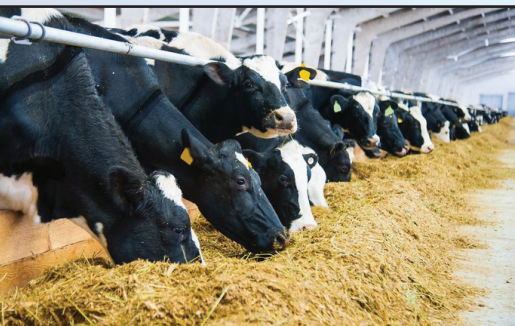


Triagem Rápida de Hipocalcemia no Sangue de Vacas em Fazendas Leiteiras

A hipocalcemia, caracterizada pela redução do cálcio no sangue abaixo do nível normal, é um dos distúrbios mais comuns que afetam vacas leiteiras no início da lactação. Dentre as três formas de cálcio presentes no sangue, o cálcio ionizado (iCa) é a forma fisiologicamente ativa. Para auxiliar produtores de leite e médicos veterinários a medir o iCa em amostras de sangue de vaca imediatamente após a coleta no campo, a HORIBA desenvolveu e lançou o medidor de cálcio no sangue bovino LAQUAtwin Ca-11C, equipado com um sensor de cálcio substituível. Ele pode ser utilizado como dispositivo de triagem para detecção de hipocalcemia em vacas. Com seu baixo custo e análise rápida de iCa no sangue, o medidor é ideal para monitoramento individual de animais e em nível de rebanho nas propriedades leiteiras.



Introdução

Entre os mamíferos, a causa mais comum de hipocalcemia aguda [hipo- baixo + calc(o)- cálcio + -emia condição sanguínea de] é a lactação ou produção de leite. A glândula mamária responsável pela lactação obtém cálcio a partir da corrente sanguínea. Logo após o parto, o animal fêmea precisa produzir leite suficiente para suprir sua prole. Essa demanda súbita de cálcio para a produção de leite pode esgotar rapidamente o cálcio do sangue e deixar o animal gravemente doente. Nesse estado, a glândula paratireoide estimula a secreção de hormônio paratireoideo (PTH), que por sua vez responde estimulando a atividade osteoclástica ou a liberação de cálcio dos ossos. Essa atividade leva tempo. O cálcio é obtido de forma mais rápida dos fluidos extracelulares e intersticiais. Quando o cálcio é retirado dos tecidos musculares, os músculos não conseguem se contrair e tornam-se fracos demais para sustentar o peso corporal. É por isso que as vacas frequentemente caem ("downer cows") na chamada "febre do leite" (hipocalcemia). A hipocalcemia grave é potencialmente fatal e exige intervenção.¹

O cálcio é importante na coagulação sanguínea, na manutenção de ossos saudáveis, no crescimento e reparo ósseo, na transmissão nervosa, na contração muscular e na produção de leite. Quantidades excessivas ou insuficientes de cálcio no sangue e nos tecidos podem causar problemas devastadores de doença.¹ Existem três formas de cálcio em equilíbrio com o soro: cálcio não difusível ligado principalmente à albumina; complexos difusíveis de cálcio com lactato, bicarbonato, fosfato, sulfato, citrato e outros ânions; e cálcio ionizado difusível (Ca^{2+}). O cálcio

ionizado representa aproximadamente metade do cálcio total sérico, enquanto o cálcio não difusível e o complexado correspondem a 45% e 5%, respectivamente. O cálcio ionizado é a forma fisiologicamente ativa; sua concentração é regulada pela glândula paratireoide. Uma diminuição no cálcio ionizado sérico pode causar contrações musculares involuntárias e sintomas neurológicos relacionados, independentemente da concentração total de cálcio sérico.²

O cálcio total é mais estável que o cálcio ionizado e, atualmente, é a forma mais fácil e recomendada para análise. Embora alguns estudos mostrem que o cálcio total está

razoavelmente associado às concentrações de cálcio ionizado no sangue bovino, essa relação muda próximo ao parto.³

O cálcio ionizado (abreviado como iCa, mas refere-se ao íon livre Ca^{2+}) medido no sangue não é apenas caro, como também exige um manuseio especial das amostras. As amostras não podem ser expostas ao ar. A exposição da amostra de sangue ao ar altera o pH e, conseqüentemente, a quantidade de cálcio ionizado na amostra. Além disso, as amostras devem ser processadas o mais rápido possível, pois a estabilidade ao longo do tempo é questionável. Elas podem ser enviadas a laboratórios de diagnóstico veterinário ou



Figura 1. Diagrama esquemático mostrando a resposta homeostática de uma vaca à baixa concentração de cálcio no sangue. Esses mecanismos atuam em paralelo para aumentar o cálcio sanguíneo até uma concentração normal. J. McArt, 2018.

clínicas veterinárias, mas os resultados frequentemente são imprecisos devido ao manuseio inadequado e ao longo tempo decorrido desde a coleta.

Existem instrumentos comerciais projetados para uso em fazendas ou em campo, porém seus altos preços, somados aos custos por amostra, tornam-nos caros demais para testes regulares em grandes grupos de animais. Atualmente, não existe uma solução econômica para o monitoramento individual de animais e em nível de rebanho nas propriedades.

Após extensa pesquisa e otimização de protótipos, a HORIBA lançou o medidor de cálcio no sangue bovino LAQUAtwin Ca-11C, oferecendo uma alternativa barata, menor, mais simples e mais rápida em comparação com os instrumentos comerciais destinados ao uso em fazendas ou em campo. Ele mede o cálcio ionizado no sangue de vacas e pode ser utilizado como dispositivo de triagem para detecção de hipocalcemia em vacas em fazendas leiteiras. O LAQUAtwin Ca-11C possui um sensor substituível com termistor integrado que detecta a temperatura da amostra e uma membrana plana sensora a íons cálcio com 0,8 mm de espessura, que aceita uma amostra de apenas 0,3 ml. O medidor exibe a leitura da amostra em mmol/L em apenas alguns segundos.

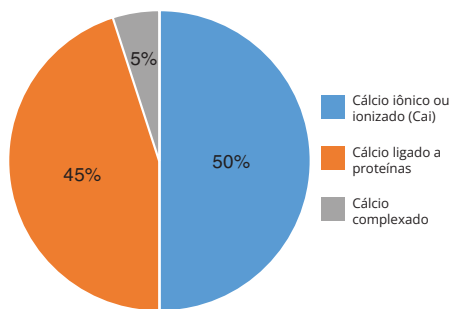


Figura 2. Três formas de cálcio e suas respectivas porcentagens no sangue



Figura 3. Termômetro infravermelho Horiba e tubo de coleta de sangue para medição de cálcio ionizado (Ca²⁺)

Escanee o código para ver o vídeo online de coleta e medição de sangue



Método

Calibração do Medidor

Calibre o LAQUAtwin Ca-11C utilizando as soluções padrão de cálcio ionizado (Ca²⁺) de 1,25 mmol/L e 2,50 mmol/L que acompanham o medidor, seguindo as instruções do manual. A composição das soluções padrão é semelhante à composição eletrolítica do sangue. Para minimizar erros na medição, as soluções padrão e a amostra devem estar na mesma temperatura.

Coleta e Preparação da Amostra

1. Colete a amostra de sangue da veia da cauda limpa ou da veia jugular do pescoço da vaca em um tubo de coleta de sangue que contenha anticoagulante heparina de lítio. Nota: Tubos de coleta com outros anticoagulantes podem afetar adversamente a leitura.
2. Meça a temperatura da amostra de sangue utilizando um termômetro infravermelho sem contato. Aguarde até que a temperatura da amostra esteja na faixa de 20 a 25°C.
3. Coloque gotas da amostra de sangue sobre o sensor e feche a tampa do sensor. Aguarde até que a leitura se estabilize.
4. Registre a concentração de cálcio.

Logo após medir a amostra de sangue, lave o sensor com a solução de limpeza 251, que contém enzima proteolítica capaz de remover manchas baseadas em proteínas.

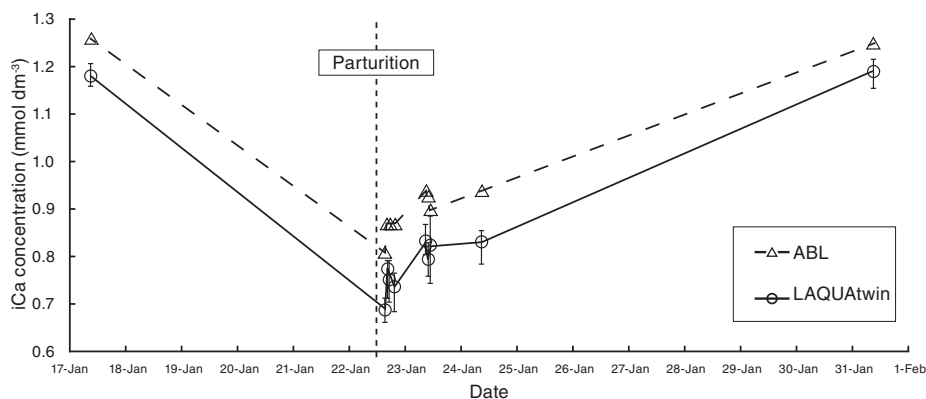


Figura 4. Resultados de medição das amostras de sangue obtidas de uma vaca leiteira com hipocalcemia, realizados pelos dispositivos LAQUAtwin Ca-11C e ABL-800 FLEX.

Resultados e Benefícios

A hipocalcemia subclínica (vacas parecem normais) é mais comum do que a hipocalcemia clínica (febre do leite). A concentração de cálcio ionizado (iCa) no sangue de vacas leiteiras é considerada normal entre 1,05 e 1,30 mmol dm⁻³ (mmol dm⁻³ = mmol/L), embora existam algumas variações entre os estudos, e a hipocalcemia é diagnosticada quando o valor é igual ou inferior a 0,9 mmol dm⁻³.^{3,4} A triagem de vacas leiteiras para hipocalcemia, por meio da medição de cálcio ionizado no sangue utilizando o LAQUAtwin Ca-11C, pode ajudar produtores de leite e veterinários a avaliar o risco das vacas e maximizar sua saúde, estabelecendo estratégias de monitoramento e prevenção tanto para animais individuais quanto em nível de rebanho nas propriedades.

Um estudo foi realizado pela HORIBA Advanced Techno, Co. Ltd. envolvendo o LAQUAtwin Ca-11C e o ABL-800 FLEX (padrão-ouro laboratorial; doravante referido como ABL) para determinar a temperatura ideal da amostra de sangue heparinizado de vaca para medição. O ABL utiliza um eletrodo iônico do tipo fluxo contínuo e realiza calibração e medição a 37°C. Quando as amostras foram ajustadas para 20 a 25°C em banho-maria e medidas pelo LAQUAtwin Ca-11C, as diferenças entre os valores medidos pelo LAQUAtwin Ca-11C e os do ABL foram de 0,1 mmol dm⁻³ ou menos. Ressalta-se que os dois instrumentos possuem sistemas de medição e temperaturas diferentes. O LAQUAtwin Ca-11C não pode ser utilizado para o diagnóstico de hipocalcemia, mas pode ajudar a identificar vacas possivelmente afetadas por hipocalcemia que necessitam de exame complementar e tratamento.

Referências e leituras sugeridas

1. Christenson, D. Veterinary Medical Terminology E-Book, p. 248-250
2. Bhagavan, N.V., Chung-Eun Ha. Essentials of Medical Biochemistry, p. 488
3. McArt, J. Being a Mom is Hard: Calcium Demands of Early Lactation Dairy Cows. Retrieved from <https://bit.ly/2MoTVvu>
4. Utsumi, R. On-site Quick Measurement of Calcium Ion in Blood of Dairy Cow with Flat Ion Sensor by Rika Utsumi. Retrieved from <https://bit.ly/2LOeFwF>

Revision 1, 9 September 2020

