



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**INCIDENCIA DE ENFERMEDADES DURANTE LA
LACTANCIA TEMPRANA Y SU ASOCIACIÓN CON PARIDAD
Y TAMAÑO DE RODEO EN PREDIOS COMERCIALES**

IRENE CRUZ GONZÁLEZ

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY

2019



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**INCIDENCIA DE ENFERMEDADES DURANTE LA
LACTANCIA TEMPRANA Y SU ASOCIACIÓN CON PARIDAD
Y TAMAÑO DE RODEO EN PREDIOS COMERCIALES**

IRENE CRUZ GONZÁLEZ

Ana Meikle

Director de Tesis

Alejandro Larriestra

**Co-director
de Tesis**

Gretel Ruprechter

**Co-director
de Tesis**

Isabel Pereira

**Co-director
de Tesis**

2019

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

María de Lourdes Adrien Delgado, DCV, MSc, PhD

Departamento de Salud en los Sistemas Pecuarios

Facultad de Veterinaria

Universidad de la República - Uruguay

Andrés Gil, MV, MSc, PhD

Departamento de Bioestadística

Facultad de Veterinaria

Universidad de la República - Uruguay

Daniel Cavestany, MV, MSc, PhD

Departamento de Teriogenología

Facultad de Veterinaria

Universidad de la República - Uruguay

ACTA DE DEFENSA DE TESIS

INFORME DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, quisiera agradecer a los productores, sus familias y trabajadores que me abrieron las puertas de sus establecimientos durante más de un año, sin ellos este estudio no hubiese sido posible.

Gracias a Isabel, por ser mi guía, no sólo en este proyecto pero sobre todo en mi vida como profesional, por la ayuda, el apoyo y el ánimo de siempre, estaré eternamente agradecida.

A Ana, gracias por guiarme en el camino de la ciencia y alentarme a continuarlo, por tu motivación y pasión en lo que haces, por tu enseñanza y palabras justas en cada momento. Por hacer posible este proyecto a través de tu premio L'Oreal y de la presentación a mi beca ANII.

A Alejandro y Gretel aportando cada uno sus conocimientos y apoyo, además del tiempo que dedicaron para enseñarme y ayudarme en este proceso. Y a Joaquín por la ayuda en el análisis y el "bendito" SAS, por despejarme siempre las dudas que tenía. Al Departamento de Epidemiología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Facultad de Río Cuarto, por la amabilidad y buena onda durante mi estadía allí.

A las chicas del LEMA, no sólo por la ayuda con los análisis de laboratorio sino también por la apoyo, el cariño, risas y lindas charlas. A Agustina que me dio tremenda mano con el procesamiento de las muestras cuando yo no estuve.

A mi padres, por ayudarme a cumplir mis sueños, por su amor y apoyo incondicional y por su confianza en mí.

A Guille, gracias por ser como sos, por acompañarme y alentarme siempre, por tu paciencia, amor y contención.

A todas mis amigas, hermanas que me ha regalado la vida, gracias por estar siempre en las buenas y en malas, por el aguante, los oídos y hombros que me brindaron, además de alguna que otra cerveza bien fría. A Laura y Mariangel, amigas colegas y compañeras de un maravilloso equipo al que me siento muy afortunada de formar parte, gracias por todo.

A Ro, Mery y mis primos (Eli, Andre, Pablo, Diego y Ale) y los chiches (Kuka y Miguel) que me abrieron las puertas de su hogar y me hicieron sentirlo como el mío, haciendo que lo extrañe un poquito menos.

Sin duda alguna tengo muchas personas a las que agradecer, que de alguna forma u otra me ayudaron y me dieron fuerzas para seguir adelante y hoy poder estar en donde estoy, a todos ellos muchas gracias!!

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	11
SUMMARY	12
ABREVIATURAS.....	13
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	14
1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	16
<i>Hipocalcemia</i>	18
<i>Retención de placenta y Metritis</i>	19
<i>Mastitis clínica</i>	20
<i>Cojeras</i>	20
2. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA	22
3. HIPÓTESIS.....	24
4. OBJETIVOS	24
4.1. Objetivo general.....	24
4.2. Objetivos específicos	24
5. MATERIALES Y METODOS	25
5.1. Selección de los tambos	25
5.2. Manejo de la alimentación	25
5.3 Manejo reproductivo	26
5.4 Manejo de la salud	26
5.5 Diseño del estudio y registro de enfermedades.....	26
5.6. Cohorte de seguimiento intensivo.....	27
5.7. Caracterización pluviométrica del período de estudio	28
5.8. Análisis estadístico.....	28
6. RESULTADOS.....	30
6.1. Descripción de la cohorte general.....	30
6.2. Estadística descriptiva de las enfermedades durante la lactancia temprana.....	31
6.3. Mellizos y mortalidad perinatal	32
6.4. Retención de placenta - metritis.....	33
6.5. Mastitis clínica	33
6.6. Cojeras	34
6.7. Otras enfermedades.....	34

6.8. Descripción general de la cohorte intensiva.....	34
6.11. Asociación entre enfermedades y predictores de la incidencia.....	37
7. DISCUSIÓN	39
8. CONCLUSIONES	46
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
10. ANEXO.....	61

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue describir la incidencia de enfermedades de la vaca lechera durante la lactancia temprana en sistemas pastoriles mixtos en Florida, Uruguay. Además, se investigó si la paridad (primíparas PP vs múltiparas MP) y el tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs >500 VM, tambos grandes, TG) eran factores de riesgo para la presentación de enfermedades. Se incluyeron 5375 partos de vacas Holstein (24,5 % PP) durante un año en 13 predios comerciales (7 TCH y 6 TG). Los encargados de los tambos registraron eventos de salud acorde a definiciones establecidas durante los primeros 90 días en leche (DEL). En una submuestra de 757 animales se tomó una muestra de sangre y se registró su condición corporal (CC) entre los días 0 y 4 postparto. Para la incidencia de las enfermedades se determinó según paridad y tamaño de rodeo usando procedimientos **FREQ** de **SAS** y se analizó a través de regresión logística múltiple usando procedimiento **GLIMMIX** de **SAS**, que incluyó paridad y tamaño de rodeo en el modelo; y para retención de placenta-metritis incluyó además terneros nacidos muertos y mellizos. El rodeo se consideró como efecto aleatorio. El 36,5% de las vacas monitoreadas tuvo al menos un evento clínico en sus primeros 90 DEL. La incidencia de enfermedades fue 2,2%, 4,9%, 4,4%, 27,6% y 5,0% para parto de mellizos, terneros nacidos muertos, retención de placenta-metritis, mastitis clínica y cojeras, respectivamente. En vacas PP, el nacimiento de terneros nacidos muertos fue mayor que en MP, mientras que en las vacas MP fue mayor el nacimiento de mellizos, retención de placenta-metritis y mastitis. El tamaño de rodeo afectó la mastitis y las cojeras, siendo mayor en TG. La retención de placenta-metritis se vio afectada por el nacimiento de terneros muertos y de mellizos. Esta es la primera descripción poblacional de patologías durante la lactancia temprana en rodeos lecheros en nuestro país y su asociación con la paridad y tamaño de rodeo. En la población muestreada, el 79% presentó hipocalcemia subclínica ($\leq 2,1$ mmol/L) y fue mayor en MP que en PP. El 48% de la población presentó alta concentración ($> 0,6$ mmol/L) de ácidos grasos de esterificados (AGNE). La hipocalcemia subclínica se asoció con altos niveles de AGNE y una relación Ca:P menor a 1. La mastitis se vio afectada por las concentraciones bajas de calcio, altas de AGNE y baja CC. La asociación entre la hipocalcemia subclínica con los altos niveles de AGNE, sugieren que tanto el metabolismo energético como el del calcio están interrelacionados y que ambos influyen sobre el riesgo de mastitis en la lactancia temprana, aunque con mayor impacto en las vacas primíparas.

SUMMARY

This thesis aimed to describe the incidence of diseases in dairy cows during early lactation in grazing systems in Florida, Uruguay. Also, to investigate if parity (primiparous PP vs multiparous MP) and herd size (<250 cows, small herds, SDH vs >500 cows, large herds, LDH) are risk factors for diseases. Holstein dairy cows (n=5375, 24,5% PP) calving during a year in 13 dairy herds (7 SDH and 6 LDH) were included. Herd managers recorded disease events according to established definitions during 90 day in milk (DIM). In 757 cows a blood sample was taken and BCS was registered between 0 and 4 days postpartum. Incidence of diseases were described through descriptive statistics according to parity and herd size using FREQ procedures of SAS. Data were analyzed by multivariate logistic regression using GLIMMIX procedures of SAS. The model included parity and herd size; for retained placenta-metritis the model also included stillbirth and twins. Farm was used as random effect. 36.5% of the cows monitored had at least one clinical disease. In their first 90 DIM, disease incidence were 2.2%, 4.9%, 4.4%, 27.6% and 5.0% for twin birth, stillbirth, retained placenta-metritis, clinical mastitis and lameness, respectively. In PP cows, stillbirth was higher than MP, while in MP was higher twin birth, RP-metritis and mastitis. Herd size affected mastitis and lameness, being higher in LDH. RP-metritis was affected by stillbirth and twin birth. This is the first population description of pathologies during early lactation in dairy herds of our country and its association with parity and herd size. In the sampled population, 79% had subclinical hypocalcemia ($\leq 2,1$ mmol/L), higher in MP than PP. Besides, 48% of the cows had high concentration ($> 0,6$ mmol/L) of non esterified fatty acids (NEFA). Subclinical hypocalcemia was associated with high concentration of NEFA and ratio Ca:P less than 1. Mastitis was affected by low concentration of calcium, high NEFA concentration and low BCS. These findings suggest that energetic and calcium metabolism are interrelated and both influence the risk of mastitis in early lactation, although with greater impact on primiparous cows.

ABREVIATURAS

AGNE: Ácidos grasos no esterificados

BEN: Balance energético negativo

CC: Condición corporal

DEL: Días en leche

IA: Inseminación artificial

MP: Multíparas

MS: Materia seca

OR: Odd ratio

PP: Primíparas

RP: Retención de placenta

TCH: Tambos chicos

TG: Tambos grandes

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

- Tabla 1** Características descriptivas de los 13 tambos en Florida, Uruguay entre Marzo 2016 a Febrero 2017.
- Tabla 2** Estadística descriptiva y variabilidad intra-rodeo de la incidencia de características de partos y de enfermedades de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs múltíparas, MP) en tambos de Florida, Uruguay (n=13).
- Tabla 3** Estadística descriptiva y variabilidad intra-rodeo de la incidencia de características de partos y de enfermedades de acuerdo al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) en tambos de Florida, Uruguay (n=13).
- Tabla 4** Modelo de regresión logística multivariado para retención de placenta - metritis en tambos de Florida, Uruguay (n=13).
- Tabla 5** Modelo de regresión logística multivariado para mastitis clínica en tambos de Florida, Uruguay (n=13).
- Tabla 6** Modelo de regresión logística multivariado para cojeras en tambos de Florida, Uruguay (n=13).
- Tabla 7** Características del parto e incidencia de enfermedades postparto de la cohorte de seguimiento intensivo según paridad (primíparas, PP vs múltíparas, MP).
- Tabla 8** Características del parto e incidencia de enfermedades postparto de la cohorte de seguimiento intensivo según tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG).
- Tabla 9** Estadística descriptiva de la condición corporal (CC), y de las concentraciones de Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) y relación calcio-fósforo (Ca:P) al parto (0-4 días) de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs múltíparas, MP) de la cohorte intensiva.
- Tabla 10** Estadística descriptiva de la condición corporal (CC), y de las concentraciones de Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) y relación calcio-fósforo (Ca:P) al parto (0-4 días) de acuerdo al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) de la cohorte intensiva.
- Tabla 11** Proporción de vacas con condición corporal subóptima, hipocalcemia subclínica, relaciones Ca:P anormales, concentraciones de ácidos grasos no esterificados y fósforo altas y bajas de Magnesio acorde a la

paridad (primíparas PP vs multíparas MP) en la cohorte de seguimiento intensivo.

- Tabla 12** Proporción de vacas con condición corporal subóptima, hipocalcemia subclínica, relaciones Ca/P anormales, concentraciones de ácidos grasos no esterificados y fósforo altas y bajas de Magnesio acorde al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) en la cohorte de seguimiento intensivo.
- Tabla 13** Modelo de regresión logística multivariado para la hipocalcemia subclínica en la cohorte de seguimiento intensivo.
- Tabla 14** Modelo de regresión logística multivariado para mastitis clínica en la cohorte de seguimiento intensivo.
- Figura 1** Promedio mensual (–), mínimo y máximo (....) de precipitaciones en los 13 predios durante el año de estudio. La sombra gris son las precipitaciones históricas entre los años 1961-1990 (Inumet).
- Figura 2** Distribución mensual de los partos según tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG).
- Figura 3** Distribución mensual de los partos según categoría animal (primíparas, PP vs multíparas, MP).
- Figura 4** Distribución de casos sin discriminar el diagnóstico, según los días postparto.
- Figura 5** Distribución de los casos de mastitis, según los días postparto, de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs multíparas, MP).

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En términos generales podemos considerar que el sistema de producción lechera predominante en Uruguay es pastoril con suplementación (Artagaveytia, 2014). La pastura es el alimento de menor costo (Chilibroste et al., 2010), pero el consumo de materia seca (MS) en sistemas pastoriles es menor que un sistema de confinamiento, por lo que no logran los altos niveles de producción de éstos (Kolver y Müller, 1998). Según estudios nacionales, se debe a que los animales bajo pastoreo se encuentran con un desbalance, entre los requerimientos y la oferta de nutrientes, el cual se intenta corregir a través de la suplementación con reservas forrajeras y concentrados (Chilibroste et al., 2011). Esto da lugar a sistemas más complejos en cuanto al manejo de los alimentos e infraestructura además de una menor proporción de pastoreo directo (Chilibroste et al., 2011; Artagaveytia, 2014). Asimismo, en una década, se mejoró el nivel de producción individual (21% entre 2008 y 2017), que en conjunto con el aumento de la carga (DIEA, 2018), permitieron que el país tenga un crecimiento productivo constante. Sin embargo, este crecimiento se dio con una persistente caída del número de remitentes a planta, (19% desde el 2009) (DIEA, 2018), concomitantemente con un aumento en la escala de los tambos (número de vacas en ordeño, DIEA, 2017).

Cabe mencionar también, que en estos últimos años, el sector lechero nacional atraviesa una situación desfavorable (bajos precios, condiciones climáticas adversas, aumento de los costos de producción, DIEA, 2016). Como país netamente exportador, para continuar siendo competitivos a nivel internacional, los sistemas lecheros tienen como desafío mejorar la eficiencia, tanto en aspectos relacionados con la producción de sólidos en cantidad y calidad, bienestar animal, salud y reproducción, como también controlar los diferentes costos del sistema productivo (Chilibroste, 2015). Los componentes de costos más importantes de los establecimientos lecheros son, la alimentación de la vaca en producción, los derivados del proceso de reposición y el costo de la mano de obra (Ribeiro et al., 2012; Heinrichs et al., 2016). Por otro lado, existen costos, llamados "ocultos" los cuales son difíciles de cuantificar, porque se refieren a las pérdidas producidas por los problemas de salud, bienestar animal y reproducción. En nuestro país, desconocemos la magnitud de las pérdidas acorde a estos factores.

Por otro lado, a nivel de la vaca lechera, para conseguir una lactancia óptima y eficiente, se debe tener en cuenta que la misma inicia en la lactancia previa, y es especialmente importante en el período de transición, el cual se define como el lapso comprendido entre las tres semanas previas y las tres posteriores al parto (Goff y Horst, 1997). Es en dicho período en que la vaca lechera experimenta una disminución en el consumo de MS, más dramático durante las últimas semanas preparto, y que persiste hasta el posparto temprano (Grummer, 1995). Al mismo tiempo, aumentan los requerimientos, que comienzan por el crecimiento fetal y calostro génesis en el preparto, y que luego se acentúan con el aumento súbito y marcado de la producción de leche luego del parto (Drackley, 1999). El ingreso de nutrientes por la ingesta no logra compensar dicha exigencia, por lo que la vaca entra en balance energético negativo (BEN) (Drackley, 1999). En consecuencia, debe movilizar sus reservas corporales, las cuales pueden llegar a ser más del 60% de su grasa corporal (Tamminga et al., 1997), para adaptarse metabólicamente a la gran

demanda de leche (Chilliard, 1999; Grummer et al., 2004). Las vacas experimentan dicho BEN con pérdida de su condición corporal (CC), por lo que es importante que lleguen al parto con un estado corporal óptimo para una buena producción de leche y evitar enfermedades, además de no afectar su posterior fertilidad (Ingvarsten, 2006; Risco y Meléndez, 2011). Un exceso en las reservas de tejido adiposo, es decir vacas gordas ($\geq 3,5$, en una escala de 5 puntos según Ferguson et al., 1994) pueden llegar a disminuir aún más su consumo de MS (Roche et al., 2009), por lo que movilizan excesivamente sus reservas corporales, lo que se relaciona con una mayor incidencia de enfermedades (Drackley, 1999), principalmente de cetosis e hígado graso (Grummer, 1995; Ingvarsten y Andersen, 2000). Según Roche et al. (2007; 2013), la CC óptima al parto se encuentra entre 3 y 3,5 para así minimizar el riesgo de los problemas de salud alrededor del parto y maximizar la producción de leche, respectivamente.

Dicha movilización grasa se manifiesta con una pronunciada elevación de los ácidos grasos no esterificados (AGNE) en sangre (Ingvarsten y Andersen, 2000; Meikle et al., 2004). Por lo tanto, los AGNE comienzan a aumentar 2 a 3 semanas antes del parto y alcanzan un máximo en el parto o durante la primera semana de lactancia en apoyo de la misma (Ingvarsten y Andersen, 2000). Si bien cierta concentración de AGNE en sangre es normal como parte de la adaptación al BEN, niveles altos de los mismos indican un BEN excesivo lo cual se asocia con un detrimento concomitante de la salud y la producción (McArt et al., 2013). Tal es así, que muchos investigadores determinaron valores de referencia para la concentración de AGNE medidos en el preparto y en el posparto para identificar aquellas vacas con mayor riesgo de tener problemas de salud como desplazamiento de abomaso, retención de placenta (RP), metritis, cetosis clínica y mastitis (LeBlanc et al., 2005; Mulligan y Doherty, 2008; Meléndez et al., 2009; Ospina et al., 2010; Chapinal et al., 2011; Seifi et al., 2011)

A su vez, dicha adaptación es diferente de acuerdo a la paridad. En nuestro país, se ha reportado que las primíparas (PP) experimentan una mayor pérdida de CC, lo que refleja un mayor BEN, y con recuperación más lenta, que las vacas multíparas (MP) (Meikle et al., 2004; Cavestany et al., 2005; Adrien et al., 2012). El BEN es más crítico en las PP porque estos animales están todavía en crecimiento, simultáneamente con la producción de leche y un menor consumo de MS que las MP (Ingvarsten y Andersen, 2000; Grummer et al., 2004). Por el contrario, se ha reportado en sistemas de confinamiento que las vacas PP presentan menores niveles de AGNE, asociado a que tienen menor producción de leche y mejor partición de nutrientes (Wathes et al., 2007). Esta disparidad en los reportes puede asociarse al manejo específico de la categoría. Las vacas PP sufren especialmente el estrés causado por el primer parto, el cambio de las demandas metabólicas, así como nuevos manejos que atraviesan, como la introducción a la sala de ordeño y cambios en la dieta, sumado al efecto de la dominancia que ejercen las vacas adultas sobre las más jóvenes (Grant y Albright, 2001; Eicher et al., 2007).

Asimismo, previo al parto comienza a deprimirse el sistema inmune, lo que puede estar implicado en la etiología y el establecimiento de infecciones más severas y mayores reacciones inflamatorias (Wells et al., 1977; Dettloux et al., 1995; Goff y Horst, 1997; Overton y Waldron, 2004). Este aumento de susceptibilidad a las enfermedades es debido a que la función inmune se ve afectada (Wells et al., 1977;

Detilleux et al., 1995; Goff y Horst, 1997). Principalmente los neutrófilos, células esenciales en el rol de defensa contra patógenos, por ejemplo en enfermedades como mastitis e infecciones uterinas (Hammon y Goff, 2006; Graugnard et al., 2012). Además, una concentración elevada de AGNE puede perjudicar la función inmune, dañando la habilidad bactericida de los polimorfonucleares e inhibición de la proliferación y secreción de interferón gamma por parte de las células mononucleares (Hammon et al., 2006; Ster et al., 2012).

Por lo tanto, el período de transición es el momento de mayor riesgo para la vaca lechera de sufrir algún evento de salud. LeBlanc (2010) reportó que entre un 30 y 50% de las vacas lecheras se enferman, principalmente dentro de los primeros 10 días posparto (LeBlanc et al., 2006). La información en salud de rodeos lecheros se ha generado principalmente en sistemas en confinamiento. Los estudios que compararon dichos sistemas con lo de pastoreo, reportan que los últimos presentan menos problemas de salud (Goldberg et al., 1992; Washburn et al., 2002). Sin embargo, Sepúlveda et al. (2015) en Chile, reportaron una alta incidencia de enfermedades en sistemas bajo pastoreo. Esto es relevante, ya que si bien la imagen de las vacas en pastoreo para el consumidor está asociada con el bienestar animal (Verkerk y Hemsworth, 2010), hay una tendencia confirmada de aumentar el número de vacas por tambo, en todas las industrias lácteas (Robbins et al., 2016). Además, Beggs et al. (2015) reportan que aumentar el tamaño de rodeo en sistemas pastoriles, aumenta el tiempo de ordeño, el tiempo fuera de la parcela y las distancias recorridas, factores que pueden reducir el bienestar animal a menos que se implementen prácticas específicas de manejo (Verkerk y Hemsworth, 2010).

La hipocalcemia puerperal, cetosis, desplazamiento de abomaso, RP, metritis, mastitis y afecciones podales son las principales desórdenes relacionados al periparto (Goff y Horst 1997; Ingvarsen, 2006; LeBlanc et al., 2006). Además, dichas enfermedades están asociadas entre sí, por ejemplo, las vacas con parto de un ternero muerto tienen mayor riesgo de RP y metritis, y las vacas con hipocalcemia clínica tienen más riesgo de desplazamiento de abomaso y cetosis (Curtis et al., 1983; Oltenacu et al., 1990; Correa et al., 1993).

Hipocalcemia

La hipocalcemia clínica ocurre dentro de las 48-72 horas posparto (Kavitha et al., 2014). La calcemia normal de los bovinos se mantiene entre 2,1 y 2,5 mmol/L (Goff, 2008), sin embargo, LeBlanc (2014), utiliza como valor de referencia 2,2 mmol/L para establecer la hipocalcemia subclínica. En un estudio realizado en Chile, en sistemas pastoriles, Sepúlveda et al. (2015) reportaron una incidencia de hipocalcemia clínica de 4,2% y de 20% de hipocalcemia subclínica. Mientras que en Nueva Zelanda se reportó un 2% de incidencia para hipocalcemia clínica (McDougall, 2001) y 40% de hipocalcemia subclínica (Roche et al., 2002). Si bien en Uruguay, no se ha determinado prevalencia de hipocalcemia subclínica, un estudio en un establecimiento lechero, reportó la media de la calcemia al parto de 1,81 mmol/l (1,51-2,12 mmol/l) (Albornoz, 2006). Existen diferentes factores de riesgo para esta enfermedad, entre ellos se encuentra la paridad donde las vacas MP tienen más riesgo de tener hipocalcemia tanto clínica como subclínica (Reinhardt et al., 2011; Ruprecht et al., 2018). Por ejemplo, Reinhardt et al. (2011) reportaron

que un 25% de las PP y entre un 41-54% de las MP, presentaron hipocalcemia subclínica medido dentro de las 48 horas posparto. Otro factor de riesgo es la hipomagnesemia ya que afecta a la parathormona, al igual que un exceso en los niveles de fósforo, que puede inhibir indirectamente la absorción de calcio en el intestino (Mulligan y Doherty, 2008; Goff, 2014). Otros factores de riesgo son la raza, siendo la Jersey más susceptible, la CC siendo las vacas de mayor CC las de mayor riesgo (Houe et al., 2001) y el nivel de producción por mayor pérdida de calcio por la leche y calostro (Kavitha et al., 2014). A su vez, se menciona que tanto la hipocalcemia clínica como la subclínica son una enfermedad de "entrada" ya que puede reducir la productividad de la consiguiente lactancia y se aumenta el riesgo de sufrir otros desordenes del periparto (Goff, 2008; Mulligan y Doherty, 2008; Venjakob et al., 2017). Por un lado perjudica a las células del sistema inmune (Kimura et al., 2006) y por otro produce una pérdida de tono muscular en el útero y en el esfínter de la pezón después del ordeño aumentando el riesgo de mastitis, prolapso de útero y metritis (Curtis et al., 1983; Mulligan y Doherty, 2008). Disminuye el consumo de MS por lo que tienen más probabilidad de sufrir cetosis (Goff y Horst, 1997) y disminuye la motilidad ruminal, lo que favorece la presentación de desplazamiento de abomaso (Goff, 2008). Así como también puede estar asociada a desórdenes reproductivos e indirectamente podría aumentar el riesgo de descarte (Erb et al., 1985; Stevenson y Call, 1988; Caixeta et al., 2017).

Retención de placenta y Metritis

En cuanto a la RP, es una de las enfermedades posparto más comunes del ganado lechero (Iwersen y Drillich, 2015). Emanuelson y Oltenacu (1998) determinaron la prevalencia de RP entre 3 a 15%, mientras que McDougall (2001) reportó un prevalencia de 2% en Nueva Zelanda. Su incidencia incrementa a causa de abortos, nacimiento de ternero muerto, parto prematuro, parto de mellizos, distocia (Joosten et al., 1987), e hipocalcemia clínica en el periparto (Erb et al., 1985). Además, las vacas MP tienen más riesgo de RP que las PP (Daros et al., 2017). Se ha descrito que una baja CC al secado y aquellas vacas que pierden CC durante el período seco tienen mayor riesgo de RP (Markusfeld et al., 1997). Además es un factor de riesgo en sí mismo para metritis y endometritis, desplazamiento de abomaso y mastitis (Grohn et al., 1989; Oltenacu et al., 1990; LeBlanc, 2008). Esta patología contribuye al aumento de los días al primer servicio y días desde el servicio a la concepción, menor porcentaje de preñez y disminución de la producción de leche (Rajala y Grohn, 1998; Maizon et al., 2004; Dubuc et al., 2011). La metritis se define como la inflamación del útero que resulta en signos sistémicos de enfermedad lo cual incluye fiebre, descarga uterina fétida de color marrón rojizo, depresión, frecuencia cardíaca elevada y disminución de la producción de leche (Sheldon et al., 2006), que ocurre en la primer semana posparto (LeBlanc, 2008). La incidencia es muy variable, en general se reporta entre 15 y 20% (Gilbert, 2016) pero puede llegar a 40% (Stevenson, 2000; Sepúlveda et al., 2015). Dicha variabilidad se debe principalmente a la inconsistencia en el diagnóstico en cada investigación y a la falta de definición clara de la enfermedad en la literatura (LeBlanc et al., 2002). El riesgo de contraer metritis aumenta con la RP, complicaciones obstétricas, y parto de mellizos y es más común en vacas con alta y muy baja CC (Gilbert, 2016). De acuerdo con Sepúlveda y Wittwer (2007), al contrario que en RP, las vacas PP tienen mayor riesgo de sufrir metritis que las vacas MP. A su vez, aquellas vacas que experimentan esta

enfermedad tienen mayor riesgo de tener otras afecciones como mastitis (Schukken, 1989; Schukken et al., 1989), endometritis, ovarios quísticos e incluso aborto posterior (Grohn et al., 1990; Grohn y Rajala-Schultz, 2000) y aumentan el riesgo de desplazamiento de abomaso (Gilbert, 2016). El efecto negativo de las enfermedades uterinas, en la economía de los tambos se debe a la disminución de la producción de leche tanto en vacas MP como PP (Rajala y Grohn, 1998; Dubuc et al., 2011); disminución de la fertilidad (Giuliodori et al., 2013) y también mayor riesgo de sacrificio (Hayes et al., 2012).

Mastitis clínica

En cuanto a mastitis clínica, Ruegg (2003), considera como meta para la incidencia, 2 casos nuevos por cada 100 vacas en ordeño al mes (<24% de vacas afectadas por año). En Uruguay, la incidencia de casos de mastitis clínica se determinó en 11,8 casos cada 100 vaca-año en riesgo (Giannechini et al., 2014). Compton et al. (2007) reportaron factores de riesgo asociados a la mastitis clínica en vaquillonas bajo pastoreo, entre los que se destacan, infección intramamaria preparto, la raza Holstein, la baja altura mínima de los pezones por encima del suelo, el edema de ubre, y baja concentración sérica de AGNE posparto. La paridad es un factor de riesgo ya que las vacas MP tienen mayor probabilidad de tener mastitis clínica que las PP, por mayor producción de leche y mayor tiempo de exposición a patógenos (Petrovski et al., 2009; Richardet et al., 2016). A su vez se ha reportado que a mayor tamaño de rodeo mayor riesgo de mastitis y más recuento de células somáticas en tanque debido a, mayor tasa de infección por haber más cantidad de vacas reservorio (Bartlett et al., 1992; McDougall, 2003; Parker et al., 2007). Además se reporta que en rodeos grandes hay mayor exposición a patógenos ambientales por mayor densidad de población y más tiempo en lugares de alta concentración de animales como áreas de alimentación y el parto donde a veces la higiene es difícil de manejar en sistemas pastoriles (Parker et al., 2007). En concordancia con lo reportado por Ruegg (2009), donde la humedad, el barro y el estiércol en áreas como las de alojamiento, pasturas o caminos, suelen ser los reservorios primarios para los patógenos de la mastitis ambiental. El momento de mayor riesgo para el desarrollo de infecciones mamaria por estos microorganismos es el comienzo y el final del período seco (Ruegg, 2003). La mastitis clínica es una de las enfermedades más importantes y caras de las vacas lecheras (Risco y Meléndez, 2011, Richardet et al., 2016). Tiene un impacto negativo en la producción y calidad de la leche, la reproducción y la longevidad de los animales (Oltenucu y Ekesbo, 1994; Santos et al., 2004).

Cojeras

Las afecciones podales, tienen un efecto perjudicial en la productividad del rodeo, además de comprometer el bienestar animal y la fertilidad (Lucey et al., 1986; Rajala-Schultz et al., 1999; Warnick et al., 2001; Flor y Tadich 2008). Las pérdidas económicas se relacionan con la menor producción de leche (Warnick et al., 2001), menor probabilidad de preñez y menor fertilidad (Meléndez et al., 2003), más probabilidad de morir o ser descartada (Machado et al., 2010) y el costo del tratamiento (Cha et al., 2010). En Uruguay, Freire y Ramos (2005) mencionan una incidencia anual de entre 1,4% al 2,1% del total de las vacas en ordeño, además de

afectar en mayor medida a las vacas PP (Ramos y Freire, 2006). Los factores de riesgo asociados a rengueras descritos, incluyen tanto aquellos de naturaleza ambiental (clima, suelo, barro, etc), donde el período más vulnerable es después de los períodos de lluvias fuertes debido a que suaviza y desgasta la pezuña (Chesterton, 2006). De hecho, en Uruguay, Freire y Ramos (2005) informaron que la temporada de lluvias (otoño e invierno) se asocia a más vacas rengas. Por otra parte, el tamaño de rodeo se ha reportado como factor de riesgo para las afecciones podales, debido a mayores distancias a caminar, que combinadas con superficies duras, puede convertirse en una causa significativa de rengueras (Chesterton, 2006; Flor y Tadich, 2008). Más aún, las cojeras en los sistemas bajo pastoreo, está muy influenciada por las instalaciones y el manejo (Chesterton, 2006). Dos causas de cojeras son los caminos mal mantenidos y el manejo impaciente del rodeo en ordeño en caminos y en el corral de espera (Sauter-Louis et al., 2004; Chesterton, 2006). También se ha señalado a la nutrición, debido al exceso de carbohidratos solubles y proteína o la inadecuada relación fibra/concentrado, carencia de fibra efectiva y cambios bruscos de alimentación (Ramos, 2006). Además, el biotipo animal es un factor importante ya que las vacas de mayor peso y tamaño son menos longevas siendo las patologías podales la principal causa de eliminación (Hansen et al., 1998). Según el sistema de score de Sprecher et al. (1997), vacas con una puntuación promedio > 2 aumentan los intervalos desde el parto hasta el primer servicio y la concepción, también requerirían mayor cantidad de servicios por preñez y serían 8,4 veces más propensas a ser descartadas.

2. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

En las últimas décadas ha existido una selección genética intensa en vacas Holando para el aumento en la producción de leche individual, la que ha sido acompañada por un aumento concomitante de los problemas de salud (Miglior et al., 2017). Esto se traduce en pérdidas económicas debido a la disminución en cantidad y calidad de leche y por el aumento de los costos asociados con los tratamientos veterinarios y los animales de reemplazo (Ingvarsten, 2006; Mulligan y Doherty, 2008; Miglior et al., 2017). Se ha reportado que aproximadamente entre un 30 y un 50% de las vacas lecheras sufren algún tipo de enfermedad durante su lactancia en sistemas de producción estabulados (LeBlanc, 2010). La hipocalcemia, cetosis, RP, metritis, mastitis y cojeras son las principales afecciones en rodeos lecheros (Goff y Horst, 1997; LeBlanc et al., 2006). Si bien en nuestro país existe información relacionada a enfermedades posparto, han sido trabajos que han estudiado una sola enfermedad (hipocalcemia subclínica, cojeras, mastitis,) (Albornoz, 2006; Ramos y Freire, 2006; Giannechini et al., 2014). El período de mayor riesgo de las enfermedades ocurre en el período de transición (Ingversten, 2006). Durante este período, la vaca lechera disminuye su consumo de MS, moviliza sus reservas y pierde CC a favor de la producción de leche y entra en un estado de BEN (Grummer, 1995; Chilliard, 1999; Drackley, 1999).

La adaptación metabólica en dicho período difiere de acuerdo a la paridad. Los animales jóvenes tienen mayores exigencias porque continúan su crecimiento sumado a la producción de leche, además del menor consumo de MS que las adultas (Ingvarsten y Andersen, 2000; Grummer et al., 2004). Además, se debe tener en cuenta, que estos animales tienen el estrés adicional de experimentar por primera vez el parto y la sala de ordeño, los cambios en la dieta asociados a la lactancia y el efecto de la dominancia que ejercen las vacas adultas sobre las más jóvenes cuando son manejadas de forma conjunta (Eicher et al., 2007; Grant y Albright, 2001). Se ha reportado que las vacas MP tienen mayor chance de presentar hipocalcemia tanto clínica como subclínica además de mastitis (Reinhardt et al., 2011; Richardet et al. 2016). Sin embargo, la mayoría de estos reportes son en sistemas de estabulación, siendo muy escasa la información en sistemas pastoriles de producción e inexistente en nuestro país.

Las vacas en sistemas pastoriles tienen un consumo de MS menor que en confinamiento y no logran alcanzar su potencial genético para la producción de leche (Kolver y Muller, 1998). Nuestros sistemas productivos son pastoriles mixtos ya que, debido a las fluctuaciones de disponibilidad de forraje en las diferentes épocas del año, se lo intenta corregir a través de la suplementación con reservas forrajeras y concentrados, lo cual da lugar a sistemas más complejos en cuanto al manejo de los alimentos e infraestructura (Chilibroste et al., 2011; Aguerre et al., 2017). El manejo animal es muy diferente a los estabulados, por lo tanto, los factores de riesgo que los afectan también pueden diferir (Compton et al., 2007). Las condiciones climáticas (lluvias abundantes, estrés calórico), las exigencias de caminatas entre las parcelas y el ordeño, además de los largos períodos que las vacas permanecen sobre el cemento de la sala de espera pueden comprometer la salud (Meikle et al., 2013). Además, se debe tener en cuenta que Uruguay ha acompañado a la tendencia mundial del aumento de la escala de los tambos, los cuales podrían estar más expuestos a los

factores de riesgo que desencadenan varias enfermedades y afectan el bienestar animal.

Por lo tanto, es de importancia generar conocimiento original en salud, en nuestros sistemas de producción y aportar información respecto a la frecuencia de enfermedades del periparto en vacas lecheras, enfatizando en algunos factores de riesgo tales como categoría animal y tamaño de rodeo. Además el estudio de indicadores como CC, AGNE y calcio y su relación con las enfermedades del periparto puede facilitar la comprensión entre el metabolismo y la salud.

3. HIPÓTESIS

La incidencia de enfermedades durante los primeros 90 días postparto, depende de la categoría animal y del tamaño del rodeo.

La condición corporal y las concentraciones de calcio y ácidos grasos no esterificados al parto, están asociados con la incidencia de enfermedades en la lactancia temprana.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Contribuir al entendimiento de la magnitud y variación en la presentación de los diferentes eventos de salud en vacas lecheras de rodeos comerciales manejados bajo un sistema de alimentación pastoril mixto.

4.2. Objetivos específicos

- 1) Describir la incidencia de enfermedades durante la lactancia temprana, evaluando como varía acorde a la paridad (primíparas vs multíparas) y el tamaño de rodeo (rodeos chicos vs grandes).
- 2) Examinar la interrelación entre los principales eventos de salud en el transcurso de los primeros 90 días posparto.
- 3) Evaluar la asociación de la CC y las concentraciones de calcio y AGNE al parto, sobre la presentación de enfermedades durante la lactancia temprana.

5. MATERIALES Y METODOS

El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por el Comité Honorario para la Experimentación Animal en Uruguay (CHEA - UdelaR, Montevideo, Uruguay).

5.1. Selección de los tambos

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo en 13 predios lecheros comerciales ubicados en un radio de 40 km de la ciudad de Florida, Uruguay (34 ° 05 'S y 56 ° 12' W). Los tambos se seleccionaron por conveniencia: de acuerdo a si estaban bajo asesoramiento agronómico y veterinario, además si poseían buenos registros reproductivos y productivos de los animales. Siete de los predios (1-7) eran tambos chicos (TCH) y promediaron en tamaño de rodeo ($X \pm SD$) 144 (± 56) vacas. El resto (8-13), eran tambos grandes (TG) con un tamaño de rodeo promedio de 830 (± 239) vacas. Los predios fueron visitados cada 20 días por el mismo tesista, momento en el que se recolectaban los datos. La información descriptiva de los tambos se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Características descriptivas de los 13 tambos en Florida, Uruguay entre Marzo 2016 a Febrero 2017

Tambo	Vacas PP/MP	Vaca /Há	Lt/vaca /día	VO/VM	Trabajador/ 100 vacas	Kg conc /vaca/día	Kg reserva /vaca/día
1	31/66	1,0	22	0,86	3,1	5,2	9,0
2	18/68	1,2	18	0,82	1,2	3,8	8,0
3	33/66	1,0	22	0,87	1,8	7,0	8,0
4	45/130	1,4	21	0,86	1,6	6,3	8,3
5	38/69	1,4	21	0,82	2,8	4,0	9,0
6	60/94	0,7	12	0,73	2,4	3,0	10,5
7	0 /221	1,2	29	0,89	1,8	7,5	10,3
8	0 /868	1,1	21	0,82	1,3	8,4	4,6
9	393/594	1,1	19	0,88	1,8	9,0	4,5
10	127/300	1,3	22	0,77	2,7	8,0	7,0
11	198/570	1,7	23	0,76	1,3	6,6	6,1
12	171/660	1,4	23	0,82	1,5	8,0	12,4
13	202/353	1,1	18	0,80	1,6	6,0	11,0

PP= Primíparas

MP= Multíparas

Lt/vaca/día= Promedio litros/vaca/día

Kg Conc/vaca/día= Promedio en el año de Kg de materia seca ofrecida como concentrado/vaca/día

Kg reserv/vaca/día = Promedio en el año de Kg de materia seca ofrecida como forraje conservado/vaca/día

5.2. Manejo de la alimentación

Todos los predios eran de pastoreo mixto, es decir, las vacas pastorearon todo el año y, para complementar el pasto, eran suplementadas con concentrado a base de grano y forraje conservado (ensilaje, fardos o silopacks). El promedio de Kg de MS

ofrecida a lo largo del año en cada uno de los predios se muestra en la tabla 1. La suplementación varió acorde al déficit de pastura, especialmente la de los forrajes conservados. Respecto al lugar donde los animales recibían el concentrado, todos los TCH y los tambos 8, 9 y 13 de los TG se alimentaron dentro de la sala de ordeño. Los otros TG (tambos 10, 11 y 12) suplementaron exclusivamente como ración parcialmente mezclada en comederos fuera de la sala de ordeño.

5.3 Manejo reproductivo

Los TCH tuvieron partos durante todo el año, mientras que los TG tuvieron partos estacionales (6 a 9 meses), excepto en el caso del tambo 9, que tuvo partos de forma biestacional (otoño y primavera). Todos los predios usaron inseminación artificial (IA) con detección de celo, pero los predios 8, 10 y 11 (TG) también usaron IA a tiempo fijo al comienzo del período de servicio. Los tambos 1, 3, 5, 7 y 12 usaron exclusivamente IA mientras que el resto de los tambos usaron el uso combinado de IA y toro. La mediana y media (\pm S.D.) de los días posparto a la primera IA fueron 83 y 103,7 (\pm 79,1) días respectivamente. La mediana y media (\pm S.D.) para los días posparto a la concepción fueron 112 y 145,6 (\pm 99,4) días respectivamente.

5.4 Manejo de la salud

El primer día de la visita a los tambos, se preguntó a los propietarios sobre el manejo de la salud de sus animales. Se recopiló información sobre las vacunas, la desparasitación, el aporte de minerales y vitaminas en vacas lecheras y el uso de sales aniónicas en vacas preparto. Todos los tambos desparasitan y vacunan contra enfermedades reproductivas y clostridiales. Los tambos 7, 8, 9, 10, 11 y 12 vacunan contra enfermedades respiratorias y diarrea. Exceptuando el tambo 6 (TCH), el resto utiliza sales aniónicas en el preparto. Además exceptuando tambos 3 y 4, el resto utilizan suplementos minerales y vitamínicos en forma de sales.

Con respecto a la prevención de la mastitis, todos los tambos utilizan tratamiento de secado con antibióticos, y excepto por el tambo 6, todos los predios desinfectan los pezones después del ordeño. Solo los tambos 5, 8 y 9 utilizan desinfección previa al ordeño y los predios 2, 5, 7, 9, 10, 11 y 13 descartan los primeros chorros de leche al comienzo del ordeño. Todos los TG y tambo 7 (TCH) tenían un protocolo para tratamiento con antibióticos de las vacas con mastitis clínica y los tambos 8, 12 y 13 tenían un veterinario especializado en mastitis.

5.5 Diseño del estudio y registro de enfermedades

Se evaluaron 5375 vacas lecheras Holstein (1316 PP y 4059 MP) que parieron entre el 1° de Marzo de 2016 y el 1° de Marzo de 2017. Se registró la paridad (PP o MP), producción de leche en los primeros 90 días postparto, fecha y descripción de los partos (sexo del ternero, nacido vivo o muerto, simple o mellizos), eventos de enfermedades (durante los primeros 90 días postparto). Los encargados de los rodeos recibieron instrucciones de registrar solo los eventos de enfermedad, descritos más adelante. En la primer visita a cada predio, se explicó claramente la definición de

cada enfermedad además de dejar una cartilla con dichas definiciones escritas en el lugar de trabajo.

Las definiciones de las enfermedades fueron las siguientes:

Mortalidad perinatal: se definió como todo ternero nacido muerto o un ternero que murió dentro de las primeras 24 h posteriores al nacimiento (Juozaitiene et al., 2017).

Retención de placenta y metritis: se consideró como un síndrome, una única enfermedad uterina, y se definió RP como todas aquellas vacas tratadas por falta de expulsión de la placenta dentro de las 24 h posteriores al parto (LeBlanc, 2008) y/o tratadas por metritis definida como un animal con una descarga uterina fétida de color marrón rojizo, asociados con signos de enfermedad sistémica (disminución de la producción de leche, depresión u otros signos de toxemia) y fiebre > 39.5 °C (Sheldon et al., 2006).

Hipocalcemia clínica: como toda vaca con buena respuesta al tratamiento con calcio (Sepúlveda et al., 2015) debido a los signos clínicos de la hipocalcemia clínica, que incluye vacas caídas sin poder levantarse; debilidad muscular (Berge y Vertenten, 2014).

Síndrome de la vaca caída: como vacas que no pueden levantarse (Perusia, 1998) sin respuesta positiva al tratamiento con calcio.

Mastitis clínica: toda vaca tratada por operador del tambo con signos compatibles a la misma (caracterizados por la presencia de leche anormal o por signos de inflamación en 1 o más cuartos) (McDougall et al., 2008).

Cojera: vaca con tratamiento o separada del rodeo por problemas podales (Bargo et al., 2009).

Otras enfermedades: cuando las vacas fueron tratadas por indigestión definida como cambio en la consistencia fecal (Berge y Vertenten, 2014), disminución del apetito, ausencia de rumia y leucosis diagnosticada por un veterinario u otras enfermedades (actinomicosis bovina, absceso, fiebre).

5.6. Cohorte de seguimiento intensivo

En una fracción de vacas que parieron entre el 15 de Marzo 2016 y el 29 de Abril 2017 (n=757), al momento del parto (entre el día 0 y 4 posparto) se les extrajo sangre y se registró su CC (n= 668). El 24,4% de vacas pertenecían a TCH. Un 21,7% de las vacas muestreadas eran PP. Se monitorearon los eventos de salud posparto, que dependiendo de la fecha de parto el por un tiempo mínimo de 30 días y máximo de 90 días posparto de seguimiento.

Las muestras de sangre se colectaron por venipunción de la vena coccígea, utilizando tubos Vacutest® (Vacutest Kima, Arzergrande, Italia) de 10 ml con heparina, dichas muestras se centrifugaron a 3000 X g durante 10 minutos y el plasma fue almacenado a -20 °C hasta su posterior análisis en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria.

Dichas muestras se utilizaron para la determinación de calcio (Wiener Laboratories S.A.I.C. Riobamba, Rosario, Argentina), fósforo, magnesio y AGNE (Wako NEFA-

HR, Wako Pure Chemical Industries Ltd., Osaka, Japan), mediante espectrofotometría con un analizador automatizado (Vitalab Selectra II).

Se definió hipocalcemia subclínica cuando la calcemia fue $\leq 2,10$ mmol/L (Chapinal et al., 2012). Para AGNE el punto de corte fue $> 0,60$ mmol/L (LeBlanc, 2014). Se consideraron los rangos de referencia para el fósforo entre 1,1 y 2,3 mmol/L (Hernández, 2018) y para el magnesio entre 0,66 y 1,14 mmol/L (Van de Braak et al., 1987). Se calculó la relación Ca:P, donde el resultado ≥ 1 es el correcto (Wagemann et al., 2014). Además, se consideró que la CC al parto óptima es entre 3 y 3,5 independiente de la paridad (Roche et al., 2007, 2013).

5.7. Caracterización pluviométrica del período de estudio

Durante el año de estudio ocurrieron excesivas precipitaciones en dos momentos específicos (Abril y Julio 2016), las que provocaron en todos los predios, condiciones medioambientales muy desfavorables, respecto del exceso de barro tanto en los accesos al tambo, caminos, encierros, etc.

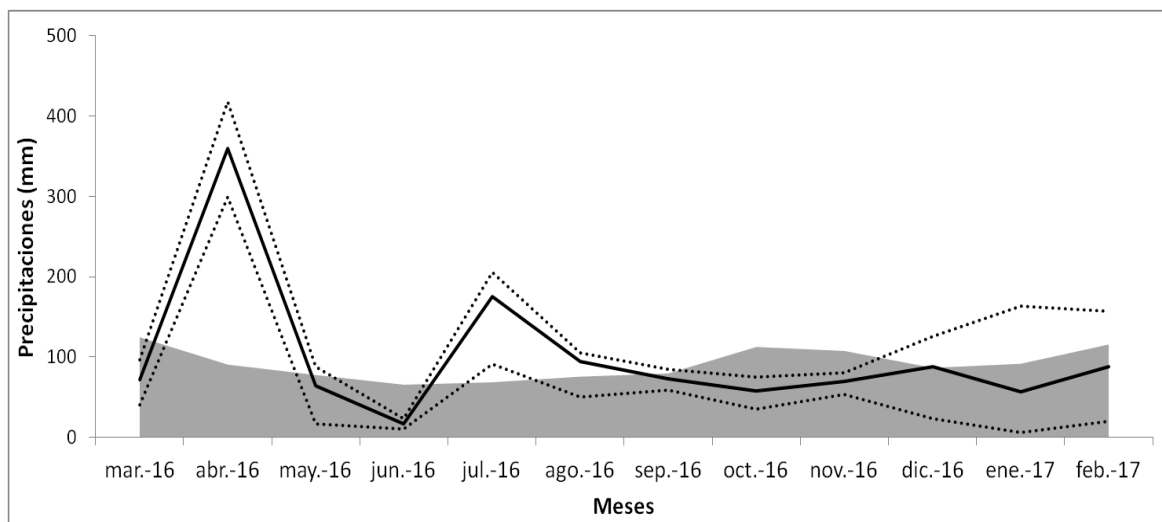


Figura 1. Promedio mensual (-), mínimo y máximo (---) de precipitaciones en los 13 predios durante el año de estudio. La sombra gris son las precipitaciones históricas entre los años 1961-1990 (Inumet).

5.8. Análisis estadístico

En la cohorte general, la incidencia de enfermedades se determinó mediante estadística descriptiva de acuerdo a la paridad (PP vs MP) y el tamaño de rodeo (TCH vs TG) utilizando los procedimientos FREQ y procedimiento MEANS de SAS University versión: 3.8 (Edición Basic) (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE. UU.).

Previo a la aplicación de modelos multivariados, se realizó un análisis estratificado. Para el cálculo de riesgo relativo con su intervalo de confianza de terneros nacidos muertos y mellizos, se utilizó procedimiento FREQ con estadístico de Mantel-Haenszel en SAS. Para el cálculo de diferencia significativa entre proporción de casos a los 14 DEL según PP y MP se realizó en Epidat 3.1.

Mediante un modelo de regresión logística múltiple mixto (procedimiento GLIMMIX de SAS) se evaluó la relación entre el riesgo de enfermedades posparto (presencia o ausencia) y la paridad (PP y MP) y el tamaño del rodeo (TCH vs TG). El mismo incluyó el rodeo como efecto aleatorio. Para la RP-metritis, también se incluyeron adicionalmente como variables de ajuste, la mortalidad perinatal y parto de mellizos.

En cuanto a la cohorte de seguimiento intensivo, se determinó mediante estadística descriptiva a través de procedimiento MEANS de SAS, la media, desvío estándar, mediana, mínimo y máximo de las variables medidas en suero y de la condición corporal.

Además se ajustaron modelos de regresión logística múltiple utilizando el procedimiento GLIMMIX de SAS, para evaluar la asociación entre los eventos de salud (RP-metritis, mastitis, cojeras e hipocalcemia subclínica) y los diferentes factores de exposición (paridad, tamaño de rodeo, CC, niveles de calcio y AGNE al parto), ajustado por tambo.

Todos los eventos de enfermedad se codificaron como 0, 1 (sí, no) variables dicotómicas. El nivel de probabilidad de significancia estadística se fijó en $P \leq 0,05$, y $P \leq 0,1$ para tendencia.

6. RESULTADOS

6.1. Descripción de la cohorte general

De los 5375 partos monitoreados, el 24,5% (n= 1316) correspondió a vacas PP y 17,5% (n= 939) correspondieron a TCH.

La mayoría de las vacas parieron en 3 meses, (entre febrero y abril: 53,5%). La distribución mensual de partos de acuerdo al tamaño de los predios se describe en la Figura 2. Como se describió anteriormente, los TG tuvieron estacionalidad de los partos, concentrándose el 69% de los mismos entre los meses de febrero y mayo. En contraste, los TCH tuvieron partos durante todo el año, con una pequeña concentración de los mismos en febrero-abril (35%) y agosto-setiembre (25%).

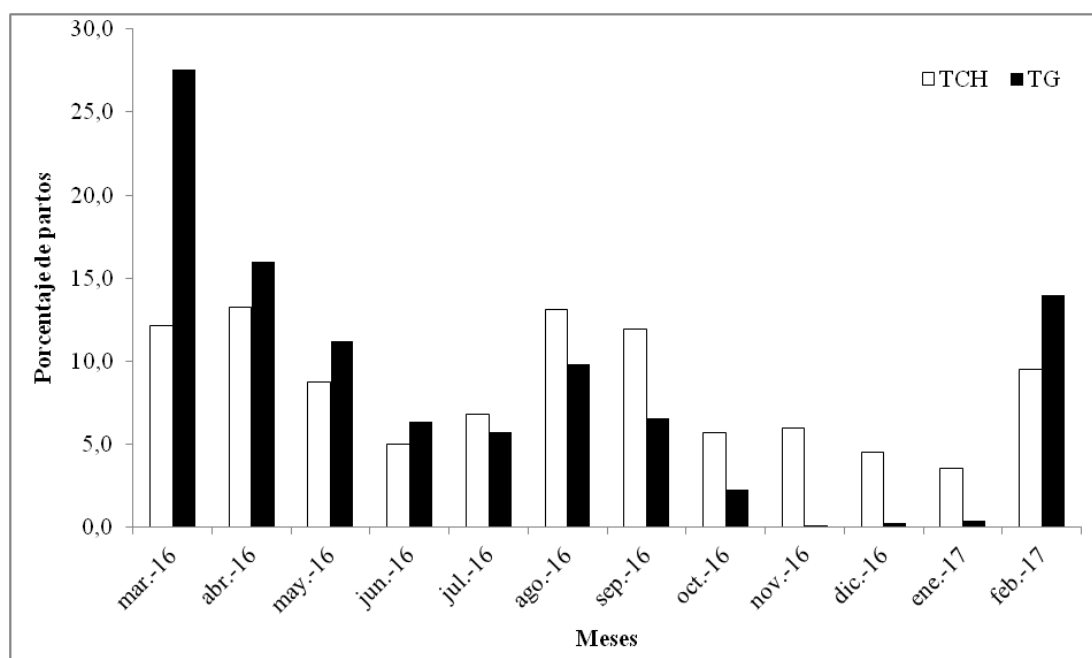


Figura 2. Distribución mensual de los partos según tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG)

Acorde a la paridad, las vacas PP presentaron sus partos concentrados principalmente en marzo (31,4%), con un pequeño pico (15%) en agosto, en tanto que los partos en las MP, se concentraron principalmente entre los meses de febrero y mayo (64%) (Figura 3).

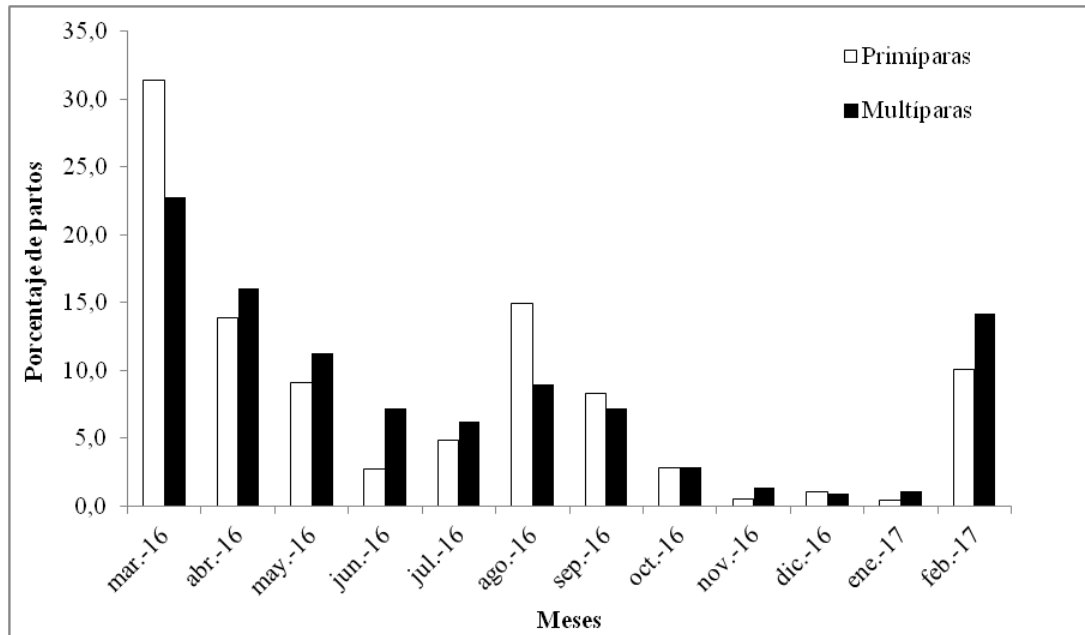


Figura 3. Distribución mensual de los partos según categoría animal (primíparas, PP vs múltiparas, MP)

6.2. Estadística descriptiva de las enfermedades durante la lactancia temprana

Considerando el conjunto de vacas de la cohorte general, un 36,5% experimentó al menos un caso de enfermedad clínica durante sus primeros 90 DEL. El porcentaje de casos según los DEL en que sucedieron dichos casos se muestra en la Figura 4. El 49% de los casos ocurrió en los primeros 10 días posparto y el 69% en los primeros 30 días posparto.

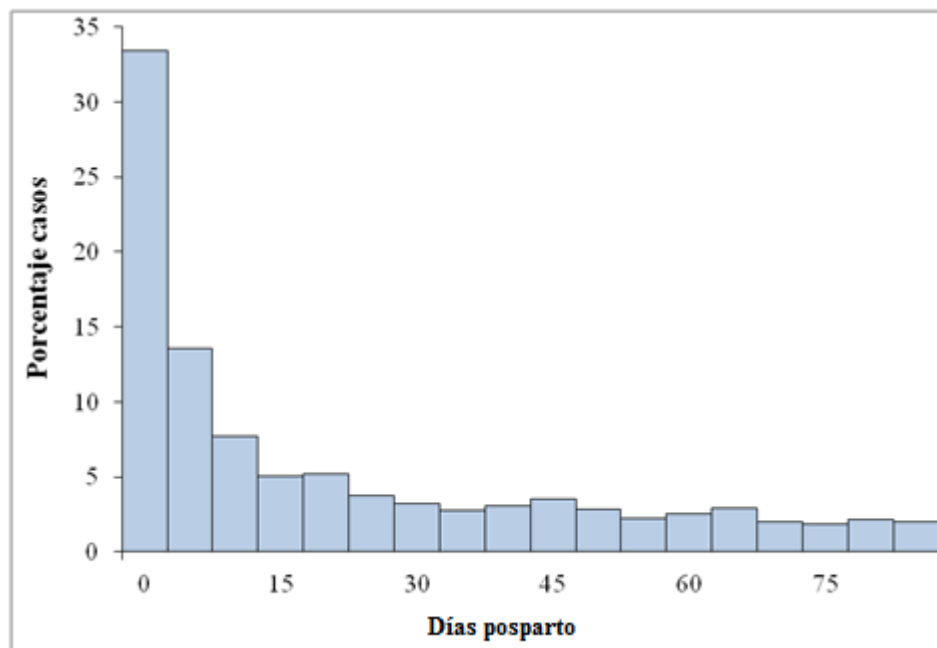


Figura 4. Distribución de casos sin discriminar el diagnóstico, según los días posparto

La estadística descriptiva de las características de los partos y de la incidencia de enfermedades según la paridad y el tamaño de rodeo se muestra en las tablas 2 y 3, respectivamente.

Tabla 2. Estadística descriptiva y variabilidad intra-rodeo de la incidencia de características de partos y de enfermedades de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs múltiparas, MP) en tambos de Florida, Uruguay (n=13).

Variable	PP				MP				Valor P
	X	Med	Min	Max	X	Med	Min	Max	
Partos (n)	119,6	60,0	18,0	393,0	312,2	221,0	66,0	868,0	
Mellizos (%)	0,7	0,0	0,0	9,1	2,7	2,0	0,0	6,1	<0,0001
Mort peri (%)	6,9	6,6	0,0	12,1	4,3	4,4	0,0	10,6	0,0001
RP-Met (%)	3,8	2,4	0,0	10,5	4,6	4,5	0,3	13,1	NS
Mast (%)	17,2	15,7	0,0	48,0	31,0	29,2	7,4	42,0	<0,0001
Cojera (%)	5,8	3,9	0,0	13,2	4,7	3,3	0,0	7,7	NS
IET (%)	25,6	22,6	0,0	50,4	40,0	34,9	12,8	50,9	<0,0001

X= Media

Mort peri= Mortalidad perinatal

RP-Met= Retención de placenta - metritis

Mast= Mastitis clínica

IET= incidencia de enfermedad total

Tabla 3. Estadística descriptiva y variabilidad intra-rodeo de la incidencia de características de partos y de enfermedades de acuerdo al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) en tambos de Florida, Uruguay (n=13).

Variable	Gral	TCH				TG				Valor P
		X	Med	Min	Max	X	Med	Min	Max	
Partos (n)	5375	134	107	86	221	739	799	427	987	
Mellizos (%)	2,2	2,0	1,7	0,0	7,0	2,2	1,7	1,0	3,8	NS
Mort peri (%)	4,9	5,4	6,0	0,0	11,0	4,8	4,9	3,6	5,6	NS
RP-Met (%)	4,4	6,6	3,5	1,0	13,0	3,9	3,5	0,3	7,5	0,0003
Mast (%)	27,6	19,0	14,8	5,8	37,0	29,4	31,2	15,8	43,8	<0,0001
Cojera (%)	5,0	2,3	1,8	0,0	5,6	5,6	5,0	3,5	8,4	0,0001
IET (%)	36,5	26,6	24,0	10,4	45,7	38,5	41,8	25,3	48,7	<0,0001

X= Media

Mort peri= Mortalidad perinatal

RP-Met= Retención de placenta - metritis

Mast= Mastitis clínica

IET= incidencia de enfermedad total

6.3. Mellizos y mortalidad perinatal

La incidencia de nacimientos de mellizos y de mortalidad perinatal fue de 2,2% y 4,9% respectivamente, sin diferencias entre tamaño de rodeo (Tabla 3). La paridad afectó ambas variables, siendo el nacimiento de mellizos menor en las vacas PP que

en las MP y la mortalidad perinatal mayor en las vacas PP que en las MP (Tabla 2). El parto de mellizos tuvo más riesgo (riesgo relativo = 4,9; 95%IC = 3,4-7,0) de parir un ternero muerto que el parto simple.

6.4. Retención de placenta - metritis

La incidencia global de RP-metritis fue del 4,4% y fue más frecuente en TCH (Tabla 3), mientras que la incidencia según la paridad no tuvo diferencias significativas en el análisis bivariado (Tabla 2). Por el contrario, en el modelo multivariado, el tamaño de rodeo no fue significativo. Pero la probabilidad de RP-metritis incrementó por casi 1,5 veces en MP, posterior al ajuste por natimortos y partos de mellizos. Las chances de RP-metritis también aumentaron alrededor de 3 y 4 veces después de un parto de mellizos y del nacimiento de un ternero muerto, respectivamente (Tabla 4). La media y mediana de los DEL al diagnóstico fue de 7 y 3 días respectivamente.

Tabla 4. Modelo de regresión logística multivariado para retención de placenta - metritis en tambos de Florida, Uruguay (n=13).

Variable	Clase	Estimador	OR	95%IC	Valor t	Pr > t
Constante		-3,9994			-8,83	<,0001
Tamaño rodeo	TCH	0,5078	1,662	0,51- 5,44	0,84	0,4011
Paridad	MP	0,3615	1,435	1,02-2,02	2,08	0,0376
Mellizos	Mellizos	1,0204	2,774	1,52-5,05	3,34	0,0009
Mort peri	Tro muerto	1,4728	4,362	2,92-6,51	7,20	<,0001

6.5. Mastitis clínica

La mastitis clínica fue la enfermedad más frecuente, con una incidencia global de 27,6%. El tamaño de rodeo y la paridad afectaron la incidencia de mastitis siendo más frecuente en TG (Tabla 3) y en MP (Tabla 2). En el modelo de regresión logística, las chances de mastitis clínica aumentaron por 2,3 en TG y por 1,8 en MP (Tabla 5). La mediana de DEL al diagnóstico de mastitis fue al día 14 posparto, sin embargo, el porcentaje de casos de mastitis clínica en dichos primeros 14 días posparto difiere según la paridad. Mientras que el 61% de los casos de mastitis en las PP ocurrieron durante los primeros 14 DEL, en las vacas MP fue el 49% (P=0,0013) (Figura 5).

Tabla 5. Modelo de regresión logística multivariado para mastitis clínica en tambos de Florida, Uruguay (n=13).

Variable	Clase	Estimador	OR	95%IC	valor t	Pr > t
Constante		-2.1752			-8.50	<.0001
Tamaño rodeo	TG	0.8515	2.343	1.18-4.63	2.45	0.0143
Paridad	MP	0.6120	1.844	1.56-2.18	7.13	<.0001

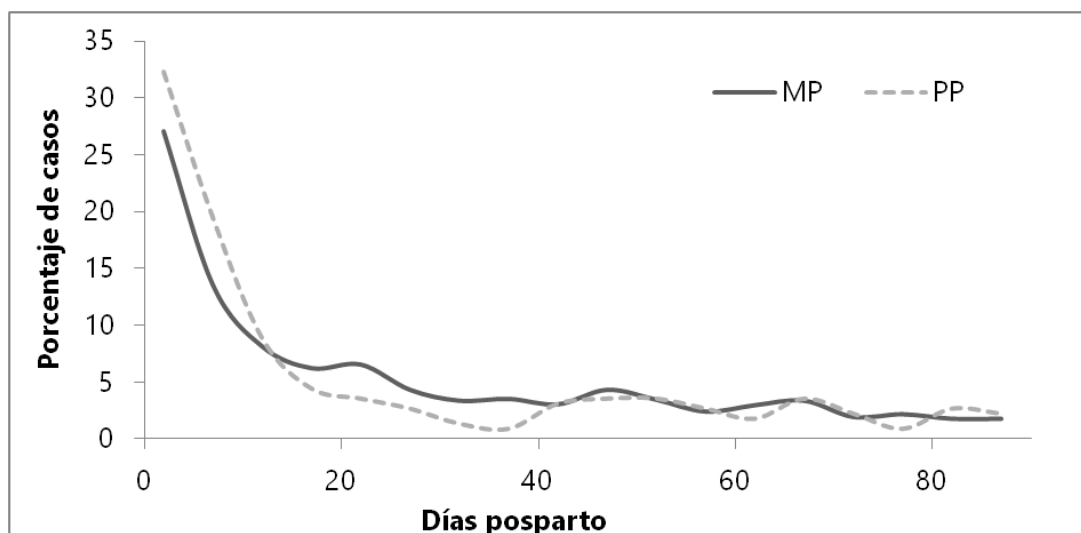


Figura 5. Distribución de los casos de mastitis, según los días postparto, de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs múltíparas, MP).

6.6. Cojeras

La incidencia de cojeras en todas las vacas fue de 5,0%. En el modelo bivariado, la incidencia fue mayor para los TG (Tabla 3). No hubo diferencia significativa para la paridad (Tabla 2). En el modelo logístico, las chances de cojeras incrementaron por 2,4 para los TG (Tabla 6). La media y mediana de DEL al diagnóstico fue de 36 y 31 días respectivamente sin diferencias por paridad.

Tabla 6. Modelo de regresión logística multivariado para cojeras en tambos de Florida, Uruguay (n=13).

Variable	Clase	Estimador	OR	95%IC	Valor t	Pr > t
Constante		-3.7823			-17.26	<.0001
Tamaño rodeo	TG	0.8982	2.455	1.58-3.82	3.98	<.0001
Paridad	MP	0.2025	1.224	0.93-1.61	1.45	0.1468

6.7. Otras enfermedades

Enfermedades tales como la hipocalcemia clínica, síndrome de vaca caída, leucosis, indigestión y otras, experimentaron en conjunto una incidencia de 3,0%, por lo que fueron analizadas de forma agrupada, de esta manera no se observó efecto del tamaño de rodeo, sin embargo la incidencia fue influida por la paridad, siendo más frecuente en MP (3,8% vs 0,8%, $P < 0,0001$).

Se analizaron, en los modelos estadísticos multivariados, diferentes asociaciones entre las enfermedades posparto, sin encontrar asociaciones significativas.

6.8. Descripción general de la cohorte intensiva

Un 32% de las vacas de la cohorte tuvieron al menos un caso de enfermedad clínica. Las características del parto y la incidencia de enfermedades acorde a la paridad y el tamaño de rodeo se muestra en las Tablas 7 y 8, respectivamente. Se encontraron más partos de mellizos en vacas MP que en PP. Las vacas MP presentaron mayor incidencia de mastitis.

Tabla 7. Características del parto e incidencia de enfermedades postparto de la cohorte de seguimiento intensivo según paridad (primíparas, PP vs multíparas, MP).

Enfermedad (%)	n	General	PP	MP	Valor P
Mellizos	17	2,3	0,0	3,0	0,025
Mort peri	31	4,1	5,6	3,7	NS
RP-metritis	33	4,4	5,5	4,2	NS
Mastitis	184	24,3	13,5	27,0	0,0004
Cojeras	18	2,4	1,2	2,7	NS

Acorde al tamaño de rodeo, sólo RP-metritis fue más frecuente en predios chicos que grandes.

Tabla 8. Características del parto e incidencia de enfermedades postparto de la cohorte de seguimiento intensivo según tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG).

Enfermedad (%)	n	TCH	TG	Valor P
Mellizos	17	2,6	2,3	NS
Mort peri	31	5,3	3,7	NS
RP-metritis	33	7,4	3,5	0,025
Mastitis	184	20,1	25,4	NS
Cojeras	18	1,1	2,8	NS

La estadística descriptiva de los metabolitos y minerales medidos en suero y la condición corporal acorde a la paridad y el tamaño de rodeo, se muestran en la tabla 9 y 10, respectivamente.

Tabla 9. Estadística descriptiva de la condición corporal (CC), y de las concentraciones de Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) y relación calcio-fósforo (Ca:P) al parto (0-4 días) de acuerdo a la paridad (primíparas, PP vs multíparas, MP) de la cohorte intensiva.

Variable	PP					MP				
	n	X	Med	Mín	Max	n	X	Med	Mín	Máx
CC	154	2,92	3,00	2,50	3,50	514	2,94	3,00	2,50	3,50
Ca (mmol/L)	164	2,00	2,01	1,46	2,82	585	1,83	1,83	0,93	2,99
P (mmol/L)	163	2,05	2,03	0,90	3,20	591	1,95	1,92	0,39	3,94
Ca:P	163	1,03	0,98	0,54	2,29	583	1,01	0,95	0,41	3,47
Mg (mmol/L)	163	1,08	1,08	0,72	1,54	591	1,05	1,05	0,08	1,86
AGNE (mmol/L)	163	0,69	0,64	0,08	2,36	591	0,66	0,58	0,05	2,43

X=Media

La proporción de animales con baja CC al parto y la descripción de los diferentes indicadores en suero acorde a la paridad y al tamaño de rodeo, se detallan en las tablas 11 y 12, respectivamente.

Entre los animales de esta cohorte un 79% tenían hipocalcemia subclínica y tendieron a diferenciarse por tamaño de rodeo siendo mayor en TCH. Acorde a la paridad, las MP tuvieron mayor porcentaje de hipocalcemia subclínica. La relación Ca:P fue en un 54,6% < 1 sin mostrar diferencias por tamaño de rodeo o paridad.

Tabla 10. Estadística descriptiva de la condición corporal (CC), y de las concentraciones de Calcio (Ca), Fósforo (P), Magnesio (Mg) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) y relación calcio-fósforo (Ca:P) al parto (0-4 días) de acuerdo al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) de la cohorte intensiva.

Variable	TCH					TG				
	n	X	Med	Mín	Máx	n	X	Med	Mín	Máx
CC	166	2,89	2,75	2,50	3,50	502	2,95	3,00	2,50	3,50
Ca (mmol/L)	185	1,86	1,87	0,95	2,99	564	1,87	1,87	0,93	2,82
P (mmol/L)	185	1,93	1,92	0,39	3,48	569	1,99	1,96	0,60	3,94
Ca:P	185	1,02	0,97	0,48	2,69	561	1,01	0,95	0,41	3,47
Mg (mmol/L)	185	1,04	1,03	0,47	1,72	569	1,07	1,07	0,08	1,86
AGNE (mmol/L)	185	0,66	0,55	0,08	2,36	569	0,67	0,60	0,05	2,43

El 48% de la población se encontraba con altos niveles de AGNE al parto, sin diferencias según tamaño de rodeo. Acorde a la paridad, hubo una tendencia a diferenciarse, siendo mayor en PP.

Con respecto a la fosfatemia, el 26,1% de los animales presentaron hiperfosfatemia y no se encontraron diferencias significativas según paridad o tamaño de rodeo. La hipomagnesemia representó en la población un 2,4%, no tuvieron diferencias significativas según tamaño de rodeo. De acuerdo a la paridad, se hallaron diferencias significativas debido a que no hallaron animales PP con dicha condición.

Tabla 11. Proporción de vacas con condición corporal subóptima, hipocalcemia subclínica, relaciones Ca:P anormales, concentraciones de ácidos grasos no esterificados y fósforo altas y bajas de Magnesio acorde a la paridad (primíparas PP vs múltíparas MP) en la cohorte de seguimiento intensivo .

Variable (%)	n	PP	MP	Valor P
CC *	292	45,1	43,2	NS
Hipo SC **	591	63,0	83,3	<0,0001
Ca:P ***	407	51,0	55,6	NS
AGNE ****	365	54,0	46,5	0,0924
P ⁺	198	30,1	25,0	NS
Mg ⁺⁺	18	0,0	3,1	0,0494

* % CC < 3

** % Hipocalcemia subclínica

*** % Relación Ca:P < 1

**** % AGNE altos > 0,6 mmol/L

⁺ % Hiperfosfatemia

⁺⁺ % Hipomagnesemia

Con respecto a la CC registrada al parto, el 43,6% de esta población se encontraba con una CC por debajo del óptimo (<3). Según el tamaño de rodeo, los TCH tuvieron mayor proporción de vacas al parto con una CC subóptima pero no se encontraron diferencias entre PP y MP.

Tabla 12. Proporción de vacas con condición corporal subóptima, hipocalcemia subclínica, relaciones Ca/P anormales, concentraciones de ácidos grasos no esterificados y fósforo altas y bajas de Magnesio acorde al tamaño de rodeo (<250 VM, tambos chicos, TCH vs > 500 VM, tambos grandes, TG) en la cohorte de seguimiento intensivo.

Variable (%)	n	General	TCH	TG	Valor P
CC*	292	43,6	53,8	40,2	0,002
Hipo SC**	591	78,9	83,5	77,4	0,0737
Ca:P***	407	54,6	54,1	54,7	NS
AGNE****	365	48,1	45,0	49,2	NS
P ⁺	198	26,1	22,2	27,4	NS
Mg ⁺⁺	18	2,4	3,2	2,1	NS

* % CC < 3

** % Hipocalcemia subclínica

*** % Relación Ca:P < 1

**** % AGNE altos > 0,6 mmol/L

+ % Hiperfosfatemia

++ % Hipomagnesemia

6.11. Asociación entre enfermedades y predictores de la incidencia

No se encontró asociación entre las variables en suero o CC al parto con los terneros nacidos muertos, RP-metritis o cojeras.

En el análisis para hipocalcemia subclínica, las MP mostraron 2,5 veces más riesgo que las PP. Además, los valores altos de AGNE al parto (> 0,60 mmol/L) y una relación Ca:P < 1 incrementaron el riesgo de hipocalcemia subclínica (Tabla 13).

Tabla 13. Modelo de regresión logística multivariado para la hipocalcemia subclínica en la cohorte de seguimiento intensivo

Efecto	Variable	Estimador	OR	95%IC	Valor t	Pr > t
Constante		-0,3240			-0,89	0,3752
Paridad	MP	0,9355	2,548	1,60-4,05	3,96	<,0001
AGNE	Altos	0,6446	1,905	1,25-2,90	3,00	0,0028
Ca:P	< 1	0,7598	2,138	1,42-3,21	3,66	0,0003

En el análisis multivariado de mastitis clínica, las MP tuvieron 2,4 veces más riesgo de mastitis que las PP. Se encontró una interacción entre niveles de AGNE y paridad sobre el riesgo de mastitis. En el modelo, las PP con AGNE altos tuvieron 2,4 veces más riesgo de tener mastitis mientras que las MP con altos AGNE tuvieron un riesgo de 1,2. Es decir, el 82% de las vacas PP vs 54% de las vacas MP con mastitis

presentaron altos AGNE ($P = <0,01$). Las vacas con hipocalcemia subclínica tuvieron 1,8 veces más riesgo de tener mastitis y con baja CC al parto, tuvieron una 1,6 veces más chances de mastitis (Tabla 14).

Tabla 14. Modelo de regresión logística multivariado para mastitis clínica en la cohorte de seguimiento intensivo

Efecto	Variable	Estimador	OR	95% IC	Valor t	Pr > t
Constante		-3,5541			-5,39	<,0001
Paridad	MP	1,5168	2,356	1,23-4,52	2,74	0,0064
AGNE	Altos	1,5210	2,366	1,25-4,48	2,53	0,0115
CC	Baja	0,4604	1,585	1,05-2,38	2,22	0,0265
Calcio	Bajos	0,5658	1,761	1,02-3,03	2,04	0,0413
Paridad*AGNE		-1,3199			-2,08	0,0379

7. DISCUSIÓN

Según nuestro conocimiento este es el primer estudio realizado en Uruguay en tambos comerciales, que reporta la incidencia de varias enfermedades posparto asociado a dos factores de riesgo como paridad y tamaño de predio. Además, implica el primer trabajo que reporta la asociación entre niveles sanguíneos de calcio y ácidos grasos no esterificados, y condición corporal al parto con la presentación de eventos de salud.

En cuanto a la incidencia de enfermedades estudiadas en la cohorte general, un 36,5% de los animales tuvo al menos un caso clínico, lo cual fue similar a otros estudios realizados en otros países con sistemas de pastoreo (Stevenson, 2000; Ribeiro et al., 2013). Por ejemplo, Ribeiro et al. (2013) reportaron que el 37,5% de las vacas presentaron por lo menos un caso de enfermedad clínica y Sepúlveda et al. (2015) reportaron que el 30,3% y el 15,3% de las vacas presentaron un solo evento clínico o más de un evento, respectivamente. Además, se ha reportado que alrededor del 75% de todas las enfermedades se producen en el primer mes posparto (LeBlanc et al., 2006) al igual que el presente trabajo. Sin embargo, es difícil comparar la incidencia de enfermedades entre los estudios debido a los diferentes criterios para clasificar las enfermedades y de la colecta de datos. Lo mismo ocurre con los indicadores en que la incidencia es reportada. Se debe tener en cuenta, en el tipo de estudio, el sesgo, la definición y los protocolos de registro de los eventos, por lo tanto, la necesidad de proporcionar definiciones simples y concisas para cada una de las enfermedades (Stevenson, 2000). En esta investigación, los diagnósticos de las enfermedades fueron realizados exclusivamente por el encargado y/o propietario de los tambos.

La incidencia de mellizos y la mortalidad perinatal fue similar a otros estudios en sistemas bajo pastoreo (McDougall, 2001; Mee et al., 2008; Hayes et al., 2012). En nuestro trabajo, la incidencia de mellizos fue mayor en vacas MP que en PP. En acuerdo con nuestros resultados, Silva del Río et al. (2007) informaron que el parto de mellizos aumentó con la paridad (OR = 4,9). Esto puede ocurrir porque las tasas de ovulación múltiple aumentan en vacas de mayor edad (Macmillan et al., 2018). Además, el nacimiento de mellizos también afecta a la mortalidad perinatal, en acuerdo con otros trabajos (Silva de Río et al., 2007; Berry et al., 2007a), lo cual se debe principalmente a un período de gestación más corto (Nielen et al., 1989). Cabe señalar que el nacimiento de mellizos también es un factor de riesgo para la distocia, por lo tanto, mayor riesgo de mortalidad de terneros al nacimiento (Berry et al., 2007a). Si bien las PP presentaron menor incidencia de mellizos, la mortalidad perinatal en esta categoría fue mayor (6,9% vs 4,3%). De forma similar, Mee et al. (2008) reportaron una mortalidad perinatal de 7,7% y 3,5% en PP y en MP, respectivamente. Esto puede deberse principalmente por una mayor asistencia en el parto y una mayor incidencia de distocia en PP (Mee et al., 2008; Bleul, 2011), uno de los factores de riesgo más importantes para la mortalidad perinatal (Meyer et al., 2000). El tamaño de rodeo no fue significativo, en acuerdo con Mee et al. (2008), pero en dicho estudio todos los tamaños de rodeo fueron chicos acorde a nuestra clasificación. Sin embargo, Silva del Río et al. (2007) reportaron un leve aumento en la mortalidad de terneros al aumentar el tamaño del rodeo, lo que podría deberse a un

manejo menos intensivo durante los partos en rodeos más grandes o a una mortalidad de terneros registrada de forma más precisa que en los rodeos más pequeños.

En el presente estudio, la incidencia global de RP-metritis fue de 4,4%, valor que se encuentra dentro del amplio rango citado por la literatura (Kelton et al., 1998). Como se mencionó anteriormente, registramos casos de RP y metritis juntos, lo cual no es común en otros estudios y es difícil compararlos. De todos modos, en estudios realizados en sistemas bajo pastoreo, la incidencia de RP reportada fue entre 1,7% y 14% (McDougall, 2001; Hayes et al., 2012; Ribeiro et al., 2013; Sepúlveda et al., 2015; Daros et al., 2017). En tambos bajo confinamiento, la incidencia informada varía entre 4,9% y 15,6% (Oltenu et al. 1990; Meléndez et al., 2009). Por otro lado, la incidencia de metritis varía entre 5,3% y 41,1% en sistemas pastoriles (Ribeiro et al., 2013; Sepúlveda et al., 2015). En sistemas de encierro entre 3,2% y 29,7% (Oltenu et al., 1990; Meléndez et al., 2009; Dubuc et al., 2010; Giuliadori et al., 2013). La amplia variación de la incidencia reportada se debe a las diferentes definiciones de la enfermedad utilizada en cada uno (Kelton et al., 1998). Sheldon et al. (2006) realizaron una definición estándar para unificar los criterios entre los grupos de investigación. Sin embargo, en la mayoría de los estudios, el investigador o veterinario de los predios es quien diagnostica la enfermedad, monitoreando todas las vacas posparto en busca de vacas con sintomatología, por lo que la incidencia en nuestro estudio está probablemente subestimada.

La RP-metritis estuvo afectada por la paridad, el nacimiento de mellizos y la mortalidad perinatal. En cuanto a la paridad, la incidencia fue mayor en las vacas MP. Daros et al. (2017) reportaron una OR de 2,4 (1,2-4,6) para RP en vacas MP. Otros también reportaron una mayor incidencia de RP en MP que en PP (Bargo et al., 2009; Toni et al., 2015). Para la metritis, también se informó que las vacas MP se asociaron significativamente a aumentos en la aparición de metritis (Kaneene y Miller, 1994), asociado a mayor RP en esta categoría (Curtis et al., 1983). Esto se asocia con la mayor frecuencia de hipocalcemia subclínica en MP, ya que ésta afecta el sistema inmune, lo que aumentarían las chances de infección en el útero (Martínez et al., 2012). Sin embargo, algunos obtuvieron un mayor riesgo de metritis en las vacas PP (Markusfeld, 1984; Toni et al., 2015), asociado a mayor riesgo de distocia (Kaneene y Miller, 1994). El complejo RP-metritis estuvo afectado por la mortalidad perinatal y nacimiento de mellizos. Para la RP, Correa et al. (1993) informaron un mayor riesgo en vacas con natimortos (OR = 2,6) y mellizos (OR = 3,4) reportado también por otros investigadores (Muller y Owens, 1974; Oltenu et al., 1990; Chassagne et al., 1999; McDougall, 2001). Para la metritis, el nacimiento de ternero muerto (OR = 2,3) y de mellizos (OR = 2,7) también fueron factores de riesgo (Markusfeld, 1984), asociado a que tanto los mellizos como los terneros muertos implican mayor asistencia al parto y distocia (Meyer et al., 2000; Berry et al., 2007a, Bleul, 2011). Esto se asoció a mayor contaminación del útero debido a la intervención y manipulación por parte del personal (Dubuc et al., 2010). El tamaño de rodeo no fue significativo para la asociación con RP-metritis, al igual que Bruun et al. (2002). Sin embargo, algunos investigadores detectaron un mayor porcentaje de vacas afectadas en rodeos más grandes quienes lo relacionaron a diferencias en el manejo según el tamaño de rodeo, mayor detección y registro de enfermedades (Fourichon et al., 2001).

La incidencia global de mastitis clínica en el presente estudio (27,6%) fue alta comparado con otros estudios bajo sistemas de pastoreo (Petrovski et al., 2009: 14,8%; Sepúlveda et al., 2015: 11,7%) e incluso más alta que en condiciones de confinamiento (Meléndez et al., 2009: 14,4%). Si consideramos la incidencia considerada como meta (< 24% en un año de todas las vacas en ordeño, Ruegg, 2003) nos encontramos muy por encima ya que el presente estudio sólo toma en cuenta los primeros 3 meses de lactación. Si bien la mastitis clínica depende de muchos factores, podría estar debido a las condiciones climáticas ocurridas, especialmente en Abril 2016 (Figura 1), donde los caminos y lugares de descanso de los animales tanto del preparto como en lactancia, estaban en condiciones de mucho barro y humedad. Se ha reportado que las condiciones de higiene del pezón y la ubre son factores de riesgo para la presentación de mastitis (Ruegg, 2009). La mediana de DEL al primer diagnóstico de mastitis clínica fue de 14 días, inferior a 37 y 54 DEL reportados por diferentes autores (Oltenu et al., 1990; Stevenson, 2000). Aunque todos los estudios concuerdan en que el mayor riesgo de mastitis se encuentra al comienzo de la lactancia (Bates y Dohoo, 2016), una mediana de 14 DEL refleja que la infección probablemente haya ocurrido durante el preparto (Green et al., 2002).

La mastitis, se vio afectada por la paridad y el tamaño de rodeo. Las vacas MP tuvieron más riesgo que las PP, en acuerdo con otros estudios (Petrovski et al., 2009; Richardet et al., 2016). Un factor que puede estar influyendo es la producción de leche ya que las vacas con mayor producción son las de mayor riesgo de mastitis (Ingvarsten et al., 2003). Esto se asocia a mayor probabilidad de hipocalcemia subclínica en esta categoría (ver debajo), que debilita el cierre del esfínter del pezón y afecta negativamente el sistema inmune (Kimura et al., 2006; Goff, 2014). También se asocia a que las vacas adultas tienen un período más prolongado de exposición a patógenos, por lo que tendrían menores posibilidades para evitar una infección (Petrovski et al., 2009; Risco y Meléndez, 2011). Es interesante el hallazgo de que en las primeras 2 semanas después del parto la proporción de los casos de PP fue mayor que en MP, al igual que otros (Barkema et al., 1998; Olde Riekerink et al., 2008). Los factores de riesgo en las PP son diferentes de los de las MP, debido a que todavía están creciendo y están sobrellevando la adaptación a la lactancia y al manejo del ordeño (Parker et al., 2007). Un factor de riesgo reportado para la mastitis clínica en PP es el manejo de las mismas en conjunto con vacas adultas en preparto y postparto (Parker et al., 2007), en el presente estudio, solo un tambo (tambo 11) manejó a las vaquillonas por separado.

El tamaño de rodeo afectó la presentación de mastitis, los TG tuvieron más riesgo que los TCH. Este resultado es difícil de contrastar con la bibliografía, debido a la disparidad de distribuciones de tamaño de los predios. En general, el tamaño de rodeo se lo considera una vía indirecta para inferir el nivel de complejidad y de manejo de los establecimientos con influencia en distintos aspectos de las enfermedades (instalaciones, tasa de transmisión de enfermedades, manejo reproductivo, disponibilidad de asesoramiento técnico, etc.). Por ejemplo, los TG concentran los partos en otoño, lo cual hace una gran concentración de animales en su período más crítico de contraer la enfermedad, lo cual sumado a las condiciones de barro y humedad en dichos meses mencionado anteriormente, pudieron aumentar la incidencia de mastitis clínica. Por otro lado, Tomazi et al. (2018), no encontraron diferencias según el tamaño de rodeo, pero los predios fueron todos TCH (<100 vacas, 100-200 y \geq 201 vacas). Bates y Dohoo (2016), tampoco hallaron asociación

entre el tamaño de rodeo y la mastitis, pero en este caso los tambos fueron más grandes que los otros estudios. Archer et al. (2013) reportaron un aumento en el recuento de células somáticas de las vacas asociado al incremento del tamaño de rodeo, que podría deberse a una mayor tasa de infección entre las vacas, en predios con un mayor reservorio de vacas (Bartlett et al., 1992). Parker et al. (2007), lo atribuyeron a una mayor exposición a patógenos ambientales (aumento en la densidad de la población), mayor tiempo sobre plazas de alimentación y de parto, (dificultad de mantener la higiene) y mayor número vacas ordeñadas por una persona (rutina de ordeño menos eficiente). Por el contrario, Hill et al. (2009) reportaron una disminución en la prevalencia de enfermedades a medida que aumentaba el tamaño de rodeo y fue atribuido a un mejor estándar de manejo de los rodeos más grandes que contribuiría a una menor prevalencia de la enfermedad.

La incidencia global de cojeras en el presente estudio fue del 5,0%, que se encuentra dentro del rango reportado (1,8 y 30,0%, Kelton et al., 1998). Sin embargo, la cojera es una enfermedad que para hacer un diagnóstico correcto, se necesita de cierta infraestructura, por lo que es probable que en este estudio se haya subestimado la incidencia de la misma. La cojera fue afectada por el tamaño de rodeo pero no por la paridad. Sin embargo, un estudio durante 4 años en un rodeo en Uruguay, encontró que se observaron más cojeras en PP que en las MP (24% vs 15,9%) (Ramos y Freire, 2006). Además, un estudio realizado en Argentina durante 4 años en 37 predios lecheros también reportó que las vacas PP tenían más cojeras que las MP (13,9% vs 11,1%, Bargo et al., 2009). En las vacas jóvenes, el estrés del parto, dominancia, manejo del ordeño, cambio de dieta y pastoreo entre otras, pueden influir sobre la incidencia de cojeras. Por el contrario, Rutherford et al. (2009) reportaron que las vacas adultas tenían más probabilidad de tener cojeras que las PP, lo que puede deberse a una asociación positiva entre las cojeras y el mayor peso vivo (Wells et al., 1993). Según el tamaño de rodeo, encontramos mayor riesgo de cojeras en los TG, como se informó en un estudio en Chile en tambos pastoriles (Flor y Tadich, 2008), asociado a caminatas más largas, las cuales combinadas con superficies duras, podrían convertirse en una causa importante de cojeras (Chesterton, 2006). En dos estudios realizados en tambos pastoriles en Australia, la prevalencia de cojeras (5,7-6,9%) no se relacionó con el tamaño de rodeo, incluso cuando las granjas más grandes tenían distancias más largas para caminar y un mayor tiempo fuera de la parcela debido al mayor tiempo de ordeño (Beggs et al., 2015; 2019). Estos estudios utilizaron la proporción de vacas tratadas en un día de observación, lo que subestima el verdadero nivel subyacente de la enfermedad (Beggs et al., 2015; 2019).

Hay varios estudios que reportan la interrelación entre eventos de salud durante la fase de transición, tales como RP y mastitis (Oltenu et al., 1990; Oltenu y Ekesbo, 1994; Suthar et al; 2013); metritis y mastitis (Suthar et al., 2013; hipocalcemia clínica y mastitis (Schukken et al., 1988). En el presente estudio no encontramos esta asociación. Exceptuando la mastitis, las cojeras y la RP-metritis, la frecuencia de las otras afecciones fue muy baja (hipocalcemia clínica, síndrome de vaca caída, etc) lo que puede haber contribuido a tener un bajo poder estadístico.

Cabe destacar la alta variabilidad que existió entre tambos dentro de cada estrato (TCH - TG) (ver tabla 3), especialmente en lo que se refiere a incidencia de terneros nacidos muertos, mastitis y de RP-metritis. Esta variabilidad es un reflejo de las

diferentes prácticas de manejo y de las habilidades para controlar dichas condiciones, (Stevenson, 2000; Bargo et al., 2009; Sepúlveda et al., 2015), que pueden ser los verdaderos determinantes de las enfermedades (Bartlett et al., 1992). Es interesante destacar que los TG, con menor porcentaje de mortalidad perinatal y de RP-metritis, poseen a una persona que específicamente asiste los partos, a diferencia de los TCH donde el personal, debe realizar además muchas otras tareas. Varios estudios indican que el manejo del parto en cada predio puede influir en la mortalidad perinatal, por ej. el tiempo y la frecuencia de observación de las vacas preparto (Mee et al., 2014) y la capacitación del personal para ayudar al parto (Lombard et al., 2007; Scheunemann et al., 2011).

Teniendo en cuenta el valor de referencia utilizado en el presente trabajo ($\leq 2,1$ mmol/L), el 79% de dicha cohorte presentaban hipocalcemia subclínica, en acuerdo con otros (Martínez et al., 2012: 65,5%; Rodríguez et al., 2017: 78%). Con un punto de corte $< 2,0$ mmol/l, se ha reportado un 40% de animales con hipocalcemia subclínica en Nueva Zelanda (Roche et al., 2002) y de 30% en Argentina (Scándolo et al., 2016). Además, varió según la paridad, en acuerdo con varias investigaciones (Reinhardt et al., 2011; Venjakob et al., 2017; Rodríguez et al., 2017; Rupprechter et al., 2018), asociado a una mayor producción de leche en vacas MP. Sin embargo, la proporción de PP con hipocalcemia subclínica en el presente trabajo fue inesperado (63%), ya que en las demás investigaciones, no supera el 25%, sin importar el punto de corte utilizado. Es de esperar que las vacas PP tengan disponibilidad de calcio de forma más rápida que las MP (Reinhardt et al., 1988).

La media de la calcemia al parto (1,87 mmol/l) es similar a la reportada por Albornoz (2006) en un establecimiento lechero en Florida, Uruguay. Otros estudios tanto en pastoreo como en confinamiento muestran niveles de calcio mayores al presente (Roche et al., 2002; Martínez et al., 2012; Neves et al., 2016). Se podría postular que las dietas preparto con sales aniónicas o la suplementación con calcio en el posparto no fueron suficientes para alcanzar niveles más altos como los reportados en estos otros trabajos. También la genética de los animales en este estudio fue mayoritariamente Holstein de la línea Norteamericana, un biotipo de alta producción y consumo, a diferencia del biotipo Neozelandés, de menor peso corporal y menores requerimientos de energía metabólica (Pereira et al., 2010).

En el modelo final ajustado, las chances de hipocalcemia subclínica estuvieron afectadas por la paridad, la relación Ca:P y los niveles de AGNE. La odds de hipocalcemia subclínica fue mayor en vacas MP (OR=2,3) lo que es consistente con lo reportado por otros (Reinhardt et al., 2011; Rupprechter et al., 2018). Esta asociación se basaría como se mencionó anteriormente, en que las vacas con mayor producción de leche y calostro, tendrían una mayor demanda de calcio hacia la ubre (Erb y Grohn, 1988), y también a que las vacas adultas, tendrían una menor capacidad de absorber calcio en intestino y de remoción del calcio del hueso (Reinhardt et al., 1988). La hipocalcemia subclínica se vio afectada además cuando la relación Ca:P es menor a 1. El exceso de fósforo disminuiría la absorción intestinal de calcio, inhibiendo, en el riñón, la enzima que actúa en la activación de la vitamina D, vitamina necesaria para aumentar la absorción del calcio a nivel intestinal (Reinhardt et al., 1988). Los altos niveles de AGNE en vacas con hipocalcemia subclínica podrían estar asociados a que la hipocalcemia subclínica disminuye el consumo de MS lo que llevaría a mayor movilización de reservas y aumento de la

concentración de AGNE (Martínez et al., 2012). Esto refuerza la idea de que el estatus mineral y energético están interrelacionados, y que a su vez ambos influirían en el riesgo de enfermedades en el parto (Reinhardt et al., 2011; Martínez et al., 2012; Chamberlin et al., 2013).

Uno de los hallazgos más interesantes en esta cohorte fue la asociación de la hipocalcemia subclínica, alta concentración de AGNE y baja CC con la mastitis clínica. Son pocos los trabajos que encontraron una asociación entre mastitis clínica y altos niveles de AGNE, como lo encontrado en la presente investigación. Meléndez et al. (2009) informaron asociación con AGNE medidos al parto, mientras que otros, con niveles de AGNE medidos en el parto (Nyman et al., 2008; Moyes et al., 2009). Meléndez et al. (2009), en Chile, reportaron una OR para mastitis de 0,45 en aquellas vacas con menor concentración de AGNE, pero utilizando un punto de corte de 1,2 mmol/L. Según Ospina et al. (2010) la asociación de los AGNE medida en el parto, es mayor y más directa con el desarrollo de la enfermedad, que cuando es medida en el parto. La asociación encontrada podría ser debida al efecto inmunosupresor de los AGNE, lo cual predispondría a una mayor incidencia de enfermedades en el parto (Lacetera et al., 2005; Hammon et al., 2006; Ster et al., 2012). Así mismo, los trabajos citados anteriormente fueron realizados bajo condiciones de confinamiento. En sistemas bajo pastoreo, Schwegler et al. (2013), en Brasil, reportaron que las PP con mastitis tuvieron mayores niveles de AGNE en el parto que las sanas, sin embargo este resultado no fue ajustado por los cofactores analizados en este trabajo. Por otro lado, Sepúlveda et al. (2015) no encontraron asociación entre los niveles de AGNE medidos en el parto y eventos de salud.

En el modelo final ajustado, las chances de mastitis clínica fueron afectadas por la interacción de los niveles de AGNE y la paridad. El impacto de las altas concentraciones de AGNE sobre la mastitis fue mayor en las PP que en las MP (OR= 2,4 vs OR= 1,2), esto no ha sido reportado previamente. Una explicación posible para esta interacción sería que, las PP tienen menor consumo de MS, lo cual se agrava cuando se manejan en forma conjunta con las MP, por lo tanto, mayor movilización con mayor pérdida de CC (Ingvarsten y Andersen, 2000; Meikle et al., 2004). Además, su sistema inmune es más inmaduro y su respuesta inflamatoria más exacerbada debido a no haber tenido exposición previa a patógenos, al contrario que las MP quienes tienen una respuesta inmune más eficiente (Piñeiro et al., 2019). Más aún cuando los casos de mastitis en PP ocurrieron mayormente en los primeros días postparto.

La CC subóptima (<3) al parto afectó la presentación de mastitis, en comparación con vacas con CC entre 3 y 3,5. En contraposición a previas investigaciones que reportaron que vacas que paren con una CC por encima de 3,5 son las de mayor riesgo a enfermarse (Garnsworthy, 2006; Roche et al., 2013), ya que presentan un menor consumo voluntario, movilizan más reservas y tienen mayor concentración de AGNE en sangre que las de CC óptima (Roche et al., 2007). Desafortunadamente el estudio no contempló la medición de la CC al parto, para de esta manera evaluar el cambio de CC, lo que sería de mayor utilidad que la valoración de una sola medición durante el período de transición (Roche et al., 2007). De todas formas, son pocos los trabajos que asocian CC y mastitis. Por ejemplo, Ruegg y Milton (1995) y Berry et al. (2007b), no encontraron asociación con mastitis clínica, pero estos últimos reportaron una asociación entre mayor CC y altos niveles de células

somáticas en vacas de varios partos. Vacas con mayor CC tendrían una mayor incidencia de cetosis y de hipocalcemia lo que mediaría el efecto sobre los altos recuentos (Berry et al., 2007b).

La asociación entre mastitis y la hipocalcemia subclínica fue detectada posterior al ajuste por paridad y niveles de AGNE. Sepúlveda et al. (2015), utilizando un punto de corte del calcio de $< 2,0$ mmol/l, reportaron que aquellas vacas que tuvieron mastitis tendieron a tener menor concentración de calcio a la semana posparto que las vacas sanas. El mayor riesgo de mastitis en vacas con bajos niveles de calcio, podría ser debido a un menor tono en el esfínter del pezón, responsable de cerrar el orificio del mismo después del ordeño. Esta situación, facilitaría la entrada de patógenos al canal del pezón (Goff, 2014; Aleri et al., 2016). Por otro lado, se ha descrito que bajos niveles de calcio afectarían también el sistema inmune (Kimura et al., 2006; Martínez et al., 2012). En este sentido, Martínez et al. (2012) reportaron que las vacas con niveles de calcio $< 2,14$ mmol/l, tienen menor proporción de neutrófilos, con menor capacidad de fagocitar y matar a las bacterias *in vitro*. La señalización del calcio intracelular para la activación y funcionalidad de las células inmunes es un elemento crítico, los polimorfonucleares tendrían una capacidad disminuida para activarse completamente bajo condiciones de hipocalcemia (Kimura et al., 2006). Por lo tanto, aquellos predios que utilicen prácticas de manejo para minimizar el BEN y mejoren el balance mineral al inicio de lactancia, podrían mejorar la resistencia a las enfermedades (Lacasse et al., 2018).

Debemos tener presente que esta investigación monitoreó la incidencia de enfermedades que ocurrieron dentro de los primeros 3 meses postparto. Si bien dicho período es el de mayor riesgo, aún restan varios meses de lactancia por transcurrir. En especial, las condiciones climáticas a la que están expuestos nuestros sistemas, pone en riesgo el equilibrio entre el animal, el agente y el ambiente. Además, se debe tener en cuenta la necesidad de generar información respecto de los costos directos (antibióticos, descarte de leche y mano de obra) e indirectos u "ocultos" de las enfermedades (menor producción y calidad de leche, menor fertilidad) que afectan a la eficiencia y competitividad de las empresas lecheras. El presente estudio cuenta con la información sobre la producción, reproducción y el descarte de la cohorte general, por lo que se podrá analizar el efecto de las enfermedades sobre dichos parámetros a futuro. Finalmente, teniendo en cuenta la incidencia y la variación encontrada entre predios se desprende la importancia de la medicina preventiva, y de la necesidad de incluir indicadores de salud de rodeo en los indicadores económicos de cada empresa lechera.

8. CONCLUSIONES

La incidencia de enfermedades en la lactancia temprana fue alta, con una amplia variación entre los tambos, siendo la mastitis clínica la más relevante. Las vacas multíparas presentaron una mayor proporción de mastitis y RP-metritis respecto a las primíparas, aunque éstas presentaron mayor porcentaje de mastitis en los primeros 14 días posparto. La mastitis y cojeras en tambos grandes fueron más frecuentes que en los chicos. La asociación entre la hipocalcemia subclínica con los altos niveles de AGNE, sugieren que tanto el metabolismo energético como el del calcio están interrelacionados y que ambos influyen sobre el riesgo de mastitis en la lactancia temprana, aunque con mayor impacto en las vacas primíparas.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrien M.L, Mattiauda D.A, Artegoitia V, Carriquiry M, Motta G, Bentancur O, Meikle A. (2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(2): 292-299.
2. Aguerre M, Cajarville C, La Manna A, Cavestany D, Mendoza A, Mattiauda D A, Carriquiry M, Repetto J.L, Meikle A, Chilibroste P. (2017). Estrategias de alimentación en vacas lecheras en pastoreo: ¿Qué hemos aprendido de los sistemas comerciales y qué hemos generado desde la investigación en Uruguay?. Disponible en: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Paginas/publicacionAINFO-57907.aspx>
3. Albornoz, L. (2006). Hipocalcemia Puerperal, variaciones de minerales en el parto y evaluación de tratamientos. Tesis Maestría, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay.
4. Aleri J.W, Hine B.C, Pymana M.F, Mansell P.D, Wales W.J, Mallarde B, Fisher A.D. (2016). Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in Veterinary Science* 108: 8–17.
5. Archer S.C, McCoy F, Wapenaar W, Green M.J. (2013). Association of season and herd size with somatic cell count for cows in Irish, English, and Welsh dairy herds. *The Veterinary Journal* 196 : 515–521.
6. Artagaveytia J. (2014). La lechería uruguaya en el contexto internacional: competitividad de los sistemas de producción. V Congreso Uruguayo de Producción Animal, 3-4, Diciembre, Montevideo, Uruguay, 41-43.
7. Bargo F, Busso F, Corbellini C, Grigera J, Lucas V, Podetti V, Tuñon G y Vidaurreta I. (2009). Organización y Análisis de un Sistema de Registros de Enfermedades del Parto en Vacas Lecheras: su Incidencia e Impacto Económico sobre las Empresas. Informe final 1: 1-44.
8. Barkema H.W, Schukken Y.H, Lam T.J.G.M, Beiboer M.L, Benedictus G, Brand A. (1998). Management Practices Associated with Low, Medium, and High Somatic Cell Counts in Bulk Milk. *J Dairy Sci* 81:1917–1927.
9. Bartlett P.C, Miller G.Y, Lance S.E, Heider L.E. (1992). Environmental and managerial determinants of somatic cell counts and clinical mastitis incidence in Ohio dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 14: 195-207.
10. Bates A.J, Dohoo I. (2016). Risk factors for peri-parturient farmer diagnosed mastitis in NewZealand dairy herds: findings from a retrospective cohort study. *Preventive Veterinary Medicine* 127: 70–76.

11. Beggs D.S, Fisher A.D, Jongman E.C, Hemsworth P.H. (2015). A survey of Australian dairy farmers to investigate animal welfare risks associated with increasing scale of production. *J. Dairy Sci.* 98:5330–5338.
12. Beggs D.S, Jongman E.C, Hemsworth P.H, Fisher A.D. (2019). The effects of herd size on the welfare of dairy cows in a pasture-based system using animal- and resource-based indicators. *J. Dairy Sci.* 102:3406–3420.
13. Berge A.C, Vertenten G. (2014). A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97 :2145–2154.
14. Berry D.P, Lee J.M, Macdonald K.A, Roche J.R. (2007a). Body Condition Score and Body Weight Effects on Dystocia and Stillbirths and Consequent Effects on Postcalving Performance. *J. Dairy Sci.* 90:4201–4211.
15. Berry D.P, Lee J.M, Macdonald K.A, Stafford K, Matthews L, Roche J.R. (2007b). Associations Among Body Condition Score, Body Weight, Somatic Cell Count, and Clinical Mastitis in Seasonally Calving Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 90:637–648.
16. Bleul U. (2011). Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland. *Livestock Science* 135: 257–264.
17. Bruun J, Ersbølla A.K, Alban L. (2002). Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 54 : 179–190.
18. Caixeta L.S, Ospina P.A, Capel M.B, Nydam D.V. (2017). Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 94 : 1-7.
19. Cavestany D, Blanc JE, Kulcsar M, Uriarte G, Chilbroste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. (2005). Studies of the transition cow under and pasture-based milk production system: metabolic profiles. *Journal of Veterinary Medicine A*, 52: 1- 7.
20. Cha E, Hertl J.A, Barb D, Gröhn Y.T. (2010). The cost of different types of lameness in dairy cows calculated by dynamic programming. *Preventive Veterinary Medicine* 97 : 1–8.
21. Chamberlin W.G, Middleton J.R, Spain J.N, Johnson G.C, Ellersieck M.R, Pithua P. (2013). Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 96:7001-7013.
22. Chapinal N, Carson M.E, Duffield T.F., Capel M , Godden S, Overton M.W, Santos J.E, LeBlanc S.J. (2011). The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J. Dairy Sci.* 94:4897–4903.
23. Chapinal N, Carson M.E, LeBlanc S.J, Leslie K.E, Godden S, Capel M, Santos J.E.P, Overton M.W, Duffield T.F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early lactation reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 95 :1301–1309.

24. Chassagne M, Barnouin J, Chacornac J.P. (1999). Risk factors for stillbirth in Holstein heifers under field conditions in France: A prospective survey. *Theriogenology* 51:1477-1466.
25. Chesterton N, (2006). Lameness under grazing conditions. 14th International Symposium and 6th Conference on Lameness in Ruminants - Colonia-Uruguay 8-11 Nov. 2006.
26. Chilibroste P, Soca P, Bentancur O, Mattiauda D.A. (2010). Estudio de la conducta en pastoreo de vacas Holando de alta producción: síntesis de 10 años de investigación sobre la relación planta animal suplemento en la Facultad de Agronomía – EEMAC. *Agrociencia*, 14 (3): 101-106.
27. Chilibroste P, Soca P, Mattiauda D.A. (2011). Balance entre oferta y demanda de nutrientes en sistemas pastoriles de producción de leche: potencial de intervención al inicio de la lactancia. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Centro Médico Veterinario de Paysandú, Paysandú, Uruguay. 91-97.
28. Chilibroste P. (2015). Síntesis del proyecto presentado al llamado "Redes Sectorial de Innovación". Extractos del Proyecto RTS_ X-2014_1_3 aprobado el 28 de julio de 2015 (Resolución 1863/15-ANII).
29. Chilliard Y. (1999). Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. In: Martinet J, Houdebine LM y Head HH (eds), *Biology of Lactation*, pp. 503–552. Inserm/INRA, Paris, France.
30. Compton C.W.R, Heuer C, Parker K, McDougall S. (2007). Risk Factors for Peripartum Mastitis in Pasture-Grazed Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* 90:4171–4180.
31. Correa M.T, Erb H, Scarlett J. (1993). Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci* 76: 1305-1312.
32. Curtis C.R, Erb H.N, Sniffen C.J, Smith R.D, Powers P.A, Smith M.C, White M.E, Hillman R.B, Pearson E.J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *JAVMA* 183: 559.
33. Daros R.R, Hötzel M.J, Bran J.A, LeBlanc S.J, von Keyserlingk M.A.G. (2017). Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazingdairy cows in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 145 : 16–22.
34. Dettloux J.C, Kehrli M.E, Stabel J.R, Freeman A.E, Kelley D.H. (1995). Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 44:251–267.
35. DIEA (2016). Estadísticas de la producción de leche 2016. Serie Trabajos Especiales N° 347. Octubre, 2017.
36. DIEA (2017). Estadísticas del Sector Lácteo 2017. Serie Trabajos Especiales N° 354. Diciembre, 2018.

37. DIEA (2018). Anuario estadístico Agropecuario. MGAP. <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea>.
38. Drackley J.K. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?. *J Dairy Sci* 82:2259–2273.
39. Dubuc J, Duffield T. F, Leslie K.E, Walton J. S, LeBlanc S.J. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93 :5764–5771.
40. Dubuc J, Duffield T. F, Leslie K.E, Walton J. S, LeBlanc S.J. (2011). Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 :1339–1346.
41. Eicher S.D, Schutz M, Kearney F, Willard S, Bowers S, Gandy S, Graves K. (2007). Prepartum milking effects on parlour behaviour, endocrine and immune responses in Holstein heifers. *Journal of Dairy Research* 74: 417–424.
42. Emanuelson U, Oltenacu P.A. (1998). Incidences and Effects of Diseases on the Performance of Swedish Dairy Herds Stratified by Production. *J Dairy Sci* 81:2376–2382.
43. Erb H.N, Smith R.D, Oltenacu P.A, Guard C.L, Hillman R.B, Powers P.A, Smith M.C, White M.E. (1985). Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield and culling in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 68, 3337-3349.
44. Erb H.N, Grohn Y.T. (1988). Epidemiology of Metabolic Disorders in the Periparturient Dairy Cow. *J Dairy Sci* 71:2557-2571.
45. Ferguson, J.D, Galligan D.T, Thomsen N. (1994). Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2695–2703.
46. Flor E, Tadich N. (2008). Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros grandes y pequeños del sur de Chile. *Arch Med Vet* 40, 125-134.
47. Fourichon C, Beaudeau F, Bareille N, Seegers H. (2001). Incidence of health disorders in dairy farming systems in western France. *Livestock Production Science* 68: 157–170.
48. Freire A, Ramos J.M. (2005). Efecto del año y estación sobre la incidencia de cojeras en vacas lecheras en condiciones pastoriles del Uruguay: datos preliminares. XXXIII Jornadas de Buiatría, 9 al 11 de junio de 2005. Paysandú, Uruguay, p. 167-168.
49. Garnsworthy P. (2006). Body Condition Score in Dairy Cows: Targets for Production and Fertility. En: Garnsworthy P, Wiseman J. *Recent advances in Animal Nutrition*. Cap 4: 61-86.
50. Giannechini R, Concha C, Delucci I, Gil J, Salvarrey L, Rivero R. (2014) Bovine mastitis, distribution of pathogens and antimicrobial resistance in the Southern Dairy Basin of Uruguay. *VETERINARIA (Montevideo)* - Vol. 50 n° 196: 4-32.

51. Gilbert R.O. (2016). Management of reproductive disease in dairy cows. *Vet Clin Food Anim* 32: 387–410.
52. Giuliadori M.J, Magnasco R.P, Becu-Villalobos D. (2013). Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. *J Dairy Sci* 96(6): 3621-31.
53. Goff J.P, Horst R.L. (1997). Physiology and management: Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *J Dairy Sci* 80:1260–1268.
54. Goff P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 176 :50-57.
55. Goff J.P. (2014). Calcium and Magnesium Disorders. *Vet Clin Food Anim* 30: 359-381.
56. Goldberg J.J, Wildman E.E, Pankey J.W, Kunkel J.R, Howard D.B, Murphy B.M. (1992). The Influence of Intensively Managed Rotational Grazing, Traditional Continuous Grazing, and Confinement Housing on Bulk Tank Milk Quality and udder Health. *J. Dairy Sci.* 75:96-104.
57. Grant R.J, Albright J.L. (2001). Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 84 (E. Suppl.): E156-E163.
58. Graunard D.E, Bionaz M, Trevisi E, Moyes K.M, Salak-Johnson J.L, Wallace R.L, Drackley J.K, Berton G, Looor J.J. (2012) Blood immunometabolic indices and polymorphonuclear neutrophil function in peripartum dairy cows are altered by level of dietary energy prepartum. *J. Dairy Sci.* 95 :1749–1758.
59. Green M.J, Green L.E, Medley G.F, Schukken Y.H, Bradley A.J. (2002). Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85:2589–2599.
60. Grohn Y.T, Erd H.N, McCulloch C.E, Saloniemi H.S. (1989). Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: Association among host characteristics, disease, and production. *J Dairy Sci* 72: 1876-1885.
61. Grohn Y.T, Erb H.N, McCulloch C.E. (1990). Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease, and production. *Prev Vet Med* 8(1):25-39.
62. Grohn Y.T, Rajala-Schultz P.J. (2000). Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 60-61:605-14.
63. Grummer R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73: 2820-2833.
64. Grummer, R.R, Mashek D.G, Hayirli A. (2004). Dry Matter Intake and Energy Balance in the Transition Period. *Vet. Clin. Food Animal*, 20: 447-470.
65. Hammon D.S, Evjen I.M, Dhiman T.R, Goff J.P, Walters J.L. (2006). Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113 :21–29.

66. Hammon D.S, Goff J.P. (2006). Immune Function and Energy Status in Holstein Cows with Uterine Infections. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Arlington, TX. Texas Animal Nutrition Council, TX. Pages 29–36.
67. Hansen L.B, Cole J.B, Marx G.D. (1998). Body size of lactating dairy cows: results of divergent selection for over 30 years. Proceedings of the 6 World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Volume 20:35-38.
68. Hayes E.P.B, Christley R.M, Dobson H. (2012). Effects of periparturient events on subsequent culling and fertility in eight UK dairy herds. Veterinary Record 170: 540.
69. Heinrichs J, Tozer P, Gabler M, Schriefer T. (2016). Heifer economics. PennState Extension. <https://extension.psu.edu/heifer-economics>.
70. Hernández J.M. (2018). El fósforo en la vaca lechera. <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/el-fosforo-en-la-vaca-lechera-t26061.htm>.
71. Hill A.E, Green A.L, Wagner B.A, Dargatz D.A. (2009). Relationship between herd size and annual prevalence of and primary antimicrobial treatments for common diseases on dairy operations in the United States. Preventive Veterinary Medicine 88 : 264–277.
72. Houe H, Ostergaard S, Thilising-Hansen T, Jorgensen R.J, Larsen T, Sorensen J.T, Agger J.F, Blom J.Y. (2001). Milk fever and subclinical hypocalcemia - An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. Acta vet. scand., 42, 1-29.
73. Ingvarstsen K.L, Andersen J.B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. Journal of Dairy Science 83: 1573–1597.
74. Ingvarstsen, K.L, Dewhurst, R.J, Friggens, N.C. (2003). On the relationship between lactational performance and health; is it yield or metabolic imbalance that causes production diseases in dairy cattle? A position paper. Livestock Production Science 73, 277-308.
75. Ingvarstsen K.L. (2006). Feeding and management related diseases in the transition cow Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding related diseases. Animal Feed Science and Technology 126: 175–213.
76. Inmune. Disponible en: <https://www.inumet.gub.uy/clima/estadisticas-climatologicas/graficas-estadisticas-pluviometricas>.
77. Iwersen M, Drillich M. (2015). Retained fetal membranes in dairy cow. Livestock, Volume 20 No 3: 142-146.
78. Joosten I, Van Eldik P, Elving L. (1987). Factors related to the etiology of retained placenta in dairy cattle. Anim Reprod Sci 14:251-62.

79. Juozaitiene V, Juozaitis A, Kardisauskas A, Zymantiene J, Zilaitis V, Antanaitis R, Ruzauskas M. (2017). Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. *ACTA VET. BRNO*, 86: 345–352.
80. Kaneene J.B, Miller R. (1994). Epidemiological study of metritis in Michigan dairy cattle. *Veterinary Research, BioMed Central*, 25 (2-3), pp.253-257.
81. Kavitha P, Sreedevi B, Ramana J.V, Srinivasa Rao D. (2014). Parturient Hypocalcaemia (Milk Fever) in Dairy Cows - A Review. *Intas Polivet Vol. 15 (II)*: 507-514.
82. Kelton D.F, Lissemore K.D, Martin R.E. (1998). Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle. *Dairy Sci* 81:81:2502–2509.
83. Kimura K, Reinhardt T.A, Goff J.P. (2006). Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2588–2595.
84. Kolver E.S, Muller L.D. (1998). Performance and Nutrient Intake of High Producing Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration. *J Dairy Sci* 81:1403–1411.
85. Lacasse P, Vanacker N, Ollier S, Ster C. (2018). Innovative dairy .cow management to improve resistance to metabolic and infectious diseases during the transition period. *Research in Veterinary Science Vol 116*: 40-46.
86. Lacetera N, Scalia D, Bernabucci U, Ronchi B, Pirazzi D, Nardone A. (2005). Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition. *J. Dairy Sci.* 88:2010–2016.
87. LeBlanc S, Leslie K, Duffield T, Bateman K, Keefe G.P, Walton J.S, Johnson W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 85, 2223-2236.
88. LeBlanc S.J, Leslie K.E, Duffield T.F. (2005). Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 88:159–170.
89. LeBlanc S, Lissemore K.D, Kelton D.F, Duffield T.F, Leslie K.E. (2006). Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1267–1279.
90. LeBlanc S. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* 176 :102–114.
91. LeBlanc S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56(Suppl.):S29–S35.
92. LeBlanc S. (2014). Diagnosis and Treatment of Metabolic Disease. *Jornada de Actualización en Medicina Preventiva de Vacas Lecheras. Jueves 11 de diciembre de 2014. Sociedad Rural de Brandsen, Brandsen, BA.*

93. Lombard J.E, Garry F.B, Tomlinson S.M, Garber L.P. (2007). Impacts of Dystocia on Health and Survival of Dairy Calves. *J. Dairy Sci.* 90:1751–1760.
94. Lucey S, Rowlands G.J, Russell A.M. (1986). The association between lameness and fertility in dairy cows. *Vet. Rec.* 118,628–631.
95. Machado V. S, Caixeta L.S, McArt J.A.A, Bicalho R.C. (2010). The effect of claw horn disruption lesions and body condition score at dry-off on survivability, reproductive performance, and milk production in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 93 :4071–4078.
96. Macmillan K, Kastelic J.P, Colazo M.G. (2018). Update on Multiple Ovulations in Dairy Cattle. *Animals*, 8, 62.
97. Maizon D.O, Oltenacu P.A, Grohn Y.T. (2004). Effects of diseases on reproductive performance in Swedish Red and White dairy cattle. *Prev Vet Med* 66 (1-4):113-26.
98. Markusfeld O. (1984). Factors responsible for post parturient metritis in dairy cattle. *Veterinary Record* 114: 539-542.
99. Markusfeld O, Galon N, Ezra E. (1997). Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. *Veterinary Record* : 141, 67-72.
100. Martínez N, Risco C. A, Lima F.S, Bisinotto R.S, Greco L.F, Ribeiro E.S, Maunsell F, Galvão K, Santos J.E.P. (2012). Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.* 95 :7158–7172.
101. McArt J.A.A, Nydam D.V, Oetzel G.R, Overton T.R, Ospina P.A (2013). Elevated non-esterified fatty acids and b-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal* 198 :560–570.
102. McDougall S. (2001). Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal* 49(2), 60-67.
103. McDougall S. (2003). Management factors associated with the incidence of clinical mastitis over the non-lactation period and bulk tank somatic cell count during the subsequent lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 51:2, 63-72.
104. McDougall S, Parker KI, Weir AM, Compton CWR. (2008). Effect of application of an external teat sealant and/or oral treatment with a monensin capsule pre-calving on the prevalence and incidence of subclinical and clinical mastitis in dairy heifers. *New Zealand Veterinary Journal*, 56:3, 120-129.
105. Mee J.F, Berry D.P, Cromie A.R. (2008). Prevalence of, and risk factors associated with, perinatal calf mortality in pasture-based Holstein-Friesian cows. *Animal*, 2:4, 613–620.
106. Mee J.F, Sánchez-Miguel C, Doherty M. (2014). Influence of modifiable risk factors on the incidence of stillbirth/perinatal mortality in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 199 : 19–23.

107. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 127: 727-737.
108. Meikle A, Cavestany D, Carriquiry M, Adrien M.L, Artegoitia V, Pereira I, Ruprecht G, Pessina P, Rama G, Fernández A, Breijo M, Laborde D, Pritsch O, Ramos J.M, de Torres E, Nicolini P, Mendoza A, Dutour J, Fajardo M, Astessiano A.L, Olazábal L, Mattiauda D, Chilibroste P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia Uruguay - Volumen 17 1:141-152*.
109. Meléndez P, Bartolome J, Archbald L, Donovan A. (2003). The association between lameness, ovarian cyst and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology* 59: 927-937.
110. Meléndez P, Marin M.P, Robles J, Rios C, Duchens M, Archbald L. (2009). Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 72:826–833.
111. Meyer C.L, Berger P.J, Koehler K.J. (2000). Interactions among Factors Affecting Stillbirths in Holstein Cattle in the United States. *J Dairy Sci* 83:2657–2663.
112. Miglior F, Fleming A, Malchiodi F, Brito L.F, Martin P, Baes C.F. (2017). A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 100:10251–10271.
113. Moyes K.M, Larsen T, Friggens N.C, Drackley J.K, Ingvarsten K.L. (2009). Identification of potential markers in blood for the development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation. *J. Dairy Sci.* 92 :5419–5428.
114. Muller L.D, Owens M.J. (1974). Factors Associated with the Incidence of Retained Placentas. *Journal of Dairy Science* Vol. 57, No. 6. 725-728.
115. Mulligan F.J, Doherty M.L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal* 176 : 3–9.
116. Neves R.C, Leno B.M, Stokol T, Overton T.R, McArt J.A.A. (2016). Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:3796–3804.
117. Nielen M, Schukken Y.H, Scholl D.T, Wilbrink H.J, Brand A. (1989). Twinning in dairy cattle: a study of risk factors and effects. *Theriogenology* Vol. 32 No. 5, 845-862.
118. Nyman A.K, Emanuelson U, Holtenius K, Ingvarsten K.L, Larsen T, Persson Waller K. (2008). Metabolites and Immune Variables Associated with Somatic Cell Counts of Primiparous Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:2996–3009.

119. Olde Riekerink R.G.M, Barkema H.W, Kelton D.F, Scholl D.T. (2008). Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. *J. Dairy Sci.* 91:1366–1377.
120. Oltenacu P.A, Frick A, Lindhé B. (1990). Epidemiological study of several clinical diseases, reproductive performance and culling in primiparous Swedish cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 9 : 59-74.
121. Oltenacu P, Ekesbo I. (1994). Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research, BioMed Central*, 25 (2-3), 208-212.
122. Ospina P.A, Nydam D.V, Stokol T, Overton T.R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93 :546–554.
123. Overton T.R, Waldron M.R. (2004). Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *J. Dairy Sci.* 87:(E. Suppl.):E105–E119.
124. Parker K.I, Compton C.W.R, Anniss F.M, Weir A.M, McDougall S. (2007). Management of dairy heifers and its relationships with the incidence of clinical mastitis. *New Zealand Veterinary Journal*, 55:5, 208-216.
125. Pereira I, Laborde D, Carriquiry M, Lopez-Villalobos N, Meikle A. (2010). Productive and reproductive performance of Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein Friesian cows in a predominantly pasture-based system. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production 2010. Vol 70: 306-310.*
126. Perusia O.R. (1998). El síndrome de la vaca caída. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria Tomo LII N° 21.*
127. Petrovski K.R, Heuer C, Parkinson T.J, Williamson N.B. (2009) The incidence and aetiology of clinical bovine mastitis on 14 farms in Northland, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 57:2, 109-115.
128. Piñeiro J.M, Menichetti B.T, Barragan A.A, Relling A.E, Weiss W.P, Bas S, Schuenemann G.M. (2019). Associations of pre- and postpartum lying time with metabolic, inflammation, and health status of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102:3348–3361.
129. Rajala P.J, Grohn Y.T. (1998). Effects of Dystocia, Retained Placenta, and Metritis on Milk Yield in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 81:3172–3181.
130. Rajala-Schultz P.J, Gröhn Y.T, McCulloch C.E. (1999). Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 288–294.
131. Ramos J.M, Freire A. (2006). Effect of the year, season and animal category on the incidence of lame cows under grazing conditions in Uruguay. *14° Simposio Internacional y 6° Conferencia Cojeras en Rumiantes. 8-11 Noviembre de 2006. Colonia- Uruguay.*

132. Ramos J.M. (2006). Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production in Uruguay. 14° Simposio Internacional y 6° Conferencia Cojeras en Rumiantes. 8-11 Noviembre de 2006. Colonia- Uruguay.
133. Reinhardt T.A, Horst R.L, Goff J.P. (1988). Calcium, phosphorus and magnesium homeostasis in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice - Vol 4, N° 2*, 331-350.
134. Reinhardt T.A, Lippolis J.D, McCluskey B.J, Goff J.P, Horst R.L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188 : 122–124.
135. Ribeiro E.S, Galvão K.N, Thatcher W.W, Santos J.E.P. (2012). Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Anim Reprod*, v.9, n.3 : 370-387.
136. Ribeiro E.S, Lima F.S, Greco L.F, Bisinotto R.S, Monteiro A.P.A, Favoreto M, Ayres H, Marsola R.S, Martinez N, Thatcher W.W, Santos J.E.P. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96 : 5682–5697.
137. Richardet M, Castro S, Tirante L, Vissio C, Larriestra A.J. (2016). Magnitud y variación de la mastitis clínica y sus costos asociados en rodeos lecheros de Argentina. *Arch Med Vet* 48, 153-158.
138. Risco C.A, Meléndez P. (2011). *Dairy production medicine*. John Wiley & Sons, Inc. 1° Ed. UK.
139. Robbins J.A, von Keyserlingk M.A.G, Fraser D, Weary D.M. (2016). Invited Review: Farm size and animal welfare. *J. Anim. Sci.* 94:5439-5455.
140. Roche J.R, Morton J, Kolver E.S. (2002). Sulfur and Chlorine Play a Non-Acid Base Role in Periparturient Calcium Homeostasis. *J. Dairy Sci.* 85:3444–3453.
141. Roche J.R, Lee J.M, Macdonald K.A, Berry D.P. (2007). Relationships Among Body Condition Score, Body Weight, and Milk Production Variables in Pasture-Based Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:3802–3815.
142. Roche J.R, Friggens N.C, Kay J.K, Fisher M.W, Stafford K.J, Berry D.P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 92 :5769–5801.
143. Roche J.R, Kay J.K, Friggens N.C, Looor J.J, Berry D.P. (2013). Assessing and managing body condition score for the prevention of metabolic disease in dairy cows. *Vet Clin Food Anim* 29: 323-336.
144. Rodríguez E.M, Arís A, Bach A. (2017). Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:7427–7434.

145. Ruegg P. L, Milton R.L. (1995). Body condition score of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: Relationship with yield, reproductive performance and disease. *J Dairy Sci* 78: 552-564.
146. Ruegg P.L. (2003). Investigation of mastitis problems on farms. *Vet Clin Food Anim* 19:47-73.
147. Ruegg P.L. (2009). Implementing effective milk quality programmes. *Irish Veterinary Journal* Volume 62 Number 6: 411-415.
148. Ruprecht G, Adrien M.L, Larriestra A, Meotti O, Batistae C, Meikle A, Noro M. (2018). Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 118 (191-198).
149. Rutherford K.M.D, Langford F.M, Jack M.C, Sherwood L, Lawrence A.B, Haskell M.J. (2009). Lameness prevalence and risk factors in organic and non-organic dairy herds in the United Kingdom. *The Veterinary Journal* 180 : 95–105.
150. Santos J.E.P, Cerri R.L.A, Ballou M.A, Higginbotham G.E, Kirk J.H. (2004). Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. *Animal Reproduction Science* 80 : 31–45.
151. Sauter-Louis C.M, Chesterton R.N, Pfeiffer D.U. (2004). Behavioural characteristics of dairy cows with lameness in Taranaki, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 52:3, 103-108.
152. Scándolo, D.E, Scándolo, D.G, Cuatrín, A, Maciel, M. (2016). Prevalencia de hipocalcemia subclínica en vacas lecheras. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 36 Supl. 1: 33-70.
153. Schuenemann G.M, Nieto I, Bas S, Galvão K.N, Workman J. (2011). Assessment of calving progress and reference times for obstetric intervention during dystocia in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 :5494–5501.
154. Schukken Y.H, Erb H.N, Smith R.D. (1988). The Relationship between Mastitis and Retained Placenta in a Commercial Population of Holstein Dairy Cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 5 : 181-190.
155. Schukken Y.H, Erb H.N, Scarlett J.M. (1989). A hospital-based study of the relationship between retained placenta and mastitis in dairy cows. *Cornell Vet* 79 (4):319-26.
156. Schukken Y.H. (1989). Retained placenta and mastitis. *Cornell Vet* 79(2):129-31.
157. Schwegler E, Schneider A, Montagner P, Velasco Acosta D.A, Machado Pfeifer L.F, Schmitt E, Rohrig Rabassa V, Burkert Del Pino F.A, de Lima Gonzalez H, Dias Timm C, Nunes Corrêa M. (2013). Predictive value of prepartum serum metabolites for incidence of clinical and subclinical mastitis in grazing primiparous Holstein cows. *Trop Anim Health Prod* 45:1549–1555.

158. Seifi H.A, LeBlanc S.J, Leslie K.E, Duffield T.F. (2011). Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 188 : 216–220.
159. Sepúlveda Varas P, Weary D.M, Noro M, von Keyserlingk M.A.G. (2015) Transition Diseases in Grazing Dairy Cows Are Related to Serum Cholesterol and Other Analytes. *PLoS ONE*10(3): 0122317. doi:10.1371/ journal. pone. 0122317.
160. Sepúlveda Varas P, Wittwer Menge F. (2017). Período de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras. Primera Edición. Edición Sepulveda Varas P. Chile.
161. Sheldon M.I, Lewis G.S, LeBlanc S, Gilbert R.O. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65 :1516–1530.
162. Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang Y.M, Fricke P.M. (2007). An Observational Analysis of Twin Births, Calf Sex Ratio, and Calf Mortality in Holstein Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 90:1255–1264.
163. Sprecher D, Hostetler D, Kaneene J. (1997). A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology.* 47: 1179-1167.
164. Ster C, Loisel M.C, Lacasse P. (2012). Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *J. Dairy Sci.* 95 :708–717.
165. Stevenson J.S, Call E.P. (1988). Reproductive disorders in the periparturient dairy cow. *Journal of Dairy Science* 71, 2572-2583.
166. Stevenson M.A. (2000). Disease incidence in dairy herds in the southern highlands district of New South Wales, Australia. *Preventive Veterinary Medicine* 43 : 1-11.
167. Suthar V.S, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96 :2925–2938.
168. Tamminga S, Luteijn P.A, Meijer R.G.M. (1997). Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Production Science* 52 : 31-38.
169. Tomazi T, Ferreira G.C, Orsi A.M, Gonçalves J.L, Ospina P.A, Nydam D.V, Moroni P, dos Santos M.V. (2018). Association of herd-level risk factors and incidence rate of clinical mastitis in 20 Brazilian dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 161: 9–18.
170. Toni F, Vincenti L, Ricci A, Schukken Y.H. (2015). Postpartum uterine diseases and their impacts on conception and days open in dairy herds in Italy. *Theriogenology* 84 :1206–1214.

171. Van de Braak A.E, van't Klooster A.T, Malestein A. (1987). Influence of a deficient supply of magnesium during the dry period on the rate of calcium mobilisation by dairy cows at parturition. *Res. Vet. Sci.* 42, 101–108.
172. Venjakob P.L, Borchardt S, Heuwieser W. (2017). Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *J. Dairy Sci.* 100:1–9.
173. Verkerk G.A, Hemsworth P.H. (2010). Managing cow welfare in large dairy herds. *Proceedings of the Australasian Dairy Science Symposium, Proceedings of the 4th Australasian Dairy Science Symposium, Aug.* Publisher: Caxton Press.
174. Wagemann C, Wittwer F, Chihuailaf R, Noro M. (2014). Estudio retrospectivo de la prevalencia de desbalances minerales en grupos de vacas lecheras en el sur de Chile. *Arch Med Vet* 46, 363-373.
175. Warnick L.D, Janssen D, Guard C.L, Gröhn Y.T. (2001). The effect of lameness on milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84,1988–1997.
176. Washburn S.P, White S.L, Green J.T.J, Benson G.A. (2002). Reproduction, Mastitis, and Body Condition of Seasonally Calved Holstein and Jersey Cows in Confinement or Pasture Systems. *J. Dairy Sci.* 85:105–111.
177. Wathes D.C, Cheng Z, Bourne N, Taylor V.J, Coffey M.P, Brotherstone S. (2007). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology* 33 (2007) 203–225.
178. Wells P.W, Burrells C, Martin W.B. (1977). Reduced mitogenic responses in cultures of lymphocytes from newly calved cows. *Clin. Exp. Immunol.* 29:159-161.
179. Wells S.J, Trent A.M, Marsh W.E, McGovern P.G, Robinson R.A. (1993). *Preventive Veterinary Medicine*, 17 : 95-109.

10. ANEXO

Incidence for diseases during early lactation and their association with parity and herd size in grazing dairy cows

Irene Cruz^a, Isabel Pereira^a, Gretel Rupprechter^b, Pablo Chilibroste^c, Ana Meikle^b, Alejandro Larriestra^d

^a Faculty of Veterinary Medicine, Montevideo, Uruguay.

^b Animal Endocrine and Metabolism Laboratory, Veterinary Faculty, Montevideo, Uruguay.

^c Department of Animal and Pasture Production, Agronomy Faculty, Paysandú, Uruguay.

^d Veterinary Faculty, National University of Rio Cuarto, Argentina.

Abstract

This paper aimed to describe the incidence of diseases in early lactation and variation according to parity and herd size. Also, to evaluate the association between diseases and risk factors, such as parity and herd size, in 13 commercial grazing dairy herds. Seven farms had less than 250 dairy cows (small dairy herds, SDH) and six of them had more than 500 cows (large dairy herds, LDH). Herd managers recorded disease events with specific criteria for the first 90 days in milk (DIM) in 5375 Holstein dairy cows (24.5% primiparous cows, PP) during one year. Incidence of diseases were summarized through descriptive statistics according to parity and herd size using FREQ procedures of SAS. Data were analyzed by multivariate logistic regression using GLIMMIX procedures of SAS. The model included parity and herd size; for retained placenta-metritis (RP-metritis) the model also include stillbirth and twins. Farm was used as random effect. Overall, 36.5% of the cows monitored had at least one clinical disease in their first 90 DIM. Disease incidence were 2.2%, 4.9%, 4.4%, 27.6%, 5.0% and for twin birth, stillbirth, RP-metritis, clinical mastitis and lameness, respectively. In PP cows, stillbirth was higher than multiparous (MP), while in MP was higher twin birth, RP-metritis and mastitis. Herd size affected mastitis and lameness, being higher in LDH. RP-metritis was affected by stillbirth and twin birth. Incidence of diseases in early lactation, was relatively high and with wide variation across herds. The present study did not found an the association between diseases.

Introduction

Over the last 50 years there has been an increase not only in milk production but also in diseases (Miglior et al., 2017), affecting animal welfare and causing economic losses due to decrease of the quantity and quality of milk and also the increase of the costs related to antibiotic treatments and replacement animals (Ingvarlsen, 2006; Mulligan and Doherty, 2008). Health problems are at highest risk during the transition period in the lactating cow, specially the first month after calving (Goff and Horst, 1997; LeBlanc et al., 2006) among others because negative energy balance (NEB) (Drackley, 1999) and depression of the immune system (Wells et al., 1977; Detilleux et al., 1995). LeBlanc (2010) reported that between 30 to 50% of dairy cows suffered some type of disease during lactation. Several studies also reported the high association between diseases; e.g., cows with stillbirth calving are

at more risk of retention of placenta and metritis, and cows with milk fever have more risk to displacement of abomasum and ketosis (Curtis et al., 1983; Oltenacu et al., 1990; Correa et al., 1993).

Most of the dairy health information has been mostly generated in productive housing systems. Studies that compared confinement and grazing systems consistently reported that the latter present less health problems (Goldberg et al., 1992; Washburn et al., 2002), although Sepúlveda et al. (2015) reported high diseases incidence in grazing systems. This is relevant, since while the image of grazing cows to the consumer is associated with animal welfare (Verkerk and Hemsworth, 2010), there is a confirmed trend of increasing stocking rate in all dairy industries (Robbins et al., 2016). According to Beggs et al. (2015), increasing herd size in grazing systems, increased herd milking time, time away from the paddock and distance walked, factors that can cause reduced welfare unless specific husbandry practices are implemented (Verkerk and Hemsworth, 2010). Indeed, a higher indice of lameness prevalence (Flor and Tadich, 2008) and higher bulk tank somatic cell counts (McDougall, 2003) were reported in larger dairy farms. Moreover, in confined systems, the percentage of cows leaving the herd increased with herd size (Smith et al., 2000), which is related to animal welfare issue (McConnel, 2010).

Parity is also a well-known risk factor for some diseases (Rupprechter et al., 2018), as PP have more risk of metritis than MP (Sepúlveda and Wittwer, 2017). However, MP have more risk of milk fever, subclinical hypocalcemia, retained placenta and mastitis (Reinhardt et al., 2011; Suthar et al., 2013; Richardet et al., 2016; Rupprechter et al., 2018). PP cows experience different adaptation to the transition period due to increased needs for growth in addition to the stress of first calving, introduction to the milking parlour, changing metabolic demands, hormonal changes and altered diets (Eicher et al., 2007).

As mentioned before, studies on health in dairy grazing systems are more limited (Sepúlveda et al., 2015). Moreover, cow management in grazing systems influenced by climatic conditions differs from confinement, therefore, the risk factors affecting them may also differ (Compton et al., 2007). Thus, this work aimed to describe the incidence of diseases during early lactation and to investigate the association between diseases and risk factors, such as herd size and parity in commercial grazing dairy herds.

Materials and Methods

The experimental protocol was evaluated and approved by the Honorary Committee for Animal Experimentation in Uruguay (CHEA – UdelaR, Montevideo, Uruguay).

Farms selection

A prospective cohort study was conducted in 13 commercial dairy farms located within 40 km of Florida, Uruguay (34°05' S and 56°12' W). Farm selection was based on convenience: all chosen dairies were agronomic and veterinary advised, with good reproductive and productive records of cows. Seven of the farms (1-7) were small dairy herds (SDH) averaged herd size was ($X \pm SD$) 144 \pm 56 cows and six

of them (8-13) were large dairy herds (LDH) averaged herd size was 830 ± 239 cows. These herds were visited every 20 days by the same veterinarian during data collection. Information about productive and reproduction management of the farms are presented in table 1.

Feeding management

All the farms were mixed grazing dairies, cows grazed all year mix sward and, to complement the pasture, cows were supplemented with grain-based concentrate and conserved forage (silage, bales or silopacks). Mean Kg of DM through the year is shown in table 1. The amounts of supplements varied according to pasture deficit, specially the conserved forages. According to the place where animals were fed, all the SDH and dairy 8,9 and 13 of the LDH fed concentrates inside the milking parlor. The others LDH (dairy 10, 11 and 12) supplemented exclusively as PMR.

Reproductive management

Small dairy herds were year round calving while LDH were seasonal calving (6 to 9 months), except for dairy 9, that had split calving (autumn and spring). All the farms used AI with heat detection but dairy 8,10 and 11 (LDH) also used timed AI at the beginning of the mating period and dairy 1, 3, 5 7 and 12 use exclusively AI, the rest of the farms use combined AI and bull. Median and mean (\pm S.D) days postpartum at first AI, for cows inseminated at estrus, were 83 and 103,7 (\pm 79,1). Median and mean (\pm S.D) days postpartum at conception were 112 and 145,6 (\pm 99,4).

Health management

On the first day of visit to the farms, the owners were asked about dairy`s health management. Information about vaccinations, deworming, input of minerals and vitamins in dairy cows and use of anionic salts in prepartum cows was collected. All the farms deworm and vaccine against reproductive and Clostridium diseases. Dairy 7, 8, 9, 10, 11 and 12 vaccine against respiratory diseases and diarrhea. Except for dairy 6 (SDH), the rest uses anionic salts in the prepartum period. Mineral and vitamin supplements given as salt, were used on farms except for dairy 3 and 4.

Regarding the prevention of mastitis, all farms used dry cow antibiotic therapy, and except for dairy 6, all the farms use post milking teat dipping. Only dairy 5, 8 and 9 used pre dipping disinfection and dairy 2, 5, 7, 9, 10, 11 and 13 discarded the first jets of milk. Only dairy 7 (SDH) and all the LDH had antibiotic protocol to treat clinical mastitis and dairy 8, 12 and 13 had a specialized veterinarian in mastitis.

Study design and diseases recording

A total of 5375 Holstein dairy cows calving between March 1st of 2016 and March 1st 2017 were evaluated. Data for each individual cow included cow parity, milk yield in the first 90 days postpartum, dates and descriptions of calving (sex of the calf, stillbirth, simple or twin) and disease events. Herd managers were instructed to record only disease events (described later) that required treatment, therefore in the first visit to each farm, definition of each disease were explained clearly.

Still birth was defined as calf born dead or a calf that died within 24 h after birth (Juozaitiene et al., 2017). Retained placenta and metritis were considered as a syndrome, as one uterine disease, thus, all cows treated for retained placenta defined as failure to expel the placenta within 24 h after parturition (LeBlanc, 2008) and/or treated for metritis defined as an animal with a fetid watery red-brown uterine discharge, associated with signs of systemic illness (decreased milk yield, dullness or other signs of toxemia) and fever >39.5 8C (Sheldon et al., 2006). Milk fever as every cow with positive response to calcium treatment (Sepúlveda et al., 2015) due to clinical signs of milk fever, including down and unable to rise; muscular weakness (Berge and Vertenten, 2014). Down-cow disorder as cows unable to get up (Perusia, 1998) with no positive response to calcium treatment. Clinical mastitis as all cows treated by operators with compatible signs (characterized by the presence of abnormal milk or by signs of inflammation in 1 or more quarters) (McDougall et al., 2008). Lameness as cows with treatment or separated by foot problems (Bargo et al., 2009). Other diseases when cows were treated for indigestion defined as change in fecal consistency (Berge and Vertenten, 2014), decreased appetite, absence of rumination and leukosis diagnosed by veterinarian or other disease (bovine actinomycosis, abscess, fever).

Statistical Analysis

Disease incidence were summarized through descriptive statistics according to parity (PP vs MP) and herd size (SDH vs LDH) using FREQ procedures and MEANS procedures of SAS University version 3.8 (Edition Basic) (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). Before application of multivariate models, an stratified analysis was made. To calculate relative risk and confidence interval of stillbirth and twins, FREQ procedures were used with Mantel-Haenszel statistics of SAS. To estimate significant differences between cases at 14 SD according to PP and MP Epidat 3.1 software was used. Data were analyzed by multivariate logistic regression using GLIMMIX procedures of SAS to analyse the risk of periparturient diseases (presence or absence), and parity (PP and MP), and herd size (SDH and LDH). Farm was used as random effect. In the model for retained placenta-metritis, stillbirth and twin birth were also included. All the disease events were coded as 0, 1 (yes, no) dichotomous variables. Differences with $P \leq 0,05$ were considered significant and $P \leq 0,1$ as tendency.

Results

Descriptive statistics

From a total of 5375 cows, 24.5% of them were PP cows (n=1316). Most cows (53.5%) calved in 3 months (February-April), 33% between May and August and 13% between September and January. According to herd size, as it was mentioned before, LDH have seasonal calving, with 69% calving between February and May. On the contrary, SDH have year round calving, with 2 small calving concentration between February and April (35%) and August-September (31%). According to parity, PP calving were mainly on March (31,4%) and a small concentration on August (15%), while MP calved mostly between February and April (53%).

Overall, 36.5% of the cows monitored had at least one clinical disease in their first 90 days in milk (DIM). Disease incidence and calving characteristics according to parity and herd size is shown in table 2 and 3.

Twins and stillbirth

Twin birth and stillbirth were 2.2% and 4.9% respectively, without differences between herd size (Table 3). Parity affected both variables, as twins was less frequent in PP than MP cows, and stillbirths were more frequent in PP than MP cows (Table 2). Twin births had more risk (relative risk = 4.9; 95% IC= 3.4-7.0) to calve a dead calf than simple births.

RP-metritis

The overall incidence of RP-metritis was 4.4%, in the bivariate analysis parity was not significant (Table 2) and it was more frequent in SDH (Table 3). On the contrary, in the logistic model, herd size was not significant and the probability of RP-metritis increased for 1.4 in MP cows, after adjustment by stillbirth and twins. The odds also increased by 3 and 4 times, after stillbirth and twin birth respectively (Table 4). Moreover, mean and median DIM of diagnosis was 7 and 3 respectively.

Clinical Mastitis

Mastitis was the most frequent disease, being the overall incidence 27.6%. Parity and herd size affected this disease as it was more frequent in MP (Table 2) and in LDH (Table 3). In the model, the odds of mastitis were higher by 1.8 for MP and by 2.3 for LDH (Table 5). Moreover, median DIM of diagnosis was 14 days postpartum. However, the incidence of mastitis within these 14 DIM were different according to parity: 61% in PP cows and 49% in MP cows (P= 0.0013).

Lameness

The incidence of lameness in all cows was 5.0%. There was no significance difference for parity (Table 2). Herd size affected the incidence of lameness as it was higher for LDH (Table 3). In the logistic model, the odds of LAME were higher by 2.4 for LDH (Table 5). Mean and median DIM of diagnosis were 36 and 31 respectively.

Others

Diseases such as milk fever, down cow syndrome, leucosis, indigestion and others, had an incidence altogether of 3.0%, and they were analyzed as one. Incidence was similar between herd size, however it was affected by parity as was more frequent in MP (3.8% vs 0.8%, P < 0.0001).

It was analysed, in multivariate statistical models, different associations between postpartum diseases, without founding significant association.

Discussion

The incidence found in this study is similar to other studies performed in grazing systems (Stevenson, 2000; Ribeiro et al., 2013). However, it is difficult to compare incidences of diseases between studies because of the different criteria for classifying diseases and record management. It must be taken into account, in this type of study, bias, definition and register protocols, therefore the necessity to provide simple and concise definitions for each of the diseases (Stevenson, 2000).

Incidence of twin and stillbirth was similar to others studies under grazing systems (McDougall, 2001; Mee et al., 2008; Hayes et al., 2012). In our study, twin incidence was higher in MP than PP cows, in agreement with Silva del Río et al. (2007). This might occur because multiple ovulation rates increases in older cows (Macmillan et al., 2018). Moreover, twin birth affects stillbirth, in agreement with others (Silva de Río et al., 2007; Berry et al., 2007), which is mainly due to shorter gestation period (Nielen et al., 1989). It should be noted that twins birth is also a risk factor for dystocia therefore more risk of calf mortality (Berry et al., 2007). Primiparous cows had lower twin incidence, although stillbirth in this category was greater (6.9 vs 4.3%). Similar with Mee et al. (2008) that reported stillbirth 7.7% and 3.5% in PP and MP, respectively. This is mainly explained because of the higher calving assistance and incidence of dystocia in PP cows (Mee et al., 2008; Bleul, 2011), one of the most important risk factors for stillbirth (Meyer et al., 2000). Herd size had no effect, in agreement with Mee et al. (2008), but in that study all herd sizes were small, according to our classification. However, Silva del Río et al. (2007) reported an increase in calf mortality as herd size increased, this might be due to less intensively managed during calving in larger herds or more accurately reported calf mortality than smaller herds.

In the present study, overall incidence of RP-metritis was 4.4%, inside the wide range mentioned in the literature (Kelton et al., 1998). As it was mentioned before, we registered cases of RP and metritis together which is not common in others studies and it is difficult to compared to them. Anyways, in studies done in grazing systems, the incidence of RP ranged between 1.7% and 14% (McDougall, 2001; Hayes et al., 2012; Ribeiro et al., 2013; Sepúlveda et al., 2015; Daros et al., 2017). On the other hand, the incidence of metritis varies between 5.3% and 41.1% in grazing systems (Ribeiro et al., 2013; Sepúlveda et al., 2015). Wide variation in reported incidence is due to different definitions of the disease used in each one (Kelton et al., 1998). Sheldon et al. (2006) reported standard definition to unify criteria among research groups. However, in most studies, researcher or veterinarian of the farm diagnoses the disease, monitoring all postpartum cows in search of cows with symptoms, therefore incidence in our study is likely underestimated. According to parity, in the present study, MP cows had higher risk of RP-metritis. Daros et al. (2017) reported an OR of 2.4 for RP in MP cows. For metritis, it was also reported that MP were significantly associated with increases in the occurrence of metritis (Kaneene and Miller, 1994), associated to higher incidence of RP in this category (Curtis et al., 1983). Also, subclinical hypocalcemia affects the immune system, which increases the odd of uterus infection (Martínez et al., 2012). However, some reported higher risk of metritis in PP cows (Markusfeld, 1984; Toni et al., 2015), associated to more risk of dystocia (Kaneene and Miller, 1994). For the case of stillbirth and twins, both were significant associated with RP-metritis, in agreement with others (Muller and Owens, 1974; Oltenacu et al., 1990; Chassagne et al., 1999; McDougall, 2001). For metritis, stillbirth and twinning were also reported as risk factors (Markusfeld, 1984), as they are associated to higher calving assistance and

dystocia (Meyer et al., 2000; Berry et al., 2007, Bleul, 2011). Which can increase contamination of the uterus because of human intervention (Dubuc et al., 2010). Herd size was not associated with RP-metritis in agreement with Bruun et al. (2002). However, some researchers detected a higher percentage in larger herds, associated with different management, better detection and disease recording (Fourichon et al., 2001).

Overall incidence of mastitis in the present study (27.6%) was higher than others under grazing systems (Petrovski et al., 2009, 14.8%; Sepúlveda et al., 2015, 11.7%) and even higher under confinement conditions (Meléndez et al., 2009, 14.4%). If we consider target incidence (<24% per year in all lactating cows, Ruegg, 2003), mastitis incidence founded in the present study is wide above, due to we only considered the first 3 months of lactation. Mastitis is multifactorial, but these findings could be explained due to the rainy conditions that occurred specially on April 2016, where roads and resting places of prepartum and lactating animals had mud and humidity. It has been reported that poor udder hygiene is a risk factor for mastitis (Ruegg, 2009). Median DIM of the diagnosis of clinical mastitis was 14 DIM, inferior to 37 and 54 DIM reported by different authors (Oltenucu et al., 1990; Stevenson, 2000). Studies agreed that the highest risk of clinical mastitis is at the beginning of lactation, but our result of median 14 DIM, reflects infection in the prepartum (Green et al., 2002). Mastitis was affected by parity, as MP had more risk than PP cows, in accordance with others studies (Petrovski et al., 2009; Richardet et al., 2016). Indeed, older cows have higher milk yield (Ingvarsten et al., 2003), related to subclinical hypocalcemia that reduces the contraction of the teat sphincter muscle and affects negatively the immune function (Kimura et al., 2006; Goff, 2014). It also is associated with longer period of exposure to pathogens, therefore less ability to resist infection (Petrovski et al., 2009; Risco and Melendez, 2011). It is interesting that mastitis percentage of the cases in the first 2 weeks postpartum, was higher in PP than MP cows, in agreement with others (Barkema et al., 1998; Olde Riekerink et al., 2008). Risk factors in heifers are different of the MP, due to that, they are still growing and the stressful process of lactation and milking management (Parker et al., 2007). One risk factor reported for mastitis in PP is the management of heifers and older cows postpartum together (Parker et al., 2007). In the present study, only one dairy farm (farm 11) have management of the heifers separately.

According to herd size, LDH had more risk than SDH. Herd size is considered an indirect way to infer the level of complexity and management of farms with influence on different aspects of diseases (facilities, rate of disease transmission, reproductive management, availability of technical advice, etc.). For instance, LDH concentrated calvings in autumn, therefore an increase of animals in their highest risk period for diseases, plus rainy conditions as mentioned before at the same time, could increased mastitis incidence. On the other hand, Tomazi et al. (2018) did not found differences according to herd size but all farms were smaller than in the present study. Bates and Dohoo, (2016) neither found association but their farms were all LDH respect our classification. Archer et al. (2013) reported greater somatic cell count in cows in LDH due to higher infection rate due to higher cows reservoir (Bartlett et al., 1992). Parker et al. (2007) attributed it to more exposure to environmental pathogens (increase in stocking density), more time spent closely on feeding areas and peripartum period (hygiene is difficult to manage) and more cows milked by one person (less efficient milking routine). On the other hand, Hill et al. (2009) reported decreased prevalence of diseases as herd size increased, because

management in LDH have better standard of management that would contribute to a lower prevalence of the disease.

Overall incidence of lameness, in the present study was 5%, it is in the range of previous reports (1.8 and 30%, Kelton et al., 1998). However, lameness is a disease that an appropriate infrastructure is needed to diagnose it, thus, is possible that in this study it was underestimated. No significant difference was found according to parity. However, a study during 4 years in one herd found that lameness was more frequent in PP than MP (24% vs 15.9%, $p \leq 0.05$) (Ramos and Freire, 2006). It should be noted that young cows in pasture based dairy farms, are under stress due to calving, dominance, milking management, change of their feeding diet, among others, that may affect the incidence of lameness. Nevertheless, there are reports that older cows were more likely to be lame (Rutherford et al., 2009), may be due to a positive association between prevalent clinical lameness and heavier body weight (Wells et al., 1993). According to herd size, we found more risk of lameness in LDH, as it was reported (Flor and Tadich, 2008). Probably due to, in these herds, cows walk longer distances, combined with hard surfaces, could become a significant cause of lameness (Chesterton, 2006). On the other hand, in 2 studies done in Australian pasture-based dairy farms, prevalence of lameness (5.7-6.9%) were not related to farm size even when larger farms had longer walking distances to pasture and longer time away from pasture due to increased herd milking time but these studies could underestimate the true underlying level of disease (Beggs et al., 2015; 2019).

There are several studies that reported the association between heath events during the transition period (Oltenacu et al., 1990; Correa et al., 1993; Oltenacu and Ekesbo, 1994; Suthar et al; 2013). These findings could not be corroborated in the present study. Except for mastitis, lameness and RP-metritis, the frequency of other conditions was very low (milk fever, down cow syndrome, etc.), which may have contributed to a low statistical power.

Conclusion

Incidence of diseases in early lactation, was relatively high and with wide variation across herds and mastitis was the most relevant. Multiparous cows had higher proportion of cows with mastitis and retained placenta-metritis than primiparous. Clinical mastitis and lameness was higher in larger than smaller dairy herds. However, the present study did not found an association between diseases.

References

1. Archer S.C, McCoy F, Wapenaar W, Green M.J. (2013). Association of season and herd size with somatic cell count for cows in Irish, English, and Welsh dairy herds. *The Veterinary Journal* 196 : 515–521.
2. Bargo F, Busso F, Corbellini C, Grigera J, Lucas V, Podetti V, Tuñon G y Vidaurreta I. (2009). Organización y Análisis de un Sistema de Registros de Enfermedades del Periparto en Vacas Lecheras: su Incidencia e Impacto Económico sobre las Empresas. Informe final 1: 1-44.

3. Barkema H.W, Schukken Y.H, Lam T.J.G.M, Beiboer M.L, Benedictus G, Brand A. (1998). Management Practices Associated with Low, Medium, and High Somatic Cell Counts in Bulk Milk. *J Dairy Sci* 81:1917–1927.
4. Bartlett P.C, Miller G.Y, Lance S.E, Heider L.E. (1992). Environmental and managerial determinants of somatic cell counts and clinical mastitis incidence in Ohio dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 14: 195-207.
5. Bates A.J, Dohoo I. (2016). Risk factors for peri-parturient farmer diagnosed mastitis in NewZealand dairy herds: findings from a retrospective cohort study. *Preventive Veterinary Medicine* 127: 70–76.
6. Beggs D.S, Fisher A.D, Jongman E.C, Hemsworth P.H. (2015). A survey of Australian dairy farmers to investigate animal welfare risks associated with increasing scale of production. *J. Dairy Sci.* 98:5330–5338.
7. Beggs D.S, Jongman E.C, Hemsworth P.H, Fisher A.D. (2019). The effects of herd size on the welfare of dairy cows in a pasture-based system using animal- and resource-based indicators. *J. Dairy Sci.* 102:3406–3420.
8. Berge A.C, Vertenten G. (2014). A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97 :2145–2154.
9. Berry D.P, Lee J.M, Macdonald K.A, Roche J.R. (2007). Body Condition Score and Body Weight Effects on Dystocia and Stillbirths and Consequent Effects on Postcalving Performance. *J. Dairy Sci.* 90:4201–4211.
10. Bleul U. (2011). Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland. *Livestock Science* 135: 257–264.
11. Bruun J, Ersbølla A.K, Alban L. (2002). Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 54 : 179–190.
12. Chassagne M, Barnouin J, Chacornac J.P. (1999). Risk factors for stillbirth in Holstein heifers under field conditions in France: A prospective survey. *Theriogenology* 51:1477-1466.
13. Chesterton N. (2006). Lameness under grazing conditions. 14th International Symposium and 6th Conference on Lameness in Ruminants - Colonia-Uruguay 8-11 Nov. 2006.
14. Correa M.T, Erb H, Scarlett J. (1993). Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J Dairy Sci* 76: 1305-1312.
15. Compton C.W.R, Heuer C, Parker K, McDougall S. (2007). Risk Factors for Peripartum Mastitis in Pasture-Grazed Dairy Heifers. *J. Dairy Sci.* 90:4171–4180.
16. Curtis C.R, Erb H.N, Sniffen C.J, Smith R.D, Powers P.A, Smith M.C, White M.E, Hillman R.B, Pearson E.J. (1983). Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *JAVMA* 183: 559.

17. Daros R.R, Hötzel M.J, Bran J.A, LeBlanc S.J, von Keyserlingk M.A.G. (2017). Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 145 : 16–22.
18. Detilleux J.C, Kehrli M.E, Stabel J.R, Freeman A.E, Kelley D.H. (1995). Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 44:251–267.
19. Drackley J.K. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?. *J Dairy Sci* 82:2259–2273.
20. Dubuc J, Duffield T.F, Leslie K.E, Walton J.S, LeBlanc S.J. (2010). Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93 :5764–5771.
21. Eicher S.D, Schutz M, Kearney F, Willard S, Bowers S, Gandy S, Graves K. (2007). Prepartum milking effects on parlour behaviour, endocrine and immune responses in Holstein heifers. *Journal of Dairy Research* 74: 417–424.
22. Flor E, Tadich N. (2008). Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros grandes y pequeños del sur de Chile. *Arch Med Vet* 40, 125-134.
23. Fourichon C, Beaudeau F, Bareille N, Seegers H. (2001). Incidence of health disorders in dairy farming systems in western France. *Livestock Production Science* 68: 157–170.
24. Goff J.P, Horst R.L. (1997). Physiology and management: Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *J Dairy Sci* 80:1260–1268.
25. Goff J.P. (2014). Calcium and Magnesium Disorders. *Vet Clin Food Anim* 30: 359-381.
26. Goldberg J.J, Wildman E.E, Pankey J.W, Kunkel J.R, Howard D.B, Murphy B.M. (1992). The Influence of Intensively Managed Rotational Grazing, Traditional Continuous Grazing, and Confinement Housing on Bulk Tank Milk Quality and udder Health. *J. Dairy Sci.* 75:96-104.
27. Green M.J, Green L.E, Medley G.F, Schukken Y.H, Bradley A.J. (2002). Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85:2589–2599.
28. Hayes E.P.B, Christley R.M, Dobson H. (2012). Effects of periparturient events on subsequent culling and fertility in eight UK dairy herds. *Veterinary Record* 170: 540.
29. Hill A.E, Green A.L, Wagner B.A, Dargatz D.A. (2009). Relationship between herd size and annual prevalence of and primary antimicrobial treatments for common diseases on dairy operations in the United States. *Preventive Veterinary Medicine* 88 : 264–277.

30. Ingvarstsen, K.L, Dewhurst, R.J, Friggens, N.C. (2003). On the relationship between lactational performance and health; is it yield or metabolic imbalance that causes production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science* 73, 277-308.
31. Ingvarstsen K.L. (2006). Feeding and management related diseases in the transition cow Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding related diseases. *Animal Feed Science and Technology* 126: 175–213.
32. Juozaitiene V, Juozaitis A, Kardisauskas A, Zymantiene J, Zilaitis V, Antanaitis R, Ruzauskas M. (2017). Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. *ACTA VET. BRNO*, 86: 345–352.
33. Kaneene J.B, Miller R. (1994). Epidemiological study of metritis in Michigan dairy cattle. *Veterinary Research, BioMed Central*, 25 (2-3), pp.253-257.
34. Kelton D.F, Lissemore K.D, Martin R.E. (1998). Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle. *Dairy Sci* 81:81:2502–2509.
35. Kimura K, Reinhardt T.A, Goff J.P. (2006). Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:2588–2595.
36. LeBlanc S, Lissemore K.D, Kelton D.F, Duffield T.F, Leslie K.E. (2006). Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1267–1279.
37. LeBlanc S. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* 176 :102–114.
38. LeBlanc S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56(Suppl.):S29–S35.
39. Macmillan K, Kastelic J.P, Colazo M.G. (2018). Update on Multiple Ovulations in Dairy Cattle. *Animals*, 8, 62.
40. Markusfeld O. (1984). Factors responsible for post parturient metritis in dairy cattle. *Veterinary Record* 114: 539-542.
41. McConnel, C.S. (2010). Dissertation dairy cow mortality. In partial fulfillment of the requirements For the Degree of Doctor of Philosophy Colorado State University Fort Collins, Colorado.
42. McDougall S. (2001). Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *New Zealand Veterinary Journal* 49(2), 60-67.
43. McDougall S. (2003). Management factors associated with the incidence of clinical mastitis over the non-lactation period and bulk tank somatic cell count during the subsequent lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 51:2, 63-72.

44. McDougall S, Parker KI, Weir AM, Compton CWR. (2008). Effect of application of an external teat sealant and/or oral treatment with a monensin capsule pre-calving on the prevalence and incidence of subclinical and clinical mastitis in dairy heifers. *New Zealand Veterinary Journal*, 56:3, 120-129
45. Mee J.F, Berry D.P, Cromie A.R. (2008). Prevalence of, and risk factors associated with, perinatal calf mortality in pasture-based Holstein-Friesian cows. *Animal*, 2:4, 613–620.
46. Meléndez P, Marin M.P, Robles J, Rios C, Duchens M, Archbald L. (2009). Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 72:826–833.
47. Meyer C.L, Berger P.J, Koehler K.J. (2000). Interactions among Factors Affecting Stillbirths in Holstein Cattle in the United States. *J Dairy Sci* 83:2657–2663.
48. Miglior F, Fleming A, Malchiodi F, Brito L.F, Martin P, Baes C.F. (2017). A 100-Year Review: Identification and genetic selection of economically important traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 100:10251–10271.
49. Muller L.D, Owens M.J. (1974). Factors Associated with the Incidence of Retained Placentas. *Journal of Dairy Science* Vol. 57, No. 6. 725-728.
50. Mulligan F.J, Doherty M.L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal* 176 : 3–9.
51. Nielen M, Schukken Y.H, Scholl D.T, Wilbrink H.J, Brand A. (1989). Twinning in dairy cattle: a study of risk factors and effects. *Theriogenology* Vol. 32 No. 5, 845-862.
52. Olde Riekerink R.G.M, Barkema H.W, Kelton D.F, Scholl D.T. (2008). Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. *J. Dairy Sci.* 91:1366–1377.
53. Oltenacu P, Ekesbo I. (1994). Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research, BioMed Central*, 25 (2-3), 208-212.
54. Oltenacu P.A, Frick A, Lindhé B. (1990). Epidemiological study of several clinical diseases, reproductive performance and culling in primiparous Swedish cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 9 : 59-74.
55. Parker K.I, Compton C.W.R, Anness F.M, Weir A.M, McDougall S. (2007). Management of dairy heifers and its relationships with the incidence of clinical mastitis. *New Zealand Veterinary Journal*, 55:5, 208-216.
56. Perusia O.R. (1998). El síndrome de la vaca caída. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria* Tomo LII N° 21.
57. Petrovski K.R, Heuer C, Parkinson T.J, Williamson N.B. (2009) The incidence and aetiology of clinical bovine mastitis on 14 farms in Northland, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 57:2, 109-115.

58. Ramos J.M, Freire A. (2006). Effect of the year, season and animal category on the incidence of lame cows under grazing conditions in Uruguay. 14° Simposio Internacional y 6° Conferencia Cojeras en Rumiantes. 8-11 Noviembre de 2006. Colonia- Uruguay.
59. Reinhardt T.A, Lippolis J.D, McCluskey B.J, Goff J.P, Horst R.L. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188 : 122–124.
60. Ribeiro E.S, Lima F.S, Greco L.F, Bisinotto R.S, Monteiro A.P.A, Favoreto M, Ayres H, Marsola R.S, Martinez N, Thatcher W.W, Santos J.E.P. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96 : 5682–5697.
61. Richardet M, Castro S, Tirante L, Vissio C, Larriestra A.J. (2016). Magnitud y variación de la mastitis clínica y sus costos asociados en rodeos lecheros de Argentina. *Arch Med Vet* 48, 153-158.
62. Risco C.A, Meléndez P. (2011). *Dairy production medicine*. John Wiley & Sons, Inc. 1° Ed. UK.
63. Robbins J.A, von Keyserlingk M.A.G, Fraser D, Weary D.M. (2016). Invited Review: Farm size and animal welfare. *J. Anim. Sci.* 94:5439-5455.
64. Ruegg P.L. (2003). Investigation of mastitis problems on farms. *Vet Clin Food Anim* 19:47-73.
65. Ruegg P.L. (2009). Implementing effective milk quality programmes. *Irish Veterinary Journal* Volume 62 Number 6: 411-415.
66. Ruprechter G, Adrien M.L, Larriestra A, Meotti O, Batistae C, Meikle A, Noro M. (2018). Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 118 (191-198).
67. Rutherford K.M.D, Langford F.M, Jack M.C, Sherwood L, Lawrence A.B, Haskell M.J. (2009). Lameness prevalence and risk factors in organic and non-organic dairy herds in the United Kingdom. *The Veterinary Journal* 180 : 95–105.
68. Sepúlveda Varas P, Wittwer Menge F. (2017). *Período de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras*. Primera Edición. Edición Sepulveda Varas P. Chile.
69. Sepúlveda Varas P, Weary D.M, Noro M, von Keyserlingk M.A.G. (2015) Transition Diseases in Grazing Dairy Cows Are Related to Serum Cholesterol and Other Analytes. *PLoS ONE*10(3): 0122317. doi:10.1371/ journal. pone. 0122317.
70. Sheldon M.I, Lewis G.S, LeBlanc S, Gilbert R.O. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65 :1516–1530.

71. Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang Y.M, Fricke P.M. (2007). An Observational Analysis of Twin Births, Calf Sex Ratio, and Calf Mortality in Holstein Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 90:1255–1264.
72. Smith J.W, Ely L.O, Chapa A.M. (2000). Effect of Region, Herd Size, and Milk Production on Reasons Cows Leave the Herd. *2000 J Dairy Sci* 83:2980–2987.
73. Stevenson M.A. (2000). Disease incidence in dairy herds in the southern highlands district of New South Wales, Australia. *Preventive Veterinary Medicine* 43 : 1-11.
74. Suthar V.S, Canelas-Raposo J, Deniz A, Heuwieser W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96 :2925–2938.
75. Tomazi T, Ferreira G.C, Orsi A.M, Gonçalves J.L, Ospina P.A, Nydam D.V, Moroni P, dos Santos M.V. (2018). Association of herd-level risk factors and incidence rate of clinical mastitis in 20 Brazilian dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 161: 9–18.
76. Toni F, Vincenti L, Ricci A, Schukken Y.H. (2015). Postpartum uterine diseases and their impacts on conception and days open in dairy herds in Italy. *Theriogenology* 84 :1206–1214.
77. Verkerk G.A, Hemsworth P.H. (2010). Managing cow welfare in large dairy herds. *Proceedings of the Australasian Dairy Science Symposium, Proceedings of the 4th Australasian Dairy Science Symposium, Aug.* Publisher: Caxton Press.
78. Washburn S.P, White S.L, Green J.T.J, Benson G.A. (2002). Reproduction, Mastitis, and Body Condition of Seasonally Calved Holstein and Jersey Cows in Confinement or Pasture Systems. *J. Dairy Sci.* 85:105–111.
79. Wells P.W, Burrells C, Martin W.B. (1977). Reduced mitogenic responses in cultures of lymphocytes from newly calved cows. *Clin. Exp. Immunol.* 29:159-161.
80. Wells S.J, Trent A.M, Marsh W.E, McGovern P.G, Robinson R.A. (1993). *Preventive Veterinary Medicine*, 17 : 95-109.

Tables

Table 1. Descriptive characteristics of the 13 farms between March 2016 to February 2017

Farms	Cows		L/cow/day	VO/VM	Worker/ 100 cows	Kg conc /cow/day	Kg forage /cow/day
	PP/MP	Cows/Ha					
1	31/66	1.0	21	0.86	3.1	5.2	9.0
2	18/68	1.2	17	0.82	1.2	3.8	8.0
3	33/66	1.0	22	0.87	1.8	7.0	8.0
4	45/130	1.4	21	0.86	1.6	6.3	8.3

5	38/69	1.4	21	0.82	2.8	4.0	9.0
6	60/94	0.7	12	0.73	2.4	3.0	10.5
7	0/221	1.2	29	0.89	1.8	7.5	10.3
8	0/868	1.1	21	0.82	1.3	8.4	4.6
9	393/594	1.1	19	0.88	1.8	9.0	4.5
10	127/300	1.3	21	0.77	2.7	8.0	7.0
11	198/570	1.7	22	0.76	1.3	6.6	6.1
12	171/660	1.4	22	0.82	1.5	8.0	12.4
13	202/353	1.1	18	0.80	1.6	6.0	11.0

PP= Primiparous

MP= Multiparous

L/cow/day= Mean litres/cow/day

Kg Conc/cow/day= Mean Kg of DM offered as grain-based concentrate/cow/day throughout the year

Kg forage/cow/day = Mean kg DM offered as conserved forages/cow/day throughout the year

Table 2. Disease incidence and calving characteristics variability according to parity in 13 grazing dairy herds.

	SDH					LDH					P value
	Mean	SD	Med	Min	Max	Mean	SD	Med	Min	Max	
Calving (n)	119.6	114.8	60.0	18.0	393.0	312.2	274.9	221.0	66.0	868.0	
Twins (%)	0.7	2.7	0.0	0.0	9.1	2.5	1.7	2.0	0.0	6.1	0.0001
Stillbirth (%)	6.9	3.4	6.6	0.0	12.1	4.7	2.6	4.4	0.0	10.6	<0.0001
RP-MET (%)	3.8	3.7	2.4	0.0	10.5	5.3	3.9	4.5	0.3	13.1	NS
MAST (%)	17.2	13.9	15.7	0.0	48.0	26.3	11.4	29.2	7.4	42.0	<0.0001
LAME (%)	5.8	4.7	3.9	0.0	13.2	3.3	2.3	3.3	0.0	7.7	NS
TDI (%)	25.6	15.2	22.6	0.0	50.4	34.2	12.6	34.9	12.8	50.9	<0.0001

TDI= total disease incidence

Table 3. Disease incidence and calving characteristics variability according to herd size in 13 grazing dairy herds.

	Overall	SDH					LDH					P value
		Mean	SD	Med	Min	Max	Mean	SD	Med	Min	Max	
Calving (n)	5375	134	50.5	107.0	86.0	221.0	739.3	209.1	799.5	427.0	987.0	
Twins (%)	2.2	2.0	2.3	1.7	0.0	7.0	2.2	1.2	1.7	1.0	3.8	NS
Stillbirth (%)	4.9	5.4	3.5	6.0	0.0	11.0	4.8	0.7	4.9	3.6	5.6	NS
RP-MET (%)	4.4	6.6	4.8	3.5	1.0	13.0	3.9	2.7	3.5	0.3	7.5	0.0003
MAST (%)	27.6	19.0	11.3	14.8	5.8	37.0	29.4	9.6	31.2	15.8	43.8	<0.0001
LAME (%)	5.0	2.3	2.1	1.8	0.0	5.6	5.6	1.9	5.0	3.5	8.4	0.0001
TDI (%)	36.5	26.6	13.3	24.0	10.4	45.7	38.5	8.1	41.8	25.3	48.7	<0.0001

TDI= total disease incidence

Table 4. Multilevel logistic regression model of risk factors for retention placenta-metritis in 13 grazing dairy herds.

Variable	Class	Estimate	SE	OR	95%IC	t valor	Pr > t
Intercept		-3.4908	0.4478			-7.79	<.0001
Parity	MP	0.3610	0.1738	1.44	1.02-2.02	2.08	0.0378

Herd size	LDH	-0.5152	0.6024	0.59	0.18-1.95	-0.86	0.3925
Stillbirth	Dead calf	1.4724	0.2046	4.36	2.92-6.51	7.20	<.0001
Twinning	Twin birth	1.0200	0.3059	2.77	1.52-5.05	3.33	0.0009

Table 5. Multilevel logistic regression model of risk factors for clinical mastitis in 13 grazing dairy herds

Variable	Class	Estimate	SE	OR	95%IC	t value	Pr > t
Intercept		-2.1782	0.2623			-8.30	<.0001
Parity	MP	0.6122	0.08591	1.84	1.56-2.18	7.13	<.0001
Herd size	LDH	0.9312	0.3550	2.54	1.26-5.09	2.62	0.0087

Table 5. Multilevel logistic regression model of risk factors for lameness in 13 grazing dairy herds.

Variable	Class	Estimate	SE	OD	95%IC	t value	Pr > t
Intercept		-3.5798	0.2382			-15.03	<.0001
Parity	MP	-0.2025	0.1395	0.817	0.62-1.07	-1.45	0.1468
Herd size	LDH	0.8982	0.2255	2.455	1.58-3.82	3.98	<.0001