

## Correlation between ruminal pH and body condition score in cows with subacute ruminal acidosis

### Correlación entre el pH ruminal y el índice de condición corporal en vacas con acidosis ruminal subaguda

Deniz Aliç Ural<sup>1\*</sup> Ph.D, Kerem Ural<sup>2</sup> Ph.D, Onur Örtlek<sup>2</sup> M.Sc.

<sup>1,2</sup>University of Adnan Menderes, Faculty of Veterinary, <sup>1</sup>Faculty Farm, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Aydin, Turkey \*Correspondence: [alicdeniz@gmail.com](mailto:alicdeniz@gmail.com)

Received: January 2017; Accepted: May 2017.

#### ABSTRACT

**Objective.** The purposes of this field study were to a) confirm the presence of subacute ruminal acidosis (SARA) in Turkish dairy herds in Aydin region, b) record its regional distribution and c) to determine whether there is a relationship between body condition scoring, ruminal contractions and ruminal pH.

**Materials and methods.** Ruminal fluid samples, via rumenocentesis, were withdrawn from a total of 120 Holstein dairy cows, from 5 herds ( $n=24$  cows per herd). Rumen pH was analyzed on-site with a portable pH-meter for a precise SARA diagnosis. Classical body condition scoring systems (USBCS method) were utilized within 1-5 scale with 0.25 intervals. **Results.** Out of 120 cows enrolled 13 were (10.83%) classified as affected with SARA ( $pH < 5.5$ ), 6.6% were marginal ( $pH 5.6-5.8$ ) and 82.5% were normal ( $pH > 5.8$ ). There was a significant difference ( $p < 0.01$ ) among farm V and other farms regarding mean ruminal pH. The overall means of BCS were found as  $3.45 \pm 0.037$ ,  $3.43 \pm 0.122$  and  $4.30 \pm 0.075$  in healthy animals, SARA suspected cows and cows with SARA, respectively with increased BCS in cows with SARA ( $p < 0.01$ ). Inter group comparison of ruminal contractions showed statistical significance ( $p < 0.01$ ). There were correlations among ruminal pH and ruminal contraction ( $r = 0.622$ ,  $p < 0.01$ ), ruminal pH and health status ( $r = -0.770$ ,  $p < 0.01$ ), rumen contraction and health status ( $r = 0.546$ ,  $p < 0.01$ ). **Conclusions.** In the present study BCS and ruminal contractions data were used as indicators, in which correlations were found among ruminal pH and ruminal contraction and ruminal pH and BCS, favoring the usage of those parameters as probable biomarkers in cows with SARA.

**Keywords:** Body condition score, dairy cattle, subacute rumen acidosis (*Source: CAB*).

#### RESUMEN

**Objetivo.** Los objetivos de este estudio de campo fueron a) confirmar la presencia de acidosis ruminal subaguda (SARA) en los rebaños de vacas lecheras turcas en la región de Aydin, b) registrar su distribución regional y c) determinar si existe una relación entre las puntuaciones del estado corporal, ruminal Contracciones y pH ruminal. Materiales y métodos. Se extrajeron muestras de líquido ruminal, a través de rumenocentesis, de un total de 120 vacas lecheras Holstein, de 5 hatos ( $n = 24$  vacas por rebaño). El pH del rumen se analizó en el sitio con un pH-metro portátil para un diagnóstico preciso de SARA. Los sistemas clásicos de clasificación de estado corporal (método USBCS) se utilizaron en escala 1-5 con intervalos de 0,25. **Resultados.** De las 120 vacas inscritas, 13 fueron (10.83%) clasificadas como SARA ( $pH = 5.5$ ), 6.6% marginales ( $pH 5.6-5.8$ ) y 82,5% normales ( $pH > 5.8$ ). Hubo una diferencia

significativa ( $p<0.01$ ) entre la finca V y otras fincas con respecto al pH ruminal medio. El promedio global de BCS fue de  $3.45\pm0.037$ ,  $3.43\pm0.122$  y  $4.30\pm0.075$  en animales sanos, SARA sospechosos de vacas y vacas con SARA, respectivamente con aumento de BCS en vacas con SARA ( $p<0.01$ ). La comparación intergrupal de contracciones ruminales mostró significación estadística ( $p<0.01$ ). Hubo correlaciones entre el pH ruminal y la contracción ruminal ( $r=0.622$ ,  $p<0.01$ ), pH ruminal y estado de salud ( $r=-0.770$ ,  $p<0.01$ ), contracción ruminal y estado de salud ( $r=0.546$ ,  $p<0.01$ ). **Conclusiones.** En el presente estudio se utilizaron indicadores BCS y contracciones ruminales como indicadores, en los que se encontraron correlaciones entre pH ruminal y contracción ruminal y pH ruminal y BCS, favoreciendo el uso de esos parámetros como biomarcadores probables en vacas con SARA.

**Palabras clave:** Condición de la condición corporal, ganado lechero, acidosis ruminal subaguda  
(Fuente: CAB)

## INTRODUCTION

Subacute ruminal acidosis (SARA), a well known digestive disorder, has been characterized by repeated bouts of low ruminal pH (1-3). SARA generally results from diets low in digestible fiber or rich in simply fermentable carbohydrates (4,5). Cows with SARA exhibited decreased rumen motility, loss of body condition score (BCS), diarrhea, depression, reduced milk production and laminitis (6,7). Ruminal pH values detected between 5.5 and 6.0 were denoted for cows experiencing SARA or being at risk for SARA (7,8).

The prevalence and the clinical consequences of (SARA) in dairy cows are still poorly understood. Given previous literature connecting SARA to health problems i.e. metabolic diseases of dairy cattle (9), the evidenced proof is relatively weak. SARA has previously been linked to cause systemic inflammation (7) and to participate in BCS loss of affected cows prone to be in poorer condition post calving (10,11). On the other hand regarding SARA detection of pathophysiological route remains difficult because of a) database from field conditions remains insufficient, b) less is known about real consequences, incidence and regional distribution of SARA on the field (11). Furthermore experimental modelling for conceiving SARA in trial animals differ considerably from conditions detected in natural dairy herds. Therefore warranted research regarding the field, is necessary to better understand SARA(11). In the present study the purposes were to a) confirm the presence of SARA in Turkish dairy herds in Aydin region, b) record its regional distribution and c) determine whether there is a relationship between among condition scoring, ruminal contractions and ruminal pH.

## MATERIALS AND METHODS

**Farm data.** The data from 5 dairy farms in Aydin municipality Egean Region of Turkey, were collected. In an attempt to organize for the dairy herd health management program, one MS Agriculture Engineer [D.A.U. who is the

## INTRODUCCIÓN

La acidosis ruminal subaguda (SARA), un trastorno digestivo bien conocido, se ha caracterizado por episodios repetidos de pH ruminal bajo (1-3). La SARA generalmente resulta de dietas bajas en fibra digestible o ricas en carbohidratos simplemente fermentables (4,5). Las vacas con SARA mostraron disminución de la motilidad ruminal, pérdida del índice de condición corporal (BCS), diarrea, depresión, reducción de la producción de leche y laminitis (6,7). Los valores de pH ruminal detectados entre 5,5 y 6,0 fueron indicados para vacas que experimentaron SARA o que estaban en riesgo de SARA (7,8).

La prevalencia y las consecuencias clínicas de (SARA) en las vacas lecheras son aún poco conocidas. Dada la literatura anterior que conecta SARA a problemas de salud, es decir, enfermedades metabólicas de ganado lechero (9), la evidencia probada es relativamente débil. La SARA se ha asociado previamente para causar inflamación sistémica (7) y participar en la pérdida de BCS de la cowsprone afectada para estar en mal estado después del parto (10,11). Por otra parte, en lo que respecta a la SARA, la detección de la ruta fisiopatológica sigue siendo difícil porque a) la base de datos de las condiciones de campo sigue siendo insuficiente, b) se sabe menos sobre las consecuencias reales, la incidencia y la distribución regional de SARA en el campo. Además, los modelos experimentales para la concepción de la SARA en los animales experimentales difieren considerablemente de las enfermedades detectadas en los rebaños lecheros naturales. Por lo tanto, se justifica la investigación sobre el campo, es necesario para comprender mejor SARA (11). En el presente estudio se pretendían: a) confirmar la presencia de SARA en los rebaños lecheros turcos en la región de Aydin, b) registrar su distribución regional y c) determinar si existe una relación entre el puntaje de la condición, las contracciones ruminales y el pH ruminal.

## MATERIALES METODOS

**Datos de la granja.** Se recolectaron los datos de 5 granjas lecheras en el municipio de Aydin, región

director of Faculty Farm, Faculty of Veterinary, Adnan Menderes University and is specialized (author of many scientific reports on this subject) on BCS] and two Veterinary Surgeons (K.U. and O.Ö.) (from animal hospital, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine, Adnan Menderes University), visited these farms regularly. During the visits, health status and reproductive performance were checked, at least once a month. The details of feeding management on these farms were similar to a previous study (12). All farms included fed cows on total mixed ration (TMR). In the present study TMR was composed of forages, whole cottonseed, grains, protein, vitamin and mineral supplements mixed together to for a balanced ration

**Cow data.** A total of 120 cows ( $n=24$  in each farm) with one lactation per cow, were included in the study. The cow data with lactation number, birth date, calving date and general health status were detected and noticed on farm visit. All included cows were examined for physiological reproductive function via rectal palpation 30 days following calving. There was no evidence of postpartum disorders (such as endometritis, displacement of abomasum, ketosis, as because farmers or owners were routinely calling responsible farm veterinarian for examination, diagnosis if necessary). Two groups of 12 cows (13), were selected randomly in each herd. First group consisted of early lactation cows (0-70 days in milk) whereas other relevant composed of mid-lactation cows (70-140 days in milk).

**Rumenocentesis and ruminal pH detection.** Ruminal fluid collection was carried out via rumenocentesis by experienced researchers (K.U. and O.Ö) 4-8 hours after morning TMR feeding, from 264 selected cows through a period of January to September 2016. Ruminal fluid pH was determined immediately with a portable pH-meter (Edge pH meter, HANNA, Spain) able to detect pH changes from 0 to 14. All cows were checked for number of rumen contraction at the same time.

**Body condition scoring.** A previously described United States BCS (USBCS) system (14) through visual estimation composed of a 1-5 scale with 0.25 intervals, as was also adopted by some researchers (15,16). After morning milking in farm, BCS data were collected and assessed by one of the present researchers (D.A.U), who is experienced, having MS and PhD degrees in Department of Animal Science, Agricultural Faculty. The latter author assessed BCS on visual observing flowcharts developed and used previously (14) and recently described in a very updated study (15).

Eagean de Turquia. En un intento de organizar para el programa de gestión de la salud del ganado lechero, un ingeniero de agricultura MS [D.A.U. Quien es el director de la Facultad de Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Adnan Menderes y es especialista (autor de numerosos informes científicos sobre este tema) en BCS] y dos Veterinarios (KU y O.Ö) Veterinaria, Departamento de Medicina Interna, Universidad Adnan Menderes), visitaron regularmente estas fincas. Durante las visitas, se comprobó el estado de salud y el rendimiento reproductivo, al menos una vez al mes. Los detalles del manejo de la alimentación en estas fincas fueron similares a un estudio previo (12). Todas las fincas incluyeron vacas alimentadas con ración mixta total (TMR). En el presente estudio TMR se compuso de forrajes, semillas de algodón entero, granos, proteínas, vitaminas y suplementos minerales mezclados juntos para una ración equilibrada

Datos de la vaca. Se incluyeron en el estudio 120 vacas ( $n=24$  en cada finca) con una lactancia por vaca. Los datos de la vaca con el número de lactancia, fecha de nacimiento, fecha de parto y estado general de salud fueron detectados y se notaron en la visita a la granja. Todas las vacas incluidas fueron examinadas para la función fisiológica reproductiva a través de la palpación rectal 30 días después del parto. No hubo evidencia de trastornos posparto (como endometritis, desplazamiento de abomaso, cetosis, ya que los agricultores o propietarios estaban rutinariamente llamando al veterinario responsable de la finca para su examen y diagnóstico si fuera necesario). Dos grupos de 12 vacas (13) fueron seleccionados al azar en Cada rebaño. El primer grupo consistió en vacas de lactancia temprana (0-70 días en leche), mientras que otras fueron compuestas por vacas de lactancia media (70-140 días en leche).

**Ruminocentesis y detección ruminal del pH.** La recolección de líquido ruminal se realizó a través de rumenocentesis por investigadores experimentados (KU y O.Ö) 4-8 horas después de la alimentación TMR matutina, de 264 vacas seleccionadas a través de un período de enero a septiembre de 2016. El pH del fluido ruminal se determinó inmediatamente con un pH portátil (Medidor de borde, HANNA, España) capaz de detectar cambios de pH de 0 a 14. Todas las vacas fueron controladas para el número de contracción ruminal al mismo tiempo.

**Puntuación de condición corporal.** Un sistema BCS (USCS) de EE. UU. Descrito previamente (14) a través de una estimación visual compuesta de una escala de 1-5 con intervalos de 0,25, como también fue adoptado por algunos investigadores (15,16). Despues del ordeño de la mañana en la granja, BCS datos fueron recogidos y evaluados

**Statistical analysis.** In an attempt to perform analysis, determination of the effects of the factors on ruminal pH in the models were carried out using a General Linear Model (GLM) procedure of the SPSS Release 18.0. According to evaluation predicated on 5 traits (farm, lactation period, health status, BCS and ruminal contraction), it was stated that those characters had effect on ruminal pH. The model of this purpose was shown below. The differences between subclass means were determined by Duncan's multiple range test (17). The statistical model used for the analysis is as follows:

$$Y_{ijklm} = \mu + s_i + l p_j + h s_k + V K P_l + b_{yx} X_{ijklm} + b_{yx} + e_{ijklm}$$

Where;  $Y_{ijkl}$ : i. farm, j. lactation period, k. health status, l. body condition score, m. cow's 305-day lactation milk yield,  
 $\mu$  :population mean,  
 $s_i$ : i. farm's effect (i: 1, 2, 2, 4, 5),  
 $l p_j$  : j. lactation period's effect (j: 1, 2),  
 $h s_k$ : k. health status's effect (k: 1, 2, 3),  
 $V K P_l$ : l. body condition score's effect (l: 1, 2, 3)  
 $X_{ijklm}$  : i. farm, j. lactation period, k. health status, l. body condition score , m. cow's ruminal contraction,  
 $b_{yx}$  : partial regression coefficient with regard to ruminal contraction of ruminal pH,  
 $e_{ijklm}$ : residual error.

The relations between traits and ruminal pH were investigated by Pearson Correlation Test (SPSS, 2009).

## RESULTS

**Lactation data.** In each herd 2 groups of 12 cows were enrolled randomly in each herd. To those of an overall 120 animals included 13 were (10.83 %) classified as affected with SARA ( $pH < 5.5$ ) whereas 8 other cows (6.6%) were marginal ( $pH=5.6-5.8$ ). To those of cows with SARA were detected in 1 out of 5 farms, in farm V. Out of those 13 cows, 7 were in early lactation and 6 were in midlactation period.

**Ruminal contractions.** Regarding health status (SARA, SARA suspected or healthy controls) of animals, group comparison showed statistical significance ( $p<0.01$ ) for ruminal contractions.

**Ruminal pH analysis.** It was possible to draw a ruminal fluid from all initially selected 120 animals (60 in early lactation and 60 in midlactation period). Overall, 13 cows (10.83%) had a ruminal  $pH \leq 5.5$  at the time of rumenocentesis. In farm V mean (st. dev) ruminal pH was  $5.55 \pm 0.087$ ,

por uno de los actuales investigadores (D.A.U), que tiene experiencia, con maestría y doctorado en el Departamento de Ciencia Animal, Facultad de Agricultura. Este último autor evaluó la BCS en diagramas de observación visual desarrollados y utilizados previamente (14) y recientemente descritos en un estudio muy actualizado (15).

**Análisis estadístico.** En un intento de realizar un análisis, la determinación de los efectos de los factores sobre el pH ruminal en los modelos se realizó mediante un procedimiento del modelo general lineal (GLM) del SPSS release 18.0. De acuerdo con la evaluación basada en 5 rasgos (finca, período de lactancia, estado de salud, BCS y contracción ruminal), se afirmó que estos caracteres tenían efecto sobre el pH ruminal. El modelo de este propósito se muestra a continuación. Las diferencias entre las medias de subclase fueron determinadas por la prueba de rango múltiple de Duncan (17). El modelo estadístico utilizado para el análisis es el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + s_i + l p_j + h s_k + V K P_l + b_{yx} X_{ijklm} + b_{yx} + e_{ijklm}$$

Dónde;  $Y_{ijkl}$ : i. Granja Período de lactancia, k. Número de lactancia, l. Rendimiento de leche de lactación de 305 días de vaca,

$\mu$ : media poblacional,

$S_i$  yo Efecto de la finca (i: 1, 2, 2, 4, 5),

$l p_j$ : J. Efecto del período de lactancia (j: 1, 2),

$h s_k$ : k. El efecto del estado de salud (k: 1, 2, 3),

$V K P_l$ : l. El efecto de la condición corporal (l: 1, 2, 3)

$X_{ijklm}$ : i. Granja Período de lactancia, k. Estado de salud, l. Índice de condición corporal, m. La contracción ruminal de la vaca,

$b_{yx}$ : coeficiente de regresión parcial con respecto a la contracción ruminal del pH ruminal,

$E_{ijklm}$ : error residual.

Las relaciones entre los rasgos y el pH ruminal fueron investigados por la prueba de correlación de Pearson (SPSS, 2009).

## RESULTADOS

**Datos de lactancia.** En cada hato 2 grupos de 12 vacas fueron matriculados aleatoriamente en cada rebaño. A los de un total de 120 animales incluidos 13 fueron (10.83%) clasificados como afectados con SARA ( $pH \leq 5.5$ ), mientras que otras 8 vacas (6.6%) fueron marginales ( $pH=5.6-5.8$ ). A las de vacas con SARA se detectaron en 1 de cada 5 fincas, en la finca V. De esas 13 vacas, 7 estaban en lactancia temprana y 6 en período de media laca.

presenting statistical significance in contrast to other 4 farms without SARA positive animals. The minimum and maximum pH values were found to be 5.06 and 6.79, respectively. On the other side on farm V, marginal pH values, between 5.6 and 5.8, were found in 8 cows (6.6%) out of all cows, 4 (12%) early lactation and 4 (23.9%) mid-lactation cows.

**BCS analysis.** In healthy animals mean (st. error) BCS were detected as  $3.45 \pm 0.037$ , whereas in SARA suspected cows and in cows with SARA were deemed  $3.43 \pm 0.122$  and  $4.30 \pm 0.075$ , respectively with a statistically significance ( $p < 0.01$ ). Overall interpretation revealed increased BCS in cows with SARA (Table 1).

**Table 1.** The means of BCS and Ruminal Contraction regarding Health Status of Cows

Groups	BCS			
	N	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Min	Max
Healthy	99	$3.45^a \pm 0.037$	2.75	4.25
SARA Suspected	8	$3.43^a \pm 0.122$	2.75	3.75
SARA	13	$4.30^b \pm 0.075$	4.00	4.75
Ruminal Contraction				
Healthy	99	$9.48^a \pm 0.123$	7	12
SARA Suspected	8	$8.63^a \pm 0.324$	7	10
SARA	13	$6.85^b \pm 0.154$	6	8

a, b, c, d: Least square means on the same columnwithin each factor, followed by the different letter are significantly ( $p < 0.01$ ), \*\*  $p < 0.01$ . NS: Nonsignificant, BCS: Body condition score

**Descriptive statistics.** The descriptive statistics of all type traits according to lactation number for farms were calculated and were shown in Table 2. The effects of farms on ruminal pH were found statistically significant ( $p < 0.01$ ). The means of ruminal pH were found similarly at lactation period and the effects of lactation period were found non-significant ( $p > 0.05$ ). The mean values of ruminal pH were found 5.26, 5.68 and 6.57 according to health status (respectively, SARA, SARA suspected and healthy) (Table 2). Finally, the means for BCS were ranged from 5.90 to 6.55 (Table 2). The effects of health status and BCS on ruminal pH were found significant ( $p < 0.01$ ). The effects of ruminal contraction on ruminal pH were found significant ( $p < 0.05$ ).

The correlations between factors and ruminal pH were presented in Table 3. The highest correlations among ruminal pH and ruminal contraction were found (0.622) and statistically significant ( $p < 0.01$ ). The lowest and negative correlations were found between ruminal pH and health status ( $r = -0.770$ ) and was found

**Contracciones ruminantes.** En cuanto al estado de salud (SARA, SARA sospechosos o controles sanos) de los animales, la comparación de grupos mostró significación estadística ( $p < 0.01$ ) para las contracciones ruminantes.

**Análisis de pH ruminal.** Se pudo extraer un líquido ruminal de todos los 120 animales seleccionados inicialmente (60 en lactancia temprana y 60 en período de lactancia media). En total, 13 vacas (10.83%) tuvieron un pH ruminal  $\leq 5.5$  en el momento de la rumenocentesis. En el pH ruminal de la finca V (st. dev) fue  $5.55 \pm 0.087$ , presentando significación estadística en contraste con otras 4 fincas sin animales positivos para SARA. Los valores de pH mínimo y máximo fueron de 5.06 y 6.79, respectivamente. Por otro lado, en la finca V, se encontraron valores de pH marginales entre 5.6 y 5.8 en 8 vacas (6.6%) de todas las vacas, 4 (12%) lactancia temprana y 4 (23.9%) vacas en lactancia media.

**BCS analysis.** En animales sanos se detectó una media de  $3.45 \pm 0.037$ , mientras que en SARA se sospechó que las vacas y en vacas con SARA se consideraron  $3.43 \pm 0.122$  y  $4.30 \pm 0.075$ , respectivamente, con una significación estadística ( $p < 0.01$ ). La interpretación general reveló un aumento de BCS en vacas con SARA (Tabla 1).

**Estadísticas descriptivas.** Se calculó la estadística descriptiva de todos los rasgos de tipo según el número de lactación para las fincas y se mostró en la Tabla 2. Los efectos de las explotaciones en el pH ruminal se encontraron estadísticamente significativos ( $p < 0.01$ ). Las medias del pH ruminal se encontraron de forma similar en el período de lactancia y los efectos del período de lactancia fueron no significativos ( $p > 0.05$ ). Los valores medios del pH ruminal se encontraron 5.26, 5.68 y 6.57 según el estado de salud (respectivamente, SARA, SARA sospechosos y sanos) (Tabla 2). Finalmente, los medios para BCS oscilaron entre 5.90 y 6.55 (Tabla 2). Los efectos del estado de salud y BCS en el pH ruminal se encontraron significativos ( $p < 0.01$ ). Los efectos de la contracción ruminal sobre el pH ruminal fueron significativos ( $p < 0.05$ ).

Las correlaciones entre los factores ruminal y el pH ruminal se presentaron en la Tabla 3. Las correlaciones más altas entre pH ruminal y contracción ruminal fueron encontradas (0.622) y estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ). Las correlaciones más bajas y negativas se encontraron entre pH ruminal y estado de salud ( $r = -0.770$ ) y se encontró significativa ( $p < 0.01$ ).

**Table 2.** The mean values of Rumen pH of cows

Factors	N	Ruminal pH		Min	Max
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	**		
<b>Farms</b>					
I	24	6.51 <sup>ab</sup> ± 0.079		5.69	7.13
II	24	6.75 <sup>c</sup> ± 0.085		6.27	7.67
III	24	6.35 <sup>a</sup> ± 0.066		5.72	6.77
IV	24	6.71 <sup>bc</sup> ± 0.069		5.96	7.21
V	24	5.55 <sup>d</sup> ± 0.087		5.06	6.79
<b>Lactation period</b>					
0-70. day	60	6.36 ± 0.067		5.40	7.67
70-140. day	60	6.38 ± 0.629		5.06	7.21
<b>Health status</b>					
Healthy	99	6.57 <sup>a</sup> ± 0.039		5.69	7.67
SARA suspected	8	5.68 <sup>b</sup> ± 0.088		5.52	5.80
SARA	13	5.26 <sup>c</sup> ± 0.143		5.06	5.47
<b>BCS</b>					
2<BCS<3	22	6.32 <sup>a</sup> ± 0.084		5.69	7.02
3<BCS<4	73	6.55 <sup>a</sup> ± 0.053		5.52	7.67
4≤BCS	25	5.90 <sup>b</sup> ± 0.743		5.06	7.13

a, b, c, d: Least square means on the same columnwithin each factor, followed by the different letter are significantly ( $p<0.01$ ), \*\*  $p<0.01$ , NS: Nonsignificant, BCS: Body condition score

significant ( $p<0.01$ ). Also, correlations between rumen contraction and health status were found positive ( $r=0.546$ ) and significant ( $p<0.01$ ).

## DISCUSSION

Altough there has been several literature regarding SARA, an uncertainty is still evident for interpretation of ruminal pH values truly to diagnose SARA (7,18). In practice by ruminocentesis manuplation, ruminal pH analysis was recommended for evaluation of SARA incidence in dairy farms (10). In the present study all 5 farms participated were employed within 24 cows per each. For the herd level, analysis of ruminal pH in a sample of 5-19 cows per herd might be of beneficial specifically at the postpartum period (10,19). Most Turkish dairy cows are raised in small-medium sized farms [herd size ranges from 25 to 100 milking cows]. All forages, protein supplements, minerals, vitamins and grains are thoroughly mixed in TMR, in which the cows were fed in the present study.

In the present study as was also aformentioned above at the time of ruminocentesis, 7 early lactation cows in and 6 other relevant mid-lactation cows in farm V were found to be experiencing SARA (cows with a ruminal pH  $\leq 5.5$ ). Similarly on that farm 4 early lactation cows and 4 other relevant

**Table 3.** The correlations between factors and ruminal pH

Factors	Ruminal pH	Health Status	BCS	Rumen Contraction
	1			
Health Status	-0.770**	1		
BCS	0.622**	-0.582**	1	
Rumen contraction	-0.226	0.546**	-0.175	1

\*\*  $p<0.01$

Además, las correlaciones entre la contracción ruminal y el estado de salud se encontraron positivos ( $r=0.546$ ) y significativo ( $p<0.01$ ).

## DISCUSION

Aunque ha habido varias publicaciones con respecto a SARA, todavía es evidente una incertidumbre para la interpretación de los valores de pH ruminal para diagnosticar verdaderamente SARA (7,18). En la práctica mediante la manufactura de ruminocentesis, se recomendó un análisis del pH ruminal para la evaluación de la incidencia de SARA en las granjas lecheras (10). En el presente estudio se emplearon las 5 granjas participantes en 24 vacas por cada una. Para el nivel del rebaño, el análisis del pH ruminal en una muestra de 5-19 vacas por rebaño podría ser beneficioso específicamente en el período postparto (10,19). La mayoría de las vacas lecheras turcas se crían en granjas pequeñas y medianas (el tamaño del rebaño oscila entre 25 y 100 vacas lecheras). Todos los forrajes, suplementos de proteínas, minerales, vitaminas y granos se mezclan a fondo en TMR, en el que las vacas fueron alimentadas en el presente estudio.

Como también se mencionó anteriormente en el momento de la ruminocentesis, 7 vacas de lactación temprana y 6 vacas de lactancia en la granja V se encontró que experimentaban SARA (vacas con un pH ruminal  $\leq 5.5$ ). De manera similar, en esa finca, 4 vacas de lactancia temprana y 4 vacas de lactancia media fueron marginalmente acidóticas. Curiosamente, de 5 granjas diferentes matriculadas, únicamente la granja V estaba compuesta por 21 (de 24) animales con riesgo de SARA o SARA. A nivel de rebaño, si 1/3 o más de la población de vaca presentan pH ruminal entre 5.6-5.8, los animales fueron detectados como marginalmente acidóticos (13). Ambos animales con riesgo SARA y SARA se localizaron en la misma granja, en

mid-lactation cows were marginally acidotic. Interestingly out of 5 different farms enrolled, solely the farm V were composed of 21 (out of 24) SARA positive or SARA risk animals. At herd level if 1/3 or more of the cow population present rumen pH between 5.6-5.8, the animals were detected as marginally acidotic (13). Both SARA positive and SARA risk animals were located on the same farm, in which whole animals were fed TMR ration, similar to other farms (I to IV) involved where all cows were healthy. The difference might be briefly explained with either errors in ration formulation or inappropriate TMR particle size (20). Similar findings were previously reported by Morgante et al. (19) detected that feeds chopped extremely fine were in association with SARA, in which could be the key factor in our study. The farm ration was formulized by the owner who has no sicientic education.Ration formulation and mixing errors were reported as foremost risk factors related to existence of SARA (21). Lastly regular interpretation of both ration formulation and feed particle size has growing interest (20).

BCS possess significance during different lactation stages (fresh cows, early lactation, mid-lactation, late lactation and dry period). BCS frequently exists as 3 (5-point scale) in mid-lactation stage. If cows present over-form throughout mid-lactation, BCS varies from 3.5 to 4.0 (5-point scale) (22). In a very recent study a total of 50 head Holstein-Friesian cows in mid-lactation (at 1st-4rd parity), located in Aydin, Turkey were scored comperatively by use of the primary systems utilized within the US (1-5 scale with 0.25 intervals) and to those of Bayer Health Care Animal Health's BCS Cowddition Smartphone App. In the latter study overall mean values of BCS were found as  $3.37 \pm 0.068$  and  $3.45 \pm 0.060$  for BCS Cowddition and USBCS, respectively. There was a positive correlation ( $r=0.81$ ,  $p=0.01$ ) among BCS Cowddition and USBCS systems with a positive linear relationship ( $r=0.66$ ,  $p=0.001$ ) (15).

Ruminal pH was detected lower in cows with extensive loss in BCS after calving. The reason for the poor BCS in low ruminal pH cows might be similar to a dairy cow study (10) in which metabolic acidosis resulted with elevated protein catabolism accompanied by growth impairment. In general during the postpartum period a cow loses BCS because of negative energy balance in an attempt to achieve a peak milk production (23). In the present study mean BCS were detected as  $3.45 \pm 0.037$ , whereas in SARA suspected cows and in cows with SARA were deemed  $3.43 \pm 0.122$  and  $4.30 \pm 0.075$ , respectively with a statistically significance ( $p<0.01$ ). Overall interpretation revealed increased BCS in cows with SARA. In addition there was

la que los animales enteros fueron alimentados con ración TMR, similar a otras granjas (I a IV) involucradas donde todas las vacas estaban sanas. La diferencia podría explicarse brevemente con errores en la formulación de la ración o tamaño de partícula inapropiado de TMR (20). Hallazgos similares fueron reportados previamente por Morgante et al. (19) detectaron que los piensos picados extremadamente finos estaban en asociación con la SARA, en la cual podría ser el factor clave en nuestro estudio. La ración agrícola fue formulada por el propietario que no tiene educación científica. La formulación de la ración y los errores de mezcla fueron reportados como los principales factores de riesgo relacionados con la existencia de SARA (21). Por último, la interpretación regular tanto de la formulación de la ración como del tamaño de las partículas del pienso tiene un interés creciente (20).

BCS poseen significación durante diferentes etapas de lactancia (vacas frescas, lactancia temprana, lactancia media, lactancia tardía y período seco). BCS con frecuencia existe como 3 (escala de 5 puntos) en la etapa de lactancia media. Si las vacas presentan sobre-forma a lo largo de la lactancia, el BCS varía de 3.5 a 4.0 (escala de 5 puntos) (22). En un estudio muy reciente, se anotó un total de 50 vacas Holstein-Frisia cabeza en mitad de la lactancia (en la 1<sup>a</sup>-4<sup>a</sup> paridad), ubicadas en Aydin, Turquía, mediante el uso de los sistemas primarios utilizados en los EE.UU. 0.25 intervalos) ya los de Bayer Health Care Animal Health BCS Cowddition Smartphone App. En el último estudio, los valores medios globales de BCS se encontraron como  $3.37 \pm 0.068$  y  $3.45 \pm 0.060$  para BCS Cowddition y USBCS, respectivamente. Hubo una correlación positiva ( $r=0.81$ ,  $p=0.01$ ) entre los sistemas BCS Cowddition y USBCS con una relación lineal positiva ( $r=0.66$ ,  $p=0.001$ ) (15).

El pH ruminal se detectó más bajo en las vacas con pérdida extensa en BCS después del parto. La razón de la BCS pobre en vacas de bajo pH ruminal podría ser similar a un estudio de vaca lechera (10) en el que la acidosis metabólica resultó con un elevado catabolismo proteico acompañado de deterioro del crecimiento. En general, durante el período posparto, una vaca pierde BCS debido al balance energético negativo en un intento de alcanzar un pico de producción de leche (23). En el presente estudio, la media de BCS se detectó como  $3.45 \pm 0.037$ , mientras que en SARA las vacas sospechosas y en las vacas con SARA se consideraron  $3.43 \pm 0.122$  y  $4.30 \pm 0.075$ , respectivamente, con una significación estadística ( $p<0.01$ ). La interpretación general reveló un aumento de BCS en vacas con SARA. Además,

a significant ( $p<0.01$ ) correlation ( $r=0.622$ ) between BCS and ruminal pH, observed in this study. The alterations of BCS could be related to several reasons i.e. appropriate level of nutrition and a well designed ration could affect body weight of cows along with conversion of tissues for increased productivity (24-26).

Decreased number of ruminal contractions were previously denoted as a clinical finding in relation with SARA (27). In a prior study in Iran, there were no significant differences between cows experiencing SARA and other cows in number of rumen contractions (in 2 min,  $p=0.592$ ). Furthermore no significant difference was either detected between animals with SARA and those with marginal pH values and the rest of the cows regarding number of ruminal contractions (in 2 min,  $p=0.455$ ) (13). In the present study taking into account health status (SARA, SARA suspected or healthy controls) of animals, group comparison showed statistical significance ( $p<0.01$ ) for ruminal contractions.

The correlation between factors and ruminal pH were investigated in the present study. The highest correlations was found between ruminal pH and ruminal contraction (0.622) with a statistical significance ( $p<0.01$ ). The lowest correlation was evident between ruminal pH and health status ( $r=-0.770$ ,  $p<0.01$ ). Between rumen contraction and health status a positive ( $r=0.546$ ,  $p<0.01$ ) correlation was detected.

In conclusion in the present study an attempt is made to establish the regional distribution of SARA in selected dairy herds in Aydin municipality of Eagean Region based on the ruminal pH determination. Consequences of SARA on individual health, production level and metabolic status for both individual and herd level were established. Therefore BCS and ruminal contractions data were used as indicators, in which correlations were found among ruminal pH and ruminal contraction and ruminal pH and BCS, favoring the usage of those parameters as probable biomarkers in cows with SARA.

In a small to middle sized farms, the problem solely in 1 cow might affect the farmer's income. Hence at the cow level, quick determination of ruminal pH in early lactation may have helped prevention and reduce economic loss (28). Given the current and different feeding management conditions

hubo una correlación significativa ( $p<0.01$ ) ( $r=0.622$ ) entre BCS y pH ruminal, observada en este estudio. Las alteraciones de la BCS podrían estar relacionadas con varias razones, es decir, un nivel adecuado de nutrición y una ración bien diseñada podría afectar el peso corporal de las vacas junto con la conversión de los tejidos para aumentar la productividad (24-26).

La disminución del número de contracciones ruminales se denotó previamente como hallazgo clínico en relación con SARA (27). En un estudio previo en Irán, no hubo diferencias significativas entre las vacas que experimentaron SARA y otras vacas en número de contracciones ruminales (en 2 min,  $p=0.592$ ). Además, no se detectó diferencia significativa entre los animales con SARA y aquellos con valores de pH marginales y el resto de las vacas con respecto al número de contracciones ruminales (en 2 min,  $p=0.455$ ) (13). En el presente estudio teniendo en cuenta el estado de salud (SARA, SARA sospechosos o controles sanos) de los animales, la comparación de grupos mostró significación estadística ( $p<0.01$ ) para las contracciones ruminal.

Las correlaciones entre los factores y el pH ruminal se investigaron en el presente estudio. Las correlaciones más altas se encontraron entre el pH ruminal y la contracción ruminal (0.622) con una significación estadística ( $p<0.01$ ). La menor correlación fue evidente entre pH ruminal y estado de salud ( $r=-0.770$ ,  $p<0.01$ ). Entre la contracción del rumen y el estado de salud se detectó una correlación positiva ( $r=0.546$ ,  $p<0.01$ ).

En conclusión en el presente estudio se intenta establecer la distribución espacial de SARA en rebaños lecheros seleccionados en la mucilidad de Aydin de la región de Eagean basándose en la determinación del pH ruminal. Se establecieron las consecuencias de la SARA sobre la salud individual, el nivel de producción y el estado metabólico tanto para el individuo como para el nivel del rebaño. Por lo tanto, se utilizaron los datos de BCS y contracciones ruminal como indicadores, en los que se encontraron correlaciones entre el pH ruminal y la contracción ruminal y el pH ruminal y BCS, favoreciendo el uso de esos parámetros como biomarcadores probables en vacas con SARA.

En una pequeña o mediana granjas, el problema sólo en una vaca podría afectar los ingresos del agricultor. Por lo tanto, a nivel de vaca, la determinación rápida del pH ruminal en la lactancia temprana puede haber ayudado a la prevención y reducir las pérdidas económicas (28). Dada la actual y diferente situación de manejo de la alimentación en las granjas lecheras turcas, y la asociación entre el pH ruminal y la incidencia de trastornos

in Turkish dairy farms, and the association between ruminal pH and the incidence of postpartum disorders remains unclear, the interpretation of ruminal pH might provide useful and applicable information to improve the health and milk production of dairy cows(28). Furthermore this study and previous one (29) also demonstrated the presence of SARA in this region, which may be taken into account with possible preventative measurements.

posparto sigue siendo poco clara, la interpretación del pH ruminal podría proporcionar información útil y aplicable para mejorar la salud y la producción de vacas lecheras 28). Además, este estudio y el anterior (29) demostraron también la presencia de SARA en esta región, lo que puede ser tenido en cuenta con posibles mediciones preventivas.

## REFERENCES

1. Enemark JMD. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Vet J* 2008; 176(1):32-43.
2. Enemark JMD, Jørgensen RJ, Kristensen NB. An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Vet Res Commun* 2004; 28(8):687-709.
3. Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet J* 2009; 176(1):21-31.
4. Bramley E, Lean IJ, Fulkerson WJ, Stevenson MA, Rabiee AR, Costa ND. The definition of acidosis in dairy herds predominantly fed on pasture and concentrates. *J Dairy Sci* 2008; 91(1):308-321.
5. Aschenbach JR, Penner GB, Stumpff F, Gabel G. Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid and absorption in the regulation of ruminal pH. *J Anim Sci* 2011; 89(4):1092-1107.
6. Krause KM, Oetzel GR. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. (Special Issue: Feed and animal health.). *Anim Feed Sci Technol* 2006; 126(3/4):215-236.
7. Gozho DN,, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *J Dairy Sci* 2005; 88(4):1399-403.
8. Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JP. Subacute ruminal acidosis (SARA): A Review. *J Vet Med Sci* 2003; 50(8):406-414.
9. Mulligan F, Doherty M. Production diseases of the dairy cow. *Vet J* 2008; 176(1):3-9.
10. Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JPTM. Subacute ruminal acidosis in Dutch dairy herds. *Vet Rec* 2009; 164(22):681-683.
11. Kleen JL , Upgang L, Rehage J. Prevalence and consequences of subacute ruminal acidosis in German dairy herds. *Acta Vet Scand* 2013; 55(1):48.
12. Alic Ural D,Cengiz O, Ural K, Ozaydin S.Dietary Clinoptilolite Addition as a Factor for the Improvement of Milk Yield in Dairy Cows. *J Anim Vet Adv* 2013; 12(1):85-87.
13. Tajik J. Prevalence of subacute ruminal acidosis in some dairy herds of Khorasan Razavi province, northeast of Iran. *Iran J Vet Res* 2009; 10(1):28-32.
14. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 1989; 72(1):68-78.
15. Alic Ural D. The use of new practices for assessment of body condition score Rev MVZ Córdoba 2016; 21(1):5154-5162
16. Bewley JM, Boyce RE, Roberts DJ, Coffey MP, Schutz MM. Comparison of two methods of assessing dairy cow body condition score. *J Dairy Sci* 2010; 77(1):95-98.

17. Steel RDG, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. Mc-Graw Hill Book Co. Inc. 1984; New York, USA.
18. Zebeli Q, Dijkstra J, Tafaj M, Steingass H, Ametaj BN, Drochner W. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *J Dairy Sci* 2008; 91(5):2046-66.
19. Morgante, M., Stelletta C, Berzaghi P, Giancesella M, Andriguetto I. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *J Anim Physiol Anim Nut* 2007; 91(5-6):226-234.
20. Kitkas, G.C., Valergakis, G.E, Karatzias H, Panousis N. Subacute ruminal acidosis: prevalence and risk factors in Greek dairy herds. *Iran J Vet Res* 2013; 14(3):183-189.
21. Dohme F, DeVries TJ, Beauchemin KA. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: ruminal pH. *J Dairy Sci* 2008; 91(9):3554-3567.
22. Mishra, S., Kumari, K., Dubey, A. Body Condition Scoring of Dairy Cattle: A Review. *RRJVS* 2016; 2(1):58-65.
23. Rukkwamsuk T. Effect of nutrition on reproductive performance of postparturient dairy cows in the tropics: a review. *Thai J Vet Med* 2011; 41(suppl.):103-107.
24. Alic Ural D. A Study on body condition score of Holstein-Friesian cows raised at Bozdogan. *Kocatepe Vet J* 2012; 5(2):9-15.
25. Grubić G, Novaković Ž, Aleksić S, Sretenović LJ, Pantelić V, Ostojić-Andrić D. Evaluation of the body condition of high yielding cows. *Biotech Anim Husb* 2009; 25(1-2):81-91.
26. Vasseur E, Gibbons J, Rushen J and de Passillé AM. Development and implementation of a training program to ensure high repeatability of body condition scoring of dairy cows. *J Dairy Sci* 2013; 96(7):4725-4737.
27. Enemark JMD, Jørgensen RJ, Enemark PS. Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Vet ir Zootech* 2002;20:16-29.
28. Chaidate I, Somchai C, Jos N, Henk H. A cow-level association of ruminal pH on body condition score, serum beta-hydroxybutyrate and postpartum disorders in Thai dairy cattle. *Anim Sci J* 2014; 85(9):861-817.
29. Akin I, Aliç Ural D, Gültekin M, Ural K. Subclinical Laminitis and Its Association with Po2 and Faecal Alterations: Isikli, Aydin Experience. *Rev MVZ Cordoba* 2015; 20(2):4534-4543.