



Efecto de la administración de sales de calcio y precursores de glucosa sobre calcio sérico y cuerpos cetónicos en vacas lecheras posparto

Effect of postpartum administration of calcium salts and glucose precursors on serum calcium and ketone bodies in dairy cows

Eligio Gabriel Salgado Hernández* Jan Bouda*
Jorge Ávila García** Jaime Alonso Navarro Hernández***

Abstract

Subclinical hypocalcemia and ketosis are common diseases in mostly dairy cows in the first days postpartum, increasing the risk for other diseases and decreasing milk production. The objective of this study was to evaluate the effect of postpartum administration of calcium salts and glucose precursors on the concentration of serum calcium and ketone bodies in milk of multiparous dairy cows. Sixteen Holstein cows with two to four calvings and body condition from 3.25 to 3.75 points were utilized and randomized into three groups. Cows of the Group 1 ($n = 5$) received 700 g of calcium propionate diluted in 10 L of water by a esophageal pump system between 1 and 2 h after calving. Cows of the Group 2 ($n = 6$) were treated intravenously with 500 mL of calcium borogluconate solution (23%) and 500 mL of propylene glycol as an oral drench. The control Group ($n = 5$) did not receive any treatment. Blood samples were collected 1 to 2 h after calving (before treatment) and two more samples 12 and 24 h after calving for determination of calcium in serum. Levels of β -hydroxybutyrate were assessed in milk at days 3, 7 and 10 postpartum. The results were analyzed using the multivariate analysis of variance for repeated measures. There were no significant differences in serum concentration of calcium between treatments ($F_{2,13} = 1.0488$, $P = 0.3782$). A significant difference in milk production was found among treatments ($F_{2,13} = 4.1338$, $P = 0.0408$) at days 10 and 60 postpartum. The significant difference in the proportion of cases of subclinical ketosis was registered between groups 1 and 2 (chi square = 5.238; $P = 0.0455$). Oral administration of 700 g of calcium propionate 1 to 2 h postpartum, does not increase serum calcium concentration, reduces frequency of subclinical ketosis and can increase milk production.

Key words: SERUM CALCIUM, KETONE BODIES, DAIRY COW.

Resumen

La hipocalcemia subclínica y la cetosis subclínica se presentan en la mayoría de las vacas lecheras en los primeros días posparto, esto último aumenta el riesgo de otras enfermedades y disminuye la producción láctea. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración de sales de calcio y precursores de glucosa sobre la concentración sérica de calcio y de cuerpos cetónicos en leche de vacas lecheras multíparas posparto. Se utilizaron 16 vacas de la raza Holstein de dos a cuatro partos, con condición corporal entre 3.25 a 3.75 puntos, las cuales se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos. De 1 a 2 h después del parto, las vacas del Grupo 1 ($n = 5$) recibieron 700 g de propionato de calcio disuelto en 10 L de agua mediante una sonda esofágica y una bomba manual. A las vacas del Grupo 2 ($n = 6$) se les administró, vía intravenosa, 500 mL de una solución de borogluconato de calcio a 23% y 500 mL de propilenglicol vía oral. Las vacas del Grupo 3 (testigo $n = 5$) no recibieron tratamiento. Se obtuvieron muestras de sangre de 1 a 2 h después del parto (antes del tratamiento) y luego se tomaron otras dos muestras a las 12 y 24 h, en las que se determinó la concentración sérica de calcio. A los tres, siete y 10 días posparto se determinó la concentración de β -hidroxibutirato en leche. Los resultados fueron analizados por medio de análisis de varianza multivariado para un diseño de mediciones repetidas. No se encontraron diferencias significativas en la concentración sérica de calcio entre los tratamientos ($F_{2,13} = 1.0488$, $P = 0.3782$). En la producción de leche, a los 10 y 60 días posparto, se encontró diferencia significativa entre los tratamientos ($F_{2,13} = 4.1338$, $P = 0.0408$). Se encontró diferencia significativa entre la proporción de casos de cetosis entre los grupos 1 y 2 (Ji cuadrada = 5.238; $P = 0.0455$). La administración oral de 700 g de propionato de calcio 1 a 2 h posparto no aumenta la concentración sérica de calcio, reduce la frecuencia de cetosis subclínica y puede aumentar la producción de leche.

Palabras clave: CALCIO SÉRICO, CUERPOS CETÓNICOS, VACA LECHERA.

Recibido el 21 de septiembre de 2007 y aceptado el 25 de agosto de 2008.

*Departamento de Patología, Sección de Patología Clínica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

**Departamento de Producción Animal: Rumiantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

***Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Correspondencia: Eligio Gabriel Salgado Hernández, Tel.: 56225878, correo electrónico: shegvvet@hotmail.com

Introduction

The end of pregnancy and the beginning of lactation in dairy cows occur along with endocrine and metabolic changes that frequently exceed the physiological mechanisms that regulate homeostasis. At the same time, metabolic disorders, such as hypocalcemia and fatty liver are present. These conditions increase the risk of fetal membrane retention, abomasal displacement, metritis, mastitis, ketosis, extension of the uterine-involution time and infertility.¹⁻⁵

Prevalence of clinical hypocalcemia or parturient paresis in dairy cows in the United States of America and Europe varies from 4% to 14%, with a 9.0% mean.^{6,7} The annual direct cost per treatment for parturient paresis is 15 million dollars, while its secondary complications create costs over 120 million dollars.^{8,9} Avila *et al.*¹⁰ determined that prevalence in Mexico is almost the same that in the United States. Even though studies related to the economic impact of parturient paresis in Mexican dairy farms were not found in the available literature, it is estimated that losses as well as secondary costs are, at least, similar to those reported for USA.

The subclinical form of hypocalcemia is more common than the clinical form. Because the beginning of the delivery process coincides with colostrum secretion, which contains 2.3 g of calcium/kg,¹¹ it presents in over 60% of the cows during the first 24 h after calving.^{4,6,10} A high producing cow, that yields 10 to 20 kg of colostrum during the first 24 h after partum, loses between 23 to 46 g of calcium, amount that is over eight times the plasma concentration.¹¹

Mobilization of calcium is done by physiological mechanisms that regulate its serum levels, when they are not efficient parturient paresis can be present.¹¹

Subclinical ketosis is related to hypocalcemia during postpartum. It is characterized by a γ -hydroxybutyrate plasma concentration over 1.4 mmol/L, without the presence of clinical signs.¹² Ketosis presents more frequently in cows with two or more calvings in the first weeks postpartum,^{12,13} when milk production is higher than in the rest of lactation and they are in a negative energy balance (NEB).^{1,12,13} Incidence of subclinical ketosis may vary between 8.9% and 34% according to the nutritional management practices and the productive level of the herd.¹²

The use of calcium propionate has been recently evaluated as a preventive treatment for clinical and subclinical hypocalcemia.¹⁴⁻¹⁸ Furthermore, this compound may reduce the incidence of clinical and subclinical ketosis, since it is a glucose precursor. Anionic salts have been used in the studies previously mentioned, in order to prevent hypocalcemia. However,

Introducción

El término de la gestación y el inicio de la lactancia en las vacas lecheras están acompañados por cambios endocrinos y metabólicos que, con frecuencia, sobrepasan los mecanismos fisiológicos que regulan la homeostasis; simultáneamente se presentan trastornos metabólicos como hipocalcemia e hígado graso. Estas condiciones aumentan el riesgo de que se presente retención placentaria, desplazamiento de abomaso, metritis, mastitis, cetosis, prolongación del tiempo de involución uterina e infertilidad.¹⁻⁵

La prevalencia de hipocalcemia clínica o paresia posparto en vacas lecheras en Estados Unidos de América y Europa oscila entre 4% y 14%, con promedio de 9.0%.^{6,7} El costo anual directo por tratamiento de paresia posparto en ese país es de 15 millones de dólares, sus complicaciones secundarias generan costos por más de 120 millones de dólares adicionales.^{8,9} En un estudio realizado por Ávila *et al.*¹⁰ se determinó casi la misma prevalencia en México que en Estados Unidos. Si bien en la literatura disponible no se encontraron trabajos relacionados con el impacto económico de la paresia posparto en establos mexicanos, se estima que tanto las pérdidas como los costos derivados de ella sean, al menos, similares a los registrados en los hatos estadounidenses.

La hipocalcemia subclínica es más frecuente que la forma clínica y se presenta en más de 60% de las vacas durante las primeras 24 h después del parto,^{4,6,10} debido a que el inicio del proceso de parto coincide con la secreción de calostro, el cual contiene 2.3 g de calcio/kg.¹¹ Una vaca de alta producción, que en las primeras 24 h después del parto produce de 10 a 20 kg de calostro, secreta a través de éste, entre 23 y 46 g de calcio, cantidad ocho veces mayor que la del plasma.¹¹

La movilización de este mineral se realiza mediante mecanismos fisiológicos que regulan su concentración sérica, los cuales, cuando no son eficientes, culminan en paresia posparto.¹¹

Una enfermedad relacionada con la hipocalcemia en el periodo posparto es la cetosis subclínica, ésta se caracteriza por la concentración de β -hidroxibutirato mayor a 1.4 mmol/L en plasma, sin la presentación de signos clínicos.¹² La cetosis se presenta con mayor frecuencia en vacas de dos o más partos en las primeras semanas posparto,^{12,13} cuando la producción de leche es mayor que en el resto de la lactancia y se encuentran en balance energético negativo (BEN).^{1,12,13} La incidencia de cetosis subclínica puede oscilar entre 8.9% y 34% según las prácticas de manejo nutricional y el nivel de producción del hato.¹²

Recientemente se ha evaluado el uso de propionato de calcio como tratamiento preventivo de hipocalce-

because the salts inhibit dry matter intake,¹⁸⁻²⁴ it is necessary to evaluate the effect of calcium propionate administration without using anionic salts.

The objective of this work was to study the effect of the oral administration of calcium propionate and intravenous calcium borogluconate, plus oral propylene glycol in the first 2 h postpartum, on the levels of serum calcium and ketone bodies in milk during the first ten days postpartum in multiparous dairy cows.

Material and methods

Sixteen cows with two to four normal calvings and a body condition from 3.25 to 3.75 points in a 1 to 5 scale,²⁵ were randomly chosen from a Holstein herd of 800 dairy cows, located in Cuautitlan, State of Mexico, Mexico, with a mean annual production of 8 953 kg/cow. The minimum size sample per group ($n = 5$ cows) was determined by the JMP statistic program,²⁶ based on the procedure recommended by Glantz,²⁷ and the equation ($\Phi = 6 \sqrt{(n/2k)/\delta}$), considering as statistic criteria a minimum significant difference of the physiological serum levels of calcium among group means of ($\delta = 0.2$ mmol/L), a standard error of the calcium serum level of ($\delta = 0.06$ mmol/L), three assay groups ($k = 3$), a statistic parameter of non-centrality of $\Phi = 3.04$ to obtain a test power ($1-\beta$) of 95% and $\alpha = 0.05$ significance. Animals were housed in an earth-floor pen with free-access cubicles and fed *ad libitum* once a day with a total mixed ration, according to the production stage in which they were at the time of the study (Table 1).

A controlled release bolus of sodium monensin, was orally given 25 days before calving as part of the preventive measure against ketosis. Cows were moved to a pen for next-to-calving cows where a pre-partum diet was offered (Table 1) and were under observation until calving. After this, cows were moved to another pen with concrete floor and free-access cubicles, fed once a day with a postpartum diet (Table 1). Rectal temperature, along with observation and clinical auscultation were taken every day during the first ten days after partum in order to assure the health of the animals.

Cows were randomly distributed into three groups once calving had occurred. A 5 mL blood sample was taken from each cow from tail vein in vacuum glass tubes between 1 and 2 h after calving. Additional samples were taken 12 and 24 h later. Samples were maintained at room temperature for 2 h for coagulation and clot retraction. Then were centrifuged at 1 200 g for 10 min and the serum obtained was translated to another clean tube to be kept frozen at -20°C . After blood sampling, between 1 and 2 h after partum, 700 g of calcium propionate diluted in 10 L of drinking

mia clínica y subclínica.¹⁴⁻¹⁸ Además, este compuesto, por ser un precursor de glucosa, podría reducir la incidencia de cetosis clínica y subclínica. En los estudios antes mencionados se han utilizado también sales aniónicas como medida preventiva de hipocalcemia; sin embargo, éstas inhiben el consumo de materia seca,¹⁸⁻²⁴ por lo que es necesario evaluar el efecto de la administración de propionato de calcio sin la utilización de sales aniónicas.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la administración oral de propionato de calcio y de borogluconato de calcio vía intravenosa, más propilenglicol vía oral en las primeras 2 h posparto, sobre la concentración sérica de calcio y de cuerpos cetónicos en leche durante los primeros diez días posparto en vacas lecheras multíparas.

Material y métodos

De un hato de 800 vacas lecheras de raza Holstein, ubicado en Cuautitlán, Estado de México, México, con promedio anual de producción de 8 953 kg/vaca, se seleccionaron aleatoriamente 16 vacas de parto normal, de dos a cuatro partos y con condición corporal de 3.25 a 3.75 puntos en la escala de 1 a 5.²⁵ El tamaño mínimo de la muestra por grupo ($n = 5$ vacas) se determinó por medio del programa estadístico JMP,²⁶ con base en el procedimiento recomendado por Glantz,²⁷ y la ecuación ($\Phi = 6 \sqrt{(n/2k)/\delta}$), tomando como criterios estadísticos una diferencia mínima significativa de la concentración sérica fisiológica de calcio entre los promedios de los grupos de ($\delta = 0.2$ mmol/L), un error estándar de la concentración sérica de calcio de ($\delta = 0.06$ mmol/L), tres grupos para el ensayo ($k = 3$), un parámetro estadístico de no centralidad de $\Phi = 3.04$ para obtener un poder de la prueba ($1-\beta$) de 95% y significancia de $\alpha = 0.05$. Los animales fueron alojados en un corral de piso de tierra con cubículos de acceso libre y fueron alimentados *ad libitum* una vez al día con una ración integral balanceada de acuerdo con la etapa de producción en que se encontraron al momento del estudio (Cuadro 1).

Se les administró, vía oral, una cápsula de monensina sódica* de liberación controlada, 25 días antes del parto como parte del manejo preventivo de cetosis, se pasaron a un corral de vacas próximas a parto donde consumieron una dieta preparto (Cuadro 1) y se tuvieron en observación hasta el parto. Después de éste, las vacas fueron transferidas a otro corral de piso de concreto y cubículos de acceso libre, se les alimentó una vez al día con dieta posparto (Cuadro 1). Diariamente, durante los primeros diez días después

*Rumensin CRC ® Elanco Animal Health, Estados Unidos de América.

Cuadro 1
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS DIETAS PROPORCIONADAS A
VACAS HOLSTEIN ANTES Y DESPUÉS DEL PARTO
CHEMICAL COMPOSITION OF THE DIETS PROVIDED TO
HOLSTEIN COWS BEFORE AND AFTER PARTUM

<i>Component</i>	<i>Prepartum diet</i>	<i>Postpartum diet</i>
Dry matter, %	59.67	55.75
Humidity, %	40.33	44.25
Crude protein, %	16.1	16.44
Metabolizable energy, Mcal/kg	2.6	2.7
Net lactation energy, Mcal/kg	1.67	1.68
Total digestible nutrients, %	73.28	73.6
Crude fiber, %	19.27	18.64
Neutral detergent fiber, %	53.76	55.47
Acid detergent fiber, %	29.84	29.16
Calcium, %	1.04	1.34
Phosphorus, %	0.43	0.44
Magnesium, %	0.34	0.35
Sodium, %	0.50	0.62
Potassium, %	1.77	1.76

water at room temperature were given orally to animals of Group 1 (n = 5), by an esophageal drench and a manual pump. Cows in Group 2 (n = 6) were given 500 mL of a 23% calcium borogluconate by intravenous via and 500 mL of propylene glycol by oral route. Cows of Group 3 (control n = 5) did not received any treatment. Samples of the total mixed ration were taken before and after calving, to analyze their nutritional composition.

Serum calcium concentration was determinated by the arsenazo III²⁸ method in a semiautomatic spectrometer.* After milking, 10 mL samples of milk were manually taken per cow at three, seven and ten days postpartum for α -hydroxybutyrate determination by reactive stripes.^{29**} Milk production was recorded on days ten and 60.

The homogenous condition of covariances was analyzed according to Mauchly criterion, which was not fulfilled, because of the presence of repeated measures in the experimental design:³⁰ (Mauchly criterion = 0.5202; Chi square = 8.85, g. l. = 2, P = 0.0119). Due to this situation, concentration means of serum calcium and milk production among treatments at different hour and day postpartum, were submitted to a multivariate analysis of variance (MANOVA)^{26,27,30}

del parto, se les tomó la temperatura rectal y se realizó observación y auscultación clínicas con el propósito de garantizar la salud de los animales.

Una vez ocurrido el parto los animales fueron distribuidos en forma aleatoria en tres grupos. Entre 1 y 2 h después del parto, se tomó una muestra de 5 mL de sangre de cada animal por medio de punción de la vena caudal en tubos de vidrio al vacío; posteriormente se tomaron muestras a las 12 y 24 h. Las muestras obtenidas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 2 h para esperar la coagulación y retracción del coágulo, después se centrifugaron a 1 200 g por 10 min y el suero que se obtuvo se traspasó a otro tubo limpio para ser conservado en congelación a -20°C. Después de tomar la muestra de sangre entre 1 y 2 h después del parto, a los animales del Grupo 1 (n = 5) se les administró vía oral, 700 g de propionato de calcio disuelto en 10 L de agua de bebida a temperatura ambiente, mediante una sonda esofágica y una bomba manual. A las vacas del Grupo 2 (n = 6) se les administró 500 mL de una solución de borogluconato de calcio al 23% vía intravenosa y 500 mL de propilenglicol vía oral. Las vacas del Grupo 3 (testigo n = 5) no recibieron tratamiento alguno. Antes y después del parto se tomaron muestras de la ración

taking the Wilk's lambda (Λ), approximated by F, as decision criterion, with $\alpha = 0.05$ significance.

The number of cases in such conditions after treatment was used in order to determine the association between hypocalcemia and subclinical ketosis among treatments.²⁷ Results were analyzed by an independence contrast by the Fisher's exact test at a $\alpha = 0.05$ significance level.²⁸

Results

No significant difference was observed in the serum calcium levels between treatments ($F_{2,13} = 1.0488$, $P = 0.3782$), neither among sample hours postpartum ($F_{2,12} = 2.3879$, $P = 0.1340$) (Table 2).

Even though there was no significant difference for milk production among postpartum production days ($F_{1,13} = 0.2079$, $P = 0.6569$), a difference did was found between treatments ($F_{2,13} = 4.1338$, $P = 0.0408$). Because of this, production on day ten was added to that of day 60 and, due to the variance heterogeneity among treatments (Levene: $F_{2,13} = 4.6566$, $P = 0.0299$), the total production means were compared by a Welch variance analysis, finding a significant difference between them ($F_2 = 5.7884$, $P = 0.0322$). Then, it was observed by the Dunnett contrast (d), between each treatment and the control group, that the production of the group treated with calcium propionate (80.88 ± 3.25) was significantly higher than that of the control group (46.754 ± 11.88) (d = 2.47404, $P < 0.05$). However, no difference was found between the group treated with intravenous calcium (60.75 ± 7.29) and the control one ($P > 0.05$).

No clinical signs of hypocalcemia were seen at physical examination in none of the cows used in the experiment. Nonetheless, calcium concentration in serum was lower than 2 mmol/L in a high percentage of cows, regardless of the treatments applied on them (Table 3).

No significant difference was found between treatments in the cases of subclinical hypocalcemia at 12 h postpartum (Chi square = 0.24; $P = 0.62$), or among each treatment and the control group IV Ca (Chi square = 2.03; $P = 0.15$), calcium propionate (Chi square = 1.11; $P = 0.29$). This difference was neither observed at 24 h between treatments or between the group treated with IV Ca and the control (Chi square = 0.917; $P = 0.338$), respectively. However, the same ratio of hypocalcemia cases were observed between the group treated with calcium propionate and the control one (Table 3).

No significant differences were found in the ratio of ketosis cases among treatments regarding the control group (IV calcium: Chi square = 0.782; $P = 0.39$), (CaProp: Chi square = 2.5; $P = 0.222$), respectively.

alimenticia proporcionada, para analizar su composición nutrimental.

Posteriormente, a partir del suero obtenido, se determinó la concentración de calcio mediante el método del arsenazo III²⁸ en un espectrómetro semiautomático.* Después del ordeño se tomaron, manualmente, muestras de 10 mL de leche por vaca a los tres, siete y diez días posparto, y se determinó la presencia de β -hidroxibutirato mediante tiras reactivas.^{29**} Se registró la producción de leche de los días diez y 60.

Debido a la presencia de medidas repetidas en el diseño experimental,³⁰ se analizó la condición de homogeneidad de covarianzas por medio del criterio de Mauchly, la cual no se cumplió: (Criterio de Mauchly = 0.5202; Ji cuadrada = 8.85, g. l. = 2, $P = 0.0119$); por este motivo, a los promedios de concentración de calcio sérico y producción de leche entre los tratamientos a distinta hora y día después del parto, se les realizó análisis de varianza multivariado (MANDEVA)^{26,27,30} tomando como criterio de decisión la lambda de Wilks (Λ) aproximada por F, con significación $\alpha = 0.05$.

Con el propósito de determinar la asociación de hipocalcemia y cetosis subclínica entre los tratamientos, se utilizó el número de casos de tales condiciones después del tratamiento.²⁷ Los resultados fueron analizados por medio de un contraste de independencia con la prueba exacta de Fisher a nivel de significancia $\alpha = 0.05$.²⁸

Resultados

No se observó diferencia significativa en la concentración sérica de calcio entre los tratamientos ($F_{2,13} = 1.0488$, $P = 0.3782$), como tampoco entre horas de muestreo posparto ($F_{2,12} = 2.3879$, $P = 0.1340$) (Cuadro 2).

No se observó diferencia significativa en la producción de leche entre los días de producción posparto ($F_{1,13} = 0.2079$, $P = 0.6569$), aunque sí entre los tratamientos ($F_{2,13} = 4.1338$, $P = 0.0408$). Por tal motivo, se sumó la producción del día diez con la del día 60 y debido a la heterogeneidad de las varianzas entre tratamientos (Levene: $F_{2,13} = 4.6566$, $P = 0.0299$) se compararon los promedios de producción total por medio de análisis de varianza de Welch y se encontró diferencia significativa entre ellos ($F_2 = 5.7884$, $P = 0.0322$). Posteriormente, al realizar el contraste de Dunnett (d) entre cada tratamiento y el grupo testigo, se observó que la producción del grupo tratado con propionato de calcio (80.88 ± 3.25) fue significativamente mayor que la del grupo testigo (46.754 ± 11.88) (d = 2.47404, $P < 0.05$), pero entre el grupo tratado con calcio intra-

*Analizador Cobas Mira, ® Roche, Suiza.

**Tiras reactivas Ketotest ® Elanco Animal Health, Estados Unidos de América.

However, the number of ketosis cases was lower in the group treated with calcium propionate than in the group treated with intravenous calcium (Chi square = 5.238; $P = 0.04$) (Table 4). The number of diseases presented in the culling cows during the first ten days postpartum is showed in Table 5.

Discussion

Subclinical hypocalcemia in high yielding dairy cows presents with an elevated incidence during the first day postpartum.^{3,5,6,8} This condition increases the risk of having other associated diseases that affect reproductive efficiency and herd production.^{5,7,29} Economic losses derived from the presentation of these diseases^{5,8,9} and animal welfare aspects, demand searching for alternatives on nutritional management and appliance of new treatments focused on the reduction of such problems.

Treatments did not increase calcium serum levels at 12 and 24 h postpartum in this study, which disagrees with Goff *et al.*,¹⁴ findings that show that Ca serum level significantly increases and maintains above 2 mmol/L after 24 h of calcium propionate administration. This effect is attributed to the administration of anionic salts, which induce a mild metabolic acidosis, increasing parathormone production along with the affinity of its receptors, 1-25(OH)₂D₃ production, bone resorption and calcium intestinal absorption.^{11,14} On the contrary, calcium and potassium high contents in the diet given before calving in this experiment (Table 1) are important for body acid-base regulation, that can induce mild metabolic alkalosis, which decreases bone resorption and serum concentration of calcium.^{11,19-21}

The main mechanisms of calcium intestinal

venoso (60.75 ± 7.29) y el testigo no se observó diferencia ($P > 0.05$).

Con base en el examen físico realizado, no se encontraron signos clínicos de hipocalcemia en ninguna de las vacas utilizadas en el experimento; sin embargo, la concentración de calcio en el suero fue menor a 2 mmol/L en un alto porcentaje de las vacas, independientemente del tratamiento al que fueron sometidas (Cuadro 3).

No se encontró diferencia significativa de los casos de hipocalcemia subclínica a las 12 h posparto entre ambos tratamientos (Ji cuadrada = 0.24; $P = 0.62$), ni entre cada tratamiento y el grupo testigo Ca IV (Ji cuadrada = 2.03; $P = 0.15$), propionato de calcio (Ji cuadrada = 1.11; $P = 0.29$). Tampoco se observó dicha diferencia a las 24 h entre tratamientos ni entre el grupo tratado con Ca IV y el testigo (Ji cuadrada = 0.917; $P = 0.338$), respectivamente. Sin embargo, se observó la misma proporción de casos con hipocalcemia entre el grupo tratado con propionato de calcio y el testigo (Cuadro 3).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de casos de cetosis entre los tratamientos empleados con respecto al grupo testigo (calcio IV: Ji cuadrada = 0.782; $P = 0.39$), (PropCa: Ji cuadrada = 2.5; $P = 0.222$), respectivamente. Sin embargo, en el grupo tratado con propionato de calcio el número de casos de cetosis fue menor que en el grupo tratado con calcio intravenoso (Ji cuadrada = 5.238; $P = 0.04$) (Cuadro 4). El número de enfermedades presentadas y de vacas desechadas en los primeros diez días posparto se muestra en el Cuadro 5.

Discusión

La hipocalcemia subclínica en vacas lecheras de alta

Cuadro 2

CONCENTRACIONES SÉRICAS DE CALCIO EN VACAS HOLSTEIN
TRATADAS CON SALES DE CALCIO Y PRECURSORES DE GLUCOSA
CALCIUM SERUM LEVELS IN HOLSTEIN COWS TREATED WITH
CALCIUM SALTS AND GLUCOSE PRECURSORS

Treatment	Ca serum levels (mmol/L) (mean $\pm$ standard error)		
	Before treatment	After treatment	
	1 h postpartum	12 h postpartum	24 h postpartum
Calcium propionate (n = 5)	1.67 $\pm$ 0.085	1.76 $\pm$ 0.089	1.65 $\pm$ 0.080
Calcium borogluconate (23%, IV) + Propylene glycol (n = 6)	1.74 $\pm$ 0.004	1.89 $\pm$ 0.041	1.73 $\pm$ 0.033
Control (n = 5)	1.65 $\pm$ 0.094	1.76 $\pm$ 0.078	1.73 $\pm$ 0.069

No significant differences were recorded among means ($P > 0.05$).

Cuadro 3

PORCENTAJE DE CASOS DE HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA A LAS 12 Y 24 H POSPARTO EN
VACAS HOLSTEIN TRATADAS CON SALES DE CALCIO Y PRECURSORES DE GLUCOSA
PERCENTAGES OF CASES OF SUBCLINICAL HYPOCALCEMIA AT 12 AND 24 H POSTPARTUM
IN HOLSTEIN COWS TREATED WITH CALCIUM SALTS AND GLUCOSE PRECURSORS

<i>Treatment</i>	<i>12 hours</i>	<i>24 hours</i>
Ca Prop	80	100
IV Ca + PG	66.6	83
Control	100	100
IV Ca vs Ca Prop	Chi square = 0.24; P = 0.62	Chi square = 0.917; P = 0.338
IV Ca vs Control	Chi square = 2.03; P = 0.15	Chi square = 0.917; P = 0.338
Ca Prop vs Control	Chi square = 1.11; P = 0.29	Non assessed

CaProp: calcium propionate (700 g oral) ; IV Ca + PG : calcium borogluconate (23%, 500 mL intravenous via) plus propylene glycol (500 mL oral via).

No significant differences were found among ratios (P > 0.05).

Cuadro 4

PORCENTAJE DE CASOS DE CETOSIS SUBCLÍNICA EN VACAS HOLSTEIN
TRATADAS CON SALES DE CALCIO Y PRECURSORES DE GLUCOSA
PERCENTAGES OF CASES OF SUBCLINICAL KETOSIS IN HOLSTEIN COWS
TREATED WITH CALCIUM CALCIUM SALT AND GLUCOSE PRECURSORS

<i>Treatment</i>	<i>Subclinical ketosis</i>
Ca Prop	0
IV Ca + PG	66.7
Control	40
IV Ca vs Prop Ca	Chi square = 5.238; P = 0.04
IV Ca vs Control	Chi square = 0.782; P = 0.39
Control vs Ca Prop	Chi square = 2.5; P = 0.222

Ca Prop: Calcium propionate (700 g oral) ; IV Ca + PG : Calcium borogluconate (23%, 500 mL intravenous via) plus propylene glycol (500 mL oral)

No significant differences were observed among ratios (P > 0.05).

absorption are active transport and passive diffusion. The first one depends on the presence of the hormone 1-25(OH)₂D₃ and the second one does not work properly during the first days postpartum.^{21,23,30}

Because Ca passive diffusion depends on the concentration difference between blood and ruminal and intestinal lumen, this difference must be higher than 6 mmol/L. This situation can be affected by the amount of water content in the rumen.^{11,14,16}

In the present study, administration of calcium propionate, within 2 h postpartum, decreased sub-clinical ketosis frequency in the first three weeks after partum, compared to the group treated with calcium borogluconate. In comparison to the control group, there was no significant difference, since a lesser number of cases presented, which might be caused by

producción se presenta con elevada incidencia en el primer día posparto.^{3,5,6,8} Esta condición aumenta el riesgo de que se presenten otras enfermedades asociadas que determinan la capacidad reproductiva y la producción del hato.^{5,7,29} Las pérdidas económicas derivadas de la presentación de estas enfermedades^{5,8,9} y los aspectos de bienestar animal, exigen que se busquen alternativas en el manejo nutricional y aplicación de nuevos tratamientos enfocados a reducir tales problemas.

En el presente estudio, los tratamientos no aumentaron la concentración sérica de calcio a 12 y 24 h después del parto, lo cual contrasta con los hallazgos de Goff *et al.*,¹⁴ los cuales muestran que la concentración sérica de Ca aumenta de manera significativa y se mantiene por arriba de 2 mmol/L después de 24 h de

Cuadro 5

NÚMERO DE ENFERMEDADES PRESENTADAS DURANTE LOS
PRIMEROS DIEZ DÍAS POSPARTO EN VACAS HOLSTEIN TRATADAS
CON SALES DE CALCIO Y PRECURSORES DE GLUCOSA

NUMBER OF DISEASES PRESENTED IN THE FIRST TEN DAYS
POSPARTUM IN HOSTEIN COWS TREATED WITH CALCIUM SALTS
AND GLUCOSE PRECURSORS

<i>Disease</i>	<i>Ca Prop</i>	<i>IV Ca</i>	<i>Control</i>
Parturient paresis	0	0	0
Subclinical hypocalcemia	4	4	5
Fetal membrane retention	0	1	1
Subclinical ketosis	0	4	3
Metritis	0	3	0
Mastitis	0	1	0
Abomasal displacement	0	1	1
Culling	0	1	2

a lower milk production in this group and the use of sodium monensin.³⁴

The increase in the energy density of the ration and the use of sodium monensin increase propionic acid production in the rumen.^{22,24,33-35} Propionate is the salt of propionic acid produced by ruminal fermentation and is the main glucose precursor in ruminants.^{33,34} Dairy cows decrease their food intake and increase milk production around calving time. Because of this, they are in a negative energy balance (NEB).¹ Since calcium plasma concentrations below reference ranges reduce food intake even more and increase NEB,^{4,6} it is quite important to reverse this situation during the first hours postpartum in high yielding dairy cows.^{4,8}

Milk production was higher in the group treated with calcium propionate, which agrees to Moraga *et al.*¹⁷ study. It may be attributable to the increase in the amount of available energy for milk production because of the treatment. Even though the quantity of propionate is not enough to cover the energy requirements to attenuate the NEB by glucose increase, it is possible that subclinical ketosis cases are decreased. Furthermore, insulin may slightly be elevated, along with the insulin-like growth factor type 1 (IGF-1), that has the permissive effect of insulin on the somatotropin action on the liver. Both effects of calcium propionate (decrease of ketone bodies and increase of IGF) might induce an increase in milk production.³⁵ Another effect on milk production is the low disease incidence in the group treated with calcium propionate.

Despite there was no difference among the numbers of subclinical hypocalcemia cases in the three groups, it is not possible to study a relation with the

la administración de propionato de calcio. Este efecto se atribuye a la administración de sales aniónicas, que inducen ligera acidosis metabólica, lo que aumenta la producción de parathormona, así como la afinidad a sus receptores, la producción de 1-25(OH)₂D₃, la resorción ósea y la absorción intestinal de calcio.^{11,14} Por el contrario, el alto contenido de calcio y potasio en la dieta administrada antes del parto en este experimento (Cuadro 1), es importante en la regulación ácido-base del organismo, lo cual puede inducir ligera alcalosis metabólica, que disminuye la resorción ósea de calcio y la concentración sérica de este mineral.^{11,19-21}

Los principales mecanismos de absorción intestinal de calcio son el transporte activo y la difusión pasiva; el primero de ellos depende de la presencia de la hormona 1-25(OH)₂D₃, y no funciona bien en los primeros días posparto.^{21,23,30}

La difusión pasiva de Ca depende de la diferencia de concentración entre la sangre y la luz ruminal e intestinal, por lo que ésta debe ser mayor de 6 mmol/L. Tal situación puede ser afectada por la cantidad de agua contenida en el rumen.^{11,14,16}

En el presente estudio, la administración de propionato de calcio, dentro de 2 h posparto, disminuyó la frecuencia de cetosis subclínica en las primeras tres semanas posparto, en comparación con el grupo tratado con borogluconato de calcio. En este contexto, en relación con el grupo testigo no hubo diferencia significativa, ya que se presentó menor número de casos, lo anterior cual podría deberse a que la producción de leche resultó menor en este grupo y al uso de monensina sódica.³⁴

El aumento en la densidad energética de la ración y el uso de monensina sódica, aumentan en el rumen

number of animals used in this experiments, so that the number and cases presented are only mentioned.

It is probably that since sample size was determined based on calcium serum levels, studies with a proper number of animals are carried out to evaluate the effect of the treatment on milk production.

It is concluded that the administration of calcium propionate or borogluconate in the first hours postpartum, under this nutritional and management conditions, did not increase calcium serum levels, however, it does prevent clinical hypocalcemia. Treatment with calcium propionate prevents ketosis, in contrast to the treatment with intravenous calcium borogluconate plus propylene glycol. Calcium propionate administration and ketosis decrease may increase milk production.

Acknowledgements

This study was funded by the Support Program of Research and Innovation Technology Projects PAPIIT, IN213106-3 of the National Autonomous University of Mexico.

Referencias

1. BAUMAN DE, CURRIE WB. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 1980; 63:1514-1529.
2. BELL AW. Regulation of organic nutrient metabolism during transition for late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci* 1995; 73:2804-2819.
3. BOUDA J, QUIROZ RG, NÚÑEZ OL. Alteraciones metabólicas y fertilidad. Memorias 1er. Simposio Nacional de Infertilidad en la Vaca Lechera; 2001 noviembre 29-30; Zacatecas (Zacatecas) México: Universidad Nacional Autónoma de México, Universidad Autónoma de Zacatecas, 2001:103-112.
4. CURTIS CR, ERB HN, SNIFFEN CJ, SMITH RD, KRONFELD DS. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1985; 68:2347.
5. CURTIS CR, SNIFFEN CJ, SMITH RD, POWERS PA, SMITH C, WHITE ME *et al.* Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J Am Vet Med Assoc* 1983; 183:559-561.
6. HOUE H, OSTERGAARD S, THILSING-HANSEN T, JORGENSEN RJ, LARSEN T, SORENSEN JT *et al.* 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* 2001; 42:1-29.
7. ERB HN, GROHN YT. Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1988; 71: 2557-2571.
8. GOFF JP, HORST RL. Milk fever control in the United

la producción de ácido propiónico.^{22,24,33-35} El propionato es una sal de ácido propiónico producido por la fermentación ruminal y es el principal precursor de glucosa en los rumiantes.^{33,34} Alrededor del parto, las vacas lecheras disminuyen el consumo de alimento y aumentan la producción de leche, por lo que se encuentran en balance energético negativo (BEN).¹ La concentración plasmática de calcio por debajo de los rangos de referencia reducen aún más el consumo de alimento y aumentan el BEN,^{4,6} por lo que es muy importante revertir esto último en las primeras horas posparto en las vacas lecheras altas productoras.^{4,8}

En el grupo tratado con propionato de calcio, la producción de leche fue mayor, lo cual coincide con el trabajo de Moraga *et al.*¹⁷ Ello podría atribuirse al aumento en la cantidad de energía disponible para la producción de leche debido al tratamiento. Si bien la cantidad de propionato no es suficiente para cubrir los requerimientos de energía al atenuar el BEN por un posible incremento de glucosa, es posible que disminuyan los casos de cetosis subclínica. Además, la insulina puede aumentar ligeramente y con ello el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), que tiene efecto permisivo de insulina sobre la acción de la somatotropina en el hígado. Ambos efectos del propionato de calcio (disminución de cuerpos cetónicos y aumento de IGF) podrían inducir aumento de la producción láctea.³⁵ Otro efecto sobre la producción láctea es la baja incidencia de enfermedades en el grupo tratado con propionato de calcio.

Aunque el número de casos de hipocalcemia subclínica que se presentaron en los tres grupos no fue diferente, no es posible estudiar una relación con el número de animales utilizado en este experimento, por lo que únicamente se hace mención del número y casos que se presentaron.

Es probable que debido a que el tamaño de muestra se determinó con base en la concentración sérica de calcio, se realicen estudios con un número adecuado de animales para evaluar el efecto del tratamiento sobre la producción de leche.

Se concluye que bajo estas condiciones de nutrición y manejo, la administración de propionato o borogluconato de calcio en las primeras dos horas posparto, no aumenta la concentración sérica de calcio; sin embargo, previene la presentación de hipocalcemia clínica. El tratamiento con propionato de calcio previene la cetosis, a diferencia del tratamiento con calcio intravenoso más propilenglicol. La administración de propionato de calcio y la disminución de la cetosis puede aumentar la producción de leche.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con recursos del Programa

- States. *Acta Vet Scand Suppl E* 2003; 97:145-147.
9. GUARD CL. Fresh cow problems are costly; culling hurts the most. *Hoard's Dairyman* 1996; 141:8-9.
 10. AVILA GJ, BOUDA J, RIVERA J, DOUBEK J, NUÑEZ OL. Effect of anionic salts on blood serum analytes in dairy cows. *Proceedings of 23rd World Buiatrics Congress*; 2004 July 11-16; Quebec, Canada. Quebec Canada: World Buiatrics Association, 2004:583.
 11. GOFF JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16:319-337.
 12. DUFFIELD T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16: 231-252.
 13. BERTICS SJ, GRUMMER RR, CADORNIGA-VALINO C, STODDARD EE. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J Dairy Sci* 1992; 77: 1914-1922.
 14. GOFF JP, BROWN TF, STOKES SR, BRAWLEY CL, VALDEZ FR. Titration of the proper dose of calcium propionate to be included in an oral drench for fresh cows. *J Anim Sci* 2002; 80 Abstract (Suppl 1):189
 15. STOKES SR, GOFF JP. Evaluation of calcium propionate and propylene glycol administered into esophagus at calving. *Prof Anim Sci* 2001;17:115-122
 16. PEHRSON B, SVENSSON C, JONSSON MA. Comparative study of the effectiveness of calcium propionate and calcium chloride for the prevention of parturient paresis in dairy cows. *J Dairy Sci* 1998; 81:2011-2016.
 17. MORAGA L, DUCHENS M, EGAÑA JI, ACUÑA F. Efecto de un regulador del metabolismo energético y mineral sobre indicadores bioquímicos en vacas de lechería. *Memorias del XI Congreso Nacional de Medicina Veterinaria*; 2000 octubre 25-27; Santiago Chile. Santiago Chile: Universidad de Chile, 2000: 112-116.
 18. MELENDEZ P, DONOVAN A, RISCO CA, HALL MB, LITTELL R, GOFF JP. Metabolic response of transition Holstein cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *J Dairy Sci* 2002; 85:1085-1092.
 19. DHIMAN TR, SASIDHARAN V. Effectiveness of calcium chloride in increasing blood calcium concentrations of periparturient dairy cows. *J Anim Sci* 1999; 77:1597-1605.
 20. FÜRLI M, OETZEL R. The influences of different CaCl_2 preparations on the acid base state as well as the mineral metabolism in cows. *Acta Vet Scand* 2003 (Suppl 97):157-158.
 21. GOFF JP, RUIZ R, HORST RL. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J Dairy Sci* 2004; 87:1245-1255.
 22. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington DC: National Academic Press, 2001.
 23. GOFF JP. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim Feed Sci Tech* 2006; 126:237-257.
 24. OVERTON TR, WALDRON MR. Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci* 2004; 87(E. Suppl):E105-E119.
 25. FERGUSON JD, GALLIGAN DT, THOMSEN N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:2695-2703.
 26. SAS Institute. JMP® User's Guide Version 5.1. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2004.
 27. GLANTZ SA. *Primer of biostatistics*. 3rd ed. San Francisco Ca: McGraw-Hill, 1992.
 28. MICHAYLOVA V, ILKOVA P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal Chim Acta* 1971;53:194-198.
 29. GEISHAUSER T, LESLIE K, TENHAG J, BASHIRI A. Evaluation of eight cow side ketone test in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2000;83:296-299.
 30. MYERS JL. *Fundamental of experimental design*. 2nd ed. Boston: Allyn and Bacon Inc, 1972.
 31. REIST M, KOLLER A, BUSATO A, KÜPFER U, BLUM JW. First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology* 2000; 54: 685-701.
 32. GOFF JP, REINHARDT TA, HORST RL. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1995; 78: 2388-2394.
 33. HERDT TH. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000; 16: 215-230.
 34. NIELSEN NI, INGVARTSEN KL. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effect on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Anim Feed Sci and Tech* 2004; 115: 191-213.
 35. DUFFIELD TF, LEBLANC S, BAGG R, LESLIE K, HAG JY, DICK P. Effect of a monensine controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. *J Dairy Sci* 2003;86:1171-1176.
 36. BAUMAN DE, MATHER IH, WALL RJ, Lock AL. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J Dairy Sci* 2006;89:1235-1243.