

Effekt af jern- og kobbersupplement på spædkalves jern og kobberstatus

Af: Thorben Krüger, Niels Bastian Kristensen, SEGES Innovation P/S
og Mogens Vestergaard, Aarhus Universitet

Sammendrag

Formålet med nærværende undersøgelse var at teste effekten af tre forskellige mælkefodringsstrategier på spædkalves jern- og kobberstatus.

12 tyre- og 12 kviekalve (Holstein) blev tilfældigt udvalgt til tre mælkefodringsbehandlinger tildelt i de første 8 leveuger. Behandlingerne var: Mælk (KONTROL; tankmælk), mælk tilsat jern (JERN, 110 mg Fe/dag) og mælkeerstatning (ERSTATNING, 150 mg Fe/dag, 11,5 mg Cu/dag). Kalvene blev tilbudt 8 liter mælk eller mælkeerstatning (1,25 kg/dag opblandet i vand til 14 % TS) per dag, samt vand, græspulp og kalvestarter (KomKalv) efter ædelyst. Mælkeindtagelse blev registreret dagligt, indtagelse af tørfoder blev registreret i to døgn pr uge. Kalvene blev vejede hver uge og der blev udtaget blodprøver hver uge. Tyrekalvene blev aflivet efter forsøgsperioden og der blev udtaget organer til analyse. Blodprøver blev analyseret for hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration i fuldblod, samt glutamat dehydrogenase (GLDH), aspartattransaminase (AST), og gamma-glutamyltransferase (GGT) (leverenzym markører) i blodplasma. Leverprøver blev analyseret for indhold af kobber, zink, jern, selen og vitamin B12.

Den gennemsnitlige tilvækst var 882 ± 18 g/dag og var ikke påvirket af behandling. Ved fødsel var den gennemsnitlige hæmatokritværdi $30,4 \pm 0,7$ % og den gennemsnitlige hæmoglobinkoncentration i blodet $9,6 \pm 0,5$ g Hb/dl. Kalvene på KONTROL havde en faldende hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration, de laveste koncentrationer blev observeret i uge 5 (22,4 % og 7,07 g Hb/dl). JERN førte til en stigende hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration, der toppede ved 38,5 % og 13,8 g Hb/dl i uge 5. ERSTATNING førte til en stigende hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration, der var højest ved 34,7 % i uge 2 og 12,9 g Hb/dl i uge 8. Tyrekalvene på ERSTATNING havde efter 8 uger en forhøjet kobberstatus med gennemsnitlig 636 ± 46 mg Cu/kg TS i leveren. Kalve på KONTROL og JERN havde en gennemsnitlig kobberkoncentration i leveren på hhv. 172 og 163 ± 46 mg/kg TS. Der var ingen behandlingseffekt på GGT og GLDH, men AST var fra uge 5 signifikant højere på JERN og ERSTATNING end på KONTROL, hvilket indikerer en effekt af jerntildelingen på AST. I nærværende forsøg førte mælkefodring med 8 L/dag uden jernsupplement til en midlertidig jernmangelanæmi hos spædekcalve. Tildeling af 150 mg Fe/dag i mælkeerstatning eller 110 mg Fe/dag i mælken førte til forhøjede hæmatokritværdier og hæmoglobinkoncentrationer, ophobning af jern i væv og udløste et AST-respons, hvilket indikerer en overforsyning med jern. Kobbersupplementering på 11,5 mg/dag i mælkeerstatning førte til forhøjede kobberkoncentrationer i leveren.

Introduktion

Jern (Fe) er et essentielt mikromineral for alle pattedyr. Voksene kalve har et estimeret nettobehov på 34 mg Fe/kg daglig tilvækst (NASEM, 2021). Mælk indeholder 1,5 mg Fe/kg mælketørstof. Hvis kalven vokser 0,9 kg/kg mælketørstof, forsyner ren mælkefodring kalven med ca. 1,7 mg Fe/kg daglig tilvækst. Ved et lavt

indtag af fast foder i de første leveuger opfylder mælkefodring ikke kalvens jernbehov. Forsøg har vist, at hæmatokritværdien falder ved udelukkende mælkefodring. Kalve fodret udelukkende med mælk voksede normalt de første 120 dage, hvorefter de blev ru i pelsen, fik kraftig diarre og til sidst døde af jernmangel efter ca. 6 måneder (Knoop et al., 1935). I samme forsøg var erythrocytterne i en indskrumpet og ødelagt tilstand, da hæmoglobinkoncentrationen var faldet til 5-6,5 g/dl. Kalve fodret med mælk og et supplement af jern og kobber havde gennemsnitlige hæmoglobinniveauer på $10,5 \pm 0,1$ g/dl (Knoop et al., 1935).

I et andet forsøg faldt hæmoglobinkoncentrationen fra 12 g/dl til 6 g/dl efter 8 ugers ren mælkefodring på 10 % af kropsvægten (Matrone et al., 1957). I samme studie kunne tildeling af 30 eller 60 mg Fe/dag forhindre faldet i hæmoglobin. Graden af anæmien hos mælkefodrede kalve afhænger sandsynligvis af medfødte jerndepoter, tilvækst, mælkefodringsniveau og hvor hurtigt kalven tilvænnedes fast foder.

Kobber (Cu) er et andet essentielt mikromineral, som indgår i mere end 300 enzymer. Hos drøvtyggere reguleres kobberhomeostasen bl.a. gennem deponering i- eller mobilisering fra leveren. Kapaciteten til udskillelse af kobber i galde er usikker. Overforsyning med kobber hos drøvtyggere resulterer derfor i akkumulering af kobber i leveren, hvilket i sidste ende kan føre til kobberforgiftning (CCP).

Kobberkoncentrationen i leveren er en markør for drøvtyggers kobberstatus og risiko for CCP (Suttle, 2010). Risikoen for kobberforgiftninger er øget ved kobberkoncentrationer i leveren på 400-1000 mg Cu/kg TS og der er høj risiko for kobberforgiftning ved kobberkoncentrationer i leveren over 1000 mg/kg TS. Andre indikatorer for CCP er forhøjede niveauer af leverenzymerne glutamat dehydrogenase (GLDH), aspartat-transaminase (AST), og gamma-glutamyltransferase (GGT). Fra korttidsforsøg med mælkeerstatning til kalve blev det konkluderet, at kobberkoncentrationer i mælkeerstatning helt op til 50 mg/kg TS er en sikker tildeling for kalve (Jenkins and Hidioglou, 1989). Andre studier indikerer en systematisk overforsyning med kobber til kalve og kvier. 48 kvier på to forskellige forsøgsbehandlinger havde i 7 måneders-alderen gennemsnitlige kobberkoncentrationer i leveren på 643 og 798 mg/kg TS. Samtidig havde de forhøjede niveauer af AST, GGT og GLDH indikerede kobberforgiftning (McCaughern, 2019). I Holland har obduktion af 220 kalve i alderen 2-6 måneder vist en median kobberkoncentration i leveren på 505 mg/kg TS og en 90% fraktil på 1567 mg/kg TS (Counotte et al., 2019). Disse studier indikerer en systematisk overforsyning med kobber til kvæg meget tidligt i livet.

Voksende kalve har et estimeret nettobehov på 2,5 mg Cu/kg daglig tilvækst (NASEM, 2021). Mælk indeholder 0,3mg Cu/kg mælketørstof. Ved en tilvækst på 0,9 kg/kg mælketørstof svarer dette til en forsyning på 0,33mg Cu/kg daglig tilvækst. Kalve bliver dog født med betydelige kobberdepoter i leveren, selv hvis koen har lav kobberstatus prioriteres overførsel til fosteret. I et pilotforsøg blev jersey- tyrekalve født med kobberdepoter i leveren på ca. 100 mg, svarende til nettobehovet for 40 kg tilvækst (Krüger and Kristensen, 2021).

Mælkeerstatning er tilsat kobber til en koncentration på 8-16 mg/kg TS, resulterende i en forsyning på 9-18 mg Cu/kg daglig tilvækst. Op til 70 % af kobber i mælk eller mælkeerstatning bliver absorberet, resulterende i et optag på 6,3-12,6 mg Cu/kg daglig tilvækst og dermed en overforsyning med kobber i forhold til behovet.

Formålet med nærværende forsøg var at undersøge effekten af jern- og kobbersupplementering på mælkefodrede kalves jern- og kobberstatus. Hypotesen var, at ren mælkefodring medfører jernmangelanæmi og fodring med mælkeerstatning fører til forhøjede kobberkoncentrationer i leveren og leverskader.

Materiale og metode

Forsøget blev udført på Danmarks Kvægforskningscenter (Dyreforsøgsprotokol: 2020-15-0201-00709). 24 Holstein-kalve (12 tyre- og 12 kviekalve) blev inddraget i forsøget straks efter fødsel og opstaldet i enkeltbokse i 3 to-rækkede blokke á 8 bokse. Kalvene blev tildelt 4 liter kolostrum straks efter fødslen. Der blev kun inddraget kalve fra køer undtagen én kalv fra en kviekælvning. Kalvene blev indsat over ca. 2 måneder og fordelt på de 3 forsøgsbehandlinger: KONTROL (2 x 4 liter pasteuriseret komælk), JERN (2 x 4 liter pasteuriseret komælk tilsat 2 x 2ml jernsulfatopløsning i suttspannden (OptiJern, R2 Agro), og ERSTATNING (2 x 625g KIP 60 Opti, Viking Danmark). Kalvene blev fordelt på forsøgsbehandlinger efter fødselsdato i rækkefølge KONTROL, JERN, ERSTATNING. Det var planlagt, at de skulle blokkes efter fødselsdato og køn. De første 10 kalve blev dog fordelt på forsøgsbehandlinger uden hensyntagen til køn. Én kviekalv på jernbehandlingen blev taget ud af forsøget og erstattet med en ny kalv grundet kronisk lungebetændelse.

Energitildelingen svarede til 1,8 FE/dag fra mælk. Jerntildelingen fra mælk var forventet < 4 mg Fe/dag på KONTROL, 110 mg Fe/dag på JERN (jern(II)sulfat, monohydrat) og 97,5 mg Fe/dag på ERSTATNING (jern(II)sulfat, monohydrat). På grund af overindhold i forhold til deklarationen var tildelingen på ERSTATNING 150 mg Fe/dag. Forsøgsperioden var fra fødsel til torsdag i den uge hvor kalven var 8 uger gammel i forbindelse med udtagning af blodprøver om tirsdagen. Tyrekalvene blev aflivet efter forsøgsperioden og der blev udtaget organer til bedømmelse, vejning og prøveudtagning, bl.a. løbe, lever, nyre og milt.

Mælk blev malket fra af tilfældige køer en gang dagligt og opbevaret i en 200 L køletank indtil udfodring. Mælken blev pasteuriseret og udfodret ved ca. 39°C. Vasket græspulp blev fremstillet i to batch og frosset ned i 20 liters poser til optøning efter behov. Græspulpen blev fremstillet af 1. slæt 2021 (1. batch) og 1. slæt 2022 (2. batch). Græspulp blev fremstillet ved en flertrinsproces. Først blev græsensilagen presset i skruepresse, den første pulp blev opblødt i vand og derefter blev den opblødte pulp presset igen. Græspulp, Kalvestarter (KomKalv Start Valset VLOG, DLG) og vand blev tilbudt ad libitum og skiftet dagligt.

Restmængder af mælk blev registreret dagligt. Optagelse af græspulp og kalvestarter blev registreret to gange ugentligt ved ind- og udvejning af foderet over 24 timer. Der blev udtaget prøver af mælk og pulp ugentligt. Kalvene blev vejret hver torsdag.

Diarre blev behandlet efter sværhedsgraden. Ved let diarre blev der administreret smertestillende medicin (Metakam) og en mælkefodring om dagen blev erstattet med ad libitum elektrolytvand så længe diarreen varede. Svær diarre blev derudover behandlet med antibiotika. Lungebetændelse blev behandlet med antibiotika.

Blodprøver blev udtaget hver uge om tirsdagen. Den første blodprøve efter fødsel blev enten taget om tirsdagen eller fredagen, så den blev taget maks. 3 dage efter fødslen. Blodprøverne blev udtaget fra *v. jugularis* i 10 ml lithium-heparin-vacutainere. Efter udtagning blev blodprøven vendt 10 gange og opbevaret på is. Hæmatokritværdi (Hct) blev målt ved centrifugering i en hæmatokritcentrifuge i 6 minutter. Fuldblod blev afpipetteret og den resterende blodprøve blev centrifugeret ved 3000 x G og plasma afpipetteret til to delprøver. Fuldblod og plasma blev opbevaret ved -20 °C. Blodplasma aspartat-aminotransferase (AST) og gamma-glutamyltransferase (GGT), blev bestemt via standardprocedurer (Siemens Diagnostics® Clinical Methods for ADVIA 1800). Glutamat dehydrogenase aktivitet (GIDH) blev analyseret efter Smith (1995). Alle analyser blev udført på en autoanalyser, ADVIA 1800® Chemistry System (Siemens Medical Solutions,

Tarrytown, NY 10591, USA). Hæmoglobin i fuldblod blev bestemt kolorimetrisk (Cayman Chemicals, No. 700540).

Under én udtagingsrunde blev blodprøvernes iltmætning analyseret på ABL90. Blodprøverne blev udtaget efter normal procedure, dog uden opbevaring på is. Blodprøverne blev analyseret på ABL90 inden for 2 minutter efter udtagning.

Fodermidler blev analyseret for mineralindhold ved ICP-MS-analyse hos Eurofins Agrotesting Denmark A/S. Mælken blev frysetørret før analyse for at opkoncentrere mikromineralerne. Mælkens fedt-, protein- og laktoseindhold blev analyseret ved NIT på Kvægbrugets ForsøgsLaboratorium. Fodermidlernes energiindhold i Foderenheder blev beregnet baseret på Weisbjerg & Hvelplund (1993).

Dataanalysen blev foretaget i SAS (9.4) ved brug af PROC MIXED. Data vist som ugegennemsnit er behandlet med satterthwaithe approximation og en compound symmetry som repeated struktur. Den viste SEM er som udgangspunkt den højeste SEM fra forsøgsbehandlingerne. Kalvenes tilvækst er beregnet via PROC MIXED som hældning af effekten af kalv*levedag Observationer er tilskrevet kalvens leveuge ved oprunding af levedag divideret med 7.

Resultater

Mælkens og mælkeerstatningens sammensætning ifølge analyser og indlægsseddel for mælkeerstatningen er vist i Tabel 1. Der var højere variation i mælkens fedtindhold end forventet, hvilket førte til utilsigtet variation i kalvenes energitildeling.

Tabel 1: Analyser af mælk og mælkeerstatning, samt indhold ifølge indlægsseddel. Standardafvigelsen er vist i parentes.

	N/reference	Fedt	Protein	Sukker	TS	Energi
		%	%	%	%	FE/liter
Mælk	18	3,99 (0,4)	3,68 (0,14)	4,84 (0,11)	13,2 (0,44)	0,23 (0,01)
KIP60Opti	Indlægsseddel	2,66	3,25	7,0	14	0,21

Tabel 2 viser fodermidlernes jern- og kobberindhold. Mælkens indhold af jern (Fe) og kobber (Cu) var lavt sammenlignet med indholdet i mælkeerstatning. ICP-analysen viste højere indhold af jern og kobber i mælkeerstatningen end angivet på indlægssedlen. Efterfølgende beregninger er baseret på det analyserede mineralindhold og jerntildelingen på ERSTATNING var derfor højere end planlagt. Det høje jern og kobberindholdet i græspulpen tyder på, at jern og kobber ikke bliver vasket ud af græsensilage under presningen.

Tabel 2: ICP-analyse af mælk og KIP60 Opti, sammenholdt med indlægsseddel.

	N	Fe	Cu
		mg/kg TS	mg/kg TS
Mælk	4	3,7 (1,7)	0,69 (0,5)
Kip60Opti (analyse)	2	122	11,5
Kip60Opti (Indlægsseddel)		78	9
Pulp (analyse)	2	265	7,5
Komkalv (Indlægsseddel)		264	13,6

Næringsstofsammensætningen af græspulp og Komkalv, samt beregnet energiindhold er vist i Tabel 3. Græspulpen er karakteriseret ved, at en del sukker, råprotein og andre vandopløselige komponenter er vasket ud.

Tabel 3: Næringsstofsammensætning af græspulp og Komkalv ifølge analyser og indlægsseddel.

	Reference	Tørstof	Organisk stoffordøjelighed	NDF	Råprotein	Stivelse	Sukker	Energi
		g/kg	%	g/kg TS	g/kg TS	g/kg TS	g/kg TS	FE/kg TS
Pulp	1. batch	361	68,5	601	101	-	0	0,63
Pulp	2. batch	380	76	549	128	-	81	0,77
KomKalv Start Valset	Indlægsseddel	871	85	146	230	305	-	1,11

Daglig tilvækst samt forekomst og behandlinger af diarre er vist i Tabel 4. Der er ingen signifikant effekt af behandling på daglig tilvækst, forekomst og behandling af diarre eller behandling af lungebetændelse.

Tabel 4: Oversigt over daglig tilvækst, antal diarre-dage og gennemsnitlig antal behandlinger af diarre og lungebetændelse på de tre forsøgsbehandlinger.

	Mælk	Jern	Erstatning	SEM	P-værdi
Tilvækst (g/dag)	860	860	920	40	0,30
Diarre (antal dage)	9,9	10,3	13,9	1,8	0,25
Behandling med Metakam for diarre (antal behandlinger/kalv)	1,4	1,4	1,8	0,26	0,50
Behandling med antibiotika for diarre (antal behandlinger/kalv)	0,13	0,38	0,5	0,21	0,37
Behandling med antibiotika for lungebetændelse (antal behandlinger/kalv)	0,63	0,63	0,88	0,25	0,72

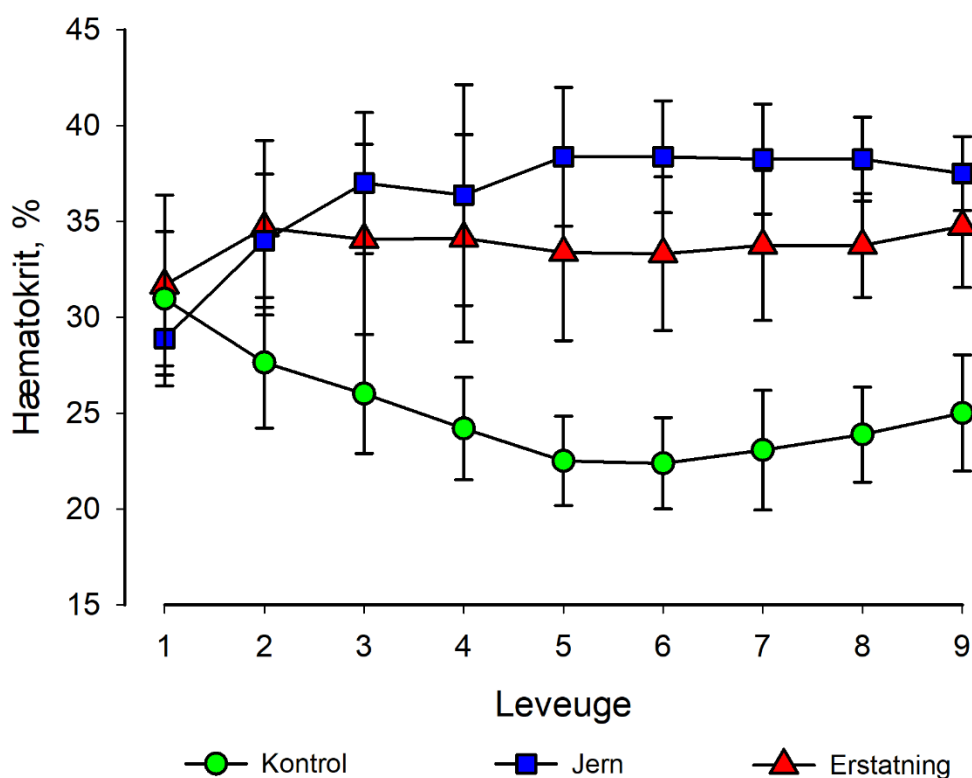
Det gennemsnitlige ugentlige mælke-, foder-, energi- og jernoptag, samt kropsvægt, Hct, Hb, GGT GLDH og AST er vist i Tabel 5. Mælkeindtaget i uge 1-4 var lavt grundet en høj forekomst af diarré og tildeling af halv mælkemængde forbundet med dette. Energioptaget steg med stigende alder og optagelse af fast foder. Dermed skiftede jernforsyningen gradvist fra kun at komme fra mælk, til overvejende at komme fra fast foder fra uge 7. Jernforsyningen fra mælk, Hct, Hb og AST var signifikant forskellige mellem behandlingerne. Kropsvægten var ikke signifikant forskellig mellem behandlingerne, men mellem køn.

Tabel 5: Ugegennemsnit (LS-Means) af mælke-, foder-, energi og mineralindtag, kropsvægt, hæmatokritværdi, hæmoglobinkoncentration i fuldblod og leverenzymet i blodplasma hos 24 kalve fodret med mælkeerstatning, mælk + jern eller udelukkende mælk.

Uge	Uge								SEM beh	P-værdi			
	1	2	3	4	5	6	7	8		Uge x beh	Uge	Beh	Køn
Mælk (kg TS/dag)	0,87	0,72	0,73	0,91	1,1	1,1	1,1	1,1	0,018	0,89	<0,01	<0,01	0,59
Pulp (g TS/dag)	2	5	7	13	20	42	58	72	7,8	0,99	<0,01	0,88	0,80
Komkalv (g TS/dag)	3	45	82	120	167	263	347	466	32	0,80	<0,01	0,42	0,45
Energi (FE/dag)	1,41	1,37	1,54	1,77	1,99	2,15	2,26	2,43	0,06	0,99	<0,01	0,92	0,57
Fe mælk (mg/dag)	65	54	70	82	85	86	86	86	2,3	<0,01	<0,01	<0,01	0,19
Fe foder (mg/dag)	2	11	20	29	41	66	88	119	7,9	0,83	<0,01	0,46	0,46
Kropsvægt (kg)	43,3	48,8	53,2	58,5	65,3	71,8	79,2	86,8	1,7	0,56	<0,01	0,73	<0,01

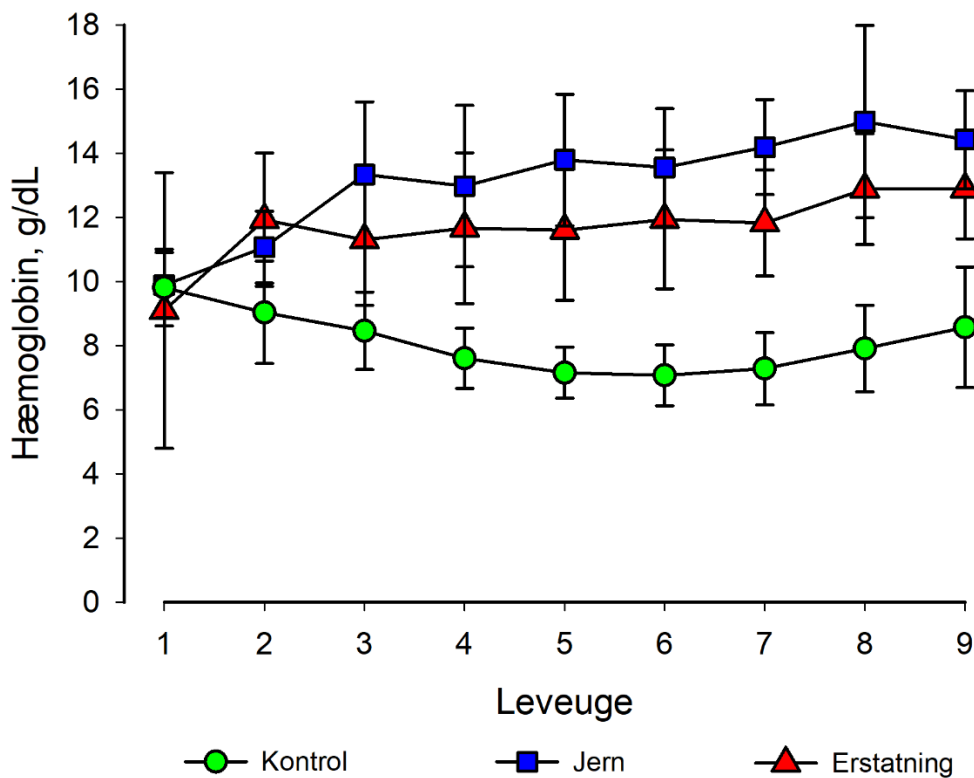
Hct (%)	30,6	32,0	32,2	31,6	31,4	31,2	31,7	32	0,97	<0,01	0,30	<0,01	0,77
Hb (g/dl)	9,6	10,7	11,0	10,7	10,8	10,9	11,1	11,9	0,45	<0,01	<0,01	<0,01	0,14
GGT	603	212	94	52	36	28	24	23	39	0,31	<0,01	0,32	0,43
GLDH	30,5	23,9	17,8	14,3	18,8	19,3	25,0	19,5	5,8	0,058	0,86	0,97	0,68
AST	48,8	42,0	42,4	41,5	42,8	44,3	45,8	47,0	1,4	<0,01	<0,01	<0,01	0,09

Figur 1 viser udviklingen af Hct over tid på de tre forsøgsbehandlinger. Gennemsnitlig Hct ved fødsel var $30,4 \pm 0,7$ %. På KONTROL faldt Hct til $22,5 \pm 0,8$ % i uge 5, hvorefter den var stigende. På ERSTATNING steg Hct til et maksimum på ca. $34,7 \pm 1,5$ % i uge 2 og på JERN steg Hct til $38,4 \pm 1,3$ % i uge 5.



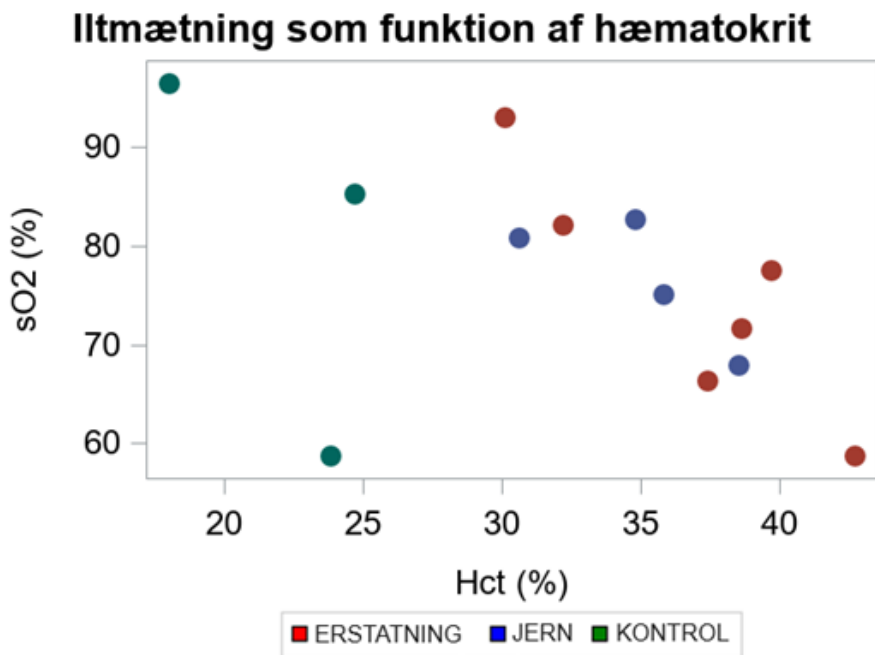
Figur 1: Udviklingen af Hæmatokritværdien over tid ved fodring med mælkeerstatning (150 mg Fe/dag), mælk + jern (110 mg Fe/dag) og udelukkende mælk (<4 mg Fe/dag). Gennemsnit og SEM af 8 kalve/forsøgsbehandling.

Figur 2 viser udviklingen i Hb over tid på de tre forsøgsbehandlinger. Gennemsnitlig Hb ved fødsel var $9,6 \pm 0,5$ g/dl. På KONTROL faldt Hb til $7,6 \pm 0,3$ g/dl i uge 5, hvorefter den var stigende. På ERSTATNING steg Hb til et maksimum på $12,9 \pm 0,5$ g/dl i uge 8 og på JERN steg Hb til $14,4 \pm 0,5$ g/dl i uge 8.



Figur 2: Udviklingen af Hæmoglobin (g/dl) over tid ved fodring med mælkeerstatning (150 mg Fe/dag), mælk + jern (110 mg Fe/dag) og udelukkende mælk (<4 mg Fe/dag). Gennemsnit og SEM af 8 kalve/forsøgsbehandling.

Figur 3 viser blodprøvernes iltmætning som funktion af Hct. Iltmætningen falder med stigende Hct.



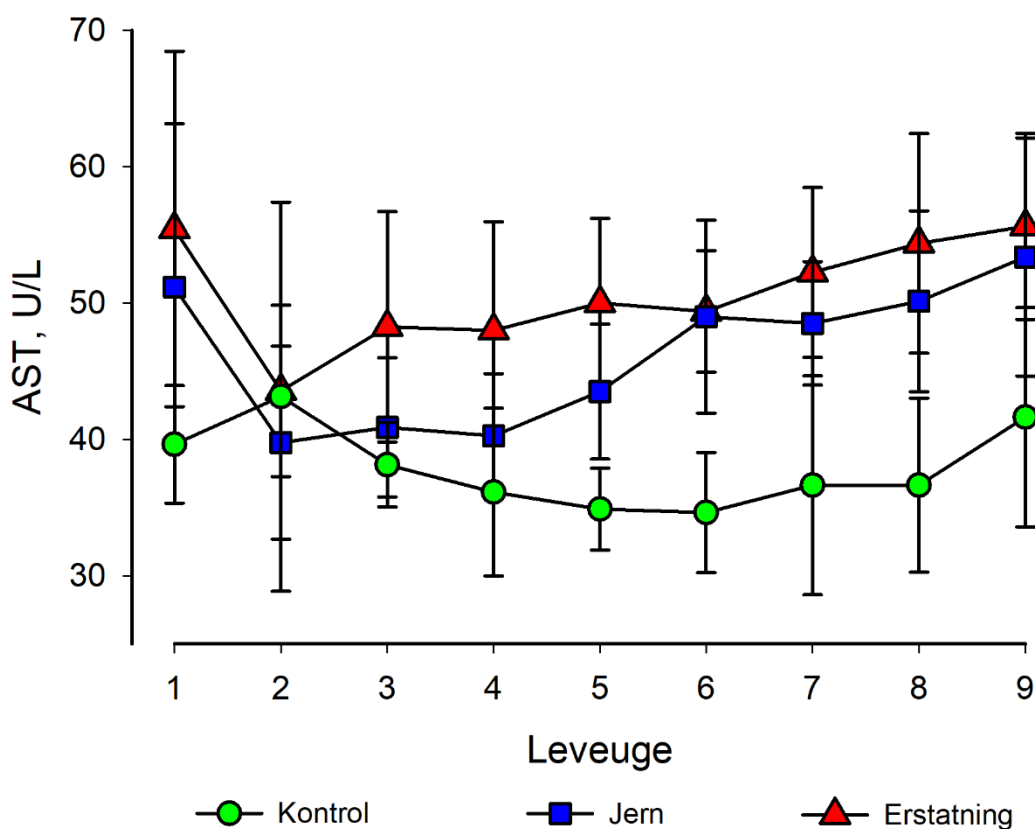
Figur 3: Iltmætning (analyseret på ABL90) som funktion af blodprøvernes hæmatokritværdi, baseret på venøst blod udtaget i v. jugularis.

Tabel 6 viser en beregning af AV-difference i iltkoncentrationen i blodet mellem den højeste og den laveste observerede hæmatokritværdi fra Figur 3. Det antages, at iltmætningen i det arterielle blod er 99 %. Den beregnede AV-difference for iltkoncentration er en faktor 40 højere ved hæmatokrit på 45 % end ved hæmatokrit på 18 %. Hvis dette udelukkende skyldes forskelle i blodgennemstrømning, må blodgennemstrømningen også være en faktor 40 forskellig.

Tabel 6: Beregning af teoretisk AV-difference i iltkoncentration ved observationerne med højest og lavest hæmatokritværdi fra Figur 3 ved antaget 0,33 g Hb/dL/%Hct, 99% iltmætning i det arterielle blod og 1,39 ml O₂/g Hb.

Kalv	Hct, %	Hb, g/dl	Iltbindingskapacitet (ml O ₂ /dl)	SO ₂ , venøs (analyseret)	AV-difference SO ₂	AV-difference ml O ₂ /dl blod
Lav Hct	18%	6	8,34	96,50%	2,5%	0,2
Høj Hct	45%	15	20,85	58,70%	40,3%	8,4

Figur 4 viser udviklingen af AST over tid på de tre forsøgsbehandlinger. AST er svagt stigende på ERSTATNING og JERN, mens den er konstant i mælkefodringsperioden på KONTROL. Dette indikerer et svagt respons af AST på jerntildelingen.



Figur 4: Udviklingen af AST over tid ved fodring med mælkeerstatning (150 mg Fe/dag), mælk + jern (110 mg Fe/dag) og udelukkende mælk (<4 mg Fe/dag). Gennemsnit og SEM af 8 kalve/forsøgsbehandling.

Der var ingen effekt af forsøgsbehandling på lever- og miltvægten hos de aflivede tyrekalve. Kobberkoncentrationen i leveren var signifikant højere hos kalve på MÆLKEERSTANING end på de andre to forsøgsbehandlinger. Jernkoncentrationen i leveren var signifikant højere hos kalve på JERN. Mangankoncentrationen i leveren var signifikant forskellig på alle tre forsøgsbehandlinger og negativt korreleret til jernkoncentrationen. Selenkoncentrationen i leveren var signifikant højere på MÆLKEERSTATNING end på de andre to forsøgsbehandlinger.

Tabel 7: Levervægt, miltvægt, og koncentrationer af mikromineraler og vitamin B12 i leveren hos aflivede tyrekalve efter 8 ugers fodring med Mælk, Mælk tilsat jern og mælkeerstatning. Gennemsnit af 4 kalve i hver forsøgsbehandling

	KONTROL	JERN	MÆLKEERSTATNING	SEM	P(Forsøgsbehandling)
ADG					
Levervægt (g)	1946	1977	2001	95	0,92
Miltvægt (g)	349	369	300	30	0,3
Cu, lever (mg/kg TS)	172 ^a	163 ^a	636 ^b	46	<0,01
Zn, lever (mg/kg TS)	229	229	159	59	0,63
Fe, lever (mg/kg TS)	73 ^a	108 ^b	84 ^a	6,6	0,01
Mn, lever (mg/kg TS)	9,76 ^a	7,62 ^b	8,64 ^{ab}	0,38	0,01
Se, lever (mg/kg TS)	1,07 ^a	1,09 ^a	1,76 ^b	0,09	<0,01
B12, lever (mg/kg TS)	104	116	116	11	0,7

Der var store visuelle forskelle på kalvenes kød og organer, afhængig af om de havde modtaget jernsupplement (MÆLKEERSTATNING og JERN) eller ej (KONTROL). Kød og organer var meget røde, hvis de havde modtaget jernsupplement og bleg på KONTROL (Figur 5).



Figur 5: Løbe af en kalv med jernsupplement (venstre) og uden jernsupplement (højre).

Diskussion

Jern

Nærværende resultater viser, at Hct og Hb hos mælkefodrede kalve er meget sensitiv overfor kalvenes jerntildeling. De store forskelle i Hct og Hb mellem forsøgsbehandlinger blev ikke afspejlet i kalvenes foderoptagelse, tilvækst, sygdomsforekomst eller organvægt. Dette gør det vanskeligt at etablere eller vurdere referenceværdier for optimal Hct eller Hb niveauer hos mælkefodrede kalve. En gruppe raske kalve med god tilvækst der fodres med mælk uden jerntilskud, vil have en lavere Hct og Hb, end en gruppe raske kalve der får jerntilskud.

Kalve fødes med en Hct omkring 30 % og Hb omkring 10 g/dl. Ældre Holstein dyr har en Hct omkring 30 % og normal Hb på ca. 10 g/dl (Kim et al., 2020). Det tyder på, at den optimale Hct for mælkefodrede kalve også er omkring 30 % og normal Hb omkring 10 g/dl. Ud fra disse værdier medfører en mælkefodring på 8 L mælk om dagen uden tilsætning af jern en temporær jernmangelanæmi. Fodring med mælkeerstatning eller supplementering af 110 mg Fe i mælken fører derimod til en overforsyning med jern, med forhøjede Hct, Hb og AST-værdier i blodet og ophobning af jern i leveren. Det tyder på, at spædkalves homeostatiske respons på stigende mængder jern i mælken er deponering af jern i væv og hæmoglobin, selv hvis den optimale koncentration allerede er overskredet. En for høj Hct er u hensigtsmæssig, da blodets viskositet stiger med stigende Hct.

Med stigende hæmatokritværdi stiger også blodets iltbindingskapacitet. Antager man, at arterielt blod er 99% mættet og iltforbruget i det perifere væv samt blodgennemstrømningshastigheden er uafhængig af Hct, forventes iltmætningen i det venøse (afiltede) blod at være højere ved en højere Hct. I nærværende forsøg blev det modsatte observeret. Iltmætningen i det venøse blod faldt med stigende Hct. Forklaringen kan være, at blodgennemstrømningen i de små arterier falder eksponentielt med stigende Hct, hvilket øger blodtrykket og risikoen for blodpropper (Stack and Berger, 2009). Som den teoretiske beregning i Tabel 6 viser, skal blodgennemstrømningen være 40 gange langsommere ved den højeste hæmatokritværdi end ved den laveste hæmatokritværdi, for at kunne forklare forskellen i iltmætningen. Dette understøtter hypotesen om, at en for høj jerntildeling i mælkefodringsperioden kan udgøre en sundhedsrisiko.

Der er tilsyneladende forskelle i udnyttelsen af det tildelte jern. En lavere jerntildeling på JERN førte til en højere Hct end på ERSTATNING. Jernkilden er i begge tilfælde deklareret som jern(II)sulfat, monohydrat. OptiJern indeholder også mælkesyre og citronsyre. Det er muligt, at jern i OptiJern reelt er i form af jernlaktat og jerncitrat og derfor har højere tilgængelighed.

Undersøgelsens resultater indikerer, at det er vigtigt at tildele jern i den rigtige dosis. En overforsyning kan potentielt gøre mere skade end en temporær jernmangelanæmi ved ren mælkefodring uden jernsupplement. Den passende dosering af jern for at opnå en optimal hæmatokritværdi hos mælkefodrede kalve forventes at være højere end den naturligt forekommende koncentration i sødmælk og lavere end traditionel tildeling med mælkeerstatninger.

Kobber

Kalvene på JERN og KONTROL havde efter forsøgsafslutning kobberkoncentrationer i leveren på omkring 170 mg/kg TS, hvilket bekræfter hypotesen om at kalve normalt fødes med kobberdepoter, der dækker behovet i en normal mælkefodringsperiode. 8 ugers fodring med mælkeerstatning med kobberkoncentrationer på 11,5 mg/kg TS medførte kobberkoncentrationer i leveren på gennemsnitlig 636 mg/kg TS, altså koncentrationer, der øger risikoen for kobberforgiftning. Hos 7 måneder gamle kvier har

kobberkoncentrationer på tilsvarende niveau ført til kobberforgiftning, da de optrådte samtidig med forhøjede leverenzymmer (McCaughern, 2019). Kobberkoncentrationen i den anvendte mælkeerstatning svarer til en almindelig tildeling ved brug af mælkeerstatning, og indikerer en systematisk fejl i formuleringen af mælkeerstatningers kobberindhold. Resultater fra nærværende forsøg indikerer, at der ikke bør tilsættes kobber til mælkeerstatning, hvis den tilsigtede mælkefodringsperiode er på 8 uger.

Konklusion

Kalves hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration er meget følsom overfor jern tilsat mælk eller mælkeerstatning. Mælkefodring uden tilsætning af jern fører til en temporær jernmangelanæmi ved en tildeling på 8 L mælk/dag. Tilsætning af 110 mg Fe/dag i form af OptiJern eller 150 mg Fe/dag i mælkeerstatning fører til en forhøjet hæmatokritværdi og hæmoglobinkoncentration.

En kobbertildeling på 11,5 mg Cu/dag i mælkeerstatningen fører til en ophobning af kobber i leveren. Det har i nærværende forsøg ikke haft en effekt på leverenzymmer, hvilket indikerer, at kalvene ikke blev akut kobberforgiftet. Kobberkoncentrationerne i leveren på 636 mg/kg TS efter 8 ugers fodring med mælkeerstatning er dog uønsket og kan være grundlag for en fremtidig kobberforgiftning. Mælkeerstatning bør ikke indeholde kobber, da kalve bliver født med kobberdepoter, der dækker kobberbehovet i hele mælkefodringsperioden.

Referencer

- Counotte, G., M. Holzhauser, S. Carp-van Dijken, J. Muskens, and D. Van der Merwe. 2019. Levels of trace elements and potential toxic elements in bovine livers: A trend analysis from 2007 to 2018. *PLoS One* 14. doi:10.1371/journal.pone.0214584.
- Jenkins, K.J., and M. Hidiroglou. 1989. Tolerance of the Calf for Excess Copper in Milk Replacer. *J Dairy Sci* 72:150–156. doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79090-1.
- Kim, S.B., S.H. Jung, Y.J. Do, Y.H. Jung, C. Choe, S. Ha, H.Y. Jeong, A. Cho, S.I. Oh, E. Kim, J.G. Yoo, and S. Kim. 2020. Haemato-chemical and immune variations in Holstein cows at different stages of lactation, parity, and age. *Vet Med (Praha)* 65:95–103. doi:10.17221/110/2019-VETMED.
- Knoop, C., W.E. Krauss, and R.G. Washburn. 1935. The Development of Nutritional Anemia in Dairy Calves. *J Dairy Sci* 18:337–347.
- Krüger, T., and N.B. Kristensen. 2021. Effekt af mineralforsyningen på malkekøers mineralstatus og produktion. *Fodringsdagen*, Herning.
- Matrone, G., C. Conley, G.H. Wise, and R.K. Waugh. 1957. A Study of Iron and Copper Requirements of Dairy Calves. *J Dairy Sci* 40:1437–1447. doi:10.3168/jds.S0022-0302(57)94654-4.
- McCaughern, J. 2019. Optimising the health and performance of dairy cows through improved copper nutrition.
- NASEM. 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition. The National Academies Press, Washington, DC.
- Stack, S.W., and S.A. Berger. 2009. The effects of high hematocrit on arterial flow-A phenomenological study of the health risk implications. *Chem Eng Sci* 64:4701–4706. doi:10.1016/j.ces.2009.07.017.
- Suttle, N.F. 2010. Mineral Nutrition of Livestock: Fourth Edition.