



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA HIPOCALCEMIA EM BOVINOS LEITEIROS
NA ILHA TERCEIRA (AÇORES)**

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em
Medicina Veterinária, orientada por Professora Doutora Ângela Filipa Bártole
Dâmaso Peksa.

José Maria de Sousa Costa

2026

www.lusofona.pt

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DA HIPOCALCEMIA EM BOVINOS
LEITEIROS NA ILHA TERCEIRA (AÇORES)**

José Maria de Sousa Costa

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida por José Maria de Sousa Costa em provas públicas na Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa no dia 11/02 de 2026, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação n.º: 88/2026, de 4 de fevereiro, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Maria Margarida Ferreira Alves (FMV-ULusofona)

Vogal: Professor Doutor Luís André de Oliveira Pinho (Instituto De Ciências Biomédicas Abel Salazar) - arguente

Orientador: Professora Doutora Ângela Filipa Bártolo Dâmaso Peksa

Este trabalho também foi orientado por Dr. João Fernandes Fagundes Da Silva (orientador externo).

Agradecimentos

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona - Centro Universitário Lisboa, bem como a todos os docentes, funcionários e colaboradores que fizeram parte deste percurso académico, pelos ensinamentos transmitidos, pelas lições de vida e pelo apoio demonstrado ao longo desta etapa, tanto nos momentos de maior dificuldade como de maior realização.

À minha orientadora, Professora Doutora Ângela Dâmaso, agradeço o seu apoio constante e disponibilidade durante a elaboração deste trabalho.

Agradeço a todo o staff da clínica Azores Veterinary Practice, em especial à equipa de Médicos Veterinários, pela forma acolhedora como fui recebido, bem como por todos os ensinamentos e conselhos que enriqueceram o meu período de estágio.

Um agradecimento especial ao Dr. Sérgio Pereira por ter aceite o meu estágio curricular na clínica Azores Veterinary Practice e por ter disponibilizado casa, carro, equipamento e almoços reconfortantes, além de todos os ensinamentos e conselhos.

À equipa de Médicos Veterinários da Unicol – Cooperativa Agrícola, C.R.L., agradeço a forma como me receberam, a disponibilidade, o apoio e os ensinamentos transmitidos durante o período de estágio curricular, bem como nos estágios extracurriculares realizados ao longo do meu percurso académico.

O meu profundo agradecimento ao Dr. João Fagundes, por todos os ensinamentos teóricos e práticos, pelas lições de vida, amizade e paciência durante o período de estágio.

Agradeço ao Professor João Vaillant pela amizade, conselhos e incentivo constante, bem como por sempre acreditar em mim ao longo deste percurso.

À minha mãe, agradeço, em primeiro lugar, a oportunidade de ingressar no curso que sempre sonhei e, em segundo lugar, todo o seu apoio, ajuda e motivação constante ao longo deste percurso académico e na minha vida.

Agradeço a toda a minha família o apoio e motivação durante a minha formação académica.

Aos meus colegas e amigos, agradeço a partilha, a ajuda e todos os momentos vividos ao longo desta caminhada, em especial à Juliana, ao Guilherme, à

Joana, à Ana e à Carolina, pela amizade e companheirismo tanto nos momentos de alegria como nas adversidades.

Por último, agradecer aos meus grandes amigos da Terceira, Rodrigo, Paulo José e Parreira, por toda a amizade e convívios.

Resumo

A hipocalcemia é uma das doenças metabólicas mais frequentes no período de transição das vacas de leite, assumindo particular relevância em sistemas de pastoreio, nos quais o controlo nutricional e mineral pode ser mais variável. Para além da forma clínica, facilmente reconhecível, a hipocalcemia subclínica ocorre com elevada frequência e pode passar despercebida quando a avaliação se baseia apenas na observação de sinais clínicos, sem recurso a medições objetivas da calcemia. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de hipocalcemia clínica e subclínica em vacas leiteiras assistidas clinicamente em contexto de campo, recorrendo à medição de cálcio ionizado (iCa) com um medidor portátil, bem como analisar a associação entre a hipocalcemia e diferentes fatores avaliados, incluindo idade, paridade, distócia, suplementação de vitamina D e evolução clínica no *follow-up*. O estudo foi realizado na ilha Terceira, Região Autónoma dos Açores, entre janeiro e maio de 2024, tendo sido incluídas 58 vacas de leite provenientes de 48 explorações em regime de pastoreio. A concentração de iCa foi medida no momento da consulta em todas as vacas e, quando aplicável, após a administração intravenosa de cálcio. Verificou-se uma elevada ocorrência de hipocalcemia na população estudada, incluindo casos clínicos e subclínicos. Não foram identificadas associações estatisticamente significativas entre a ocorrência de hipocalcemia e os fatores avaliados, nem entre os valores de iCa e a ocorrência de recidiva clínica no *follow-up*. Os resultados indicam que a medição do cálcio ionizado em contexto clínico de campo constitui uma ferramenta útil para a identificação de hipocalcemia e apoio à decisão terapêutica imediata em vacas de leite, devendo a sua interpretação ser integrada com a avaliação clínica do animal.

Palavras-chave: hipocalcemia, vacas leiteiras, cálcio ionizado, pastoreio, período de transição.

Abstract

Hypocalcemia is one of the most frequent metabolic disorders in dairy cows during the transition period, assuming particular relevance in pasture-based systems, in which nutritional and mineral control may be more variable. In addition to the clinical form, which is easily recognized, subclinical hypocalcemia occurs at a high frequency and may go unnoticed when assessment relies solely on the observation of clinical signs, without the use of objective measurements of calcemia. The aim of this study was to evaluate the occurrence of clinical and subclinical hypocalcemia in dairy cows clinically assisted in a field setting, using portable measurement of ionized calcium (iCa), and to analyse the association between hypocalcemia and different evaluated factors, including age, parity, dystocia, vitamin D supplementation, and clinical outcome during follow-up. The study was conducted on Terceira Island, Azores, between January and May 2024, and included 58 dairy cows from 48 pasture-based farms. Ionized calcium concentration was measured at the time of clinical examination in all cows and, when applicable, after intravenous calcium administration. A high occurrence of hypocalcemia was observed in the studied population, including both clinical and subclinical cases. No statistically significant associations were identified between hypocalcemia and the evaluated factors, nor between iCa values and the occurrence of clinical relapse during follow-up. The results indicate that measurement of ionized calcium in a field clinical context constitutes a useful tool for the identification of hypocalcemia and for supporting immediate therapeutic decision-making in dairy cows, and that its interpretation should be integrated with the animal's clinical evaluation.

Keywords: hypocalcemia, dairy cows, ionized calcium, pasture-based systems, transition period.

Lista de Abreviaturas

AMPC – Adenosina monofosfato cíclico, do inglês “*Cyclic Adenosine Monophosphate*”

ATP – Adenosina trifosfato, do inglês “*Adenosine Triphosphate*”

BID – “*Bis in die*” (duas vezes por dia)

DA – Deslocamento do abomaso

DCAD – Diferença entre aniões e cátions da dieta, do inglês “*Dietary Cation–Anion Difference*”

et al. – E outros, do latim “*et alii*”

FGF23 – Fator de crescimento fibroblástico 23, do inglês “*Fibroblast Growth Factor 23*”

GDP – Guanosina difosfato, do inglês “*Guanosine Diphosphate*”

GTP – Guanosina trifosfato, do inglês “*Guanosine Triphosphate*”

HC – Hipocalcemia clínica

HO – Holstein-Frísia

iCa – Cálcio ionizado

IV – Via intravenosa

M-CSF – Fator estimulador de colônias de macrófagos, do inglês “*Macrophage Colony-Stimulating Factor*”

MS – Matéria seca

NEFA – Ácidos gordos não esterificados, do inglês “*Non-Esterified Fatty Acids*”

OPG – Osteoprotegerina

PMCA1 – ATPase de cálcio da membrana plasmática 1, do inglês “*Plasma Membrane Calcium ATPase 1*”

PO – “*Per os*” (via oral)

PTH – Paratormona, do inglês “*Parathyroid Hormone*”

RANKL – Ligante do recetor ativador do fator nuclear κ B, do inglês “*Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand*”

RFM – Retenção de membranas fetais

SC – Via subcutânea

tCa – Cálcio total

TRPV6 – Canal iónico do recetor transitório do tipo vaniloide 6, do inglês “*Transient Receptor Potential Vanilloid 6*”

VDR – Recetor da vitamina D, do inglês “*Vitamin D Receptor*”

Índice Geral

I.	Casuística do Estágio	13
II.	Introdução.....	18
1.	Homeostasia do cálcio	19
2.	Paratormona	21
3.	Vitamina D e metabolitos.....	22
4.	Calcitonina	24
5.	Hipocalcemia clínica.....	24
6.	Hipocalcemia subclínica	25
7.	Fatores de risco de hipocalcemia	26
7.1.	Potássio	26
7.2.	Magnésio.....	27
7.3.	Fósforo	28
7.4.	Alcalose metabólica.....	29
7.5.	Idade	30
7.6.	Raça.....	31
8.	Diagnóstico de hipocalcemia	31
9.	Tratamento.....	32
10.	Afeções secundárias a hipocalcemia.....	33
10.1.	Distócia.....	34
10.2.	Prolapso uterino	35
10.3.	Retenção das membranas fetais	35
10.4.	Metrite	36
10.5.	Mastite.....	36
10.6.	Cetose	37
10.7.	Deslocamento do abomaso	38
11.	Prevenção	38
11.1.	Dieta aniônica.....	38
11.2.	Dieta com baixo teor de cálcio	39
11.3.	Suplementação de cálcio no parto	41
11.4.	Suplementação de vitamina D e análogos	42
III.	Material e métodos	45
1.	Recolha de dados epidemiológicos das explorações associados a hipocalcemia 45	
2.	Critérios de inclusão.....	46
3.	Medição da calcemia e terapêutica	46

4.	Reavaliação dos níveis de calcemia após o tratamento IV e continuidade da terapêutica	47
5.	Acompanhamento/follow up	48
6.	Tratamento de dados e análise estatística	48
IV.	Resultados.....	50
1.	Caracterização da população	50
2.	Momento da medição do cálcio ionizado em relação ao parto.....	50
3.	Valores de cálcio ionizado	50
4.	Protocolos de tratamento em consulta	52
5.	Valores de cálcio ionizado após tratamento	52
6.	Terapêutica de manutenção	53
7.	Follow-up clínico.....	54
8.	Associações estatísticas	54
V.	Discussão	56
VI.	Conclusões.....	60
VII.	Referencias bibliográficas.....	61

Índice de Figuras

Figura 1 - Distribuição da casuística de estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, por aparelhos orgânicos (%), na Azores Veterinary Practice, em novembro 2023.....	14
Figura 2 - Distribuição da casuística de estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, por aparelhos orgânicos (%), na UNICOL, entre janeiro e março 2024.	16
Figura 3 - Esquema da regulação da homeostasia do cálcio em vacas leiteiras no período periparto, evidenciando a interação entre intestino, osso e rim, a mobilização óssea, a absorção intestinal e a reabsorção renal de cálcio, mediadas principalmente pela paratormona e pela vitamina D. Adaptado de Goff (2014).	20
Figura 4- Representação esquemática da absorção intestinal transcelular de cálcio, evidenciando a entrada de Ca^{2+} através do canal TRPV6 na membrana apical do enterócito, o transporte intracelular mediado por proteínas ligantes de cálcio (CaBP) e a extrusão para a circulação pela bomba Ca^{2+} -ATPase da membrana basolateral (PMCA), processo regulado indiretamente pela vitamina D. Adaptado de Christakos et al. (2012).23	
Figura 5 - Distribuição dos valores de cálcio ionizado em vacas leiteiras (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.....	51
Figura 6 - Distribuição das vacas leiteiras incluídas no estudo por categoria de calcemia, com base nos valores de cálcio ionizado medidos a campo (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março de 2024.....	51
Figura 7 - Distribuição dos protocolos de tratamento aplicados às vacas leiteiras incluídas no estudo (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março de 2024.....	52
Figura 8 - Distribuição dos valores de cálcio ionizado após a administração intravenosa de cálcio (iCa final) no subgrupo de vacas avaliadas (n = 27), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.....	53
Figura 9 - Distribuição das recomendações de terapêutica de manutenção após o tratamento inicial de hipocalcemia em vacas leiteiras (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.....	54

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Intervenções médico-veterinárias por área clínica durante o estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária na <i>Azores Veterinary Practice</i> , em novembro 2023.....	14
Tabela 2 - Intervenções médico-veterinárias por área clínica durante o estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária na UNICOL, entre janeiro e março 2024. ...	16
Tabela 3 - Resultados da análise estatística inferencial das associações avaliadas.	55

I. Casuística do Estágio

O estágio curricular do autor foi realizado em dois locais distintos. O primeiro período decorreu entre 1 e 30 de novembro de 2023 na clínica *Azores Veterinary Practice*, localizada em Turlock, Califórnia (EUA). O segundo período teve lugar entre 8 de janeiro e 31 de março de 2024 na UNICOL – Cooperativa Agrícola, C.R.L., sediada em Angra do heroísmo, Ilha Terceira (Açores), onde o autor integrou a equipa de médicos veterinários da cooperativa e participou nas atividades desenvolvidas no âmbito da clínica de campo.

Relativamente ao primeiro período do estágio, desenvolvido na *Azores Veterinary Practice*, trata-se de uma clínica orientada para a medicina de animais de produção, com foco em bovinos de leite. As suas principais áreas de intervenção incluem o acompanhamento reprodutivo, a realização de procedimentos clínicos e cirúrgicos em ruminantes, atividades de profilaxia sanitária e apoio laboratorial às explorações, nomeadamente no contexto de mastites e avaliação da qualidade do colostro.

Durante este estágio, o autor participou nas diferentes atividades da prática clínica, com especial destaque na área da reprodução. A frequência de diagnósticos de gestação permitiu aperfeiçoar a técnica de palpação retal e observar e auxiliar em diversas abordagens de reprodução assistida em bovinos. Além disso, foi possível acompanhar e auxiliar em procedimentos clínicos e cirúrgicos realizados em ambiente hospitalar, participando em tarefas como a realização de exames físicos, preparação dos animais para cirurgia e apoio durante os procedimentos. O estágio integrou também ações de profilaxia, como a vacinação, bem como atividades laboratoriais, nomeadamente a aplicação da técnica de espalhamento em superfície para culturas microbiológicas de leite, além da colaboração nos cuidados gerais e alimentação dos animais internados.

Ao longo deste período foram registadas 1876 intervenções médico-veterinárias, com um predomínio acentuado dos procedimentos relacionados com o aparelho reprodutor, seguidos pelas ações de profilaxia sanitária e por um conjunto mais reduzido de intervenções cirúrgicas. A distribuição detalhada da casuística é apresentada na Tabela 1 e ilustrada na Figura 1.

Tabela 1 - Intervenções médico-veterinárias por área clínica durante o estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária na *Azores Veterinary Practice*, em novembro 2023.

Intervenções médico-veterinárias por área clínica				
	Bovino	Caprino	Suíno	Total Geral
Aparelho locomotor			1	1
Fratura de membro			1	1
Aparelho Reprodutor	1149	539		1688
Aspiração folicular (OPU)	12			12
Diagnóstico de Gestação	1029	539		1568
Fetotomia	1			1
Prolapso uterino	1			1
Transferência de embriões	106			106
Aparelho respiratório	1			1
Pneumonia	1			1
Cirurgia	24	2		26
Carcinoma 3ª pálpebra	1			1
Cesariana		2		2
Criptorquidismo unilateral	1			1
Descorna	21			21
Deslocamento do abomaso à esquerda	1			1
Profilaxia médica e sanitária	160			160
Vacinação	160			160
Total Geral	1334	541	1	1876

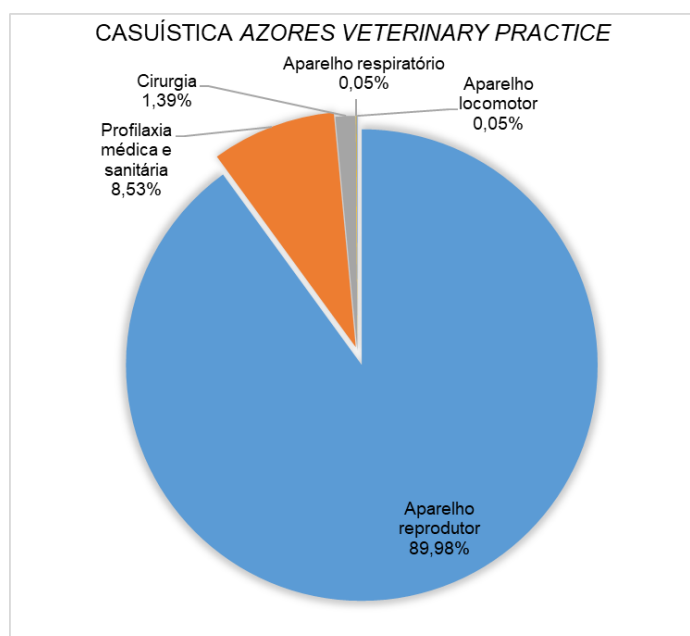


Figura 1 - Distribuição da casuística de estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, por aparelhos orgânicos (%), na *Azores Veterinary Practice*, em novembro 2023.

O segundo período do estágio decorreu na UNICOL – Cooperativa Agrícola, C.R.L., uma estrutura que presta serviços de apoio técnico e sanitário às explorações pecuárias da Ilha Terceira e Ilha Graciosa, com especial foco nos bovinos de leite. As principais áreas de atuação do serviço veterinário incluem o controlo reprodutivo, a realização de ações de profilaxia sanitária, bem como a prestação de serviços de clínica e cirurgia a espécies pecuárias.

Durante este estágio, o autor integrou a rotina da equipa de médicos veterinários, participando em diversas atividades de clínica de campo. Entre as principais tarefas realizadas destacaram-se os diagnósticos de gestação, a observação e auxílio na execução de tratamentos clínicos, a realização de exames físicos, colheitas de sangue e a administração de fármacos. Foi possível também acompanhar e apoiar procedimentos cirúrgicos em regime ambulatorio, assim como observar e auxiliar em intervenções obstétricas realizadas nas explorações. No âmbito da profilaxia sanitária, participou ainda em ações de vacinação e desparasitação.

Durante este estágio foram registadas 809 intervenções médico-veterinárias, distribuídas por diversas áreas de atuação. Sendo o aparelho reprodutor (454 intervenções) a área mais representada, refletindo o peso do acompanhamento reprodutivo nas explorações assistidas. Seguiram-se as ações de profilaxia médica e sanitária (157 intervenções), bem como diferentes procedimentos cirúrgicos (57 casos) e ações relacionadas com o aparelho respiratório (46 casos) e com o aparelho digestivo (37). As restantes áreas apresentaram menor expressão, incluindo casos associados ao aparelho locomotor, alterações metabólicas, glândula mamária, colheita de amostras, aparelho urinário e situações de abate de emergência. A distribuição detalhada desta casuística encontra-se apresentada na Tabela 2 e na Figura 2.

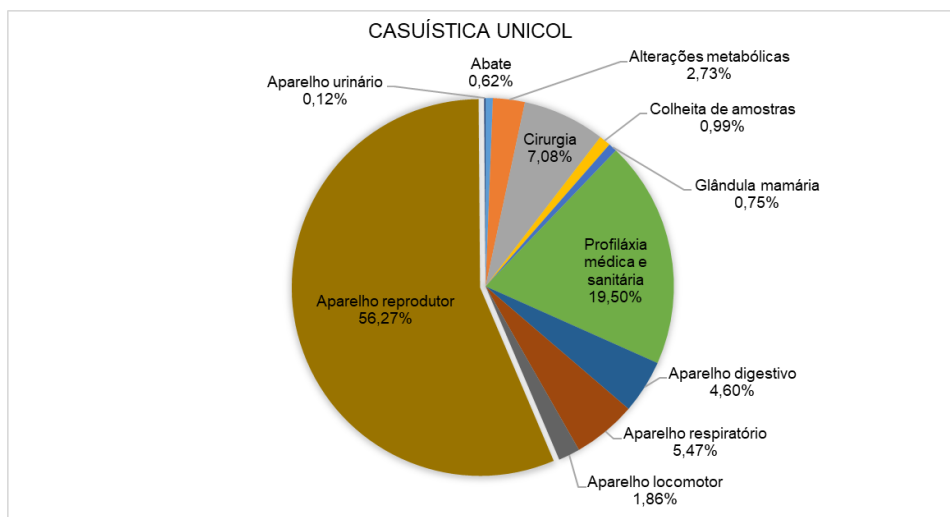


Figura 2 - Distribuição da casuística de estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, por aparelhos orgânicos (%), na UNICOL, entre janeiro e março 2024.

Tabela 2 - Intervenções médico-veterinárias por área clínica durante o estágio de Mestrado Integrado de Medicina Veterinária na UNICOL, entre janeiro e março 2024.

Intervenções médico-veterinárias por área clínica					
	Bovino	Caprino	Ovino	Suíno	Total Geral
Abate	5				5
Abate de emergência	5				5
Alterações Metabólicas	22				22
Cetose	7				7
Fotosensibilidade	3				3
Hipocalcemia	12				12
Aparelho digestivo	37				37
Acidose ruminal	2				2
Enterite	32				32
Intoxicação alimentar	2				2
Síndrome vaginal	1				1
Aparelho locomotor	15				15
Artrite	2				2
Compressão do nervo ciático	1				1
Compressão do nervo obturador	3				3
Doença da linha branca	1				1
Fratura de membro	1				1
Hiperflexão dos membros	1				1
Luxação da articulação coxo-femoral	2				2
Síndrome de vaca caída	2				2
Sola fina	1				1

Trauma	1			1	
Aparelho reprodutor	453		1	454	
Diagnóstico de gestação	436			436	
Metrite	3		1	4	
Parto distócico	12			12	
Retenção placentária	2			2	
Aparelho Respiratório	44		1	46	
Pneumonia	44		1	46	
Aparelho urinário	1			1	
Urolitíase	1			1	
Cirurgia	57			57	
Carcinoma 3ª pálpebra	6			6	
Descorna	48			48	
Deslocamento do abomaso à esquerda	3			3	
Colheita de amostras	8			8	
Colheita de tronco cerebral	8			8	
Glândula mamária	6	1		7	
Mastite	6	1		7	
Profilaxia médica e sanitária	157			157	
Desparasitação	115			115	
Vacinação	42			42	
Total Geral	805	1	1	2	809

II. Introdução

A produção de leite bovino constitui uma atividade de elevada importância económica e social em Portugal, assumindo particular relevância em determinadas regiões com forte vocação agropecuária. Entre estas, a Região Autónoma dos Açores destaca-se pelo seu contributo significativo para a produção nacional de leite, representando aproximadamente 32% do total produzido em Portugal de acordo com dados de 2023 (INE, 2023).

Na Região Autónoma dos Açores, a produção de leite bovino caracteriza-se maioritariamente por sistema de pastoreio extensivo, sendo que grande parte da alimentação das vacas provém de forragens naturais e pastagens permanentes, sustentadas por um clima oceânico ameno e elevada precipitação que favorece o crescimento contínuo de pastagens naturais (Morais et al., 2018). Apesar do carácter extensivo, muitas explorações leiteiras açorianas recorrem à suplementação com concentrados, sobretudo durante a lactação, para suprir as exigências nutricionais das vacas (Almeida et al., 2021). No entanto, a suplementação mineral pode ser menos rigorosa ou menos controlada devido às características desses sistemas de pastoreio, particularmente no que toca à suplementação pré-parto.

Este tipo de sistema aplicado nos Açores, pode aumentar o risco de distúrbios metabólicos, como a hipocalcemia. As pastagens, normalmente apresentam teores elevados de potássio (K) e uma diferença entre aniões e catiões (DCAD) positiva, o que pode comprometer a homeostasia do cálcio (Ca) nas vacas no período de transição (Horan et al., 2024). A hipocalcemia é uma das doenças metabólicas mais relevantes no período de transição das vacas de leite, caracterizando-se por uma redução acentuada na concentração sérica de cálcio nas primeiras horas após o parto (Goff, 2008). Em muitos casos, o aumento das necessidades de cálcio, ocorre mesmo antes do parto, devido ao início da formação do colostro na glândula mamária (Goff, 2014).

As necessidades de cálcio nas vacas de leite, após o parto, aumentam de 21g por dia antes do parto para 76g por dia para uma produção de 45.5kg/d de leite. Devido a este aumento, as vacas entram em balanço negativo de cálcio para dar resposta a estas necessidades (Oetzel, 2017). Desta forma, quase todas as vacas sofrem algum grau de hipocalcemia no início da lactação, no entanto, a gravidade e a duração da hipocalcemia dependem da integridade dos mecanismos de homeostasia do cálcio da vaca (Goff, 2014).

A hipocalcemia manifesta-se de duas formas: clínica, também conhecida como “febre do leite”, com sinais neuromusculares evidentes (decúbito, tremores, ataxia), e

subclínica, que ocorre sem sinais visíveis, mas provoca importantes alterações metabólicas e funcionais (Reinhardt et al., 2011), estando associada ao aumento do risco de outras patologias do parto, como retenção de placenta, metrite, deslocamento do abomaso e cetose (Chapinal et al., 2012; Neves, Leno et al., 2018).

Atualmente, a incidência de hipocalcemia clínica tem vindo a diminuir, apresentando um valor de 5%, contudo, a hipocalcemia subclínica continua a ser um problema, com uma incidência de cerca de 50% em vacas com mais de duas lactações (Rodríguez et al., 2017). Embora a fisiopatologia esteja bem documentada, diversos autores destacam que o sistema de produção, nomeadamente o pastoreio, exerce uma influência importante na ocorrência e gravidade da hipocalcemia (Goff, 2014; Neves et al., 2017). Quando as vacas, no período seco, são alimentadas com pasto em vez de ração concentrada, a hipocalcemia ocorre com mais frequência (Kang et al., 2025). As leguminosas e gramíneas acumulam K em concentrações muito acima do desejado para as vacas secas, além disso, os fertilizantes usados na terra apresentam grande quantidade de K e pouco cloro (Cl), o que resulta num DCAD elevado (Goff, 2014).

Estudos em manadas restritas a sistemas de pastoreio extensivo confirmam a alta prevalência de hipocalcemia subclínica. Num estudo com vacas Holstein no sul do Chile, criadas exclusivamente a pasto, Melendez et al. (2023) observou que 64,8% das vacas apresentaram hipocalcemia subclínica nas primeiras 48 horas pós-parto, com frequente concomitância de hipomagnesemia. De forma semelhante, Wilson (2003) refere que vacas mantidas em pastagens jovens apresentam maior risco de hipocalcemia, sobretudo se não for realizado um controlo mineral adequado durante o pré-parto.

1. Homeostasia do cálcio

O cálcio é essencial para a vida nos animais. Está envolvido em vários processos biológicos fundamentais como a formação óssea, contração muscular, transmissão nervosa, coagulação sanguínea, e serve como um segundo mensageiro na regulação de ações hormonais. Sendo assim, é muito importante que a calcemia seja bem regulada. O esqueleto de uma vaca de 600 kg contém aproximadamente 8,5 kg de cálcio, 3 g de Ca estão presentes no plasma e apenas 8 a 9 g de Ca em todos os fluídos extracelulares (Seifi & Kia, 2017). Em condições normais, o Ca sanguíneo numa vaca adulta é mantido entre 2,1 e 2,5 mmol/L (8,5 e 10 mg/dL), sendo ligeiramente maior em animais jovens (Vieira-Neto et al., 2024; Goff, 2018). Cerca de 50 % do Ca sanguíneo está ligado a proteínas como a albumina, 42 a 48% existe na forma ionizada, sendo a forma biologicamente ativa, e os restantes 3 a 7% ligados a aniões solúveis, como citrato, fosfato, bicarbonato e sulfato. A variação da percentagem do cálcio ionizado (iCa) está relacionada com o pH sanguíneo,

que em ambiente ácido aproxima-se dos 48% e em ambiente alcalino dos 42% (Goff, 2014).

As vacas leiteiras de alta produção enfrentam um período desafiador na transição do final da gestação para o início da lactação. As necessidades energéticas aumentam 2,5 vezes mais, assim como as minerais, especialmente o cálcio com um aumento de mais de 65% para sustentar a lactogénese no início da lactação (Caixeta et al., 2017). Uma vaca de leite precisa de cerca de 20g de cálcio por dia no final do período seco (Venjakob et al., 2017). Entretanto, com o início da lactação para a produção do colostro despendem 1,7 a 2,3g de Ca/kg e 1,2g de Ca/kg para a produção do leite, tendo normalmente, uma secreção de Ca diária de 30 a 40g. Desta forma, o organismo da vaca apresenta um balanço negativo de Ca no início da lactação, com o Nadir nas 12 a 24 horas pós-parto (Seifi & Kia, 2017; Caixeta et al., 2017).

Perante esta situação, são ativados mecanismos homeostáticos para diminuir a excreção urinária de cálcio, aumentar a absorção de cálcio no intestino e regular a libertação de cálcio do tecido ósseo, com o objetivo de restabelecer a calcemia (Venjakob et al., 2017), Figura 3.

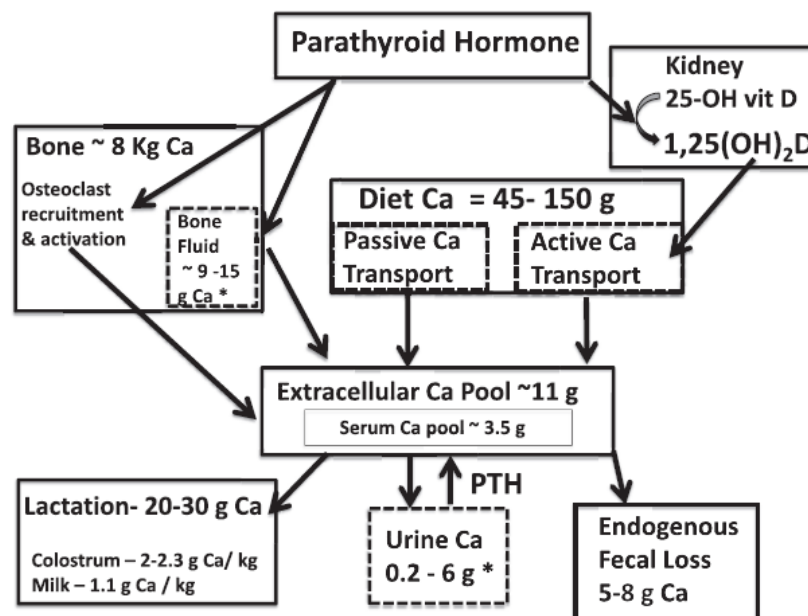


Figura 3 - Esquema da regulação da homeostasia do cálcio em vacas leiteiras no período periparto, evidenciando a interação entre intestino, osso e rim, a mobilização óssea, a absorção intestinal e a reabsorção renal de cálcio, mediadas principalmente pela paratormona e pela vitamina D. *Adaptado de Goff (2014).*

2. Paratormona

A paratormona (PTH) é o principal regulador hormonal da homeostasia do cálcio nos mamíferos e desempenha um papel central na resposta fisiológica à hipocalcemia nas vacas de leite. A sua secreção, pelas glândulas paratiroides, é rápida e altamente sensível a pequenas variações na concentração de iCa no sangue, permitindo a correção imediata de défices de Ca (Horst et al., 1994).

Os recetores da PTH nas células-alvo são proteínas transmembranares, que apresentam uma porção extracelular, onde a PTH liga-se especificamente, e uma porção intracelular que interage com uma proteína G composta por 3 subunidades: α , β e γ . Em repouso, a subunidade α está inativa, associada a uma molécula de guanosina difosfato (GDP). Quando a PTH se liga ao seu recetor, este altera a sua forma, e ativa a G- α , que promove a substituição da molécula de GDP por guanosina trifosfato Mg^{2+} (GTP Mg^{2+}). Com isto, a proteína G- α liberta-se do recetor e vai estimular a enzima adenil ciclase, formando um complexo G- α /adenil ciclase, que converte adenosina trifosfato Mg^{2+} (ATP Mg^{2+}) em adenosina monofosfato cíclico (AMPC) (Potts & Gardella, 2007). O AMPC atua como um segundo mensageiro para a ativação de enzimas envolvidas na reabsorção renal de cálcio, na mobilização do cálcio ósseo e síntese de calcitriol (Goff, 2014).

O primeiro alvo da PTH é o rim, onde promove um aumento da reabsorção de cálcio nos túbulos distais, contribuindo para uma correção rápida da hipocalcemia. Em simultâneo, estimula a atividade da 1α -hidroxilase renal, enzima responsável pela conversão da 25-hidroxivitamina D em 1,25-di-hidroxivitamina D (calcitriol), a forma ativa da vitamina D (Goff, 2008; Vieira-Neto et al., 2024). Porém, a excreção urinária de Ca por dia é cerca de 0,5g. Por isso, perante o elevado balanço negativo de Ca, este mecanismo de adaptação não é suficiente e a vaca tem de utilizar outros mecanismos para restabelecer a calcemia (Seifi & Kia, 2017; Goff, 2014).

Os osteócitos desempenham um papel fundamental na resposta inicial à PTH, promovendo uma rápida mobilização de cálcio, libertando cerca de 9 a 15g de Ca para dar uma resposta imediata à queda da calcemia (Teti & Zallone, 2009).

Contudo, a mobilização de Ca dos ossos, é a via por onde a vaca consegue adicionar uma maior quantidade de cálcio à corrente sanguínea para combater a hipocalcemia. O cálcio está armazenado nos ossos na forma de cristais de hidroxiapatita envolvido numa matriz de colagénio (Goff, 2014). Para retirar o cálcio da matriz de colagénio, é necessário a ação dos osteoclastos que secretam enzimas e ácidos para digerir essa matriz e libertar o Ca e fosfato. Contudo, os osteoclastos não apresentam recetores para a PTH. Por sua vez, os osteoblastos têm recetores para a PTH, que ao

serem estimulados, sintetizam fatores como o ligante do receptor ativador do fator nuclear kB (RANKL) e o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF), que sinalizam os osteoclastos a digerir a matriz de colagénio (Hoorn & Zietse, 2013). Além disso, a PTH vai diminuir a síntese de osteoprotegerina (OPG), responsável pela formação óssea impedindo a interação do RANKL com o seu recetor. Desta forma a PTH favorece a reabsorção óssea e a libertação de Ca e P na circulação. (Vieira-Neto et al., 2024)

Com isto, a vaca entra num estado de osteoporose lactacional, que resulta na perda de 9 a 13% do cálcio esquelético no primeiro mês de lactação, sendo reversível nos meses posteriores (Seifi & Kia, 2017).

3. Vitamina D e metabolitos

A vitamina D existe em duas formas diferentes, a vitamina D3 (colecalfiferol), que é sintetizada na pele por uma transformação fotoquímica do precursor 7-desidocolesterol, e a vitamina D2 (ergocalciferol), que é formada em fungos e algumas plantas (Vieira-Neto et al., 2024). Assim que chega ao sangue, a vitamina D é metabolizada no fígado, onde é convertida pela 25-hidroxilase, em 25-hidroxivitamina D, também conhecida como calcidiol, sendo a principal forma circulante no sangue e o marcador para avaliação do nível de vitamina D sérica (Eder & Grundmann, 2022; Horst et al., 1994).

De seguida, dependente da estimulação pela PTH em resposta à hipocalcemia, o calcidiol é convertido nos rins pela 1 α -hidroxilase em 1,25-di-hidroxivitamina D, a forma biologicamente ativa da vitamina D (Eder & Grundmann, 2022; Leno et al., 2017). O calcitriol, estando em circulação no sangue, em resposta à diminuição da calcemia, entra nos enterócitos e liga-se aos recetores de vitamina D (VDR), no núcleo da célula, para iniciar a transcrição e tradução de diversas proteínas necessárias para o transporte ativo do Ca (Goff, 2018).

As primeiras proteínas produzidas em resposta à 1,25-di-hidroxivitamina D são os canais de cálcio na membrana apical dos enterócitos, como o canal iónico do recetor transitório do tipo vaniloide 6 (TRPV6), que permite a entrada do Ca nos enterócitos a partir do lúmen intestinal, seguido do seu transporte intracelular e extrusão basolateral (Eder & Grundmann, 2022), Figura 4. Estes canais de cálcio são necessários porque apesar do gradiente de concentração ser favorável para o cálcio entrar nos enterócitos a partir do lúmen intestinal, a membrana apical não é permeável ao cálcio (Christakos, 2012).

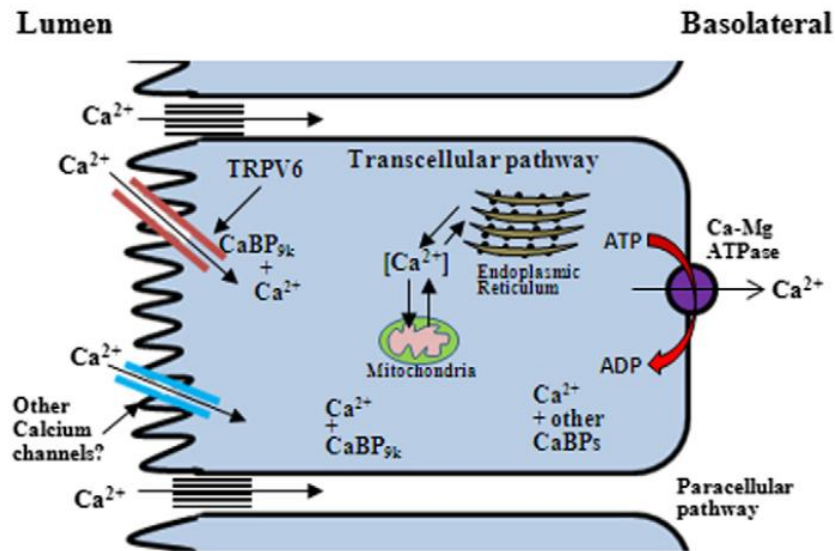


Figura 4- Representação esquemática da absorção intestinal transcelular de cálcio, evidenciando a entrada de Ca^{2+} através do canal TRPV6 na membrana apical do enterócito, o transporte intracelular mediado por proteínas ligantes de cálcio (CaBP) e a extrusão para a circulação pela bomba Ca^{2+} -ATPase da membrana basolateral (PMCA), processo regulado indiretamente pela vitamina D. *Adaptado de Christakos et al. (2012).*

Após a entrada do cálcio no citosol dos enterócitos, os íons de cálcio ligam-se a outra proteína que é produzida em resposta à 1,25-di-hidroxivitamina D, a calbindina-D9k, que realiza o transporte dos íons de cálcio até à membrana basolateral. Por fim, o cálcio presente na membrana basolateral é transferido para outra proteína dependente do calcitriol, a bomba de Ca ATPase da membrana plasmática (PMCA 1), que usa energia fornecida pelo ATP, para deslocar o cálcio para fora da célula contra o gradiente de concentração (Goff, 2018).

Existe também um segundo mecanismo de absorção de cálcio independente da vitamina D. Este mecanismo, chamado transporte paracelular, envolve o movimento do cálcio do lúmen intestinal para o espaço extracelular entre as células epiteliais intestinais, impulsionado exclusivamente pela concentração de cálcio solúvel no lúmen do intestino (Christakos, 2012). Contudo, a contribuição deste mecanismo em comparação com o transporte transcelular é incerto, mas sabe-se que o transporte transcelular é crucial quando o Ca dietético é baixo, e o transporte paracelular torna-se a via mais predominante quando o Ca dietético é alto (com rações contendo cerca de 1% de Ca na dieta) (Goff, 2014).

Além da influência do calcitriol na absorção do cálcio no intestino, também atua, junto com a PTH, na estimulação indireta dos osteoclastos favorecendo a libertação de

enzimas, como a catepsina K, para digerir a matriz de colagénio de forma a libertar o cálcio e fosfato que estão nos ossos na forma de cristais de hidroxapatita (Vieira-Neto et al., 2024).

4. Calcitonina

A calcitonina é uma hormona peptídica produzida pelas células C da tiroide e desempenha um papel complementar ao da PTH na regulação da homeostasia do cálcio. A sua secreção é estimulada por aumentos rápidos da calcemia, funcionando como um mecanismo fisiológico de *feedback* negativo da PTH, protegendo contra a hipercalcemia, através da inibição da atividade osteoclástica, limitando a mobilização de cálcio a partir dos ossos (Zaidi et al., 2002; Hernández-Castellano et al., 2020).

Em bovinos, o efeito da calcitonina tem um impacto fisiológico menor quando comparado com os mecanismos dependentes da PTH e do calcitriol para a homeostasia do cálcio (Horst et al., 1994).

Apesar disso, Rodríguez et al. (2016) demonstrou numa situação de hipocalcemia subclínica, os valores sanguíneos de calcitonina eram superiores em hipocalcemias mais graves nos primeiros dias após o parto, do que em hipocalcemias de menor magnitude. Ao mesmo tempo, foram registados aumentos da calcitonina imediatamente ou após o aumento da PTH, devido ao mecanismo de *feedback* negativo. Consequentemente, a vaca que apresentava níveis séricos de Ca diminuídos, teve dificuldade na recuperação da calcemia, mostrando um possível efeito limitante da calcitonina na prevenção de hipocalcemia.

5. Hipocalcemia clínica

A hipocalcemia clínica (HC), também conhecida como febre do leite ou paresia puerperal, resulta da queda acentuada do cálcio ionizado no periparto e manifesta-se geralmente nas primeiras 24 a 72 horas após o parto. A diminuição do iCa compromete de forma significativa a função neuromuscular, cardiovascular e gastrointestinal, originando um quadro clínico progressivo bem característico (Goff, 2008; Constable et al., 2016)

Inicialmente resulta em hiperexcitabilidade do sistema neurológico, o que geralmente leva à paresia e contrações mais fracas dos músculos. Como não há cálcio suficiente na alimentação e nos ossos, o corpo retira o necessário dos músculos. Isso causa superestimulação do sistema nervoso e paralisia (Kang et al., 2025).

Assim, a hipocalcemia clínica é dividida em três graus, que refletem a progressão da diminuição do iCa e as suas manifestações neuromusculares:

Grau I: As vacas permanecem em estação, mas apresentam sinais iniciais de hiperexcitabilidade neuromuscular, como tremores, ligeira ataxia, inquietação, timidez ao movimento e relutância em alimentar-se. Estes sinais são transitórios e muitas vezes passam despercebidos (Goff, 2008; Kang et al., 2025).

Grau II: Caracteriza-se pela instalação da paralisia flácida, com as vacas a apresentarem-se em decúbito esternal, incapazes de se levantar, com a cabeça frequentemente voltada para o flanco, extremidades frias, temperatura retal diminuída, anorexia, diminuição do tônus muscular e motilidade ruminal reduzida. A frequência cardíaca aumenta para 80 a 100 bpm com diminuição dos sons cardíacos. E observa-se depressão crescente da consciência (Constable et al., 2016; Kang et al., 2025).

Grau III: Corresponde à forma mais avançada, em que a vaca se encontra em decúbito lateral, com extrema flacidez muscular, pulso fraco, frequência cardíaca pode aproximar-se de 120 bpm, hipotermia marcada e depressão profunda ou coma. O risco de morte súbita por falência cardiovascular é elevado sem intervenção imediata (Constable et al., 2016; Kang et al., 2025).

De acordo com Ma et al. (2024), a hipocalcemia clínica é definida por valores séricos de cálcio total (tCa) inferiores a 5,0 mg/dL (1,25mmol/L) com sinais clínicos evidentes. Contudo, não existe um consenso absoluto sobre um único valor de cut-off. Por exemplo, Venjakob et al. (2017) definiram a hipocalcemia clínica a partir de valores inferiores a 2,0mmol/L de tCa, acompanhada de manifestações clínicas.

6. Hipocalcemia subclínica

A Hipocalcemia subclínica caracteriza-se pela redução da concentração de cálcio sanguíneo sem sinais clínicos evidentes, mas representa um dos distúrbios metabólicos mais importantes no período de transição em vacas de leite (Oetzel & Miller, 2012). É geralmente definida por valores de tCa inferiores a 2,0 e 2,125mmol/L nas primeiras horas após o parto, embora exista alguma variação entre autores. O limite de < 2,0mmol/L é o mais amplamente citado, dado que a maioria das vacas saudáveis mantém a calcemia acima desse valor (Vieira-Neto et al., 2024). A hipocalcemia subclínica é altamente prevalente, afetando 25 a 50% das vacas multíparas, sendo consideravelmente mais comum do que a forma clínica (Reinhardt et al., 2011).

Apesar de silenciosa, a hipocalcemia subclínica provoca alterações fisiológicas significativas. O iCa é essencial para a contração do músculo liso e estriado, para a função neuromuscular e para a ativação de vias imunitárias. Por isso, mesmo pequenas reduções comprometem a motilidade ruminal, o tônus uterino e a ingestão de alimento (Goff, 2008).

De facto, estudos demonstraram que vacas induzidas a hipocalcemia subclínica apresentam redução do consumo de matéria seca e depressão da ruminação, evidenciando o impacto funcional desta afeição nas primeiras horas pós-parto (Martinez et al., 2012).

A hipocalcemia subclínica também está associada a uma série de consequências clínicas indiretas. Estudos identificaram maior risco de metrite (Martinez et al., 2012), deslocamento do abomaso (Chapinal et al., 2011) e aumento das taxas de refugo em vacas que apresentam concentrações reduzidas de Ca após o parto. Em sistemas de pastoreio, vacas com baixas concentrações de tCa na primeira semana pós-parto demonstram predisposição ao desenvolvimento de vários distúrbios clínicos durante a lactação. No domínio reprodutivo, a hipocalcemia subclínica tem sido relacionada com atraso no retorno à ciclicidade ovariana e resposta inferior a protocolos de sincronização, refletindo um comprometimento do desempenho reprodutivo (Caixeta et al., 2017).

Além disso, vários estudos demonstram que vacas com hipocalcemia subclínica podem produzir 2 a 7 kg de leite a menos por dia nas primeiras semanas de lactação, reforçando o impacto produtivo e económico desta condição (Chamberlin et al., 2013).

7. Fatores de risco de hipocalcemia

7.1. Potássio

O potássio é o mineral que as vacas têm maior necessidade diariamente, estando envolvido na pressão osmótica, equilíbrio hídrico, potencial de membrana em repouso, transmissão do impulso nervoso e contração muscular (Goff, 2018). Além disso, é um dos minerais com maior impacto no risco de hipocalcemia no período de transição (Goff & Horst, 1997).

Dietas pré-parto com teores elevados de K aumentam o DCAD da dieta, causando uma alcalose metabólica, que reduz a sensibilidade dos tecidos à PTH e consequentemente, afeta a mobilização de Ca dos ossos e compromete a ativação renal da vitamina D, contribuindo para uma menor absorção intestinal de Ca (Goff & Horst, 1997; Kang et al., 2025).

Em sistemas de pastoreio, esta situação torna-se ainda mais relevante, tendo em conta que as forragens são ricas em catiões, como o K^+ , e relativamente fracas em aniões como o cloro, sulfato (SO_4^{2-}) e fosfato (PO_4^{3-}) (Goff, 2018). Além disso, os fertilizantes normalmente utilizados nas pastagens também são ricos em K (Lean et al., 2006).

O estudo de R erat et al. (2009) demonstrou que a utilização de forragens com elevado teor de K durante o período pré-parto altera significativamente o equilíbrio ácido-base e o metabolismo mineral das vacas periparturientes, aumentando o risco de hipocalcemia no pós-parto. As vacas alimentadas com forragens contendo 33g K/kg de m teria seca (MS) apresentaram uma maior alcalose metabólica, refletida em valores elevados de pH urinário e menor disponibilidade de cálcio ionizado, comparando com as vacas alimentadas com forragens com 13g K/kg MS (R erat et al., 2009).

Por fim, embora a principal influência do potássio seja através da alcalinização do sangue, e por sua vez, na diminuição da resposta da PTH, níveis elevados de K também influenciam indiretamente a absorção ruminal de magnésio, cuja disponibilidade é essencial para a ação adequada da PTH (Vieira-Neto et al., 2024).

7.2. Magnésio

O magnésio (Mg) desempenha um papel crucial no metabolismo do cálcio, particularmente no processo de reabsorção de cálcio dos ossos através da ação da PTH (Kang et al., 2025). O controlo do nível de Mg é importante por ser um cofator necessário para reações enzimáticas vitais para todas as principais vias metabólicas. Por exemplo, o Mg extracelular é importante para a condução nervosa, a função muscular e a formação óssea (Goff, 2014).

Além disso, o Mg também influência a secreção normal da PTH e sua ação no recetor. Quando a concentração sanguínea de Mg cai abaixo de 0,70 mM (1,7 mg/dL), reduz a capacidade da PTH ativar os seus tecidos-alvo, pela necessidade de Mg para ativar o AMP cíclico, aumentando assim, o risco de a vaca desenvolver hipocalcemia (Goff, 2018; Seifi & Kia, 2017).

A concentração plasmática de Mg nas vacas, normalmente está entre 0,8 e 1,0 mM ou 1,9 e 2,4 mg/dL, sendo que a manutenção deste mineral depende na sua maioria da absorção diária de Mg pela dieta (Goff, 2018). O Mg é absorvido no rúmen por duas vias, absorção paracelular por transporte passivo e absorção transcelular por transporte ativo (Martens e Schweigel, 2000).

O mecanismo de transporte ativo para a absorção de Mg através da parede do rúmen é crucial para a sobrevivência das vacas quando a concentração de Mg na dieta é inferior a 0,25% (Martens e Schweigel, 2000). O processo começa com a entrada do Mg através da membrana apical das células epiteliais do rúmen, favorecido pelo potencial elétrico negativo existente entre lúmen ruminal e o citoplasma, constituindo a força motriz essencial para o influxo do mineral (Leonhard-Marek & Martens, 1996). Após entrar na

célula, o Mg é removido para o meio extracelular através de uma proteína transmembranar, que troca Mg por sódio (Na), sendo mantido o gradiente de Na pela bomba Na/K-ATPase que retorna o Na para o meio extracelular (Kolisek et al., 2012). Infelizmente, existem vários fatores, como a concentração elevada de K na dieta, que impedem a absorção eficiente de Mg por esta via, devido à redução do potencial elétrico negativo da membrana apical, levando à despolarização e diminuição da força eletroquímica necessária para a entrada do Mg (Martens et al., 2018).

A segunda via para a absorção de Mg, não está sujeita à influência do K, mas apenas funciona com altas concentrações de Mg no rúmen, de forma a favorecer o gradiente de concentração e permitir a passagem paracelular do Mg para o espaço extracelular (Goff, 2018).

De forma a garantir concentrações adequadas de Mg sanguíneo no período do parto, a dieta deve apresentar teores de 0,35 a 0,4% de Mg para aproveitar a absorção paracelular do Mg através da parede do rúmen (Goff, 2014).

O sistema em pastoreio pode ser um fator de risco para hipomagnesemia, principalmente na primavera, o pasto é relativamente rico em K e pobre em Mg. O K é muito solúvel em água e por isso, facilmente absorvido pelas plantas durante os meses húmidos da primavera. Por essa razão, afeta a absorção de Mg por parte das plantas por competição com o K e o mesmo ocorre com o potássio ruminal em relação à absorção ruminal de magnésio (Oetzel, 2017). Além disso, estando as vacas a pasto, por vezes pode resultar numa menor ingestão de alimento quando há condições meteorológicas menos favoráveis, o que pode predispor as vacas a hipomagnesemia, sabendo que necessitam do Mg proveniente da dieta para manter a normomagnesemia (Kang et al., 2025).

7.3. Fósforo

O fósforo (P) é um mineral essencial para o funcionamento do organismo através de diversas funções, como equilíbrio ácido-base, tampão do pH ruminal, estabilidade do esqueleto, integridade das membranas celulares, entre outras (Grünberg, 2014).

Existem evidências de que a limitação do P na dieta pré-parto beneficia o metabolismo do Ca no periparto, sugerindo uma associação entre o aumento do P na dieta pré-parto com o aumento do risco de hipocalcemia no início da lactação (Vieira-Neto et al., 2024). Por exemplo, Cohrs et al. (2018) observou que vacas alimentadas com dietas com baixo teor de P, 0,15% pré-parto e 0,20% pós-parto, apresentaram concentrações plasmáticas de Ca maiores em comparação com 0,28 e 0,44% de P pré e pós-parto,

respetivamente, sugerindo um possível papel do P dietético na homeostasia do Ca no periparto.

Acontece que a ingestão excessiva de P durante o período seco, particularmente acima de 0,5% da MS, eleva a concentração de P inorgânico no sangue e interfere diretamente na regulação hormonal da homeostasia do Ca. A hiperfosfatemia exerce um efeito inibitório sobre a 1α -hidroxilase, a enzima renal responsável pela conversão da vitamina D na sua forma biologicamente ativa, o calcitriol, reduzindo assim a capacidade da vaca para absorver cálcio a partir do intestino e aumentando a sua predisposição para a hipocalcemia no periparto (Seifi & Kia, 2017).

Embora a síntese renal do calcitriol seja regulada principalmente pela PTH em resposta à diminuição da calcemia, concentrações elevadas de P no sangue podem igualmente modular negativamente a atividade da 1α -hidroxilase, mesmo na presença de estímulo pela PTH (Goff, 2018). Um dos principais mediadores deste efeito é o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF23), uma hormona produzida pelos osteócitos e osteoblastos em resposta ao aumento do P plasmático. Após ser libertado na corrente sanguínea, o FGF23 vai se ligar aos seus recetores específicos nas células renais, resultando simultaneamente na inibição da expressão da 1α -hidroxilase e na estimulação da enzima 24-hidroxilase que acelera a degradação do calcitriol (Eder & Grundmann, 2022).

Além disso, dietas ricas em fósforo também prejudicam a absorção intestinal de Mg, um mineral essencial para a resposta eficaz à PTH, o que contribui adicionalmente para o risco de hipocalcemia (Seifi & Kia, 2017).

7.4. Alcalose metabólica

Através do conhecimento atual, sabe-se que a febre do leite pode ocorrer em vacas com excesso de cátions na dieta. Normalmente, a ração ideal definida para as vacas de leite é rica em cátions, principalmente potássio e sódio, e possui menores quantidades de aniões, como cloreto e enxofre. Esse excesso de cátions, induz uma alcalose metabólica na vaca, prejudicando os seus mecanismos homeostáticos do Ca através de uma diminuição da resposta dos tecidos-alvo à PTH (Goff, 2014).

Em condições fisiológicas normais, a diminuição da calcemia estimula a secreção de PTH, que se liga ao seu recetor presente na membrana das células ósseas e renais. Esta ligação ativa a proteína G associada ao seu recetor, desencadeando a estimulação da adenil ciclase e a subsequente formação de AMP cíclico, o principal segundo mensageiro responsável por iniciar a reabsorção óssea de Ca e por promover, no rim, a

síntese de calcitriol. Estes mecanismos combinados restabelecem a concentração normal de Ca no sangue (Goff, 2008).

Contudo, em condições de alcalose metabólica, ocorre uma alteração conformacional do recetor da PTH. Esta modificação reduz a afinidade do recetor à PTH e limita a ativação da via AMPc, comprometendo a capacidade da células-alvo de responder adequadamente ao estímulo da PTH. Assim, a mobilização óssea e a reabsorção renal de Ca tornam-se insuficientes para corrigir a hipocalcemia no periparto (Seifi & Kia, 2017).

7.5. Idade

A idade e o número de lactações (paridade) da vaca são fatores bem reconhecidos no risco de desenvolver hipocalcemia no período de transição. Vacas de paridade elevada apresentam maior probabilidade de hipocalcemia clínica e subclínica em comparação com primíparas (Lean et al., 2006).

Com o avançar da idade, de forma geral, a eficácia dos mecanismos de homeostasia do cálcio começa a diminuir progressivamente, refletindo alterações tanto na absorção intestinal como na mobilização óssea. Um dos processos afetados é a redução do número de recetores da vitamina D no intestino, o que diminui a capacidade de absorção gastrointestinal de Ca em vacas mais velhas (Neves et al., 2017; Horst et al., 1990). Paralelamente, verifica-se também uma menor expressão e sensibilidade dos recetores de PTH nos tecidos-alvo, prejudicando a resposta hormonal necessária para restaurar a calcemia durante o periparto (Seifi & Kia, 2017).

Além das alterações no intestino e nos recetores da PTH, o envelhecimento afeta de forma significativa a remodelação óssea. Após a primeira lactação, quando a vaca atinge o seu tamanho esquelético final, o número de osteoblastos e osteoclastos ativos diminui progressivamente, reduzindo assim a capacidade de mobilização óssea de Ca em resposta à PTH (Goff, 2014). Estudos recentes confirmam que vacas múltiparas apresentam menor população de células ósseas ativas, resultando num atraso na resposta osteoclástica à hipocalcemia e contribuindo para uma maior prevalência da doença em vacas com mais lactações (Venjakob et al., 2017).

Para além destas alterações fisiológicas, o envelhecimento está também associado a um aumento da produção de colostro em vacas múltiparas, o que acarreta uma necessidade maior de Ca pós-parto. Assim, a combinação da maior secreção de Ca para o colostro e da menor capacidade de absorção e mobilização óssea torna as vacas com maior paridade mais suscetíveis a desenvolver hipocalcemia moderada a grave (Vieira-Neto et al., 2024).

Num estudo realizado por Wilhelm et al. (2017), observou que a prevalência de hipocalcemia foi de 2,7% nas vacas na primeira lactação e 30,8% nas vacas múltiparas. Além da idade influenciar diretamente o risco de hipocalcemia, Mosel et al. (1991) mostrou que também influencia a capacidade de absorção do Mg, aumentando o risco de hipomagnesemia e por consequência de hipocalcemia.

7.6. Raça

A raça é um fator importante na suscetibilidade das vacas de leite à hipocalcemia, uma vez que diferentes genótipos apresentam particularidades fisiológicas na absorção intestinal de Ca e exigências metabólicas. Estudos comparativos mostram uma maior prevalência de hipocalcemia clínica e subclínica em vacas das raças Jersey, e em menor grau, Vermelha Sueca e Vermelha Norueguesa quando comparadas com as Holstein-Frísia (Goff, 2014; Roche & Berry, 2006; Chiwome et al., 2017).

Um dos fatores fisiológicos mais relevantes é a diferença na expressão intestinal dos recetores de calcitriol. Foi demonstrado que as vacas Jersey apresentam um número menor de recetores de calcitriol no intestino, comparando com vacas Holstein da mesma idade, o que resulta numa menor sensibilidade tecidual à vitamina D (Fikadu et al., 2016). Desta forma, compromete a capacidade de aumentar a absorção intestinal de Ca no momento crítico como é o pós-parto. Além deste fator limitante, as vacas Jersey produzem colostro e leite com maior concentração de Ca do que as Holstein, resultando numa perda proporcionalmente maior de cálcio por quilograma de peso corporal nas primeiras horas após o parto (Goff, 2014).

Reforçando estas evidências, Lean et al. (2006) concluíram que vacas Jersey apresentam 2,25 vezes maior risco de hipocalcemia clínica do que vacas Holstein e também, de forma consistente, Chiwome et al. (2017) observaram incidências de 14,78% de febre do leite em Jerseys e 4,82% em Holsteins, o que representa aproximadamente 3 vezes maior risco para as Jerseys.

Além disso, no trabalho de Valldecabres et al. (2019), envolvendo vacas Jersey puras e Jerseys cruzadas com Holstein, verificou-se que as vacas cruzadas apresentavam maior risco de hipocalcemia subclínica ao parto. Os autores sugerem que esta maior vulnerabilidade pode refletir uma combinação desfavorável entre a menor capacidade de absorção intestinal típica das Jersey e as maiores exigências metabólicas das Holstein.

8. Diagnóstico de hipocalcemia

O diagnóstico de hipocalcemia pode basear-se na avaliação clínica e na determinação laboratorial das concentrações séricas de cálcio. Na hipocalcemia clínica, o

diagnóstico é sustentado pela presença de sinais clínicos característicos, como fraqueza, decúbito e diminuição do tônus muscular, podendo ser confirmado por concentrações séricas reduzidas de Ca. Por outro lado, na hipocalcemia subclínica não são observados sinais clínicos evidentes, sendo o diagnóstico estabelecido exclusivamente com base na determinação laboratorial das concentrações de tCa ou, idealmente, de iCa, que corresponde à fração biologicamente ativa e constitui o indicador mais preciso do estado real de calcemia (Goff, 2014; Seifi & Kia, 2017; Constable et al., 2016). O tCa permanece, no entanto, como a medida mais utilizada na prática clínica devido à sua acessibilidade e menor custo analítico (Goff, 2008).

Como foi anteriormente mencionado, os valores de referência variam entre autores. Para HC, considera-se geralmente tCa < 1,4-1,7mmol/L, enquanto para hipocalcemia subclínica os limites considerados são tCa < 2,0-2,125mmol/L nas primeiras horas 24 a 48 horas pós-parto (Goff, 2014; Vieira-Neto et al., 2024). Para o cálcio ionizado, embora não exista consenso universal, estudos sugerem que valores de iCa \leq 0,9mmol/L podem indicar hipocalcemia subclínica ou risco aumentado de hipocalcemia no pós-parto (Utsumi, 2019).

Dado o valor diagnóstico superior do iCa, métodos de medição rápida junto ao animal têm ganho relevância, permitindo uma avaliação mais fiável sobretudo nas primeiras horas após o parto, quando a correlação entre tCa e iCa pode ser baixa. Nesse contexto destaca-se o estudo de Neves, Stokol et al. (2018), que validou um aparelho portátil para medição de iCa em vacas Holstein, demonstrando boa concordância com métodos laboratoriais de referência e reforçando a utilização dos testes de campo para identificar hipocalcemia, especialmente hipocalcemia subclínica.

A precisão do diagnóstico depende ainda do momento da colheita e da frequência de amostragem, uma vez que medições isoladas podem subestimar a prevalência real da hipocalcemia subclínica (Reinhardt et al., 2011).

9. Tratamento

O tratamento da hipocalcemia clínica visa restaurar rapidamente as concentrações séricas de iCa e reverter a paresia puerperal. Nos casos em que a vaca se encontra em decúbito (graus II e III), a administração intravenosa (IV) de soluções de cálcio é imprescindível. A formulação mais utilizada é o borogluconato de cálcio a 23%, que fornece cerca de 10,7g de Ca por 500mL, quantidade geralmente suficiente para corrigir o déficit de Ca (Oetzel, 2017; Goff, 2014). A infusão deve ser feita lentamente, ao longo de 10 a 20 minutos, com monitorização contínua da frequência cardíaca devido ao risco de

bradicardia e arritmias ventriculares desencadeadas pela hipercalcemia transitória (Smith, 2015).

Administrações excessivas, como dois frascos de 500mL, não são recomendadas e aumentam o risco de toxicidade (Oetzel, 2017). A resposta clínica costuma ser rápida, com melhoria evidente da força muscular e tentativa da vaca se levantar poucos minutos após o início da infusão (Goff, 2008).

Após a recuperação inicial, recomenda-se suplementação oral de Ca para reduzir o risco de recidiva, uma vez que a administração de bólus de Ca no pós-parto demonstrou ser útil em vacas multíparas (Oetzel & Miller, 2012). Segundo Oetzel (2017), um bólus oral de Ca deve ser administrado assim que a vaca estiver em pé e capaz de deglutir, seguido de um segundo bolo cerca de 12 horas depois.

Nas vacas que ainda se conseguem manter em pé (grau 1), a administração IV não é recomendada, pois pode elevar excessivamente a calcemia e estimular a liberação de calcitonina, inibindo a ação da PTH e comprometendo a adaptação fisiológica da vaca ao balanço negativo de Ca no início da lactação (Oetzel, 2017). Nestes casos, a suplementação oral é a abordagem mais segura e eficaz. O cloreto de cálcio destaca-se por atingir o pico de absorção cerca de 30 minutos após a administração e por produzir um aumento da calcemia equivalente a cerca de 4g de Ca IV (Oetzel, 2017).

A administração de Ca por via subcutânea (SC) pode ser utilizada como terapia complementar no tratamento da HC, mas não deve ser utilizada como método único, especialmente em casos clínicos graves. De acordo com Oetzel (2017), esta via deve ser aplicada com precaução devido ao risco de irritação tecidual, formação de lesões locais e sobrecarga de Ca extracelular, sendo recomendado administrar entre 1 e 1,5g de Ca (50/70mL) por local de injeção. Através da via SC o Ca é absorvido de forma mais lenta, atingindo concentrações sanguíneas normais cerca de seis horas após a injeção (Kang et al., 2025).

10. Afeções secundárias a hipocalcemia

A hipocalcemia é amplamente reconhecida como uma condição que atua como porta de entrada para vários distúrbios metabólicos e infecciosos no início da lactação, comprometendo a saúde e o desempenho produtivo das vacas (Venjakob et al., 2017). Para além do impacto económico direto, a hipocalcemia clínica e subclínica aumenta a suscetibilidade a afeções como mastite, retenção de membranas fetais, deslocamento do abomaso, distócia e outras complicações típicas do período de transição, reduzindo a longevidade produtiva das vacas (Reinhardt et al., 2011).

Fisiologicamente, a deficiência de iCa compromete a contratilidade do músculo liso e esquelético, conduzindo a menor motilidade ruminal e intestinal e à diminuição da ingestão de matéria seca, fatores que aumentam o risco de várias afeções metabólicas e infecciosas do período de transição (Oetzel & Miller, 2012; Martinez et al., 2012). Estes efeitos, combinados, contribuem ainda para menor produção de leite e maior probabilidade de refugo precoce (Seifi & Kia, 2017).

Para além das alterações musculares, a hipocalcemia tem um impacto marcante sobre a função imunológica, uma vez que o iCa é essencial para a ativação e sinalização celular das células imunes. A redução das reservas de cálcio intracelular limita a capacidade de ativação dos neutrófilos e enfraquece mecanismos fundamentais de defesa, como a fagocitose. Estudos demonstram que vacas com hipocalcemia apresentam menor reposição de Ca citosólico após estimulação e redução significativa da capacidade fagocitária e da atividade oxidativa dos neutrófilos, o que ajuda a explicar a maior predisposição para infeções como metrite e mastite (Martinez et al., 2014; Martinez et al., 2012).

10.1. Distócia

A distócia é uma das primeiras complicações possíveis no periparto e está frequentemente associada à inércia uterina, um mecanismo funcional no qual a hipocalcemia desempenha um papel importante. O Ca é essencial para a contração do miométrio, e a sua redução compromete a força e coordenação das contrações uterinas necessárias para a progressão normal do parto (Goff, 2008; Wray & Prendergast, 2019; Noakes et al., 2019).

Mee (2008) descreve que a inércia uterina representa cerca de 10% dos casos de distócia em bovinos e identifica a hipocalcemia como uma das suas principais causas primárias. Estudos epidemiológicos demonstram ainda que vacas com hipocalcemia clínica ou hipocalcemia subclínica apresentam maior probabilidade de necessitar de assistência ao parto e tendem a ter partos mais prolongados (Reinhardt et al., 2011; Ribeiro et al., 2013).

A distócia associada à hipocalcemia aumenta o risco de complicações subseqüentes, incluindo retenção das membranas fetais, metrite e mastite, reforçando o papel desta condição como ponto de partida para várias afeções do período de transição (Mee, 2008).

10.2. Prolapso uterino

O prolapso uterino é uma emergência que ocorre geralmente nas primeiras horas após o parto e está fortemente associado à atonia uterina. A hipocalcemia constitui um importante fator predisponente, uma vez que o Ca é essencial na contração do miométrio e para a retração do útero após a expulsão fetal. Assim, na presença de déficit de Ca, o útero permanece flácido e mais suscetível à eversão. (Wray & Prendergast, 2019; Noakes et al., 2019).

A atonia uterina induzida pela hipocalcemia, combinada com fatores obstétricos como distócia, partos prolongados ou intervenções manuais, aumenta significativamente o risco de exteriorização uterina (Mee, 2008; Correa et al., 1992). De acordo com Correa et al. (1992), o risco de prolapso uterino é três vezes superior em vacas com HC e cinco vezes superior em vacas que sofreram um parto distócico.

10.3. Retenção das membranas fetais

A retenção das membranas fetais (RFM), definida como a permanência da placenta por mais de 12 a 24 horas após o parto, é uma das afeções pós-parto mais frequentes em vacas de leite (Noakes et al., 2019; Beagley et al., 2010). A sua etiologia é multifatorial, envolvendo processos mecânicos, hormonais e, sobretudo, imunológicos, sendo a hipocalcemia um dos fatores de risco mais consistentemente descritos (Seifi & Kia, 2017).

Embora a contratilidade uterina desempenhe algum papel na expulsão das membranas fetais, a RFM está principalmente associada a falhas no processo inflamatório fisiológico que promove a separação placentária. A hipocalcemia interfere com a função dos neutrófilos, que desempenham um papel essencial na degradação enzimática dos placentomas durante a separação da placenta, ao comprometer a mobilização de Ca intracelular necessária para a ativação, quimiotaxia, fagocitose e atividade oxidativa (Beagley et al., 2010; Martinez et al., 2012). Vacas que desenvolvem RFM apresentam ainda redução do infiltrado neutrofílico e menor atividade colagenolítica no placentoma, processos indispensáveis para a lise fisiológica das vilosidades coriônicas (Beagley et al., 2010). Estudos recentes confirmam que vacas com hipocalcemia subclínica apresentam menor capacidade de resposta inflamatória uterina no pós-parto, o que atrasa a separação e expulsão das membranas (Ma et al., 2024).

Do ponto de vista epidemiológico, níveis reduzidos de Ca sérico antes e após o parto foram consistentemente identificados em vacas com RFM (Erb et al., 1985; Risco et al., 1994, citados por Seifi & Kia, 2017). De forma mais recente, Rodríguez et al. (2017) observaram que vacas com hipocalcemia subclínica apresentavam 3,4 vezes maior risco

de desenvolver RFM comparativamente a vacas normocalcémicas. Além disso, fatores comuns do periparto, como distócia, parto induzido ou stress metabólico elevado, potencializam ainda mais este risco (Mulligan & Doherty, 2008).

10.4. Metrite

A metrite é uma infecção uterina que ocorre nos primeiros 21 dias pós-parto, caracterizando-se por inflamação uterina, exsudado purulento e sinais sistêmicos de infecção (Sheldon et al., 2006). A elevada contaminação bacteriana durante o parto exige uma resposta imunitária eficiente para restabelecer a integridade uterina.

A hipocalcemia, clínica ou subclínica, aumenta o risco de metrite sobretudo devido ao comprometimento da resposta imunitária já descrito anteriormente, reduzindo a capacidade de controlo da proliferação bacteriana no pós-parto (Martinez et al., 2012; Wilhelm et al., 2017). Estudos epidemiológicos reforçam esta associação, demonstrando que vacas com hipocalcemia subclínica apresentam maior incidência de metrite e maior probabilidade de desenvolver infecções uterinas no pós-parto (Wilhelm et al., 2017; Rodríguez et al., 2017).

Adicionalmente, a hipocalcemia está associada a condições do periparto que favorecem o desenvolvimento de metrite, como a retenção das membranas fetais e a distócia, que aumentam a carga bacteriana uterina e atrasam a sua involução (Sheldon et al., 2006; Dubuc et al., 2010). Além disso, alterações metabólicas típicas do período de transição, como o aumento dos ácidos gordos não esterificados (NEFA), combinadas com a hipocalcemia, potencializam ainda mais a suscetibilidade à metrite (Vieira-Neto et al., 2024).

10.5. Mastite

A mastite é uma das principais doenças infecciosas do período de transição, influenciada por alterações imunológicas e metabólicas que tornam esta fase crítica para a saúde da glândula mamária (Constable et al., 2016).

A hipocalcemia, mesmo em níveis subclínicos, é reconhecida como um importante fator predisponente para mastite devido ao impacto negativo que exerce sobre a função imunitária. A redução do Ca limita a capacidade dos neutrófilos de aumentar o Ca intracelular após estímulo, comprometendo processos essenciais como quimiotaxia, fagocitose e atividade oxidativa (Kimura et al., 2006; Martinez et al., 2014). Como consequência, vacas hipocalcémicas apresentam menor eficácia na eliminação de bactérias intramamárias e maior risco de desenvolver mastite clínica.

Além disso, o Ca é fundamental para a contração do músculo liso, incluindo o esfíncter do teto. A hipocalcemia reduz o tónus deste esfíncter, atrasando o seu

encerramento após a ordenha e facilitando a entrada de microrganismos no canal do teto (Goff, 2008). Por outro lado, vacas hipocalcémicas tendem a permanecer mais tempo deitadas, aumentando a exposição da extremidade do teto a agentes ambientais oportunistas (Seifi & Kia, 2017).

A evidência epidemiológica confirma esta associação, vacas com hipocalcemia têm maior risco de mastite clínica nas primeiras semanas pós-parto, resultado da combinação de imunossupressão, falha da barreira do teto e exposição aumentada a patógenos (Curtis et al., 1983; Reinhardt et al., 2011). Assim, a hipocalcemia constitui um fator de risco relevante para mastite e deve ser cuidadosamente monitorizada e prevenida no período de transição.

10.6. Cetose

A hipocalcemia no período pós-parto contribui significativamente para o desenvolvimento de cetose ao agravar o balanço energético negativo, característico do início da lactação, através da redução da motilidade ruminal e ingestão de matéria seca e promovendo maior mobilização da gordura corporal (Oetzel & Miller, 2012). Os NEFA mobilizados são posteriormente metabolizados no fígado em corpos cetônicos como o β -hidroxibutirato (Caixeta et al., 2015).

Estudos mostram que vacas com hipocalcemia subclínica apresentam maior risco de cetose. Ribeiro et al. (2013) observaram que estas vacas têm maior probabilidade de apresentar NEFA elevados e cetose subclínica, além de apresentarem correlação negativa entre cálcio sérico e NEFA. De forma semelhante, Reinhardt et al. (2011) verificaram que vacas com calcemia $<2,0\text{mM}$ apresentavam valores superiores de NEFA no pós-parto, refletindo pior adaptação metabólica. Em concordância com estes achados, Rodríguez et al. (2017) relataram que vacas com hipocalcemia subclínica têm 5,5 vezes mais probabilidade de desenvolver cetose.

Para além do impacto na ingestão de MS e na mobilização lipídica, a hipocalcemia afeta também a regulação da glicemia. Estudos demonstram que a deficiência de Ca compromete a libertação normal de insulina pelas células β pancreáticas (Littledike et al., 1968), o que foi corroborado por dados mais recentes em que vacas com hipocalcemia subclínica induzida apresentaram redução das concentrações de insulina e aumento da glicose plasmática, favorecendo uma maior dependência da oxidação de ácidos gordos e aumentando o risco de cetogénese (Martinez et al., 2014).

10.7. Deslocamento do abomaso

O deslocamento do abomaso (DA) é uma das principais afeções gastrointestinais do período de transição, caracterizada por diminuição da motilidade abomasal e por alterações metabólicas que favorecem a sua ocorrência (Constable et al., 2016).

A hipocalcemia é um dos principais fatores predisponentes para o DA no período pós-parto, devido ao seu efeito direto sobre a contratilidade do músculo liso. A redução das concentrações de iCa diminui o tônus e a motilidade do abomaso, favorecendo a acumulação de gás e o seu deslocamento (Doll et al., 2009).

Estudos epidemiológicos demonstram esta associação de forma consistente. Seifi et al. (2011) verificaram que vacas com concentrações de $Ca \leq 2,3\text{mmol/L}$ na primeira semana pós-parto tinham 5,1 vezes mais probabilidade de desenvolver DA. De forma semelhante, Seifi e Kia (2017) reportaram que 82% das vacas com DA apresentavam valores de $Ca \leq 2,0\text{mmol/L}$, reforçando a importância da atonia abomasal secundária à hipocalcemia como mecanismo chave na etiologia desta afeção.

Além disso, como já foi referido anteriormente, a hipocalcemia contribui para menor ingestão de MS e aumento da mobilização lipídica, promovendo um estado de balanço energético negativo, frequentemente observado em vacas com DA (Chamberlin et al., 2013). A combinação de motilidade gastrointestinal reduzida, menor ingestão de alimento e lipomobilização acentuada cria um ambiente metabólico ideal para o surgimento do DA (Couto Serrenho et al., 2021).

11. Prevenção

A prevenção da hipocalcemia é essencial para garantir um pós-parto saudável, uma vez que a queda abrupta da calcemia está associada a maior risco de doenças metabólicas e infecciosas, além de perdas produtivas significativas (Reinhardt et al., 2011). Estratégias nutricionais e suplementares que estimulam antecipadamente os mecanismos de mobilização e absorção de cálcio, como a manipulação da DCAD, o controlo do Ca dietético pré-parto e a suplementação periparto, têm mostrado elevada eficácia na redução da hipocalcemia clínica e hipocalcemia subclínica (Caixeta et al., 2017; Chamberlin et al., 2013).

11.1. Dieta aniónica

As dietas aniónicas constituem atualmente uma ferramenta central na prevenção da hipocalcemia em vacas de leite, sendo utilizadas para estimular antecipadamente os mecanismos de manutenção da calcemia no peri-parto. A inclusão de sais aniónicos no pré-parto reduz de forma consistente o risco de hipocalcemia clínica e hipocalcemia

subclínica, favorecendo um início de lactação mais estável (Neves et al., 2017; Martinez et al., 2018), alinhando-se com revisões recentes sobre distúrbios metabólicos no período de transição que destacam a hipocalcemia como uma das principais afeções afetando o desempenho produtivo das vacas (Kang et al., 2025).

A formulação destas dietas baseia-se no controlo da diferença entre cationes e aniões da dieta, geralmente expressa pela equação: $DCAD \text{ (mEq/kg MS)} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S})$. Esta relação permite prever o efeito ácido-base da dieta, uma vez que os cationes exercem efeito alcalinizante e os aniões promovem acidificação (Martín-Tereso & Martens, 2014). O consumo de uma dieta com DCAD negativo aumenta moderadamente a carga aniónica e induz uma acidose metabólica compensada, refletida pela diminuição do pH sanguíneo e urinário (Horst et al., 2021). Este processo acidótico está associado ao aumento de iões hidrogénio (H^+) e redução de bicarbonato (HCO_3^-) (Seifi & Kia, 2017).

O mecanismo mais aceite para explicar a eficácia deste tipo de dietas é o aumento da sensibilidade dos tecidos-alvo à PTH. A acidose torna os recetores de PTH mais responsivos, facilitando tanto a mobilização óssea como a ativação da síntese de calcitriol (Martín-Tereso & Martens, 2014). Os benefícios clínicos desta adaptação metabólica são evidentes. No estudo de Martinez et al. (2018), uma dieta com DCAD -130 mEq/kg na MS reduziu a HC para 0%, comparativamente a uma dieta com DCAD + 130 mEq/kg que apresentou uma incidência de HC de 23,1%.

A suplementação aniónica é tradicionalmente aplicada nas últimas três semanas pré-parto, no entanto, um estudo recente indica que períodos mais curtos, aproximadamente 3 dias pré-parto, já provocam melhorias mensuráveis na dinâmica da calcemia, embora sem efeito prolongado (Vieira-Neto et al., 2024).

A monitorização do pH urinário é fundamental para avaliar a resposta à dieta. Valores entre 6,0 e 6,5 indicam acidificação adequada, enquanto reduções excessivas (5 e 5,5) podem comprometer a ingestão de MS (Goff, 2008). Zimpel et al. (2018), através da manipulação do DCAD, demonstraram que a redução da ingestão de MS está associada à acidose metabólica induzida e não à palatabilidade dos sais. O risco de diminuição de ingestão nas fases metabólicas críticas também é amplamente discutido por Kang et al. (2025), que associam alterações na ingestão a maiores perdas energéticas e maior incidência de doenças.

11.2. Dieta com baixo teor de cálcio

A restrição do Ca dietético no pré-parto é uma estratégia clássica de prevenção da hipocalcemia, baseada na ativação antecipada dos mecanismos homeostáticos

responsáveis pela manutenção da calcemia. Ao reduzir o aporte de Ca nas últimas semanas de gestação, provoca-se uma ligeira diminuição da calcemia que, apesar de subtil, é suficiente para estimular a secreção de PTH e aumentar a produção renal de calcitriol. Esta ativação precoce promove maior mobilização óssea e prepara o intestino para absorver Ca de forma mais eficiente no início da lactação (Goff, 2014; Vieira-Neto et al., 2024).

Este estímulo fisiológico é fundamental, uma vez que vacas alimentadas com dietas ricas em Ca durante o pré-parto apresentam mecanismos de absorção intestinal e de mobilização óssea “adormecidos”, que demoram horas ou até dias a reativar após o parto (Martín-Tereso & Martens, 2014). Estudos mostram que, quando estes mecanismos não foram previamente estimulados, a absorção intestinal demora cerca de 24 horas a aumentar, enquanto a mobilização óssea pode demorar até uma semana, contribuindo para uma maior profundidade e duração da hipocalcemia (Ramberg et al., 1984). Em contraste, dietas com baixo Ca mantêm estes sistemas ativos e prontos a responder rapidamente ao aumento súbito das necessidades no peri-parto (Kang et al., 2025).

Para que a restrição seja eficaz, é necessário oferecer quantidades muito baixas de Ca absorvível, idealmente $\leq 20\text{g/dia}$, um valor inferior às necessidades estimadas de vacas no final da gestação (14g/dia em Jerseys e 22g/dia em Holsteins) segundo o NRC (2001). Na prática, isto implica evitar o consumo de forragens ricas em Ca, como a alfafa, e privilegiar silagem de milho, fenos de gramíneas e grãos, que possuem teores reduzidos de Ca. Esta abordagem facilita a indução do balanço negativo de Ca e permite a estimulação contínua da PTH até ao momento do parto (Kang et al., 2025).

Contudo, a implementação desta estratégia pode ser difícil em explorações onde as forragens disponíveis apresentam teores elevados de Ca. Como alternativa, podem ser utilizados quelantes de Ca, como as zeólitas, que são silicatos de alumínio com elevada capacidade de adsorção de catiões, reduzindo assim a biodisponibilidade do Ca na dieta e simulando uma ingestão efetivamente baixa do mesmo (Thilting-Hansen et al., 2002; Vieira-Neto et al., 2024).

Em explorações de pastoreio, onde as dietas são frequentemente mais pobres em Ca devido ao tipo de forragem disponível, esta estratégia tende a ser mais prática e facilmente implementável, podendo constituir uma alternativa válida ou complementar às dietas aniónicas (Goff, 2014).

11.3. Suplementação de cálcio no periparto

A suplementação de cálcio no periparto é utilizada para mitigar a redução repentina dos níveis séricos de cálcio nas primeiras horas após o parto, decorrente principalmente da elevada mobilização de Ca para a produção de colostro. Assim, a administração exógena de Ca contribui para equilibrar a calcemia até os mecanismos homeostáticos do Ca serem ativados na sua totalidade e darem resposta ao balanço negativo de Ca (Goff, 2018; Martinez et al., 2018).

A administração de Ca pela via IV, embora seja eficaz no tratamento da hipocalcemia clínica, não é adequada como estratégia preventiva. Esta via provoca um aumento abrupto e transitório da calcemia, seguido de uma nova redução poucas horas depois. Esta hipercalcemia transitória inibe a secreção de PTH e interfere com a ativação normal dos mecanismos endógenos de mobilização óssea e síntese de calcitriol, atrasando a adaptação metabólica essencial para um início de lactação saudável e produtivo para a vaca (Goff, 2008; Braun et al., 2009). Por esse motivo, a suplementação IV deve ser reservada exclusivamente para o tratamento de casos clínicos.

Todavia, a administração por via SC tem sido utilizada como alternativa, produzindo um aumento mais lento e prolongado da calcemia. Em geral, o pico ocorre cerca de quatro horas após a injeção, mantendo-se valores elevados durante pelo menos 12 horas (McArt & Oetzel, 2023). No entanto, esta via apresenta grande variabilidade individual e pode originar dor, inflamação ou necrose devido à elevada osmolaridade das formulações (Oetzel & Miller, 2012; Goff, 2014). Além disso, existem relatos de recidivas de hipocalcemia nos dias seguintes, apesar dos resultados serem inconsistentes, sendo por isso aconselhada suplementação oral adicional 12 a 24 horas após a injeção (Miltenburg et al., 2016; McArt & Oetzel, 2023). Importa ainda referir que não há evidência de benefícios na produção de leite associados ao uso subcutâneo (Domino et al., 2017; Melendez et al., 2021), o que limita a sua utilização como estratégia preventiva.

Assim, dado que as vias IV e SC apresentam desvantagens relevantes no contexto preventivo, a suplementação oral tornou-se a abordagem preferencial. Tanto as formulações líquidas, géis ou drenches contendo cloreto de cálcio ou propionato de cálcio promovem rápida absorção e aumento da calcemia, embora apresentem risco de aspiração e oscilações acentuadas das concentrações séricas (Goff, 2014; Goff, 2018). Portanto, os bólus orais surgem como a forma mais segura e eficaz de prevenção, garantindo uma libertação controlada e prolongada de Ca, evitando o contacto cáustico do cloreto de cálcio com a mucosa oral e eliminando o risco de aspiração (Oetzel & Miller, 2012).

Bólus orais contendo misturas de cloreto e sulfato de cálcio, com cerca de 50g de Ca por unidade, aumentam as concentrações plasmáticas por pelo menos seis horas (Vieira-Neto et al., 2024) e têm sido associados à redução da HC e a melhorias na produtividade, particularmente em vacas multíparas de alta produção (Oetzel & Miller, 2012; Kang et al., 2025). Protocolos com duas administrações, no parto e 12 horas depois, são os mais consistentes na literatura (Oetzel, 2013; McArt & Oetzel, 2023).

Em sistemas de produção em pastoreio, onde o controlo do DCAD e da ingestão de minerais é limitado pela variabilidade das pastagens e pela ingestão irregular de matéria seca, a suplementação oral de Ca assume um papel importante, complementada frequentemente com bólus contendo outros minerais como o magnésio (Goff, 2014; Wilson, 2003).

Por fim, embora a suplementação oral reduza de forma eficaz a HC, o seu impacto na forma subclínica é reduzido, como demonstrado por Ma et al. (2024). Assim, a sua utilização deve ser integrada com outras estratégias nutricionais pré-parto, como dietas aniónicas ou dietas de baixo teor de cálcio, para um controlo mais abrangente.

11.4. Suplementação de vitamina D e análogos

A vitamina D desempenha um papel importante na homeostasia do cálcio, promovendo a absorção intestinal, facilitando a mobilização óssea e contribuindo para a reabsorção renal de Ca (Golder et al., 2021). Assim, a suplementação de vitamina D tem sido investigada como estratégia preventiva para melhorar a absorção de Ca e a adaptação metabólica no peri-parto (Kang et al., 2025).

As necessidades nutricionais de vitamina D em vacas de leite são em torno de 30 UI/kg de matéria seca, o que corresponde a cerca de 20.000 UI diárias. Este valor permite manter concentrações séricas de 25-hidroxivitamina D (calcidiol) entre 30 e 50 ng/mL, consideradas adequadas para fornecer substrato para a síntese de 1,25-dihidroxivitamina D (calcitriol) (Goff, 2014; Vieira-Neto et al., 2024). Contudo, a suplementação direta com vitamina D3 apresenta limitações, porque depende da hidroxilação hepática e renal, podendo não proporcionar uma resposta suficientemente rápida face ao aumento das necessidades de Ca no pós-parto (Celi et al., 2018).

Além disso, a administração de doses elevadas de vitamina D3 provoca um aumento notável na concentração plasmática de calcidiol, mas o limiar entre a dose eficaz e a dose tóxica é muito próximo, estando associado a calcificações metastáticas irreversíveis dos tecidos moles. Doses intermédias, entre 500.000 e 1.000.000 UI, podem paradoxalmente induzir hipocalcemia ao suprimir a secreção de PTH e reduzir a síntese

renal de calcitriol, provocando uma queda na calcemia quando o efeito exógeno termina (Goff, 2014). Neste contexto, os análogos da vitamina D, como o calcitriol ou o alfacalcidol, geram respostas mais previsíveis, mas o seu uso permanece limitado pelo risco de toxicidade (Hove & Kristiansen, 1984).

Uma alternativa mais recente e eficaz é a suplementação oral de calcidiol. Por já se encontrar parcialmente hidroxilado, apresenta maior biodisponibilidade que a vitamina D3 e aumenta rapidamente as concentrações plasmáticas de calcitriol. Além disso, com doses mais baixas de calcidiol consegue-se aumentar de forma substancial o substrato necessário para a síntese de calcitriol (Vieira-Neto et al., 2024). Estudos demonstram que 3 mg/dia de calcidiol exógeno podem aumentar a concentração do calcidiol plasmático de cerca de 30 ng/mL para valores superiores a 100 ng/mL em poucos dias (Wilkins et al., 2013). De forma consistente, Poindexter et al. (2020) mostraram, num estudo de oito semanas, que a suplementação oral diária de 1 mg ou 3 mg de vitamina D3 resultou em concentrações plasmáticas de calcidiol de 57 ng/mL e 77 ng/mL, respetivamente. Contudo, utilizando as mesmas doses, 1 mg ou 3 mg por dia, mas suplementado com calcidiol exógeno, as concentrações atingiram valores superiores, de 180 ng/mL e 278 ng/mL, respetivamente.

Apesar desses aumentos expressivos de calcidiol, os níveis de calcitriol tendem a manter-se semelhantes entre as vacas suplementadas com vitamina D3 ou com calcidiol, o que sugere que a hidroxilação renal continua a ser uma limitação pela dependência da PTH (Eder & Grundmann, 2022). Assim, embora o calcidiol seja mais eficiente em aumentar o substrato disponível, a resposta final permanece condicionada pelo estado metabólico do animal e pela sensibilidade à PTH.

Pela via parenteral, recorrendo ao uso direto de calcitriol, é possível provocar um aumento rápido da calcemia e já demonstrou prevenir HC em condições experimentais. No entanto, esta abordagem implica um risco significativo de hipercalcemia e supressão prolongada da produção endógena de calcitriol, podendo predispor a hipocalcemia tardia. Por estas razões, a utilização parenteral de vitamina D ou dos seus análogos é considerada inadequada para ser utilizada pelas explorações de leite e permanece reservada sobretudo a contextos de estudo (Vieira-Neto et al., 2017; Celi et al., 2018).

Em síntese, a suplementação de vitamina D, especialmente sob forma de calcidiol, pode melhorar a adaptação mineral no peri-parto, embora os resultados clínicos sejam variáveis e dependentes de fatores como ingestão de matéria seca, estado ácido-base, sensibilidade à PTH e estratégia nutricional pré-parto. Desta forma, a vitamina D deve ser

vista como uma ferramenta complementar e utilizada em conjunto com outras formas de prevenção da hipocalcemia (Rodney et al., 2018).

Em contexto de campo, o tratamento de hipocalcemia é muitas vezes delineado sem recurso a medições objetivas dos níveis de cálcio, o que pode conduzir à administração excessiva ou por defeito de cálcio, com consequências clínicas para o animal e económicas para o produtor.

Com tudo isto, o objetivo geral deste estudo foi utilizar um medidor portátil de cálcio ionizado para determinar de forma objetiva o estado de calcemia de vacas de leite assistidas clinicamente a campo, permitindo apoiar e otimizar a tomada de decisão terapêutica de acordo com a condição individual de cada animal.

A partir deste objetivo geral, definiram-se os seguintes objetivos específicos:

- A. Estudar a ocorrência de hipocalcemia clínica e subclínica em vacas leiteiras nos Açores.
- B. Analisar a associação entre idade/paridade e a ocorrência de hipocalcemia.
- C. Analisar a associação entre a ocorrência de hipocalcemia e distócia.
- D. Analisar a associação entre suplementação de vitamina D no período seco (sim/não) e a ocorrência de hipocalcemia.
- E. Analisar a associação entre o valor de iCa no momento da consulta e a ocorrência de recidiva clínica no follow-up realizado entre o 5º e o 8º dia.
- F. Analisar a associação entre o valor de iCa após a administração intravenosa de cálcio e o desfecho clínico no *follow-up*.

III. Material e métodos

O estudo foi realizado na ilha Terceira (Açores), entre janeiro e maio de 2024, com a equipa de assistência veterinária da Unicol - Cooperativa Agrícola, C.R.L., tendo sido submetido à apreciação da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, com parecer favorável.

Foram incluídas no estudo 58 vacas de leite provenientes de 48 explorações diferentes, operando todas em regime de pastoreio. A população era composta por 54 vacas Holstein-Frísia (HO), 2 vacas Jersey e 2 vacas cruzadas de Jersey x HO.

As vacas incluídas no estudo apresentaram idades compreendidas entre 2 e 11 anos, englobando tanto primíparas como múltiparas. Relativamente ao manejo, 40 vacas encontravam-se exclusivamente em pastoreio e 18 vacas em pastoreio conjugado com parque de alimentação suplementar.

1. Recolha de dados epidemiológicos das explorações associados a hipocalcemia

Foram recolhidos dados relevantes no momento da consulta, inseridos na anamnese da consulta. Sendo estes:

- Identificação da exploração e do animal;
- Informação do animal: idade, raça e paridade;
- Ocorrência de parto distócico ou eutócico;
- Data e hora do parto;
- Classificação do motivo da chamada com base no diagnóstico do médico veterinário: hipocalcemia puerperal, outras causas de síndrome de vaca caída ou outra afeção sem apresentação de decúbito;
- Ações de prevenção de hipocalcemia na vaca consultada: suplementação com vitamina D3 no período seco (sim/não), sem registo da via e dose.

A recolha dos dados, a colheita das amostras sanguíneas e a medição das concentrações de cálcio ionizado foram realizadas pelo autor e por outros médicos veterinários da equipa de assistência veterinária da Unicol - Cooperativa Agrícola, C.R.L. Todos os procedimentos foram efetuados de forma padronizada, segundo critérios previamente definidos, garantindo uniformidade na medição do iCa e no registo da informação clínica.

2. Critérios de inclusão

Foi realizado o exame de estado geral a todas as vacas consultadas. Incluindo avaliação da atitude e comportamento, condição corporal, mucosas, perfil abdominal e respiração, auscultação da frequência cardíaca, respiratória e motilidade ruminal, medição da temperatura retal e palpação retal.

Embora todas as vacas tenham sido submetidas a exame físico geral durante a consulta, os parâmetros clínicos não foram registados de forma sistemática, pelo que não foram incluídos na análise estatística.

Os critérios de inclusão no estudo foram um ou mais de entre os seguintes:

- Animais no período puerperal, i.e. \pm 30 dias do parto;
- Partos distócicos;
- Mastite clínica;
- Síndrome de vaca caída fora do período puerperal;
- Anorexia ou marcada diminuição da ingestão;
- Metrite;
- Retenção de placenta;
- Cetose;
- Presença de sinais clínicos de hipocalcemia, nomeadamente ataxia, tremores musculares, diminuição da ingestão de alimento e ruminação, pulso fraco e taquicardia, motilidade ruminal diminuída, extremidades frias, temperatura corporal $< 37^{\circ}\text{C}$, decúbito lateral e incapacidade de permanecer de pé.

3. Medição da calcemia e terapêutica

As vacas incluídas no estudo foram submetidas a recolha de sangue na veia coccígea em contexto clínico para avaliação clínica dos níveis de calcemia. As vacas estavam contidas no seu ambiente habitual de contenção onde foram clinicamente examinadas (sala de ordenha, cornadis, ou manga de maneio), à exceção daquelas que se encontravam caídas e sem capacidade de se levantarem. Foram utilizadas agulhas 18 G e seringa de 5mL e recolhido 1 a 2mL de sangue por animal.

Realizou-se a análise do sangue com o medidor de Ca ionizado portátil bovino (Blood iCa Laqua Twin®, Horiba). A análise era efetuada da seguinte forma: 1º ligar o medidor; 2º calibrar o medidor utilizando as soluções padrão de cálcio ionizado de 1,25 mmol/L e 2,50 mmol/L; 3º aplicar o sangue total de forma a cobrir toda a câmara do sensor e proceder à medição; 4º limpeza do sensor após cada utilização.

A proporção entre iCa e tCa em vacas de leite mantém-se relativamente estável no pós-parto, situando-se em 44-47% (Cao et al., 2025). Considerando o limiar para HC baseado no tCa ($< 1,4\text{mmol/L}$), esta relação corresponde a valores de iCa próximos de $0,7-0,8\text{mmol/L}$. O documento técnico da HORIBA refere como intervalo normal de iCa $1,05-1,30\text{mmol/L}$ e indica valores $\leq 0,9\text{mmol/L}$ como suspeita de hipocalcemia (Utsumi, 2019). Contudo, o fabricante não fornece limites específicos para HC. Adicionalmente, Suzuki et al. (2021) citam estudos que definem hipocalcemia subclínica como iCa $< 1,0\text{mmol/L}$ sem sinais clínicos, o que posiciona valores inferiores a $0,8\text{mmol/L}$ dentro da faixa clínica. Assim, perante a ausência na literatura ou no manual do equipamento de limites para HC, o presente estudo adotou iCa $< 0,8\text{mmol/L}$ como limiar operacional para HC, por ser fisiologicamente coerente, sustentado pela literatura disponível e prática clínica de campo.

Tendo em conta o valor de cálcio ionizado obtido e a avaliação clínica do animal, o médico veterinário responsável aplicava o tratamento que considerava mais adequado.

Os protocolos de tratamento instaurados pelo clínico eram os seguintes:

- Vacas com iCa $\geq 0.8\text{ mmol/L}$: administração de um bólus PO de Ca;
- Vacas com iCa $< 0.8\text{ mmol/L}$ e sem apresentarem decúbito: administração de um bólus PO de Ca, 250mL de borogluconato de cálcio IV e 250mL de borogluconato de cálcio SC;
- Vacas com iCa $< 0.8\text{ mmol/L}$ e caídas: administração de um bólus PO de Ca, 500mL de borogluconato de cálcio IV;
- Vacas com iCa $\geq 1.1\text{ mmol/L}$: Não era administrado Ca.

Embora existisse um protocolo base, ocorreram variações individuais nos volumes e vias de administração, ajustadas pelo médico veterinário de acordo com a apresentação clínica da vaca. Os sinais clínicos que justificaram estes ajustes não foram registados de forma padronizada, impossibilitando a análise dos protocolos como variável independente principal. Foram também instaurados tratamentos de acordo com outras afeções diagnosticadas.

4. Reavaliação dos níveis de calcemia após o tratamento IV e continuidade da terapêutica

Quando era administrado cálcio IV, sempre que possível, era feita uma segunda medição da calcemia com o medidor portátil 10 a 15 minutos após a administração do cálcio IV.

Após o protocolo terapêutico imediato, foi definido um plano de terapêutica de manutenção, a ser realizado pelo produtor nas horas ou dias seguintes, independentemente de ter sido ou não efetuada a segunda medição de iCa. As recomendações incluíram:

- Apenas observação;
- Administrar um bólus PO de cálcio BID;
- Administrar dois bólus PO de cálcio BID (um em cada toma);
- Administrar três bólus PO de cálcio BID (um em cada toma);
- Administrar quatro bólus PO de cálcio BID (um em cada toma);
- Administrar por via SC 100mL de borogluconato de cálcio BID.

5. Acompanhamento/follow up

Entre o 5.º e o 8.º dia após a consulta foi feita uma chamada telefónica a todos os produtores a questionar o estado de saúde da vaca assistida de forma a determinar se a vaca recidivou (voltou a apresentar sinais compatíveis com hipocalcemia) ou não recidivou após o tratamento aplicado.

6. Tratamento de dados e análise estatística

Para efeitos de tratamento dos dados recolhidos, foi utilizado o programa Microsoft Excel® e IBM SPSS Statistics. A análise estatística foi realizada em duas fases: análise estatística descritiva e análise estatística inferencial.

A análise estatística descritiva incluiu o cálculo de medidas de tendência central (média, mediana) e de dispersão (desvio-padrão, valores mínimos e máximos) para as variáveis contínuas que incluíram a idade, a paridade, e os valores de cálcio ionizado medidos no momento da consulta (iCa inicial) e, quando disponível, após a administração intravenosa de cálcio (iCa final). As variáveis categóricas, como a categoria da calcemia (hipocalcemia clínica, subclínica e normocalcemia), o tipo de parto, a suplementação de vitamina D no período seco e o desfecho clínico registado no *follow-up*, foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

A análise estatística inferencial teve como objetivo avaliar associações entre variáveis categóricas e comparar valores de mediana de cálcio ionizado entre grupos, tendo em consideração o tipo de variável analisada e a distribuição dos dados.

O teste qui-quadrado de Pearson foi utilizado para avaliar a associação entre a ocorrência de hipocalcemia e as variáveis idade, paridade, tipo de parto (eutócico ou

distócico) e a suplementação de vitamina D no período seco (sim ou não). Para este efeito, a idade foi agrupada em classes etárias (2-3 anos, 4-6 anos e ≥ 7 anos) e a paridade foi categorizada em vacas com menos de três lactações e vacas com três ou mais lactações. Na análise da associação entre a idade e a ocorrência de hipocalcemia, a calcemia foi avaliada quer de forma dicotômica (hipocalcemia ou normocalcemia), quer categorizada em hipocalcemia clínica, subclínica e normocalcemia. Nas restantes análises inferenciais, a calcemia foi considerada apenas de acordo com esta última categorização.

Para a avaliação da relação entre os valores de cálcio ionizado e o desfecho clínico registado no *follow-up* (recidiva ou não recidiva), os valores de iCa inicial e, quando disponível, de iCa final foram comparados entre grupos utilizando o teste não-paramétrico *U* de Wilcoxon-Mann-Whitney para comparação de medianas, tendo em consideração a distribuição dos dados e o reduzido número de animais.

Em todas as análises estatísticas, considerou-se um nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

IV. Resultados

1. Caracterização da população

Foram incluídas 58 vacas de leite provenientes de 48 explorações. A população era maioritariamente constituída por vacas Holstein-Frísia (n=54; 93,1%), seguindo-se 2 vacas Jersey (3,4%) e 2 cruzadas Jersey x Holstein-Frísia (3,4%). Relativamente ao manejo, 40 vacas (69,0%) encontravam-se em pastoreio e 18 (31,0%) em pastoreio conjugado com parque de alimentação.

As idades das vacas apresentaram uma média de $6,3 \pm 2,5$ anos, com mediana de 7 anos, variando entre 1 e 11 anos. A distribuição por número de lactações revelou uma média de $4,43 \pm 1,97$ lactações, com mediana de 4 e uma variação entre 1 e 11 lactações. Sendo que correspondeu a 5 vacas da 1ª lactação (8,6%), 5 da 2ª lactação (8,6%), 7 da 3ª lactação (12,1%), 13 da 4ª lactação (22,4%), 11 da 5ª lactação (19,0%), 10 da 6ª lactação (17,2%), 5 da 7ª lactação (8,6%), e apenas uma vaca da 8ª lactação (1,7%) e outra da 11ª lactação (1,7%).

O tipo de parto, anterior ao momento da consulta das vacas incluídas no estudo, foi eutócico em 33 vacas (56,9%) e distócico em 25 vacas (43,1%). No período seco, 18 vacas (31,0%) receberam suplementação com vitamina D, enquanto 40 vacas (69,0%) não receberam.

2. Momento da medição do cálcio ionizado em relação ao parto

A medição do iCa foi realizada predominantemente no período das 0 a 12 horas pós-parto, onde se incluiu 26 vacas (44,8%). Nove vacas (15,5%) foram avaliadas entre as 12 a 24 horas pós-parto, 5 vacas (8,6%) entre as 24 a 48 horas pós-parto e 16 vacas (27,6%) em mais de 48 horas pós-parto. Apenas 2 vacas (3,4%) foram avaliadas antes do parto.

3. Valores de cálcio ionizado

Os valores da medição da concentração inicial de iCa das vacas incluídas no estudo apresentou uma média de 0,814 mmol/L, mediana de 0,8 mmol/L, desvio-padrão de 0,34 mmol/L, e valores compreendidos entre 0,3 e 1,9 mmol/L. A distribuição dos valores de cálcio ionizado encontra-se representada na Figura 5.

Com base nos limiares definidos para a interpretação dos valores de iCa, verificou-se que 27 vacas (46,6%) apresentavam HC, com valores de iCa inferiores a 0,8 mmol/L.

Adicionalmente, 13 vacas (22,4%) foram classificadas com hipocalcemia subclínica, apresentando concentrações de iCa entre 0,8 e <1,0 mmol/L, e as restantes 18 vacas (31,0%) exibiam valores de iCa iguais ou superiores a 1,0 mmol/L, sendo assim consideradas normocalcémicas. A distribuição das vacas incluídas no estudo por categoria de calcemia encontra-se representada na Figura 6.

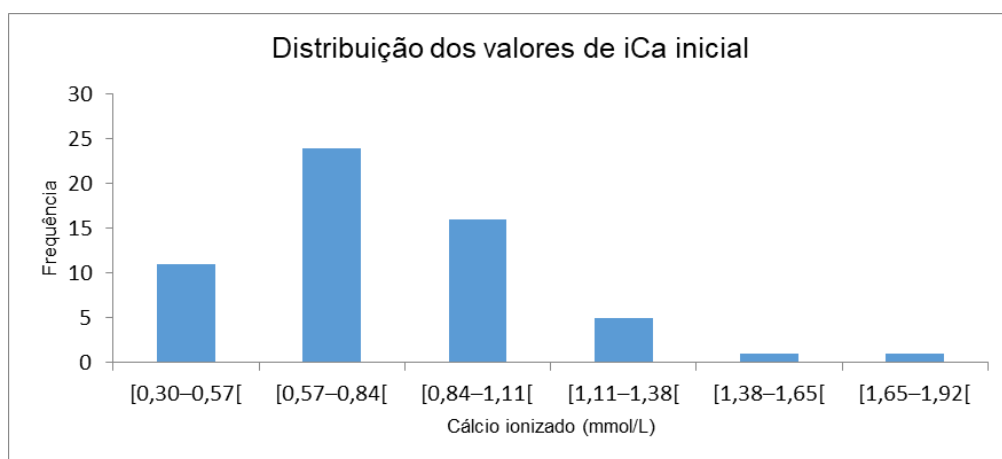


Figura 5 - Distribuição dos valores de cálcio ionizado em vacas leiteiras (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.

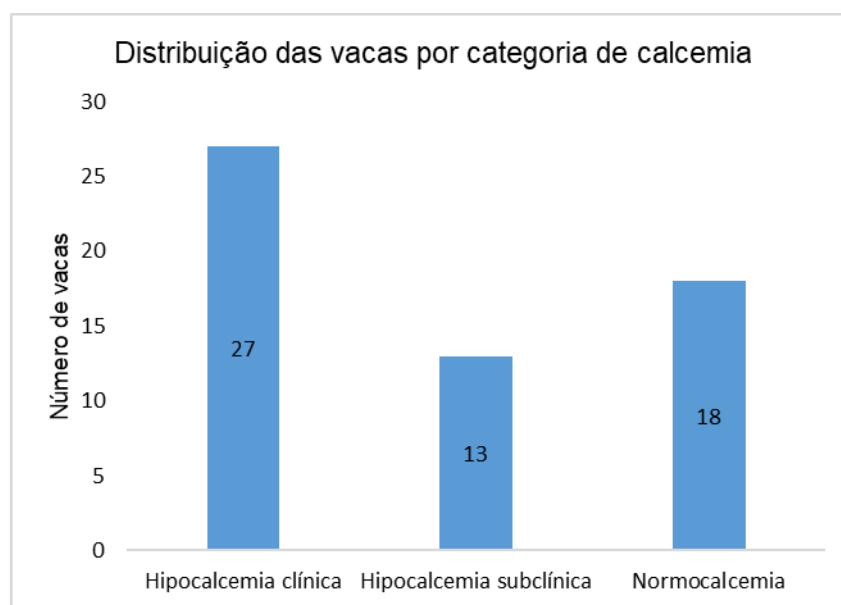


Figura 6 - Distribuição das vacas leiteiras incluídas no estudo por categoria de calcemia, com base nos valores de cálcio ionizado medidos a campo (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março de 2024.

4. Protocolos de tratamento em consulta

Relativamente aos protocolos terapêuticos aplicados, verificou-se que 13 vacas (22,4%) receberam apenas um bólus oral de cálcio, enquanto 15 vacas (25,9%) foram tratadas com a combinação de 1 bólus oral, cálcio IV e SC e outras 15 vacas (25,9%), encontrando-se em decúbito no momento da consulta, receberam 1 bólus oral associado exclusivamente à administração IV de cálcio. Finalmente, as restantes 15 vacas (25,9%) não receberam qualquer suplementação de cálcio, por apresentarem valores de iCa superiores a 1,1 mmol/L. Embora estes esquemas correspondam ao protocolo-base definido, ocorreram ajustes clínicos individuais, aplicados pelo Médico Veterinário conforme a apresentação de cada animal, tal como descrito nos Materiais e Métodos. A distribuição dos protocolos de tratamento encontra-se representada na Figura 7.

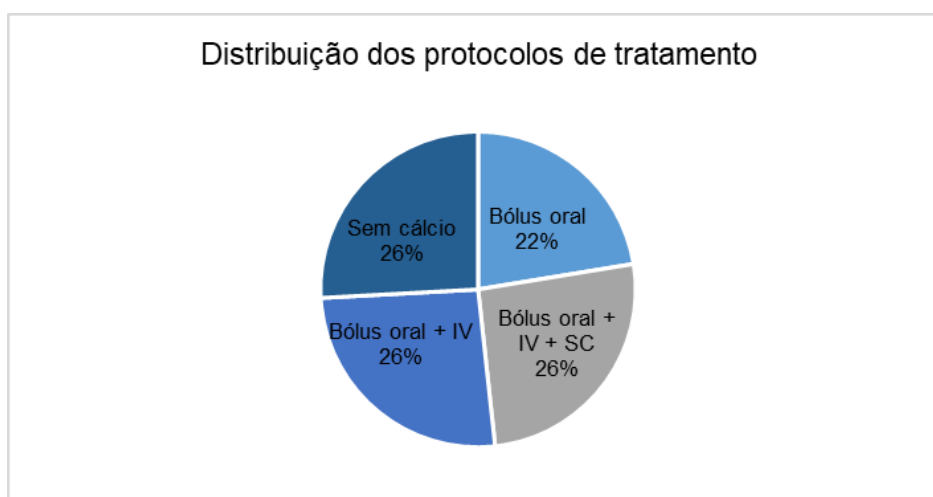


Figura 7 - Distribuição dos protocolos de tratamento aplicados às vacas leiteiras incluídas no estudo (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março de 2024.

5. Valores de cálcio ionizado após tratamento

A segunda medição de cálcio ionizado após a administração intravenosa de cálcio foi realizada em 27 vacas. Os valores de iCa final apresentaram uma média de $1,39 \pm 0,28$ mmol/L, com mediana de 1,40 mmol/L, variando entre 1,00 e 2,30 mmol/L. A distribuição dos valores de iCa final é apresentada na Figura 8.

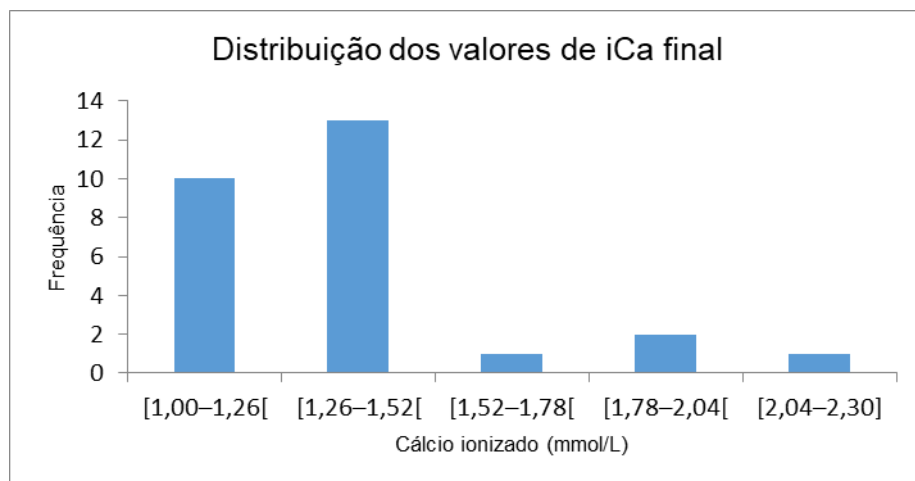


Figura 8 - Distribuição dos valores de cálcio ionizado após a administração intravenosa de cálcio (iCa final) no subgrupo de vacas avaliadas (n = 27), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.

6. Terapêutica de manutenção

Na terapêutica de manutenção recomendada após o tratamento inicial, 32 vacas (55,2%) permaneceram apenas sob observação, sem suplementação adicional. A administração de um bólus oral de Ca BID foi recomendada em 15 animais (25,9%), enquanto 2 vacas (3,4%) receberam indicação para administrar dois bólus BID. A administração de três e quatro bólus BID foi menos frequente, ocorrendo em apenas uma vaca cada (1,7% em ambos os casos). Adicionalmente, 7 vacas (12,1%) receberam recomendação para suplementação subcutânea com 100 mL de Ca BID. Tal como no tratamento no momento da consulta, estas recomendações foram ajustadas de acordo com a avaliação clínica individual de cada vaca. A distribuição das recomendações de terapêutica de manutenção encontra-se representada na Figura 9.

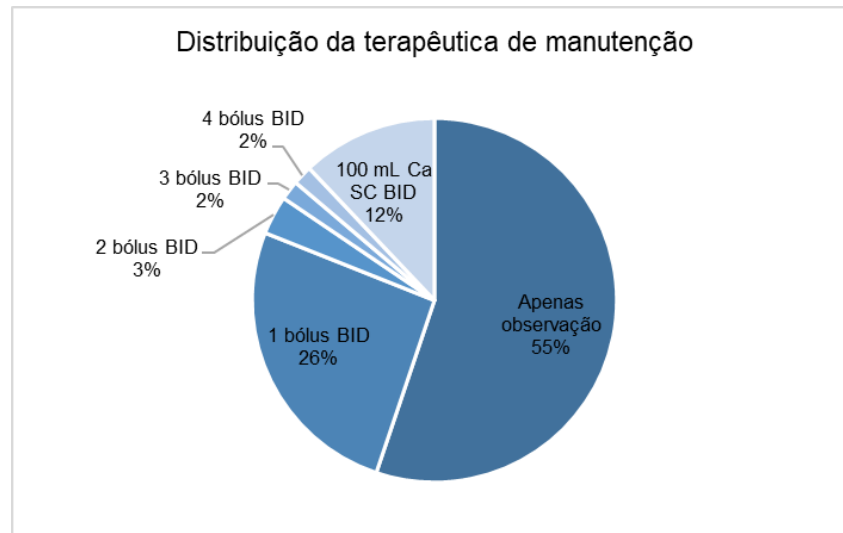


Figura 9 - Distribuição das recomendações de terapêutica de manutenção após o tratamento inicial de hipocalcemia em vacas leiteiras (n = 58), num estudo nos Açores, entre janeiro e março 2024.

7. Follow-up clínico

No *follow-up* realizado entre o 5.º e o 8.º dia pós-intervenção, observou-se que a grande maioria das vacas não apresentou recidiva clínica após o tratamento. Das 58 vacas avaliadas, 53 (91,4%) não recidivaram, enquanto 5 (8,6%) recidivaram, apresentando novamente sinais clínicos compatíveis com hipocalcemia.

8. Associações estatísticas

Não se observou uma diferença estatisticamente significativa entre a idade e a ocorrência ou não de hipocalcemia, quando classificada em hipocalcemia clínica, hipocalcemia subclínica e normocalcemia ($p=0,219$). Porém, quando a calcemia foi analisada de forma dicotômica (hipocalcemia ou normocalcemia), a diferença encontrada foi marginalmente significativa ($p=0,059$). A distribuição dos casos evidenciou menor ocorrência de hipocalcemia no grupo etário 2–3 anos, comparativamente aos grupos 4–6 anos e ≥ 7 anos.

De igual forma, a paridade, categorizada em vacas com menos de três lactações e vacas com três ou mais lactações, não apresentou diferença estatisticamente significativa com a ocorrência de hipocalcemia ($p=0,342$).

Relativamente às complicações periparto, verificou-se uma diferença marginalmente significativa entre o tipo de parto (eutócico ou distócico) e a classificação

da calcemia ($p=0,060$), nomeadamente valores de calcemia baixos foram associados com presença de partos distócicos.

A suplementação com vitamina D no período seco não apresentou associação estatisticamente significativa com a ocorrência de hipocalcemia ($p=0,654$).

Em relação à evolução clínica, a comparação dos valores medianos de cálcio ionizado no momento da consulta entre vacas que recidivaram e vacas que não recidivaram, não revelou diferenças estatisticamente significativas ($p=0,717$).

De igual modo, no subgrupo de animais em que foi possível realizar uma segunda medição da calcemia após a administração intravenosa de cálcio, não se observaram diferenças estatisticamente significativas nos valores de cálcio ionizado final entre os grupos de *follow-up* ($p=0,159$). Os resultados da análise estatística inferencial das associações avaliadas estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 - Resultados da análise estatística inferencial das associações avaliadas.

Variável independente	Variável dependente	Teste estatístico	p-value	Interpretação
Idade (2–3, 4–6, ≥7 anos)	Calcemia (clínica, subclínica, normocalcemia)	Qui-quadrado de Pearson	0,219	Não significativa
Idade (2–3, 4–6, ≥7 anos)	Calcemia (hipocalcemia vs normocalcemia)	Qui-quadrado de Pearson	0,059	Marginalmente significativa
Paridade (<3 vs ≥3 lactações)	Calcemia (clínica, subclínica, normocalcemia)	Qui-quadrado de Pearson	0,342	Não significativa
Tipo de parto (eutócico vs distócico)	Calcemia (clínica, subclínica, normocalcemia)	Qui-quadrado de Pearson	0,060	Marginalmente significativa
Vitamina D (sim vs não)	Calcemia (clínica, subclínica, normocalcemia)	Qui-quadrado de Pearson	0,654	Não significativa
iCa inicial (contínuo)	<i>Follow-up</i> (recidiva vs não recidiva)	<i>U</i> de Wilcoxon-Mann-Whitney	0,717	Não significativa
iCa final (contínuo)	<i>Follow-up</i> (recidiva vs não recidiva)	<i>U</i> de Wilcoxon-Mann-Whitney	0,159	Não significativa

V. Discussão

O presente estudo teve como objetivo avaliar a utilização de um medidor portátil de cálcio ionizado (Blood iCa LaquaTwin®, Horiba) para a identificação de hipocalcemia em vacas de leite em contexto de campo. A avaliação da calcemia foi realizada no momento da consulta da assistência veterinária, recorrendo à medição do cálcio ionizado como forma de obter uma estimativa objetiva do estado metabólico dos animais.

Neste contexto, observou-se uma elevada ocorrência de hipocalcemia entre as vacas avaliadas, incluindo casos de hipocalcemia clínica e subclínica, identificados com base nos valores de iCa medidos. Ao contrário do descrito na maioria dos estudos realizados em populações aleatórias, nos quais a hipocalcemia subclínica tende a apresentar uma prevalência superior à hipocalcemia clínica, neste estudo verificou-se uma maior proporção de casos de HC relativamente à forma subclínica (Reinhardt et al., 2011; Goff, 2008).

Esta diferença pode ser explicada, em grande parte, pelo desenho do estudo, uma vez que a população analisada incluiu exclusivamente vacas para as quais foi solicitada assistência veterinária. Dessa forma, é expectável uma maior representação de animais com alterações clínicas suficientemente relevantes para motivar a intervenção, o que poderá ter contribuído para a sobrerrepresentação de casos de HC quando comparado a estudos realizados em populações aleatórias.

Ainda assim, a identificação de um número relevante de casos de hipocalcemia subclínica neste contexto clínico evidencia que esta condição pode facilmente passar despercebida quando a avaliação se baseia exclusivamente na observação de sinais clínicos. Estes resultados estão em concordância com a literatura, que refere a hipocalcemia subclínica como uma condição de elevada ocorrência em vacas de leite e frequentemente não identificada quando a avaliação se baseia apenas na observação clínica, sem recurso a uma avaliação objetiva da calcemia (Seifi & Kia, 2017). Neste sentido, os resultados obtidos sugerem que a avaliação objetiva do iCa permite uma caracterização mais completa do estado da calcemia em contexto de campo, incluindo a identificação de alterações subclínicas.

Relativamente à idade e à paridade, não se observaram associações estatisticamente significativas com a ocorrência de hipocalcemia no presente estudo. Ainda assim, o valor de p obtido para a associação com a idade foi próximo do limiar de significância, sugerindo uma possível influência deste fator na calcemia, mas que não foi detetada de forma significativa neste conjunto de animais. Importa salientar que esta

proximidade ao limiar de significância foi observada apenas quando a hipocalcemia foi analisada de forma dicotômica, enquanto a análise tricotômica da calcemia (hipocalcemia clínica, hipocalcemia subclínica e normocalcemia) não revelou associações relevantes, quer para a idade, quer para a paridade. A ausência de associações estatisticamente significativas poderá estar relacionada, pelo menos em parte, com a dimensão reduzida da amostra, o que forçou o agrupamento de casos por idades (2-3; 4-6; e >7) para permitir a análise estatística inferencial. Apesar de a literatura identificar a idade e a paridade como fatores associados a um maior risco de hipocalcemia, particularmente a partir da terceira lactação, essa associação não foi confirmada no presente estudo (Neves et al., 2017; Venjakob et al., 2017).

No que respeita à distócia, foi analisada a associação entre a hipocalcemia e a ocorrência de distócia no parto. No presente estudo, observou-se uma associação marginalmente significativa entre estas variáveis, o que poderá estar relacionada com a dimensão global da amostra e com a distribuição dos casos de distócia pelas diferentes categorias de calcemia, o que limita o poder estatístico da análise. Apesar de a literatura descrever uma associação entre hipocalcemia e a ocorrência de distócia no período periparto, essa associação não foi explicitamente observada no presente estudo (Correa et al., 1992; Bahrami-Yekdangi et al., 2022). Assim, os resultados obtidos devem ser interpretados com cautela, não excluindo a possibilidade de uma relação entre estas condições, que poderá tornar-se mais evidente em estudos com uma amostragem de maior dimensão.

Em relação à suplementação de vitamina D, foi analisada a associação entre a sua administração no período seco e a ocorrência de hipocalcemia. No presente estudo, não se observou uma associação estatisticamente significativa entre as variáveis. A vitamina D desempenha um papel reconhecido na homeostasia do cálcio, promovendo a absorção intestinal e contribuindo para a adaptação metabólica no período de transição (Goff, 2014). Contudo, a evidência disponível na literatura demonstra que os resultados da suplementação de vitamina D são variáveis e dependem fortemente do tipo de vitamina D, da dose administrada e do momento da administração no período seco, não existindo consenso quanto à sua eficácia como estratégia preventiva isolada da hipocalcemia (Vieira-Neto et al., 2024). No presente estudo, a suplementação foi avaliada de forma dicotômica (sim/não), não sendo possível considerar a dose ou o momento exato da administração, o que poderá ter condicionado a deteção de um eventual efeito da vitamina D sobre a calcemia. Importa ainda referir que, no estudo de Rodney et al. (2018), a suplementação com vitamina D foi avaliada em dietas com DCAD positivo ou negativo, ambas cuidadosamente formuladas e com controlo rigoroso da ingestão mineral. Este

contexto difere do sistema de pastoreio das explorações incluídas neste estudo, onde o DCAD da dieta não é especificamente ajustado ou monitorizado. Dessa forma, a ausência de associação observada neste estudo não invalida o papel fisiológico da vitamina D, mas reforça a complexidade da sua utilização como estratégia preventiva isolada e sugere que a sua eficácia depende da utilização de protocolos de suplementação bem definidos.

Relativamente à associação entre os valores de cálcio ionizado e a ocorrência de recidiva clínica no *follow-up*, não foi identificada uma relação estatisticamente significativa, quer para o iCa medido no momento da consulta, quer para o iCa avaliado após a administração intravenosa de cálcio. Estes resultados sugerem que um valor pontual de iCa pode não ser um bom preditor isolado da evolução clínica subsequente. A hipocalcemia no período peri-parto é um processo dinâmico e multifatorial, no qual a concentração de cálcio sanguíneo pode oscilar nas horas e dias seguintes ao parto, mesmo após correção terapêutica inicial, dependendo da capacidade de adaptação metabólica de cada vaca (Goff, 2008; Goff, 2014). Adicionalmente, em sistemas de pastoreio, como é o caso das explorações incluídas neste estudo, a variabilidade nutricional pode ser maior, o que poderá contribuir para uma variabilidade individual ainda maior na resposta à hipocalcemia. De forma consistente, um estudo recente que avaliou diferentes parâmetros bioquímicos como potenciais marcadores de prognóstico demonstrou uma elevada variabilidade individual e a ausência de parâmetros universais fiáveis para prever a ocorrência de hipocalcemia ou a sua evolução clínica (Arnold et al., 2024). Neste contexto, os resultados obtidos indicam que a medição do iCa em contexto de campo pode apoiar a decisão terapêutica imediata, não se relevando, contudo, um preditor isolado da recidiva clínica.

O número de animais incluídos no estudo constituiu uma limitação, na medida em que não foi possível analisar os resultados por idades individuais, mas apenas por grupos etários. O registo incompleto da sintomatologia clínica apresentada no momento da consulta limitou igualmente a análise da relação entre os sinais clínicos e os valores de cálcio ionizado.

Os protocolos terapêuticos instaurados apresentaram alguma variabilidade, uma vez que foram ajustados de acordo com a avaliação clínica individual e o clínico responsável por cada caso, refletindo a prática clínica de campo. Esta variabilidade, associada a uma definição de caso flexível, condicionou a análise do sucesso terapêutico em função do nível de calcemia observado.

Ainda assim, este estudo trouxe evidência sobre a ocorrência de hipocalcemia em bovinos leiteiros nos Açores e demonstrou que a utilização de um medidor portátil de cálcio ionizado pode ser integrado de forma prática na abordagem clínica, contribuindo para um

diagnóstico mais objetivo e para uma tomada de decisão terapêutica mais informada, com potenciais benefícios para a produção e o bem-estar animal.

VI. Conclusões

O presente estudo permitiu caracterizar a hipocalcemia clínica e subclínica em vacas de leite em regime de pastoreio extensivo assistidas clinicamente em contexto de campo, recorrendo à medição do cálcio ionizado como ferramenta objetiva de apoio à avaliação da hipocalcemia. Os resultados obtidos evidenciam uma elevada ocorrência desta afeção na população estudada, refletindo a natureza clínica dos animais avaliados.

De forma global, não se identificaram associações consistentes entre a ocorrência de hipocalcemia e a idade, a paridade, a distócia, a suplementação com vitamina D ou a evolução clínica no *follow-up*, reforçando o carácter multifatorial e dinâmico desta patologia no período peri-parto.

Conclui-se que a medição do cálcio ionizado em contexto clínico de campo constitui um recurso útil para apoiar a identificação da hipocalcemia e a decisão terapêutica imediata, devendo a sua interpretação ser integrada com a avaliação clínica do animal. Neste contexto, o presente estudo contribui para a valorização da utilização de ferramentas portáteis na avaliação objetiva da calcemia em prática clínica de campo em bovinos de leite.

VII. Referencias bibliográficas

Almeida, A. M. de, Alvarenga, P., & Fangueiro, D. (2021). The dairy sector in the Azores Islands: possibilities and main constraints towards increased added value. *Tropical animal health and production*, 53(1), 40. doi:10.1007/s11250-020-02442-z.

Arnold, B., Khol, J. L., & Wittek, T. (2024). Prognostic value of antepartum alkaline phosphatase, total and ionized calcium and net acid/base excretion to predict peripartum hypocalcemia in cows. *Journal of Dairy Research*, 91(3), 273–277. doi:10.1017/S0022029924000669.

Bahrami-Yekdangi, M., Ghorbani, G. R., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Mahnani, A., Drackley, J. K., & Ghaffari, M. H. (2022). Identification of cow-level risk factors and associations of selected blood macro-minerals at parturition with dystocia and stillbirth in Holstein dairy cows. *Scientific reports*, 12(1), 5929. doi:10.1038/s41598-022-09928-w.

Beagley, J. C., Whitman, K. J., Baptiste, K. E., & Scherzer, J. (2010). Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *Journal of veterinary internal medicine*, 24(2), 261-268. doi:10.1111/j.1939-1676.2010.0473.x.

Braun, U., Zulliger, P., Liesegang, A., Bleul, U., & Hässig, M. (2009). Effect of intravenous calcium borogluconate and sodium phosphate in cows with parturient paresis. *Veterinary Record*, 164(10), 296-299. doi:10.1136/vr.164.10.296.

Caixeta, L. S., Ospina, P. A., Capel, M. B., & Nydam, D. V. (2015). The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. *The Veterinary Journal*, 204(2), 150-156. doi:10.1016/j.tvjl.2015.01.021.

Caixeta, L. S., Ospina, P. A., Capel, M. B., & Nydam, D. V. (2017). Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 94, 1-7. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.01.039

Cao, Z., Zhao, Y., Zhang, B., Kastelic, J. P., Hu, M., Cheng, J., ... & Gao, J. (2025). Validation of a Portable Ionized Calcium Detection Device and Changes in the Ionized-to-Total-Calcium Ratio in the Blood of Postpartum Holstein Cows. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 15(2), 136. doi:10.3390/ani15020136.

Celi, P., Williams, S., Engstrom, M., McGrath, J., & La Marta, J. (2018). Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxyvitamin D3 in growing calves. *Food and Chemical Toxicology*, 111, 641-649. doi:10.1016/j.fct.2017.11.053.

Chamberlin, W. G., Middleton, J. R., Spain, J. N., Johnson, G. C., Ellersieck, M. R., & Pithua, P. (2013). Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *Journal of dairy science*, 96(11), 7001-7013. doi:10.3168/jds.2013-6901

Chapinal, N., Carson, M., Duffield, T. F., Capel, M., Godden, S., Overton, M., ... & LeBlanc, S. J. (2011). The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of dairy science*, 94(10), 4897-4903. doi:10.3168/jds.2010-4075.

Chapinal, N., Carson, M. E., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., Godden, S., Capel, M., ... & Duffield, T. F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy science*, 95(3), 1301-1309. doi:10.3168/jds.2011-4724.

Chiwome, B., Kandiwa, E., Mushonga, B., Sajeni, S., & Habarugira, G. (2017). A study of the incidence of milk fever in Jersey and Holstein cows at a dairy farm in Beatrice, Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association*, 88(1), 1-6.

Christakos, S. (2012). Recent advances in our understanding of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 regulation of intestinal calcium absorption. *Archives of biochemistry and biophysics*, 523(1), 73-76. doi:10.1016/j.abb.2011.12.020.

Cohrs, I., Wilkens, M. R., & Grünberg, W. (2018). Effect of dietary phosphorus deprivation in late gestation and early lactation on the calcium homeostasis of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9591-9598. doi:10.3168/jds.2018-14642.

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2016). *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.

Correa, M. T., Erb, H. N., & Scarlett, J. M. (1992). A nested case-control study of uterine prolapse. *Theriogenology*, 37(4), 939-945. doi:10.1016/0093-691X(92)90055-V.

Couto Serrenho, R., DeVries, T. J., Duffield, T. F., & LeBlanc, S. J. (2021). Graduate Student Literature Review: What do we know about the effects of clinical and subclinical hypocalcemia on health and performance of dairy cows?. *Journal of dairy Science*, 104(5), 6304-6326. doi:10.3168/jds.2020-19371.

Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. J., Smith, R. D., Powers, P. A., Smith, M. C., ... & Pearson, E. J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 183(5), 559-561.

Instituto Nacional de Estatística (INE). (2023). *Produção de leite por região*. <https://www.ine.pt>.

Doll, K., Sickinger, M., & Seeger, T. (2009). New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. *The Veterinary Journal*, 181(2), 90-96. doi:10.1016/j.tvjl.2008.01.013.

Domino, A. R., Korzec, H. C., & McArt, J. A. (2017). Field trial of 2 calcium supplements on early lactation health and production in multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9681-9690. doi:10.3168/jds.2017-12885.

Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(12), 5764-5771. doi:10.3168/jds.2010-3429.

Eder, K., & Grundmann, S. M. (2022). Vitamin D in dairy cows: metabolism, status and functions in the immune system. *Archives of Animal Nutrition*, 76(1), 1-33. doi:10.1080/1745039X.2021.2017747.

Fikadu, W., Tegegne, D., Abdela, N., & Ahmed, W. M. (2016). Milk fever and its economic consequences in dairy cows: a review. *Global veterinaria*, 16(5), 441-452. doi:10.5829/idosi.gv.2016.16.05.103137.

Goff, J. P., & Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of dairy science*, 80(7), 1260-1268. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7.

Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The veterinary journal*, 176(1), 50-57. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.020.

Goff, J. P. (2014). *Calcium and magnesium disorders*. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(2), 359-381. doi:10.1016/j.cvfa.2014.04.003.

Goff, J. P. (2018). Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of dairy science*, 101(4), 2763-2813. doi:10.3168/jds.2017-13112.

Golder, H. M., McGrath, J., & Lean, I. J. (2021). Effect of 25-hydroxyvitamin D3 during prepartum transition and lactation on production, reproduction, and health of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(5), 5345-5374. doi:10.3168/jds.2020-18901.

Grünberg, W. (2014). Treatment of phosphorus balance disorders. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(2), 383-408. doi:10.1016/j.cvfa.2014.03.002.

Hernández-Castellano, L. E., Hernandez, L. L., & Bruckmaier, R. M. (2020). Endocrine pathways to regulate calcium homeostasis around parturition and the prevention of hypocalcemia in periparturient dairy cows. *Animal*, 14(2), 330-338. doi:10.1017/S1751731119001605.

Horan, L., Patton, J., McAloon, C. G., García-Muñoz, Á., Regan, Á., Mee, J. F., & Valdecabres, A. (2024). Transition cow health and management in pasture-based dairy herds: A farmers' survey. *Plos one*, 19(12), e0314987. doi:10.1371/journal.pone.0314987.

Hoorn, E. J., & Zietse, R. (2013). Disorders of calcium and magnesium balance: a physiology-based approach. *Pediatric Nephrology*, 28(8), 1195-1206.

Horst, R. L., Goff, J. P., & Reinhardt, T. A. (1990). Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1, 25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology*, 126(2), 1053-1057. doi:10.1210/endo-126-2-1053.

Horst, R. L., Goff, J. P., & Reinhardt, T. A. (1994). Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *Journal of dairy science*, 77(7), 1936-1951. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77140-X.

Horst, E. A., Kvidera, S. K., & Baumgard, L. H. (2021). Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance—A critical evaluation of traditional dogmas. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 8380-8410. doi:10.3168/jds.2021-20330.

Hove, K., & Kristiansen, T. (1984). Oral 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ in prevention of milk fever. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 25(4), 510-525. doi:10.1186/BF03546919.

Kang, D., Lungu, S. E., Danso, F., Dzou, C. F., Chen, Y., Zheng, X., ... & Zhou, G. (2025). *Animal health and nutrition: Metabolic disorders in cattle and improvement strategies*. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1470391. doi:10.3389/fvets.2025.1470391.

Kimura, K., Reinhardt, T. A., & Goff, J. P. (2006). Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of dairy science*, 89(7), 2588-2595. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9.

Kolisek, M., Nestler, A., Vormann, J., & Schweigel-Röntgen, M. (2012). Human gene SLC41A1 encodes for the Na⁺/Mg²⁺ exchanger. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 302(1), C318-C326. doi:10.1152/ajpcell.00289.20.

Lean, I. J., DeGaris, P. J., McNeil, D. M., & Block, E. (2006). Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of dairy science*, 89(2), 669-684. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72130-0.

Leonhard-Marek, S., & Martens, H. (1996). Effects of potassium on magnesium transport across rumen epithelium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 271(6), G1034-G1038. doi:10.1152/ajpgi.1996.271.6.G1034.

Leno, B. M., Ryan, C. M., Stokol, T., Kirk, D., Zanzalari, K. P., Chapman, J. D., & Overton, T. R. (2017). Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of dairy science*, 100(6), 4604-4622. doi:10.3168/jds.2016-12221.

Littledike, E. T., Witzel, D. A., & Whipp, S. C. (1968). Insulin: Evidence for inhibition of release in spontaneous hypocalcemia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 129(1), 135-139. doi:10.3181/00379727-129-332.

Ma, Z. R., Ma, L. L., Zhao, F., & Bo, Y. (2024). Effects of oral calcium on reproduction and postpartum health in cattle: a meta-analysis and quality assessment. *Frontiers in veterinary science*, 11, 1357640. doi:10.3389/fvets.2024.1357640.

Martens, H., Leonhard-Marek, S., Röntgen, M., & Stumpff, F. (2018). Magnesium homeostasis in cattle: absorption and excretion. *Nutrition research reviews*, 31(1), 114-130. doi:10.1017/S0954422417000257.

Martens, H., & Schweigel, M. (2000). Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesemias: implications for clinical management. *Veterinary clinics of North America: Food animal practice*, 16(2), 339-368. doi:10.1016/S0749-0720(15)30109-2.

Martín-Tereso, J., & Martens, H. (2014). Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(3), 643-670. doi:10.1016/j.cvfa.2014.07.007.

Martinez, N., Risco, C. A., Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., ... & Santos, J. E. P. (2012). Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of dairy science*, 95(12), 7158-7172. doi:10.3168/jds.2012-5812.

Martinez, N., Sinedino, L. D. P., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Gomes, G. C., Lima, F. S., ... & Santos, J. E. P. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on

physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of dairy science*, 97(2), 874-887. doi:10.3168/jds.2013-7408.

Martinez, N., Rodney, R. M., Block, E., Hernandez, L. L., Nelson, C. D., Lean, I. J., & Santos, J. E. P. (2018). Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Health and reproductive responses. *Journal of dairy science*, 101(3), 2563-2578. doi:10.3168/jds.2017-13740.

McArt, J. A., & Oetzel, G. R. (2023). Considerations in the diagnosis and treatment of early lactation calcium disturbances. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 39(2), 241-259. doi:10.1016/j.cvfa.2023.02.009.

Mee, J. F. (2008). Prevalence and risk factors for dystocia in dairy cattle: A review. *The Veterinary Journal*, 176(1), 93-101. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.032.

Melendez, P., Bartolomé, J., Roeschmann, C., Soto, B., Arevalo, A., Möller, J., & Coarsey, M. (2021). The association of prepartum urine pH, plasma total calcium concentration at calving and postpartum diseases in Holstein dairy cattle. *Animal*, 15(3), 100148. doi:10.1016/j.animal.2020.100148.

Melendez, P., Lopez, F., Lama, J., Leon, B., & Pinedo, P. (2023). Plasma ionized calcium and magnesium concentrations and prevalence of subclinical hypocalcemia and hypomagnesemia in postpartum grazing Holstein cows from southern Chile. *Veterinary and Animal Science*, 19, 100277. doi:10.1016/j.vas.2022.100277.

Miltenburg, C. L., Duffield, T. F., Bienzle, D., Scholtz, E. L., & LeBlanc, S. J. (2016). Randomized clinical trial of a calcium supplement for improvement of health in dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6550-6562. doi:10.3168/jds.2016-10961.

Morais, T. G., Teixeira, R. F., Rodrigues, N. R., & Domingos, T. (2018). Carbon footprint of milk from pasture-based dairy farms in Azores, Portugal. *Sustainability*, 10(10), 3658. doi:10.3390/su10103658.

Mulligan, F. J., & Doherty, M. L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1), 3-9. doi:10.1016/j.tvjl.2007.12.018.

National Research Council (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (7th rev. ed.). National Academies Press.

Neves, R. C., Leno, B. M., Stokol, T., Overton, T. R., & McArt, J. A. A. (2017). Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3796-3804. doi:10.3168/jds.2016-11970.

Neves, R. C., Stokol, T., Bach, K. D., & McArt, J. A. A. (2018). Method comparison and validation of a prototype device for measurement of ionized calcium concentrations cow-side against a point-of-care instrument and a benchtop blood-gas analyzer reference method. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1334-1343. doi:10.3168/jds.2017-13779.

Neves, R. C., Leno, B. M., Bach, K. D., & McArt, J. A. A. (2018). Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *Journal of dairy science*, 101(10), 9321-9331. doi:10.3168/jds.2018-14587.

Noakes DE, Parkinson TJ, England CW. 2019. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 10th Editions. Elsevier. 203-240.

Oetzel, G. R., & Miller, B. E. (2012). Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *Journal of dairy science*, 95(12), 7051-7065. doi:10.3168/jds.2012-5510.

Oetzel, G. R. Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract*, v. 29, p. 447-455, 2013. doi:10.1016/j.cvfa.2013.03.006.

Oetzel, G. R. (2017, September). Fresh cow metabolic diseases: Old myths and new data. In *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings* (pp. 70-80). doi:10.21423/aabppro20173282.

Poindexter, M. B., Kweh, M. F., Zimpel, R., Zuniga, J., Lopera, C., Zenobi, M. G., ... & Nelson, C. D. (2020). Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D3 increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 103(1), 805-822. doi:10.3168/jds.2019-16999.

Potts, J. T., & Gardella, T. J. (2007). Progress, paradox, and potential: parathyroid hormone research over five decades. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1117(1), 196-208. doi:10.1196/annals.1402.088

Ramberg Jr, C. F., Johnson, E. K., Fargo, R. D., & Kronfeld, D. S. (1984). Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 246(5), R698-R704. doi:10.1152/ajpregu.1984.246.5.R69.

Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., McCluskey, B. J., Goff, J. P., & Horst, R. L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, 188(1), 122-124. doi:10.1016/j.tvjl.2010.03.025.

Rérat, M., Philipp, A., Hess, H. D., & Liesegang, A. (2009). Effect of different potassium levels in hay on acid–base status and mineral balance in periparturient dairy cows. *Journal of dairy science*, 92(12), 6123-6133. doi:10.3168/jds.2009-2449.

Ribeiro, E. S., Lima, F. S., Greco, L. F., Bisinotto, R. S., Monteiro, A. P. A., Favoreto, M., ... & Santos, J. E. P. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *Journal of dairy science*, 96(9), 5682-5697. doi:10.3168/jds.2012-6335.

Roche, J. R., & Berry, D. P. (2006). Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *Journal of dairy science*, 89(7), 2775-2783. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72354-2.

Rodney, R. M., Martinez, N., Block, E., Hernandez, L. L., Celi, P., Nelson, C. D., ... & Lean, I. J. (2018). Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of dairy science*, 101(3), 2519-2543. doi:10.3168/jds.2017-13737.

Rodríguez, E. M., Bach, A., Devant, M., & Aris, A. (2016). Is calcitonin an active hormone in the onset and prevention of hypocalcemia in dairy cattle?. *Journal of dairy science*, 99(4), 3023-3030. doi:10.3168/jds.2015-10229.

Rodríguez, E. M., Arís, A., & Bach, A. (2017). Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(9), 7427-7434. doi:10.3168/jds.2016-12210.

Seifi, H. A., LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., & Duffield, T. F. (2011). Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *The veterinary journal*, 188(2), 216-220. doi:10.1016/j.tvjl.2010.04.007.

Seifi, H. A., & Kia, S. (2017). Subclinical hypocalcemia in dairy cows: pathophysiology, consequences and monitoring. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 9(2), 1-15. doi:10.22067/veterinary.v9i2.69198.

Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021.

Smith, B. P. (2015). *Large animal internal medicine* (5th ed.). Elsevier.

Suzuki, K., Kondo, N., Takagi, K., Nishikawa, A., Murakami, Y., Otsuka, M., ... & Kawamoto, S. (2021). Validation of the bovine blood calcium checker as a rapid and simple

measuring tool for the ionized calcium concentration in cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 83(5), 767-774. doi:10.1292/jvms.21-0001.

Teti, A., & Zallone, A. (2009). Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. *Bone*, 44(1), 11-16. doi:10.1016/j.bone.2008.09.017.

Thilsing-Hansen, T., Jørgensen, R. J., & Østergaard, S. (2002). Milk fever control principles: a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(1), 1. doi:10.1186/1751-0147-43-1.

Utsumi, R. (2019). On-site Quick Measurement of Calcium Ion in Blood of Dairy Cow with Flat Ion Sensor. Readout English Editions.[Internet].[accessed 2023 feb 16].[6 p.], 53, 112-117.

Valdecabres, A., Pires, J. A. A., & Silva-del-Río, N. (2019). Cow-level factors associated with subclinical hypocalcemia at calving in multiparous Jersey cows. *Journal of dairy science*, 102(9), 8367-8375. doi:10.3168/jds.2018-16180.

Van Mosel, M., van 't Klooster, A. T., & Wouterse, H. S. (1991). Effects of a deficient magnesium supply during the dry period on bone turnover of dairy cows at parturition. *Veterinary Quarterly*, 13(4), 199-208. doi:10.1080/01652176.1991.9694309.

Venjakob, P. L., Borchardt, S., & Heuwieser, W. (2017). Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of dairy science*, 100(11), 9258-9266. doi:10.3168/jds.2016-12494.

Vieira-Neto, A., Lima, I. R. P., Lopes Jr, F., Lopera, C., Zimpel, R., Sinedino, L. D. P., ... & Santos, J. E. P. (2017). Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5805-5823. doi:10.3168/jds.2016-12506.

Vieira-Neto, A., Lean, I. J., & Santos, J. E. P. (2024). Periparturient mineral metabolism: implications to health and productivity. *Animals*, 14(8), 1232. doi:10.3390/ani14081232.

Wilhelm, A. L., Maquivar, M. G., Bas, S., Brick, T. A., Weiss, W. P., Bothe, H., ... & Schuenemann, G. M. (2017). Effect of serum calcium status at calving on survival, health, and performance of postpartum Holstein cows and calves under certified organic management. *Journal of dairy science*, 100(4), 3059-3067. doi:10.3168/jds.2016-11743.

Wilkens, M. R., Cohrs, I., Lifschitz, A. L., Fraser, D. R., Olszewski, K., Schröder, B., & Breves, G. (2013). Is the metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 age-dependent in dairy

cows?. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 136, 44-46. doi:10.1016/j.jsbmb.2012.11.013.

Wilson, G. F. (2003). A new practical method to prevent hypocalcaemia in dairy cows at pasture. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(Suppl 1), P69. doi:10.1186/1751-0147-44-S1-P69.

Wray, S., & Prendergast, C. (2019). The myometrium: from excitation to contractions and labour. *Smooth Muscle Spontaneous Activity: Physiological and Pathological Modulation*, 233-263.

Zaidi, M., Inzerillo, A. M., Moonga, B. S., Bevis, P. J. R., & Huang, C. H. (2002). Forty years of calcitonin—where are we now? A tribute to the work of Iain Macintyre, FRS. *Bone*, 30(5), 655-663. doi:10.1016/S8756-3282(02)00688-9.

Zimpel, R., Poindexter, M. B., Vieira-Neto, A., Block, E., Nelson, C. D., Staples, C. R., ... & Santos, J. E. P. (2018). Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and dry matter intake in dry pregnant cows. *Journal of dairy science*, 101(9), 8461-8475. doi:10.3168/jds.2018-14748.

