S) son los principales a tener en cuenta al evaluar el BCAD (García A. 1997, Goff J.P. 2004) Una dieta en la que predominan los aniones es considerada acidógena, mientras una en la que predominan los cationes sería alcalógena.

En una dieta rica en Cl y S la reducción del BCAD puede llevar a un cambio en los siguientes parámetros fisiológicos (García A. 1997):

- a) Aumento en la concentración de hidrogeniones en sangre.
- b) Disminución en la concentración de bicarbonato sanguíneo.
- c) Descenso del pH sanguíneo.
- d) Reducción del bicarbonato urinario.
- e) Reducción del pH urinario.
- f) Reducción de la ingesta de materia seca (Charbonneau E. et al 2006, Oetzel GR. 2000)

Estos efectos son importantes en la vaca seca, ya que permiten manipular la fisiología del animal a través de modificaciones dietéticas. El descenso del pH sanguíneo moviliza Ca de los huesos para neutralizar dicha acidez, al tiempo que se incrementa su absorción intestinal, reduciendo la incidencia de la Hipocalcemia (García A. 1997, Oetzel GR. 2002). Trabajos recientes sugieren que el empleo del BCAD resulta en:

- a) Disminución de los casos clínicos de hipocalcemia. (Oetzel GR. 1993 a, García F. 1995, Sánchez J.M. 1995, Horst R.L. et al 1997, Oetzel GR. 2002, Chan P.S. et al 2005, Charbonneau E. et al 2006)
- b) Incremento en la producción de leche. (Oetzel GR. 1993 a, García F. 1995, Sánchez J.M. 1995 Oetzel G 1996, Risco C. 2001 a)
- c) Mejora en la performance reproductiva. (Oetzel GR. 1993 a, García F. 1995, Sánchez J.M. 1995, Oetzel GR. 1996, Risco C. 2001 a)

Hay trabajos que sugieren que una reducción del BCAD reduciría los niveles de K por lo cual se aumentaría la absorción de Mg mejorando la capacidad de las vacas en mantener la homeostasis de Ca (Roche J.R. 2003)

1.7.4 Balance iónico de la dieta.

La carga iónica de la dieta se evalúa en base a los equivalentes (Eq) o miliequivalentes (mEq). Un equivalente es igual al peso atómico ajustado por la carga iónica. Por ejemplo, el Peso Atómico (PA) del K es 39 y su Valencia 1. Como el Peso Equivalente es igual al PA dividido la Valencia, el Peso Equivalente del K es 39 (39/1) y un mEq es 1000 veces menor, o sea 0.039 (39/1000). El S tiene Valencia 2 y PA = 32 por lo que del cálculo surge que sus mEq son 0.016 [(32/2)/1000] (García A. 1997, Horst R.L. et al 1997, Risco C. 2001 b, <http://gnv.ifas.ufl.edu/-fairsweb/text/ds/2882.html> – Prepartum rations).

<u>Elemento</u>				
	<u>K</u>	<u>Na</u>	<u>Cl</u>	<u>S</u>
mEq	0.039	0.023	0.035	0.016

Numerosas fórmulas han sido usadas para calcular las diferencias del balance iónico algunas de las cuales son las siguientes (Oetzel GR. 1993 a):

BCAD (mEq) = (Na + K + Ca + Mg) - (Cl + S + P) (Oetzel GR. et al 1988)
 BCAD (mEq) = (Na + K) - (Cl + S) (Oetzel GR. et al 1988, Sánchez J.M. 1995, Oetzel GR. 2000, Goff J.P. et al 2004).

BCAD = [(%Na/0.23) + (%K/0.039)] - [(%Cl/0.035) + (%S/0.016)]
 mEq/100gMS (García A. 1997, Risco C. 2001 b, Charbonneau E. Et al 2006)

Ejemplo:

Una pastura que contiene: Na 0.268 %

K 3.49 %

Cl 1.06 %

S 0.316 %.

BCAD = [(0.268/0.023) + (3.49/0.039)] - [(1.06/0.0355) + (0.316/0.016)] =
 51.53 mEq/100 g de MS

En dietas basadas en forrajes es difícil lograr un BCAD negativo sobretodo debido al alto contenido de K de los mismos (Risco C. 2001 b). Goff & Horst (1997) reportaron un aumento de la incidencia (10 a 50%) de Hipocalcemia clínica en dietas donde la concentración de K excede el 1,1%, similarmente se encontró que un aumento de la concentración de Na en la dieta 0,13% a 1,3% aumentó entre un 10 a 62% la incidencia de Hipocalcemia clínica en un pequeño número de animales (Roche J.R. 2003). Las altas cantidades de K en las dietas y no el excesivo Ca es lo que predispone a las vacas lecheras a los desordenes hipocalcémicos (Risco C. 2001 b).

Ha sido demostrado que la PTH responde a un descenso de los contenidos de Ca en sangre de la misma manera en vacas que sean alimentadas con dietas aniónicas o catiónicas (Horst R.L. et al 1997), de la misma manera se podría pensar que en la conversión renal de 25-hidroxicalciferol ó 25(OH)-calciferol a 1,25 (OH)₂ Vitamina D podría suceder lo mismo, sin embargo concentraciones plasmáticas de Vitamina D y de PTH sugieren que los receptores celulares de PTH de las vacas alimentadas con dietas catiónicas son refractarios a la estimulación de PTH (Horst R.L. et al 1997). Además se encontró que la Vitamina D responde mejor al descenso de Ca en sangre en vacas alimentadas con sales aniónicas comparadas con vacas alimentadas con dietas catiónicas. En vacas lecheras que consumen sales aniónicas en las dietas de parto se encontró un aumento en las concentraciones de Vit. D, hay un mejor status de Ca que fue atribuido a una mejora en la liberación de Ca del hueso y una mejor absorción del Ca desde el intestino (Oetzel GR. 2002).

La habilidad del hueso de actuar como buffer durante episodios de acidosis no puede ser ignorado cuando se determina que las dietas aniónicas mejoran el status de Ca a nivel sanguíneo. Ocurre una moderada acidosis metabólica (un aumento en la concentración de H⁺) cuando las vacas son alimentadas con un BCAD negativo. Esta acidosis metabólica puede ser verificada por el pH ácido en orina (Oetzel GR. 1996,

Oetzel GR. 1993, Chan P.S. 2005) en vacas alimentadas con este tipo de dietas. Es posible usar la medición del pH de la orina de las vacas próximas al parto para constatar la efectividad de una ración conteniendo sales aniónicas que causará los incrementos deseables en Ca sanguíneo. El pH de la orina de las vacas alimentadas con dietas sin sales aniónicas es mayor a 8 si el BCAD es negativo el pH urinario se vuelve ácido (7.5 a 5.5) (Oetzel GR. 1993 a, Davidson J. et al 1995, Charbonneau E. et al 2006).

Las sales aniónicas más frecuentes son: Sulfato de magnesio y de calcio y los cloruros de amonio y de calcio. Los cloruros de sodio y de potasio no son considerados sales iónicas por ser neutras y no contribuir por lo tanto al BCAD (García A. 1997). Las sales deben suministrarse al menos durante dos semanas para que ejerzan efecto sobre el metabolismo. En el caso de la vaca seca se debe tratar de ajustar a un balance negativo de -15 mEq/100 g de MS, lo cual es bastante más sencillo si se emplean forrajes de bajo contenido en K. Otra consideración a tener en cuenta es que en general estas sales son poco palatables por lo que se las debe suministrar mezcladas con alimentos apetecibles (farelo, melaza, granos, etc.) y recurrir a un periodo de acostumbramiento. (Oetzel GR. 1993 a, García A. 1997) .

Composición Mineral de Algunos Alimentos para Vacas Lecheras (en % de M.S.)

Alimento	Ca	K	Na	Cl	P	S
H. Alfalfa	1.4	2.1	0.1	0.4	0.2	0.3
A. Maíz	0.5	0.5	0.1	0.1	1.3	0.03
Orujo Maíz	0.1	0.1	0.3	0.1	0.4	0.5
Avena G	0.2	0.4	0.1	0.1	0.3	0.2
Tr. Rosado	1.6	2.1	0.1	0.4	0.4	0.2
Tr. Blanco	1.8	2.7	0.5	0.4	0.3	0.2
Lolium P.	0.8	1.1	0.1	0.1	0.3	0.2

García F, 1995.

Balance Cation - Anión en dietas pre-parto basadas solamente en forrajes.

mEq/Kg MS

Alfalfa sola.....	308.5
Alfalfa + Avena G	
80/20	250.1
75/25	220.0
Trébol blanco + Ballica	
50/50	396.5
40/60	351.0

La mayoría de las dietas pre-parto basadas en forrajes tienen un BCAD muy positivo, estas dietas tienden a mantener al animal en un estado de alcalosis metabólica ligera en consecuencia el tejido renal es refractario a los efectos de PTH (García F, 1995, Sánchez J.M. 1995)..

1.7.5 Administración de geles de Ca.

Persiguiendo el objetivo de normalizar la calcemia al parto y reducir la concentración de ácidos grasos no esterificados y beta hidroxibutirato en los días posteriores al mismo (Corbellini C. 2000). El propionato de Ca puede proveer a las vacas durante el parto de Ca y de un precursor glucogénico en el momento que ambos generalmente se encuentran en poca cantidad (Goff J.P. et al 1995).

Las vacas absorben Ca por 2 mecanismos:

a) transporte activo a través de las células del epitelio intestinal (Thilising H. et al 2002) y b) transporte pasivo que depende de la disminución de la concentración de gradientes y de la difusión pasiva de Ca desde el lumen del intestino hacia los fluidos extracelulares, lo que ocurre cuando las concentraciones de Ca iónico luminal excede 1 mM (Thilising H. et al 2002). Los tratamientos orales de Ca presumiblemente aumentan las concentraciones de Ca luminal por encima de 1 mM, favoreciendo el transporte pasivo de Ca hacia el fluido extracelular (Thilising H. et al 2002, Goff J.P et al 2004). La capacidad del transporte pasivo de Ca es en principio ilimitado e independiente de la estimulación de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. El ClCa_2 suministrado varios días antes del parto y por 1 a 2 días después del parto dio generalmente resultados efectivos para reducir la incidencia de Fiebre de Leche (Dhiman T.R. & Sasidharan V. 1998). Más recientemente se usa una pasta comercial de ClCa_2 (54 g de Ca) que se suministra antes del parto y 12 y 24 horas después del mismo (Goff J. & Horst R.L. 1994, Oetzel G 1996, Hernández J. et al 1999), la incidencia de Fiebre de Leche y de Desplazamiento de Abomaso fueron reducidas significativamente (Oetzel G 1993).

La administración oral de grandes cantidades de Sales de Calcio puede ser usada para aumentar la concentración de Ca durante el periodo del parto (Horst R.L. et al 1997). Las Sales de Calcio usadas fueron tradicionalmente CaCl_2 , en diversos estudios citados (Horst R.L. et al 1997), el ClCa_2 suministrado varios días antes del parto y por 1 a 2 días después del parto dieron generalmente resultados efectivos para reducir la incidencia de Fiebre de Leche reducidas significativamente (Oetzel G 1993). La solución de ClCa_2 y preparaciones de gel ofrecen un producto muy soluble, muy concentrado (36% Ca) y fuentes de Ca rápidamente absorbidas (Horst R.L. et al 1997). Sin embargo las soluciones y geles de ClCa_2 poseen algunas desventajas tales como que pueden ser cáusticas y causar ulceración en la boca y mucosa digestiva de algunas vacas (Wentink GH. 1992, Oetzel G 1993, Goff J. 1994, Pehrson B. & Svensson C. 1998, Thilising H. et al 2002, Goff J.P. et al 2004), hay presentaciones de ClCa_2 no irritantes (Wermuth N.C. 1990). El ClCa_2 produce reducción del pH sanguíneo, este cambio puede ser beneficioso en el periodo del parto de la vaca porque hay un efecto mayor de adición de aniones en la dieta pre-parto y en consecuencia se previene la Fiebre de Leche, reduciendo la alcalinidad de la sangre, aumentando la sensibilidad de los tejidos a la PTH (Lincoln S.D. & Lane V.M. 1990, Horst R.L. et al 1997). Sin embargo excesivas dosis oral de ClCa_2 puede inducir una acidosis metabólica y causar inapetencia en un momento en que la ingesta de alimento ya esta comprometida. (Goff J.P. & Horst R.L. 1993, Goff J.P. & Horst R.L 1994, Sánchez W.K. et al 1995 a)

Una alternativa a las sales de Ca, es el propionato de calcio que se puede suministrar a las vacas en un preparado de pasta espesa y puede aumentar el calcio sanguíneo.

Aunque los efectos de aumento de la calcemia no son tan rápidos como con el ClCa_2 , la actividad del Propionato de Calcio es más sostenida (Goff J.P. & Horst R.L 1994). El Propionato de Calcio no tiene un efecto acidificante del pH sanguíneo (Goff J.P. & Horst R.L 1994) y el propionato puede servir como precursor glucogénico al tiempo que el animal tiene un balance energético negativo. (Alonso A.J. 1997, Corbellini C. 2000, Goff J.P. 2004). La desventaja del Propionato de Calcio es que tiene solamente 21,5 % de Calcio, es así que se requiere grandes volúmenes de preparados para suministrarlos oralmente.

1.8 Pérdidas económicas.

En nuestro país no existen datos sobre evaluación de pérdidas económicas por Hipocalcemia. En países vecinos como Argentina se estima una prevalencia de la enfermedad en vacas de alta producción de un 6 a 16 % (Corbellini C. 2000, Contreras P. 2002 b). En Suecia se estima un riesgo en la incidencia de 5 a 10 % (Houe H. et al 2001) mientras que en EEUU se consideran valores entre 5 a 9 % del total de las vacas lecheras (Goff J.P. et al 1989, Wang C. et al 1994, Corbellini C. 1998).

Estudios norteamericanos (Horst R.L. et al 1997) concluyen que la Hipocalcemia es una enfermedad que causa graves pérdidas económicas fundamentalmente por causa de costos de tratamientos, de muertes (15 a 30 % de los animales son refractarios a una o dos aplicaciones parenterales de borogluconato de Ca) (Corbellini C. 1998) y de complicaciones secundarias como atonía ruminal, falta de apetito, mastitis clínica, retención de placenta, metritis, degeneración y necrosis de células musculares (en especial miembros posteriores), neumonía por aspiración (Corbellini C. 1998) y puede reducir la vida productiva de la vaca lechera por 3.4 años (Alonso A.J. 1997, Horst R.L. et al 1997).

El costo promedio por casos de Hipocalcemia fue estimado en U\$S 334 (dólares americanos) (Horst R.L. et al 1997, Corbellini C. 1998, Goff J.P. 2004). Este valor está basado en los costos directos asociados con el tratamiento de los casos clínicos y estimando la pérdida de producción. Vacas que sufren Hipocalcemia también son susceptibles a problemas secundarios los cuales aumentan significativamente los costos de producción. Vacas que han sufrido Hipocalcemia ven aumentada la incidencia de Cetosis, Mastitis (especialmente por coliformes), partos distócicos, desplazamiento de abomaso, prolapso uterino y retención de membranas fetales (Risco C. 1984, Horst R.L. et al 1997, Hernández J. et al 1999).

Se puede afirmar que vacas afectadas de Hipocalcemia tienen entre 3 a 9 veces más posibilidades de contraer otros desordenes al periparto (Wang C. et al 1994). El costo directo por los tratamientos de la Hipocalcemia clínica en USA se ha estimado en U\$S 15 millones (dólares americanos), mientras que problemas secundarios causados por la Hipocalcemia puede incrementar el costo anual de la enfermedad en más de U\$S 120 millones (dólares americanos) en ese país (Goff J.P. et al 1989, Wang C. et al 1994). La prevención de esta enfermedad puede aumentar de gran manera la rentabilidad de las explotaciones lecheras (Wang C. et al 1994).

1.9 Abordaje diagnóstico

Las concentraciones sanguíneas de Ca total han sido la fuente primaria de la evaluación de las anomalías de Ca en el ganado lechero. Sin embargo la determinación de Ca total tiene el inconveniente de no medir directamente las fracciones iónicamente y fisiológicamente activas del Calcio sérico, normalmente se mantiene una relación del 50% entre el Ca iónico y el Ca orgánico (Lincoln S.D. 1990). El Ca iónico parece ser un mejor indicador de la Hipocalcemia clínica que el Calcio total (Horst R.L. et al 1997).

Los estados iónicos del Ca y Mg son fracciones fisiológicamente activas. En el plasma bovino aproximadamente el 50% del Ca y el 70% del Mg se encuentran en forma libre. Aproximadamente 43% del Ca sanguíneo está ligado a proteínas y aproximadamente el 10% está integrando bicarbonatos, fosfatos, lactatos y citratos. Similar característica sucede con el Mg que se encuentra ligado a proteínas y aniones orgánicos e inorgánicos. Cuando ocurren enfermedades las concentraciones sanguíneas de proteínas, bicarbonatos, fosfatos, lactatos y citratos pueden estar profundamente alterados. En estos casos la determinación de las concentraciones de Ca^{++} y Mg^{++} en suero pueden dar información más segura para el diagnóstico y tratamiento. La determinación de las concentraciones de Mg^{++} en suero puede permitir nuevos discernimientos para las enfermedades metabólicas del ganado particularmente la Hipocalcemia puerperal (Rosemberger G 1975, Riond J.L. et al 1995, Dhiman T.R. & Sasidharan V.1998). En la preñez avanzada las concentraciones de Ca y Mg (Rosemberger G 1993) aumentan, las concentraciones de Ca total e iónico disminuyen significativamente 1 o 2 días luego del parto mientras que la de Mg total e iónico aumentan significativamente al 3er día del parto, los valores de Ca total continúan disminuyendo, mientras que la osmolaridad, albúmina, proteínas totales y concentraciones de K del suero permanecen incambiadas. (Riond J.L. et al 1995, Dhiman T.R. & Sasidharan V. 1998).

Los forrajes más comúnmente usados en vacas secas tienen contenidos altos o medianos de K, teóricamente este catión es responsable de las altas diferencias catiónicas-aniónicas en las dietas y están asociadas con una alta morbilidad en Hipocalcemia (Goff J.P. & Horst R.L.1997 a).

Es posible usar la medición del pH de la orina de las vacas gestantes para constatar la efectividad de una ración. El pH de la orina de vacas alimentadas con alto contenido de cationes (p.ej. K) es alto, mayor a 8, mientras si se consumen dietas acidógenas el pH de la orina será de 6.5 a 5.5, o sea que usando el pH urinario como indicador podemos observar el impacto en la dieta de las vacas próximas al parto, el equilibrio ácido-básico de la vaca antes del parto y su nivel predecible de calcio inmediatamente después del parto (Davidson J. et al 1995). El pH urinario tiene una alta correlación con la reducción del pH sanguíneo, es así que el pH urinario es una medida muy usada para evaluar las dietas durante el pre-parto (Oetzel GR. 2002).

Como se ha descrito, en nuestro país se usan en la práctica diversos tratamientos (aplicación de fósforo parenteral, aplicación de fósforo y magnesio parenteral, suministro de sales aniónicas, suministro de geles de Ca) para prevenir o disminuir la gravedad de la hipocalcemia clínica como subclínica, sin conocer hasta el momento

cual es el gado de hipocalcemia que alcanzan nuestras vacas, como tampoco conocemos la efectividad de los tratamientos empleados.

Dada la importancia que esta enfermedad tiene en la Producción lechera creemos justificado la realización de este trabajo y poder conocer las variaciones de Ca sanguíneo e iónico y otras variables bioquímicas sanguíneas y clínicas, así como realizar una evaluación para determinar la efectividad de algunos de los tratamientos que hoy se realizan en nuestro país.

1.10 Valores de referencia.

Se presentan a continuación valores de referencia nacional e internacional sobre los parámetros sanguíneos que se harán referencia en este trabajo.

Según trabajos extranjeros los valores analíticos de referencia son los siguientes:

Minerales:

Calcio total (mg/dl): 9.7 a 12.4 (Radostits O.M. 1999) - 9.51 ± 0.63 (Barros L. 1981)

Calcio iónico (mg/dl): 4.8 a 6,2 (Radostits O.M. 1999) - 3.79 - 5.25 (Lincoln S.D. 1990)

Fósforo (mg/dl): 5.6 a 6.5 (Radostits O.M. 1999) - 4.99 ± 1.18 (Barros L. 1981)

Magnesio (mg/dl): 1.8 a 2.3 (Radostits O.M. 1999) - 2.23 ± 0.33 (Barros L. 1981)

Electrolitos

Potasio (mEq/l): 3.9 a 5.8 (Radostits O.M. 1999) - 4.67 ± 0.57 (Barros L. 1981)

Sodio (mEq/l): 132-152 (Radostits O.M. 1999) - 141.76 ± 3.0 (Barros L. 1981)

Equilibrio acidobásico

pH sanguíneo 7.35-7.50 (Radostits O.M. 1999)

Según datos nacionales los valores analíticos de referencia son los siguientes:

Minerales:

Calcio total mg/dl 9.23 ± 1.80 (Barros L. 1987)

Fósforo mg/dl 5.72 ± 1.87 (Barros L. 1987)

Magnesio mg/dl 2.19 ± 0.35 (Barros L. 1987)

1.11 Objetivos

1.11.1 Objetivo General

Estudiar las variaciones de status de Ca iónico, Ca total, Fósforo, Potasio, Magnesio, Sodio y pH sanguíneo en el periparto de vacas lecheras de manera de estudiar su prevención.

1.11.2 Objetivos particulares

Determinar el efecto de los siguientes tratamientos preventivos sobre la concentración sanguínea de Ca total e iónico, y otros parámetros en el periparto:

- a) Sales aniónicas en el alimento.
- b) Geles de calcio vía oral.
- c) Suministro parenteral de P.
- d) Suministro parenteral de P+Mg

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales.

2.1.1 Establecimientos.

Se seleccionó un establecimiento lechero representativo de la cuenca lechera del sur del Departamento de Florida perteneciente al extracto superior de producción y con parición estacional y predominando las pariciones en otoño. El establecimiento cuenta con 800 animales.

2.1.2 Animales.

Se seleccionaron 60 vacas lecheras, con dos o más partos, raza Holando, con la última lactancia superior a 5000 kg de leche corregidos a 305 días. Todos los animales tenían más de 180 días de preñez y parieron en un lapso de 4 meses.

2.1.3 Alimentación.

Las vacas recibieron la siguiente alimentación expresada en Materia Seca:

- 2 kg gano húmedo de sorgo.
- 1 kg expeller de girasol.
- 6 kg heno de moha.
- 2 kg silo de pradera.
- 1 kg campo natural o menos.

Esta dieta da un valor estimado entre 25-30 mEq/100g MS

2.2 Métodos.

2.2.1 Formación de grupos.

Se formaron 5 grupos al azar identificados con collares individuales:

1er. Grupo: Se le suministró sales aniónicas junto con el alimento 28 días antes del parto.

2do. Grupo: Se le suministró geles de Calcio vía oral (ver tratamientos) entre 24 a 12 horas antes del parto y 12 hrs. después del parto.

3er. Grupo: Se administró Fósforo vía parenteral (ver tratamientos) 60 días y 45 días antes del parto.

4to Grupo: Se administró Fósforo y Magnesio vía parenteral (ver tratamientos) 60 días y 45 días antes del parto.

5to Grupo: Sin tratamiento como grupo testigo.

2.2.2 Parámetros a estudiar.

Se evaluó el comportamiento de los siguientes parámetros en cada grupo de tratamiento:

- Parámetros sanguíneos:
 - Calcio total
 - Calcio iónico

- Potasio
- Magnesio
- pH sanguíneo
- Fósforo
- Sodio
- Parámetros urinarios:
 - pH urinario
- Parámetros clínicos:
 - Distocia
 - Fiebre de Leche
 - Retención de placenta
 - Producción de leche
- Comportamiento reproductivo.

2.2.3 Protocolo de los tratamientos.

- a) Tratamiento con sales aniónicas (Composición: Azufre 5.8%, Cloro 32.8 %, Saborizante 0.1%, Excipiente c.s.p. 100%) Fabricante: Grappiolo & Cía: las sales aniónicas deben suministrarse al menos durante dos semanas para que ejerzan efecto sobre el organismo (García A. 1997), como es difícil la predicción exacta de la fecha del parto y se necesita un lapso de 7 días para acostumbrar a los animales, se comenzó a aplicar 100g, 28 días antes de la fecha esperada del parto, para aumentar a 200g 21 días antes de la fecha del parto y 300g los últimos 15 días antes del parto. Se realizó un balance de los iones de manera de lograr una dieta con por lo menos 25 mEq/100g de MS. Para solucionar el problema de la palatabilidad se comenzó a suministrar las sales aniónicas gradualmente acompañada de 2 kg de granos (maíz o sorgo) para que en un lapso de 7 días se llegue al nivel deseado.
- b) Tratamiento con geles de Calcio: Se suministró 1 dosis de gel por vía oral (Formula: Propionato de Calcio 420 g, propilenglicol 400 g, agua c.s.p 1000 ml aporta 90 g de Calcio) Levac gel®, Biotay S.A. Buenos Aires, Argentina, aproximadamente 12 horas antes del parto esperado y 12 horas después del parto. Si el parto del animal no sucede en las 12 horas siguientes se vuelve a suministrar otro preparado de gel y así sucesivamente hasta el parto pero no más de tres veces. El protocolo standard sería de 2 dosis.
- c) Tratamiento con aplicación parenteral de Fósforo: Se aplicaron dos inyecciones de 20 ml Fósforo (Phosforplus®) (Fórmula: Vit. D1 (Ergocalciferol®) 500.000 UI, Glicero fosfato de sodio 8.500g, Fosfato monobásico de sodio 16.300g, Excipiente c.s.p. 100.000 ml), Agroinsumos S.A.. La primera al momento del secado (las vacas fueron secadas con 7 meses de preñez) y otra inyección 15 días después.
- d) Tratamiento aplicación parenteral de Fósforo 20 ml (ídem anterior) y Magnesio 20 ml (Magneçal®) (Fórmula: Lactobionato de Magnesio 30g, Lactobionato de Calcio 15g, Lactobionato de Zinc 8g, Agentes de formulación c.s.p 100ml) Agroinsumos S.A.. Se aplicaron 2 inyecciones, la primera al momento del secado (las vacas fueron secadas con 7 meses de preñez) y otra inyección 15 días después.

2.2.4 Criterio clínico para determinar la enfermedad.

Se considera que las vacas tienen Fiebre de Leche si están en decúbito y su concentración de Ca total es <5.5 mg/dl. Se considera que la vaca tiene Hipocalcemia Puerperal subclínica si las concentraciones de Ca son <7.5 mg/dl durante cualquier momento que dure el experimento (Goff & Horst R.L.1997).

2.2.5 Determinación del Ca total, iónico y otros parámetros sanguíneos.

Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena coccígea y mamaria según el cronograma establecido. Las muestras de sangre se extrajeron con agujas 18G y se colocaron en tubos con vacío individualizados. Las muestras fueron refrigeradas y analizadas dentro de las 24 horas para iones y congeladas a -25°C y analizadas con posterioridad para los metabolitos minerales totales.

2.2.6 Técnicas utilizadas:

Para Ca total, P y Mg: se empleó sistema fotométrico analizador Alcyon® de ensayos químicos para uso en diagnóstico *in vitro*, el cual realiza determinaciones cuantitativas, en este caso de punto final.

Para la determinación *in vitro* de Ca total se utilizó el reactivo cresolftaleína complexona empleando kits comerciales de la línea Rolf Geiner BioChemica (Alemania); para la determinación *in vitro* de P se utilizó reactivo molibdato de amonio de la línea Rolf Geiner BioChemica (Alemania) y para la determinación *in vitro* de Mg se usó reactivo arsenazo de la línea Abbot Laboratories (Alemania).

Para Ca⁺⁺, K⁺, Na⁺ y pH: se empleó un analizador automatizado EasyLyte® (Reactivos del Uruguay) que contiene electrodos de flujo selectivo de iones. Los análisis se realizaron en el Laboratorio Clínico del Hospital de Florida.

2.2.7 Monitoreo de las variables clínicas.

- a) Distocia - Se considera parto distócico si la vaca no puede parir por sus propios medios.
- b) Fiebre de Leche - Se considera Fiebre de Leche si hay sintomatología clínica (decúbito).
- c) Retención de Placenta - Se marcará con +, ++, +++ según las horas de retención de las membranas fetales, se comienza a medir a partir de las 12 hs post-parto y se agrega una + cada 24 hrs.
- d) Producción de Leche - Se expresa en litros.
- e) Comportamiento reproductivo- Se determinará el intervalo parto/concepción.

2.3 Método Estadístico.

Se realizó: Análisis de varianza, Regresión simple y múltiple, Tests de comparación de medias (test de múltiple rango).

2.4 Cronograma de actividades.

2.4.1 Cronograma para tratamiento con Fósforo.

Tratamiento Fósforo	Parto	CaT	Ca ⁺⁺	P	Mg	K	Na	pH	Distocia	Fiebre de Leche	Ret. Placenta	Metritis	Prod. Leche	% Preñez
x	-60													
x	-45		x			x	x	x						
	-30		x			x	x	x						
	-21		x			x	x	x						
	-14		x			x	x	x						
	-7		x			x	x	x						
	-6		x			x	x	x						
	-5		x			x	x	x						
	-4		x			x	x	x						
	-3	x	x	x	x	x	x	x						
	-2	x	x	x	x	x	x	x						
	-1	x	x	x	x	x	x	x						
	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x
x	-4		x			x	x	x						
x	-3	x	x	x	x	x	x	x						
x	-2	x	x	x	x	x	x	x						
x	-1	x	x	x	x	x	x	x						
	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x

2.4.2 Cronograma para tratamiento con Fósforo + Magnesio

Tratamiento	Parto	CaT	Ca ⁺⁺	P	Mg	K	Na	pH	Distocia	Fiebre de Leche	Ret. Placenta	Metritis	Prod. Leche	% Preñez
x	-60													
x	-45		x			x	x	x						
	-30		x			x	x	x						
	-21		x			x	x	x						
	-14		x			x	x	x						
	-7		x			x	x	x						
	-6		x			x	x	x						
	-5		x			x	x	x						
	-4		x			x	x	x						
	-3	x	x	x	x	x	x	x						
	-2	x	x	x	x	x	x	x						
	-1	x	x	x	x	x	x	x						
	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x
x	-4		x			x	x	x						
x	-3	x	x	x	x	x	x	x						
x	-2	x	x	x	x	x	x	x						
x	-1	x	x	x	x	x	x	x						
	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x

2.4.3 Cronograma para tratamiento con Sales Aniónicas

Tratamiento Sales Aniónicas	Parto	CaT	Ca ⁺⁺	P	Mg	K	Na	pH	Distocia	Fiebre de Leche	Ret. Placenta	Metritis	Prod. Leche	% Preñez
	-60		x			x	x	x						
	-45		x			x	x	x						
x	-28		x			x	x	x						
x	-21		x			x	x	x						
x	-20													
x	-19													
x	-18													
x	-17													
x	-16													
x	-15													
x	-14													
x	-13													
x	-12													
x	-11													
x	-10													
x	-9													
x	-8													
x	-7													
x	-6		x			x	x	x						
x	-5		x			x	x	x						
x	-4		x			x	x	x						
x	-3	x	x	x	x	x	x	x						
x	-2	x	x	x	x	x	x	x						
x	-1	x	x	x	x	x	x	x						
	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x

2.4.4 Cronograma para tratamiento con Geles de Calcio

Tratamiento o Geles de Calcio	Parto	CaT	Ca ⁺⁺	P	M se	K	Na	pH	Distocia	Fiebre de Leche	Ret. Placenta	Metritis	Prod. Leche	% Preñez
	-60													
	-45		x			x	x	x						
	-30		x			x	x	x						
	-21		x			x	x	x						
	-14		x			x	x	x						
	-7		x			x	x	x						
	-6		x			x	x	x						
	-5		x			x	x	x						
	-4		x			x	x	x						
	-3	x	x	x	x	x	x	x						
	-2	x	x	x	x	x	x	x						
x	-1	x	x	x	x	x	x	x						
x	0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x		x	x			
	2	x	x	x	x	x	x	x			x			
	3										x			
	30											x	x	
	60												x	x
	90												x	x
	120												x	x

Nota:

- Distocia: Se marca si o no. Se considera parto distócico si el animal no puede parir por sus propios medios.
- Fiebre de leche: Se marca si o no. Se considera Fiebre de Leche si hay presencia de sintomatología clínica
- Retención de placenta: Se marca +, ++ o +++ según las horas de la retención de membranas fetales. Se comienza a medir a partir de las 12 hs post-parto y se agrega una cruz cada 24 hrs.
- Metritis: Los parámetros utilizados para determinar metritis son por palpación y/o descarga purulenta con olor fétido.
- Condición Corporal: Se usa escala de 1 a 5 y cada gado se divide a su vez en cuartos (ej.: 3, 3.25, 3.50, 3.75).
- Producción de leche: Se expresa en kilogramos.

3 RESULTADOS

Se presentan a continuación los valores promedios generales de los parámetros sanguíneos durante el periodo del estudio (tabla I) y de los valores promedios generales del día del parto (tabla II).

3.1 Valores sanguíneos

Se presentan los valores promedio generales de todos los animales durante todo el período de los parámetros: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺, Ca, Mg, P y pH en el período -90 a +3 días y al día del parto.

3.1.1 Valores promedio sanguíneos en general

Tabla I- Valores promedio generales de todos los animales durante todo el período

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
prom	0.927	4.49	142.75	7.57	7.88	1.72	5.53
ds	0.095	0.43	3.12	0.06	1.20	0.28	1.05
n	382	413	412	408	138	138	138

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l (período -90 a +3 del parto); Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras (período -3 a +3 del parto).

3.1.2 Valores promedio sanguíneos en general al día del parto

Tabla II - Valores promedio generales de todos los animales al día del parto

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
Prom	0.824	4.61	144.19	7.54	7.27	1.78	5.05
ds	0.131	0.34	2.88	0.07	1.21	0.26	1.20
n	42	42	42	41	35	35	35

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

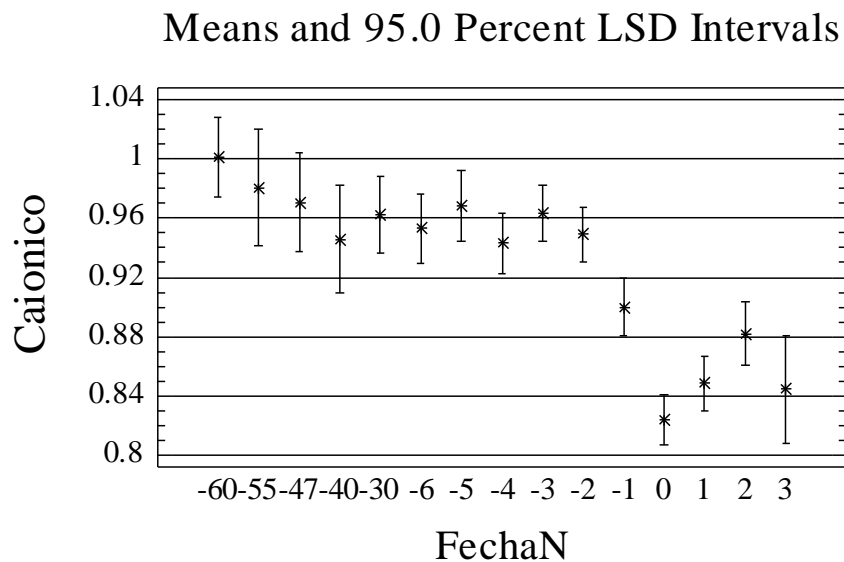
3.1.3 Equivalencia de resultados

Los valores de calcio iónico utilizados en este trabajo son expresados en mEq/l y su equivalencia, a los efectos comparativos con otros trabajos, son los siguientes: 0.927 ± 0.095 mEq/l, o dicho de otra manera: 0.83 - 1.02 mEq/l igual a 3.3 - 4.1 mg/dl.

3.2 Resultados de las variaciones del Ca iónico

Estudiando la variación del Ca iónico en función del período de gestación –en los últimos 60 días- hasta los 3 días posparto se constata que existe una variación altamente significativa de sus valores promediales ($p < 0.00001$) (Tabla III), con disminución en el período periparto. Esta variación se encontró en el conjunto de todos los animales ($n=348$), existiendo un efecto de vaca individual ($p < 0.0028$) (Figura 1).

Figura 1: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Calcio ionizado en 348 vacas desde el día -60 antes del parto hasta 3 posparto.



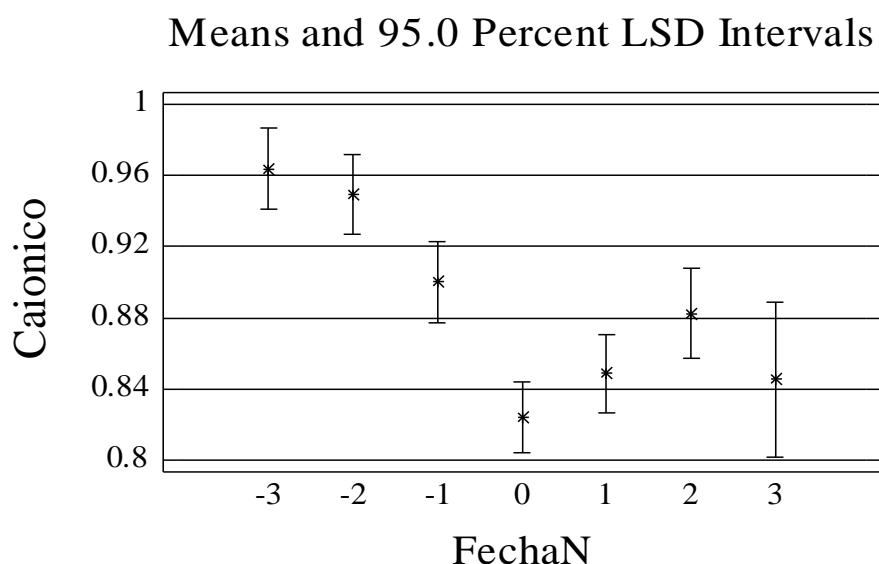
Referencias: Ca iónico: mEq/l, Fecha: días antes y después del parto.

Tabla III. Análisis de varianza del calcio ionizado en función de período de gestación y posparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for Ca ionico - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.0561148	1	0.0561148	9.05	0.0028
MAIN EFFECTS					
A: FechaN	1.04939	14	0.0749567	12.09	0.0000
RESIDUAL	2.05898	332	0.00620176		
TOTAL (CORRECTED)	3.1471	347			

En la Fig. 2 se observan las variaciones promedio de Calcio iónico durante el periodo del periparto (menos 3 días del parto a más 3 días posparto), en la tabla IV se estudia el test de comparación de medias para el Ca iónico, notándose una marcada diferencia entre los días 0 y siguientes a los días del parto.

Figura 2: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Calcio ionizado en 215 vacas desde el día -3 antes del parto hasta 3 posparto



Referencias: Caiónico: mEq/l, Fecha: días.

Tabla IV: Test de Múltiple Rango para Ca iónico y FechaN (días)

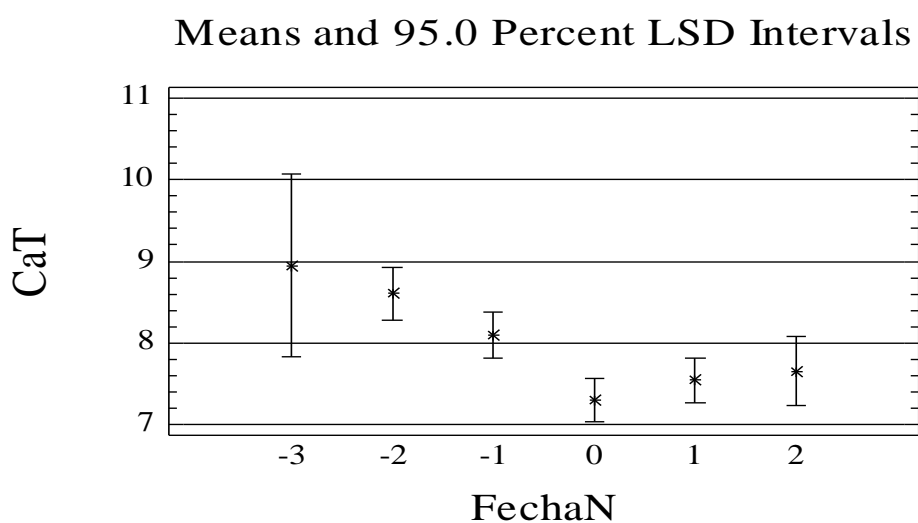
Method: 95.0 percent LSD			
FechaN	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	42	0.82474	X
3	9	0.845915	XXX
1	35	0.847819	XX
2	26	0.882572	XX
-1	33	0.89929	X
-2	35	0.948961	X
-3	33	0.963441	X

Los resultados indican que en 42 muestras al día del parto se encontró un valor promedio de $0,82 \pm 0,13$ mmol/l (3.28 \pm 0.52 mg/dl) A las 24 hs después del parto si bien se nota una tendencia a incrementar los valores estos siguen siendo bajos $0,85 \pm 0,10$ mmol/l (3.4 \pm 0.40 mg/dl) (n=35). A las 48 hs del parto los valores del Ca iónico se mantenían promedialmente bajos con valores de $0,88 \pm 0,08$ mmol/l (3.52 \pm 0.32 mg/dl) (n=26). A las 72 hs los valores sanguíneos de Ca iónico se seguían manteniendo por debajo de lo normal $0,87 \pm 0,065$ mmol/l (3.48 \pm 0.26 mg/dl) (n=7). Por los valores del Ca iónico podemos considerar que estos animales están sujetos a una Hipocalcemia subclínica vinculada con el parto (16).

3.3 Resultados de las variaciones del Ca total

Se estudia la variación del calcio total sanguíneo en función del período periparto (-3 a +2 días) se constata que existe una variación altamente significativa ($p < 0.0003$) (Tabla V). Esta variación se encontró en el conjunto de todos animales ($n=138$), no existiendo un efecto de vaca individual ($p < 0.44$) (Figura 3). En la tabla 6 se realiza un test de rango múltiple en donde se nota dos grupos homogéneos formado por el día 0 y sucesivos posparto y los días de preparto.

Figura 3: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Calcio Total en 138 vacas desde el día -3 antes del parto hasta 2 posparto.



Referencia: Calcio Total: mg/dl, FechaN: días

Tabla V. Análisis de varianza del calcio total en función de período de periparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for CaT - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.759005	1	0.759005	0.60	0.4399
MAIN EFFECTS					
A: FechaN	31.6295	5	6.3259	5.00	0.0003
RESIDUAL	165.657	131	1.26456		
TOTAL (CORRECTED)	198.396	137			

Tabla VI: Test de múltiple rango para CaTotal y FechaN

Method: 95.0 percent LSD

FechaN	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	35	7.27384	X
1	32	7.50306	XX
2	14	7.63972	XX
-1	31	8.04277	XX
-2	24	8.55401	X
-3	2	8.86084	XXX

En el día del parto (día 0) se encuentra una diferencia significativa más baja que el día -1 y -2 preparto revirtiéndose la tendencia en los días 1 y 2 posparto aunque sin alcanzar los valores del preparto (Fig. 3). Los valores del día del parto fueron de $7,27 \text{ mg/dl} \pm 1.21$ (n=35), lo que es considerado una hipocalcemia subclínica asociada al parto. Los valores del calcio total a las 24 hs del parto se mantienen bajos $7,50 \pm 0.89$ (n=32), para incrementarse a las 72 hs alcanzando el valor de $7,64 \pm 0,72$ (n=14) pero sin alcanzar los valores normales (tabla VI). La curva del calcio total sanguíneo coincide con la de otros autores pero sus valores son más bajos (49, 60).

3.4 Resultados de las variaciones de Mg⁺⁺

Estudiando la variación del Magnesio sanguíneo en función del período periparto (-3 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=137) (Tabla VII) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 4).

Figura 4: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Magnesio sanguíneo en 138 vacas desde el día -3 antes del parto hasta 2 posparto.

Referencias: Magnesio: mEq/l, FechaN: días.

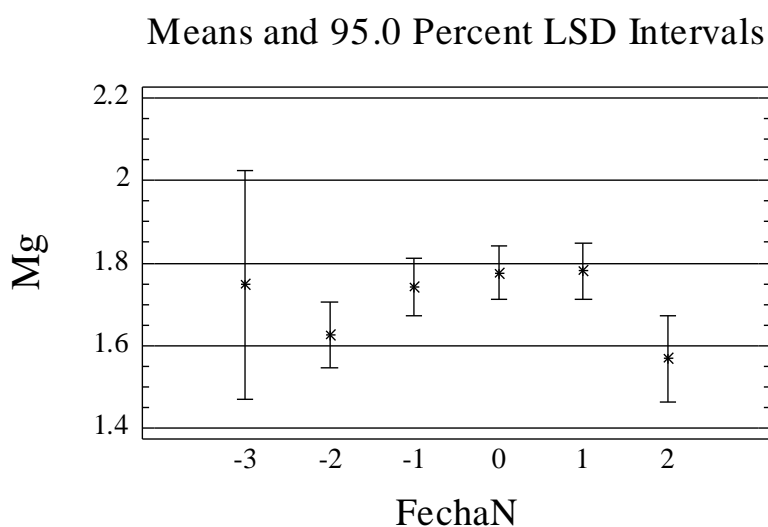


Tabla VII Análisis de varianza del Magnesio sanguíneo en función de período de periparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for Mg - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.139048	1	0.139048	1.81	0.1802
MAIN EFFECTS					
A: FechaN	0.762054	5	0.152411	1.99	0.0843
RESIDUAL	10.0362	131	0.0766122		
TOTAL (CORRECTED)	10.8903	137			

3.5 Resultados de las variaciones de P

Estudiando la variación del Fósforo sanguíneo en función del período periparto (-3 a +2 días) se constata que existe una variación significativa ($p < 0.027$) (Tabla VIII). Esta variación se encontró en el conjunto de todos animales ($n=137$), no existiendo un efecto de vaca individual ($p < 0.906$) (Figura 5).

Figura 5: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Fósforo sanguíneo en 138 vacas desde el día -3 antes del parto hasta 2 posparto. Fósforo: mEq/l, FechaN: días.

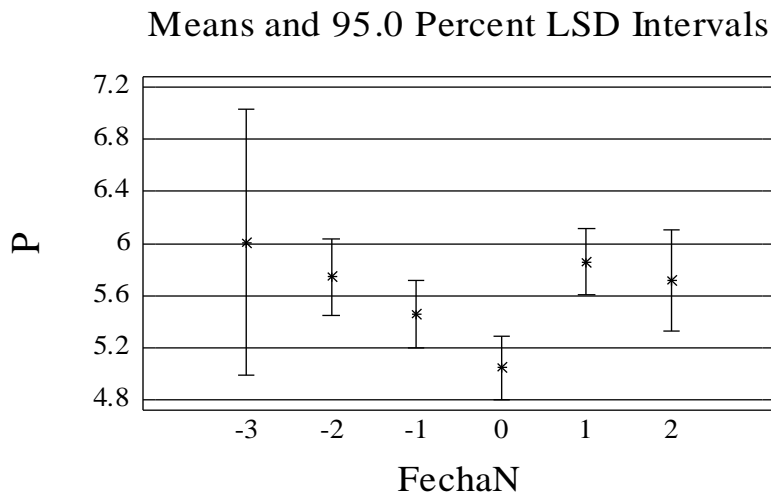


Tabla VIII. Análisis de varianza del Fósforo sanguíneo en función de período de periparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for P - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.0144513	1	0.0144513	0.01	0.9068
MAIN EFFECTS					
A: FechaN	13.7469	5	2.74938	2.62	0.0273
RESIDUAL	137.651	131	1.05077		
TOTAL (CORRECTED)	151.398	137			

Tabla IX: Test de Múltiple rango para Fósforo y FechaN

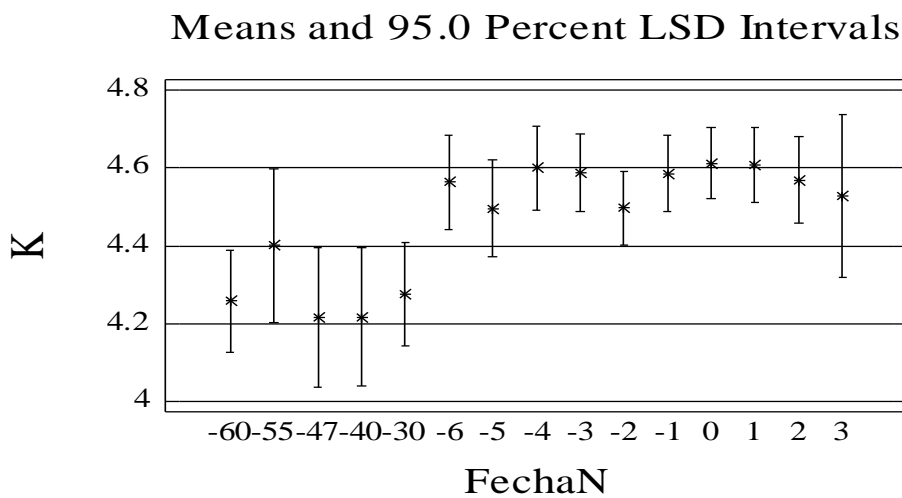
Method: 95.0 percent LSD

FechaN	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
0	35	5.03078	X
-1	31	5.44396	XX
2	14	5.70187	X
-2	24	5.72267	X
1	32	5.86381	X
-3	2	6.1636	XX

3.6 Resultados de las variaciones de K+

Estudiando la variación del Potasio sanguíneo en función del período de gestación – en los últimos 60 días- hasta los 3 días posparto se constata que existe una variación significativa ($p < 0.0036$) (Tabla X). Esta variación se encontró en el conjunto de todos animales ($n=374$), no existiendo un efecto de vaca individual ($p < 0.22$) (Figura 6).

Figura 6: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Potasio sanguíneo en 348 vacas desde el día -60 antes del parto hasta 3 posparto. Caiónico: mEq/l, Fecha: días.



Referencias: Caiónico: mEq/l, Fecha: días.

Tabla X. Análisis de varianza del Potasio sanguíneo en función del día -60 antes del parto hasta 3 posparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for K - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.266888	1	0.266888	1.48	0.2244
MAIN EFFECTS					
A: FechaN	5.99141	14	0.427958	2.37	0.0036
RESIDUAL	64.6934	359	0.180204		
TOTAL (CORRECTED)	71.2292	374			

Tabla XI. Test de múltiplo rango para K y FechaN

Multiple Range Tests for K by FechaN

Method: 95.0 percent LSD			
FechaN	Count	Mean	Homogeneous Groups

-47	11	4.21273	XX
-40	11	4.21727	XX
-60	21	4.2419	X
-30	20	4.2825	XX
-55	9	4.38333	XXX
-5	23	4.49565	XX
-2	38	4.49711	XX
3	8	4.5275	XXX
2	28	4.56679	X
-6	24	4.5675	X
-3	36	4.58583	X
-1	36	4.58694	X
-4	31	4.59968	X
1	37	4.61	X
0	42	4.61286	X

3.7 Resultados de las variaciones de pH.

Estudiando la variación del pH sanguíneo en función del período periparto (-3 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=137) (Tabla XII) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 7).

Figura 7: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del pH sanguíneo en 137 vacas desde el día -3 antes del parto hasta 2 posparto. , Fecha: días.

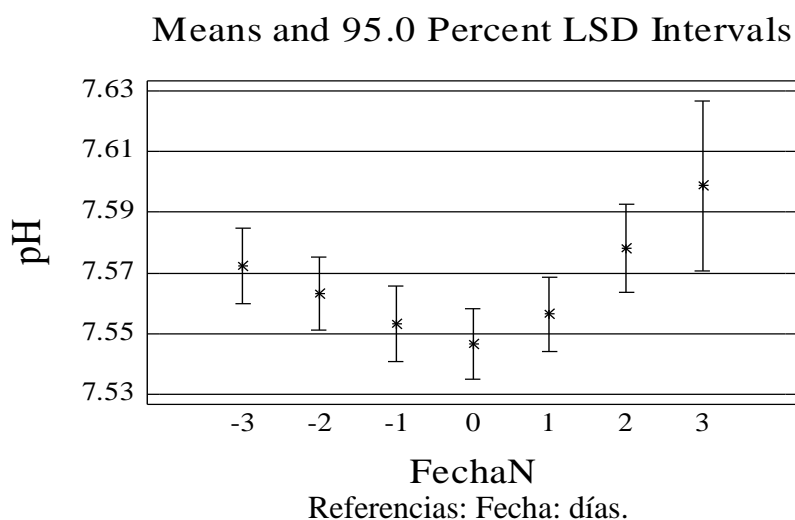


Tabla XII. Análisis de varianza del pH sanguíneo en función de período de periparto covariando el número de vaca

Analysis of Variance for pH - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.0049459	1	0.0049459	1.75	0.1868
MAIN EFFECTS					
A:FechaN	0.0335478	6	0.0055913	1.98	0.0694
RESIDUAL	0.600677	213	0.00282008		
TOTAL (CORRECTED)	0.640276	220			

3.8 Resultados de las variaciones de Na⁺

Estudiando la variación del Sodio sanguíneo en función del período de gestación –en los últimos 60 días- hasta los 3 días posparto se constata que existe una variación altamente significativa ($p < 0.0001$) (Tabla XIII). Esta variación se encontró en el conjunto de todos animales ($n=374$), no existiendo un efecto de vaca individual ($p < 0.19$) (Figura 8).

Figura 8: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Sodio sanguíneo en 348 vacas desde el día -60 antes del parto hasta 3 posparto.

Caiónico: mEq/l, Fecha: días.

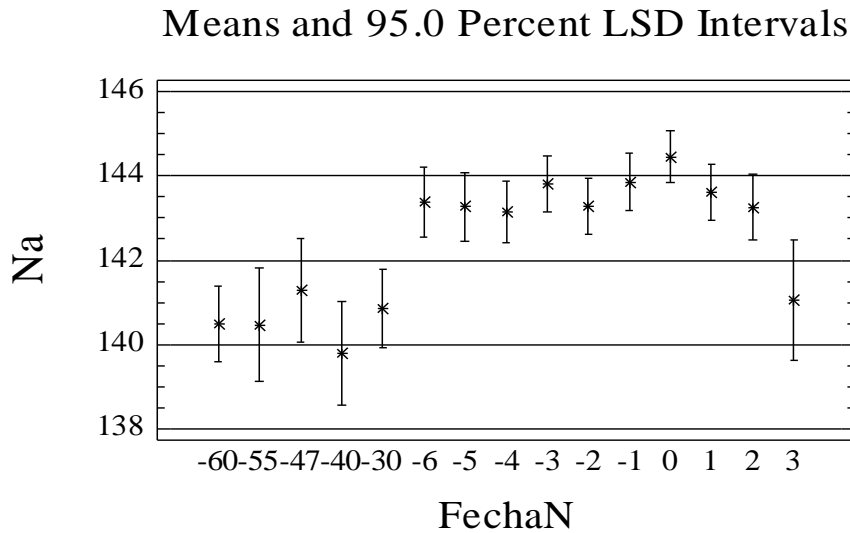


Tabla XIII. Análisis de varianza del Sodio sanguíneo en función de período de gestación y posparto covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for Na - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	14.0383	1	14.0383	1.67	0.1975
MAIN EFFECTS					
A:FechaN	604.958	14	43.2113	5.13	0.0000
RESIDUAL	3014.67	358	8.42085		
TOTAL (CORRECTED)	3664.9	373			

Tabla XIV. Test de múltiplo rango para Na y FechaN

Method: 95.0 percent LSD

FechaN	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
-40	11	139.806	X
-55	9	140.473	X
-60	21	140.489	X
-30	19	140.855	X
3	8	141.063	XXX
-47	11	141.281	XX
-4	31	143.136	XXX
2	27	143.246	XXX
-5	24	143.259	XXX
-2	38	143.269	XX
-6	24	143.379	XX
1	37	143.609	X
-3	36	143.809	X
-1	36	143.849	X
0	42	144.449	X

3.9 Estudio de relaciones entre parámetros

Se analizaron estadísticamente variaciones entre parámetros sanguíneos. A continuación se presentan los resultados relevantes.

3.9.1 Calcio Total vs. Calcio iónico

Se encontró una relación positiva altamente significativa entre Calcio Total y Calcio iónico ($p < 0.00001$) (Tabla XV), con el modelo de curva de regresión siguiente:
 $CaT = 2.47655 + 6.22911 * Ca \text{ iónico}$ en el periodo periparto y en el total de las muestras ($n=91$).

Tabla XV. Análisis de regresión y varianza.

Dependent variable: CaT
 Independent variable: Caionico

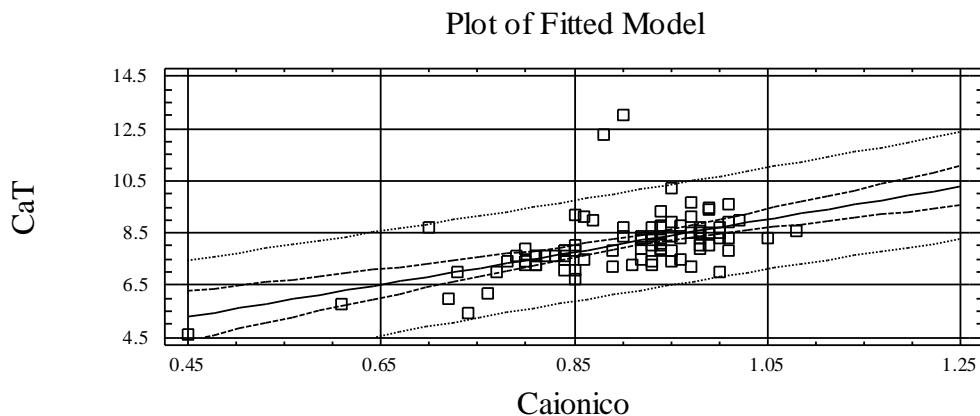
Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	2.47655	0.932815	2.65493	0.0094
Slope	6.22911	1.03004	6.04747	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	34.0948	1	34.0948	36.57	0.0000
Residual	83.9039	90	0.932266		
Total (Corr.)	117.999	91			

Correlation Coefficient = 0.537533
 R-squared = 28.8942 percent
 Standard Error of Est. = 0.965539

Figura 9 - Curva de regresión simple de Calcio Total (CaT) vs. Calcio iónico (Caiónico)



3.9.2 Calcio Total vs. Fósforo.

Se encontró una relación negativa altamente significativa entre Calcio Total y Fósforo ($p < 0.00001$) (Tabla XVI), con el modelo de curva de regresión siguiente:
 $CaT = 5.23447 + 0.485479 * P$ en periodo periparto en el total de las muestras (n=102).

Tabla XVI. Análisis de regresión y varianza.

Dependent variable: CaT
 Independent variable: P

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	10.4804	0.483552	21.6739	0.0000
Slope	-13.6608	2.60376	-5.24659	0.0000

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	29.2258	1	29.2258	27.53	0.0000
Residual	107.234	101	1.06173		
Total (Corr.)	136.46	102			

Correlation Coefficient = -0.462786
 R-squared = 21.4171 percent
 Standard Error of Est. = 1.0304

3.9.3 Calcio Total vs. Magnesio.

Se encontró que no hubo relación significativa entre Calcio Total y Magnesio (Tabla XVII). (n=102), en el período periparto.

Tabla XVII: Análisis de regresión y varianza.

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: CaT
Independent variable: Mg

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	9.26545	0.677081	13.6844	0.0000
Slope	-0.742773	0.391892	-1.89535	0.0609

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	4.68689	1	4.68689	3.59	0.0609
Residual	131.773	101	1.30468		
Total (Corr.)	136.46	102			

Correlation Coefficient = -0.185328
R-squared = 3.43463 percent
Standard Error of Est. = 1.14223

3.9.4 Calcio Total vs. Potasio.

Se encontró una relación significativa entre Calcio Total y Potasio ($p < 0.018$) (Tabla XVIII), con el modelo de curva de regresión siguiente:

$CaT = 5.19113 + 0.620732 * K$ en periodo periparto en el total de las muestras (n=98).

Tabla XVIII: Análisis de regresión y varianza.

Dependent variable: CaT

Independent variable: K

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	5.19113	1.09989	4.71969	0.0000
Slope	0.620732	0.238932	2.59794	0.0108

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	8.60273	1	8.60273	6.75	0.0108
Residual	123.637	97	1.27461		
Total (Corr.)	132.24	98			

Correlation Coefficient = 0.255057

R-squared = 6.50539 percent

Standard Error of Est. = 1.12899

3.9.5 Calcio Total vs. Sodio.

Se encontró que no hubo relación significativa entre Calcio Total y Sodio (Tabla XIX). (n=88) durante el periparto.

Tabla XIX: Análisis de regresión y varianza.

Dependent variable: CaT
Independent variable: Na

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	12.7668	6.65493	1.9184	0.0583
Slope	-0.0328635	0.0464307	-0.707796	0.4810

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	0.710275	1	0.710275	0.50	0.4810
Residual	123.347	87	1.41779		
Total (Corr.)	124.058	88			

Correlation Coefficient = -0.0756661
R-squared = 0.572536 percent
Standard Error of Est. = 1.19071

3.9.6 Calcio Total vs. pH

Se encontró que no hubo relación significativa entre Calcio Total y pH (n=98)(tabla XX) durante el periparto.

Tabla XX: Análisis de regresión y varianza.

Regression Analysis - Linear model: $Y = a + b \cdot X$

Dependent variable: CaT
Independent variable: pH

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
Intercept	-13.8799	18.7557	-0.740034	0.4611
Slope	2.89768	2.4801	1.16837	0.2455

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	1.8352	1	1.8352	1.37	0.2455
Residual	130.405	97	1.34438		
Total (Corr.)	132.24	98			

Correlation Coefficient = 0.117804
R-squared = 1.38778 percent
Standard Error of Est. = 1.15947

3.10 Tratamientos

Los tratamientos realizados sobre las vacas fueron:

1er. Grupo: Sales aniónicas.

2do. Grupo: Geles de Calcio.

3er. Grupo: Fósforo.

4to. Grupo: Fósforo y Magnesio

5to. Grupo: Sin tratamiento como grupo testigo.

(Ver página 25)

3.10.1 Valores sanguíneos generales

Se presentan en las tablas XXI, XXII, XXIII, XXIV y XXV los valores sanguíneos generales de grupos de vacas al día del parto de todos los tratamientos y el grupo testigo.

3.10.2 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con Geles

Tabla XXI - Valores sanguíneos de los animales bajo tratamiento con geles, al día del parto

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
prom	0.838	4.70	145.11	7.58	6.92	1.58	4.90
ds	0.129	0.35	2.38	0.05	1.49	0.13	1.39
n	8	8	8	8	5	5	5

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l ; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

3.10.3 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con P

Tabla XXII - Valores sanguíneos de los animales bajo tratamiento con P, al día del parto.

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
Prom	0.802	4.62	145.19	7.54	7.18	1.70	5.58
Ds	0.109	0.44	1.74	0.07	1.34	0.25	1.08
N	9	9	9	8	8	8	8

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l ; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

3.10.4 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con P+Mg

Tabla XXIII - Valores sanguíneos de los animales bajo tratamiento con P+Mg, al día del parto.

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
prom	0.808	4.70	143.88	7.52	8.09	1.92	5.03
ds	0.216	0.33	4.25	0.08	1.10	0.23	1.44
n	8	8	8	8	8	8	8

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l ; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

3.10.5 Valores sanguíneos del día del parto de vacas tratadas con sales

Tabla XXIV - Valores sanguíneos de los animales bajo tratamiento con sales, al día del parto.

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
prom	0.837	4.59	143.34	7.52	7.30	1.75	4.94
ds	0.113	0.34	3.02	0.08	1.12	0.26	1.40
n	9	9	9	9	7	7	7

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l ; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

3.10.6 Valores sanguíneos del día del parto de vacas testigo

Tabla XXV - Valores sanguíneos de los animales sin tratamiento, al día del parto.

	Ca ⁺⁺	K ⁺	Na ⁺	pH	Ca	Mg	P
prom	0.835	4.46	143.43	7.56	6.86	1.86	4.69
ds	0.086	0.20	2.62	0.05	0.89	0.30	0.78
n	8	8	8	8	7	7	7

Referencias: Ca⁺⁺, K⁺ y Na⁺ = mEq/l ; Ca, Mg y P: mg/dl; prom= promedio, ds= desvío estándar, n= número de muestras.

3.11 Calcio Total

Estudiando la variación del Calcio total sanguíneo en función de los tratamientos durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existieron variaciones significativas (n=80) (Tabla XXVI) , como tampoco un efecto de vaca individual (Figura 10).

Tabla XXVI : Análisis de varianza del Calcio Total sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for CaT - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.269151	1	0.269151	0.27	0.6038
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	6.01322	4	1.50331	1.52	0.2058
RESIDUAL	74.3179	75	0.990905		
TOTAL (CORRECTED)	82.0714	80			

Tabla XXVII - Test de múltiplo rango para Calcio Total por tratamientos.

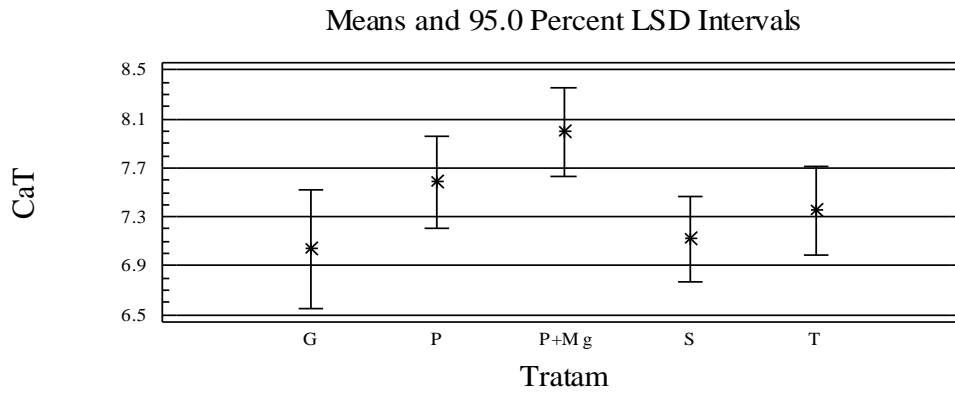
Multiple Range Tests for CaT by Tratam

Method: 95.0 percent LSD			
Tratam	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
G	11	7.08325	X
S	18	7.13999	X
T	16	7.39543	XX
P	16	7.64867	XX
P+Mg	20	8.03537	X
Contrast		Difference	+/- Limits
G - P		-0.56542	0.779103
G - P+Mg		*-0.952116	0.746687
G - S		-0.0567382	0.761265
G - T		-0.312174	0.779103
P - P+Mg		-0.386695	0.667184
P - S		0.508682	0.683459
P - T		0.253247	0.703274
P+Mg - S		*0.895377	0.646264
P+Mg - T		0.639942	0.667184
S - T		-0.255435	0.683459

* denotes a statistically significant difference.

Figura 10: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Calcio total sanguíneo en 80 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.

G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos.



3.12 Calcio iónico.

Estudiando la variación del Calcio iónico sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=111) (Tabla XXVIII) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 13).

Tabla XXVIII: Análisis de varianza del Calcio Total sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for Caionico - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
FechaN	0.030967	1	0.030967	2.68	0.1046
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	0.0427338	4	0.0106834	0.92	0.4527
RESIDUAL	1.22504	106	0.011557		
TOTAL (CORRECTED)	1.29881	111			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Tabla XXIX - Test de múltiplo rango para Calcio iónico por tratamientos.

Multiple Range Tests for Caionico by Tratam

Method: 95.0 percent LSD

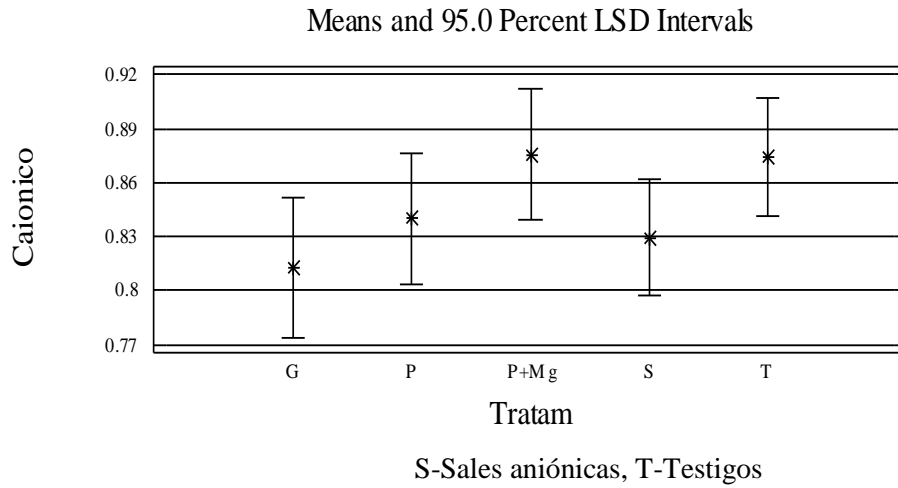
Tratam	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
G	22	0.815296	X
S	23	0.832057	XX
P	21	0.84664	XX
T	22	0.877509	XX
P+Mg	24	0.878121	X

Contrast	Difference	+/- Limits
G - P	-0.0313446	0.064514
G - P+Mg	*-0.0628252	0.062417
G - S	-0.0167615	0.0630626
G - T	-0.062213	0.0637595
P - P+Mg	-0.0314806	0.0631876
P - S	0.0145831	0.0638254
P - T	-0.0308683	0.064514
P+Mg - S	0.0460637	0.061705
P+Mg - T	0.000612276	0.062417
S - T	-0.0454514	0.0630626

* denotes a statistically significant difference.

Figura 11: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Calcio iónico en 111 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.

Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio,



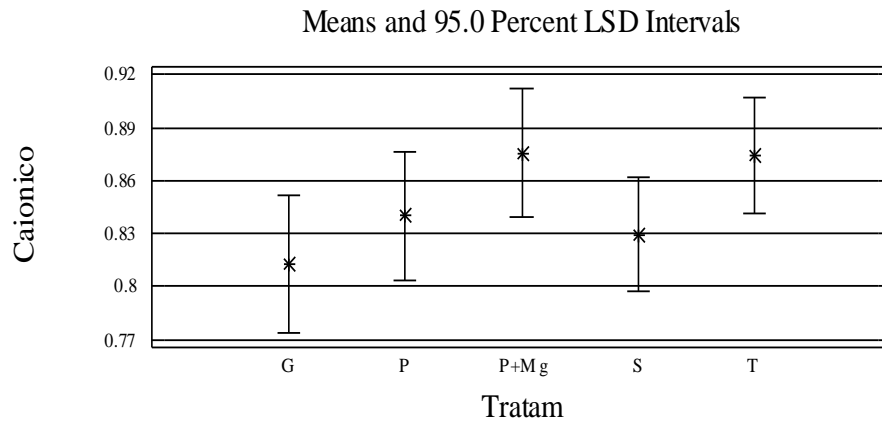
3.13 Fósforo

Estudiando la variación del Fósforo sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=80) (Tabla XXX) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 14).

Tabla XXX: Análisis de varianza del Fósforo sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for P - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.0506978	1	0.0506978	0.04	0.8449
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	2.81218	4	0.703045	0.53	0.7110
RESIDUAL	98.7199	75	1.31627		
TOTAL (CORRECTED)	103.257	80			

Figura 12: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Fósforo sanguíneo en 80 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.



Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos

3.14 Magnesio

Estudiando la variación del Magnesio sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que existen variaciones significativas (n=80) (Tabla XXXI) , no existiendo un efecto de vaca individual (Figura 15).

Tabla XXXI: Análisis de varianza del Magnesio sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for Mg - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.0936814	1	0.0936814	1.23	0.2706
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	1.01121	4	0.252804	3.32	0.0146
RESIDUAL					
	5.70295	75	0.0760394		
TOTAL (CORRECTED)					
	6.71474	80			

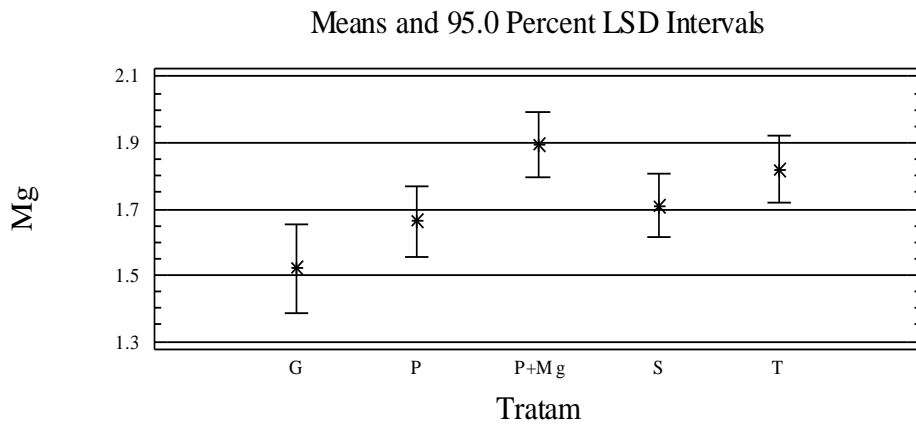
Tabla XXXII: Test de múltiplo rango para Magnesio por tratamientos.

Multiple Range Tests for Mg by Tratam

Method: 95.0 percent LSD			
Tratam	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
G	11	1.52169	X
P	16	1.66218	XX
S	18	1.71021	XX
T	16	1.81942	XX
P+Mg	20	1.8941	X
Contrast		Difference	+/- Limits
G - P		-0.140484	0.215158
G - P+Mg		*-0.372412	0.206206
G - S		-0.188523	0.210232
G - T		*-0.297727	0.215158
P - P+Mg		*-0.231928	0.18425
P - S		-0.0480381	0.188745
P - T		-0.157242	0.194217
P+Mg - S		*0.18389	0.178473
P+Mg - T		0.0746857	0.18425
S - T		-0.109204	0.188745

* denotes a statistically significant difference.

Figura 13: Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Magnesio sanguíneo en 80 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.



Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos

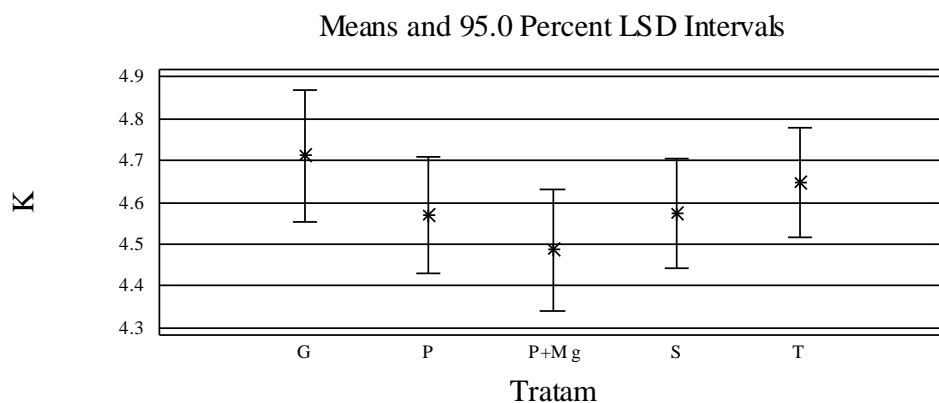
3.15 Potasio

Estudiando la variación del Potasio sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=114) (Tabla XXXIII) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 16).

Tabla XXXIII - Análisis de varianza del Potasio sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for K - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.201009	1	0.201009	1.04	0.3098
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	0.403487	4	0.100872	0.52	0.7193
B:FechaN	0.101319	3	0.0337731	0.17	0.9131
RESIDUAL	20.4581	106	0.193001		
TOTAL (CORRECTED)	20.9571	114			

Fig. 14 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Potasio sanguíneo en 224 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.



Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos

3.16 Sodio

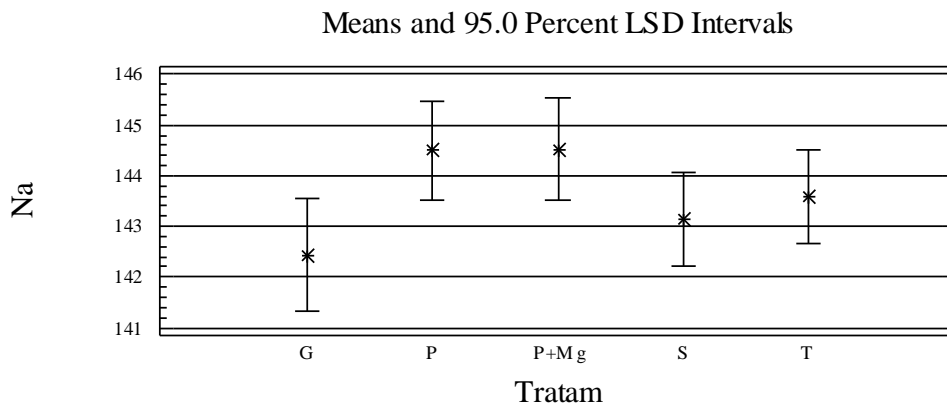
Estudiando la variación del Sodio sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=113) (Tabla XXXIV) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 15).

Tabla XXXIV - Análisis de varianza del Sodio sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for Na - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	26.5221	1	26.5221	2.95	0.0886
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	32.6814	4	8.17034	0.91	0.4612
RESIDUAL	970.136	108	8.98274		

TOTAL (CORRECTED)	1004.8	113			

Fig. 15 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del Sodio sanguíneo en 113 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.



Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos

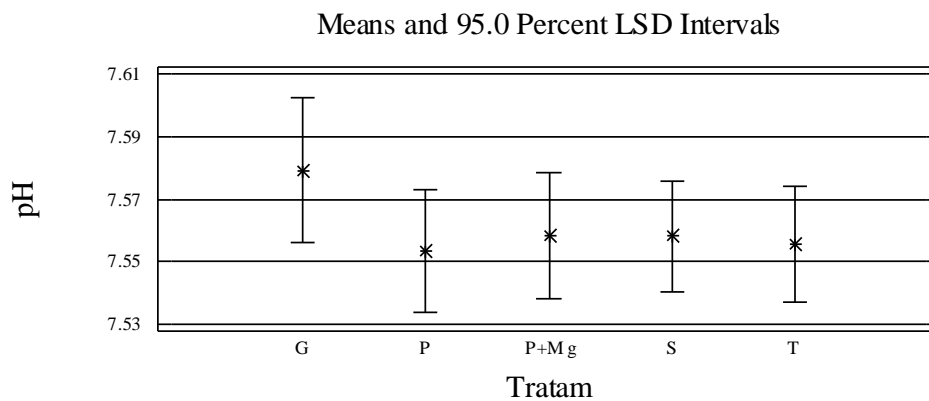
3.17 pH sanguíneo

Estudiando la variación del pH sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=110) (Tabla XXXV) , no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (Figura 16).

Tabla XXXV - Análisis de varianza del Sodio sanguíneo en función del tratamiento covariando el número de vaca.

Analysis of Variance for pH - Type III Sums of Squares					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
COVARIATES					
numevaca	0.00182909	1	0.00182909	0.52	0.4733
MAIN EFFECTS					
A:Tratam	0.00626763	4	0.00156691	0.44	0.7768
RESIDUAL	0.370816	105	0.00353158		
TOTAL (CORRECTED)	0.377277	110			

Fig. 16 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa del pH sanguíneo en 110 vacas desde el día 0 a 2 posparto relacionando con distintos tratamientos.



Referencias: G-Geles de Calcio, P-Fósforo, P+Mg-Fósforo más Magnesio, S-Sales aniónicas, T-Testigos

3.18 Producción de Leche vs. Tratamientos

Estudiando la variación de la producción total de leche (litros) corregida a 305 días en función del tratamiento se constata que no existen variaciones significativas (n=34) (Tabla XXXVI), (Figura 17).

Tabla XXXVI - Análisis de varianza de promedio de producción total de leche corregida a 305 días en función del tratamiento.

ANOVA Table for Leche corregida by Tratam

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5.29105E6	4	1.32276E6	0.92	0.4669
Within groups	4.32734E7	30	1.44245E6		
Total (Corr.)	4.85644E7	34			

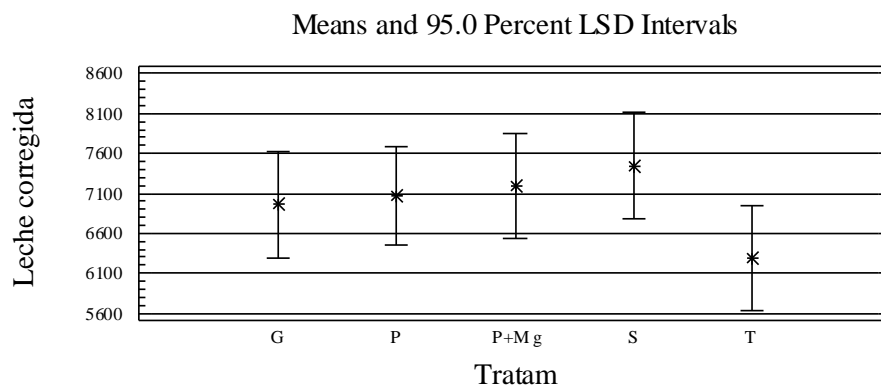
Tabla XXXVII - Medias de producción de leche corregida a 305 día expresadas en litros y los tratamientos respectivos.

	S	P	P+Mg	G	T
Promedio	7.445.51	7.004.14	7.058.16	6.960.0	6.285.0
Ds	1.647.18	1.045.24	1.377.24	1.008.59	686.44
N	7	7	6	7	7

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos, ds= desvío estándar n= número de muestras

Fig. 17 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa de las producciones de leche corregidas a 305 días en 34 vacas relacionando con distintos tratamientos.

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos



3.19 Producción por litros de leche vs. tratamientos.

Estudiando la variación de los litros de leche producidos promedialmente los primeros 135 días posparto en función del tratamiento se constata que existen variaciones significativas ($p < 0.0484$, $n=185$) (Tabla XXXVIII), (Figura 18). Los testigos presentaron valores de leche/día menores que los de las vacas en tratamientos; en particular P+Mg y sales fueron significativos y en los otros hubo una tendencia (Tabla 39).

Tabla XXXVIII - Análisis de varianza de promedio de producción total de leche corregida a 305 días en función del tratamiento.

ANOVA Table for Litros by Tratam

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	265.201	4	66.3003	2.44	0.0484
Within groups	4912.49	181	27.1408		
Total (Corr.)	5177.69	185			

Tabla XXXIX - Test de múltiplo rango relacionando litros producidos durante los primeros 135 días posparto y los tratamientos realizados.

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos

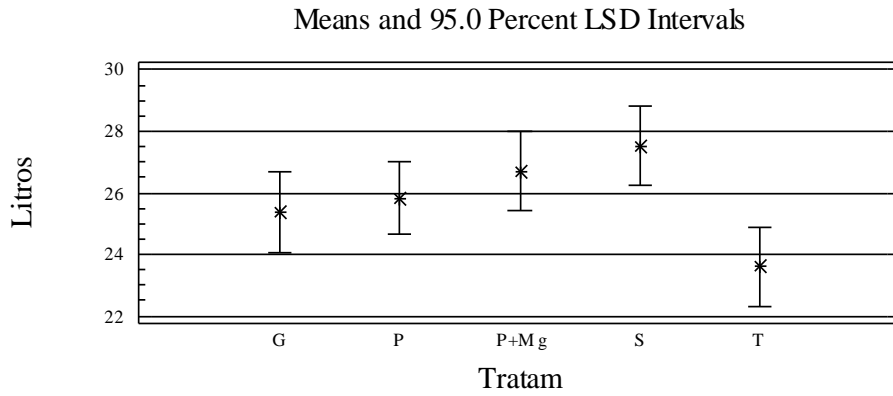
Multiple Range Tests for Litros by Tratam

Method: 95.0 percent LSD			
Tratam	Count	Mean	Homogeneous Groups
T	35	23.5914	X
G	34	25.2941	XX
P	42	25.7333	XX
P+Mg	37	26.5838	X
S	38	27.1053	X

Contrast	Difference	+/- Limits
G - P	-0.439216	2.37146
G - P+Mg	-1.28967	2.4421
G - S	-1.81115	2.42666
G - T	1.70269	2.47528
P - P+Mg	-0.85045	2.31773
P - S	-1.37193	2.30146
P - T	2.1419	2.35267
P+Mg - S	-0.521479	2.37417
P+Mg - T	*2.99236	2.42385
S - T	*3.51383	2.40829

Fig18 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa de los litros de leche producidos los primeros 135 días de lactancia en 34 vacas relacionando con distintos tratamientos.

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos



3.20 Período Parto-Concepción

Estudiando la variación de los días abiertos (período parto-concepción) en función del tratamiento se constata que no existen variaciones significativas (n=185) (Tabla XL) , (Figura 19).

Tabla XL - Análisis de varianza de promedio de días abiertos en función del tratamiento.

ANOVA Table for Dias abiertos by Tratam

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	23419.5	4	5854.88	2.20	0.0933
Within groups	79970.1	30	2665.67		
Total (Corr.)	103390.0	34			

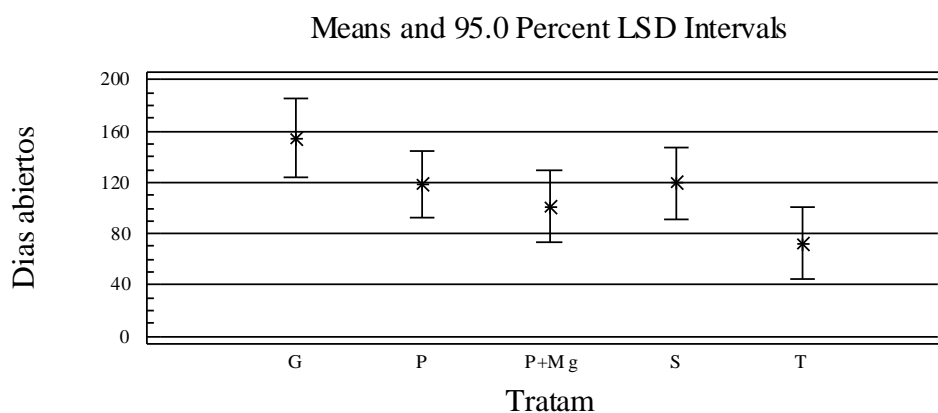
Tabla XLI - Medias de días abiertos expresados en días y los tratamientos respectivos.

	S	P	P+Mg	G	T
Promedio	119.6	118.5	92.5	144.14	72.28
Ds	47.8	63.99	35.76	70.8	19.7
N	7	6	7	7	7

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos
Ds = desvío estándar

Fig. 19 - Variaciones promediales e intervalo de mínima diferencia significativa de los días abiertos en 34 vacas relacionando con distintos tratamientos.

Referencias: G-Geles de Calcio P-Fósforo P+Mg-Fósforo más Magnesio S-Sales aniónicas T-Testigos



3.21 Variaciones Clínicas

Ningún grupo de las vacas del ensayo presentó alteraciones patológicas como: distocias, vaca caída, retención de placenta y metritis.

3.22 Resultados del control de pH urinario

Se realizó la medición del pH urinario en dos grupos de vacas: las tratadas con sales aniónicas y los testigos. Ese control fue realizado a los siete y quince días después de haber comenzado los animales a consumir las sales a los efectos de medir las variaciones metabólicas y el efecto de la administración. Se tomaron en forma exploratoria e individualmente a algunas de esas vacas.

No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en los dos períodos (Tabla XLII).

Tabla XLII. Resultados de los valores de pH urinario de dos grupos de vacas (tratadas y testigo).

Sales aniónicas	7 días tratamiento		15 días tratamiento	
	Sales	No sales	Sales	No sales
Promedio	7.95	8.11	8.10	8.10
d.s.	0.21	0.04	0.04	0.13
n	4	3	2	8

Se expresan los resultados promedio con su desvío estándar (d.s.) y la cantidad de vacas (n).

4. DISCUSIÓN

4.1 Ca iónico

Los resultados promediales de Ca^{++} de todas las vacas en este ensayo (3.3 - 4.1 mg/dl, n=382) son inferiores a los citados por la bibliografía (4.8 – 6.2 mg/dl) para este metabolito (Lincoln S.D. & Lane V.M. 1990, Radostits O.M. 1999).

Se encontró que en las variaciones de los promedios de todos los grupos de vacas estudiadas existe una disminución significativa del Ca iónico a partir del día -1, el día 0 que es el más bajo y luego tiende a volver a sus valores sin recuperar los que tenía inicialmente. Resultados semejantes fueron observados en otros trabajos (Cunha Leite L. et al 2003).

Se comprobó que el comportamiento del promedio de las vacas del ensayo no estuvo influido por los tratamientos (tabla III), por lo tanto la variación general observada de disminución se puede relacionar con el efecto fisiológico del parto, en el periodo periparto (-3 a +3) esas variaciones son significativas constatándose una disminución en el día 0 y su posterior incremento (Fig. 1 y 2 - Tablas III y IV). Resulta observable que esos valores sanguíneos de Ca iónico en el posparto tienden a ser más bajos significativamente que en el preparto (tabla II). Estos resultados son concordantes con algunos trabajos (Horst R.L. et al 1997, Horst R.L. et al 1998, Houe H. et al 2001, Cunha Leite L. et al 2003) que han constatado que durante el periodo del periparto y principalmente el día del parto sucede una brusca caída del Ca iónico.

4.2 Ca Total

Estudiando la variación del calcio total en función del periodo periparto (-3 a +2 días) se constata que existe una variación altamente significativa en el conjunto de todos los animales (n=138) no existiendo un efecto de vaca individual (tabla V).

Se encontró relación significativa y positiva entre calcio sanguíneo total y el Calcio iónico. Se calculó una regresión lineal altamente significativa (tabla XV) con un coeficiente de correlación de 0.54, esta relación concuerda con la bibliografía (Lincoln S.D. . & Lane V.M. 1990, Cunha Leite L. et al 2003).

El comportamiento del Ca total y Ca^{++} , fue similar, disminuyendo ambos al día del parto coincidiendo con los trabajos de otros autores (Moodie E.W. . et al 1955).

También se encontraron relaciones del CaT con otros minerales en sangre.

- Con el Fósforo se observa una regresión significativa presentando un coeficiente de correlación negativa de -0.46 (tabla XVI) que también concuerda con la bibliografía (Moodie E.W. et al 1955, Klimiene I. et al 2002).
- Con el Potasio existe otra relación significativa (tabla XVIII) con un coeficiente de correlación de 0.26.
- No se encontraron relaciones entre el calcio sanguíneo total y el Magnesio (tabla XVII), el Sodio (tabla XIX) y pH (tabla XX).

4.3 Magnesio

Estudiando la variación del Magnesio sanguíneo en función del periodo periparto (-3 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=137) ni tampoco un efecto de vaca individual (tabla VII). Se nota una tendencia aunque no significativa al incremento de Mg al día del parto (día 0) $1,78 \pm 0,26$ mg/dl alcanzando el día 0 su máximo valor que se encuentra en el límite inferior al que relata la bibliografía nacional como normal (Barros L. 1987, Kojouri GA. & Karimzadeh 2002). Esta tendencia del Mg a aumentar el día del parto día 0 concuerda con otros trabajos (Andressen H. 2001) Se nota que las vacas en estudio muestran una hipomagnesemia (1.72 ± 0.28 , n= 138) (Roche J.R. 2003) que se eleva relativamente al día del parto (1.78 ± 0.26 , n= 35) acercándose a los límites inferiores de lo considerado normal en las referencias con un valor de 1.8 mg/dl (ver “Valores de referencia” *ut supra*) (Barros L. 1987), (Fig. 4). El comportamiento de este mineral es el mismo que se notifican en otros ensayos pero llama la atención al igual que con el calcio total y el calcio iónico que los valores son notoriamente inferiores (Moodie E.W. et al 1955, Andressen 2001, Contreras P. 2002 a).

4.4 Fósforo

Observando la variación del Fósforo sanguíneo en función del periodo del periparto (-3 a + 2 días) se constata que existe una variación significativa en el conjunto de animales (n=137) no encontrándose un efecto de vaca individual (tabla VIII). Existe una tendencia significativa descendiendo bruscamente el P al día del parto alcanzando los valores más bajos (5.03 ± 1.2 mg/dl) (fig5) pero considerándose todavía valores normales (Barros L. 1981, Barros L. 1987, Radostits O.M. 1999). La curva de comportamiento del P en el periparto (Fig. 5) coincide con la de otros trabajos (Moodie E.W. et al 1955, Klimiene I. et al 2002, Kojouri GA. & Karimzadeh J. 2002). En la tabla 9 se observa como los días 0, -1 y -3 forman un grupo homogéneo frente a los otros días.

4.5 Potasio

Examinando la variación del Potasio sanguíneo en función del período de gestación (en los últimos 60 días hasta los 3 días posparto) se constata que existe una variación significativa en el conjunto de todos los animales (n=374) no existiendo un efecto individual (tabla X). Se nota que todos los valores son levemente inferiores a los normales (Barros L. 1981, Radostits O.M. 1999) y que en el periodo preparto mas lejano entre -60 y -30 días los valores promedio son mas bajos que en periodo periparto (-6 a +3) (Fig. 6). Comportándose los días -6 a +2 como un grupo homogéneo mientras que los días anteriores del preparto se comportan como otro grupo homogéneo (Fig. 6) (tabla X).

4.6 pH

Estudiando la variación del pH sanguíneo en función del período periparto (-3 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=220) no existiendo tampoco un efecto de vaca individual (tabla XII). Aunque, no significativo se nota un descenso gradual del pH hasta el día del parto el cual es el valor mas bajo ($7.54 \pm 0,07$) incrementándose rápidamente para alcanzar el día 3 valores de 7.60 (Fig. 7). Se observa que si bien se mantiene un estado de alcalosis sanguínea esta disminuye el día del parto lo que facilita la movilización de calcio sanguíneo. Los valores de pH encontrados en este ensayo son levemente más altos que los que citan la bibliografía (Barros L. 1981, Radostits O.M. 1999).

4.7 Sodio

Estudiando la variación del Na sanguíneo en función del período de gestación (los últimos 60 días preparto hasta los 3 días posparto) se constata que existe una variación significativa en el conjunto de los animales (n=374) no existiendo un efecto de vaca individual (tabla XIII). Al igual que con el K se nota que en el periodo preparto mas lejano entre -60 y -30 días los valores promedio son mas bajos que en periodo periparto (-6 a +3) (Fig. 6). Comportándose los días -6 a +2 como un grupo homogéneo mientras que los días anteriores del preparto se comportan como otro grupo homogéneo. El día 0 se observa el máximo valor de Na (144.19 ± 3.12) y a partir del día 2 se comienza a observar una tendencia, que se hace mas marcada el día 3 en que los valores de Na comienzan a disminuir (tabla 14). Los valores de Sodio obtenidos en el ensayo se encuentran dentro de los rangos normales citados por la bibliografía (Barros L. 1981, Radostits O.M. 1999).

4.8 Tratamientos

Estudiando los efectos de los tratamientos sobre las **variaciones en los parámetros sanguíneos** se han podido corroborar algunas observaciones.

4.8.1 Calcio iónico

Estudiando la variación del calcio iónico en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a + 2 días) (n=111) no se observan variaciones significativas (tabla XXVI).

Al igual que en el Calcio total sanguíneo aunque no es significativo el tratamiento de P+Mg es el que alcanza los valores de calcio iónico mas elevado 0.88 ± 0.216 mmol/l (Fig. 13) (n=8)

4.8.2 Calcio total

Estudiando la variación del Calcio total sanguíneo durante el día del parto hasta el 2do día posparto (n=80) en función de los tratamientos, no se observan variaciones significativas. Tampoco se observan variaciones significativas por efecto vaca individual (tabla XXVI).

Aunque no es significativo, el tratamiento de fósforo más magnesio (P+Mg) es el único que permite alcanzar valores de Ca total sanguíneo de 8.09 ± 1.10 mg/dl (Fig. 12) (n=8). Se puede considerar que los otros grupos se encuentran en condición de hipocalcemia subclínica (Rosemberger G 1975), no influyendo sobre el efecto del parto.

4.8.3 Fósforo

Observando la variación de fósforo sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que no existen variaciones significativas (n=80) (tabla XXX).

Aunque todos los valores entran dentro el rango normal citado por la bibliografía (Barros L. 1981, Radostits O.M. 1999) en el tratamiento con P era de esperarse el valor más alto de P (5.58 ± 1.08 mg/dl) (n=8).

4.8.4 Magnesio

Estudiando la variación del Magnesio sanguíneo en función del tratamiento durante el día del parto al 2do día posparto (0 a +2 días) se constata que existen variaciones significativas (<0.0015) (n=80) (Tabla XXXI) (Figura 15). El tratamiento de P + Mg es el que alcanza significativamente los valores mas altos de Magnesio (1.89 ± 0.30).

4.8.5 Potasio

Aunque en los resultados de los tratamientos no se encuentra una diferencia significativa se noto que en el tratamiento de P+Mg fue donde se logaron resultados de K mas bajos 4.46 ± 0.20 .

4.8.6 Sodio y pH

Ninguno de los tratamientos tuvo incidencia sobre el Sodio ni el pH sanguíneos.

4.9 Efecto de los tratamientos sobre producción de leche, intervalo parto-concepción y variables clínicas

4.9.1 Leche corregida

No se observaron diferencias significativas en cuanto a mayor producción de leche total, si bien el grupo tratado con sales y P+Mg tuvieron un mejor desempeño relativo. Se nota una tendencia entre el grupo Testigo frente al grupo Tratados (tabla XXXVII) (Fig. 18) a tener aquellos una menor producción de leche. Coincidiendo este trabajo con otros trabajos que mencionan un mejor desempeño productivo para las vacas tratadas (Houe et al H. 2001).

4.9.2 Leche producción vaca individual

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos tratados con sales y P+Mg, que fueron los que mejor se comportaron en producción individual contra el grupo testigo.

Igualmente se observa una tendencia entre el grupo Testigo frente al grupo Tratados en el que el grupo Testigo tiene un menor desempeño productivo que los grupos tratados (Fig. 19) (tabla XXXVIII y XXXIX) compartiendo en este caso la opinión de otros trabajos (Houe H. et al 2001)

4.9.3 Período parto-concepción.

Ninguno de los tratamientos tuvo influencia aparente en el período parto-concepción. No apareciendo coincidencias con otros trabajos (Jonsson N. et al 1998, Houe H. et al 2001)

4.9.4 Variables clínicas.

No se observaron diferencias entre los tratamientos al no haber ninguna alteración clínica ni patológica.

4.9.5 Tratamientos contra variables sanguíneas

Observando el comportamiento de los diferentes tratamientos se encuentra que hubo diferencias significativas en los niveles de Magnesio en sangre y de producción de leche en vaca individual. Cuando se utilizó el tratamiento de P+Mg aumentaron los niveles de Magnesio en sangre y cuando se utilizaron los tratamientos de sales aniónicas y P+Mg incrementaron la producción de leche de vaca individual.

En los otros tratamientos hubo solo tendencias no significativas para el caso del:

- Calcio total sanguíneo y calcio iónico donde se observa que el tratamiento de P+Mg fue en el que se demostró los valores más altos de ambas formas de ese mineral.
- Potasio: se constata que el tratamiento parenteral de P+Mg es el que logra los valores más bajos.
- Fósforo se comprueba que el tratamiento con fósforo es el que logra los mejores valores de P con su aplicación parenteral.
- pH y Sodio: no se observan variaciones según los tratamientos.
- Producción de leche corregida a 305 días: se observa una tendencia donde los tratamientos con sales aniónicas y P+Mg dieron los mejores resultados en cantidad de leche y todos los tratamientos fueron mejores que el grupo testigo.
- Período parto-concepción: no se observan diferencias entre tratamientos ni con el grupo testigo.
- Variables clínicas: no se observaron entidades patológicas por lo que no se pueden evaluar los tratamientos.

En cuanto a la practicidad de administración los tratamientos de P y P+Mg fueron los que resultaron más sencillos de administrar ya que solamente se realizan dos aplicaciones parenterales subcutáneas 60 y 45 días antes del parto.

El tratamiento con sales aniónicas, no dio los resultados esperados sobre la calcemia aunque sí sobre la producción de leche. Considerando que el control del pH urinario en dos oportunidades no varió sustancialmente, verifica que el efecto de acidificación en sangre u orina fue muy limitado. Para ese tratamiento se notan dificultades prácticas si no se dispone de carro mezclador y cuando se suministra en comederos individuales hay importantes dificultades para su suministro debido principalmente a la baja palatabilidad del producto, confirmando lo escrito en diversos trabajos (Oetzel GR. 1993 a, Roche J.R. 2003).

En cuanto al tratamiento con geles de calcio los resultados obtenidos no coinciden con trabajos de diferentes autores (Queen G 1993), aunque la mayoría de los trabajos usan cloruro de calcio y en este trabajo se empleó propionato de calcio. También se debe notar las dificultades prácticas para el suministro de animales que se encuentran en pastoreo, ya que hay que llevar a vacas que están próximas al parto a instalaciones donde se las puedan sujetar para aplicarle el producto vía oral y esto debe ser realizarlo antes y después del parto. Estas consideraciones son coincidentes con otros trabajos que informan de los problemas prácticos del suministro de estos productos (Jonsson G & Pehrson B. 1970).

5. CONCLUSIONES

Se cumplieron con los objetivos planteados en este trabajo y se obtuvieron variaciones en función de alguno de los tratamientos propuestos.

Con relación a los minerales: se constató que en las variaciones de los promedios sanguíneos de todos los grupos de vacas estudiadas existe una disminución significativa del Ca iónico a partir del día -1, siendo el día del parto el más bajo y luego tendiendo a volver a sus valores sin recuperar los iniciales. Los bajos valores de Ca total sanguíneo y calcio iónico en el periparto señalan una hipocalcemia subclínica.

Se encontró que existen algunas diferencias entre los valores de Calcio sanguíneo total, calcio iónico y Magnesio en el ensayo y la bibliografía consultada, estos resultados se presentaron con valores inferiores. Los valores de P, K, Na y pH fueron similares a las referencias.

También en los minerales hubo otras variaciones relacionadas con el parto: se encontraron bajos valores de Mg durante el ensayo indicando que las vacas eran hipomagnesémicas. Al período del periparto los valores tuvieron un comportamiento inverso al observado para el calcio, aunque igualmente fueron ligeramente inferiores a los esperados por las referencias. Se considera importante realizar un trabajo que estudie en profundidad el comportamiento del Magnesio en las vacas lecheras nacionales.

Al momento del parto se nota un descenso del fósforo y pH y un incremento de potasio y sodio al día del parto y al día siguiente.

Se encontraron relaciones significativas entre calcio sanguíneo total, el Calcio iónico, el fósforo y el potasio. No se encontraron relaciones entre el calcio sanguíneo total y el Magnesio, el Sodio y pH.

Con relación a los Tratamientos: se constató que el tratamiento de P+Mg se reflejó en los valores de Ca total, Ca iónico y Magnesio y en la producción de leche de vaca individual. Aunque no es significativo, el tratamiento de fósforo más magnesio (P+Mg) es el único que permite alcanzar valores de Ca total sanguíneo de 8.09 ± 1.10 mg/dl.

El tratamiento con sales aniónicas también parece haber influido en la producción láctea. Se puede considerar que en éste y también en los otros grupos donde se encuentra la condición de hipocalcemia subclínica, no hubo influencia sobre el efecto hipocalcémico del parto.

Los tratamientos de P y P+Mg son los más fáciles para realizar ya que solamente se realizan dos inyecciones subcutáneas del o de los productos, en cambio el tratamiento con sales aniónicas es más difícil de realizar por los problemas con la palatabilidad. El tratamiento con geles de calcio muchas veces no es práctico llevarlo a buen término ya que resulta trabajoso llevar y tener en los corrales de espera a vacas próximas al parto.

Finalmente, los resultados de este trabajo sugieren la importancia en la selección de los tratamientos y que es necesario considerar las condiciones productivas y metabólicas individuales de los establecimientos para corregir efectos de las variaciones minerales sobre la producción y la salud de los animales.

6. AGRADECIMIENTOS

A los responsables de la firma Víctor Gutiérrez e hijo por dejarnos investigar en sus vacas.

A Daniel Bentancort y Maria Perdomo por ayudarme con el manejo de los animales.

A Dirección y personal del Laboratorio Clínico del Hospital de Florida por realizar los análisis de laboratorio de calcio iónico, potasio, sodio, pH, calcio total, fósforo y magnesio en sangre.

A los Lic. en Laboratorio Clínico: Carolina Ruy, Jorge Naya y Martín Monteblando por asesorarme en las técnicas de laboratorio.

A los colegas y estudiantes que participaron en el Laboratorio de Rumiantes del Departamento de la Facultad de Veterinaria y en particular a la Dra. Nancy Denis, por su colaboración en el manejo de las muestras.

Al Programa de Posgrado de la Facultad por su contribución económica en el proyecto y por la participación de los Profesores en la enseñanza y al personal administrativo.

Al Dr. Eduardo Alanis por apoyarme técnicamente en la realización de este ensayo.

Al Laboratorios Biocare S.R.L. por la donación de reactivos que permitieron realizar los análisis de Calcio, Fósforo y Magnesio en sangre.

A Codenor S.A. por la donación de los productos Phosforplus y Magnecal y su apreciada contribución al proyecto.

A Grappiolo y Cia. por la donación de sales aniónicas.

A Laboratorio Biotay S.A. por la donación de Levac gel.

7. Referencias bibliográficas

- 1 Alonso Diez AJ. 1997. Profilaxis de la paresia puerperal hipocalcémica bovina. *Med. Vet.* 14,11:610-614.
- 2 Andresen H. 2001. Vacas secas y en transición. *Rev. Investig Vet. Perú* 12:36-48.
- 3 Barros Vidal L. 1981. Les Profils métaboliques dans la stérilité des troupeaux bovins. Mémoire Maître ès Sciences Vétérinaires, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France.
- 4 Barros Vidal L. 1987. Perfiles Metabólicos Estudio de cinco años de aplicación en Uruguay. XV Jornadas Uruguayas de Buiatría :E-1.
- 5 Bednarek D, Kondracki M, Gzeda M. 2000. Magnesium and Calcium in prophylaxis of parturient paresis in dairy cows. Abstracts. *Medycyna Weterynaryjna* 56:367-371.
- 6 Blood DC, Radostits OM. 1992. *Medicina Veterinaria*. Volumen II Séptima edición. McGaw-Hill. 1059 p.
- 7 Bostedt H, Bless S. 1993. Investigations of the effect of various prophylactic measures on the incidence of bovine milk fever. Abstracts. *Tierärztliche Umschau* 48:424-431.
- 8 Call JW, Butcher JE, Shupe J.L, Lamb RC, Boman RL, Olson AE. 1987. Clinical effects of low dietary phosphorus concentrations in feed given to lactating dairy cows. *Am J Vet Res* 1:133-136.
- 9 Chan PS, West JW, Bernard JK, Fernandez JM. 2005. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. *J Dairy Sci* 88:4384-4392.
- 10 Charbonneau E, Pellerin D, Oetzel G. 2006. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: a meta-analysis. *J Dairy Sci* 89: 537-548.
- 11 Contreras PA. 2002a. Hipomagnesemia: efectos y procedimientos de prevención en los rebaños. Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria. León: Universidad de León: 20-29.
- 12 Contreras PA. 2002b. Paresia puerperal hipocalcémica. Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria. León. Universidad de León :30-34.
- 13 Corbellini C. 1997. Nutrición y fertilidad en vacas lecheras influencia del plano energético proteico y formas de monitoreo. Primeras Jornadas de Reproducción Bovina. Villa María, Argentina, Julio 4-5, :21-27.
- 14 Corbellini C. 1998. Anais do Seminario Internacional sobre deficiências Minerais em Ruminantes. Ed. UFRGS, Porto Alegre, RS Brasil.
- 15 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.
- 16 Cunha Leite L. y col. 2003. Diferentes balanços catiónicos-aniónicos da dieta de vacas de raça Holandesa. *Rev. Brasileira de Zootecnia*, 32:5.
- 17 Davidson J, Rodriguez L, Pilbean T, Beede D. 1995. Las mediciones de la acidez de la orina ayudan a evitar la fiebre de leche. *Hoard's Dairyman en español* :987-988
- 18 Dhiman TR., Sasidharan V. 1998. Effectiveness of calcium chloride in increasing blood calcium concentrations of periparturient dairy cows. *J Anim Sci* 77:1597-1605.

- 19 Dishington IW. 1975. Prevention of milk fever (Hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements *Acta Vet. Scand.* 16:503-512.
- 20 Fenwick DC. 1990. The relationship between certain blood constituents in cows with milk fever and the response following treatment with calcium borogluconate solutions. *Australian Vet. J.* 67:102-104.
- 21 Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci* 77:2695.
- 22 García A. 1997. El empleo del balance iónico para prevenir la Hipocalcemia *Prácticas Veterinarias, Uruguay.* Año 1,3:78.
- 23 García A. 1995. Metabolismo del calcio y de la vitamina D en Vacas Lecheras. XXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría Paysandú Uruguay.
- 24 Gardner IA, Reynolds JP, Risco CA, Hird DW. 1990. Patterns of uterine prolapse in dairy cows and prognosis after treatment. *JAVMA* 8:1021-1024.
- 25 Gerloff, Brian J., Swenson 1996. Acute recumbency and marginal phosphorus deficiency in dairy cattle. *JAVMA* 5:716-719.
- 26 Goff JP, Kehrl ME, Horst RL. 1989 Periparturient hypocalcemia in cows: prevention using intramuscular parathyroid hormone. *J Dairy Sci* 72:1182-1187.
- 27 Goff JP, Horst RL. 1993. Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *J Dairy Sci.* 76:101-108.
- 28 Goff JP, Horst RL. 1994. Calcium salts for treating hypocalcemia: carrier effects, acid base balance, and oral versus rectal administration. *J. Dairy Sci.* 77:1451-1456.
- 29 Goff JP, Jardon PW, Wedom J, Horst RL. 1995. Field trials of an oral calcium propionate paste as an aid in preventing hypocalcemia and ketosis. *J Dairy Sci* 78 Suppl 1,105:186.
- 30 Goff JP, Horst RL. 1997. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci* 80:176-186.
- 31 Goff JP. 2004. Macromineral disorders of the transition cow. *Veterinary Clinics Food Animal* 20:471-494.
- 32 Goff JP, Ruiz R, Horst L. 2004. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J Dairy Sci.* 87:1245-1255
- 33 Hernandez J., Risco C, Elliot J. 1999. Effect of oral administration of a calcium chloride gel on blood mineral concentrations, parturient disorders, reproductive performance, and milk production of dairy cows with retained fetal membranes *JAVMA* 215:72-76.
- 34 Holmes Cheyre T. 2003. Trastornos del metabolismo del calcio en vacas lecheras y su prevención. Residenciado de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Departamento de Zootecnia.
- 35 Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. 1994. Symposium: Calcium metabolism and utilization. *J Dairy Sci* 77:1936-1951.
- 36 Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 80:1269-1280.
- 37 Horst RL, Kimura K Goff JP. 1998. Effect of mastectomy on plasma calcium and vitamin a and e metabolism in the periparturient dairy cows. National Animal Disease Center, 10th International Conference on Production Diseases in Farm Animals A8:34.

- 38 Houe H, Ostergaard S, Thilising Hansen T, Jorgensen RJ., Larsen T, Sorensen JT, Agger JF, Blom JY. 2001. Milk Fever and subclinical hypocalcaemia-An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta vet. Scand* 42:1-29.
- 39 Hove K, Hilde BL. 1984. Plasma Calcium in the lactating cow: dependence on continuous intestinal absorption. *Can J Anim Sci.* 64 (Suppl.) :227-228.
- 40 <http://gnv.ifas.ufl.edu/-fairsweb/text/ds/2882.html> - Prepartum Rations.
- 41 Jonsson G, Pehrson B. 1970. Trials with prophylactic treatment of parturient paresis. *Vet. Rec.* 87:575-583.
- 42 Jonsson NN, Daniel RC, McGowan MR., Fulkerson W. 1998. Effect of non parturient postpartum hypocalcaemia on the interval from calving to first ovulation in Holstein Friesian cows. 10th International Conference on Production Diseases in Farm Animals A54:80.
- 43 Kaneko J. 1980. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals.* American Press. I
- 44 Klimiene I, Spakauskas V, Jodkonis L. 2002. Calcium, phosphorus and magnesium content in blood of healthy and ill cows. Abstracts. *Zemes ukio mokslai* 3:44-51.
- 45 Kojouri GA, Karimzadeh J. 2002. A study of serum calcium, phosphorus and magnesium concentrations in cattle affected with milk fever en Shahrekord district. Abstracts. *Journal Faculty Veterinary Medicine, University of Tehran* 57:69-71.
- 46 Lean IJ, De Garis PJ, McNeil DM, Block E. 2006. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J Dairy Sci* 89:669-684.
- 47 Lincoln SD, Lane VM. 1990. Serum ionized calcium concentration in clinically normal dairy cattle, and changes associated with calcium abnormalities. *JAVMA* 197:1471-1474.
- 48 Manston B. 1967. The influence of dietary calcium and phosphorus concentration on their absorption in the cow. *J. agric. Sci. Camb* 68:263-268.
- 49 Moodie EW, Marr A Robertson A. 1955. Serum calcium and magnesium and plasma phosphate levels in normal parturient cows. *J. Comp. Path.* 65:20-36.
- 50 Oetzel G, Olson JD, Curtis CR, Fettman MJ. 1988. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 71:3302-3309.
- 51 Oetzel G. 1993a. Use of anionic salts for prevention of milk fever in dairy cattle. *The Compendium* 15,8:1138-1146.
- 52 Oetzel G 1993b. Effects of prophylactic treatment with a calcium chloride gel on serum calcium concentration at calving milk fever, and displaced abomasum in Holstein cows. *American Dairy Science Association 88th Annual Meeting* :472.
- 53 Oetzel G. 1996. Effect of Calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of peripartum diseases. *JAVMA* 209:958-961.
- 54 Oetzel G. 2000. Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorders. *Veterinary Clinics Food Animal* 16:369-386.
- 55 Oetzel G. 2002. The dietary cation-anion difference concept in dairy cattle nutrition: possibilities and pitfalls. *XXII World Buiatrics Congress* :198-208.
- 56 Santos JE, Santos FA. 1998. Novas estratégias no manejo e alimentação de vacas pré-parto. 10 *Animal Production Symposium: Bovine Confinement.*

- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP. Piracicaba, SP Brazil :165-214.
- 57 Payne JM. 1981. Enfermedades Metabólicas de los Animales Zootécnicos. Ed. Acribia Zaragoza, España.
 - 58 Pehrson B, Svensson C. 1998. Calcium Propionate for the prevention of milk fever. 10th International Conference on Production Diseases in Farm Animals A74 :100.
 - 59 Queen G. 1993. Effects of oral administration of a calcium-containing gel on serum calcium concentration in postparturient dairy cows. JAVMA 202:607-609.
 - 60 Radostits OM., Gay C, Blood DC, Hinchcliff K. 1999. Medicina Veterinaria, Vol. II. Novena Edición McGaw-Hill. Interamericana :2159-2161
 - 61 Rajaratne AA, Scott D, Buchan W. 1994. Effects of a change in phosphorus requirement on phosphorus kinetics in the sheep. Res Vet Sci 56:262-264.
 - 62 Riond JL, Kocabagli N, Spichiger UE, Wanner M. 1995. The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of nonparetic dairy cows Vet Res Comm 19:195-203.
 - 63 Risco C, Reynolds J, Hird D. 1984. Uterine prolapse and hypocalcemia in dairy cows. JAVMA 185:1510-1513.
 - 64 Risco C. 2001a. Management of the postpartum dairy cow to maximize pregnancy rate. 34th Annual Conference of the American Association of Bovine Practicioners Vancouver, British Columbia.
 - 65 Risco C. 2001b. Nutritional management of dry cows and calving related disorders. 34th Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners Vancouver, British Columbia.
 - 66 Roche JR. 2003. Hypocalcaemia and DCAD for the pasture-based transition cow - A review. Acta vet. Scand. Suppl. 97: 65-74
 - 67 Rosenberger G. 1975. Malattie del Bovino. Ed. Essegivi, Italia. Collasso Puerperale Ipocalcemico :1009-1024.
 - 68 Rosenberger G. 1993. L'Esame Clínico del Bovino. 3^a Ed. Edagricole Italia. Esame biochimico del sangue :165-184.
 - 69 Sanchez JM. 1995. Dietary cation-anion balance in dairy cattle nutrition. Abstracts Nutrición Animal Tropical 2:3-29.
 - 70 Sanchez WK, Higgins JJ, Guy MA, Tschirgi ML, Anderson ML, Anderson M. & Associates 1995a. Effect of an oral calcium propionate gel on calcium and acidbase status of dairy cows. J Dairy Sci 78, Suppl 1,103:185.
 - 71 Sanchez WK, Joyce PW, Poppy GD. Standard Manufacturing Co. Sunnyside W.A. 1995b. Relationship between dietary cation anion difference and blood Ca in low and high producing Holstein cows. J Dairy Sci 78, Suppl 1,102:185.
 - 72 Succi H. 1997. La Vacca da Late. Ed Citta Studi. 5ta Ed. Collasso puerperale :546-547.
 - 73 Thiede, MA. 1994. Parathyroid Hormone related protein: a regulated calcium mobilizing product of the mammary gland. J Dairy Sci 77:1952-1963.
 - 74 Thilsing HT, Jorgensen RJ, Ostergaard. 2002. Milk fever control principles: a review. Acta Vet. Scand 43:1-19.
 - 75 Underwood EJ. 1983. Los minerales en la nutrición del ganado. Editorial Acribia, Zaragoza (España).

- 76 Wang C, Risco C, Donovan G, Merrit A, Beede D, Velez J. 1994. Recent advances in prevention of parturient paresis in dairy cows. *The Compendium* 10:1373-1377.
- 77 Wentink GH. 1992. Oral Administration of Calcium Chloride containing products: testing for deleterious side-effects. *Veterinary Quarterly* 14:76-80.
- 78 Wermuth NC. 1990. New treatment of milk fever. Abstract 525, Proc. XVI World Buiatrics. Cong, Salvador, Bahía :525-529.