



ارزیابی مقادیر منیزیم و کراتینین ادرار گاوهای هولشتاین و دورگ شیری ارومیه

• علیقلی رامین، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
• سیامک عصری رضایی و • رضا هاشمی، دانش آموخته دکتری دامپزشکی

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۳

E-mail: aligholiramin@yahoo.com

چکیده

عیار منیزیم و کراتینین در ۹۳ نمونه ادرار گاوهای هولشتاین و دو رگ شیری از دی ماه سال ۱۳۸۰ لغایت تیر ماه ۱۳۸۱ در ارومیه در جهت تشخیص احتمالی هیپومنیزیمی تحت بالینی مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌ها به طریق تحریک پرنه، ملامسه راست روده و سوند ادراری در لوله‌های ۱۰ میلی لیتری تهیه گردیدند. غلظت منیزیم و کراتینین ادرار با استفاده از کیت‌های منیزیم (زیست شیمی) و کراتینین (پارس آزمون) به روش کالریمتری (رنگ سنجی) اندازه گیری شدند. منیزیم و کراتینین در تمامی نمونه‌های ادرار مشاهده و دامنه آنها به ترتیب بین ۰/۰۵ تا ۷/۷۱ میلی مول در لیتر و ۱۵/۶ تا ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر متغیر بوده است. منیزیم ادرار گاوها به سه گروه $< 1/5$ میلی مول در لیتر به عنوان گاوهای غنی از منیزیم سرم، $1/49 - 0/42$ میلی مول در لیتر به عنوان گاوهای حساس به کمبود منیزیم و $> 0/41$ میلی مول در لیتر به عنوان گاوهای مشکوک به هیپومنیزیمی طبقه بندی شده فراوانی و درصد نمونه‌ها به ترتیب ۷۸ راس و $83/87\%$ ، ۱۰ راس و $9/67\%$ ، ۵ راس و $6/45\%$ مشاهده گردید. میانگین و خطای معیار کراتینین ادرار در سه گروه فوق به ترتیب $3/4 \pm 22/7$ ، $2/7 \pm 20/6$ و $4/2 \pm 21/1$ میلی گرم در دسی لیتر ادرار بوده و اختلاف بین آنها معنی دار نمی‌باشد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که در گاو سالم دفع ادراری منیزیم طبیعی بوده و میزان آن بستگی به منیزیم خون دارد. پایین بودن منیزیم ادرار می‌تواند اختطاری در احتمال هیپومنیزیمی از نوع تحت بالینی منظور گردد که در آن صورت ارزیابی منیزیم ادرار به عنوان یک روش تشخیصی بالینی در هیپومنیزیمی تحت بالینی اهمیت کاربردی داشته باشد.

کلمات کلیدی: گاو، ادرار، منیزیم، کراتینین، هیپومنیزیمی تحت بالینی

Pajouhesh & Sazandegi No: 67 pp: 75-78

Evaluation of urine magnesium and creatinine concentrations in Holstein and hybrid dairy cows in Urmia

By: Ramin AG, Large Animal, Vet. Sci., Urmia Univ, Asri S, and Hashemi R, Vet School Graduated.

Urine magnesium (Mg) and creatinine concentrations in 93 dairy Holstein and hybrid cows in Urmia was investigated to determine the concentrations of Mg and creatinine in urine and possible diagnosis of subclinical hypomagnesaemia. Creatinine assesment was considered as the normal activity of kidneys. Urine samples were collected by using spontaneous urination, rectal examination and urine catheterization into 10 ml tubes. Urine Mg and creatinine concentrations were calculated using Mg and creatinine commercial kites in spectrophotometer. Mg and creatinine

were observed in all samples. The range for Mg and creatinine were 0.05-7.71 mmol/l and 15.6-30 mg/dl. Urine Mg classified into >1.5 mmol/l as the cows with high serum Mg concentration, 0.42-1.49 mmol/l for the cows with susceptible to low serum Mg concentration and <0.41 mmol/l as the cows with hypomagnesemia. The distribution and percent of experienced cows were 78 and %83.87, 10 and %9.67, 5 and %6.45, respectively. Mean \pm SE of urine creatinine in three groups were 22.7 ± 3.4 , 20.6 ± 2.7 and 21.1 ± 4.2 , respectively. The values were in recommended range and differences were not significant. Thus, it can concluded that Mg can excreted into urine healthy cows and its concentration depends on the concentration of Mg in blood. Low urine Mg concentration probably considered as the cow at the risk of subclinical hypomagnesemia when kidneys to be at health.

Keywords: Cow, Urine, Magnesium, Creatinine, Subclinical hypomagnesemia

مواد و روش کار

تعداد ۹۳ نمونه ادرار از دی ماه ۱۳۸۰ تا تیر ماه ۱۳۸۱ از گاوهای هولشتاین و دوگ شیرین مستقر در گاوداری‌های صنعتی و نیمه صنعتی تهیه شدند. گاوها به‌ظاهر سالم، شیروار و بین ۳ تا ۷ ساله بودند. حدود ۱۰ میلی لیتر ادرار با استفاده از روش‌های تحریک پرنه، ملامسه راست روده و سوند ادراری در لوله آزمایش جمع‌آوری شدند. غلظت منیزیم ادرار با استفاده از کیت منیزیم (زیست شیمی) و روش رنگ سنجی (گرایلیدین بلو) اندازه‌گیری و محاسبه شد (۵۰۰ نانومتر). کراتینین ادرار با استفاده از کیت تجارتي (پارس آزمون) و به‌طریقه رنگ سنجی و به روش Jaffe اندازه‌گیری و محاسبه شد. غلظت ادراری منیزیم و کراتینین به ترتیب بر حسب میلی‌مول در لیتر و میلی گرم در دسی لیتر تعیین شدند. منیزیم ادرار گاوها براساس نظر Wittwer و همکاران (۱۴) به ۳ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ با منیزیم ادرار بیش از ۱/۵ میلی مول در لیتر به‌عنوان گاوهای با غلظت طبیعی منیزیم، گروه ۲ با منیزیم ادرار بین ۰/۴۲ تا ۱/۴۹ میلی مول در لیتر به عنوان گاوهای در معرض احتمالی کمبود منیزیم و گروه ۳ با منیزیم ادرار کمتر از ۰/۴۱ میلی مول در لیتر به‌عنوان گاوهای حساس به کمبود تحت بالینی منیزیم. فراوانی و درصد گاوها در گروه‌های سه گانه تعیین و غلظت کراتینین نیز در هر گروه جهت فعالیت عادی کلیه‌ها مشخص گردید. از نرم افزار SPSS و با استفاده از روش‌های آماری پارامتریک و غیرپارامتریک گروه‌ها باهم مقایسه گردیدند.

نتایج

دامنه غلظت منیزیم ادرار از ۰/۰۵ تا ۷/۷۱ میلی‌مول در لیتر متغیر بوده است. میانگین و انحراف معیار عیار منیزیم ادرار در مجموع نمونه‌ها $1/85 \pm 3/54$ میلی مول در لیتر محاسبه گردید. بر اساس گروه‌بندی منیزیم ادرار در مواد و روش کار، فراوانی و درصد گروه با غلظت طبیعی منیزیم ادرار به ترتیب ۷۸ مورد و $83/87\%$ ، در گروه در معرض کمبود احتمالی منیزیم ۱۰ مورد و $9/67\%$ و در گروه حساس به کمبود تحت بالینی منیزیم ۵ مورد و $6/45\%$ جای گرفتند. دامنه تغییرات کراتینین ادرار در مجموع ۹۳ نمونه بین ۱۵/۶ تا ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر متغیر بوده است. میانگین و انحراف معیار غلظت کراتینین برای مجموع نمونه‌ها $22/4 \pm 3/4$ میلی گرم در دسی لیتر بوده است. میانگین غلظت کراتینین ادرار برای گروه با منیزیم ادرار $>1/5$ معادل $22/7$ ، گروه با منیزیم ادرار $1/49$

مقدمه

منیزیم چهارمین ماده معدنی عمده‌ای است که مقادیر آن در گاو از بدو تولد تا بلوغ به تغذیه، تولید شیر و هیپوکلسمی (۹) بستگی دارد. منیزیم خون گوساله‌ها در بدو تولد $1/03-0/88$ mmol/l بوده که به‌طور پیشرونده‌ای تا ۴ ماهگی ($0/72$ mmol/l) کاهش یافته (۱۰) به‌طوری که در ۵/۵ ماهگی با افزایش تدریجی در حد $0/82$ mmol/l تثبیت می‌یابد (۶). متعاقب تغذیه مداوم با علوفه و کنسانتره حاوی مکمل منیزیم تا میزان $1/4$ mmol/l افزایش می‌یابد (۹). باستثناء موارد درمانی و دسترس ناگهانی به ترکیبات منیزیم که هیپرمینیزمی عارض می‌گردد اصولاً هیپومینیزمی است که اثرات اقتصادی فراوانی در گوساله (غش گوساله) و گاو (تتانی علفی و شیرواری، مسمومیت مزارع گندم) ایجاد می‌نماید (۱۳).

منیزیم جذب نشده از غذا از طریق مدفوع و مازاد منیزیم خون از طریق ادرار دفع می‌گردد (۱۳). لذا منیزیم ادرار می‌تواند یکی از مناسب‌ترین روش ارزیابی منیزیم اخذ شده به‌وسیله گاو و دفع باشد. تغذیه گوساله‌ها از شیر جانشین شونده حاوی منیزیم سبب افزایش دفع منیزیم از ادرار می‌شود (۸). افزودن مداوم منیزیم در جیره گاو علاوه بر تثبیت آن در خون، مازاد آن از طریق ادرار می‌گردد (۱). همچنین گرسنگی و فقر منیزیم جیره نیز موجب کاهش دفع ادراری آن می‌شود (۱۴). بنابراین عکس‌العمل تغییرات منیزیم در جیره، خون و ادرار نه تنها می‌تواند از طریق آزمایش‌های ادراری تعیین گردد بلکه سایر تغییرات منیزیم ناشی از استرس غذایی، سرما (۱۲) و اختلالات کلیوی (۹) را نیز از ادرار تجسس نمود. نظر به اینکه تا کنون تشخیص منیزیم صرفاً متکی به آزمایشات خون، استخوان (۹) و مایع مغزی-نخاعی (۱۳) بوده و به منیزیم ادرار (Xylydin blue test) اهمیت کمتری داده شده است با رونق یافتن گاوداری‌های هولشتاین شیری و ترکیب خاص جیره غذایی که مستعد ابتلا به هیپومینیزمی هستند، انگیزه‌ای برای بررسی روش تشخیص منیزیم از طریق ادرار با اهداف زیر شده است. ۱- ارزیابی منیزیم ادرار گاوهای هولشتاین و دوگ شیرین، ۲- طبقه بندی گاوها بر اساس مقادیر منیزیم ادرار، ۳- تشخیص احتمالی هیپومینیزمی تحت بالینی و سرانجام ۴- ارزیابی کراتینین ادرار به‌عنوان الگوی فعالیت کلیه‌ها.

مول در لیتر داشته که براساس نظر محققان (۱۵) احتمالاً به عنوان گاوهای حساس به کمبود منیزیم باشند. محققین حداکثر منیزیم ادرار را تا ۸ میلی مول در لیتر ذکر کرده اند (۱۳،۲). زمانی که دفع ادراری منیزیم به کمتر از ۱ گرم در روز رسید بیانگر کاهش منیزیم سرم خون به کمتر از مقادیر طبیعی می باشد (۲). از طرفی Wittwer و همکاران (۱۴) در یک تجربه برای گروهی از گاوها که ۱/۹٪ قبلاً به هیپومنیزیمی مبتلا بودند روزانه ۵۰ گرم اکسید منیزیم به مدت ۴۴ خورنده و هیپومنیزیمی را به ۰/۳٪ تقلیل داد در صورتیکه دفع ادراری منیزیم نیز از ۱/۵ میلی مول در لیتر فراتر رفت. بنابراین حداقل نیاز گاو به منیزیم که بتواند بدون عوارض جانبی و با حفظ هموستاز منیزیم حداقل ۱/۵ میلی مول در لیتر منیزیم را از ادرار دفع نماید مطلوب خواهد بود. بر این اساس و همچنین گزارشات Truth (۱۳) و Haplin و Caple (۲) انگیزه‌ای بر طبقه‌بندی منیزیم ادرار به گروه‌های عادی و حساس گردید. پائین آمدن منیزیم ادرار از ۱/۴۹ تا ۰/۴۱ میلی مول در لیتر بیانگر هیپومنیزیمی نبوده ولی می‌تواند نشانگر کاهش اخذ منیزیم غذا و حساس بودن دام تلقی گردد. محققین مقادیر

۰/۴۲-۱ معادل ۲۰/۶ و برای گروه با منیزیم ادرار $>0/41$ میلی مول در لیتر ۲۰/۹۵ میلی گرم در دسی لیتر ارزیابی گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین عیار کراتینین ادرار در سه گروه مذکور اختلاف معنی داری را نشان نداد مگر بین گروه‌های بالای ۱/۵ و ۰/۴۲-۱/۴۹ میلی مول در لیتر منیزیم ادرار که اختلاف بین آنها معنی دار بوده است ($t=1/55$, $df=85$, $p<0/05$).

بحث

منیزیم در بین الکترولیت‌ها نقش خاصی را در فعالیت‌های فیزیولوژیکی، ساختمانی و آنزیمی ایفاء می نماید (۱۳). تنانی ناشی از هیپومنیزیمی در گاو به علت کاهش منیزیم جیره، عوامل متابولیکی و رقابتی و افزایش دفع ادراری و شیرواری شناخته می شود (۹،۷). اصولاً جذب و متابولیسم منیزیم تابع هورمون‌ها نبوده ذخیره گاه خاصی نیز وجود ندارد. بنابراین تغییرات منیزیم خون سبب تغییرات دفع کلیوی آن شده که می‌تواند یک روش تشخیصی کمبود تحت بالینی منیزیم محسوب شود منوط بر فعالیت عادی کلیه‌ها که بوسیله تعیین کراتینین ادرار میسر خواهد بود. مقایسه

جدول ۱: دامنه، میانگین، انحراف و خطای معیار کراتینین ادرار در مجموع نمونه‌ها و گروه‌های با منیزیم ادرار $<1/5$ ، بین ۰/۴۲-۱/۴۹ و $>0/41$ میلی مول در لیتر.

طبقه بندی غلظت منیزیم ادرار	نمونه‌ها	دامنه کراتینین (mg/dl)	میانگین (mg/dl)	انحراف معیار (mg/dl)	خطای معیار (mg/dl)
مجموع نمونه‌ها	۹۲	۱۵/۶-۳۰	۲۲/۳۸	۳/۴۳	۰/۳۶
$(\text{mmol/l}) >1/5$	۷۸	۱۵/۶-۳۰	۲۲/۶۹	۳/۴۲	۰/۳۷
$(\text{mmol/l}) 0/49-1/49$	۱۰	۱۷/۱-۲۶/۵	۲۰/۵۹	۲/۷۲	۰/۸۶
$(\text{mmol/l}) <0/49$	۵	۱۵/۶-۲۵/۹	۲۱/۰۸	۴/۱۶	۱/۸۶

فوق را در حد مشکوک به هیپومنیزیمی تحت بالینی در نظر می‌گیرند که ارزیابی منیزیم خون، CSF و تعیین کلیترانس کلیوی منیزیم می‌تواند تأیید تشخیص اختلال فوق باشد.

در این مطالعه ۵ راس از گاوها احتمالاً مبتلا به هیپومنیزیمی تحت بالینی بوده که دفع ادراری منیزیم نزدیک به صفر رسیده است. محققین منیزیم ادرار کمتر از ۰/۴۱ میلی مول در لیتر را به‌عنوان هیپومنیزیمی احتمالی در دام منظور می‌نمایند (۱۳،۲). در هر صورت دفع ادراری منیزیم منتج از تصفیه سرمی منیزیم و میزان اخذ منیزیم جیره (۹)، گرسنگی (۱۴)، استرس غذایی و سرما (۱۲) و افزایش سدیم و پتاسیم (۱۱،۳) می‌باشد. محققین علت این مکانیسم را احتمالاً به‌علت تأخیر در جذب منیزیم به‌واسطه افزایش در پتاسیم، نیتروژن، آمونیاک، چربی‌ها، اسیدهای آلی در شکمبه ذکر نموده‌اند (۱۳،۹). مضاف بر اینکه سن، نژاد و دوره شیرواری و نوع ترکیب منیزیم را نیز موثر دانست (۱۳). Petersson و همکاران (۸) گزارش می‌نمایند که گوساله‌های تغذیه شده از شیر جانشین

بالاترین و پائین‌ترین غلظت ادراری منیزیم (۷/۷۱ و ۰/۰۵ میلی مول در لیتر) نشانگر طیف وسیع دفع ادراری آن (۱۵۴ برابر) می باشد. افزایش و جذب منیزیم جیره و هیپومنیزیمی اختلالی را سبب نشده زیرا مازاد آن از ادرار دفع می‌گردد. Hartman و همکاران (۵) منیزیم جیره گاو را ۲ برابر کرده و افزایش دفع ادراری منیزیم را نشان دادند، در صورتی که با مصرف نصف دز توصیه شده کاهش منیزیم ادرار را شاهد بودند. نتایج مشابه به‌وسیله Wittwer و همکاران (۱۵) گزارش شده است. در این مطالعه در ۷۸ مورد منیزیم در جیره و خون به‌قدر کافی بوده که مازاد آن از طریق ادرار دفع شده است. چنانچه در یک بررسی منیزیم خون در قبل از تغذیه، ۲/۲۱ میلی گرم در دسی لیتر بوده ولی پس از تغذیه با مواد علوفه‌ای و مکمل منیزیم در گاوهای تحت درمان در حد ۲/۲ میلی گرم در دسی لیتر ثابت مانده ولی در گاوهای کنترل نشده به ۰/۶۲ میلی گرم در دسی لیتر یعنی هیپومنیزیمی کاهش یافت (۱۳).

در این بررسی ۱۰ نمونه از ادارها منیزیم بین ۰/۴۲-۱/۴۹ میلی

3-Dewes HF, 1995; The inter – relationships between magnesium, sodium and potassium in dairy cattle in the Waikato and Taranaki, New – Zealand Veterinary Journal, 43: 32-36.

4-Fleming SA, Hunt EI, Brownie RA, McDaniel B, 1992; Fractional excretion of electrolytes in lactating dairy cows. American Journal of Veterinary Research, 53: 222-224.

5-Hartmann H, Bandt C, Glatzel PS, 2001; Influence of changing mineral supply on kidney functions including renal fractional excretion (FE) of calcium, magnesium and phosphate in cows. Berliner and Munchener Tierarztlische wochenschrift 114: 7-8.

6-Heinrichs AJ, Swartz LA, Drake TR and Travis PA, 1990; Influence of decoquinate fed to neonatal dairy calves on early and conventional weaning systems. Journal Dairy Science, 73: 1851-1856.

7-Martens H, Schweight M, 2000; Pathophysiology of grass tetany and other hypomagnesemia: Implications for clinical management. Vet Clin North Am Food Animal Pract. 16: 339-68.

8-Petersson KH, Warner RG, Kallfetz FA, Crosetti CF, 1988; Influence of magnesium, water and sodium chloride on urolithiasis in veal calves. Journal Dairy Science, 71: 3369-3377.

9-Radostits OM, Blood DC, Henderson JA, 2000; Veterinary Medicine. 8th Edition. Bailliere & Tindall, London, pp: 1450-1452.

10-Ramin AG, 1995; Physiological response test and blood profiles in dairy calves and their relationship to growth rates and health parameters. Thesis, University of Queensland, Australia. pp: 15-25.

11-Schonewille UT, Klooster ATV, Wouterse H, Beyneri AC, Klooster, VT, 2000; Time courses of plasma magnesium concentration and urinary magnesium excretion in cows subjected to acute changes in potassium intake. Veterinary Quarterly, 22: 136-140.

12-Stec A, 1997; Effect of low environmental temperature and starvation on the development of hypermagnesaemia in cows. Veterinaria Medicina, 52: 197-217.

13-Troutt HF, 1991; Selected metabolic diseases of cattle new and old. In: Dairy medicine & Production, 1991. Post-graduate in Vet. Sci., University of Sydney. Proceeding 171, PP: 617-623.

14-Wittwer F, Contreras PA, Klein R, Bohmwald TM, 1995; The effect of oral magnesium supplementation administered as MgO and $MgSO_4$ in cows with fasting induced hypomagnesaemia. Archivos Medicina Veterinaria. 27: 19-27.

15-Wittwer F, Contreras PA, Bohmwald TM, 1997; Effects of magnesium supplementation as magnesium oxide in food or magnesium sulphate in water on the prevention of hypomagnesaemic tetany and blood and urine magnesium concentrations in hypomagnesaemic Herford herds. Archivos Medicina Veterinaria, 29: 25-33.

شونده توام با مکمل منیزیم موجب افزایش دفع ادراری منیزیم می شود. برعکس Fleming و همکاران (۴) سن و مرحله شیرآوری را در دفع منیزیم ادرار مؤثر نمی دانند.

از جمله عوامل دیگری که در دفع منیزیم از ادرار می تواند موثر باشد سلامتی و فعالیت فیزیولوژیکی کلیه باشد. در این بررسی در ۵ مورد منیزیم ادرار فوق العاده کم بوده که می توانست تصور مشکل مربوط به تصفیه گلوپروولی باشد که اندازه گیری کراتینین ادرار سالم بودن فعالیت کلیه ها را همانند گزارشات دیگر محققان (۹) تأیید نمود. دفع روزانه کراتینین در گاو حداکثر ۲۰ میلی گرم در لیتر ادرار می باشد یعنی حتی کراتینین گاوهای گروه با منیزیم کمتر از ۰/۴۱ میلی مول در لیتر ادرار نیز در حد طبیعی بوده و بیانگر سالم بودن فعالیت کلیه ها می باشد. اگر چه اختلاف جزئی و معنی داری بین میانگین کراتینین گروه ۱ و ۲ نشان داده شد ولی این اختلاف صرفاً آماری بوده و بیولوژیک نمی باشد. بنابراین می توان گفت که منیزیم سرم ۵ راس گاو احتمالاً در حد پائین یا هیپومنیزیمی تحت بالینی بوده است.

Hartman و همکاران (۵) معتقدند که مصرف منیزیم در گاو می تواند وسیله ای در تشخیص آشفته گی های این عنصر از طریق دفع کلیوی باشد. اولویت تشخیص آزمایشگاهی منیزیم در گاو متکی به ارسال CSF، سرم، استخوان، ادرار و شیر می باشد (۹). برای تشخیص گله ای ابتدا خون و سپس ادرار توصیه می گردد (۱۳). زیرا تهیه CSF بسیار مشکل بوده، برای خونگیری نیز وسایل خونگیری و مقید کردن نیاز می باشد در صورتی که تهیه ادرار حتی به طور تصادفی شاید آسانتر از روش های شناخته شده باشد. در هر صورت از آنجائی که رابطه بین غلظت منیزیم ادرار و بروز تتانی هیپومنیزیمی شناخته شده است معتقدند که کاهش دفع ادراری منیزیم به کمتر از ۱ گرم در روز مصادف با پائین بودن غلظت منیزیم خون می باشد (۲). محققین همچنین رابطه مثبتی را بین منیزیم خون و ادرار گزارش نموده و نتیجه می گیرند که اندازه گیری غلظت منیزیم خون گاو در ارزیابی شدت هیپومنیزیمی مفید بوده اما ظرفیت دفع ادراری منیزیم در مجموع یک راهنمایی بهتری نسبت به وضعیت منیزیم سرم می دهد. به همین منظور کیت های آزمایشگاهی تجارتي فراوانی برای تعیین غلظت منیزیم ادرار گاو تهیه شده اند. در خاتمه ارزیابی غلظت منیزیم ادرار گاوهای هلشستاین و دورگ شیری نشان داد که منیزیم در ترکیب ادرار حضور داشته و مقدار آن می تواند با میزان منیزیم خون و جیره غذایی مرتبط باشد. اندازه گیری میزان منیزیم ادرار می تواند روش تشخیصی در گاوهای مشکوک به هیپومنیزیمی تحت بالینی باشد منوط بر اینکه کراتینین ادرار طبیعی بوده باشد.

منابع مورد استفاده

1-Bires J, Barvtko P, Michna A, Weissova T, Biresova M, Jenick F, 1994; Clinico – biochemical aspects of supplementing heifers with magnesium containing flue dust. Veterinaria Medicina, 39: 355-376.

2-Caple I and Haplin C, 1985; Biochemical Assessment of Nutritional Status. In: Dairy cattle production, proceedings No: 78, The Post-graduate Committee in Vet. Sci., Univ. of Sydney, PP: 309-315.