UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Factores de riesgo para la enfermedad podal en sistemas de producción de leche pastoriles y cortisol como indicador de estrés en la enfermedad podal

por

Juan Manuel RAMOS RAMA.

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Magister en Ciencias Agrarias
Opción Ciencia Animal.

MONTEVIDEO
URUGUAY

Enero 2012

Tesis aprobada por:

_____

Dr

_____

Dr.

_____

Dr.

_____

Dr.

TUTOR: _____

Ing. Agr. MSc. PhD Mariana Carriquiry. Facultad de Agronomía. UdelaR.

AUTOR: _____ FECHA_____

Dr: Juan Manuel Ramos Rama

AGRADECIMIENTOS

Al culminar esta humilde tesis, lo primero que siento es la necesidad de dar gracias a todos los trabajadores de tambo con los cuales he convivido y aprendido en los últimos quince años de mi vida. Ellos forman parte sustancial de todo mi camino profesional y humano. En ellos, agradezco especialmente al Sr Yony Ruppel por sus maravillosos e increíbles, “cuadernos de tambo” de los cuales salieron gran parte de los resultados de esta tesis de maestría. Mi agradecimiento al Dr Marcelo Lust, por permitirme acceder a los datos del tambo, pero por sobre todo por su hermosa humildad y calidez humana, en la cual reconozco a un veterinario de campo.

Mi agradecimiento a mi tutora, la Ing Agrónoma Mariana Carriquiry, por su amistad, por su esfuerzo y paciencia, por su increíble entusiasmo y alegría en el encare del día a día. Su pasión e interés por la ciencia (sin importar temáticas), son un don maravilloso que agradezco haber conocido.

Doy gracias a mi cotutora la Ing Agronóma Ana Espasandin y al Ing Agrónomo Gabriel Rovere, por dedicarme su tiempo, por enseñarme el manejo de SAS, introducirme en el manejo de las bases de datos, por su don de gente.

Gracias, a la Facultad de Ciencias Agrarias de la UDE, por permitirme trabajar en la enseñanza y tenerme absoluta confianza. Un especial reconocimiento al Ing Agrónomo Claudio Williman, quien con sencillez y calidez humana siempre me ha hecho sentir su apoyo.

Mi agradecimiento a toda la gente del laboratorio de técnicas nucleares de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República, por la determinación hormonal, pero por sobre todo por su esfuerzo en construir todos los días algo mejor.

Doy gracias al Dr Adrián Gonzales Sagües y a todo el equipo Anka español, por ser el inicio de un camino increíble, por enseñarme y por el trabajo.

Doy gracias a la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República, por abrirme las puertas a realizar esta maestría. Mi agradecimiento a la Dra Raquel Perez Clariget, por sus palabras y sentires, que me estimularon y dieron valor al inicio de la maestría.

Agradezco, a la Dra Elize Van Lier, por su rigurosidad en las preguntas, las cuales me dejaron ver mis carencias y formaron parte de un crecimiento.

Gracias a Ana, mi compañera de siempre, por el camino recorrido, por sus enseñanzas, por su honestidad y empuje de vida. A mis hijos, Joaquín y Carmela, que son un viento fresco de amor eterno que iluminan mis días.

A mis padres, hermanas y familia, porque son el origen del camino, por recordarme de donde vengo, por estar siempre a pesar de los pesares.

Doy gracias por todo lo que he aprendido, por que me ha mostrado lo insignificante de mí saber, por haber conocido a tanta gente que se esfuerza y por tener la oportunidad de abrir mi cabeza y ver.

Mi vida tiene un sentido. El vivirlo es lo que me permitirá ser.

Mamerto Menapace

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN II
AGRADECIMIENTOS ..... …III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS ...……..... VII
RESUMEN .....……...……... VIII
SUMMARY ……..……...… ...IX

1. INTRODUCCIÓN 1

2. ANTECEDENTES…….. 3
2.1. INCIDENCIA DE COJERAS EN ECOSISTEMAS PASTORILES Y SU IMPACTO EN EL BIENESTAR ANIMAL……...3
2.2 FACTORES DE RIESGO DE LA AFECCION PODAL PASTORIL …….6
2.2.1. El factor humano……6
2.2.2. El ambiente asociado al hombre y recurso animal……..7
2.2.3. Efecto de la nutrición……..9
2.2.4. Efecto de la pérdida de condición corporal……...……13
2.2.5. Raza y biotipo animal……15

3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS…….……17

4. LAMENESS IN GRAZING DAIRY SYSTEM: EFFECTS OF SEASON, PARITY AND LACTATION STAGE.……19

4.1 ABSTRACT ….……..……... .19
4.2. INTRODUCTION …….……..……. 20
4.3. MATERIALS AND METHODS …….. 22
4.4. RESULTS ……..…….….. 26
4.5 DISCUSSION ….……..……..... 31
4.6 REFERENCES …….……..... 36

5. CORTISOL SERICO ASOCIADO A LA GRAVEDAD DE LA PATOLOGIA PODAL Y AL SCORE DE LOCOMOCION EN VACAS LECHERAS EN SISTEMAS PASTORILES. ……..……..……..……43

5. 1. RESUMEN……..……..…43
5.2. SUMMARY……..…….44
5.3. INTRODUCCIÓN……..……..…….45
5.4. MATERIALES Y METODOS……...…..47
5.5. RESULTADOS……..……..51
5.6. DISCUSIÓN……..……...55
5.7. CONCLUSIONES……..…….57
5.8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS…….58

6. DISCUSIÓN GENERAL …….. 61

7. CONCLUSIONES …….. ……..…… 69

8. BIBLIOGRAFÍA ……..… ….70

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Tablas Página

1. Number of clinical events, milking cows, milking day cow, average annual, incidence risk and incidence rate according to year, season, parity and stage of lactation……27
2. Odds ratios for season, parity, and stage of lactation……...29
3. Effect of lameness, parity, stage of lactation of occurrence of clinical event, and number of clinical events on the same lactation on 305-d milk yield……..30
4. Efecto de las patologías podales sobre las concentraciones de cortisol en plasma……...52

Figura n° Página

1. Casos clínicos de cojeras ocurridos en tambos de los departamentos de Colonia, Rocha y Soriano, años 2006-2008 (Ramos, *sin publicar*)…….5
2. Componentes anatómicos del pie bovino. ……14
3. Seasonal precipitation (grey bars) and potential evapotranspiration (black line) during the study (years 2003 to 2009)…….24
4. Scatter plot of the incidence risk and lameness rate and index of soil water content…….28
5. Lesiones podales observadas con mayor frecuencia: Hiperconsumo Pezuña (A), Hematoma de Suela (B), Osteítis falange (C). Las flechas negras señalan las zonas de lesión más evidentes……51
6. Concentraciones plasmáticas de cortisol (media ± ESM, ug/dL) en vacas sanas, vacas con cojeras leves y cojeras graves…….53
7. Concentraciones plasmáticas de cortisol (media ± ESM, ug/dL) en vacas con grado de escor locomoción (1= sanas), 2 =cojeras leves y 3=moderadas)…….55
8. Ejemplo de una escala visual de locomoción para evaluar dificultades de desplazamiento en vacas lecheras……62
9. Sensores para registración automática de pautas del comportamiento animal…63

RESUMEN

El primer objetivo de esta tesis fue estudiar el efecto de la estación, año, categoría y etapa de lactación sobre la ocurrencia de cojeras, evaluando además el impacto en la producción de leche. La base de datos incluyó 62068 controles lecheros de 5836 lactancias de 2605 vacas lecheras con un promedio de producción de 19.5 kg/día desde el 2003 a 2010. Las vacas se clasificaron de primer parto (L1), segundo (L2) y más de 2 (L>2). Los datos clínicos se identificaron por el mismo trabajador al entrar al tambo y se registraron día y pata afectada. La ocurrencia de cojeras se analizó por una regresión logística con una distribución normal especificada y se calcularon los odds ratio (OR). La producción de leche se analizó por un modelo que incluyó estación del año, categoría y etapa de lactancia. La incidencia de cojeras fue de 1.02/1000 vaca-día. Las vacas primíparas tuvieron mayor chance de estar cojas que las L>2, y las L2 tuvieron menor OR que las L>2. La etapa de lactancia media (60 - 120 días posparto, dpp) presentó mayor OR que la lactancia tardía (>120 dpp), y esta última fue similar a la etapa temprana (0-59 dpp). Los OR para invierno y otoño fueron similares al verano; primavera presentó menor OR que el verano. La ocurrencia de cojeras impactó negativamente en la producción de leche; estimándose una pérdida de 320 kg por lactancia. Los eventos clínicos de cojeras estuvieron asociados al índice de humedad de suelo. La recurrencia de eventos clínicos fue alta y este aspecto debería tenerse en cuenta en programas de medicina preventiva.

El segundo objetivo de esta tesis evaluó la capacidad de producir estrés -mediante la liberación de cortisol-, de patologías podales de diferente gravedad y su asociación con el escor de locomoción en casos clínicos agudos (Exp. 1, 29 vacas rengas y 44 vacas sanas) y crónicos (Exp. 2, 53 vacas rengas y 44 vacas sanas) en vacas Holando en producción. Se clasificaron en patologías dolorosas (AD) y leves (AL) acorde a los tipos de tejidos afectados, grados de hiperconsumo de uña y de inflamación e infección del pie. La evaluación del disconfort podal de las vacas crónicas se realizó mediante la utilización de un escor de locomoción (1= sano, 5=cojera grave). En el brote agudo, las vacas con cojeras graves presentaron concentraciones de cortisol más altas que las vacas con cojeras leves y sanas, en las cuales el nivel de cortisol no fue diferente. El hiperconsumo de pezuña fue la patología de mayor gravedad e impacto en la liberación de cortisol. En el brote crónico, no se encontraron diferencias entre vacas rengas y sanas, aunque estas últimas presentaron una relación cortisol:creatinina más baja. En este estudio, el cortisol –niveles plasmáticos y/o su relación con creatinina en orina- demostró ser un buen indicador de estrés para las afecciones podales cuando estas son clasificadas acorde a la gravedad -teniendo en cuenta el tipo de lesión y daño tisular

SUMMARY

The first objective of this thesis was to investigate the effect of season, parity, and stage of lactation on lameness occurrence, evaluating also the impact on milk yield. The database included 62,068 test-day milk yields from 5836 lactations of 2,605 dairy cows with an average milk yield of 19.5 kg/d from years 2003 to 2010. Cows were classified according to parity in primiparous (L1), secondiparous (L2) or more calvings (L>2). Clinical lameness were identified by the same farm worker as they entered or left the parlour area, and date and affected foot were registered. The occurrence of lameness was assessed using a logistic regression with a binomial distribution specified odds ratios were calculated. The impact of lameness occurrence on 305-d milk yield was analyzed with a model included the effects of parity, calving season, lameness occurrence, and parity, stage of lactation. The season incidence rate for lameness was 1.02/1000 cow-days. Primiparous cows had more chances to become lame than L>2, while L2 had lower chances for lameness than L>2 cows. Mid-lactation (60 to 120 days in milk) had greater OR than late lactation (>120 days in milk), while early lactation (0-59 days in milk) had a similar OR than late lactation. The OR for winter and fall were similar to summer, but spring presented a lower OR than summer. The occurrence of lameness impacted negatively on 305-d milk yield; a loss of 320 kg per lactation was estimated. Clinical events of lameness were associated with the index of soil water content. Recurrence of clinical events was high and this should be taken into account in preventive medicine programs.

This second objective of this thesis evaluated the stress response – in terms of cortisol secretion- of podal pathologies of different severity and it association with locomotion score in acute (Exp. 1, 29 lame cows and 44 healthy cows) and chronic outbreaks (Exp. 2, 53 lame cows and 44 healthy cows) in lactating Holstein cows. Podal pathologies were classified in painful and mild according to the tissues that were affected, grade of foot wear and inflammation and infection. Podal discomfort of chronic cases were evaluated by the locomotion score (1= healthy, 5=severe lameness). In the acute outbreak, cows with severe lameness presented greater plasma cortisol concentrations than cows with mild lameness and healthy cows, which did not differ. Foot wear was t most severe pathology with greatest cortisol levels. In chronic cases, no differences were found among lame and healthy cows, although the latter presented a reduced cortisol:creatinine ratio. In this study, cortisol –plasmatic levels and/or its ratio with creatinine in urine- was a good stress index for podal pathologies when these were classified according to degree of severity considering the type of lesion and tisular affection.

Parte 2

1- INTRODUCCION

Las patologías podales son uno de los desafíos más relevantes para la industria lechera; el impacto en las tasas de refugo, costos de tratamiento e impacto económico han sido reportados a nivel internacional (Both *et al.* 2004; Amory *et al.* 2008). Las vacas cojas presentan una producción de leche menor comparada a su potencial (Rowlands y Lucey 1986; Green *et al.* 2002, 2010).

Existen varios factores de riesgo que se han asociado a la enfermedad podal. El año y la estación sobre la cojera se han asociado a las lluvias (Eddy y Scott 1980; Jubb y Malmo 1991; Tranter y Morris 1991), ya que la humedad implica una disminución en la resistencia mecánica de la pezuña que predispone a un desgaste excesivo de suela, aumentando las posibilidades de penetración de la misma (Blowey 2005). Además, las malas condiciones higiénicas favorecen el crecimiento bacteriano y por lo tanto predisponen a patologías infecciosas (Vermunt 2004).

La categoría animal ha sido reportada como relevante: Leach *et al.* (1998) reportaron que los picos de incidencia para la enfermedad de línea blanca y úlcera solear ocurre antes en la lactancia en vacas primíparas que en multíparas. Además, las vacas que desarrollan cojeras en su primer lactancia son más susceptibles de padecer cojeras en lactaciones siguientes (Hirst *et al.* 2000). Existen escasos estudios (Harris *et al.* 1988) que han reportado bases de datos para determinar el efecto de la categoría animal sobre la ocurrencia de cojeras en sistemas pastoriles. En el mismo sentido, es de interés relevar cuando es mayor la posibilidad de padecer cojeras durante la lactancia, así como también el efecto sobre la producción de leche acorde al momento que se manifiestan.

La mayoría de los antecedentes respecto a las cojeras en sistemas de producción de leche se refieren a trabajos que han sido realizados en sistemas estabulados o semi-estabulados de producción de leche, muy diferentes al sistema pastoril extensivo en donde el aparato locomotor está sobre exigido. Una vaca coja en un sistema pastoril está en graves problemas para acceder a su alimento, ordeñe diario y mantención de estatus jerárquico dentro del rodeo, situaciones con

gran poder estresante que agravan rápidamente la condición sanitaria y productiva de estos animales.

Existe abundante información respecto a parámetros indicadores de estrés en bovinos, siendo el cortisol uno de los más investigados (Moberg 1987; Alvarado 1999; Palme *et al.* 2000; Mellor *et al.* 2002; Saco 2008). Los reportes respecto al cortisol plasmático y dolor podal en vacas lecheras son contradictorios ya que se han encontrado (Hiroshi *et al.* 2003; Belge *et al.* 2004) o no (Ley *et al.* 1996; Almeida *et al*. 2008) asociaciones entre ambos. Estas contradicciones pueden deberse a que el estrés del propio muestreo modifica los niveles de cortisol basal en suero o plasma, por lo que se ha reportado que este indicador tiene un valor diagnóstico limitado (Morrow *et al*. 2002). El escor de locomoción ha sido utilizado como marcador de la gravedad de las cojeras en estudios que investigan al cortisol como indicador de estrés (Bastias 2006). La falta de diagnóstico sobre la patología podal o la simple evaluación visual de la enfermedad sin la clasificación de gravedad o daño tisular pueden resultar ineficientes a la hora de evaluar el potencial de dolor y la liberación de cortisol de estas afecciones. No hemos encontrado estudios que investiguen la gravedad de la cojera (es decir, que impliquen una clasificación de las mismas) con cortisol como indicador de estrés.

2-ANTECEDENTES

2.1) Incidencia de cojeras en ecosistemas pastoriles y su impacto en el bienestar animal

En estudios generados bajo condiciones pastoriles de producción de Nueva Zelanda se mencionan incidencias del 2 al 38% dependiendo de los rodeos (Tranter y Morris 1991). En Australia, un estudio en 73 tambos reporta que el 88% de los establecimientos presentaban rengueras y que el rodeo más afectado tenía el 30% de los casos (Harris 1998). Trabajos neocelandeses mas recientes mencionan incidencias anuales del 10 al 55% de las vacas en ordeñe (Chesterton 2006; Vermunt 2006; Campbell 2007). En Uruguay, se describen casos dramáticos de laminitis con una reducción de un 70% de la producción de leche y la eliminación de casi un 60% del rodeo en producción (Ramos y Acuña 2004). En Argentina, un estudio de 22.772 lactancias menciona incidencias acumuladas (desde el secado a los 90 días en leche) del 11.1% en vacas y 13.9% en vaquillonas con efectos significativos entre tambos (Claves 2009). En condiciones pastoriles en el Sur de Chile, las prevalencias de afecciones podales tienen un rango entre 9 y 32% (Tadich *et al.* 2005; Flor 2006). Según estos últimos los autores, estos datos indicarían que en un momento dado, entre 34.200 y 121.600 vacas, presentan algún problema locomotor en esta región de Chile.

Las dos lesiones más frecuentes causantes de cojeras en rodeos neocelandeses son lesiones de suela (hematomas, hiperconsumo de pezuña, penetración de cuerpos extraños) y separación de la línea blanca con abscedación ascendente bajo la muralla que drena a nivel coronario (Chesterton 2004). Factores traumáticos relacionados a excesivas caminatas y suelos rugosos, alta humedad e inadecuadas condiciones higiénicas, mala calidad de uña de origen laminítico y condiciones de manejo y comportamiento animal se mencionan como factores predisponentes a estas lesiones (Vermunt 1992; Chesterton 2004). La úlcera en punta de pezuña es mencionada como la principal patología podal en vaquillonas de primera cría del Uruguay (Acuña 2002); en condiciones extensivas de producción, factores traumáticos, metabólicos y anatómicos son

descritos como los responsables de este tipo de lesiones (Gonzalez Sagües 2002). Sobre un total de 2.468 vacas cojas en rodeos neocelandeses el 8.7% correspondió a casos infecciosos de dermatitis interdigital (Chesterton 2004).

El buen funcionamiento del animal o en otras palabras su óptima capacidad para producir, la ausencia de dolor o estrés y la capacidad para expresar en forma normal su comportamiento natural son tres medidas básicas del bienestar animal (Frazer 2008; Von Keyserlingk *et al.* 2009). Las afecciones podales impactan negativamente cualquiera de estas tres medidas (Shearer 2010). Las cojeras disminuyen la producción leche y la performance reproductiva, determinan un fuerte estado de estrés ya que el dolor siempre está presente (Ward 1990; Greenough y Acuña 2002), y alteran el comportamiento y estatus social del animal afectado (Galindo y Broom 2002).

En condiciones pastoriles de producción, el estrés mecánico que sufren las pezuñas de las vacas, dado entre otros factores por las largas caminatas, cementos abrasivos, impaciencia del vaquero en la conducción del rodeo, asociado a la subestimación y desconocimiento de estas afecciones determina que se produzcan lesiones dolorosas de extrema gravedad (Ramos 2006). Los animales rengos muestran una disminución de la ingesta de materia seca (Bareille *et al.* 2000), diversos grados de incapacidad para desplazarse, pérdida abrupta de la condición corporal y presentación de un estado general penoso que revela angustia y vulnerabilidad. Las siguientes fotos (Figura 1) muestran la gravedad de las lesiones y el impacto de las mismas en el bienestar animal en cuadros clínicos ocurridos en tambos del Uruguay.

Cuadros clínicos severos de cojeras con destrucción masiva de tejidos requieren de la urgente intervención veterinaria llevando en ocasiones a la amputación total del digito afectado o incluso a la eutanasia del animal (Shearer 2010). En una encuesta veterinaria (n = 641) que evalúa el potencial de dolor (escala de 1 a 10) de diferentes patologías e intervenciones clínicas, la amputación de pezuña recibió el máximo puntaje (Huxley y Whay 2006). Por otra parte, es interesante considerar los estudios realizados por Ley *et al*. (1995), en ovejas rengas y Ley *et al.*

(1996) en vacas rengas y sanas, utilizando estímulos nociceptivos los cuales indican que las vacas cojas tienen un umbral de dolor menor que las vacas sanas, lo que significa que perciben estímulos inocuos como si fueran dolorosos. En 1997 en el Reino Unido el Farm Animal Welfare Council, señala que "las cojeras en vacas son condiciones extremadamente dolorosas y se deben tomar urgentes medidas para reducir su incidencia".

Figura 1. Casos clínicos de cojeras ocurridos en tambos de los departamentos de Colonia, Rocha y Soriano, años 2006-2008 (Ramos *sin publicar*).

El estudio del bienestar animal no es sencillo de abordar debido a que es difícil objetivizar y cuantificar (Mench 2000). En respuesta a los agentes desencadenantes de estrés se desencadena el Síndrome General de Adaptación (SGA) con sus tres fases: respuesta inmediata mediada por el sistema simpático; resistencia frente a estímulos crónicos, con participación del eje hipotálamo hipófisis y corteza adrenal y reacción de agotamiento cuando el estímulo crónico sobrepasa los niveles de resistencia pudiendo terminar con la muerte del individuo (Tadich 2008). El estrés induce varias respuestas hormonales adaptativas, entre las más destacadas están la secreción de catecolaminas en la médula adrenal y los corticoides en la corteza adrenal (en respuesta a la hormona adrenocorticotrópica –ACTH- hipofisaria). Los indicadores sanguíneos de estrés más

comúnmente utilizados en rumiantes son las concentraciones de adrenalina, noradrenalina, y cortisol, y metabolitos como glucosa, ácidos grasos libres, β-hidroxibutirato, Creatinfosfoquinasa (CK), leucocitos. Se pueden además registrar cambios en la temperatura corporal, frecuencia cardíaca, respiratoria, hematócrito y relación neutrófilos/linfocitos (Crookshank *et al.* 1979; Mitchell *et al.* 1988; Warris *et al.* 1995; Tadich *et al.* 2000). El diagnóstico de cortisol sérico y ciertas proteínas de fase aguda como la haptoglobina y el amiloide del suero tipo A pueden ser evaluados como parámetros indicadores de stress asociados a procesos inflamatorios, síndromes de acidosis ruminal subaguda (SARA) y afecciones podales en los bovinos (Nielsen *et al.* 2004; Saco *et al.* 2008; Plaizier *et al.* 2008; Smith *et al.* 2010; García *et al.* 2011).

2.2) Factores de riesgo de la afección podal pastoril

El ecosistema pastoril de producción de leche determina una particular serie de factores de riesgo para la enfermedad podal. Condiciones ambientales, manejo del rodeo, comportamiento animal, nutrición, genética, biotipo animal y el factor humano son factores capaces de producir rengueras. Es necesario comprender que existen diferencias significativas dentro de los propios sistemas pastoriles de producción de leche, lo que determina una variación en la relevancia o impacto de uno u otro factor de riesgo.

2.2.1) El factor humano

El factor humano cobra particular importancia en la incidencia de rengueras en las condiciones extensivas de producción de leche del Uruguay. Las cojeras en ganado lechero no dejan de ser afecciones relativamente nuevas en nuestras condiciones. En este sentido el desconocimiento de las enfermedades y sus factores de riesgo, la subestimación de la problemática, un erróneo encare clínico individual de la renguera junto a la falta de material adecuado para su diagnóstico y tratamiento, determinan una magra prevención y exponen al sistema productivo al impacto negativo de estas afecciones (Ramos 2006). Por otra parte, en sistemas intensivos de producción

de leche las vacas diagnosticadas como cojas por el productor, representan solo un 25 a 40% del total de vacas afectadas, siendo la punta del iceberg de la enfermedad (Wells *et al.* 1993; Whay 2002).

La capacitación del personal, productores y técnicos así como la incorporación de las rengueras a los esquemas sanitarios tradicionales de los tambos se plantean como factores de importancia en el control de estas afecciones. El hombre y su decisión en el manejo animal es el factor determinante que estará presente en todos los factores de riesgo de la patología podal e inclinará la balanza hacia la prevención o el desarrollo de la enfermedad (Mill y Ward 1994; Main y Whay 2004; Ramos 2006; Greenough 2009).

2.2.2) El ambiente asociado al hombre y recurso animal

El estrés físico al que se ven sometidas las vacas en condiciones extensivas de producción determina que los factores ambientales como barro, alta humedad, piedras, asociados a factores de manejo como el tipo de arreo, largas caminatas y de comportamiento animal, tengan una acción mecánica/traumática de gran importancia en el origen de las rengueras. No es sorprendente entonces que más del 75% de las cojeras en Nueva Zelanda sea traumática en su origen (Tranter y Morris 1991; Chesterton 1998).

Clarkson y Ward (1991) en Inglaterra, señalan que la alta incidencia de rengueras ocurría en establecimientos con mal mantenimiento de los caminos y en donde el vaquero era impaciente en la conducción del rodeo. En Nueva Zelanda, la paciencia del vaquero en arrear las vacas y el uso de perros, se señalan como factores de riesgo podal, capaces de modificar el comportamiento social de las vacas favoreciendo el amontonamiento de animales (sin poder elegir el lugar donde pisan) y las dominancias del rodeo (Chesterton *et al.* 1989). Los animales dominantes se ubican adelante y son los primeros en ordeñarse siendo los menos dominantes los que van atrás del

rodeo y se ordeñan últimos. Existe una relación entre la posición de la vaca lechera en el rodeo y el riesgo de padecer una cojera, habiendo variaciones entre rodeos (Sauter-Louis *et al.* 2004).

Esta misma situación se da en el Uruguay, agravada por el aumento dramático del tamaño de los rodeos, lo que hace que frecuentemente una persona arríe grupos de 200 o 300 animales o más. En rodeos de estas características uno de los problemas es el mantenimiento de los caminos y áreas de pasaje; además las vacas permanecen mucho tiempo sobre el cemento de la sala de espera y caminan largas distancias para comer. Estas largas caminatas a las que se ven sometidas las vacas y que generalmente son consideradas como inevitables por el productor, deben ser evaluadas con máxima precaución debido al gran potencial traumático destructivo del tejido del pie que representan.

Numerosos estudios han mostrado el efecto del año y la estación lluviosa sobre la ocurrencia de cojeras. La mayor incidencia de problemas podales ocurre en épocas lluviosas y grandes brotes de cojeras aparecen luego de grandes lluvias (Australia: Jubb y Malmo 1991; Inglaterra: Eddy y Scott 1980). La presencia de rengueras se asocia con alta humedad ambiental en rodeos neocelandeses (Tranter y Morris 1991). El vínculo entre alta humedad y lesiones podales se asocia a una disminución de la resistencia mecánica de la uña lo que favorece a un mayor desgaste y la posibilidad de penetración por cuerpos extraños. Por otra parte, la exposición de piedras y materiales cortantes en los caminos luego de lluvias abundantes, aumenta el riesgo de trauma podal. Además, las malas condiciones higiénicas favorecen el crecimiento bacteriano y surgimiento de enfermedades infecciosas del pie (Vermunt 2004).

Adicionalmente, las condiciones medioambientales de temperatura y humedad del aire son de gran importancia para el confort de las vacas lecheras. El índice biometereológico de humedad y temperatura (ITH) es utilizado como base de advertencia para determinar el grado de estrés térmico en ambientes naturales y/o modificados (Hahn 1995; St. Pierre *et al.* 2003, Saravia *et al.* 2011). La zona de confort térmico para ganado lechero en producción toma valores de ITH entre 35 y 70,

habiéndose determinado como valor crítico para vacas Holando en producción 72 (Johnson 1987; Igono *et al.* 1992; Armstrong 1994).

Bajo condiciones de estrés calórico los factores de riesgo para la enfermedad podal se asocian a los cambios en los patrones de alimentación mostrados por estas vacas (Mallone´e *et al.* 1985), disminución de rumia (Collier *et al.* 1982), contracciones ruminales (Collier *et al.* 1981) y pH ruminal (Mishra *et al.* 1970; Niles *et al.* 1980). Por otra parte las vacas con calor permanecen más tiempo de pie contribuyendo a una mayor presión del córion y dolor podal (Cook *et al.* 2004; Cook *et al.* 2007). El incremento de la susceptibilidad de acidosis ruminal y la mayor actividad en pie de las vacas o una combinación de ambas pueden ser el origen de una mayor tasa de lesiones de pezuña en el verano (Stone 2004; Cook *et al*. 2004).

2.2.3) Efecto de la nutrición

La conexión entre acidosis láctica/acidosis ruminal subaguda y laminitis ha sido descrita en forma exhaustiva por varios autores (Nocek 1997; Owens *et al.* 1998; Kleen *et al.* 2003; Oetzel 2003). Sustancias vasoactivas liberadas durante el proceso de acidosis alteran la microcirculación sanguínea a nivel del córion de la pezuña, afectando la nutrición de la células queratógenas dando origen a tejido córneo de mala calidad y produciendo lesiones secundarias del estuche córneo como la enfermedad línea blanca, absceso de pared y úlceras soleares (Vermunt 1992).

Exceso de carbohidratos solubles y proteína, inadecuada relación fibra/concentrado, carencia de fibra efectiva, silos enmohecidos, cambios bruscos de alimentación, falta de acostumbramiento ruminal y excesos de dominancias o jerarquía de vacas sobre vaquillonas son pautas claves en el desarrollo de la enfermedad. Por otra parte, se debe considerar aspectos de confort y bienestar animal: largas caminatas, suelos duros y excesivamente abrasivos, exceso de humedad y barro predisponen a los animales a daños mecánicos particularmente importantes en pezuñas debilitadas por la enfermedad.

La alimentación de los rodeos lecheros pastoriles se basa en la utilización de una amplia gama de variedades de gramíneas y leguminosas solas o asociadas. La posibilidad de que se produzcan disturbios digestivos en el rumen y laminitis en vacas lecheras alimentadas únicamente con forrajes de alta calidad - particularmente raigrás con altos contenidos proteicos y de carbohidratos solubles- se conoce desde hace mucho tiempo (Nilsson 1963; Maclean 1965). En condiciones de producción de leche pastoril (Nueva Zelanda) se han reportado rangos de pH ruminal de entre 5,6 a 6,7 (De Veth y Kolver 2001). Datos similares han sido mencionados en vacas lecheras del Uruguay (Mattiauda *et al.* 2003, Repetto y Cajaraville 2004). Variaciones de pH entre 6,4 a 6,8 son consideradas óptimas para mantener la salud ruminal y buena performance de vacas lecheras (Erdman 1988).

Determinados aspectos físico-químicos y morfológicos de las pasturas de alta calidad tienen baja capacidad de mantener un pH óptimo. Estudios neocelandeses indican que las pasturas de ray-grass y trébol blanco en otoño-invierno y comienzo de la primavera poseen altas cantidades de agua, bajos contenidos fibra detergente neutro (FDN) efectiva (eFDN; %FDN en partículas mayores a 1,18 mm, capaz de estimular la masticación y salivación) y altos de proteína en comparación con períodos estivales (Moller 1996; Kolver 1998; Kolver 2000; Westwood 2003). La misma situación se presenta en las pasturas de los sistemas lecheros sudamericanos. Por otra parte, una marcada variación en la composición química de la pastura tanto en la concentración de carbohidratos solubles, proteína cruda y contenido de materia seca a lo largo del día ha sido reportada por varios autores (Van Vuuren *et al.* 1986; Orr *et al.* 1997; Chilibroste *et al.* 1999). La saliva producida durante la rumia es un mecanismo esencial de mantenimiento del pH ruminal dentro de parámetros saludables (Erdman 1988). Como se mencionó las pasturas de los ecosistemas pastoriles suelen tener un alto contenido de humedad que varía según la estación y madurez de la planta. Los mecanismos de reducción de saliva son complejos y se asocian a la alta humedad y bajo porcentaje de eFDN del alimento (Meyer *et al.* 1964; Westwood 2003).

Estudios del comportamiento ingestivo de las vacas según la ubicación de la sesión de pastoreo a lo largo del día permitieron determinar que las vacas lecheras ingresadas más tarde en el pastoreo

manifestaron sesiones de pastoreo significativamente más largas, a expensas de una reducción en las actividades de rumia y descanso (Chilibroste *et al.* 1999; Soca *et al.* 1999). A su vez, estas vacas tendieron a producir leche con menores tenores grasos. Estos cambios en el comportamiento ingestivo y productivo pueden estar reflejando efectos negativos sobre el medio ambiente ruminal. El efecto positivo de la inclusión de una fuente de fibra larga y seca sobre el contenido y producción de grasa láctea de estos animales, pone de manifiesto la posible carencia de fibra efectiva en la dieta de vacas lecheras durante el período otoño invernal en el Uruguay (Chilibroste *et al.* 2001). En el mismo sentido, Kolver (1998) propone un eFDN para pasturas de alta calidad de entre 40 a 50% del total de FDN de las pastura. Bajo estas condiciones, en determinados momentos la dieta de vacas lecheras neozelandesas puede contener menos de 20% eFDN y estar en riesgo de padecer acidosis ruminal.

Los ecosistemas pastoriles de producción de leche sudamericanos poseen disponibilidad de granos y diversas materias primas para la alimentación de vacas lecheras. La incorporación de la suplementación al tradicional sistema pastoril ha supuesto un aumento de la complejidad de la nutrición y el manejo nutricional de la lechería extensiva. Las grandes variaciones en la disponibilidad de diferentes tipos de granos y la inestabilidad de los precios conspiran contra una adecuada planificación de la nutrición de las vacas y exponen al sistema a riesgos sanitarios. Cambios bruscos y desajustes en estos aspectos pueden ser el origen de brotes de cojeras laminíticas que causan gran dolor, daño al animal y merma en la producción del rodeo.

A la complejidad mencionada del sistema pastoril de producción de leche se le debe agregar el poco conocido comportamiento ingestivo de la vaca lechera en el posparto temprano. La depresión de la ingesta de materia seca en vacas recién paridas ha sido mencionada en detalle por Nordlund (2003) bajo condiciones estabuladas de producción. En condiciones pastoriles, Chilibroste (comunicación personal) ha determinado baja actividad durante la sesión de pastoreo y muy bajas tasas de bocado en vacas recién paridas y primíparas. Este comportamiento sugiere niveles altos de selectividad, es decir, si bien tienen grandes demandas nutricionales debido a los requerimientos de la lactación, destinan importante parte de su tiempo de pastoreo a elegir el

tipo de pasturas que consumen. Dicha selección podría orientarse a favor de forrajes jóvenes con altos contenidos en carbohidratos solubles, proteína cruda, humedad y baja fibra efectiva, lo que podría predisponer a cuadros acidóticos. Esto tipo de comportamiento ingestivo es especialmente importante en vaquillonas (Chilibroste, comunicación personal), lo que sumado a factores como una peor adaptación a las exigencias de la lactación respecto a las multíparas y a la dominancia a la que se ven sometidas, pueden explicar los resultados diferenciales de los porcentajes de afectación de esta categoría (100%) respecto de las multíparas (50%) en reportes de brotes de laminitis (Ramos y Acuña 2004).

Por otra parte, en condiciones productivas del Uruguay, la incidencia del factor humano en la composición de la dieta y manejo nutricional de las vacas lecheras es determinante para la salud de las mismas. En este sentido, la subestimación del poder acidótico de una pastura, así como de la diferente fermentabilidad de los carbohidratos ofrecidos en los suplementos, la falta de una rutina en el uso de antiácidos y en el monitoreo de la nutrición de las vacas asociada a la carencia de comunicación entre los técnicos, agrónomos/veterinarios y el productor determinan en algunas ocasiones que las vacas literalmente "revienten de las patas". En muchos establecimientos, la producción de leche puede aparecer temporalmente alta con dietas excesivamente ricas en almidón que conducen a acidosis; sin embargo, en el largo término las consecuencias económicas son dramáticas. En ese sentido Ramos y Acuña (2004) mencionan que el impacto económico productivo de una laminitis en forma de brote en el sistema pastoril del Uruguay es devastador. Una vez instaurado el cuadro, las medidas terapéuticas son ineficaces, los tratamientos son paliativos y las pérdidas inevitables. La prevención de la laminitis en la única medida eficaz. Se debe tener presente que los cuadros de acidosis ruminal están siempre latentes cuando se alimenta con dietas ricas en granos o forrajes de alta calidad (Oetzel 2003).

Varios estudios muestran los beneficios del uso de minerales traza en la alimentación bovina, asociados a un mejor crecimiento, producción de leche, performance reproductiva, mejora de la

respuesta inmune así como también disminución de las cojeras (Kropp 1993; Manspeaker y Robl 1993; Spears 1996; Socha y Johnson 1998; Gunter *et al.* 1999; Nocek 2000). Los minerales traza juegan un rol muy importante en la producción y mantenimiento de la salud de tejidos queratinizados (Mulling *et al.* 1999). La queratina comprende la mayor parte de las proteínas estructurales de la pezuña (Fraser y Mac Rae 1980). En términos generales, la mayor parte de estos estudios se han realizado en sistemas estabulados de producción, con regímenes nutricionales controlados. En condiciones pastoriles el contenido en minerales traza del forraje o pastura varía entre campo y campo y entre los años (Smart y Cymbaluk 1997) y la información sobre valores nutricionales de oligoelementos en los principales alimentos de nuestras vacas lecheras es escasa. En estas condiciones, no es fácil lograr un buen balance nutricional micromineral de la dieta. En términos generales en las condiciones lecheras pastoriles sudamericanas es abundante la información comercial sobre los efectos preventivos de los minerales traza y las cojeras pero muy escasa la información científica al respecto. La utilización de estos productos que se reportan como beneficiosos para la salud podal implica, en muchas ocasiones, la creencia general por parte del establecimiento de que los problemas de patas están bajo control. En la necesidad de simplificar tareas por parte del productor - en el complejo proceso de producción de leche- se corre el riesgo de que estos productos sean considerados verdaderos polvos mágicos que aportarán la solución a la mayoría de los problemas sanitarios del rodeo lechero. Sin embargo, el uso de estos productos por fuera de un programa integral de salud podal que tenga en cuenta los principales factores de riesgo mencionados, está destinado al fracaso (Ramos 2006).

2.2.4) Efecto de la pérdida de condición corporal

La vacas lecheras de hoy, producto de décadas de selección genética, tienen un importante desafío metabólico en la etapas tempranas de la lactancia, en donde se produce un brusco y marcado aumento de los requerimientos nutricionales destinado a producción de leche y una disminución de la ingesta de materia seca (Drackley 1999). Este dramático desajuste metabólico en la capacidad ingestiva de alimento es característico del período de transición (3 semanas

preparto a 3 semanas posparto) y puede llegar a ser de un 30%, siendo una de las causas del balance energético negativo (Grummer 1993; Grummer et al. 2004). Este período se caracteriza por una masiva movilización de tejido adiposo que se refleja en una elevación de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (Pedron *et al.* 1993; Ingvartsen y Andersen 2000; Burke y Roche 2007) y que a menudo es acompañado de un incremento en la concentración de beta hidroxibutirato (Whitaker *et al.* 1999).

En el aparato suspensorio del pie bovino el cojinete plantar (Figura 2) es un componente de gran importancia en la amortiguación de presiones y distribución adecuada del peso (Räber *et al.* 2004). Dicho cojinete es una compleja estructura compuesta fundamentalmente de tejido adiposo que se localiza distalmente a la tercera falange. La importancia biomecánica de esta estructura está asociada a disminuir presiones mecánicas, especialmente bajo el tubérculo flexor de la tercer falange (Logue *et al.* 2004; Räber *et al.* 2004, 2006).

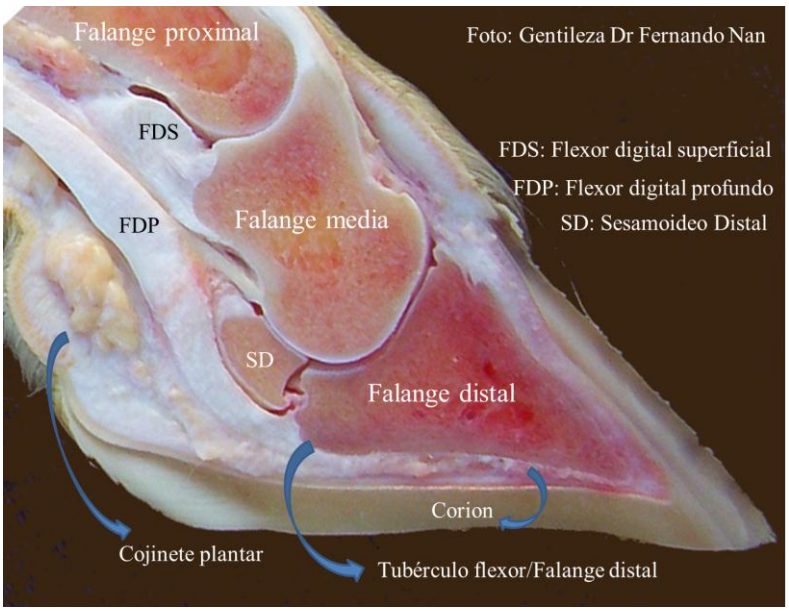

Figura 2. Componentes anatómicos del pie bovino. Nótese la característica de tejido adiposo del cojinete plantar del pie

La condición corporal de las vacas esta positivamente correlacionada con el espesor del cojinete plantar, el cual disminuye desde el primer mes de lactancia y alcanza su nadir a los 120 días posparto (Bicalho *et al.* 2009). La prevalencia de ulceras soleares y enfermedad de línea blanca fue significativamente asociada a la disminución del espesor del cojinete plantar en condiciones estabuladas de producción (Bicalho *et al.* 2009). Por otra parte, el efecto de la pérdida de peso en los primeros 50 días posparto incrementa el riesgo de padecer cojeras en 1,80% (95% CI= 1,00 – 3,17) en condiciones neozelandesas de producción (Alawneh *et al.* 2011). A la luz de estos trabajos, podemos concluir que las medidas de manejo que reducen las pérdidas de condición corporal, además de tener positivos efectos sobre la reproducción y producción, representan una oportunidad para reducir el riesgo de incidencia de cojeras.

2.2.5) Raza y biotipo animal

El uso masivo de genética importada en los sistemas pastoriles sudamericanos de producción de leche amerita estudios profundos sobre el comportamiento productivo y reproductivo de esta genética extranjera bajo condiciones pastoriles de producción. En términos generales el productor lechero de los ecosistemas pastoriles de Sudamérica basa su estrategia preventiva de cojeras seleccionando toros mejoradores de aplomos y patas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que las heredabilidades de los caracteres que afectan pies y patas son muy bajas y el progreso genético en este aspecto es lento y costoso. Por otra parte el uso de toros mejoradores de patas y aplomos difícilmente mejore los índices de rengueras asociados a los más importantes factores de riesgo de enfermedad podal como el ambiente, manejo animal y nutrición (Gonzalez Sagües 1996). La elección del adecuado biotipo animal y raza para cada sistema de producción se presenta como un factor clave en la determinación de la salud y bienestar del rodeo y definirá el potencial productivo del sistema.

Las interacciones entre raza y patología podal se describen en varios trabajos. En Inglaterra Pinsent (1981) menciona que las pezuñas del ganado lechero Holstein-Friesian estaban más

predispuestas a daños con respecto a uñas más pequeñas, duras y compactas de la raza Jersey y Shorthorns. Rodeos lecheros Friesian presentaron mayor incidencia de cojeras respecto a rodeos cruza Jersey/Friesian según datos australianos (Harris *et al.* 1988). Por su parte, Jubb y Malmo (1991) en las condiciones de producción lechera extensiva, observó que las úlceras de suela ocurrían predominantemente en rodeos Holstein-Friesian y eran de muy baja incidencia en otras razas. En rodeos lecheros neozelandeses la alta incidencia de cojeras se vinculaba a una menor pigmentación de uña, (lo cual es más común en ganado Holstein-Friesian que en Jersey (Chesterton *et al.* 1989).

La extrapolación de los biotipos lecheros de los sistemas de producción estabulada a las condiciones de la lechería extensiva corre el riesgo de la no adaptación animal y de una limitada expresión del potencial genético del individuo. Laborde (2004) en una detallada revisión describe la importancia de tener objetivos de selección genética adecuados a las condiciones de producción de las vacas. En este sentido, uno de los puntos a analizar es el "tamaño de vaca" a utilizar en los esquemas de producción pastoril. Desde el punto de vista de la patología podal, tamaño y peso corporal son características que pueden llevar a la eliminación precoz de las vacas. Estudios realizados en Nueva Zelanda (Holmes *et al.* 1999) y Estados Unidos (Hansen *et al.* 1999) comparando biotipos lecheros con similar potencial de producción pero con diferencias de tamaño y peso vivo concluyen que, independientemente del sistema de producción, las vacas más pesadas fueron menos longevas que las livianas, siendo las patologías podales la principal causa de eliminación. Además, las vacas de la línea genética más pesada mostraron consistentemente una menor fertilidad. Coincidiendo con estos trabajos, Wells (1993) menciona que cada 100 kg de incremento en el peso vivo se aumentan 1.9 veces los cuadros clínicos de rengueras.

3) HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis General

Las cojeras en vacas lecheras en sistemas de producción de leche pastoriles están asociadas a factores de riesgo (clima, categoría animal, etapa de lactancia) y disminuyen la producción de leche acorde a la etapa de lactancia en la que se manifiestan. El cortisol puede ser un buen indicador de estrés si se considera la gravedad de la cojera y el tiempo de ocurrencia de la misma.

Objetivo General

Contribuir al conocimiento de los factores de riesgo (clima, categoría animal, etapa de lactancia) de las cojeras en vacas lecheras en sistemas pastoriles de producción de leche, y su impacto en la producción de leche. Determinar si el cortisol es un buen indicador de estrés al clasificar la gravedad de la cojera y el tiempo de ocurrencia de la misma.

Objetivos específicos

1- Determinar el riesgo de incidencia y tasa de incidencia anual de la enfermedad podal bovina en un tambo de alta producción.

2- Investigar el efecto del año y estación sobre la aparición de las afecciones podales.

3- Investigar el efecto de la categoría animal y etapa de lactación sobre la aparición de las afecciones podales.

4- Evaluar el impacto de las afecciones podales sobre la producción de leche.

5- Determinar el efecto de diferentes patologías podales sobre las concentraciones sanguíneas y urinarias de cortisol en vacas lecheras tratadas y no tratadas, mantenidas en un sistema pastoril.

Los objetivos específicos 1 al 4 están contenidos en el primer artículo "Lameness in grazing dairy system: effects of season, parity, and lactation stage" por JM. Ramos, A. Espasandin, G. Rovere, M. Carriquiry que será enviado New Zealand Veterinary Journal.

El objetivo específico 5 esta contenido en el segundo artículo "Cortisol sérico asociado a la gravedad de la patología podal y al score de locomoción en vacas lecheras en sistemas pastoriles" por JM Ramos, P. Pessina, A. Fernández, M. Carriquiry publicado en Veterinaria, (Montevideo) 45 (173-174-175-176) 17 - 22 (2009)

Lameness in grazing dairy system: effects of season, parity, and lactation stage

JM. Ramos[*§], A. Espasandin[†], G. Rovere[†], M. Carriquiry[†]

[*]Universidad de la Empresa, Ave. Luis A. de Herrera 2890,12000 Montevideo, Uruguay;

[†]Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica; Ave. Garzón 780, 12600 Montevideo, Uruguay

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of season, parity, and stage of lactation on lameness occurrence, evaluating also the impact on milk yield. The database included 62,068 test-day milk yields from 5,836 lactations of 2,605 dairy cows with an average milk yield of 19.5 kg/d from years 2003 to 2010. Cows were classified according to parity in primiparous (L1), secondiparous (L2) or more calvings (L>2). Clinical lameness were identified by the same farm worker as they entered or left the parlour area, and date and affected foot were registered. The occurrence of lameness was assessed using a logistic regression with a binomial distribution specified and controlling for the random effect of cow and odds ratios were calculated. The impact of lameness occurrence on 305-d milk yield was analyzed with a model included the effects of parity, calving season, lameness occurrence, and parity, stage of lactation and number of clinical events within lameness occurrence as fixed effects and cow as a random effect. The

season incidence rate for lameness was 1.02/1000 cow-days. Year, season, parity, and stage of lactation affected ($p<0.001$) OR for lameness. Multiparous cows of more than two calvings (L>2), late lactation and summer were used as the reference for the calculation of odd ratio. Primiparous cows had more chances to become lame (OR=1.7; 95% CI= 1.52-1.91) than L>2, while L2 had lower chances (OR=0.83; 95% CI= 0.72- 0.97) for lameness than L>2 cows. Mid-lactation (60 to 120 days in milk) had greater OR (OR= 1.4; 95% CI= 1.24-1.58) than late lactation (>120 days in milk), while early lactation (0-59 days in milk) had a similar OR than late lactation. The OR for winter and fall were similar to summer, but spring presented a lower OR than summer (OR= 0.68; 95% CI= 0.59-79). The occurrence of lameness impacted negatively on 305-d milk yield; a loss of 320 kg per lactation was estimated. Thus, clinical events of lameness were associated with the index of soil water content and lactation stage. The most affected category was primiparous cows which should be particularly managed considering that they are the future of the dairy farm. Recurrence of clinical events was high and this should be taken into account in preventive medicine programs.

Key Words: lameness, grazing cows, incidence rates

Introduction

Lameness is one of the most significant challenges for the grazing dairy industry to overcome, given its obvious disruption of animal welfare (Chesterton *et al*. 2008), and impact on cow culling rates, treatment costs, production losses, and reduced economic efficiency (Kossaibati and Esslemont 1997; Both *et al.* 2004; Amory *et al.* 2008; Green *et al*. 2010). The incidence of

lameness can be high, affecting as many as 60% of the dairy cows annually (Vermunt 2004), but can vary between 5 and 55% according to years, detection techniques, and production systems (Clarkson *et al.* 1996). A number of studies have reported that lame dairy cows have a reduced milk yield compared with their potential (Rowlands and Lucey 1986; Green *et al.* 2002) with milk yield losses per cow are estimated to range from 270 to 440 kg per lactation (Coulon *et al.* 1996), 1.5 to 2.8 kg/d for the first two weeks after diagnosis (Rajala-Schultz *et al.* 1999; Warnick *et al.* 2001), and up to 2 kg/d for up to five months before and after diagnosis (Green *et al.* 2002).

Several studies have showed year and season effects on lameness incidence associated with rainfall (Eddy and Scott 1980; Jubb and Malmo 1991; Tranter and Morris 1991). This association between wet weather and the onset of lameness reflect a decrease in hoof mechanical resistance which predispose to excessive wear of soles, increasing chance of penetration (Blowey 2005). In addition, bad hygienic conditions favour bacterial growth and the onset of infectious hoof diseases (Vermunt 2004).

Green *et al*. (2002) showed that high-yielding cows were more likely to become clinically lame than lower yielding cows. In primiparous cows, milk yield has being suggested as one of the main contributing factor for lameness, and moreover, cows that develop lameness in their first lactation are more likely to become lame in subsequent lactations (Hirst *et al*. 2000). Leach *et al.* (1998) reported that incidence peaks for white line disease and sole ulcers occurred before in lactation for primiparous than multiparous cows. This differential lameness occurrence along lactation according to parity may be due, at least in part, to the physiological stress of their first lactation and/or to their lack of experience in the dairy management practices. Few studies

(Harris *et al.* 1988) have analyzed databases to determine the effect of parity on the occurrence of lameness along lactation on pasture-based dairy systems.

Recent research (Gibbs 2010) show that the incidence of lameness has increased in grass-based systems of New Zealand. However, little is known regarding lameness in dairy cows under South American grazing conditions. Hirst *et al*. (2002) showed that in the last two decades, most of the information regarding lameness in bovines has been developed in Europe (48.6%) and North America (24.5%). In contrast, South American research on this topic has been minimum which could be relevant taking into account that dairy systems in South America have particular risk factors, i.e long distance walks, adaptation to changes in diet, and poor lameness training of farmers (Ramos 2006).

In order to install a preventive medicine approach for the control of lameness of the dairy cow under grazing conditions, research in epidemiology and determination of the main risk factors is needed. Thus, the objective of this study was to quantify the incidence of lameness and investigate risk factors (year, season, parity and stage of lactation) associated to lameness occurrence, evaluating their impact on milk yield.

Materials and Methods

Data collection and handling

Data of lactation and lameness records from a dairy farm with an annual average of 1,346 (range: 816 -1,692) Holstein milking cows in Paysandú, Uruguay (32°S, 58°W) collected during seven years (January 2003 to March 2010). Herd calvings occurred from February to October. Cows

had access to pasture (*Trifolium repens*, *Avena sativa*, or *Lolium multiflorous*) all year long based on two grazing sessions (am and pm) during the months of fall and spring and on only one grazing session (pm) during months of winter and summer. In addition, cows received after each milking, a supplement based mainly in whole-plant silages of barley or corn, high moisture corn or sorghum grains, and mixed pasture hay. Cows were milked twice a day (5:00 and 17:00 h) and milk yield was determined monthly. Cows walked daily from 5 to 8 km.

The initial lactation database was recorded at the National Institute for Dairy Cattle Improvement (Uruguay) and included 62,068 test-day milk yields from 5,836 lactations of 2,605 dairy cows. Clinical lameness was identified by visual observation by the same farm worker during the seven years of records when cows entered or left the parlour area, and date and affected foot were registered. A new clinical event of lameness in the same cow was considered when records were more than 28 days apart and/or when the affected foot differed from previous record (Clarkson *et al.* 1996). The initial lameness database included 2,488 records of lameness. All test-day milk yields and lameness records that occurred later than 330 days in milk were eliminated from the database in order to adjust the time at risk for this disease. The number of clinical events that were included in the final lameness database were 1,675 that belonged to 1,048 cows and 1,268 lactations.

Cows were classified according to parity in primiparous (first lactation, L1), secondiparous (second lactation; L2), and multiparous (3 to 8 lactations; L>2), and lactation was divided in early (from 0 to 59 days in milk), mid (from 60 to 120 day in milk), and late (> 120 days in milk) lactation. Seasons were considered as follows: summer (from December to

February), fall (from March to May), winter (from June to August), and spring (from September to November). Summer of 2003 was evaluated considering only data from January and February.

Precipitation was registered in the farm and evapotranspiration Penman-Monteith (FAO 2006) and temperature were registered at the closest weather station (INIA, Salto, Uruguay, located less than 55 km from the farm). Data were summarized by season and an index of soil water content was calculated by dividing precipitation by evapotranspiration (Figure 1).

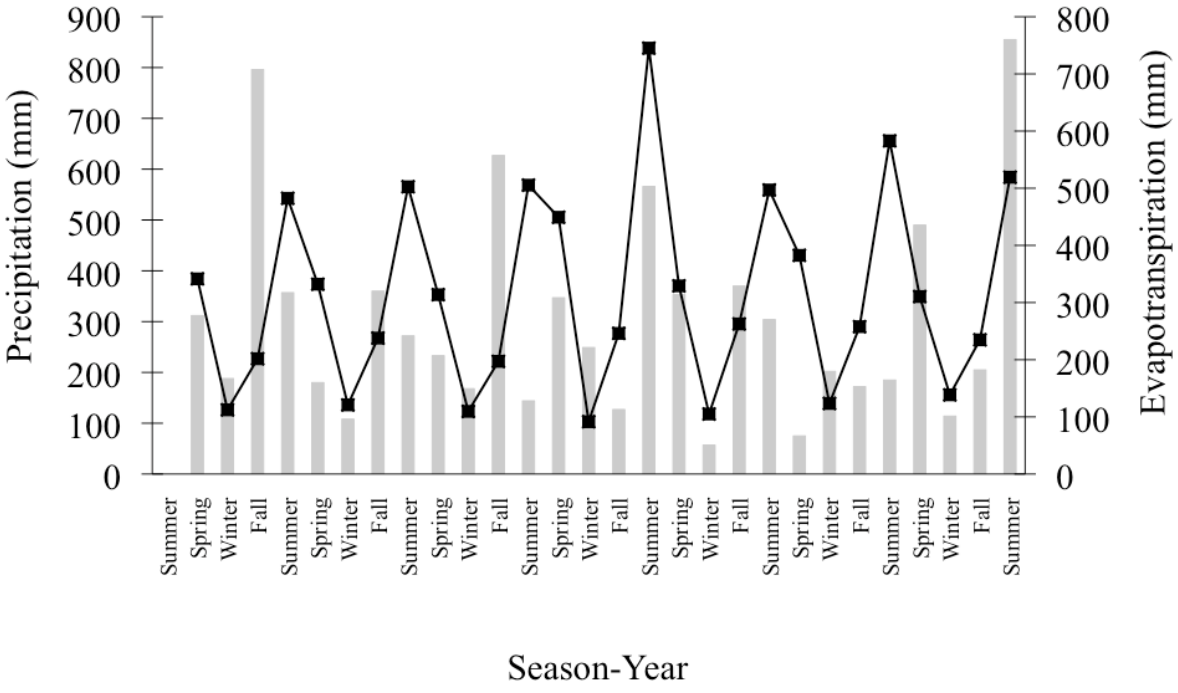

Figure 1. Seasonal precipitation (grey bars) and potential evapotranspiration (black line) during the study (years 2003 to 2009)

Calculations and statistical analyses

The number of clinic events of lameness recorded and the average number of lactating cows by year and season are presented in Table 1. Incidence risks were calculated as the number of new cases of lameness in a defined period given the number of animals at risk (Dohoo *et al.* 2003). Annual incidence risks were estimated as the sum of calculated seasonal incidence risks assuming an average number of cows at risk. Incidence risks are sometimes referred to as cumulative incidence and are more common in the literature than incidence rates (Sanders *et al.* 2009). Incidence rates were calculated by season and year as the number of new cases of lameness per 1,000 cow-days (Dohoo *et al.* 2003). We calculated the risk of incidence and incidence rate by category and stage of lactation. Lactation records were not available for the year 2010, which made an accurate enumeration of cow-days during the study period of that year impossible. Thus, year incidence rates and incidence risk were calculated using data from 2003 through 2009.

All statistical analyses were performed with SAS software (version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA 2000) using cow as the experimental unit. Descriptive summaries were obtained using the MEANS and FREQ procedures. The effects of year, season, parity, and stage of lactation on occurrence of lameness were assessed using a logistic regression with the GENMOD procedure with the binomial distribution specified, and controlling for the random effect of cow. Odds ratios were calculated, summer, L>2, and days in milk > 120 were used as the reference for season, parity, and stage of lactation. The impact of lameness occurrence on 305-d milk yield was analysed with the MIXED procedure. The model included the effects of

parity, calving season, lameness occurrence, the interaction between parity and lames occurrence and ,stage of lactation and number of clinical events within lameness occurrence as fixed effects and cow as a random effect. Correlations and regression between occurrence of lameness and weather measurements were obtained using the CORR and REG procedure.

Results

Database characteristics

The analysed database included 50,515 test-day milk yields from 5,768 lactations (8.8 (SEM 2.9) test-day milk yields per lactation) of 2,596 dairy cows with an average milk yield of 19.5 (SEM 4.6) kg/d. Lactations corresponded 35.8% to L1, 25.6% to L2, and 38.5% to L>2 cows. Most calvings occurred during fall and winter (43.5 and 32.9%, respectively).

From the total of cows considered, 40% (1,048/2,596) became lame at least once. Clinical events according to parity were distributed as follows: 52.1% were L1, 17.7% were L2, and 30.1 % were L>2 cows. From the total clinical events 23.8% (n=399) were observed in fall, 25.3% (n=425) in winter, 22% (n=367) in spring, and 28.8% (n=484) in summer. The number of clinical events recorded in legs was greater than in hands (73.8 vs. 23.7%; $p< 0.001$).

From all the cows that became lame at least once, 426 cows (40.6%) repeated clinical events during the study, 56.5% (n = 241) repeated in the same lactation with an average of 2.30 clinical events per cow, while the rest (n = 185) of the cows repeated clinical events in different lactations, with an average of 2.65 clinical events per cow.

Incidences risks and rates

The annual incidence risk for lameness was 15.2% with annual minimum and maximum values of 9.2 and 24%, respectively, while the annual incidence rate was 0.79/1,000 cow-days, ranging from 0.49 to 1.3/1,000 cow-days (Table 1).

Table 1.Number of clinical events, milking cows, milking cow-days, incidence risk and incidence rate according to year, season, parity (L1, L2 y L>2) and stage of lactation.

	Clinical events	Milking cows	Milking cow- days	Incidence risk (%)	Incidence rate (affected cow/1000 cow-days)
Year					
2003	78	816	157,581	9.6	0.49
2004	97	1,051	181,730	9.2	0.53
2005	268	1,204	221,270	22.3	1.20
2006	135	1,422	269,433	9.5	0.50
2007	298	1,582	326,963	18.8	0.91
2008	212	1,658	326,032	12.8	0.65
2009	403	1,692	313,612	24.0	1.30
2010	184	-	-	-	-
Season					
Summer	484	5,330	423,715	9.0	1.14
Fall	399	4,830	342,466	8.3	1.16
Winter	425	5,004	365,760	8.5	1.16
Spring	367	5,044	417,736	7.3	0.88
Parity					
First	873	2,030	594,133	43	1.47
Second	297	1,482	430,182	20	0.70
Third or more	505	2,198	643,781	23	0.80
Stage of lactation (DIM)					
1 - 59	303	5,689	338,644	5.3	0.89
60 - 119	439	5,580	329,269	7.8	1.33
> 120	933	5,386	967,642	17.3	0.96

The seasonal incidence risk for lameness was 8.3% with minimum and maximum values of 7.3 and 9.0%, respectively, while the seasonal incidence rate for lameness was 1.08/1000 cow-days with minimum and maximum values of 0.88 and 1.16/1000 cow-days (Table 1). No differences were found between the submission of clinical events for fall, winter, or summer but the incidence risk and rate for lameness in spring were greater than for the other seasons. Seasonal incidences risks and rates of lameness were correlated with the index of soil water content (r = 0.45, p<0.020 and r=0.47 p<0.015, n=29, respectively) (Figure 2). Incidence risks and rates were greater for L1 than L2 and L>2 cows and did not differed in the last ones and were greater in mid than early or late lactation (Table 1).

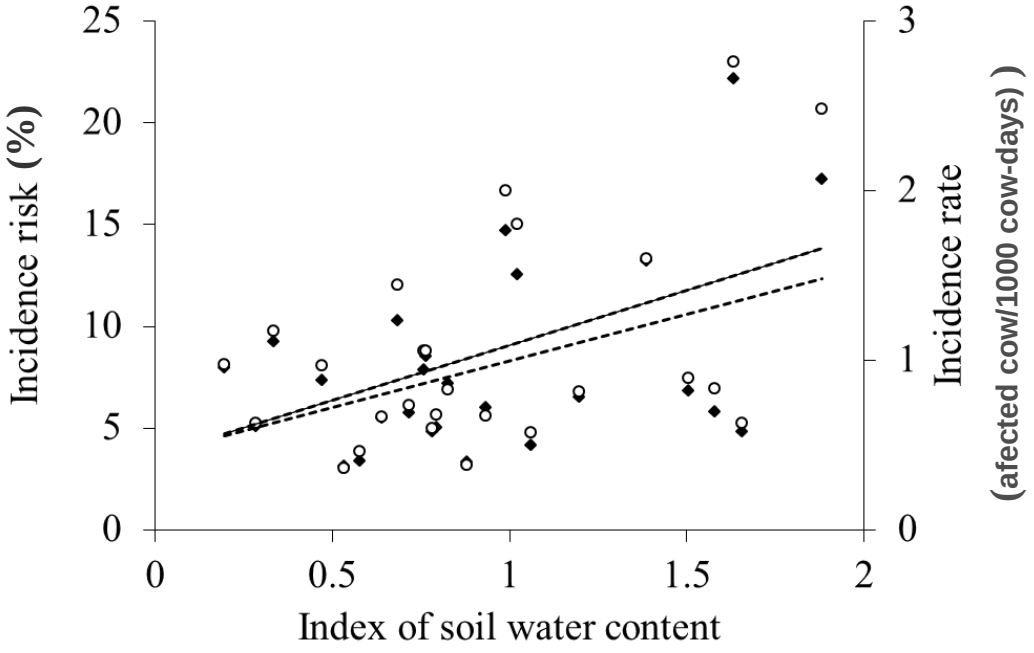

Figure 2. Scatter plot of the incidence risk and lameness rate and index of soil water content.

Odds ratio for lameness according to season, parity, and stage of lactation

Season, parity, and stage of lactation affected (p<0.001) OR for lameness. Odds ratio for lameness did not differ (p>0.299) for winter and fall than summer but were less (p<0.001) in spring than summer (Table 2). Primiparous cows had more chances (p<0.001) to become lame than L>2 cows, while L2 had lower chances (p=0.020) for lameness than L>2 cows (Table 2). Mid-lactation (60 to 120 days in milk) had greater OR (p<0.001) than late lactation (>120 days in milk), while early lactation (0-59 days in milk) had a similar OR (p=0.668) than late lactation (Table 2).

Table 2. Odds ratios for season, parity, and stage of lactation.

	Coefficient	SE	Odds ratio	95% CI 2.5%	95% CI 97.5%	p-value
Season						
Summer	Reference					
Fall	-0.074	0.072	0.92	0.81	1.07	0.299
Winter	-0.043	0.072	0.95	0.83	1.10	0.543
Spring	-0.382	0.072	0.68	0.59	0.79	<0.001
Parity						
First	0.533	0.058	1.70	1.52	1.91	<0.001
Second	-0.174	0.075	0.83	0.72	0.97	0.020
Third or more	Reference					
Stage of lactation (DIM)						
1 - 59	-0.030	0.070	0.97	0.85	1.11	0.668
60 - 119	0.337	0.061	1.40	1.24	1.58	<0.001
> 120	Reference					

Impact of lameness on milk yield

The occurrence of lameness impacted negatively on 305-d milk yield ($p<0.001$); a loss of 320 kg per lactation was estimated (Table 3). The impact of lameness on 305-d milk yield did not differ ($p = 0,528$) according to parity. However, the stage of lactation when the clinical event occurred had a different impact ($p=0.007$) on milk yield, as 305-d milk yield was less when clinical events occurred earlier in lactation. Milk yield decreased ($p<0.001$) as the number of clinical events in the same lactation increased (Table 3).

Table 3. Effect of lameness, parity, stage of lactation of occurrence of clinical event, and number of clinical events on the same lactation on 305-d milk yield.

	305-d milk yield (kg)		SEM	p-value
	No Lame	Lame		
Overall	5897[a]	5576[b]	41	<0.001
Parity[1]				0.528
First	5479[d]	5148[e]	47	
Second	5954[b]	5689[c]	60	
Third or more	6257[a]	5891[b]	56	
Stage Lactation (DIM)				0.007
1-59	-	5534[bcx]	99	
60-119	-	5489[c]	82	
>120	-	5707[by]	47	
Num. clinical events[2]				< 0.001
One	-	5816[a]	44	
Two	-	5524[bc]	71	
Three or more	-	5389[c]	108	

[1]Parity and lameness occurrence interaction

[2]Number of clinical events in the same lactation

[a,b] $p<0.05$; [x,y] $0.05\leq p<0.10$

Discussion

The wide variation found in the annual incidence risk for lameness (9.2 to 24%) was consistent with previous reports performed under grazing (0.0 to 30.9%, Harris *et al.* 1988; 2.2 to 38%, Tranter and Morris 1991; 4.3 to 64.4%, Gibbs 2010) and confined (9.3 to 49.2%, Barkema *et al*. 1994; 1.8 to 30%, Kelton *et al.* 1998) conditions. Overall incidence rate of lameness (0.49 to 1.3/1,000 cow/days) was lower than previous reports (Clarkson *et al.* 1996; Warnick et al., 2001; Sanders *et al.* 2009) that reported incidence rates of between 1.41 and 1.97/1,000 cow-days, respectively. Few reports in the South American region are available: Tadich *et al.* (2005) reported prevalence of 9 to 32% in Chile. Podal affections have a multifactorial origin, and risk factors associated with podal affections have metabolic, infectious, traumatic causes as well as management practices and genetic characteristics related to conformation and body weight (Hansen 1998; Holmes 1999; Vermunt 2004). These multiple risk factors may explain the great annual and seasonal variation in incidence risks and rates reported here and in other studies.

In the present study the incidence rates for lameness were similar for the summer, fall, and winter. In contrast, several studies have showed year and season effects on the incidence of lameness (Tranter and Morris 1991; Harris et al. 1988; Sanders *et al.* 2009). More lameness occurred in rainy seasons, and high incidence risk for lameness usually follows periods of heavy rain (United Kingdom: Eddy and Scott 1980; Australia: Jubb and Malmo 1991). The association between wet weather and the onset of lameness has been associated with a decrease of the mechanical resistance of the hoof that predispose to a greater wear and an increased chance of

sole penetration (Vermunt 2004; Blowey 2005). Indeed, in our study, season incidences risks and rates for lameness were correlated with the index of soil water content.

On the other hand, the index of soil water content does not explain why summer incidence risk and rate were high and similar to fall and winter. Previous reports (Sanders *et al.* 2009) in a free stall conditions found a greater incidence rate in the summer. Cook (2007) also found spikes in the incidence rate for lameness attributed to heat stress in the prior months under stabulated condition. Laven and Lawrence (2006) in United Kingdom, reported that the white line disease moved from being greatest in the winter to being greatest in summer. Similarly, under New Zealand grazing conditions, the incidence peak of lameness was during summer (Gibbs 2010). In a recent study performed in the same geographical area than our study, Saravia *et al.* (2011) concluded that during one severe heat wave, cows did not maintain normothermia and spent less time grazing, reducing productivity. The low ruminal pH, changes in feeding behavior, low buffer capacity, decreased DM intake, and increased standing time have been associated with heat stress (Stone 2004; Cook *et al.* 2007), and these factors may be at the origin of the high incidence risk and rate for summer lameness found in this study.

In this study, primiparous cows presented almost two times greater chances to become lame than secondiparous or multiparous cows, in agreement with Dewes (1978) that reported lameness in grazing conditions. Chesterton *et al.* (2008) reported a higher frequency of lame heifers than lame cows, only for sole injury and leg trauma in New Zealand production conditions. Some studies, in Chilean dairy cattle, have reported that primiparous cows have an increased risk of digital dermatitis and this risk diminishes with increasing parity (Rodriguez-

Lainz *et al.* 1999). Indeed, primiparous cows have to learn to walk in the cow flow dairy system, which is especially important due to concrete floor, which among other factors, as social hierarchy and feed integration, make this category very susceptible to lameness (Blowey 2005). Social integration of heifers to the high milking cows is critical for their hoof health. It has been suggested that the accent on lameness prevention should be put in the younger stock, because the high reoccurrence of this disease in this category (Hirst *et al.* 2000). On the other hand, second-lactation cows had lower incidence risks and rates than multiparous cows, which was consistent with the higher incidence for lameness in older than younger cows in New Zealand dairy systems as reported by Diaz *et al.* (2011a). Sanders *et al.* (2009) in free-stall conditions found a greater incidence rate in older cows (≥ third parity) compared to younger cows. The effects of live-weight loss on the risk of lameness was demonstrated in American housing and New Zealand grazing systems (Bicalho *et al.* 2009; Alawneh *et al.* 2011). In our dairy system, loss of body condition in heifers postpartum is very important (Meikle *et al.* 2004). Management failure associated with lack of knowledge on animal behavior (Ramos 2006) may be at the origin of the high lameness OR in primiparous cows.

Evidence exists for a peak in lameness occurrence 2 to 5 months after calving (Tranter and Morris 1991; Green *et al.* 2002), as it was found in the present study. It has been proposed that changes in the suspensory apparatus within the hoof lead to increased movement of the third phalanx within the horn capsule of the claw around calving; which results in an increased risk of physical damage to the sensitive corium within the claw (Tarlton *et al.* 2002). It was further proposed that such damage to the corium result in the production of poor quality horn which is

visible at the weight bearing surface two to three months after calving as the hoof horn grows (Lischer *et al*. 2001). In addition, it has been reported that cows spend more time standing in mid than late lactation (Nielsen *et al.* 2000). A recent study reported that the peak of foot lesions in the New Zealand dairy cow occurred at 110 days postpartum (Margerison *et al.* 2011). In the same grazing system, Diaz *et al.* (2011b) reported dairy cows in their first 110 days in milk have 1.68 times more likely to be lame than cows between 111 to 210 DIM. In contrast, others studies in confined dairy systems have reported no association between stage of lactation and lameness (Warnick *et al.* 1995; Warnick *et al.* 2001) or a greater incidence of lameness in early lactation (Eddy and Scott 1980).

Most clinical events occurred in legs, which is consistent with other reports that found that more than 90% of lameness involves the foot, and of that, more than 90% involves the rear feet, with the majority of disorders affecting the outside claw (Vermunt and Smart 1994; Shearer and Van Amstel 2002).

An interesting finding of this study was the high recurrence of lameness in the same lactation. Gonzalez Sagües (1996) reported that animals that suffered laminitis from their first calving repeat episodes of lameness. Besides, Hirst *et al.* (2000) noted that lame cows had a higher risk for lameness in the following lactation. Data on lameness recurrence are scarce, since most studies are performed during short-term observational periods. The high recurrence found in the analysis of this database (41%) could be associated with late diagnosis and/or lack of appropriate treatment, but indicates the need to develop hoof preventive medicine programs.

Besides, it should be taken into account that the high recurrence detected in this study may involve cows that did not recover from the original podal affection.

The presence of lameness was associated with a loss in milk yield of less than 5.4% (320 kg), which is consistent with other studies that reported milk yield losses per cow estimated to range from 270 to 562 kg per lactation (confined systems: Rowlands and Lucey 1986; Warnick *et al.* 1995, 2001, Rajala-Schultz *et al.* 1999; Amory *et al.* 2008; semi-stabulated or grazing conditions: Claves 2009; Green *et al.* 2010). In contrast, some studies reported no effect (Cobo-Abreu *et al.* 1979) or increased milk yield (Dohoo and Martin 1984) for lame cows. However, comparison among studies is difficult, not only because cow genetic potential for milk production and dairy management (mainly nutrition) may differ, but also because the effect on milk yield may depend on the cause and severity of the lameness, the moment of the lactation where it was detected, the timing and appropriateness in the treatment and the time of milk production measurements relative to diagnosis (Barkema *et al.* 1994; Coulon *et al.* 1996). Our results differ from the ones of Warnick *et al.* (2001) and Claves (2009) who reported a greater decrease in milk production in lame cows in second or greater lactation in housed and grazing systems, respectively. These authors suggested that the difference between lactation groups may result in part because older cows have higher milk production on average, and therefore greater decreases in production are possible.

In summary, clinical events of lameness were associated with the index of soil water content and lactation stage. Under grazing conditions, the most affected category was primiparous cows which should be particularly managed considering that they are the future of the dairy farm.

Besides, recurrence of clinical events was high and this should be taken into account in preventive medicine programs.

References

*Alawneh JI, Stevenson MA, Williamson NB, Lopez-Villalobos N, Otley T. The effects of liveweight loss and high milk production on the risk of lameness in a seasonally calving pasture fed dairy herd. *Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness.* B 5.1, Pp 47, 2011

Barkema HW, Westrik JD, Van Keulen KAS, Schukken YH, Brand A. The effects of lameness on reproductive performance, milk production and culling in Dutch dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine* 20, 249–259,1994

Bicalho R.C, Machado VS, Caixeta L.S. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease o a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion. *Journal Dairy Science* 92, 3175–3184, 2009

Blowey R.W. Factors associated with lameness in dairy cattle. *Farm Animal Practice* 27, 159-160, 2005

Chesterton N. Linking cow behaviour to the distribution of foot lesions causing lameness in pasture fed cattle in New Zealand. *Proceedings of the 13th International Symposium on the Ruminant Digit.* Pp ,200, 2004

Chesterton N, Lawrence KE, Laven RA. A descriptive analysis of the foot lesions identified during veterinary treatment for lameness on dairy farms in North Taranaki. *New Zealand Veterinary Journal* 56 (3),130-138, 2008

Clarkson MJ, Downham DY, Faull WB, Hughes JW, Manson FJ, Merritt JB, Murray RD, Russell WB, Sutherst JE, Ward WR. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. *Veterinary Record.* 138, 563-567, 1996

Claves. Organización y análisis de un sistema de registros de enfermedades del periparto en vacas Lecheras: Su incidencia e impacto económico sobre las empresas. *2009 http://www.infortambo.com.ar/admin/upload/arch/Claves*

Cobo-Abreu RS, Martin W, Willoughby RA, Stone JB. The association between disease, production and culling in a university dairy herd. *Canadian. Veterinary. Journal* 20, 191–195, 1979

Cook NB, Mentink RL, Bennett TB, Burgi K. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *Journal Dairy Science* 90,1674–1682, 2007

Coulon JB, Lescourret F, Fonty A. Effect of foot lesions on milk production by dairy cows. *Journal Dairy Science* 79,44–49, 1996

Dewes HF. Some aspects of lameness in dairy herds. *New Zealand Veterinary Journal* 26, 147-8 and 157-9,1978

*Diaz Lira C, Lopez Villalobos N, Margerison J. Survey of individual cow records to identify factors associated with lameness in three farms in New Zealand. *Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness* . B 5.4, Pp 50, 2011a

*Diaz Lira C, Lopez Villalobos N, Margerison J. Incidence and factors affecting lameness in NZ dairy cattle. *Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness.* B 5.3, Pp 49, 2011b

Dohoo IR, Martin SW. Disease, production and culling in Holstein-Fresian cows. IV. Effects of disease on production. *Preventive. Veterinary Medicine* 2,755–770, 1984

*Dohoo IR, Martin SW, Stryhn H. Measures of Disease Frequency. In: *Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada* Pp 65–84 , 2003.

Eddy RG, Scott CP Some observations on the incidence of lameness in dairy cattle in Somerset. *Veterinary Record.* 106,140–144, 1980

FAO.Ecuación de FAO Penman-Monteith. *2006. www.fao.org/docrep/009/x0490s/x0490s00.htm*

*Gibbs SJ. Dairy lameness in the South Island. *Proceedings of the 4th Australasian Dairy Science Symposium.* Pp ,424-427, 2010

Gonzalez Sagues A. Control de cojeras en el ganado vacuno de leche. *Aula Veterinaria Bovis,* 72, 13-39,1996

Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *Journal Dairy Science* 85, 2250–2256, 2002

*Hansen LB, Cole JB, Marx GD. 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.* 20, 35-38, 1998

Harris DJ, Hibburt CD, Anderson GA, Younis PJ. The incidence, cost and factors associated with foot lameness in dairy cattle in south-western Victoria. *Australian Veterinary Jounal* 65(6),171-6, 1988

*Hirst WM, French MP, Murray RD, Ward WR. The importance of first lactation lameness as a risk factor for subsequent lameness. *Proceedings of the 11th International Symposium on Disorders of the Ruminant Digit.* Pp 149-151, 2000

Hirst WM, Le Fevre AM, Logue DN, Offer JE, Chaplin SJ, Murray RD, Ward WR, French NP. A Systematic compilation and classification of the literature on lameness in cattle. *The Veterinary Journal* 164, 7-19, 2002

*Holmes CW, García-Muniz J, Laborde D, Chesterfied M, Purchas. Reproductive performance of Holstein- Friesian cows which have been selected for heavy or light live weight *Journal Dairy Farming Annual* Vol. 51:79-86, 1999

*Holzhauer M, Brummelman B, Frankena K, Lam TJ.A longitudinal study into the effect of pasturing young stock on claw health. *Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness.* B 5.4, Pp, 51, 2011

Jubb TF, Malmo J. Lesions causing lameness requiring veterinary treatment in pasture-fed dairy cows in East Gippsland. *Australian Veterinary Journal* 68, 21, 1991

Kelton DF, Lissemore KD, Martin RE. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal Dairy Science* 81, 2502–2509, 1998

Kossaibati MA, Esslemont RJ. The costs of production diseases in dairy herds in England. *Veterinary Journal* 154, 41–51, 1997

Laven RA, Lawrence KR. An evaluation of the seasonality of veterinary treatments for lameness in UK dairy cattle. *Journal Dairy Science* 89, 3858–3865, 2006

Leach KA, Logue DN, Kempson SA, Offer JA, Ternet HE, Randall JM. Claw lesions in dairy cattle: development of sole and white line hemorrhages during the first lactation. *Veterinary Journal* 154, 215-225, 1998.

Lischer CJ, Dietrich-Hunkeler A, Geyer H, Schulze J, Ossent P. Healing process of uncomplicated sole ulcers in dairy cows kept in tie stalls: Clinical description and blood chemical investigations. *Schweiz. Arch. Tierheilkd* 143, 125-133, 2001

*Margerison J, Lethbridge L. A meta-analysis of claw horn disease and claw horn anatomy in UK and New Zealand first lactation dairy cattle. *Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness.* B5.6, Pp, 52, 2011

Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127, 727–737, 2004

Mill JM, Ward W.R. Lameness in dairy cows and farmers' knowledge, training and awareness. *Veterinary Record* 134, 162-164, 1994

Nielsen BL, Veerkamp RF, Lawrence AB. Effects of genotype, feed type and lactational stage on the time budget of dairy cows. *Acta Agriculturae Scandinavica* A 50, 272–278, 2000

Rajala-Schultz PJ, Gröhn YT, McCulloch, CE. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 82:288–294, 1999.

*Ramos JM. Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production. *Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants* Pp, 69-73, 2006

Rodriguez-Lainz A, Melendez-Retamal P, Hird DW, Read DH, Walker RL.Farm and host-level risk factors for papillomatous digitaldermatitis in Chilean dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine* 42, 87-97, 1999

Rowlands GJ, Lucey S. Changes in milk yield in dairy cows associated with metabolic and reproductive disease and lameness. *Preventive Veterinary Medicine* 4, 205–222, 1986

Sanders AH, Shearer JK, De Vries A. Seasonal incidence of lameness and risk factors associated with thin soles, white line disease, ulcers and sole punctures in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 92,3165-3174, 2009

Saravia C, Astigarraga L, Van Lier E, Bentancur O. Impacto de las olas de calor en vacas lecheras en Salto (Uruguay*) Agrociencia* 15 n.1, 2011

*Shearer JK, Van Amstel SR Claw health management and therapy of infectious claw diseases. *Proceedings of a Recent developments and perspectives in bovine medicine. Pp,* 258-267, 2002

Stone WC. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 87:(E. Suppl.): E13 – E26, 2004

Tadich N, Hettich E, Schaik G van. Prevalencia de cojeras en vacas de 50 rebaños lecheros del sur de Chile. *Archivo Medicina Veterinaria* 37, 29-36, 2005

Tarlton JF, Holah DE, Evans KM, Jones S, Pearson GR. Webster AJ.Biomechanical and histopathological changes in the supportive structures of the bovine hooves around the time of first calving. *Veterinary Journal* 163, 196-204, 2002

Tranter WP, Morris RS. A case study of lameness in three dairy herds. *New Zealand Veterinary Journal* 39, 88 – 96, 1991

*Vermunt JJ, Smart ME. The impact of a lameness management programme. *Proceedings of the VIIIth Symposium on Disorders of the Ruminant Digit and International Conference on Bovine Lameness* Pp, 275-298, 1994

Vermunt JJ. Herd lameness- A Review, Major causal factors, and guidelines for prevention and control. *Proceedings of the 13 International Symposium on Lameness in Ruminants, Maribor (Slovenija)* Pp, 3-18, 2004

Warnick LD, Pelzer KD, Meadows AW, diLorenzo KA, Whittier WD. The relationship of clinical lameness with days in milk, lactation number, and milk production in a sample of Virginia dairy herds. *Journal Dairy Science* 78(Suppl. 1):169, 1995.

Warnick LD, Janssen D, Guard CL, Gröhn YT. The effect of lameness on milk production in dairy cows. *Journal Dairy Science* 84, 1988–1997, 2001

Wells S.J, Trent A.M, Marsh W.E, Robinson R.A. Prevalence and Severity of lameness in lactating dairy cows in a sample of Minnesota and Wisconsin herds. *JAVMA*, 202 (19),78-82,1993.

Cortisol sérico asociado a la gravedad de la patología podal y al score de locomoción en vacas lecheras en sistemas pastoriles

Juan Manuel Ramos[1], Paula Pessina[2], Andrea Fernández[2], Mariana Carriquiry[3]

RESUMEN

Se evaluó la capacidad de producir estrés -mediante la liberación de cortisol-, de patologías podales de diferente gravedad y su asociación con el score de locomoción en casos clínicos agudos (*Exp.* 1, 29 vacas rengas y 44 vacas sanas) y crónicos (*Exp.* 2, 53 vacas rengas y 44 vacas sanas) en vacas Holando en producción. Se clasificaron en patologías dolorosas (AD) y leves (AL) acorde a los tipos de tejidos afectados, grados de hiperconsumo de uña y de inflamación e infección del pie. La evaluación de la incomodidad en el desplazamiento de las vacas crónicas se realizó mediante la utilización de un score de locomoción (1= sano, 5=cojera grave). Se determinó el cortisol por radioinmunoanálisis. En el brote agudo, las vacas con cojeras graves presentaron concentraciones de cortisol más altas que las vacas con cojeras leves y sanas, en las cuales el nivel de cortisol no fue diferente. El hiperconsumo de pezuña fue la patología de mayor gravedad e impacto en la liberación de cortisol. En el brote crónico, no se encontraron diferencias entre vacas rengas y sanas, aunque estas últimas presentaron una relación cortisol:creatinina más baja. En este estudio, el cortisol –niveles plasmáticos y/o su relación con creatinina en orina- demostró ser un buen indicador de estrés para las afecciones podales cuando estas son clasificadas acorde a la gravedad -teniendo en cuenta el tipo de lesión y daño tisular

Palabras Clave: *rengueras, estrés, ganado lechero*.

[1] Universidad de la Empresa, Facultad de Ciencias Agrarias, Montevideo, Uruguay
[2] Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria
[3] Facultad de Agronomía, Universidad de la República Oriental del Uruguay, Montevideo, Uruguay

SUMMARY

This study evaluated the stress response – in terms of cortisol secretion- of podal pathologies of different severity and it association with locomotion score in acute (*Exp.* 1, 29 lame cows and 44 healthy cows) and chronic outbreaks (*Exp.* 2, 53 lame cows and 44 healthy cows) in lactating Holstein cows. Podal pathologies were classified in painful and mild according to the tissues that were affected, grade of foot wear and inflammation and infection. Podal discomfort of chronic cases were evaluated by the locomotion score (1= healthy, 5=severe lameness). Cortisol was determined by radioimmunoassay. In the acute outbreak, cows with severe lameness presented greater plasma cortisol concentrations than cows with mild lameness and healthy cows, which did not differ. Foot wear was t most severe pathology with greatest cortisol levels. In chronic cases, no differences were found among lame and healthy cows, although the latter presented a reduced cortisol:creatinine ratio. In this study, cortisol –plasmatic levels and/or its ratio with creatinine in urine- was a good stress index for podal pathologies when these were classified according to degree of severity considering the type of lesion and tisular affection.

Key words: lameness, stress, dairy cattle.

INTRODUCCION

Las cojeras impactan negativamente en el bienestar animal y capacidad productiva de las vacas lecheras. En condiciones pastoriles de producción son consideradas como uno de los drenajes financieros más importantes y que mayor daño causan al bienestar de las vacas (entre 200 a 312 dólares por vaca renga; Australian Dairy Industry, 2009). En Australasia se mencionan incidencias anuales del 10 al 55% de las vacas en ordeñe (Chesterton, 2006; Vermunt, 2006; Campbell, 2007). En condiciones sudamericanas de producción lechera se reportan rangos de incidencias del 2.1 al 60% (Ramos y col., 2004; Tadich y col., 2005; Ramos, 2006; Flor, 2006).
La proximidad anatómica de los diferentes tejidos nobles del pie (corion, hueso, tendones, articulación) dentro del estuche córneo de la pezuña, facilita una rápida afectación de estas estructuras, lo que produce diversos grados de dolor y dificulta la recuperación de los animales afectados. Esto es de relevancia en los sistemas pastoriles de producción de leche en donde la pezuña sufre un enorme estrés mecánico de desgaste y puede perder gravemente su capacidad de protección de los tejidos nobles del pie. El hiperconsumo de pezuña es una patología muy grave y típica del sistema pastoril, que aumenta dramáticamente la incidencia de cojeras (Chesterton, 2006). Sin embargo, no ha sido considerado su potencial para producir dolor y estrés. Consideraciones sobre el tipo de sistema productivo (confinamiento *vs.* pastoreo) deberían ser tenidas en cuenta a la hora de evaluar el potencial traumático de las diferentes patologías podales.

La evaluación de la incomodidad del desplazamiento de las vacas utilizando una escala visual de la locomoción (score de locomoción) es una metodología frecuente a la hora de seleccionar los animales rengos y adjudicar gravedad a la cojera. Sin embargo, Dyer y col., (2007) reportaron que más de un tercio de las vacas con lesiones dolorosas de pezuña no muestran signos obvios de alteración de su locomoción. El score de locomoción ha sido utilizado como marcador de la gravedad de las cojeras en estudios que investigan al cortisol como indicador de estrés. Por otro

lado, valores sanguíneos de este glucocorticoide son ampliamente reconocidos como parámetros indicadores de estrés (Moberg ,1987; Alvarado, 1999; Palme y col., 2000; Mellor y col., 2002; Saco, 2008). La falta de diagnóstico sobre la patología podal o la simple evaluación visual de la enfermedad sin la clasificación de gravedad o daño tisular pueden resultar ineficientes a la hora de evaluar el potencial de dolor, la producción de estrés y la liberación de cortisol de estas afecciones. Los escasos reportes respecto al cortisol plasmático y dolor podal en vacas lecheras son contradictorios ya que se han encontrado (Hiroshi y col., 2003; Phillips, 2008) o no (Ley y col., 1996; Almeida y col., 2008) asociaciones entre ambos. Estas contradicciones pueden deberse a que el estrés del propio muestreo modifica los niveles de cortisol basal en suero o plasma, por lo que se ha reportado que este indicador tiene un valor diagnóstico limitado (Morrow y col., 2002). En otras especies (animales de compañía), la determinación de la relación cortisol/creatinina en orina es utilizada para diagnosticar patologías endócrinas relacionadas al eje hipotálamo-hipofiso-adrenal pero no hemos encontrado información de su uso en bovinos. Debido a que la concentración de cortisol urinario depende del grado de diuresis, la determinación de la relación cortisol/creatinina refleja mejor los valores de cortisol plasmático (Herrtage, 2007).

Belge y col. (2004) determinaron mayores niveles de cortisol en vacas rengas que presentaban una única patología podal (laminítis crónica). No hemos encontrado estudios que investiguen la gravedad de la cojera (es decir, que impliquen una clasificación de las mismas) con cortisol como indicador de estrés Más aún, estos trabajos han sido realizados en sistemas estabulados de producción de leche, muy diferentes al sistema pastoril en donde el aparato locomotor está sobre exigido. Una vaca coja en un sistema pastoril está en graves problemas para acceder a su alimento, ordeñe diario y mantención de estatus jerárquico dentro del rodeo, situaciones con gran poder estresante que agravan rápidamente la condición sanitaria y productiva de estos animales.

El objetivo de este trabajo es determinar la concentración de cortisol en plasma y/o su relación

con la creatinina en orina como indicadores de estrés en patologías podales de diferente gravedad y su asociación con el score de locomoción en vacas en ordeñe en condiciones pastoriles de producción de leche.

MATERIALES Y METODOS

Los protocolos experimentales fueron aprobados y realizados de acuerdo a las pautas de experimentación animal de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Universidad de la Republica.

Experimento 1

Se estudiaron 73 vacas de la raza Holando, - 29 vacas rengas y 44 vacas sanas- con parición de otoño / primavera en un tambo comercial de 600 vacas en ordeñe, en el departamento de Soriano, Uruguay. Los animales afectados pertenecían a un brote agudo de rengueras sin ningún tipo de tratamiento previo a la extracción de sangre para la determinación de cortisol.

Los animales se ordeñaban dos veces por día y caminaban en promedio 3 km diarios. La alimentación era a base de verdeos de raigrás (*Lolium multiflorum*) con suplementación a base de silo de grano húmedo de sorgo y/o maíz a la salida del ordeñe.

Se evaluó el número de dedos afectados, ubicación de la lesión (manos o patas) y se realizó el diagnóstico clínico del tipo de patología podal por un mismo operador mediante la técnica del recorte funcional de pezuñas (Tooussant Raven, 1985) en un cepo de contención bovina estilo holandés. Las patologías podales fueron clasificadas en dolorosas (AD) y leves (AL) de acuerdo al los tipos de tejidos afectados, grados de hiperconsumo de uña y de inflamación e infección del pie. Se consideraron AD: hiperconsumo de pezuña, osteítis de la tercera falange, artritis séptica, absceso retroarticular y enfermedad de línea blanca profunda. Para realizar el diagnóstico de hiperconsumo de pezuña se considero espesores de suela de entre 1 a 2 mm, la

osteítis de tercer falange fue diagnostica por la necrosis del tejido óseo que en el caso mas severo permitió su remoción manual. La artritis séptica fue diagnosticada clínicamente teniendo en cuenta la inflamación unilateral del dedo con fístulización purulenta en rodete coronario. La inflamación y colección purulenta a nivel de bulbo de talón fueron las claves diagnósticas para el absceso retroarticular. La enfermedad de línea blanca se clasificó en "superficial", cuando la lesión solo abarcaba estructura córnea de la uña y "profunda" cuando la apertura de línea blanca se asociaba a una infección profunda del pie. Se consideraron AL: línea blanca superficial, hematoma de suela y tenosinovitis. La hemorragia difusa en tejido solear con espesores de uña de 5 mm o más fueron los aspectos considerados para el diagnostico del hematoma de suela. Para la tenosinovitis se evaluó el grado inflamación y colección de líquido en las vainas tendinosas de los tendones flexores profundos y superficiales del pie.

Al momento del muestreo se determinó la condición corporal (CC) de las vacas usando una escala de apreciación visual de 1 (emaciada) a 5 (gorda) de acuerdo a Edmonson y col., (1989).

Experimento 2

Se estudiaron 97 vacas de la raza Holando, - 53 vacas rengas y 44 vacas sanas - de un establecimiento lechero comercial con un promedio anual de 900 vacas en ordeñe, en el departamento de Paysandú, Uruguay. Los animales se ordeñaban dos veces al día y caminaban en promedio 5 km diarios. La alimentación era en base a pastura de alfalfa *(Medicago sativa)* y silo de sorgo repartido en comederos a la salida del ordeñe.

Las vacas sanas y cojas fueron bloqueadas teniendo en cuenta la edad y fecha de parto. Los animales rengos (crónicos, con tratamiento previo) se clasificaron según tuvieran más de tres semanas o menos de tres semanas de tratamiento al momento de la extracción de sangre para la determinación de cortisol. La medidas terapéuticas incluían recortes funcionales de pezuña, utilización de vendajes con antibiótico (oxitetraciclina) y sulfato de cobre, así como disminución de las desplazamientos diarios (un solo ordeñe, potreros cercanos). No se utilizaron fármacos

antiinflamatorios en ninguno de los tratamientos.

Se clasificó una submuestra de 36 animales rengos mediante la utilización del score de locomoción (Sprecher y col., 1997), en el cual un score de locomoción 1 son vacas sanas, un score de locomoción 2 son cojeras leves (animal incómodo) asociado a una postura con espalda plana en la estación y leve arqueamiento de la espalda al caminar y un score de locomoción 3 está asociado a una cojera moderada, con leve arqueamiento de espalda tanto en estación como al caminar y pasos cortos de uno a más miembros, siendo los scores 4 y 5 vacas con extrema dificultad para desplazarse. Se obtuvieron muestras de orina para determinar la relación cortisol/creatinina a 13 vacas sanas (de 44) y 10 vacas cojas (de 53, score de locomoción 2).

Al momento del muestreo se determinó CC de manera similar al experimento 1.

Extracción de sangre, determinación de cortisol y creatinina

Todos los sangrados fueron realizados en el horario de la mañana, a la salida de la sala de ordeñe (8:00 a 11:00 AM), minimizando la manipulación a fin de evitar el estrés de manejo. Se obtuvieron muestras de sangre por venopunción de la vena coccígea con tubos BD Vacutainer ® (Becton Dickinson, NJ, USA) con heparina. Las muestras de sangre se centrifugaron por 15 minutos a 3000 rpm y el plasma se almacenó en freezer a -20˚ C hasta su procesamiento.

Las muestras de orina se obtuvieron en el horario de la mañana (9:00 a 11:00 AM), a través de canulación vesical utilizando una vaina e inyector de inseminación artificial. Todas las muestras se conservaron refrigeradas en el momento inmediato a la extracción y hasta su procesamiento.

Canulación vesical

La concentración de cortisol fue determinada en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria en dos ensayos por medio de un RIA en fase sólida usando un kit comercial (Diagnostic Product Co. Los Angeles, CA, USA.). La sensibilidad del ensayo fue de 0,50 µg/dL.

Los CV intra-ensayos para controles bajos (1,5 µg/dL), medios (7,5 µg/dLl) y altos (18 µg/dLl) fueron 10, 9,3 y 8,6 %, respectivamente. Los CV inter-ensayos fueron para los mismos controles 14,4, 9,9 y 11,9 % respectivamente. La determinación de cortisol en orina ha sido validada en caninos y es una metodología de rutina en el diagnostico en animales de compañía.

La determinación de creatinina en orina fue realizada en el Laboratorio de Análisis Clínico, Facultad de Veterinaria. Las muestras se corrieron en un único ensayo utilizando un kit comercial: Creatinina directa (Wiener Lab, Rosario,Argentina). El coeficiente de variación intraensayo fue inferior al 10%.

Análisis Estadístico

Las variables analizadas (concentración de cortisol, relación cortisol:creatinina en orina, y condición corporal) se analizaron utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2001). Para el *experimento 1*, el modelo estadístico consideró como efectos fijos categoría animal (primíparas o multíparas), época de parto (primavera a otoño), presencia y gravedad de la cojera (sanas, cojera leves y cojeras graves), y localización de la cojera (anterior *vs.* posterior) y número de dedos afectados (único o múltiples) anidados en el efecto presencia y gravedad de cojeras. Para el *experimento 2*, se consideró en el modelo la categoría animal, la presencia de cojera o el grado de score de locomoción, el tiempo de tratamiento como efectos fijos, la fecha de sangrado como efecto aleatorio y la fecha de parto fueron utilizadas como covariable. Las asociaciones entre variables se estudiaron mediante correlaciones Pearson usando el procedimiento CORR de SAS. Las medias se consideraron diferentes cuando $P<0.05$ y con una tendencia a ser diferentes cuando $P>0.05$y $P<0.10$.

RESULTADOS

Experimento 1

El hiperconsumo de pezuña fue la cojera grave más frecuente (43.8%). Los animales presentaban entre 1 a 2 mm de pezuña con un hematoma generalizado en la palma, y la suela cedía a una mínima presión manual (Figura 1A). El hematoma de suela fue la cojera leve más frecuente (77%). A diferencia de la lesión anterior el espesor de la pezuña era de 5 - 6 mm y la suela no cedía a la presión manual (Figura 1B). El grado de infección del tejido óseo permitió la remoción manual de parte del hueso de la tercer falange en uno de los casos clínicos de osteítis(Figura 1C).

Figura 1. Lesiones podales observadas con mayor frecuencia: Hiperconsumo Pezuña (**A**), Hematoma de Suela (**B**), Osteítis falange (**C**). Las flechas negras señalan las zonas de lesión más evidentes

La concentración plasmática de cortisol fue más alta en las vacas con cojeras graves ($P < 0{,}001$), respecto a las vacas con cojeras leves y sanas, en las cuales el nivel de cortisol no fue diferente (Tabla 1, Figura 2).

Tabla 1. Efecto de las patologías podales sobre las concentraciones de cortisol en plasma

Tipo de afecciones Cortisol (ug/dL)	Media	ESM	Rango
Afecciones Dolorosas (AD)	----------	----------	----------
Hiperconsumo de pezuña (n=7)	5,59	0,29	4,45 – 6,79
Osteítis Tercer Falange (n =2)	6,29	2,20	4,09 – 8,49
Artritis Séptica (P3-P2, n=2)	6,47	0,83	5,64 – 7,30
Absceso Retroarticular (n=1)	5,91	-----	5,91
Enf. Línea Blanca (Profunda n= 4)	4,81	0,63	4,07 – 6,70
Afecciones Leves (AL)	----------	----------	----------
Hematoma de Suela (n=10)	2,10	0,34	0,49 – 3,37
Tenosinovitis (n=1)	2,92	----------	2,92
Enf. Línea Blanca (Superficial n= 2)	1,57	1,30	0,27 – 2,88

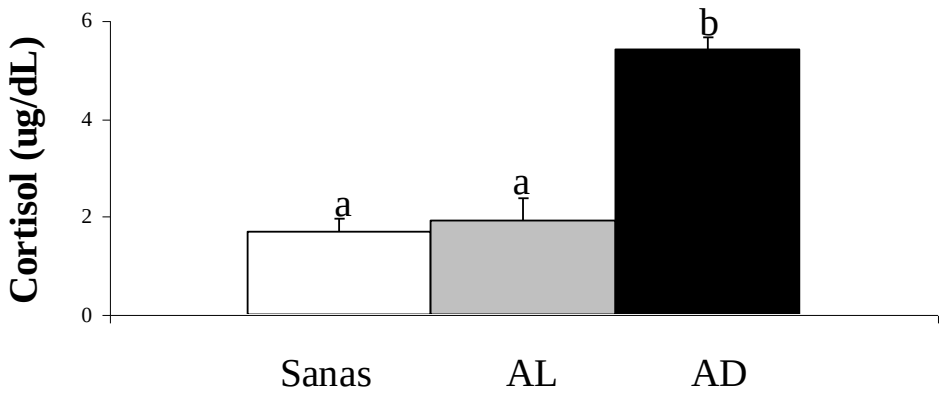

Figura 2. Concentraciones plasmáticas de cortisol (media ± ESM, ug/dL) en vacas sanas, vacas con cojeras leves (AL) y cojeras graves (AD) . [a,b]Literales diferentes indican *P*<0,05)

No se encontraron diferencias (*P*=0,36) en la concentración de cortisol plasmático en función de la localización de la cojera (2,06 ± 0,86 (n= 3) *vs.* 1,80 ± 0,59 (n=10) y 4,90 ± 0,62 (n=3) *vs.* 5,90 ± 0,32 µg/dL (n=13) en vacas mancas y rengas con AL y AD, respectivamente).

No se encontraron diferencias (*P*=0,33) en los niveles de cortisol plasmático asociado al número de dedos afectados (2,10 ± 0,63 (n=4) *vs.* 1,71 ± 0,79 µg/dL (n=9) y 5,80 ± 0,42 (n=9) *vs.* 4,98 ± 0,49 µg/dL (n= 7), para vacas con AL y AD, con uno o múltiples dedos afectados, respectivamente.

La vacas cojas tendieron (*P*=0,08) a tener menor CC que las vacas sanas (2,74 ± 0,04 *vs.* 2,59 ± 0,06 unidades, respectivamente).

Experimento 2

Los niveles de cortisol plasmático no difirieron (*P*=0,42) entre las vacas sanas (2,76 ± 0,07 µg/dL, n=44) y las vacas rengas (2,46 ± 0,07 µg/dL, n=53). En los 36 registros de score de

locomoción realizados a animales rengos, se determinaron: 10 vacas con score 1 (sanas), 13 vacas con score 2 (cojeras leves) y 13 vacas con score 3 (cojeras moderadas).

No se encontraron diferencias (*P*= 0,66) en los niveles de cortisol entre vacas con score de locomoción 1 , 2 o 3 (Figura 3). Sin embargo, se observó una correlación positiva (r = 0,32, *P* = 0,05, n=36) entre el grado del score de locomoción y los niveles de cortisol plasmático.

No hubo efecto (*P*=0,41) del tiempo de tratamiento de la renguera sobre los niveles plasmáticos de cortisol (2,35 ± 0,23 *vs.* 2,07 ± 0,26 µg/dL para tratamientos mayores (n=36) y menores (n=17) a tres semanas previas al sangrado, respectivamente.

Las vacas multíparas (n= 17) tendieron (*P*=0,06) a presentar mayores niveles de cortisol en plasma que las primíparas (n= 34) (2,78 ± 0,36 *vs.* 2,02 ± 0,26 µg/dL, respectivamente).

La relación cortisol/creatinina en el grupo de animales sanos (n=13) fue menor (*P*=0,05) que en animales cojos (n=10) ($1,68 \pm 0,15^{-5}$ *vs.* $2,19 \pm 0,19^{-5}$, respectivamente) ,

Las vacas sanas presentaron una mayor (*P* < 0,001) CC respecto a las vacas rengas (2,76 ± 0,07 *vs.* 2,45 ± 0,06 µg/dL , respectivamente,). El score de locomoción tendió (*P*=0,06) a afectar la CC: 2,76 ± 0,08, 2,47 ± 0,13 y 2,59 ± 0,12 µg/dL para vacas con score 1 2 y 3, respectivamente, siendo mayor (*P*=0,03) la CC de las vacas con score 1 que las con score 2 y 3.

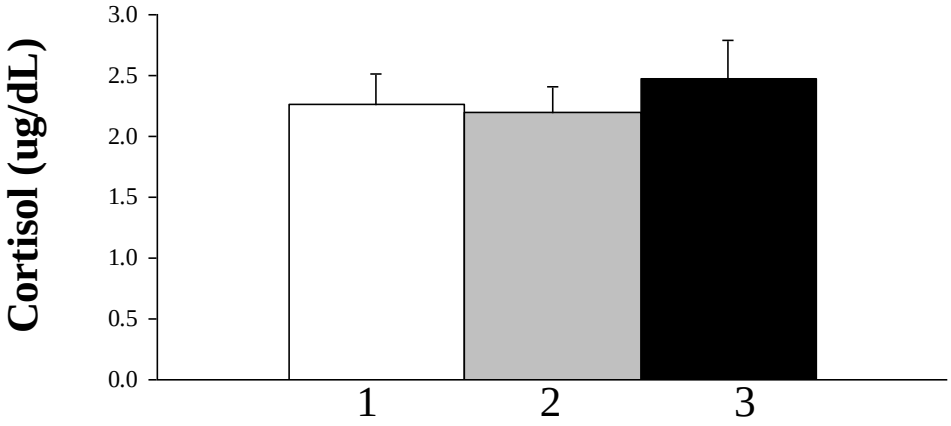

Figura 3. Concentraciones plasmáticas de cortisol (media ± ESM, ug/dl) en vacas con grado de score locomoción 1 (sanas, 2 (cojeras leves) y 3 (moderadas).

DISCUSION

El nivel de cortisol plasmático demostró ser un buen indicador de estrés para las afecciones podales cuando estas fueron clasificadas acorde a la gravedad -teniendo en cuenta el tipo de lesión y daño tisular – pero no estuvoasociado al score de locomoción. Este es el primer trabajo en condiciones pastoriles de producción de leche que clasifica el tipo de patologías y su asociación con la liberación de cortisol.

El aumento significativo del cortisol plasmático asociado al dolor podal ha sido reportado por varios autores (Hiroshi y col., 2003; Belge y col., 2004; Phillips, 2008). Sin embargo, diferencias no significativas en los niveles de cortisol entre vacas rengas y sanas son mencionadas por Ley y col. (1996), Bastias (2006) y Almeida y col. (2008). En el presente trabajo, las vacas con cojeras graves y agudas (*Exp. 1*) presentaron niveles casi tres veces más altos de cortisol plasmático que las vacas con cojeras leves y las sanas, siendo éstas no diferentes entre sí. Sin embargo, en el *Exp. 2* (vacas con casos crónicos de cojeras) no encontramos diferencias en los niveles de cortisol plasmático entre las vacas sanas y rengas, ni tampoco entre vacas con distintos scores de

locomoción. Las vacas rengas en este experimento fueron tratadas de 14 a 48 días previos a la toma de sangre donde se realizó la determinación de cortisol, siendo patologías con cierta cronicidad. Se puede sugerir que los tratamientos han sido efectivos en disminuir los niveles de dolor, estrés y liberación de cortisol producido por estas afecciones.

Se ha reportado que los niveles de cortisol basal en suero o plasma son muy afectados por el propio procedimiento de muestreo, por lo que este indicador tiene un valor diagnóstico limitado (Morrow y col., 2002). Sin embargo, la determinación de cortisol en orina (a través de la relación cortisol/creatinina para ajustar la diuresis) no está afectado por el muestreo, en animales de compañía (Herrtage, 2007), al momento de realizar este trabajo no encontramos ningún trabajo internacional que documentara su uso en bovinos. En este estudio, no existieron diferencias entre el cortisol plasmático entre vacas sanas y rengas con tratamiento previo (*Exp. 2*), pero los animales afectados sí presentaron un aumento significativo del 30 % en la relación cortisol/creatinina. Si bien el número de animales es reducido, los datos preliminares mostrarían que este indicador sería de relevancia para incorporar en estudios de bienestar animal.

Es posible que la falta de consenso internacional respecto a las concentraciones de cortisol como indicadores de estrés en patología podal, sea debido al procedimiento empleado en la extracción de la muestra de sangre para la determinación de dicha hormona, las diferencias en la cronicidad de las lesiones y el tipo de lesiones podales presentes en los experimentos.

Las afecciones asociadas con altos niveles de cortisol *(Exp. 1),* se presentaron en un cuadro agudo de rengueras y en lesiones profundas que afectaban el hueso de la tercera falange, articulación del pie, almohadilla plantar y parte del corion solear. El exceso de desgaste de la pezuña (hiperconsumo) mostró ser la patología de mayor gravedad e impacto en la liberación de cortisol. Esto coincide con la evaluación realizada por Chesterton (2006) quien menciona a esta patología como una afección grave del sistema pastoril de producción de leche. Este es el primer reporte que asocia el hiperconsumo de pezuña, lesión extremadamente dolorosa y típica del sistema pastoril con la liberación de cortisol. En trabajos (Ley y col., 1996, Almeida y col., 2008) bajo sistemas estabulados de producción, las lesiones podales (ulcera solear, flemón, hematoma de suela y dermatitis interdigital) no afectaron las concentraciones de cortisol, pero

éstas no fueron clasificadas acorde a la gravedad o daño tisular. Tipo de lesión y grado de daño tisular asociado a consideraciones del sistema productivo (confinamiento *vs.* pastoreo) deberían ser tenidos en cuenta a la hora de evaluar el potencial traumático de las diferentes patologías podales.

Los animales cojos presentaron en ambos experimentos una menor CC, esto es consistente con lo reportado a nivel internacional (Blowey, González, 1996). Se debe considerar que una vaca coja en un sistema pastoril presenta serias dificultades para acceder a su alimento, ordeñe diario y mantención de estatus jerárquico dentro del rodeo, situaciones con gran poder estresante que agravan el cuadro clínico, y la producción de estos animales. Por último, en sistemas pastoriles, la exigencia física de las caminatas diarias, los cementos abrasivos, el barro y la impaciencia del vaquero en la conducción del rodeo son algunos de los factores de riesgo que podrían impactar gravemente en el desgaste de pezuñas y producir un gran estrés. Normas de manejo y diseños de instalaciones orientados a confort y bienestar animal deben ser considerados como forma de prevenir el excesivo desgaste de pezuñas en condiciones pastoriles de producción de leche.

CONCLUSIONES

El nivel de cortisol plasmático y/o su relación con la creatinina en orina demostraron ser buenos indicadores de estrés para las afecciones podales, especialmente cuando éstas son clasificadas acorde a la gravedad teniendo en cuenta el tipo de lesión y daño tisular. La relación cortisol/creatinina en orina, parecería tener una mayor sensibilidad en detectar situaciones de estrés que los niveles plasmáticos de cortisol, por lo cual sería un indicador de relevancia a incorporar en estudios de bienestar animal.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento muy especial a todo el personal de los establecimientos lecheros y en particular al Sr. Jony Ruppel por su invalorable apoyo y disponibilidad permanente en la realización del trabajo de campo. Agradecemos además el apoyo incondicional de la Ing. Virginia Porcille, Ing. Gonzalo Carracelas y del Dr. Marcelo Luz.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almeida, P.E.; Weber, P.; Burton, J.L.; Zanella, A.J (2008) Depressed DHEA and increased sickness response behaviours in lame dairy cows with inflammatory foot lesions. Domestic Animal Endocrinology. 34: 89-99.
- Alvarado, M. (1999) Análisis de las concentraciones sanguíneas de algunas de las variables indicadoras de estrés por transporte, en bovinos. Tesis de Grado, Facultad Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Australian Dairy Industry (2009) ://www.dairyinfo.biz/
- Bastías, S. (2006) Efecto de diferentes grados de claudicaciones sobre algunos constituyentes sanguíneos indicadores de estrés en vacas lecheras Tesis de Grado, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Blowey, R.W. (1998). Cattle Lameness and Hoof care. 2a. ed. London, Ed. Farming Press Ipswich. 1:2
- Belge, F.A.; Bildik, A.; Belge, D.; Kiliçalp, N (2004). Possible association between chronic laminitis and some biochemical parameters in dairy cattle. Aust Vet J. 82: 556-557.
- Campbell, D. (2007) Healthy hooves: research in Canterbury farm. Dexcelink: 3.
- Chesterton, N. (2006) Lameness under grazing conditions. Proceedings of the XIV

International Meeting Lameness in Ruminants, Colonia, Uruguay, pp 138-141.

- Dyer, R.M.; Neerchal, N.K.; Tasch, U.; Wu, Y.; Dyer, P., Rajkondawar, P.G (2007) Objective determination of claw pain and its relationship to limb locomotion score in dairy cattle. Journal of Dairy Science 90: 4592-4602.
- Edmonson, A.J.; Lean, L.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; & Webster, G. (1989) A body condition scoring chart for Holstein Dairy cows. *Journal of Dairy Sci.* 72: 68-78
- Flor, E. (2006) Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros de la Décima Región Chile: Prevalencia, lesiones y factores de riesgo. Tesis Magíster, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.¨
- González , A. (1996) "Control de cojeras en el Ganado vacuno de leche" Aula Veterinaria Bovis 72 : 13-39.
- Herrtage, M.E. (2007) Hiperadrenocorticismo canino. En: Manual de Endocrinología en pequeños animales 3ª ed. España, Ed. Money, C.T y Peterson ME. Industrias Gráficas Ferre Olsina, pp 217-247.
- Hiroshi, E.; Yoshimi, T.; Kokichi, T.; Takashi, F.; Mikio, K (2003) Management for Claw Diseases in Free-Stall Type Dairy Farms Using Evaluation Data on Pain Stress and Metabolic Profile Test . Journal of Livestock Medicine 478: 241-248
- Ley, S.J.; Waterman, A.E.; Livingston, A (1996) Measurement of mechanical thresholds, plasma cortisol and catecholamines in control and lame cattle: a preliminary study. Res Vet Sci. 61 (2):172-3.
- Mellor, D.; Stafford, K.; Todd, S.; Lowe, T.; Gregory, N.; Bruce, R.;Ward, R. (2002) Comparison of catecholamine and cortisol responses of young lambs and calves to painful husbandry procedures. *Aust Vet J* 80: 228-233.
- Moberg, G. (1987) A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. J Anim Sci 65: 1228-1935.
- Morrow, C.J.; Kolver, E.S.; Verkerk, G.A.; Matthews, L.R (2002) Fecal Glucocorticoid Metabolites as a Measure of Adrenal Activity in Dairy Cattle. General and Comparative Endocrinology: 126:229-241

- Palme, R.C.; Robia, W.; Baumgartner, E Möstl. (2000) Transport stress in cattle as reflected by an increase in faecal cortisol metabolite concentrations. *Vet Rec* 146 :108-109.
- Phillips, C. (2008) Animal welfare: A construct of positive and negative affect? The Veterinary Journal 175: 291–292
- Ramos, J.M.; Acuña, R. (2004) "Laminitis en bovinos lecheros, descripción de un brote" XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. pp 186-187.
- Ramos, J.M. (2006) Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production. Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants, Colonia, Uruguay, pp 69-73.
- Saco, Y.; Fina, M.; Giménez, M,; Pato, R.; Piedrafita, J.; Bassols, A (2008) Evaluation of serum cortisol, metabolic parameters, acute phase proteins and faecal corticosterone as indicators of stress in cows. Vet J.177(3): 439-41.
- Sprecher, D.; D, Hostetler.; J, Kaneene. (1997) A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. Theriogenology. 47: 1179-1167.
- Tadich, N.; E, Hettich.; G, Van Schaik. (2005) Prevalencia de cojeras en vacas de 50 rebaños lecheros del sur de Chile. Arch Med Vet 37: 29-36.
- Toussaint Raven, E. (1985) Cattle footcare and claw trimming 2a. ed. Utrecht, Ed. Ipswich. Farming Press Limited, 126 p.
- Vermunt, J.J. (2006) Reflections on prevention and control of bovine lameness in Australasian pasture-based system. Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants, Colonia, Uruguay, pp10-14.

6. DISCUSIÓN GENERAL

La variación encontrada en los riesgos de incidencia anual es amplia (Artículo 1, 9.2 a 24 %) y es consistente con estudios previos en condiciones de producción de leche pastoriles (0 a 30,9%, Harris *et al* 1988; 2,2 a 38%, Tranter y Morris 1991; 4,3 a 64,4%, Gibbs 2010) o de estabulación (9,3 a 49,2% Barkema *et al.* 1994; 1,8 a 30% Kelton *et al.* 1998). Por otra parte se obtuvieron tasas de incidencia menores (0.49 a 1.3/1000 vaca-días) a las reportadas previamente (1.49, 1.41 y 1.97) por Clarkson *et al.* (1996), Warnick *et al.* (2001), Sanders *et al.* (2009) respectivamente. La información epidemiológica de cojeras en condiciones sudamericanas de producción es escasa. Se han reportado prevalencias de 9 a 32 % en condiciones productivas del sur de Chile (Tadich *et al.* 2005; Flor 2006) e incidencias del 11,1 y 13,9% en vacas y vaquillonas, respectivamente, en los primeros 90 días en leche en condiciones Argentinas de producción (Claves 2009). El origen multifactorial de las enfermedades podales puede explicar esta gran variabilidad en las incidencias de riesgos, tasas de incidencia y prevalencia, mencionadas por los estudios.

Sin embargo, es interesante considerar el diagnóstico ineficaz de vacas cojas realizado por parte de los productores. Según Whay (2002) menos del 25% de las vacas cojas son detectadas en los rodeos lecheros británicos. De forma similar Wells *et al.* (1993) mencionan que los productores detectan un 40% de las vacas detectadas como cojas por los investigadores. Las vacas diagnosticadas en los tambos son solo la punta del iceberg de la problemática podal (Wells *et al.* 1993). Los programas de medicina preventiva podal exitosos se basan en la concientización, conocimiento y entrenamiento de los productores lecheros (Mill y Ward 1994). En ese sentido debemos tener en cuenta, que en nuestras condiciones productivas, la falta de conocimiento asociada a la subestimación de la problemática y la carencia de infraestructura para el diagnóstico y tratamiento de las vacas afectadas son importantes factores de riesgo de la enfermedad (Ramos 2006). En este punto es importante tener en cuenta que el método que se utilizó para el diagnóstico de las vacas con alteración del desplazamiento (Artículo 2) fue el uso

de una escala de locomoción (Sprecher *et al.* 1997). Los animales fueron puntuados con mayor o menor dificultad en su desplazamiento según desviaciones de su columna y posición de sus miembros (Figura 1).

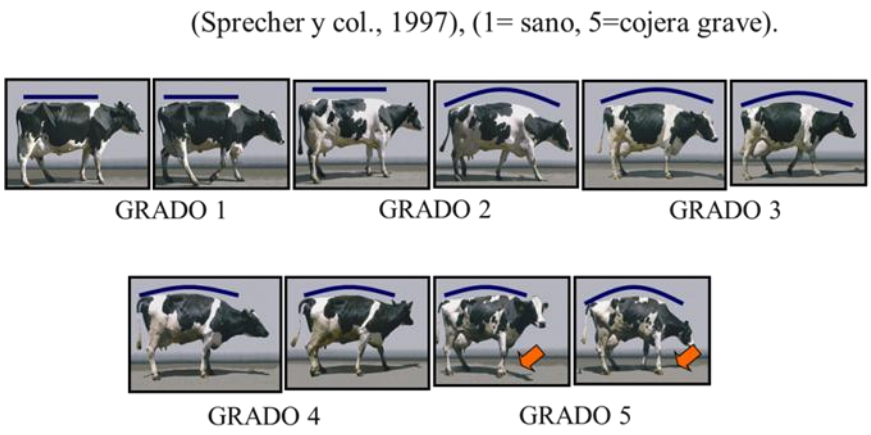

Figura 8. Ejemplo de una escala visual de locomoción para evaluar dificultades de desplazamiento en vacas lecheras.

Cabe señalar que dicha metodología es la utilizada en forma rutinaria por los productores y técnicos de todo el mundo (Manson y Weaver 1988; Tranter y Morris 1991; Sprecher *et al.* 1997; Whay 2002). Sin embargo, no todas las patologías podales alteran la locomoción de las vacas. Flower y Weary (2006) reportan que vacas con hemorragia de suela no muestran un desplazamiento diferente a las vacas sanas. Para Tadich *et al.* (2010) sólo las úlceras de suela, doble suela e inflamación purulenta de la piel interdigital mostraron un incremento en la escala de locomoción. Estos trabajos plantean que las escalas de locomoción no tendrían suficiente sensibilidad para detectar todas las enfermedades podales, aun siendo dolorosas.

Otras modificaciones del comportamiento y desempeño animal asociadas a las patologías podales podrían ser utilizadas para detectar en forma precoz los animales con dificultades para desplazarse. Las vacas cojas muestran una menor tasa de bocado en pastoreo, pastorean por

períodos más cortos con respecto a las vacas sanas, pasan más tiempo echadas, caminan menos y disminuyen su comportamiento de estro (Hasall *et al.* 1993, Walker *et al.* 2008). Por otra parte, la reducción en la producción de leche en vacas afectadas de una enfermedad podal en sistemas estabulados de producción es detectada más de cuatro meses antes que el animal muestre una alteración en su desplazamiento (Green *et al.* 2002). Los sistemas de registración automática del comportamiento animal de las vacas en pastoreo en los sistemas comerciales de producción de leche son una herramienta disponible y sumamente valiosa para el monitoreo y detección precoz de alteraciones productivo sanitarias (Blomberg 2011) (Figura 3)

Figura 9. Sensores para registración automática de pautas del comportamiento animal.

La investigación e incorporación de estas tecnologías a nuestro sistema de producción permitirá dar un salto cualitativo de gran importancia en la medicina preventiva de las enfermedades podales.

Las vacas cojas tienen su umbral de dolor más bajo que las sanas, lo que significa que perciben estímulos inocuos como si fueran dolorosos. En úlceras de suela y enfermedad de línea blanca la hipersensibilidad se mantiene hasta por los menos 28 días de iniciado el proceso y luego del tratamiento (Whay *et al.* 1998). A la luz de este trabajo, podemos concluir, que la metodología utilizada para determinar un nuevo evento clínico de cojera (Artículo 1), más de 28 días entre eventos (Clarkson *et al.* 1996), puede haber tenido un sesgo de sobre-diagnóstico de los eventos clínicos.

Por otra parte, esa mayor hipersensibilidad al dolor no se reflejó en estrés determinado por aumento del cortisol en sangre en las vacas rengas 14 a 48 días luego de tratadas (cojeras crónicas; Artículo 2). Sin embargo estos animales mostraron un aumento significativo del 30% en la relación cortisol/creatinina en orina. Mientras que los niveles de cortisol basal en suero o plasma son muy afectados por el propio procedimiento de muestreo (Morrow *et al.* 2002), la determinación de cortisol en orina (a través de la relación cortisol/creatinina para ajustar la diuresis) no está afectado por el muestreo (Herrtage 2007). Al momento de realizar este trabajo no encontramos ningún trabajo internacional que documentara su uso en bovinos. Si bien el número de animales es reducido, los datos preliminares mostrarían que este indicador sería de relevancia para incorporar en estudios de bienestar animal. Carecemos de información de la escala de locomoción de estas vacas al inicio del tratamiento, es posible que estos animales hayan estado afectados por cojeras leves y que su situación clínica se haya resuelto rápidamente. Whay *et al.* (1998) reportó que la recuperación en la locomoción luego del tratamiento depende del tipo de lesión podal; mientras que el flemón interdigital no se asocia a hipersensibilidad a los 28 días pos-tratamiento, lesiones como ulceras de suela y línea blanca sí mantienen la dificultad para el desplazamiento en el mismo periodo.

El impacto de las enfermedades podales en el bienestar de las vacas lecheras, ha sido ampliamente mencionado por varios autores y es una de las preocupaciones más importantes del Farm Animal Council de los últimos años (FAWC 1997, FAWC 2009). El nivel de cortisol

plasmático demostró ser un buen indicador de estrés para las afecciones podales cuando estas son clasificadas acorde a la gravedad, teniendo en cuenta el tipo de lesión y daño tisular, pero no estaría asociado a la escala de locomoción. Las vacas con cojeras graves y agudas presentaron niveles casi tres veces más altos de cortisol plasmático que las vacas con cojeras leves y las sanas, siendo estas no diferentes entre sí (Artículo 2). Las afecciones asociadas con altos niveles de cortisol se presentaron en un cuadro agudo de rengueras y en lesiones profundas que afectaban el hueso de la tercera falange, articulación del pie, almohadilla plantar y parte del corion solear. La clasificación de cuadro agudo de rengueras, se realizó teniendo en cuenta la rapidez de respuesta frente a la consulta del productor (1 día), sin embargo, algunas de las lesiones (artritis, osteítis) generalmente se asocian a cuadros crónicos con mayores tiempos de evolución. Sin embargo, debemos considerar que el factor traumático, en nuestras condiciones de producción, especialmente la composición edafológica del terreno (granito), desconocimiento e impaciencia del vaquero y una frecuente presencia de barro, tienen una capacidad muy importante de producir lesiones de extrema gravedad en muy corto tiempo.

El aumento significativo del cortisol plasmático asociado al dolor podal ha sido reportado por varios autores (Hiroshi *et al.* 2003; Belge *et al.* 2004; Phillips 2008). Sin embargo, diferencias no significativas en los niveles de cortisol entre vacas rengas y sanas son mencionadas por Ley *et al.* (1996), Bastias (2006) y Almeida *et al.* (2008). En trabajos (Ley *et al.* 1996; Almeida *et al.* 2008) bajo sistemas estabulados de producción, las lesiones podales (úlcera solear, flemón, hematoma de suela y dermatitis interdigital) no afectaron las concentraciones de cortisol, pero éstas no fueron clasificadas acorde a la gravedad o daño tisular. Por otra parte, dos de estas lesiones (hematoma de suela y dermatitis interdigital) no tienen una gran capacidad para producir dolor en sus etapas iniciales, pudiendo pasar incluso desapercibidas y ser un hallazgo casual de la rutina de recorte funcional de pezuñas del tambo (Gonzales Sagües 1996). Es posible que la falta de consenso internacional respecto a las concentraciones de cortisol como indicadores de estrés en patología podal sea debido al procedimiento empleado en la extracción de la muestra de sangre para la determinación de dicha hormona, las diferencias en la cronicidad de las lesiones y

el tipo de lesiones podales presentes en los experimentos. Además, el tipo de lesión y grado de daño tisular asociado a consideraciones del sistema productivo (confinamiento vs. pastoreo) deberían ser tenidos en cuenta a la hora de evaluar el potencial de disconfort de las diferentes patologías podales.

En esta tesis (Artículo 1) se determinó que las vaquillonas tienen casi dos veces más posibilidades de padecer cojeras que las vacas adultas (OR =1.7), en acuerdo con Dewes (1978). Además, Chesterton *et al.* (2008) reportan en tambos de la isla norte de Nueva Zelanda, una mayor frecuencia de vaquillonas cojas respecto a las vacas pero solamente para lesiones de suela y traumatismo de miembro. Un incremento del riesgo para dermatitis digital en vaquillonas, el cual disminuye en vacas multíparas, es mencionado por Rodriguez-Lainz *et al.* (1999) en condiciones chilenas de producción de leche. La integración social de las vaquillonas a la alta producción de leche es crítica para su salud podal. Estos animales deben aprender a caminar, conocer el cemento, establecer su jerarquía social y adaptación ruminal a la nutrición, lo que hace a esta categoría animal muy susceptible a padecer cojeras (Blowey 2005).

El efecto de la pérdida de peso vivo asociado a la patología podal ha sido demostrado recientemente en condiciones americanas y neocelandesas de producción de leche (Bicalho *et al.* 2009; Alawneh *et al.* 2011). Este factor de riesgo es extremadamente novedoso y plantea una nueva visión sobre la enfermedad podal. El desbalance metabólico del periparto entre ingesta de materia seca y requerimientos nutricionales moviliza incluso tejido adiposo de amortiguación del pie, lo que predispone a lesiones como úlceras de suela y enfermedad de línea blanca. Esta nueva patogenia, pone en cuestionamiento la histórica clasificación de estas patologías como secundarias a cuadros de acidosis ruminal y laminitis. Por otra parte, la perdida de condición corporal se considera de extrema importancia en nuestras condiciones productivas, en donde las vaquillonas sufren importantes pérdidas de condición corporal posparto (Meikle *et al.* 2004; Adrien *et al.* 2011) siendo esto consistente con los mayores odds ratio hallados en esta categoría.

Los animales cojos presentaron (Artículo 2) una menor condición corporal respecto a los sanos, esto es consistente con lo reportado a nivel internacional (González 1996; Blowey 1998). Una vaca coja en un sistema pastoril presenta serias dificultades para acceder a su alimento, muestran una menor tasa de bocado, pastorean menos que las vacas sanas y pasan más tiempo echadas, lo que las predispone fuertemente a la perdida de condición corporal (Hasall *et al.* 1993; Walker *et al.* 2008). A partir de esto, podemos decir que la enfermedad podal da origen a un nuevo factor de riesgo, la pérdida de condición corporal, que agrava aún más la salud del pie. Un círculo vicioso entre la enfermedad primaria, la perdida de amortiguación del aparto suspensorio del pie asociada la disminución de la condición corporal y mayor grado de enfermedad se podría establecer agravando el pronostico de las patologías.

Un reciente estudio reporta que el pico de lesiones podales en la vacas lecheras de Nueva Zelanda ocurre a 110 días posparto (Margerison *et al.* 2011). Por su parte, DIaz *et al.* (2011) en el mismo sistema productivo reportan que vacas en sus primeros 110 días de lactancia tienen 1,68 más chances de padecer cojeras que vacas entre los 111 y 210 días de lactancia. Esto es consistente con lo encontrado en nuestro trabajo (Artículo 1). Sin embargo otros estudios en estabulación no reportan asociación entre cojera y etapa de lactancia (Warnick *et al.* 1995; Warnick *et al.* 2001) o una asociación con etapas tempranas de lactancia en condiciones semi-estabuladas de producción de leche (Reino Unido: Eddy y Scott 1980).

Son numerosos los estudios que han mostrado el efecto del año y la estación lluviosa sobre la ocurrencia de cojeras. La mayor incidencia de problemas podales ocurre en épocas lluviosas y grandes brotes de cojeras aparecen luego de grandes lluvias (Inglaterra: Eddy y Scott 1980; Australia: Jubb y Malmo 1991; Nueva Zelanda: Tranter y Morris 1991). Esto en consistente con la correlación positiva entre el índice de abnegación del suelo y eventos clínicos de cojeras encontrados en esta tesis (Artículo 1). Sin embargo, un hallazgo interesante de esta tesis es que el riesgo de incidencia de rengueras del verano no se diferencia de las estaciones del otoño e invierno. Cambios del comportamiento animal asociados al estrés de calor (Stone 2004; Cook

2007), actúan como importantes factores de riesgo de la enfermedad podal y pueden estar explicando un alto riesgo de incidencia de cojeras en el verano. Este concepto puede ser considerado novedoso en nuestro sistema de producción, en donde en general a la enfermedad podal se la asocia únicamente a las lluvias, y pone de manifiesto la importancia de trabajar en pautas de manejo que disminuyan el estrés de calor de nuestras vacas.

Coincidiendo con los trabajos internacionales (Vermunt y Smart 1994; Shearer y Van Amstel 2002), la mayor parte de los eventos clínicos de cojeras afectaron los miembros posteriores (Artículo 1). Sin embargo, la falta de infraestructura para realizar el trabajo podal que presentan los trabajadores de nuestros tambos dificulta la revisación clínica de las manos de las vacas afectadas. Por lo tanto, es importante considerar que existe un importante riesgo de sub-diagnóstico de lesiones podales que afecten las manos de las vacas en nuestras condiciones de producción.

Un resultado interesante de este trabajo (Artículo 1), es la alta recurrencia de eventos clínicos en la misma lactación (41%). Lo que puede estar asociado con un diagnóstico tardío y/o un inadecuado tratamiento y pone de manifiesto la necesidad de trabajar en programas de medicina preventiva. En sistemas estabulados, Gonzales Sagües (1996), menciona que animales que sufren cuadros de laminitis en su primer parto repiten episodios de cojeras y por su parte Hirst *et al.* (2000) señala que las vacas cojas tienen un alto riesgo de padecer cojeras en la siguiente lactancia. En nuestras condiciones productivas, el impacto traumático de las pezuñas vinculado a las caminatas y condiciones de manejo probablemente no favorezca a la recuperación y/o predispongan a una mayor recidiva de las lesiones. En este sentido, es interesante tener en cuenta que el hiperconsumo de pezuña fue la patología dolorosa más frecuente asociada a un significativo aumento del cortisol (Artículo 2). Su diagnóstico estuvo asociado a una disminución del espesor de suela y de la resistencia a la presión manual. Chesterton (2006) menciona a esta patología como muy grave y típica del sistema pastoril neozelandés de producción de leche. Las pezuñas afectadas por esta problemática, tienen muy disminuida su

resistencia mecánica y las fracturas del estuche corneo secundarias a esa menor resistencia tal vez puedan ser una razón de la alta tasa de recurrencia de los eventos clínicos encontrados.

La ocurrencia de cojeras fue asociada a una disminución de la producción de leche del 5.4% de la lactancia (320 kg). Esto es consistente con una serie de trabajos que mencionan rangos de impacto productivo de entre 270 a 562 kg de leche (Rowlands y Lucey 1986; Warnick *et al.* 1995, 2001, Rajala-Schultz *et al.* 1999; Claves 2009). Es posible que la no consideración de las vacas de descarte del tambo, haya producido un sesgo hacia un menor impacto de estas patologías en la producción de leche.

7. CONCLUSIONES

La categoría con mayor chance de padecer cojeras son las vacas de primer parto.

La recurrencia de eventos clínicos es alta.

Los eventos clínicos de cojeras están asociados al índice de agua en el suelo y a la etapa de la lactancia.

Las vacas con cojeras agudas dolorosas se asocian con concentraciones de cortisol en plasma más altos que las leves que no se diferencian de vacas sanas. Las cojeras crónicas no presentaron concentraciones de cortisol plasmático más altas que las vacas sanas, pero si una relación cortisol:creatinina en orina más alta.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, R. 2002. Toe ulcer: the most important disease in first-calving holstein cows under grazing conditions. Proc.Int XII Symp on Lameness in Ruminants, Orlando: 276-279.

- Alawneh, J.I.; Stevenson, M.A.; Williamson, N.B.; Lopez-Villalobos, N.; Otley, T. 2011. The effects of liveweight loss and high milk production on the risk of lameness in a seasonally calving pasture fed dairy herd. Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness. B 5.1: 47.

- Armstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. J. Dairy Sci. 77:2044-2050.

- Australian dairy industry. 2009 ://www.dairyinfo.biz/

- Ballantine, H.T.; Socha, M.T.; Tomlinson, D.J.; Johnson, A.B.; Fielding, A.S.; Shearer, J. K.; van Amstel, S.R. 2002. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction and lactation performance. Prof. Anim. Sci. 18:211–218.

- Barielle, N.; Faverdin, P.; Beaudeau, F. 2000. Effects of health disorders on feed intake and milk yield of dairy cows. In Proceedings of the 9th Symposium of the International Society of Veterinary Epidemiology and Economics, Breckenridge, CO.

- Barkema, H.W.; Westrik, J.D.; Van Keulen, K.A.S.; Schukken YH, Brand A. The effects of lameness on reproductive performance, milk production and culling in Dutch dairy farms. Preventive Veterinary Medicine 20, 249–259,1994

- Bicalho, R.C.; Machado, V.S.; Caixeta, L.S. 2009. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease o a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion. J. Dairy Sci. 92:3175–3184.

- Blowey, R.W. 2005. Factors associated with lameness in dairy cattle. Farm Animal Practice 27: 159-160.
- Bonifacino, J. 2008. Exportaciones de Lácteos de Uruguay. Informe mensual: Precios-Índices mayo, año XII, nº 113, 26 pp. www. Exportaciones.uy.com.
- Brazle, F.K. 1993. The effect of zinc methionine in a mineral mixture on gain and incidences of footrot on steers grazing native grass pastures. J. Anim. Sci. 71(Suppl. 1):40. (Abstr.).
- Burke, C.R.; Roche, R. 2007. Effects of pasture feeding during the periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows. Journal of Dairy Science 90: 4304–4312.
- Campbell, D. 2007. Healthy hooves: research in Canterbury farm. Dexcelink: 3.
- Chesterton, N., Lawrence, K.E., Laven, R.A. 2008. A descriptive analysis of the foot lesions identified during veterinary treatment for lameness on dairy farms in North Taranaki. New Zealand Veterinary Journal 56 (3):130-138.
- Chesterton, N. 2006. Lameness under grazing conditions. Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants: 138-141.
- Chesterton, R.N. 2004. Linking Farm Physical Conditions Herd Management and Cow Behavior to the Distribution of Foot Lesions Causing Lameness in Pasture-Fed Dairy Cattle in New Zealand. Proceedings of the 13 International Symposium on Lameness in Ruminants, Maribor (Slovenija): 200-202.
- Chesterton, N. 2004. Linking cow behavior to the distribution of foot lesions causing lameness in pasture fed cattle in New Zealand. Proceedings of the 13th International Symposium on the Ruminant Digit. 200.
- Chesterton, R.N. 1998. Understanding and dealing with the lame dairy herd. Proceeding of the Seminar of the Dairy Cattle Society of the New Zealand Veterinary Association. 115-125.

- Chesterton, R.N.; Pfeiffer, D.U.; Morris, R.S.; Tanner, C.M. 1989. Environmental and behavioural factors affecting the prevalence of foot lameness in New Zealand dairy herds - a case control study. New Zealand Veterinary Journal, 37:135 – 142.

- Chilibroste, P.; Mattiauda, D.; Bruni, M.A. 2001. Efecto de la duración de la sesión de pastoreo y la inclusión de una fuente de fibra larga, sobre la producción y composición de la leche de vacas holstein pastoreando avena (avena sativa). Revista Argentina de Producción Animal, 21 (1): 73-75.

- Chilibroste, P.; Soca, P.; Mattiauda, D. 1999. Effect of the moment and length of the grazing session on: 1. Milk production and pasture dynamic depletion. In. Proceedings of International Symposium Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology. Curitiba. Brasil. Eds. Moraes, A., Nabinger, C., Carvalho, P.C., Alvez, S.J. and Lustosa, S.B. 292-295.

- Clarkson, D.A.; Ward, W.R. 1991. Farm tracks, stockman`s herding and lameness in dairy cattle. Veterinary Record, 129: 511 – 514.

- Clarkson, M.J.; Downham, D.Y.; Faull, W.B., Hughes, J.W.; Manson, F.J.; Merritt, J.B.; Murray, R.D.; Russell, W.B.; Sutherst, J.E.; Ward, W.R. 1996. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. Veterinary Record 138: 563-567.

- Claves. 2009. Organización y análisis de un sistema de registros de enfermedades del periparto en vacas Lecheras: Su incidencia e impacto económico sobre las empresas. http://www.infortambo.com.ar/admin/upload/arch/Claves

- Cobo-Abreu, R.S., Martin, W., Willoughby, R.A., Stone, J.B. 1979. The association between disease, production and culling in a university dairy herd. Canadian Veterinary Journal 20: 191–195.

- Collier, R.J.; Eley, R.M.; Sharma, A.K.; Pereira, R.M.; Buffington, D.E. 1981. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows. J. Dairy Sci. 64:844–849.

- Collier, R. J.; Beede, D. K.; Thatcher, W. W.; Israel, L. A.; Wilcox, C. J. 1982. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. J. Dairy Sci. 65:2213–2227.

- Cook, N.B., Mentink, R.L., Bennett, T.B., Burgi, K. 2007. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. Journal Dairy Science 90:1674–1682.

- Cook, N.B.; Nordlund, K.V.; Oetzel, G.R. 2004. Environmental influences on claw horn lesions associated with laminitis and sub-acute ruminal acidosis (SARA) in dairy cows. J. Dairy Sci. 87;(E. Suppl.):E36-E46.

- Cook, N.B. 2004. Lameness treatment rates in Wisconsin dairy herds. 50-51 in Proc. 13th International Ruminant Lameness Symposium, Maribor, Slovenia.

- Coulon, J.B.; Lescourret; F., Fonty, A. 1996. Effect of foot lesions on milk production by dairy cows. J. Dairy Sci. 79:44–49.

- Crookshank, H.R.; Elissalde, M.H.; White, R.G.; Clanton, D.C.; Smalley, H.E. 1979. Effect of transportation and handling calves upon blood serum composition J. Anim. Sci., 48: 430-435.

- De Veth, M.J.; Kolver, E.S. 2001. Relationships between ruminal pH and dairy cows and dietary parameters from pasture-based experiments. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 61:241-244.

- Dewes, H.F. 1978. Some aspects of lameness in dairy herds. New Zealand Veterinary Journal 26, 147-8 y 157-9.

- Diaz Lira, C.; Lopez-Villalobos, N.; Margerison, J. 2011. Survey of individual cow records to identify factors associated with lameness in three farms in New Zealand. Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness. B 5.4, Pp 50.

- Diaz Lira C.; Lopez-Villalobos, N.; Margerison, J. 2011. Incidence and factors affecting lameness in NZ dairy cattle. Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness. B 5.3, Pp 49.

- Dohoo, I.R.; Martin, S.W. 1984. Disease, production and culling in Holstein-Fresian cows. IV. Effects of disease on production. *Preventive. Veterinary Medicine* 2,755–770.

- Dohoo, I.R.; Martin, S.W.; Stryhn, H. 2003. Measures of Disease Frequency. In: Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc., Charlottetown, Prince Edward Island, Canada 65–84.

- Drackley JK. 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? J Dairy Sci 82: 2259-2273.

- Eckersall, P.D; Young, F.J.; McComb, C.; Hogarth, C.J.; Safi, S.; Weber, A.; McDonald, T.; Nolan, A.M.; Fitzpatrick, J.L. 2001. Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis Vet Rec. 148(2):35-41.

- Eddy, R.G.; Scott, C.P. 1980. Some observations on the incidence of lameness in dairy cattle in Somerset. Vet Rec. 106:140-145.

- Erdman, R.A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. J. Dairy Sci.71: 3246-3266.

- FAO. Ecuación de FAO Penman-Monteith. 2006. www.fao.org/

- Farm Animal Welfare Council. 1997. http://www.fawc.org.uk/reports/dairycow/

- Flor, E. 2006. Claudicaciones en vacas de rebaños lecheros de la Décima Región Chile: Prevalencia, lesiones y factores de riesgo. Tesis Magíster, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

- Fraser, R.D.B.; MacRae, T.P. 1980. Molecular structure and mechanical properties of keratins. Pages 211–246 in The Mechanical Properties of Biological Materials. J. F. Vincent and D. Currey, eds Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Frazer, D. 2008. Understanding Animal Welfare; The Science in its Cultural Context. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

- Galindo, F.; Broom, D. 2002. Effects of lameness of dairy cows. J Appl Anim Welf Sci 5, 193-201.

- Garcia, D.; Hahn, M.; Pino, D.; Soto, E.; Hernandez, H. 2011. 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness – A Global Perspective, Rotorua, New Zealand: Blood cortisol levels in acute lame cows, B 9.1 60.

- Gibbs, S.J. 2010. Dairy lameness in the South Island. Proceedings of the 4th Australasian Dairy Science Symposium. Pp ,424-427.

- Gonzalez Sagües, A. 2002. The biomechanics of weight bearing and its significance with lameness. Proc.Int XII Symp on Lameness in Ruminants, Orlando, 117-121

- Gonzalez Sagües, A. 1996. Control de cojeras en el Ganado vacuno de leche. Aula Veterinaria Bovis 72:13-39.

- Green, L.E.; Hedges, V.J.; Schukken, Y.H.; Blowey, R.W.; Packington, A.J. 2002. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. JlDairy Sci 85: 2250–2256.

- Greenough, P.; Acuña, R. 2002. Bases epizootiológicas de las claudicaciones en rodeos lecheros. X Congreso Latinoamericano de Buiatría. Pp 54-66.

- Greenough, P.R. 2009. Animal welfare in dairy farming: lameness and the organic movement. Vet J. 180(1):95-105.
- Grummer, R.R. 1993. Etiology of lipid-related Metabolic Disorders in Periparturient Dairy Cows. J Dairy Sci, 76: 3882-3896.
- Grummer, R.R.; Mashek, D.G.; Hayirli, A 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. Veterinary Clinics of North American. Food Animal Practice 20: 447–470.
- Gunter, S.A.; Kegley, E.B.; Duff, G.C.; Vermeire, D. 1999. The performance by steers fed different zinc sources before and during receiving at a New Mexico feedlot. J.Anim.Sci 77(Suppl.1),19(Abstract).
- Hahn G.L. 1995. Environmental management for improved livestock performance, health and well-being. Japanese Journal Livestock Management; 30(3):113-127.
- 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.
- Harris, D.J.; Hibburt, C.D.; Anderson, G.A.; Younis, P.J .1988. The incidence, cost and factors associated with foot lameness in dairy cattle in south-western Victoria. Aust Vet J; 65(6):171-176.
- Healthy Hoof Programme 2009 http://www.dairynz.co.nz/.
- Hirst, W.M.; French, M.P.; Murray, R.D.; Ward, W.R. 2000. The importance of first lactation lameness as a risk factor for subsequent lameness. Proceedings of the 11th International Symposium on Disorders of the Ruminant Digit. Pp 149-151.
- Hirst, W.M.; Le Fevre, A. M.; Logue, D.N.; Offer, J.E.; Chaplin, S.J.; Murray, R.D.; Ward, W.R.; French, N.P. 2002 The Veterinary Journal, 164: 7-19.

- Holmes, C.W.; García-Muniz, J.; Laborde, D.; Chesterfied, M.; Purchas, J. 1999. Dairy Farming Annual 75: 79-82.
- Holzhauer, M., Brummelman, B., Frankena, K., Lam, T.J. 2011. A longitudinal study into the effect of pasturing young stock on claw health. Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness. B 5.4, Pp, 51.
- Huxley, J.N.; Whay, H.R. 2006. Current attitudes of cattle practitioners to pain and the use of analgesics in cattle. Vet Rec 159: 662-668.
- Igono, M.O.; Bjotvedt, G.; Sandford-Crane, H.T. 1992. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. Int. J. Biometerol. 36:77-87.
- Ingvartsen K.L.; Andersen J.B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. J Dairy Sci 83:1573–1597.
- Johnson, H.D. 1987. Bioclimates and livestock. Bioclimatology and Adaptation of Livestock. World Animal Science. (H. D. Johnson, ed.) Elsevier Science Publ. Co., New York.
- Jubb, T.F.; Malmo, J. 1991. Lesions causing lameness requiring veterinary treatment in pasture-fed dairy cows in East Gippsland. Australian Veterinary Journal 68: 21-22.
- Kelton, D.F.; Lissemore, K.D.; Martin, R.E. 1998. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. J Dairy Sci 81:2502–2509.
- Kleen, J.L.; Hooijer, G.A.; Rehage, J.; Noordhuizen, J.P.T.M .2003. Subacute Ruminal Acidosis (SARA): a Review. J Vet.Med. A 50: 406-414.
- Kolver, E.S. 1998. Digestion of pasture by dairy cows. In: Proceedings of the 15th annual seminar of the Society of Dairy Cattle Veterinarians of the New Zealand Veterinary Association, 175-188.

- Kolver, E.S. 2000. Nutrition guidelines for the high producing dairy cows. In: Proceedings of the Ruakura Dairy Farmers Conference, 17-28.
- Kossaibati, M.A.; Esslemont, R.J. 1997. The costs of production diseases in dairy herds in England. Vet J 154; 41–51.
- Kropp, J.R.1993. The role of copper in beef cattle fertility. In: Ashmead,H.D.(Ed), The Roles of Amino Acid Chelates in Animal Nutrition. Noyes Publication, Park Ridge, NJ,pp 154-169.
- Laborde, D. 2004. Las estrategias de mejoramiento genético del Ganado lechero en Uruguay: Coincidencias y Contradicciones." XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Pag 79-88
- Laven, R.A.; Lawrence, K.R. 2006. An evaluation of the seasonality of veterinary treatments for lameness in UK dairy cattle. J Dairy Sci 89: 3858–3865.
- Leach, K.A.; Logue, D.N.; Kempson, S.A.; Offer, J.A.; Ternet HE; Randall JM. 1998. Claw lesions in dairy cattle: development of sole and white line hemorrhages during the first lactation. Vet J 154:215-225..
- Ley, S.J.; Waterman, A.E.; Livingston A. 1995. A field study of the effect of lameness on mechanical nociceptive thresholds in sheep. Vet Rec 137:85-87.
- Ley, S.J.; Waterman, A.E.; Livingston, A. 1996. Measurement of mechanical thresholds, plasma cortisol and catecholamines in control and lame cattle: a preliminary study. Res Vet Sci 61: 172-173.
- Lischer, C.J.; Dietrich-Hunkeler A.; Geyer, H.; Schulze J; Ossent P. 2001. Healing process of uncomplicated sole ulcers in dairy cows kept in tie stalls: Clinical description and blood chemical investigations. Schweiz. Arch. Tierheilkd 143, 125-133.
- Logue, D.N.; Offer J.E.; McGovern, R.D. 2004. The bovine digital cushion–how crucial is it to contusions on the bearing surface of the claw of the cow? Vet. J. 167:220–221.

- Maclean, C. W. 1965. Observations on acute laminitis of cattle in South Hampshire. Vet. Rec. 77:662.

- Main, D.C.J.; Whay, H.R.; Green , L.E.; Webster, A.J.F. 2003 Assessment of the welfare of dairy cattle using animal-based measurements: direct observations and investigation of farm records. Vet Rec153(7):197-202.

- Main D.C.J.; Whay R.H. 2004. Moving from animal welfare assessment into improvement. In: Anim. Welf. 13, S248.

- Malmo, J.; Vermunt, J.J. 1998. Lameness in Dairy Cattle a review for GippsDairy. Maffra Veterinary Centre 10 Johnson Street. MAFFRA.

- Mallone´e, P.G.; Beede D.K.; Collier, R.J.; Wilcox, C.J.1985. Production and physiological responses of dairy cows to varying dietary potassium during heat stress. J. Dairy Sci. 68:1479–1487.

- Manspeaker, J.E.; Robl, M.G.1993. The use of amino acid chelates in bovine fertility and embryonic viability. In: Ashmead, H.D. (Ed),The roles of amino acid chelates in animal nutrition. Noyes Publication, Park Ridge, NJ pp 140-153.

- Margerison, J.; Lethbridge, L. 2011. A meta-analysis of claw horn disease and claw horn anatomy in UK and New Zealand first lactation dairy cattle. Proceeding of a 16th Symposium and 8th Conference Lameness in Ruminants Lameness. B5.6, Pp, 52.

- Mattiauda, D.A.; Tamminga, S.; Elizondo, F.; Bentancur, O.; Chilibroste, P. 2003. Moment location of a restricted grazing session on rumen fermentation of lactating dairy cows. In: IX World Conference on Animal Production and XVIII Reuniao Lationamerican de Producao Animal. Octubre, 26-31. Porto Alegre. Río Grande del Sur, Brazil. Pp. 31.

- 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.

- Mench, J.A. 2000. The biology of Animal Stress. Basic Principles and Implications for Animal Welfare. Edit. by G.P. Moberg and J.A. Mench. Editorial CABI. CAB International, Oxon, England.

- Meyer, R.M.; Bartley, E.E.; Morrill, J.L; Stewart, W.E. 1964: Salivation in cattle. I. Feed and animal factors affecting salivation and its relation to bloat. J Dairy Sci 47: 1339-1345.

- Mill, J.M.; Ward, W.R. 1994. Lameness in dairy cows and farmers' knowledge, training and awareness. Vet Rec 134:162-164.

- Mishra, M.; Martz F. A.; Stanley, R. W.; Johnson, H. D.; Campbell, J. R.; Hilderbrand, E. 1970. Effect of diet and ambient temperature humidity on ruminal pH, oxidation reduction potential, ammonia and lactic acid in lactating cows. J. Anim. Sci. 30:1023–1028.

- Mitchell, G., J.; Hattingh, M.; Ganhao, M.1988. Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter Vet. Rec., 123:201-205.

- Moller, S. 1996. An evaluation of major nutrients in dairy pasture in New Zealand and their effects on milk production and herd reproductive performance. PhD thesis, Massey University, Palmerston North.

- Moore, C.L.; Walker, P.M.; Winter, J.R.; Jones, M.A.; Webb, J.M. 1989. Zinc methionine supplementation for dairy cows.Trans. Illinois Acad. Sci. 82:99–108.

- Mülling, C.; Bragulla, H.; Reese S.; Budras, K. D.; Steinberg, W. 1999. How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. Anat. Hist. Embryol. 28:103–108.

- Nielsen, B.H.; Jacobsen, S.; Andersen, P.H.; Niewold, T.A.; Heegaard, P.M. 2004. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. Vet Rec. 20;154(12):361-365.

- Nielsen, B.L.; Veerkamp, R.F.; Lawrence, A.B. 2000. Effects of genotype, feed type and lactational stage on the time budget of dairy cows. Acta Agriculturae Scand A 50, 272–278.

- Niles, M.A.; Collier, R.J.; Croom, W.J. 1980. Effects of heat stress on rumen and plasma metabolite and plasma hormone concentrations of Holstein cows. J. Anim. Sci. 50(Suppl. 1):152. (Abstr.)

- Nilsson, S.A. 1963. Clinical morphological and experimental studies of laminitis in cattle. Acta Vet. Scand. 4(Suppl. 1):1.

- Nocek, J.E. 2000. Digital characteristics in commercial dairy herds fed metal-specific amino acid complexes.J Dairy Sci 83 (7):1553-1572.

- Nocek, J.E. 1997. Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. J Dairy Sci 80:1005-1028.

- Nordlund, K. 2003. Factors that Contribute to Subacute Ruminal Acidosis. American Association of Bovine Practitioners 36 Annual Conference, September 15-17, 2003-Columbus, OH.

- O'Dell, B.L. 1990. Copper. Pages 261–267 in Present Knowledge in Nutrition. 6th ed. M. L. Brown, ed. ILSI Press, Washington, DC.

- Oetzel, G.R. 2003. Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Cattle. Advances in Dairy Technology, 15: 307-313.

- Oetzel, G.R. 2003. Introduction to Ruminal Acidosis in Dairy Cattle. American Association of Bovine Practitioners 36 Annual Conference, September 15-17, 2003-Columbus, OH

- Orr, R.J.; Rutter, S.M.; Penning, P.D.; Yarrow, N.H.; Champion, R.A. 1997. Sward state and ingestiva behaviour by Friesian dairy heifers under rotational grazing. Proceedings of the 5 Research Meeting, British Grassland Society, Seale Hayne pp 51-52. British Grassland Society, Reading.

- Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J.; Gill, D.R. 1997. Acidosis in Cattle: A Review. J. Anim. Sci. 76:275-286.

- Pedron, O.; Cheli, F.; Senatore, E.; Baroli D; Rizzi, R. 1993. Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. J Dairy Sci 76: 2528–2535.

- Pinsent, P.J.N. 1981. The management and husbandry aspects of foot lameness in cattle. The Bovine Practitioner Volume 16:61-64.

- Plaizier, J.C.; Krause, D.O.; Gozho, G.N.; McBride, B.W. 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. Vet J 176(1):21-31.

- Puls, R. 1984. Mineral Levels in Animal Health. Diagnostic Data. 2nd ed. Sherpa International, Clearbrook, BC, Canada.

- Räber, M.; Lischer C.; Geyer, H.; Ossent, P. 2004. The bovine digital cushion–A descriptive anatomical study. Vet. J. 167:258– 264.

- Räber, M.; Scheeder, M.R.; Ossent, P.; Lischer, C.; Geyer, H. 2006. The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location–A preliminary report. Vet. J. 172:173–177.

- Rajala-Schultz, P.J.; Gröhn, Y.T; McCulloch, CE. 1999. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. J Dairy Sci. 82:288–294.

- Ramos, J.M. 2007. El riesgo de la rutina. Infortambo Pp 94-96.

- 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 & 6a Conferencia Cojeras en Rumiantes: 78-79.

- Ramos, J.M. 2006. Risk factors of lameness in dairy cattle and its interaction with the grazing ecosystem of milk production. Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants: 69-73.

- Ramos, J.M.; Acuña, R. 2004. Laminitis en bovinos lecheros, descripción de un brote. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Pag 186-187

- Reppeto, J.L.; Cajarville, C. 2004. Fisiopatologia ruminal y sus consecuencias podales. 2º Encuentro de podólogos de rumiantes del MERCOSUR, Noviembre Colonia Uruguay.

- Rodriguez-Lainz, A.; Melendez-Retamal, P., Hird, D.W.; Read, D.H.; Walker, R.L. 1999. Farm and host-level risk factors for papillomatous digitaldermatitis in Chilean dairy cattle. Preventive Veterinary Medicine 42: 87-97.

- Rowlands, G.J.; Lucey, S. 1986. Changes in milk yield in dairy cows associated with metabolic and reproductive disease and lameness. Preventive Veterinary Medicine 4, 205–222.

- Saco, Y.; Fina, M.; Giménez, M.; Pato, R.; Piedrafita, J.; Bassols, A. 2008. Evaluation of serum cortisol, metabolic parameters, acute phase proteins and faecal corticosterone as indicators of stress in cows. Vet J. Sep;177(3):439-41.

- Sanders, A.H.; Shearer, J.K.; De Vries, A. 2009. Seasonal incidence of lameness and risk factors associated with thin soles, white line disease, ulcers and sole punctures in dairy cattle. J Dairy Sci 92:3165-3174.

- Saravia, C.; Astigarraga, L.; Van Lier, E.; Bentancur, O. 2011. Impacto de las olas de calor en vacas lecheras en Salto (Uruguay) Agrociencia 15 n.1:6-12.

- Sauter-Louis, C.M; Chesterton, R.N.; Pfeiffer, D.U. 2004. Behavioural characteristics of dairy cows lameness in Taranaki, New Zealand. New Zealand Veterinary Journal 52 (3):103- 108.

- Shearer, J.K.; Van Amstel, S.R. 2002. Claw health management and therapy of infectious claw diseases. Proceedings of a Recent developments and perspectives in bovine medicine. Pp, 258-267.

- Shearer, J.K. 2010. Nutritional and Animal Welfare Implications to Lameness. Proceeding Tri-State Dairy Nutrition Conference: 57-67.

- Smart, M.; Cymbaluk, N.F. 1997. Role of nutritional supplements in bovine lameness in Lameness in Cattle. 3rd ed. P. R. Greenough and A. D. Weaver, ed. W. B. Sanders Co., Philadelphia, PA.

- Smith, B.I.; Kauffold, J.; Sherman, L. 2010. Serum haptoglobin concentrations in dairy cattle with lameness due to claw disorders Vet J 186(2): 162-165.

- Soca, P.; Chilibroste, P.; Mattiauda, D. 1999. Effect of the moment and length of the grazing session on: 2. Grazing time and ingestive behaviour. In Proceedings of international Symposium Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology. Eds. Moraes, A., Nabinger, C., Carvalho, P.C., Alvez, S.J. and Lustosa, S.B. pp 295-298. Curitiba. Brasil.

- Socha, M.T. 1998. Summary of trials conducted evaluating the effect of a combination of complexed zinc methionine, manganese methionine, copper lysine and cobalt glucoheptonate on lactation and reproductive performance of dairy cattle. J. Dairy Sci. 81 (Suppl.1), 251 (Abstract).

- Socha, M.T.; Johnson, A,B. 1998. Summary of trials conducted evaluating the effect of a combination of complexed zinc methionine, manganese methionine, copper lysine and cobalt glucoheptonate on lactation and reproductive performance of dairy cattle. J Dairy Sci 81 (Suppl. 1): 251 (Abstract).

- Spears, J.W. 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. Anim. Feed Sci. Technol.58: 151-163

- Sprecher, D.; Hostetler, D.; Kaneene, J. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. Theriogenology 41: 1179-1187.

- St-Pierre, N.R.; Cobanov, B.; Schnitkey, G. 2003. Economic losses from heat stress by US Livestock Industries. J. Dairy Sci.; 86 (E. suppl.): E52-E77.

- Stone, W.C. 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. J Dairy Sci 87:(E. Suppl.): E13 – E26.

- Tadich, N. 2008. Claudicaciones en la vaca lechera y su relación con el bienestar animal. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria Vol. IX Nº 10B: 1695-7504

- Tadich, N.; Hettich, E.; van Schaik, G. 2005. Prevalencia de cojeras en vacas de 50 rebaños lecheros del sur de Chile. Arch Med Vet 37, 29-36.

- Tadich, N.; Gallo, C.; Alvarado, M. 2000. Efectos de 36 horas de transporte terrestre con y sin descanso sobre algunas variables sanguíneas indicadoras de estrés en bovinos. Arch. Med. Vet. 32: 171-183.

- Tarlton, J.F.; Holah, D.E.; Evans, K.M.; Jones, S.; Pearson, G.R. 2002. Webster AJ.Biomechanical and histopathological changes in the supportive structures of the bovine hooves around the time of first calving. Vet J 163: 196-204.

- Toussaint Raven, E. 1985. Cattle footcare and claw trimming Ipswich. Farming press.

- Tranter, W.P.; Morris, R.S. 1991. A case study of lameness in three dairy herds". New Zealand Veterinary Journal, 39: 88 – 96.

- Tranter, W.E. 1992 PhD Thesis. The Epidemiology and control of lameness in pasture fed dairy cattle. Massey University.

- Stone, W.C. 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. J. Dairy Sci. 87:(E.Suppl.):E13-E26.

- Van Vuuren, A.M.; Van der Koelen, J.; Vroons-de Bruin. 1986. Influence of level and composition of concentrate supplements on rumen fermentation patterns of grazing dairy cows. Netherland Journal of Agricultural Science, 34: 457-467.

- Vermunt, J.J. 1992. Subclinical laminitis in dairy cattle. New Zealand Veterinary Journal 40:133-138.

- Vermunt, J.J. 2004. Herd lameness- A Review, Major causal factors, and guidelines for prevention and control. Proceedings of the 13 International Symposium on Lameness in Ruminants, Maribor (Slovenija) pag 3-18

- Vermunt, J.J. 2006. Reflections on prevention and control of bovine lameness in Australasian pasture-based system. Proceedings of the XIV International Meeting Lameness in Ruminants: 10-14.

- Von Keyserlingk, M.A.G.; Rushen, J.; De Passille, A.M.; Weary, D.M. 2009. Invited Review: The welfare of dairy cattle – Key concepts and the role of science. J. Dairy Sci., 92:4101-4111.

- Ward, W.R. 1990. Proceedings of the VIth International Symposium on Diseases of the Ruminant Digit, Liverpool UK pp 232-236.

- Warnick, L.D.; Pelzer, K.D.; Meadows, A.W.; diLorenzo, K.A.; Whittier, W.D.1995. The relationship of clinical lameness with days in milk, lactation number, and milk production in a sample of Virginia dairy herds. J Dairy Sci 78(Suppl. 1):169-173..

- 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.

- Warris, Pd.D.; Brown, S.N.; Knowles, T.G.; Kestin, S.C.; Edwards, J.E.; Dolan, S.K.; Phillips, A.J. 1995. Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours Vet. Rec., 136: 319-323.

- Webster, J. 2002. Effect of environment and management on the development of claw and leg diseases. In: Recent developments and perspectives in bovine medicine, 18- 23th August, Hannover, Germany, 248-256.

- Wells, S.J. 1993. Individual cow risk factors for clinical lameness in lactating dairy cows. Preventive Veterinary Medicine 17:95-109

- Wells, S.J.; Trent, A.M.; Marsh, W.E.; Robinson, R.A. 1993. Prevalence and Severity of lameness in lactating dairy cows in a sample of Minnesota and Wisconsin herds. JAVMA, 202 (19):78-82.

- Westwood, C.T. 2003. Review of the relationship between nutrition and lameness in pasture-fed dairy cattle. New Zealand Veterinary Journal 5: 208-218.

- Whay, H.R.; Main, D.C.J; Green, L.E.; Webster, A.J.F. 2002. Farmer perception of Lameness prevalence. 12th InternationalSymposium on Lameness in Ruminants, Florida, USA, 131-138.

- Whitaker, D.; Goodger, W.; Garcia, M.; Perera, B.; Wittwer, F. 1999. Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on small holder dairy farms. Preventive Veterinary Medicine 38:119–131.