

## اثر مکمل خوراکی کلرید کلسیم بر غلظت سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم گاوهای شیری هلشتاین در دوره انتقال

سجاد افشارفرنی<sup>۱</sup> آریا رسولی<sup>۲،۳\*</sup> محمد نوری<sup>۲</sup> علی شهیریاری<sup>۴</sup>

۱) دانش آموخته بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳) گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴) گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(دریافت مقاله: ۱۹ فروردین ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۰ تیر ماه ۱۳۹۷)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** از دست دادن کلسیم حوالی زایمان می‌تواند منجر به بیماری‌های مرتبط با دوره انتقال و کاهش عمر اقتصادی دام شود، در نتیجه پیشگیری از تب شیر و هیپوکلسمی تحت بالینی ضروری و مهم است. تجویز دوزهای مکرر مکمل خوراکی کلرید کلسیم در زمان زایمان روشی برای پیشگیری از افت کلسیم سرم و عوارض در ارتباط با آن پس از زایمان می‌باشد. **هدف:** هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر تجویز پس از زایمان مکمل خوراکی کلرید کلسیم بر سطح سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم در دوره انتقال گاوهای هلشتاین با جیره‌های آنیونی و کاتیونی می‌باشد. **روش کار:** چهل و دو رأس گاو هلشتاین به طور تصادفی در ۳ گروه تقسیم شدند. گروه اول با جیره DCAD منفی و بدون مکمل کلسیم تغذیه شدند. گروه دوم با جیره DCAD منفی تغذیه شده و بلافاصله پس از زایمان و ۱۲ h پس از آن مکمل خوراکی کلرید کلسیم دریافت نمودند. گروه سوم با جیره DCAD مثبت تغذیه شده و بلافاصله پس از زایمان و ۱۲ h پس از آن مکمل خوراکی کلرید کلسیم دریافت نمودند. نمونه خون در هنگام زایمان و ۶ h و ۱۲ h و ۱ d، ۲ d، ۷ d، ۱۴ d، ۲۱ d و ۲۸ d بعد از زایمان جمع‌آوری و غلظت سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم به روش‌های معمول اندازه‌گیری شد. **نتایج:** الگوی تغییرات سطح سرمی کلسیم و منیزیم در گروه‌های مختلف در زمان‌های مختلف (تعامل درمان × زمان) متفاوت بود ( $p < 0/0001$ ). تغییرات سطح سرمی فسفر در زمان‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بوده ( $p < 0/0001$ ) اما میانگین آن تحت تأثیر گروه درمانی قرار نگرفت ( $p = 0/7164$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** جهت پیشگیری از هیپوکلسمی تحت بالینی در گاوهای شیری پرتولید باید علاوه بر جیره‌های آنیونی از مکمل خوراکی کلرید کلسیم نیز استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** هیپوکلسمی، دوره انتقال، کلرید کلسیم، گاو شیری

### مقدمه

و جابجایی شیردان کمتری نسبت به گاوهای تغذیه شده با جیره DCAD مثبت تجربه می‌کنند (۱۴، ۱۳) با این حال، نگرانی‌هایی پیرامون جیره‌های DCAD پایین وجود دارد، چراکه جیره‌های اسیدوژنیک اخذ ماده خشک را در اواخر آبستنی کاهش می‌دهند (۴، ۵)، بنابراین اثرات متابولیک تعادل منفی انرژی را در ابتدای شیروراری تشدید می‌نمایند. همچنین، اسیدمی مزمن ناشی از اسیدوز متابولیک مقاوم، با چندین اثر متابولیک مخرب در انسان و حیوانات اهلی مرتبط می‌باشد که عبارتند از: کاهش اخذ خوراک، کاهش پاسخ‌دهی و حساسیت انسولین و کاتابولیسم پروتئین (۲۴، ۲۰، ۱). در مجموع استفاده از جیره‌های آنیونیک ۳ مشکل بالقوه دارد: یکی کاهش خوش‌خوراکی جیره که منجر به کاهش اخذ خوراک می‌شود، دیگری افزایش نیروی کار برای پایش pH ادرار، و در نهایت جدا کردن تلیسه‌ها از گاوهای چند شکم‌زا، چرا که استفاده از جیره‌های آنیونیک در تلیسه‌ها توصیه نشده است (۲۷، ۲۱، ۶).

رهیافت دیگر برای پیشگیری از هیپوکلسمی استفاده از مکمل خوراکی کلسیم حوالی زایمان می‌باشد. منبع کلسیم در یک مکمل خوراکی و شکل فیزیکی آن در جذب کلسیم و پاسخ کلسیم خون بسیار مؤثر می‌باشد. کلرید کلسیم بالاترین توانایی را در حمایت از غلظت کلسیم خون دارد چرا که

هیپوکلسمی زایمانی اختلالی متابولیک می‌باشد که در آن مکانیسم هومئوستاتیک کلسیم موفق به حفظ غلظت کلسیم طبیعی خون در شروع شیردهی نمی‌شود (۱۳). در ایالات متحده بروز شکل بالینی تب شیر ۵٪ گزارش شده است در حالی که بیش از ۵۴٪ از گاوهای شیری چند شکم‌زا ممکن است در حوالی زایمان از هیپوکلسمی تحت بالینی رنج ببرند (۳۲). غلظت کلسیم تام خون در گاو بالغ ۸/۵ - ۱۰ mg/dl (۲/۵ - ۲/۱ mmol/l) می‌باشد (۱۸). تحقیقات نشان داده است گاوهایی که تب شیر را تجربه می‌کنند در مقایسه با گاوهای سالم احتمال اینکه علائم بالینی کتوز و ورم پستان را نشان دهند به ترتیب نزدیک به ۹ و ۸ برابر می‌باشد (۶). معمول‌ترین روش کاربردی برای پیشگیری از تب شیر از طریق جیره، کاهش تعادل کاتیون-آنیون جیره (DCAD) می‌باشد (۱۷). گاوهایی که از ۲۱ d قبل از زایمان تا هنگام زایمان با نمک‌های آنیونی تغذیه می‌شوند نسبت به گاوهای تغذیه شده با جیره DCAD مثبت سطح پلاسمايي بالاتری از کلسیم قبل از زایمان دارند. بعلاوه، نشان داده شده است گاوهایی که از جیره DCAD منفی تغذیه می‌کنند، ورم پستان، متریت



۵ mEq) دریافت کرده و بلافاصله پس از زایمان و ۱۲ h ساعت پس از آن مکمل خوراکی کلرید کلسیم دریافت نمودند.

مکمل کلسیم مورد استفاده کلرید کلسیم (Calcium chloride anhydrou - شرکت Merck) بود که به میزان ۱۳۸/۸ g (معادل ۵۰ g کلسیم عنصری) در ۵۰۰ ml آب حل شده و با سوند مری (esophageal feeder) در دو نوبت به ترتیب ۰ h تا ۲ h و ۱۲ h بعد از زایمان تجویز گردید. پس از زایمان (قبل از شروع درمان)، ۶ h بعد از درمان، ۱۲ h بعد از درمان (قبل از تجویز نوبت دوم مکمل) و ۱ d، ۲ d، ۷ d، ۱۴ d و ۲۱ d ۲۸ پس از زایمان برای سنجش پارامترهای کلسیم، فسفر و منیزیم، نمونه خون از ورید دمی به وسیله ونوجکت و لوله بدون ماده ضد انعقاد، گرفته شد. حداقل ۰/۵ h نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه قرار گرفته سپس سانتریفیوژ شده و سرم‌های به دست آمده در درون میکروتیوب و در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. در ادامه نمونه‌ها جهت سنجش غلظت‌های سرمی کلسیم، فسفر و منیزیم با استفاده از کیت پارس آمون و روش اسپکتروفتومتری به آزمایشگاه ارسال شد. جهت پایش تأثیر جیره آنیونیک، ۴ d پس از شروع این جیره، هنگام صبح قبل از خوراک دهی، نمونه ادرار با تحریک ناحیه پرینه و در برخی موارد با استفاده از سوند ادراری و رعایت شرایط بهداشتی بدست آمد و pH نمونه بوسیله pH متر قلمی الکترونیک (AZI Model: ۸۶۸۵) مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین pH ادرار در گروه‌های دریافت کننده جیره آنیونیک (گروه‌های اول و دوم) ۶/۵ و در گروه سوم ۸/۱ بود.

**آنالیز آماری:** رویه Mix-modele Analysis در نرم افزار آماری SAS ۲/۹ جهت آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری بکار گرفته شد و میانگین‌ها با استفاده از pdiff test مقایسه گردیدند. نتایج به صورت حداقل مربع میانگین Is-mean و خطای معیار نشان داده شد.  $p < 0/05$  به عنوان معیار معنی داری در نظر گرفته شد.

## نتایج

**کلسیم:** تغییرات سطح سرمی کلسیم در مدل مورد مطالعه تحت تأثیر قرار گرفت ( $p < 0/0001$ ) (جدول ۱)، که این تأثیر ناشی از اثر اصلی گروه و زمان بود ( $p < 0/0001$ ). الگوی تغییرات سطح سرمی کلسیم در گروه‌های مختلف در زمان‌های مختلف (تعامل درمان × زمان) متفاوت بود ( $p < 0/0001$ ). میانگین غلظت سرمی کلسیم در هنگام زایمان (قبل از دریافت مکمل کلسیم) در گروه‌های دریافت کننده جیره آنیونی (گروه‌های اول و دوم) به طور معنی داری بیشتر از گروه دریافت کننده جیره کاتیونی (گروه سوم) بود ( $p < 0/05$ ). هنگام زایمان فراوانی هیپوکلسمی تحت بالینی در گروه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۴۲، ۶۴ و ۹۲٪ تعیین گردید. غلظت سرمی کلسیم در گروه اول تا ۱۲ h روند کاهشی را نشان داد در حالی که در گروه‌های دوم و سوم (دریافت کننده مکمل کلسیم) غلظت

کلسیم خوراکی با قابلیت دسترسی بالاتری را مهیا کرده (۱۱، ۱۲) و نسبت به سایر منابع آنیونی اسیدی کننده قوی تری می‌باشد (۹، ۱۶). با این حال، کلرید کلسیم می‌تواند مخاط گوارش را تخریش کند و در مقادیر زیاد و دوزهای تکراری بویژه در گاوهایی که قبلاً با جیره‌های آنیونیک تغذیه شده‌اند اسیدوز متابولیک غیر جبران شونده ایجاد کند. نشان داده شده است که مکمل خوراکی کلسیم پس از زایمان میزان کلسیم پلاسما را افزایش می‌دهد (۱۱).

هدف از انجام این مطالعه ارزیابی عملکرد بکارگیری جیره‌های آنیونی به صورت مجزا و استفاده توأم از جیره‌های آنیونی و مکمل خوراکی کلرید کلسیم و تفسیر آن با در نظر گرفتن سطح خطر پیشنهادی برای میزان سرمی کلسیم می‌باشد. به عبارت دیگر با توجه به سطح هشدار جدید پیشنهاد شده برای هیپوکلسمی تحت بالینی، آیا لازم است که علاوه بر استفاده از جیره‌های آنیونی از مکمل خوراکی کلسیم نیز استفاده شود یا خیر. همچنین با توجه به عوارض نامساعد استفاده از نمک‌های آنیونی در جیره، این مطالعه این پاسخ را نیز به ما خواهد داد که آیا می‌توان به جای استفاده از جیره‌های آنیونی از مکمل کلرید کلسیم به تنهایی استفاده نمود؟ مقایسه روند تغییرات کلسیم، فسفر و منیزیم پس از زایمان در شیوه‌های مختلف پیشگیری از هیپوکلسمی از اهداف دیگر این مطالعه می‌باشد.

## مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۴۲ رأس گاو هلشتاین شکم سوم و بالاتر که در حدود سه هفته به زایمان آن‌ها باقی مانده بود و سابقه‌ای از بروز تب شیر در شیرواری‌های قبلی نداشتند و دارای امتیاز حرکتی یک، امتیاز بدنی ۳/۵ ( $0/25 \pm$ ) و از لحاظ رکورد تولید در شیرواری قبلی در گروه پر تولید (۲ Kg)  $40 \pm$  بودند، در یک واحد دامداری صنعتی واقع در اصفهان انجام پذیرفت. نمره حرکتی با استفاده از سیستم نمره دهی ۱ تا ۴ شرح داده شده توسط Nordlund و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد، که در آن گاوها به صورت نرمال (نمره ۱)، کمی لنگ، نسبتاً لنگ، یا به شدت لنگ (تا نمره ۴) طبقه بندی شدند (۲۸). BCS با استفاده از یک سیستم نمره دهی ۱ تا ۵ نقطه با ۰/۲۵ U افزایش مشخص شد که توسط Ferguson و همکاران در سال ۱۹۹۴ شرح داده شده، که در آن نمره بیشتر نشان دهنده شرایط بدنی بالاتر می‌باشد (۸).

این گاوها به صورت تصادفی به سه گروه ۱۴ رأسی تقسیم شدند. گروه اول، شامل ۱۴ رأس گاو که جیره DCAD منفی (۱۰۰ gDM) / ۱۱ mEq) دریافت کرده و مکمل خوراکی کلرید کلسیم دریافت نموده و ۵۰۰ ml آب دریافت کردند. گروه دوم، شامل ۱۴ رأس گاو که جیره DCAD منفی (۱۰۰ gDM) / ۱۱ mEq) دریافت کرده و بلافاصله پس از زایمان و ۱۲ h پس از آن مکمل خوراکی کلرید کلسیم دریافت نمودند. گروه سوم، شامل ۱۴ رأس گاو که جیره DCAD مثبت (۱۰۰ gDM) /



جدول ۱. میانگین غلظت سرمی کلسیم در چهار هفته اول پس از زایش در گروه‌های مختلف درمانی (mg/dl). (abc) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ). (ABC) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ).

کلسیم	زایمان	h ۶	h ۱۲	d ۱	d ۲	d ۷	d ۱۴	d ۲۱	d ۲۸
گروه اول	۸/۲±۱/۰۱ <sup>Ab</sup>	۸±۰/۸۳ <sup>Aa</sup>	۷/۶۴±۰/۴۵ <sup>Ac</sup>	۸/۱۵±۰/۴۷ <sup>Ab</sup>	۸/۱۷±۰/۳۱ <sup>Aa</sup>	۸/۵۳±۰/۳۷ <sup>Abc</sup>	۸/۷۵±۰/۱۸ <sup>Ae</sup>	۸/۷۷±۰/۲۹ <sup>Ae</sup>	۸/۸۸±۰/۴۸ <sup>Ae</sup>
گروه دوم	۸/۱۷±۰/۳۴ <sup>Aa</sup>	۸/۶۷±۰/۲۳ <sup>Bbf</sup>	۸/۳۲±۰/۵۶ <sup>Bac</sup>	۸/۴۷±۰/۳۷ <sup>Ab</sup>	۸/۵۴±۰/۴۵ <sup>Ab</sup>	۸/۶±۰/۲۹ <sup>Abc</sup>	۸/۶۲±۰/۳۷ <sup>Abc</sup>	۸/۷±۰/۲۸ <sup>Ab</sup>	۹/۰±۰/۵۴ <sup>Af</sup>
گروه سوم	۷/۰۵±۱/۰۷ <sup>Ba</sup>	۷/۹۵±۰/۴۵ <sup>Ab</sup>	۷/۵۸±۰/۳۸ <sup>Ac</sup>	۷/۹±۰/۳۲ <sup>Bb</sup>	۸/۰±۰/۲۰ <sup>Ab</sup>	۸/۴۲±۰/۳۳ <sup>Ad</sup>	۸/۶۹±۰/۲۴ <sup>Ade</sup>	۸/۸±۰/۳۹ <sup>Ae</sup>	۹/۲۷±۰/۵۶ <sup>Ab</sup>

جدول ۲. میانگین غلظت سرمی فسفر در چهار هفته اول پس از زایش در گروه‌های مختلف درمانی (mg/dl). (abc) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ). (ABC) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ).

فسفر	زایمان	h ۶	h ۱۲	d ۱	d ۲	d ۷	d ۱۴	d ۲۱	d ۲۸
گروه اول	۴/۲۲±۰/۴۱ <sup>Aa</sup>	۴/۸۶±۰/۵۷ <sup>Ab</sup>	۴/۹۱±۰/۸۷ <sup>Abc</sup>	۵/۰۲±۰/۵۹ <sup>Abd</sup>	۴/۹±۰/۷۶ <sup>Abe</sup>	۵/۵±۰/۹۸ <sup>Af</sup>	۵/۲±۰/۴۲ <sup>Afb</sup>	۵/۳۹±۰/۳۶ <sup>Acd</sup>	۵/۳±۰/۳۰ <sup>Afb</sup>
گروه دوم	۴/۱۷±۰/۳۴ <sup>Aa</sup>	۴/۷۷±۰/۶۸ <sup>Ab</sup>	۴/۹۴±۰/۶۲ <sup>Abc</sup>	۵/۱۴±۰/۶۴ <sup>Abd</sup>	۵/۴۵±۰/۹۴ <sup>Bde</sup>	۵/۲۵±۰/۶ <sup>Abef</sup>	۵/۴۶±۰/۳۱ <sup>Adf</sup>	۵/۲۷±۰/۴۲ <sup>Acd</sup>	۵/۳۴±۰/۳۶ <sup>Acd</sup>
گروه سوم	۴/۴۲±۰/۶۲ <sup>Ab</sup>	۴/۷±۰/۸۳ <sup>Aab</sup>	۴/۸۶±۰/۳۹ <sup>Aac</sup>	۵/۰۴±۱/۲ <sup>Abcd</sup>	۵/۳۵±۰/۶ <sup>ABde</sup>	۵/۴۳±۰/۸۴ <sup>Adf</sup>	۵/۳۵±۰/۸ <sup>Acefg</sup>	۵/۴۵±۰/۷۶ <sup>Adg</sup>	۵/۵۵±۰/۴۱ <sup>Aefg</sup>

جدول ۳. میانگین غلظت سرمی منیزیم در چهار هفته اول پس از زایش در گروه‌های مختلف درمانی (mg/dl). (abc) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ). (ABC) داده‌های واجد حداقل یک حرف مشترک در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌دار نیستند ( $p > 0.05$ ).

منیزیم	زایمان	h ۶	h ۱۲	d ۱	d ۲	d ۷	d ۱۴	d ۲۱	d ۲۸
گروه اول	۲/۴۶±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۲/۱۷±۰/۰۴ <sup>Ab</sup>	۲/۰۷±۰/۱ <sup>Ac</sup>	۲/۰۹±۰/۰۹ <sup>Ac</sup>	۲/۰۴±۰/۰۵ <sup>Acd</sup>	۲±۰/۰۲ <sup>Ade</sup>	۱/۹۴±۰/۰۳ <sup>Af</sup>	۲/۰۴±۰/۰۲ <sup>Ace</sup>	۲/۰۴±۰/۰۴ <sup>Ace</sup>
گروه دوم	۲/۳۵±۰/۱ <sup>Aa</sup>	۱/۹۹±۰/۰۹ <sup>Bbe</sup>	۱/۹۱±۰/۱ <sup>Bed</sup>	۱/۸۷±۰/۰۶ <sup>Bd</sup>	۱/۹۴±۰/۰۲ <sup>Bce</sup>	۲/۰۴±۰/۰۳ <sup>Ab</sup>	۱/۹۹±۰/۰۲ <sup>ABbe</sup>	۲/۰۳±۰/۰۳ <sup>Ab</sup>	۲/۰۵±۰/۰۴ <sup>Ab</sup>
گروه سوم	۲/۴۶±۰/۱۹ <sup>Aa</sup>	۲/۱±۰/۲۲ <sup>Cb</sup>	۲/۰۶±۰/۰۹ <sup>Cbc</sup>	۱/۹۹±۰/۰۳ <sup>Cde</sup>	۱/۹۹±۰/۰۳ <sup>ABe</sup>	۲/۰۴±۰/۰۳ <sup>Abd</sup>	۲/۰۳±۰/۰۶ <sup>Bdef</sup>	۲/۰۶±۰/۰۳ <sup>Afb</sup>	۲/۰۸±۰/۰۳ <sup>Afb</sup>

زمان‌های متفاوت تحت تأثیر قرار گرفت ( $p < 0.0001$ ) (جدول ۳). الگوی تغییرات منیزیم در گروه‌های درمانی و در زمان‌های مختلف معنی‌دار بود ( $p < 0.0001$ ). نتایج نشان داد که در h ۲۴ پس از زایش میانگین غلظت سرمی منیزیم در گروه دوم کمتر از بقیه بود ( $p < 0.05$ ).

### بحث

سطح خطر میزان سرمی کلسیم جهت تشخیص هیپوکلسمی تحت بالینی در گله‌های شیری موضوعی بوده که تا کنون مورد بحث می‌باشد، بطوریکه در مقالات از سطح خطرهای مختلف  $\geq 7/2 \text{ mg/dl}$  ( $\geq 0.7 \text{ mmol/l}$ ) (۱۸) (۱۵)،  $\geq 8 \text{ mg/dl}$  ( $\geq 2 \text{ mmol/l}$ ) (۳۲) و  $\geq 8 \text{ mg/dl}$  ( $\geq 2 \text{ mmol/l}$ ) (۳) استفاده شده است. اخیراً در مطالعه‌ای، Oetzel در سال ۲۰۱۳ سطح خطر  $\geq 8 \text{ mg/dl}$  را پیشنهاد می‌کند (۲۹). Martinez و همکاران در سال ۲۰۱۲ سطح خطر  $\geq 8 \text{ mg/dl}$  را جهت تشخیص هیپوکلسمی تحت بالینی استفاده کردند. در مطالعه حاضر سطح خطر  $\geq 8 \text{ mg/dl}$  مورد استفاده قرار گرفت (۲۵). Oetzel در سال ۱۹۹۶ نشان داد درمان با کلرید کلسیم در زمان زایمان و h ۱۲ بعد به‌طور قابل توجهی بروز تب شیر، هیپوکلسمی تحت بالینی و جابجایی شیردان را کاهش می‌دهد (۳۲). با این حال بایستی در نظر داشت که استفاده از مکمل خوراکی خطر پنومونی استنشاقی را نیز همراه دارد. گاوهایی که قبل از زایمان با نمک‌های آنیونی تغذیه می‌شوند سطح کلسیم پلاسمایی بالاتری نسبت به گاوهایی که نمک آنیونی دریافت نمی‌کنند دارند (۲۳). سطح کلسیم پلاسمای گاوهایی که مکمل کلسیم نظیر بروگلو کونات کلسیم ویریدی یا کلرید کلسیم و کلسیم

سرمی کلسیم h ۶ پس از درمان افزایش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ) ولى h ۱۲ پس از درمان (قبل از دریافت دومین دوز مکمل) دچار کاهش گردید ( $p < 0.05$ ) و مجدداً پس از دریافت مکمل روند افزایشی را نشان داد. کمترین میانگین غلظت سرمی کلسیم در هر سه گروه h ۱۲ پس از زایش رخ داد (در گروه‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب  $7/64 \pm 0/45 \text{ mg/dl}$ ،  $8/32 \pm 0/56 \text{ dl}$  و  $7/58 \pm 0/38 \text{ mg/dl}$ )، که در گروه دوم بطور معنی‌داری بالاتر از گروه اول و سوم می‌باشد ( $p < 0.05$ ) و بین گروه اول و سوم اختلاف معنی‌دار نیست (جدول ۱).

۲۴ ساعت پس از زایش میانگین غلظت سرمی کلسیم در گروه‌های اول و دوم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ( $p = 0.09$ ) اما فراوانی هیپوکلسمی تحت بالینی به ترتیب ۷۱ و ۲۱٪ بود. میانگین غلظت سرمی کلسیم گروه سوم h ۲۴ پس از زایش به‌طور معنی‌داری از گروه دوم کمتر و فراوانی هیپوکلسمی تحت بالینی در این گروه h ۲۴ پس از زایش، ۱۰۰٪ تعیین گردید. h ۴۸ پس از زایمان میانگین غلظت سرمی کلسیم در گروه‌های مختلف اختلافی با یکدیگر نداشتند (جدول ۱). h ۴۸ پس از زایمان فراوانی هیپوکلسمی تحت بالینی در گروه‌های اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۷۱ و ۲۱ و ۱۰۰٪ بود.

فسفر: در مدل مورد مطالعه میانگین سطح سرمی فسفر تحت تأثیر گروه درمانی قرار نگرفت ( $p = 0.7164$ ) (جدول ۲)، اما تغییرات سطح سرمی فسفر در زمان‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $p < 0.0001$ ). الگوی تغییرات سطح سرمی فسفر در گروه‌های مختلف و در زمان‌های مختلف (تعامل درمان × زمان) اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ). منیزیم: میانگین سطح سرمی منیزیم در گروه‌های مختلف و



شروع شیرواری و نارسایی در فراخوانی منیزیم از استخوان به منظور حفظ هومئوستاز منیزیم می‌باشد (۷). به عنوان نتیجه گیری نهایی، مطالعه حاضر حاکی از این می‌باشد که با توجه به در نظر گرفتن سطح هشدار جدید و حتی سطح هشدار قبلی، درصد بالایی از گاوهای پر تولید پس از زایمان به هیپوکلسمی تحت بالینی مبتلا می‌شوند که جهت پیشگیری از آن در گاوهای پر تولید در سومین دوره شیرواری و بالاتر باید علاوه بر جیره‌های آنیونی از مکمل خوراکی کلرید کلسیم نیز استفاده شود. به عبارت دیگر، استفاده توأم جیره‌های آنیونی و مکمل خوراکی کلرید کلسیم روشی مناسب و کاربردی جهت پیشگیری از هیپوکلسمی می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که مکمل خوراکی کلرید کلسیم نمی‌تواند جایگزین استفاده از جیره‌های آنیونی شود. بعلاوه، این مطالعه پیشنهاد می‌کند که بهنگام استفاده از هر گونه مکمل خوراکی کلسیم، مکمل منیزیم نیز به ترکیب مورد نظر اضافه گردد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه‌های انجام مطالعه را فراهم نمودند و از جناب آقای دکتر فرید براتی که در آنالیز آماری این مطالعه همکاری داشتند و جناب آقای دکتر محسن خسروی که در انجام این مطالعه همکاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### References

- Ballmer, P. E., Imoberdorf, R. (1995) Influence of acidosis on protein metabolism. *Nutrition*. 11: 462-468.
- Bigner, D.R., Goff, J.P., Faust, M.A., Burton, J.L., Tyler, H.D., Horst, R.L. (1996) Acidosis effects on insulin response during glucose tolerance tests in jersey cows. *J Dairy Sci*. 79: 2182-2188.
- Chapinal, N., Carson, M., Duffield, T.F., Capel, M., Godden, S., Overton, M., Santos, J.E.P., LeBlanc, S.J. (2011) The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J Dairy Sci*. 94: 4897-4903.
- Charbonneau, E., Pellerin, D., Oetzel, G.R. (2006) Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *J Dairy Sci*. 89: 537-548.
- Constable, P.D., Gelfert, C.C., Fürll, M., Staufenbiel, R., Stämpfli, H. (2009) Application of strong ion difference theory to urine and the

پروپونات خوراکی دریافت می‌کنند، طی ۳۰ min تا ۶۰ min اول بعد از درمان بشدت بالا رفته و سپس طی ۶ h تا ۸ h بعد به آرامی کاهش می‌یابد (۱۴). مطالعه حاضر نشان داد که در صورت استفاده از سطح خطر  $\geq \text{mg/dl}$  ۸/۵، جیره‌های آنیونی نمی‌توانند از هیپوکلسمی تحت بالینی پیشگیری کنند. همچنین Reinhardt و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که حتی با در نظر گرفتن سطح خطر  $\text{mg/dl}$  ۸، بیش از ۵۰٪ از گاوها در دومین شیرواری هیپوکلسمی تحت بالینی را تجربه می‌کنند (۳۳). همچنین خوراندن کلرید کلسیم بخوبی در ۱۲ h اول پس از زایش که غلظت کلسیم سرم بیشترین افت را دارد از سطح سرمی کلسیم حمایت می‌کند و می‌تواند از نوسانات آن طی ۴۸ h پس از زایش جلوگیری کند. اگر چه Melendez و همکاران در سال ۲۰۰۲، اثر مصرف کلرید کلسیم خوراکی بلافاصله بعد از زایمان را در گله‌ای که با نمک‌های آنیونی تغذیه می‌شد ارزیابی کردند و تأثیری از مکمل کلسیم خوراکی بر کلسیم، فسفر، منیزیم، NEFA، BHBA، نیافتند، اما باید توجه داشت که زمان‌های نمونه‌گیری در مطالعه فوق (۲ d، ۳، ۶، ۹ و ۲۱ بعد از زایمان) به منظور ارزیابی اثرات کوتاه مدت مکمل کلسیم مناسب به نظر نمی‌رسد (۲۶). در مطالعه‌ای دیگر مکمل کلسیم برای گاوهای مبتلا به لنگش و گاوهای چند شکم‌زا با تولید بالا حتی با وجود تغذیه با جیره‌های آنیونیک مفید گزارش شد (۳۰).

تغییرات میانگین غلظت سرمی فسفر در این مطالعه مشابه با مطالعه Dhiman و Sasidharan در سال ۱۹۹۹ می‌باشد (۷). برخلاف مطالعه حاضر Gregory و همکاران در سال ۱۹۹۳ افزایش غلظت سرمی فسفر را در گاوهای دریافت کننده ژل کلرید کلسیم نسبت به گروه کنترل نشان دادند (۱۹). اثر جیره‌های آنیونی بر تغییرات فسفر متناقض می‌باشد (۲۳) و ممکن است یک اثر ثانویه بعنوان نتیجه‌ای از هومئوستاز فسفر در ارتباط نزدیک با متابولیسم کلسیم باشد (۱۵). بعلاوه، در جیره‌های انتظار زایش مقدار فسفر  $\frac{0.35}{\%}$  ماده خشک در نظر گرفته می‌شود که سطح کافی مورد نیاز برای این مرحله فیزیولوژیک می‌باشد. افزایش تدریجی فسفر در مطالعه حاضر می‌تواند بدلیل فراخوانی آهسته باشد چرا که مکانیسمی مستقیم همانند کلسیم ندارد (۲۲) و پیشنهاد شده است که گاوها در حوالی زایش می‌توانند سطح سرمی فسفر خون را از طریق جذب از جیره و حمایت کلیوی حفظ نمایند (۳۰، ۱۰). مشابه مطالعه Dhiman و Sasidharan در سال ۱۹۹۹، تغییرات میانگین غلظت سرمی منیزیم تحت تأثیر زمان بود، اما در مطالعه اشاره شده تعامل زمان و درمان اثر ضعیفی داشت. مطالعه حاضر نشان داد که طی ۴۸ ساعت اول پس از زایش گروه دوم کمترین غلظت سرمی منیزیم را دارد (۷). کاهش منیزیم در گروه دوم در مقایسه با گروه‌های دیگر ممکن است به دلیل دریافت جیره آنیونی و دریافت مکمل باشد، چرا که افزایش کلسیم، ترشح هورمون پاراتیروئید را کاهش می‌دهد و منجر به افزایش دفع ادراری منیزیم می‌شود (۱۰). همچنین روند کاهش منیزیم پس از زایش ناشی از ورود بسیار زیاد منیزیم به داخل شیر در



- relationship between urine pH and net acid excretion in cattle. *Am J Vet Res.* 70: 915-925.
6. Curtis, C.R., Erb, H.N., Sniffen, C.J., Smith, R.D., Powers, P.A., Smith, M.C., White, M.E., Hillman, R.B., Pearson, E.J. (1983) Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J Am Vet Med Assoc.* 183: 559-561.
  7. Dhiman, T.R., Sasidharan, V. (1999) Effectiveness of calcium chloride in increasing blood calcium concentrations of periparturient dairy cows. *J Anim Sci.* 77: 1597-1605.
  8. Ferguson, J. D., D. T. Galligan, and N. Thomsen. (1994) Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 77: 2695-2703.
  9. Gelfert, C.C., Loeffler, L.M., Fromer, S., Engel, M., Manner, K., Staufenbiel, R. (2010) Comparison of the impact of different anionic salts on the acid-base status and calcium metabolism in non-lactating, non-pregnant dairy cows. *Vet J.* 185: 305-309.
  10. Goff, J.P., Littledike, E.T., Horst, R.L. (1986) Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: Prevention of hypocalcemic parturient paresis. *J Dairy Sci.* 69: 2278-2289.
  11. Goff, J.P., Horst, R.L. (1993) Oral administration of calcium salts for treatment of hypocalcemia in cattle. *J Dairy Sci.* 76: 101-108.
  12. Goff, J.P., Horst, R.L. (1994) Calcium salts for treating hypocalcemia: Carrier effects, acid-base balance, and oral versus rectal administration. *J Dairy Sci.* 77: 1451-1456.
  13. Goff, J.P., Horst, R.L. (1997) Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to parturient rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci.* 80: 176-186.
  14. Goff, J.P., Horst, R.L. (1998) Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *J Dairy Sci.* 81: 2874-2880.
  15. Goff, J.P. (1999) Treatment of calcium, phosphorus, and magnesium balance disorders. *Vet Clin Am Food Anim Pract.* 15: 619-639.
  16. Goff, J.P., Ruiz, R., Horst, R.L. (2004) Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J Dairy Sci.* 87: 1245-1255.
  17. Goff, J.P. (2006) Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *J Dairy Sci.* 89: 1292-1301.
  18. Goff, J.P. (2008) The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J.* 176: 50-57.
  19. Gregory, Q.W., Miller, G.Y., Masterson, M.A. (1993) Effects of oral administration of a calcium-containing gel on serum calcium concentration in postparturient dairy cows. *J Am Vet Med Assoc.* 202: 607-609.
  20. Hu, W., Murphy, M.R., Constable, P., Block, E. (2007) Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of dairy cows post partum. *J Dairy Sci.* 90: 3367-3375.
  21. Houe, H., Ostergaard, S., Thilising-Hansen, T., Jorgensen, R.J., Larsen, T., Sorensen, J.T., Agger, J.F., Blom, J.Y. (2001) Milk fever and subclinical hypocalcaemia—an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet Scand.* 42: 1-29.
  22. Jacobson, D.R., Hamken, R.W., Button, F.S., Hatton, R.H. (1972) Mineral nutrition, calcium, phosphorus, magnesium, and potassium interrelationships. *J Dairy Sci.* 55: 935-944.
  23. Joyce, P.W., Sanchez, W.K., Goff, J.P. (1997) Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfalfa. *J Dairy Sci.* 80: 2866-2875.
  24. MacKler, B., Lichtenstein, H., Guest, G.M. (1951) Effects of ammonium chloride acidosis on the action of insulin in dogs. *Am J Physiol.* 166: 191-198.
  25. Martinez, N., Risco, C.A., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Greco, L.F., Ribeiro, E.S., Maunsell, F., Galvao, K.N., Santos, J.E.P. (2012) Evaluation of periparturient calcium status, energy profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine diseases. *J Dairy Sci.* 95: 7158-7172.
  26. Melendez, P., Donovan, A., Risco, C.A., Hall, M.B., Littell, R., Goff, J.P. (2002) Metabolic responses to transition Holstein cows fed anionic



- salts and supplemented at calving with calcium and energy. *J Dairy Sci.* 85: 1085-1092.
27. Moore, S.J., VandeHaar, M.J., Sharma, B.K., Pilbeam, T.E., Beede, D.K., Bucholtz, H.F., Liesman, J.S., Horst, R.L., Goff, J.P. (2000) Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *J Dairy Sci.* 83: 2095-2104.
28. Nordlund, K. V., Cook, N. B., Oetzel, G. R. (2004) Investigation strategies for laminitis problem herds. *J Dairy Sci.* 87(E.Suppl.): E27-E35.
29. Oetzel, G.R. (2013) Oral Calcium Supplementation in Peripartum Dairy Cows. *Vet Clin Food Anim.* 29: 447-455.
30. Oetzel, G.R., Miller, B.E. (2012) Effect of oral calcium bolus supplementation on early lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *J Dairy Sci.* 95: 7051-7065.
31. Oetzel, G.R. (1988) Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 4: 351-364.
32. Oetzel, G.R. (1996) Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of periparturient diseases. *J Am Vet Med Assoc.* 209: 958-961.
33. Reinhardt, T.A., Lippolis, J.D., McCluskey, B.J., Goff, J.P., Horst, R.L. (2011) Prevalence of sub-clinical hypocalcemia in dairy herds. *Vet J.* 188: 122-124.



## Effect of Oral Calcium Chloride Supplementation on Serum Calcium, Phosphorus and Magnesium of Holstein Dairy Cows in Transition Period

Afsharfarnia, S.<sup>1</sup>, Rasooli, A.<sup>2,3\*</sup>, Nouri, M.<sup>2</sup>, Shahryari, A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate From the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>3</sup>Department of Animal Health Management, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

<sup>4</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

(Received 8 April 2018, Accepted 11 July 2018)

### Abstract:

**BACKGROUND:** Loss of calcium around calving can lead to diseases of transition period and reduce animal economic life. Prevention of milk fever and subclinical hypocalcemia is crucial and important in this period. Repeated doses of oral calcium chloride at calving is a method to prevent hypocalcemia and associated complications. **OBJECTIVES:** The objective of this study was to evaluate the influence of oral calcium chloride at calving on serum calcium, phosphorus and magnesium in transitional period of Holstein dairy cows fed with anionic and cationic diets. **METHODS:** Forty-two Holstein dairy cows were randomly divided in 3 groups. Group 1 (n = 14), fed diet with negative DCAD without calcium chloride supplementation. Group 2 (n = 14), fed diet with negative DCAD and supplemented with calcium chloride at calving and 12 h later. Group 3 (n = 14), fed diets with positive DCAD and supplemented with calcium chloride at calving and 12 h later. Blood samples were collected at calving and 6 h and 12 h and 1d, 2 d, 7 d, 14 d, 21 and 28 d after calving. Serum concentrations of Ca, P and Mg were measured by conventional methods. **RESULTS:** The pattern of changes in serum levels of calcium and magnesium in different groups in different time periods (time × treatment interaction) were different (p<0.0001). Changes in serum phosphorus levels in different time periods were statistically significant (p<0.0001), but its mean was not affected by the treatment groups (p=0.7164). **CONCLUSIONS:** In addition to anionic diets, supplemental calcium chloride should be used to prevent subclinical hypocalcemia in high-producing dairy cows.

**Keyword:** Hypocalcemia, Transition period, Calcium chloride, Dairy cow

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Serum total calcium concentrations for the first 4 weeks after parturition in different treatment groups (mg/dl). (a,b,c) Data with at least one common letter in each row do not have a statistically significant difference. (A,B,C) Data with at least one common letter in each column do not have a statistically significant difference.

**Table 2.** Serum phosphorus concentrations for the first 4 weeks after parturition in different treatment groups (mg/dl). (a,b,c) Data with at least one common letter in each row do not have a statistically significant difference. (A,B,C) Data with at least one common letter in each column do not have a statistically significant difference.

**Table 3.** Serum magnesium concentrations for the first 4 weeks after parturition in different treatment groups (mg/dl). (a,b,c) Data with at least one common letter in each row do not have a statistically significant difference. (A,B,C) Data with at least one common letter in each column do not have a statistically significant difference.



\*Corresponding author's email: a.rasooli@shirazu.ac.ir, Tel: 071-3635376 · 8, Fax: 071-32286949