

## Subclinical laminitis and its association with pO<sub>2</sub> and faecal alterations: Isikli, Aydin experience

### Laminitis subclínica y su asociación con pO<sub>2</sub> y alteraciones fecales: experiencia Isikli, Aydın

Ibrahim Akin,<sup>1\*</sup> Ph.D, Deniz Alic Ural,<sup>2</sup> Ph.D, Mehmet Gultekin,<sup>3</sup> Ph.D, Kerem Ural,<sup>3</sup> Ph.D

Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary, <sup>1</sup>Department of Surgery, <sup>2</sup>Faculty Farm, <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, 09016, Isikli, Aydin-Turkey. Corresponding: ibraak@hotmail.com

Received: June 2014; Accepted: December 2014.

#### ABSTRACT

**Objective.** The aim of this field trial was to investigate the relationships among subclinical laminitis, hematological, ruminal and faecal alterations. **Materials and Methods.** To this extent dairy cows presenting subclinical laminitis (n=11) and to those of other healthy cows without laminitis (n=10) were enrolled and assigned into two groups. All animals were receiving the same daily ration formulated to contain 47% cornsilage and 18% hay, mainly. Effects of subclinical laminitis challenges on measurements of feces, and blood samples, were investigated to determine which of these measurements may aid in the diagnosis. pH changes in ruminal fluid collected via rumenocentesis were measured. Besides the following parameters were also measured; blood pH, faecal pH and faecal scoring. Blinded investigators performed the sample collection. **Results.** No statistical differences between the groups were detected for blood gas values studied regarding pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, indeed mean that pO<sub>2</sub> values decreased statistically (p<0.05) and faecal pH was significantly decreased (p<0.05) in cows with subclinical laminitis in contrast to healthy controls. **Conclusions.** pO<sub>2</sub> values and faecal pH may be valuable as indirect indicators of subclinical laminitis in cattle.

**Key words:** Dairy cattle, laminitis, nutrition (*Source: CAB*).

#### RESUMEN

**Objetivos.** El objetivo de esta prueba de campo fue investigar las relaciones entre la laminitis subclínica y alteraciones hematológicas, ruminales y fecales. **Materiales y métodos.** Las vacas lecheras que presentaron laminitis subclínica (n=11) y las vacas sanas sin laminitis (n=10) fueron reclutadas y asignadas en dos grupos. Todos los animales recibieron la misma ración diaria que contenía 47% de ensilaje de maíz y 18% de heno, principalmente. Los efectos de la laminitis subclínica sobre las mediciones de las heces y muestras de sangre, fueron investigados para determinar cuál de estas mediciones pueden ayudar en el diagnóstico. Se midieron los cambios de pH en el fluido ruminal recogido a través rumenocentesis. Además, también se midieron los siguientes parámetros; pH de la sangre, el pH fecal y la puntuación fecal. La toma de las muestras se realizó a doble ciego. **Resultados.** No se detectaron diferencias significativas entre los grupos para los valores de los gases sanguíneos estudiados en relación con la pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE; lo que significa que los valores de pO<sub>2</sub> disminuyeron estadísticamente (p<0.05) y que el pH fecal se redujo significativamente (p<0.05) en las vacas con laminitis subclínica; en contraste con los controles sanos. **Conclusiones.** Los valores de PO<sub>2</sub> y pH fecal pueden ser valiosos como indicadores indirectos de la laminitis subclínica en el ganado.

**Palabras clave:** Ganado de leche, laminitis, nutrición (*Fuente: CAB*).

## INTRODUCTION

The economic significance and animal welfare consequences of lameness in dairy cattle are substantial (1). Subclinical laminitis (inflammation of the corium within the hoof) is a well recognized trigger condition for many of disorders in the hoof, and is considered by predisposing factor in lameness in dairy cattle (2,3). Therefore, it has been considered the main factor to initiating lameness following lactations in dairy cows (4).

Lameness is one of the major cow health concerns regarding dairy industry (5-7). Physical etiology of lameness, are discussed in detail (3,8,9), indeed nutrition is frequently dictated as a major cause of lameness. Despite what has been discussed, the significant relationship regarding lameness and dietary composition is comparatively poorly described. Contrarily, ruminal functioning is almost suggested as the predisposing factor, even if lameness is attributable to nutrition (10). On the basis of previous works lacking detailed information, the present authors examined ruminal pH, blood pH, faecal pH and blood gas during subclinical laminitis in dairy cows with the aim of identifying any relationships among laminitis and those aforementioned physiological parameters in association to a suitable nutrition.

## MATERIAL AND METHODS

**Study site and geographical location.** The present retrospective study was performed in a private dairy farm located at Isikli, Aydin province of Turkey. Aydin city is located at the Eagean region of Turkey. The dairy farm consisted 500 dairy cattle. The latter city has warm climatic conditions in general, which is quite suitable for dairy farming. The diet involved for the dairy cattle in the present study was shown in table 1.

**Inclusion criteria and sampling.** Cows enrolled in the present study were examined in the hoof trimming chute in an attempt to evaluate the presence of the clinical findings (involving yellowish discoloration and waxy hoof, heel erosion, sole haemorrhage, white line separation, abnormal hoof grown), of subclinical laminitis (11). Cows, diagnosed within subclinical laminitis had two or more mentioned laminitis-like lesions of the subclinical laminitis, and were enrolled within the study as subclinical laminitis group. Healthy group did not present mentioned lesions and regular hoof shape was detected.

Regarding time of sampling for collection of ruminocentesis and other relevant parameters, samples were collected at a time when rumen pH

## INTRODUCCIÓN

La importancia económica y consecuencias de claudicación en ganado lechero para el bienestar animal (1). La laminitis subclínica (inflamación del corión en el casco) es una condición desencadenante ampliamente reconocida para muchos desórdenes de los cascos, y es considerada un factor predisponente para la claudicación en el ganado lechero (2,3). En consecuencia, ha sido considerado el principal factor para iniciar claudicación luego de lactaciones en vacas lecheras (4).

La claudicación es uno de las principales preocupaciones de salud bovina en la industria lechera (5,7). La etiología física de claudicación se discute en detalle (3,8,9), de hecho la nutrición es a menudo considerada como la principal causa de claudicación. A pesar de lo que ha sido discutido, la importante relación entre la claudicación y la composición de la dieta es comparativamente descrita de manera vaga. Por el contrario, el funcionamiento ruminal es casi sugerido como un factor predisponente, aún si la claudicación es atribuible a la nutrición (10). Basado en trabajos anteriores que carecen de información detallada, los autores actuales examinaron el pH ruminal, pH de la sangre, pH fecal y gas en la sangre durante laminitis subclínica en vacas lecheras con el propósito de identificar cualquier relación entre laminitis y los parámetros fisiológicos anteriormente mencionados, en asociación con una nutrición idónea.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Sitio de estudio y ubicación geográfica.** El presente estudio retrospectivo fue llevado a cabo en una granja lechera privada ubicada en Isikly, Aydin, provincia de Turquía. La granja lechera consistía de 500 vacas lechera. La anterior ciudad tiene condiciones climáticas cálidas en general, lo cual es adecuado para la ganadería lechera. La dieta del ganado lechero en este estudio se muestra en la tabla 1.

**Criterios de inclusión y muestreo.** Las vacas inscritas en el presente estudio fueron examinadas en la tolva de recorte de pezuña con el propósito de evaluar la presencia de hallazgos clínicos (involucrando descoloración amarillenta y casco grasoso, erosión de talón, hemorragia de la planta, separación de línea blanca y crecimiento anormal del casco), de laminitis subclínica (11). Las vacas, diagnosticadas con laminitis subclínica tuvieron dos o más de las mencionadas lesiones de tipo laminitis de laminitis subclínica, y fueron inscritas en estudio dentro del grupo de laminitis

**Table 1.** Ingredient and chemical composition of the diet.

Ingredient	% DM
Corn silage (35% DM)	47.79
Hay	17.80
Sunflower meal (25% CP)	4.45
Soybean meal (44% CP)	6.75
Wheat bran	22.76
Dicalcium phosphate (DCP)	0.10
Calcium carbonate, CaCO <sub>3</sub>	0.25
Salt	0.05
Vitamin and mineral premix	0.05
<b>Chemical composition and nutritional facts</b>	
NDF, % DM	45.80
Dry matter intake/day	19.77
Crude protein, % DM	14.5
Net, Mcal/kg DM	1.45
Ca, % DM	0.45

Adopted similarly from the study of Ural et al (10).

is likely to be near the lowest point of the day, as reported previously (12). As the ration was fed as a total mixed ration (TMR), the samples were withdrawn at 4 hours after the cows get access to the fresh ration. All samples were collected once throughout the study period.

### Laboratory measurements

**Rumen pH measurement.** The pH of the rumen fluid samples collected at 15.00 of day time, as reported previously (13), at optimal recommended timing for ruminal pH measurements, 5 hours after forage and concentrated feed separately were determined immediately after collection with an electronic caliber Accumet Basic 15 pH meter. The pH data were summarized as minimum, maximum and average pH.

**Faecal sampling and analysis.** Faecal samples, were collected after restraining the animals and disinfection of the perianal area. Each individual sample was photographed, and then was thoroughly mixed. A subsample of 10 g was mixed into distilled water of 10 ml. This was followed by the faecal pH measurement using the same caliber, used for the rumen fluid pH measurement.

**Blood sampling and analysis.** Whole blood withdrawn into vacutainer tubes with K<sub>3</sub>EDTA, was analyzed at the Veterinary Faculty, Central Laboratory located in Adnan Menderes University, Aydin (data not shown). Heparinized whole blood was also analyzed for pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and Ca<sup>2+</sup> using a Irma Trupoint blood gas analyzer.

subclínica. El grupo saludable no presente las mencionadas lesiones y se detectó forma normal del casco.

Con relación al tiempo de recolección de muestras de ruminocentesis y otros parámetro relevantes, las muestras fueron recolectadas en momentos en los que el pH del rumen es más probable cercano al punto más bajo del día, según se reportó anteriormente (12). Como la ración fue suministrada como una ración total mixta (RTM), las muestras fueron tomadas 4 horas después de que las vacas tuvieron acceso a la ración fresca. Todas las muestras fueron recolectadas una sola vez durante el periodo de estudio.

### Mediciones de laboratorio.

**Medición del pH del Rumen.** El pH de muestras de fluido ruminal recolectados a las 15.00 del día, como se reportó anteriormente (13), en un momento óptimo para mediciones de pH ruminal, 5 horas después de pastar y suministro de concentrado, fueron determinadas inmediatamente después de la recolección con un calibrador electrónico Accumet Basic 15pH. Los datos de pH fueron resumidos como pH mínimo, máximo y promedio.

**Muestreo fecal y análisis.** Las muestras fecales fueron recolectadas luego de restringir los animales y desinfectar el área perianal. Cada muestra individual fue fotografiada y luego diligentemente mezclada. Una submuestra de 10 gramos fue mezclada en 10 ml de agua destilada. Lo anterior fue seguido de una medición de pH fecal utilizando el mismo calibrador electrónico utilizado para la medición del pH del fluido ruminal.

**Muestras de sangre y análisis.** Sangre entera sacada en tubos vacutainer con K<sub>3</sub>EDTA, fue analizada en la facultad de Veterinaria, Laboratorio Central ubicado en Adnan Mederes University, Aydin (no se muestran datos). La sangre entera heparinizada también fue analizada con relación a pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, and Ca<sup>2+</sup> utilizando un analizador de gases en sangre Trupoint.

**Análisis Estadístico.** Los datos normalmente distribuidos fueron analizados con pruebas t a muestras independientes para comparar las medias de los dos grupos. Las calificaciones fecales fueron analizadas con la Prueba U Mann-Whitney. Los valores P ≤ 0.05 fueron considerados significativos. Los resultados fueron presentados como medias ± SE.

**Table 2.** Blood gas, ruminal and faecal analysis in cows with subclinical laminitis and healthy cows without laminitis.

Groups	ScL group (n:11)	C group (n:10)	P
pCO <sub>2</sub>	47.42±0.78	48.38±1.11	0.480
pO <sub>2</sub>	38.93±1.70	46.11±2.01	<b>0.014*</b>
HCO <sub>3</sub>	31.30±0.41	31.29±1.64	0.995
TCO <sub>2</sub>	32.72±0.42	32.71±1.69	0.996
BE	7.37±0.49	6.34±1.47	0.522
Blood pH	7.43±0.01	7.43±0.01	0.990
Ruminal pH	6.06±0.05	6.20±0.06	0.097
Faecal pH	6.14±0.14	6.50±0.10	<b>0.050*</b>
Faecal score	4 (1-4)	3 (2-4)	0.809

ScL group=cows with subclinical laminitis; C group= Healthy cows without laminitis.

Values were expressed as means ± SE mean.

Faecal scores were presented as the median (min-max).

(\*p<0.05).

**Statistical analysis.** Normal distributed data were analyzed by independent samples t-test to compare means of two groups. Faecal scores were analyzed by Mann-Whitney U test. p≤0.05 were considered to be significant. The results were presented as the means ± SE.

## RESULTS

The average values of analyzed parameters and their standard error of the means were presented in table 2.

No statistical differences between the groups were detected for blood gas values studied regarding pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, indeed mean pO<sub>2</sub> values decreased statistically (p<0.05) in cows with subclinical laminitis.

**Ruminal fluid pH changes.** Normal rumen pH condition was detected within the vast majority of the animal enrolled in group ScL, whereas only one cow with subclinical laminitis had a ruminal pH value of 5.79, in which is a critical value regarding subacute ruminal acidosis (SARA) (14-17).

**Faecal alterations.** Faecal pH and faecal scoring results were shown in table 2. Analysis deemed statistical significance for faecal pH values.

**Subclinical laminitis signs.** Relevant clinical findings were shown in figure 1.

## DISCUSSION

**Ruminal changes and its interpretation.** In the present study Subacute Ruminal Acidosis (SARA) was not a contributing factor the relationship among physiological parameter detected and laminitis, as 1 cow was diagnosed with suspected SARA. Gozho et al (14) stated

## RESULTADOS

Los valores promedio de los parámetros analizados y su desviación estándar de la media se presentan en la tabla 2.

No hubo diferencias estadísticas entre los valores de gas en sangre detectados con relación a pCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, de hecho los valores de pO<sub>2</sub> se redujeron estadísticamente (p<0.05) en vacas con laminitis subclínica.

**Cambio en pH del fluido ruminal.** Se detectó una condición del pH ruminal normal en la gran mayoría de animales inscritos en el grupo ScL, mientras que sólo una vaca con laminitis subclínica tenía un pH ruminal con un valor de 5.79, el cual es crítico con relación a acidosis ruminal subaguda. (SARA) (14-17).

**Alteraciones fecales.** El pH fecal y los resultados de puntuación fecal se muestran en la tabla 2. El análisis arrojó significancia estadística para los valores de pH fecal.

**Señales de laminitis subclínica.** Hallazgos clínicos relevantes se muestran en la figura 1.

## DISCUSIÓN

**Cambios ruminales y su interpretación.** En el presente estudio la Acidosis Ruminal Subaguda (SARA) no fue un factor contributivo a la relación entre el parámetro fisiológico detectado y la laminitis, ya que 1 vaca fue diagnosticada con sospecha de SARA. Gozho et al (14) establecen la detección de SARA por pH ruminal entre 5.2-5.6 durante por lo menos 3 horas continuas en una medición diaria por catéter permanente de pH. Para el contexto completo del presente estudio, la se considera que ocurre acidosis ruminal cuando el pH ruminal <5.8, y acidosis ruminal aguda con pH <5.2, aun si se observó cualquier caso. De hecho, pueden ser necesarias más alteraciones severas del pH ruminal para predecir cambios en el funcionamiento epitelial ruminal (16,17), la disponibilidad del uso del pH 5.8 como umbral de derivación de la eficacia de un pH bajo en la digestión de fibras, así como el riesgo probable de daño epitelial. En el presente estudio sólo 1 vaca presentó un valor de pH ruminal de 5.79, lo cual sugiere que las otras vacas no estaban experimentando SARA, por lo menos en el momento de inscripción al estudio. Por ende SARA no acompaña la laminitis en relación a los animales involucrados en este estudio.

**Cambios fecales y su interpretación.** Las heces del ganado pueden ofrecer conocimientos



**Figure 1.** Subclinical laminitis signs on the hoof as solear view after grimming in some cases of the study. **Case a:** Normal healthy hoof. **Case b:** Hemorrhagic discoloration on the sole and white line, yellowish and waxy hoof. **Case c:** Hemorrhagic discoloration, yellowish and waxy hoof, slightly heel erosion. **Case d:** Yellowish discoloration, waxy hoof, heel erosion, abnormal hoof grown, irregular white line and sole horn.

determining SARA by rumen pH between 5.2-5.6 for at least 3 hours continuously in a daily measurement via an indwelling pH catheter. For the entire context of the present study, ruminal acidosis was considered to occur when ruminal pH < 5.8, and acute ruminal acidosis when pH < 5.2, even if any case was observed. Indeed more severe alterations within the ruminal pH might be necessary to predict changes in ruminal epithelial functioning (16,17), the availability to use of pH 5.8 as a threshold bypass the efficacy of low pH on fiber digestion, as well as the probable risk regarding epithelial damage. In the present study solely 1 cow presented a ruminal pH value of 5.79, suggesting that other cows were not experiencing SARA, at least at the time of study enrollment. Therefore SARA was not accompanying to laminitis for the animals involved at the present study.

#### **Faecal changes and its interpretation.**

The faeces of stock may provide significant knowledge regarding indirect proof of clinical and sub-clinical acidosis. Several factors involving parasites and diseases may result in scouring.

significativos con relación a pruebas indirectas de acidosis clínica y subclínica. Varios factores que involucran parásitos y enfermedades pueden resultar en scouring. Las manadas que cuentan con un alto porcentaje de contenido fecal blando y no formado, las vacas con una prevalencia alta de scouring o material fecal en el perineo pueden mostrar acidosis. Esta condición puede apoyarse en otros factores relevantes, incluyendo la prevalencia de claudicación, evaluación de raciones, muestro de rumen, concentración de grasas en la lecha y actividad de masticado reducida, para un mejor y más definitivo diagnóstico (9,13,15). Como se mencionó anteriormente sólo 1 vaca con un valor crítico de SARA presento scour, con un puntaje fecal de 1. Interesantemente, el anterior puntaje no tuvo efecto alguno sobre el puntaje clínico total del grupo ScL, lo cual resultó en ausencia de significancia estadística entre los grupos.

Las alteraciones por SARA no tuvieron influencia en el pH fecal (13,18). En un estudio relativamente reciente se sugiere que existen diferencias en el pH fecal entre 09:00 y 15:00, lo cual indica que el

Herds possessing large percentage of soft and un-formed faecal content, cows with a high prevalence scouring or faecal material within the perineum might be showing acidosis. This condition might be supported with other relevant indicators, including the prevalence of lameness, ration evaluation, rumen sampling, milk fat concentration and reduced chewing activity for a better and definitive diagnosis (9,13,15). As aforementioned above only 1 cow with a critical value for SARA was presenting scour, with a faecal score as 1. Interestingly the latter score did not have an effect on total clinical score in group ScL, resulting within no statistical significance between groups.

SARA alterations did not have influence on faecal pH (13,18). In a relatively new study it was suggested that there was differences in faecal pH between 09:00 and 15:00, indicating that the timing of the faecal pH analysis must be considered for evaluation of the faecal pH (13). In contrast Morgante et al (12) determined that cows with SARA [ruminal pH>5.8 (acidotic cows)] presented a faecal pH (6.50±0.04) lower than that from cows (6.65±0.03) without SARA (ruminal pH>5.8). Eastridge (19) stated that faecal pH might be reduced, even in case of excessive amounts of starch escape digestion, resulting in large elevation of hindgut fermentation. Relevant differences in the dietary concentrate contents among the present study and those of Li et al (13), Morgante et al (12) and Enemark et al (18) may be briefly explained within the discrepancy among the effects of SARA on faecal pH for those studies. Only one cow with laminitis was diagnosed within a critical value for SARA due to low ruminal pH, as 5.79, in the present study, whereas the rest of the animal did not present SARA.

Faecal pH was variable and did not correlate with the ration involved in the present study. Faecal pH showed differences among groups, in which cows with subclinic laminitis presented a significantly lower faecal pH. It has been well known that faecal pH monitoring is strongly dependent on duration between sampling and measuring, besides may be influenced by management factors, (cattle movement/feeding, barn cleaning i.e.) (20). In the present study the duration between sampling and analysing was too short (within seconds), suggesting that time was excluded as a factor influencing analysis.

From another point of view as SARA alterations did not have influence on fecal pH (15, 18), whereas timing of the sampling had had discrepancy on fecal pH as must be taken into consideration (15). Fecal pH is lowered when excessive amount of starch escape digestion from the rumen and intestines, resulting with an increased hindgut fermentation

tiempo de análisis de pH fecal debe considerarse para la evaluación del pH fecal (13). En contraste, Morgante et al (12) determinaron que las vacas con SARA [pH ruminal > 5.8 (vacas acidóticas)] presentaron un pH fecal (6.50±0.04) menor que el de vacas (6.50±0.03) sin SARA (pH ruminal >5.8). Eastridge (19) estableció que el pH fecal puede reducirse, aun en casos de digestión con excesivo escape de almidón, resultando en una alta elevación de fermentación del intestino posterior. Diferencias relevantes en los contenidos del concentrado en la dieta entre el estudio actual y el de Li et al (13), Morgante et al (12) y Enemark et al (18) pueden ser brevemente explicadas dentro de las discrepancias entre los efectos de SARA en el pH fecal para estos estudios. Una vaca con laminitis fue diagnosticada con un valor crítico de SARA debido a bajo pH ruminal, de 2.79, en el presente estudio, mientras que el resto de los animales no presentaron SARA.

El pH fecal fue variable y no tuvo correlación con las raciones involucradas en el presente estudio. El pH fecal mostró diferencias entre grupos, en las que vacas con laminitis subclínica presentaron un pH fecal significativamente bajo. Es de conocimiento que el monitoreo del pH fecal depende fuertemente de la duración entre el muestreo y la medición, además de ser influenciado por factores de gestión (movimiento del ganado/alimentación, limpieza de establos, por ejemplo) (20). En el presente estudio la duración entre el muestreo y el análisis fue muy corto (en segundo), sugiriendo que el tiempo fue excluido como un factor que influencia el análisis.

Desde otro punto de vista, las alteraciones de SARA no tuvieron influencia en el pH fecal (15,18), mientras que si los tiempos de muestreo tuvieron discrepancias en el pH fecal debe tenerse en cuenta (15). El pH fecal se disminuye cuando una cantidad excesiva de digestión con escape de almidón existe del rumen e intestinos, resultando en fermentación del intestino posterior incrementada (19). No debería ser poco sabio sacar la conclusión probable de que el menor pH fecal obtenido entre vacas con laminitis subclínica puede ser debido a un incremento en la digestión de intestino posterior. De acuerdo con esta opinión, los datos disponibles de caballos con laminitis sugieren que las enzimas de metaloproteinasa producidas por *Streptococcus Bovis* en el intestino posterior pueden ser la causa existente de laminitis (21). Aún si estas enzimas están involucradas en la laminitis del ganado lechero, pueden existir dentro del origen del intestino posterior. De acuerdo a esta hipótesis, la laminitis puede ser consecuencia de fermentación anormal de carbohidratos en el intestino posterior en lugar de la acidosis ruminal en el ganado (22), como se menciona anteriormente.

(19). It should not be unwise to draw a probable conclusion that lower fecal pH obtained among cows with subclinical laminitis may be due to increased hindgut fermentation. In agreement within this opinion, available data from horse with laminitis suggested that metalloproteinase enzymes produced by *Streptococcus bovis* in the hindgut might be the existing cause for laminitis (21). Even if the latter enzymes are involved in dairy cattle laminitis, they may exist within hindgut origin. According to the latter hypothesis, laminitis may be a consequence of abnormal hindgut fermentation of carbohydrates instead of ruminal acidosis in cattle (22), as aforementioned above.

### Significant blood gas alterations.

**pO<sub>2</sub> changes.** Given the statistical changes in the present study, mean pO<sub>2</sub> values decreased statistically ( $p > 0.05$ ) in cows with subclinical laminitis. This may be partly explained from the observations/conclusions arising in a prior study evaluating the blood gas changes in induced laminitis among horses (23). In an attempt to draw conclusion from the latter study one should precisely evaluate the results. During experimentally induced laminitis in horses there was a significant alteration in the median palmar venous pO<sub>2</sub> and concurrent decline in the median palmar avO<sub>2</sub>, observed during the onset of lameness. According to the latter investigators, several factors might have influence on this.

There was no difference in the arterial oxygen pressure excluding out external conditions (i.e. mechanical or atmospheric influences). Besides no concurrent alteration was noticed in respiratory rate or frequency. Investigators suggested some probable explanations including: (i) changed blood flow over the capillary vessels (vasoconstriction/arteriovenous shunting); ii) lack of oxygen delivery to the tissues, iii) declined cellular utilization of oxygen, via altered tissue metabolism or any obstruction for cellular respiratory enzymes; iv) thickened or edematous vascular membrane resulting within a failure of oxygen to diffuse out of the capillaries to the tissues (23). pO<sub>2</sub> decline detected in horse in the latter study involved digital arteries, however the blood samples and therefore the results of pO<sub>2</sub> values were related to central blood. It must be mentioned that obtaining a venous sample is easier than an arterial sample. Venous blood may possess enough information for assisting in clinical decisions; besides the vast majority of blood gas values are similar in venous and arterial blood (24). In agreement within the latter authors, and as expected, the latter two conditions (i.e. iii and iv.) might play a pivotal role for pO<sub>2</sub> alterations, during laminitis, as identified within the cows of the present study.

### Alteraciones significativas de gas en la sangre.

**Cambios de pO<sub>2</sub>.** Dados los cambios estadísticos de este estudio, los valores medios de pO<sub>2</sub> decrecieron estadísticamente ( $p > 0.05$ ) en vacas con laminitis subclínica. Esto puede ser parcialmente explicado con las observaciones / conclusiones que surgen de un estudio anterior que evalúa los cambios de gas en la sangres en laminitis inducida en caballos (23). En un intento por sacar una conclusión del anterior estudio uno debe evaluar estos resultados de manera precisas. Durante laminitis inducida experimentalmente en caballos existe una alteración significativa del pO<sub>2</sub> vena palmar media y un declive concurrente en avO<sub>2</sub> palmar medio observado durante la aparición de claudicación. De acuerdo a los anteriores investigadores, varios factores pueden haber influenciado esto.

No hubo diferencia entre la presión de oxígeno arterial excluyendo condiciones externas (i.e. influencias mecánicas o atmosféricas). Además, ninguna alteración concurrente fue observada en la frecuencia respiratoria. Los investigadores sugirieron que explicaciones probables incluyen: (i) flujo sanguíneo cambiado en los vasos capilares (vasoconstricción/ derivación arteriovenosa); (ii) falta de suministro oxígeno a los tejidos, (iii) utilización reducida de oxígeno por las células, a través de metabolismo de tejidos alterados u obstrucción debido a enzimas respiratorias celulares; (iv) membrana vascular edematosa o engrosada como resultado de falla del oxígeno en difundirse de los capilares a los tejidos (23). El declive de pO<sub>2</sub> en los caballos en el estudio anterior involucró arterias digitales, sin embargo las muestras de sangre y por ende los resultados de los valores de pO<sub>2</sub> tuvieron relación con la sangre central. Debe mencionarse que obtener una muestra venosa es más sencillo que una muestra de arteria. La sangre venosa puede tener suficiente información para asistir en decisiones clínicas; además la amplia mayoría de valores de gas en sangre es similar para sangre venosa y arterial (24). De acuerdo con los anteriores autores, como se espera, las anteriores condiciones (i.e. iii y iv) pueden jugar un papel fundamental en las alteraciones de pO<sub>2</sub>, durante la laminitis, como se observa en las vacas del presente estudio.

El suministro de oxígeno a los tejidos es un requerimiento que amenaza la supervivencia. El pO<sub>2</sub> es una gran parte de la condición fisiológica de un órgano, lo cual resulta de la asociación entre el suministro y el consumo de oxígeno. La oxigenación de tejidos se altera bajo condiciones patológicas (25), como hipoxia hepática (26) o laminitis en caballos (23), que puede resultar

Oxygen supply into tissues is a life threatening requirement for survival. The  $pO_2$  is one of the major part of a physiological condition of an organ, resulting from the association among oxygen delivery and consumption. Tissue oxygenation is altered during pathological conditions (25), such as hepatic hypoxia (26) or laminitis in horses (23), that may result with decreased  $pO_2$ , meant hypoxia a significant correlation was evident between hepatic tissue  $pO_2$  and arterial blood  $pO_2$  in hypoxic rabbits (26). Another study among horses with laminitis revealed that median palmar vein  $pO_2$  was increased in horses with laminitis.

On the other hand in dairy cows with subclinical laminitis no acid base imbalance were detected, whereas in that study in Portuguese language, solely abstract was available in English revealed that the results of  $pO_2$  was unknown (27) It should also be noted that hepatic hypoxia (26) might also play a role for significant  $pO_2$  changes detected. However the present authors could not draw this conclusion, as the limitation of the study was lack of hepatic enzyme analysis. Further analysis are warranted analyzing serum biochemical changes, evolving ALT, AST and other relevant hepatic enzyme changes. None of the cows in this study developed severe alterations in acid-base balance or hypothermia, which could have effected the availability of oxygen. It is possible to state that further research of this phenomenon may lead to the development of blood gas analysis, and probably  $pO_2$  as a presumptive diagnostic tool in cattle with subclinical laminitis.

Pain may accompany an autonomic response elevating adrenergic nerve activity and plasma catecholamine levels. As a result vasoconstriction of arterioles, reduced wound perfusion, and decreased tissue  $pO_2$  may occur (28). Therefore the present authors may possibly suggest that the other condition that might be resulting within the decreased  $pO_2$  in cattle with subclinical laminitis is that pain.

This study has demonstrated that there might be a correlation among subclinical laminitis and  $pO_2$  values. As aforementioned above and  $pO_2$  values might probably indicate the pathophysiological changes that occur as part of the pathogenesis of the condition. Besides faecal pH alternatively might be a supportive finding in cattle with subclinical laminitis, at least for the present cases observed in this study. Obtained data did not support that fecal pH may be an early indicator of laminitis, besides decreases in fecal pH both at onset and during disease condition, whereas it may be a helpful parameter in in cattle with subclinical laminitis.

de  $pO_2$  reducido, lo cual significa que existe una correlación importante entre la hipoxia y el  $pO_2$  en los tejidos y el  $pO_2$  de sangre arterial en conejos con hipoxia (26). Otro estudio entre caballos con laminitis reveló que el  $pO_2$  de vena palmar media se incrementó en caballos con laminitas.

Por otro lado, en vacas lecheras con laminitis subclínicas no se detectó ningún desbalance en la base ácida, mientras que en un estudio en Portugués, sólo estaba disponible el abstracto en Inglés, reveló que los resultados de  $pO_2$  eran desconocidos (27). También cabe anotar que la hipoxia hepática (26) puede también jugar un papel importante en los cambios de  $pO_2$  detectados. Sin embargo, los actuales actores no pudieron llegar a esta conclusión, ya que la limitación del estudio fue la falta de un estudio de enzimas hepáticas. Un mayor análisis fue garantizado utilizando cambios bioquímicos del suero, ALT evolutivo, AST y otros cambios relevantes de enzimas hepáticas. Ninguna de las vacas en este estudio desarrollo alteraciones severas en el balance ácido-base o hipotermia, los cuales podrían haber afectado la disponibilidad de oxígeno.

El dolor puede acompañar la respuesta autonómica elevando la actividad nerviosa adrenérgica y los niveles de catecolaminas en plasma. Como resultado, puede ocurrir vasoconstricción de arteriolas, perfusión reducida de heridas y reducción del  $pO_2$  en tejido (28). Por ende los presentes autores pueden posiblemente sugerir que otra condición que puede resultar en reducción de  $pO_2$  en ganado con laminitis subclínica es el dolor.

Este estudio ha demostrado que puede existir una correlación entre laminitis subclínica y valores de  $pO_2$ . Como se menciona anteriormente, los valores de  $pO_2$  pueden probablemente indicar los cambios fisiopatológicos que ocurren como parte de la patogénesis de la condición. Además el pH fecal puede ser un hallazgo de soporte en ganado con laminitis subclínica, por lo menos para los casos actuales observados en este estudio. Los datos obtenidos no apoyaron que el pH fecal pueda ser un indicador temprano de laminitis, más allá de la reducción del pH fecal en los inicios y durante la condición de la enfermedad, considerando que puede ser un parámetro útil en ganado con laminitis subclínica.



## REFERENCES

1. Richert RM, Cicconi KM, Gamroth MJ, Schukken YH, Stiglbauer KE, Ruegg PL. Perceptions and risk factors for lameness on organic and small conventional dairy farms. *J Dairy Sci* 2013; 96(8):5018–5026.
2. Sagliyan A, Gunay C, Han MC. Prevalence of lesions associated with subclinical laminitis in dairy cattle. *Israel J Vet Med* 2010; 65(1):27-33.
3. Lean IJ, Westwood CT, Golder HM, Vermunt JJ. Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. *Livest Sci* 2013; 156(1-3):71–87.
4. Pilachai R, Schonewille JTh, Thamrongyoswittayakul C, Aiumlamai S, Wachirapakorn C, Everts H, Hendriks WH. Diet factors and subclinical laminitis score in lactating cows of smallholder dairy farms in Thailand. *Livest Sci* 2013; 155(2-3):197–204.
5. Bell NJ, Bell MJ, Knowles TG, Whay HR, Main DJ, Webster AJF. The development, implementation and testing of a lameness control programme based on HACCP principles and designed for heifers on dairy farms. *Vet J* 2009; 180:178-188.
6. Harris DJ, Hibburt CD, Anderson GA, Younis PJ, Fitzpatrick DH, Dunn AC, Parsons IW, McBeath NR. The incidence, cost and factors associated with foot lameness in dairy cattle in south-western Victoria. *Aust Vet J* 1988; 65:171-176.
7. Bicalho RC, Oikonomou G. Control and prevention of lameness associated with claw lesions in dairy cow. *Livest Sci* 2013; 156: 96–105.
8. Choquette-Levy L, Baril J, Levy M, St-Pierre H. A study of foot disease of dairy cattle in Quebec. *Can Vet J* 1985; 26: 278-281.
9. Enemark JMD. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): a review. *Vet J* 2008; 176:32–43.
10. Ural DA, 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.
11. Greenough PR. Bovine laminitis and lameness: a hands-on approach. España: Elsevier; 2007.
12. Morgante M, Giancesella M, Casella S, Ravarotto L, Stelletta C, Giudice E. Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. *Comp Clin Pathol* 2009; 18:229-232.
13. Li S, Khafipour E, Krause DO, Kroecker A, Rodriguez-Lecompte JC, Gozho GN, Plaizier JC. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:294-303.
14. Gozho GN, Krause DO, Plaizier JC. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. *J Dairy Sci* 2006; 89(11):4404-4413.
15. Li S, Gozho GN, Gakhar N, Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. Evaluation of diagnostic measures for subacute ruminal acidosis in dairy cows. *Can J Anim Sci* 2012; 92(3):353-364
16. Aschenbach JR, Gabel G. Effect and absorption of histamine in sheep rumen: Significance of acidotic epithelial damage. *J Anim Sci* 2000; 78:464–470.
17. Penner GB, Beauchemin KA. Variation among cows in their susceptibility to acidosis: Challenge or Opportunity? *Adv Dairy Tech* 2010; 22:173-187.
18. Enemark JMD, Jørgensen RJ, Kristensen NB. An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Vet Res Commun* 2004; 28:687-709.
19. Eastridge ML. Major advances in applied dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci* 2006; 89:1311-1323.
20. Jacque K. Effects of induced rumen acidosis on the fecal shedding of *Escherichia coli* in lactating dairy cattle [Honors thesis]. Columbus, Ohio: The Ohio State University; 2012.
21. Pollitt CC. Equine laminitis: A revised pathophysiology. *AAEP Proceedings* 1999; 45:188-192.

22. Oetzel GR. Introduction to Ruminal Acidosis in Dairy Cattle Preconvention. Dairy Herd Problem Investigation Strategies. American Association of Bovine Practitioners 36th Annual Conference, Columbus 2003; 1-11.
23. Kirker-Head CA, Stephens KA, Toal RL, Goble DO. Circulatory and blood gas changes accompanying the development and treatment of induced laminitis. *J Eq Vet Science* 1986; 6(6):293-301.
24. Verma AK. The interpretation of arterial blood gases. *Aust Prescr* 2010; 33(4):124-129.
25. Carreau A, El Hafny-Rahbi B, Matejuk A, Grillon C, Kieda C. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. *J Cell Mol Med* 2011; 15(6):1239-1253
26. Yang W, Hafez T, Thompson CS, Mikhailidis DP, Davidson BR, Winslet MC, Seifalian AM. Direct measurement of hepatic tissue hypoxia by using a novel tcpO<sub>2</sub>/pCO<sub>2</sub> monitoring system in comparison with near-infrared spectroscopy. *Liver Int* 2003; 23(3):163-170.
27. Rodrigues M, Deschk M, Santos GGF, Perri SHV, Merenda VR, Hussni CA. et al. Avaliação das características do líquido ruminal, hemogasometria, atividade pedométrica e diagnóstico de laminite subclínica em vacas leiteiras. *Pesq Vet Bras* 2013; 33(1):99-106.
28. Akca O, Melischek M, Scheck T, Hellwagner K, Arkilic CF, Kurz A et al. Postoperative pain and subcutaneous oxygen tension. *Lancet* 1999; 354(3):41-42.