



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República  
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**IMPACTO DEL TIPO DE ENCIERRO EN SISTEMAS MIXTOS  
SOBRE PRODUCCIÓN, METABOLISMO E INDICADORES DE  
SALUD DE LA VACA LECHERA**

**GRACIANA RODRIGUES MENDINA**

**TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL**

**URUGUAY  
2021**





UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República  
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**Programa de Posgrados**

**IMPACTO DEL TIPO DE ENCIERRO EN SISTEMAS MIXTOS  
SOBRE PRODUCCIÓN, METABOLISMO E INDICADORES DE  
SALUD DE LA VACA LECHERA**

**GRACIANA RODRIGUES MENDINA**

---

**Dr. (PhD) M<sup>a</sup> de Lourdes Adrien**

**Director de Tesis**

---

**Dr. (PhD) Juan Pablo Damián**

**Co-director**

**2021**

## INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE DEFENSA DE TESIS

**Rodrigo Puentes; (PhD)**

*Instituto de Ciencias Microbiológicas,  
Facultad de Veterinaria, Udelar - Uruguay*

**Gretel Ruprechter; (PhD)**

*Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal  
Facultad de Veterinaria, Udelar - Uruguay*

**Marcos Veiga dos Santos; (PhD)**

*Departamento de Nutrição e Produção Animal  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP - Brasil*



**ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS  
DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL**

**“IMPACTO DEL TIPO DE ENCIERRO EN SISTEMAS  
MIXTOS SOBRE PRODUCCIÓN, METABOLISMO E  
INDICADORES DE SALUD DE LA VACA LECHERA”**

**LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA:** Sala Virtual de Plataforma Zoom, Facultad de Veterinaria, UdelaR, martes 18 de mayo de 2021

**Tribunal:** Dra. Gretel Ruprechter, Dr. Rodrigo Puentes, Dr. Marcos Veiga Dos Santos

CI ESTUDIANTE	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
5873183-9	RODRIGUES MENDINA, Graciana	S.S.S.	12

**TRIBUNAL**

**FIRMA**

**Dra. Gretel Ruprechter**

**Dr. Rodrigo Puentes**

**Dr. Marcos Veiga Dos Santos**

**NOTA:** Las calificaciones de aprobación de la Tesis de Maestría pueden ser:

B.B.B. – 6 , o S.S.S. – 12

18 de mayo de 2021

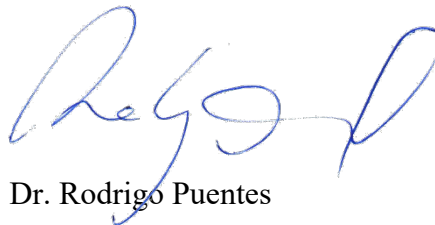
## Acta de Defensa

La Dra. Graciana Rodrigues Mendina, presentó una tesis de maestría que aborda una problemática muy importante para la lechería en sistemas pastoriles mixtos, realizando una muy clara y brillante exposición oral.

Se destaca el alto compromiso de la estudiante con el trabajo y la respuesta con solvencia a todas las preguntas realizadas por el tribunal.

El tribunal a su vez, realizó algunas sugerencias en relación al documento escrito para mejorar la comprensión de la tesis.

Por tanto, este tribunal otorga el puntaje máximo aprobando con sobresaliente (SSS) esta defensa de tesis.



Dr. Rodrigo Puentes



Dr. Marcos Veiga Dos Santos



Dra. Gretel Ruprechter

*“At the heart of science is an essential balance between two seemingly contradictory attitudes: an openness to new ideas, no matter how bizarre or counterintuitive they may be, and the most ruthless skeptical scrutiny of all ideas, old and new. This is how deep truths are winnowed from deep nonsense.”*

*Carl Sagan*

## AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Lourdes y Juan Pablo, que fueron incansables maestros en mi iniciación académica, estando a cualquier hora y día para ayudarme. Al compañerismo de Lourdes, siempre a la par compartiendo horas y horas de trabajo de campo y aún más en los momentos más necesarios, con lluvia, frío, cortes de luz y todos los problemas de cualquier tambo, siempre tratando de cuidarnos y garantizar alguna galletita o empanada con aceituna. A Juan Pablo, por su paciencia, rigurosidad científica y exigencia que tanto me enseñó.

A Chili, por su cariño y motivación. A Ana, por ser inspiración y exigencia para sacar lo mejor de uno. A Diego, por el cariño y darme la oportunidad de participar del curso de lechería de Agronomía. A los tres, gracias por su liderazgo y creer en mi potencial, fueron el combustible para el trabajo en muchos momentos.

A Matías, Gabriel, Vicky Pons, Rosana por el trabajo en equipo, el apoyo y por ser compinches en esta jornada. A Noe por el año compartido en concubinato en la EEMAC y Lu Grille por la buena onda siempre. A Ale por las charlas profundas entre observaciones de comportamiento en la parcela, a Olito por los intercambios y Paco por siempre tener algo para enseñar o contribuir.

A Vicky Camacho, LMT y demás tesistas de grado por toda la ayuda en el trabajo de campo y los buenos momentos compartidos, en especial a Marichú, amiga que me ganó para la vida.

A todos los funcionarios de la EEMAC que colaboraron en el ensayo.

A todos del SPLUy que contribuyeron de alguna forma a mi aprendizaje.

Agradecida de haber compartido el trabajo con ustedes.

Al equipo del Laboratorio Dr. Miguel C. Rubino de la DILAVE, Paysandú, por realizar los aislamientos bacterianos de un sinfín de muestras de leche.

Por último, a los Rodrigues, por apostar en mi en este trillo, principalmente a vó Duda, tia Talina y Lela. A mis padres, que aunque ya no estén en este plano siguen siendo faro en el camino, habiendo implantado en mi el amor por la lechería y la búsqueda por desbastar la piedra bruta. A mis amigas, por alegrarse junto a mi en cada logro, principalmente a Camilinha, con quien además de todo también compartimos el amor por la academia. Y a Juan, por su atención y compañerismo en las buenas y en las malas y creer en mi hasta cuando yo no creo.

A todos, gracias.



## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
RESUMEN.....	iv
SUMMARY .....	v
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	2
2.1. Producción lechera en Uruguay .....	2
2.2. Sistemas de producción.....	2
2.3. Tipos de encierro.....	3
2.3.1. Cielo abierto .....	3
2.3.2. Compost barn .....	3
2.4. Época de parición.....	4
2.5. Respuestas al estrés ambiental .....	5
2.6. Período de transición.....	6
2.7. Salud de la vaca lechera .....	7
2.8. Mastitis .....	8
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	10
4. HIPÓTESIS.....	11
5. OBJETIVOS .....	11
5.1. Objetivo general .....	11
5.2. Objetivos específicos .....	11
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
6.1. Localización y período experimental.....	12
6.2. Diseño experimental.....	12
6.3. Animales .....	12
6.4. Tratamientos.....	12
6.5. Rutina y manejo de alimentación.....	14

6.5.1. Suplementación.....	15
6.5.2. Pasturas .....	15
6.6. Mediciones .....	16
6.7. Análisis estadístico.....	19
7. RESULTADOS.....	21
8. DISCUSIÓN .....	37
9. CONCLUSIONES .....	45
10. IMPLICANCIAS .....	45
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
12. ANEXO.....	60

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar si el tipo de encierro, *compost barn* (CB) vs cielo abierto (CA), utilizado en sistemas mixtos, tiene impacto sobre la producción de leche, metabolismo, inmunidad, suciedad de ubre e incidencia relativa de mastitis en vacas lecheras, durante la lactancia completa, en partos de otoño y primavera. Se utilizaron vacas lecheras Holando que al parto fueron distribuidas en bloques completos al azar en dos tratamientos: CB y CA. Se registraron la temperatura y la humedad de la cama de compost y variables meteorológicas (precipitaciones, temperatura y humedad). Se registró la producción de leche individual, el peso vivo (PV) y la condición corporal (CC). Se colectó sangre para la determinación de ácidos grasos no esterificados (NEFA),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), colesterol, proteínas totales, albúmina y globulinas y para la determinación del recuento leucocitario total (RLT) y diferencial (RLD). Se registró el score de suciedad de ubre (SSU, escala 1-4) y se estimó la incidencia de mastitis clínica. Se determinó el recuento de células somáticas (RCS) en leche y la prevalencia relativa de infección intramamaria (IIM). Las variables fueron analizadas utilizando el paquete estadístico SAS University Edition, versión 9.4, 2020. Estos análisis fueron realizados para cada época de parto (otoño y primavera), separadamente. Hubo efecto del tratamiento sobre la producción de leche, que fue de 0,7 y 0,9 L/día mayor en CB con respecto a CA, para otoño ( $P=0,002$ ) y primavera ( $P=0,0001$ ), respectivamente. Las variables de producción, PV, CC y todos los metabolitos variaron con los días posparto ( $P<0,05$ ) en ambas épocas de parto. En la parición de primavera, se evidenció menor concentración de NEFA ( $P=0,02$ ) y BHB ( $P=0,03$ ) al día 15 postparto en CA con respecto a CB, y mayor concentración de BHB (cetosis subclínica) al día 90 postparto en CA con respecto a CB ( $P=0,004$ ). Las vacas paridas en primavera del tratamiento CB tendieron ( $P=0,07$ ) a presentar mayor concentración de proteínas totales en promedio para toda la lactancia con respecto a CA. El tratamiento CA tendió a presentar mayores RLT ( $P=0,09$ ) al día 60 postparto y neutrófilos ( $P=0,06$ ) al día 15 postparto, con respecto a CB. El SSU fue mayor en el tratamiento CA con respecto a CB en ambas épocas de parto ( $P<0,0001$ ), estando acentuado por efecto de la lluvia en los partos de otoño ( $P=0,05$ ). No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos en la incidencia relativa de mastitis, a pesar de que SSU presentó una baja correlación con el riesgo de IIM ( $r=0,13$ ;  $P=0,05$ ) para las vacas del CA paridas en otoño. El uso de CB en sistemas mixtos tuvo ventajas en comparación con el CA en cuanto a producción individual y SSU. Las diferentes respuestas entre tratamientos según los días en las concentraciones de NEFA, BHB, proteínas totales y células del sistema inmune en las vacas paridas en primavera, podrían ser una alerta a los efectos ambientales en esa época de parición, a lo cual están especialmente expuestas las vacas del CA. Esta tesis demuestra el impacto del manejo ambiental sobre variables de respuesta indicadoras de metabolismo y salud.

## SUMMARY

The objective of this study was to evaluate if the type of housing, compost barn (CB) or open lot (OL), used in mixed systems, has an impact on milk production, metabolism, immunity, udder hygiene score, and relative prevalence of mastitis in dairy cows, during complete lactation. Holstein dairy cows, calved in autumn and spring, were used. At parturition, the animals were put in two treatments: compost barn (CB) and open lot (OL). The temperature and humidity of the compost bedded pack and meteorological variables (rainfall, temperature, and humidity) were recorded. Individual milk production, live weight (LW), and body condition score (BCS) were recorded. Blood was collected into tubes without anticoagulant for determination of non-esterified fatty acids (NEFA),  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB), cholesterol, total proteins, albumin, and globulins, and with an anticoagulant to determine white blood counts (WBC) and differential leukocyte profile. The udder hygiene score (UHS, scale 1-4) and the incidence of clinical mastitis were recorded. Milk samples were collected for the determination of the somatic cell count (SCC) and the relative prevalence of intramammary infection (IMI). The variables were analyzed using SAS University edition, 9.4, 2020. These analyzes were carried out for each calving season (autumn and spring) separately. There was an effect of the treatment on milk production, which was 0.7 and 0.9 L/day higher in CB compared to OL, for autumn ( $P=0.002$ ) and spring ( $P=0.0001$ ), respectively. Milk production, LW, BCS, and all metabolites varied with the days postpartum ( $P<0.05$ ) in both calving seasons. In spring calving, there was a lower concentration of NEFA ( $P=0.02$ ) and BHB ( $P=0.03$ ) at 15 days postpartum in OL compared to CB, and a higher concentration of BHB (subclinical ketosis) at 90 days postpartum in OL compared to CB ( $P=0.004$ ). The CB cows calved in spring tended ( $P=0.07$ ) to present a higher concentration of total proteins on average for all lactation compared to OL. The OL treatment tended to present higher WBC ( $P=0.09$ ) at day 60 postpartum and neutrophils ( $P=0.06$ ) at day 15 postpartum, compared to CB. The UHS was higher in OL compared to CB in both calving seasons ( $P<0.0001$ ), and was accentuated by rainfall in the autumn calving season ( $P=0.05$ ). No significant differences between treatments were detected in the relative incidence of mastitis, although UHS presented a low correlation with the risk of IMI ( $r=0.13$ ;  $P=0.05$ ) for the OL cows calved in autumn. The use of CB in mixed systems had advantages compared to OL in terms of individual production and UHS. The different responses between treatments according to the days in the concentrations of NEFA, BHB, total proteins, and immune cells in cows calved in spring, could be an alert to the environmental effects in that calving season, to which OL cows are especially exposed. This thesis demonstrates the impact of environmental management on response variables indicating metabolism and health.

## 1. INTRODUCCIÓN

El sector lechero uruguayo es desafiado a mejorar su eficiencia en un contexto de precios volátiles, disminución de remitentes y área destinada a la lechería (DIEA, 2020). La eficiencia está dada no solamente por el aumento de la producción individual y por hectárea, constatada a lo largo de varios años (DIEA, 2010, 2020), sino que también depende del éxito de cada uno de los procesos de producción, sostenido por la integridad y equilibrio fisiológico de los animales.

Uruguay ha buscado el aumento de su productividad a través de un proceso de intensificación basado en el aumento del uso de suplementación y de la carga animal (Fariña & Chilbroste, 2019). Con el aumento de la carga animal, se logra aumentar la utilización de las pasturas, factor clave para bajar costos de producción (Baudracco et al., 2010). Sin embargo, esto también repercute en un aumento del tiempo en que los animales no pueden acceder a los potreros para pastoreo directo, ya sea por bajo stock de forraje o por dificultad de acceso a los mismos, debiendo permanecer en otros lugares y recibir suplementación para completar sus requerimientos nutricionales (Baudracco et al., 2010).

Los lugares de suplementación o encierros utilizados en el país son bastante diversos (Aguerre et al., 2018), siendo en su mayoría a cielo abierto (Chilbroste & Battezzore, 2019). La exposición al ambiente, como el estrés calórico durante el verano, así como las lluvias y formación de barro en invierno, amenazan la salud y confort de los animales (Pereira et al., 2017). El barro además, genera un mayor grado de suciedad de ubre, lo que representa un riesgo para la incidencia de mastitis (Reneau et al., 2005; Schreiner & Ruegg, 2003). Por lo tanto, el ambiente durante el encierro, así como las estaciones en que transcurre la lactancia de los animales, pueden representar distintos desafíos para los mismos.

La bibliografía referente a salud de la vaca lechera se ha enfocado principalmente en el análisis durante el periodo de transición, momento más crítico de balance energético negativo (BEN) e inmunosupresión (Ingvarsen & Moyes, 2015; Aleri et al., 2016; Leblanc, 2020). La información disponible señala que el 30 a 50% de las vacas presentan alguna forma de enfermedad metabólica o infecciosa alrededor del parto (LeBlanc, 2010). Sin embargo, escasos estudios lo han analizado a lo largo de toda la lactancia (Washburn et al., 2002), teniendo en cuenta las distintas condiciones climáticas a lo largo del año según la época de parto.

A pesar de que los sistemas pastoriles están bien vistos por la sociedad como algo positivo para el bienestar animal (Cardoso et al., 2019), es necesario tener en cuenta las posibles repercusiones de los procesos de intensificación, con especial atención en el contexto de los sistemas mixtos de alta carga, donde los animales llegan a permanecer en encierros la mitad de su tiempo en lactación (Ortega, comunicación personal).

Es así, que nos planteamos contribuir al conocimiento sobre el impacto del tipo de encierro, cielo abierto vs *compost barn*, utilizado en sistemas mixtos, sobre producción, metabolismo, inmunidad, suciedad de ubre e incidencia relativa de mastitis en vacas lecheras paridas en otoño y primavera, a lo largo de la lactancia completa.

## **2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS**

### **2.1. Producción lechera en Uruguay**

La historia reciente de la lechería en nuestro país se caracteriza por un constante crecimiento en la producción de leche, concentrándose en un área y número de remitentes cada vez menor (DIEA, 2020). Tomando como base el año 1985, la productividad aumentó 3,5 veces, apoyada en un aumento de la carga animal (1,6 veces) y de la producción individual (2,6 veces) (Fariña & Chilibroste, 2019). En el 2009 fueron producidos 1695 millones de litros en 800 mil ha de superficie, mientras que en el 2019 la producción alcanzó los 2168 millones de litros en un área de 762 mil ha. Si bien el número de VM ha sufrido fluctuaciones anuales, en términos generales se ha mantenido estable, con una mejora en la relación VO/VM. La producción individual aumentó de 16,9 a 18,5 L/VO en ese mismo periodo (DIEA, 2010, 2020).

La carga animal a nivel país es en promedio de 0,8 VM/ha (Fariña & Chilibroste, 2019). No obstante, en el Proyecto Producción Competitiva de Conaprole, se constató amplia diversidad entre los productores participantes, variando entre 0,5 a 2,0; con un promedio de 1,15 VM/ha (Chilibroste & Battezzore, 2019).

### **2.2. Sistemas de producción**

Los sistemas de producción uruguayos se han ido intensificando en base a un aumento del uso de suplementación y de la carga animal (Fariña & Chilibroste, 2019). La alta carga permite aumentar la utilización de la pastura, reduciendo costos y aumentando la producción por superficie, pero trae acompañada la necesidad de suplementar para cubrir los requerimientos nutricionales individuales (Baudracco et al., 2010; Vibart et al., 2012). Además, datos nacionales demuestran que a medida que aumenta la carga de 1,5 a 2,0 VO/ha, aumenta el tiempo en que los animales no logran acceder a las pasturas, ya sea por la necesidad de recuperación del stock forrajero o por la imposibilidad de acceder a los potreros debido a condiciones de piso. Dadas estas condiciones, los animales deben permanecer en encierros recibiendo suplementación durante la mitad o más de su tiempo en lactación (Ortega et al., comunicación personal).

Es así, que los sistemas netamente pastoriles fueron migrando hacia sistemas mixtos que combinan el pastoreo directo con suplementos. Esto permite contar con las ventajas del sistema pastoril, como es su menor costo de producción (Dillon et al., 2005), mejor salud y bienestar animal (Washburn et al., 2002; Arnott et al., 2017), aumento de componentes nutraceuticos del producto (Barca et al., 2017), así como una mejor imagen para el consumidor, quienes lo atribuyen a la posibilidad de ejercer el

comportamiento natural de la especie (Cardoso et al., 2019). Por otro lado, el agregado de la suplementación permite alcanzar mayores niveles de producción, acorde a su genética, cubriendo los requerimientos nutricionales que estarían incompletos en un sistema netamente pastoril (Kolver & Muller, 1998).

Para los productores inscriptos en el Proyecto Producción Competitiva, los suplementos representaron casi la mitad de la dieta de las vacas en ordeño, basados en un 25% de reservas y 18% de concentrados, mientras el pastoreo directo representó el 57% de la dieta. El concentrado en la mayoría de los casos (85% de las matrículas) era suministrado en la sala de ordeño, mientras que la reserva de forraje era suministrada en comederos a cielo abierto (Chilibroste & Battezzore, 2019). Otra opción posible es proporcionar esos suplementos mezclados como dieta parcialmente mezclada (DPM; Fajardo et al., 2015; Mendoza et al., 2016). Las condiciones de suministro de esa suplementación son diversas en Uruguay (Aguerre et al., 2018), siendo la infraestructura utilizada uno de los puntos de preocupación en cuanto a la eficiencia de los sistemas y el impacto que pueden tener sobre la salud y el bienestar animal (Fariña & Chilibroste, 2019).

### **2.3. Tipos de encierro**

#### *2.3.1. Cielo abierto*

En Uruguay, la mayoría de los lugares de suplementación o encierros donde permanecen los animales mientras no pueden acceder al pastoreo son a cielo abierto (Chilibroste & Battezzore, 2019). Los corrales a cielo abierto han tenido un interés creciente a nivel internacional debido a su bajo costo de inversión en infraestructura y manejo simple (O'Driscoll et al., 2008a; Barnes et al., 2013; USDA-NAHMS, 2016; Salado et al., 2020). Los animales se encuentran sobre un piso de tierra o tosca, contando por lo general con un área de sombra artificial, así como bebederos y comederos donde es distribuido el suplemento. Su utilización a nivel internacional se da particularmente en regiones de clima árido donde son favorecidas las condiciones de piso, si bien el calor también implica en algunos casos utilización de infraestructura para refrescamiento como aspersores (Tresoldi et al., 2017). También se ha utilizado como alternativa a encierros tradicionales durante el invierno en regiones donde la nieve impide el acceso a las pasturas, debiendo disponer de camas de paja para evitar el congelamiento de pezones (O'Driscoll et al., 2008b; Sjostrom et al., 2019). En Uruguay, dado su clima templado con mayor nivel de precipitaciones, el principal desafío es la formación de barro, agravado por el pisoteo y acúmulo de materia fecal. Este aspecto, sumado a la exposición de los animales al clima (Chen et al., 2017), tanto en invierno como en verano (estrés calórico) puede representar un riesgo para el confort y salud de la vaca lechera en estos sistemas (Pereira et al., 2017).

#### *2.3.2. Compost barn*

El *compost barn*, o como también llamado en algunas regiones de Sudamérica, cama caliente, empieza a tomar fuerza en el 2001 en Minnesota, como una alternativa más amigable con el bienestar animal, con impactos positivos en salud, reproducción y

longevidad al compararlos con los sistemas tradicionales de estabulación como el free-stall (Barberg et al., 2007). En Sudamérica, el *compost barn* se ha distribuido y adoptado rápidamente (Monge et al., 2019; Leso et al., 2020). Este sistema se trata de un galpón completamente techado, contando en muchos casos con ventilación y aspersores para refrescamiento de los animales (Leso et al., 2020). Además, en estos sistemas los animales permanecen sueltos en una cama suave y confortable de material orgánico, comúnmente de aserrín o chips de madera (Endres and Barberg, 2007; Shane et al., 2010; Bewley et al., 2017), aunque también se ha utilizado cáscara de arroz o maní, u otros subproductos agrícolas (Janni et al., 2007; Monge et al., 2019).

La cama sufre un proceso de compostaje a través de la fermentación aeróbica junto a las excreciones de los animales (Barberg et al., 2007; Black et al., 2014). Es recomendado que la humedad se encuentre entre 40 y 60% , y la temperatura entre 45 y 60°C a los 20-30 cm de profundidad (Black et al., 2013). Se ha reportado que temperaturas superiores a 54-55°C, durante 3 a 4 días, podrían ser suficientes para destruir microorganismos patógenos como los causantes de mastitis (Janni et al., 2007; Black et al., 2014). El manejo de la cama es clave para mantener su correcto funcionamiento, debiendo ser movida dos veces al día (Barberg et al., 2007) para permitir una correcta aireación, con ingreso de oxígeno para el compostaje y promover su secado. El secado también es favorecido por la correcta ventilación del galpón (natural o artificial), temperatura y humedad relativa del ambiente, temperatura de la cama, además del agregado periódico de sustrato nuevo. Este aspecto es clave sobretodo en los climas fríos y húmedos, lo que puede requerir un agregado más intenso de material o el recambio completo de la cama en momentos estratégicos del año (Black et al., 2014; Leso et al., 2020)

#### **2.4. Época de parición**

Según la época de parición, los animales van a estar expuestos a distintas condiciones ambientales a lo largo de su lactación. En sistemas mixtos y especialmente en aquellos de alta carga, se vuelve necesario la concentración de partos en el momento más conveniente de manera de optimizar recursos (Fariña & Chilbroste, 2019). En este sentido, en los sistemas pastoriles, las principales épocas de parición son otoño y primavera (García & Holmes, 2005). En Uruguay, el 65% de los partos se distribuye entre los meses de marzo a setiembre, con concentraciones en los meses de marzo-abril y agosto-setiembre (Chilbroste & Battgazore, 2019). La estrategia de concentración de partos se registra principalmente en tambos de mayor escala, mientras que en tambos chicos la parición por lo general se da de forma continua (Pereira et al., 2017).

La parición de otoño (marzo-abril) posee la ventaja de evitar el estrés calórico durante el momento de volver a ofrecer servicio a los animales. No obstante, el parto y el postparto temprano de las pariciones de otoño puede transcurrir en momentos donde el estrés calórico aún es marcado, sobretodo al norte del país (Cruz & Saravia, 2008). Además, el momento de mayor cantidad de vacas recién paridas coincide con la época de mayor probabilidad de escasez de forraje, obligando al uso de encierros y



suplementación. Esto, sumado al acercamiento del invierno y ocurrencia de precipitaciones, promueven un ambiente con presencia de barro en los lugares de permanencia o tránsito de los animales, siendo un aspecto de riesgo para problemas de salud, así como de bienestar animal y humano (Pereira et al., 2017). Por otro lado, los partos más cercanos a la primavera (agosto-setiembre) tienen la fortaleza de hacer coincidir la época de mayor disponibilidad de pasturas con la lactancia temprana, donde los requerimientos son mayores (Ribeiro et al., 2013; Hennessy et al., 2020). Sin embargo, las vacas que paren en primavera, deben volver a preñarse durante la época que inician los registros de estrés calórico, lo cual puede significar menor éxito en la concepción y mantenimiento de la preñez (De Rensis & Scaramuzzi, 2003; Jordan, 2003).

## **2.5. Respuestas al estrés ambiental**

La exposición a condiciones climáticas adversas como lluvia y viento puede resultar en una cascada de respuestas fisiológicas de estrés, incluyendo la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, con una mayor liberación de cortisol (Fisher et al., 2003; Tucker et al., 2007; Webster et al., 2008), el cual tiene efecto inmunosupresor (Sapolsky et al., 2000). Además, también se ha constatado disminución en el recuento leucocitario en condiciones de viento, lluvia (Webster et al., 2008) y barro (Chen et al., 2017). Tales condiciones son aversivas para el ganado con implicancias en su comportamiento, ya que provocan una disminución en el tiempo de descanso, ya sea solamente por la presencia de barro (Chen et al., 2017), la adición de lluvia y viento (Tucker et al., 2007; Schütz et al., 2010) o solo lluvia (Schütz et al., 2010). Adicionalmente, encierros con presencia de barro provocan un mayor grado de suciedad sobre los animales comparados con otros tipos de encierro (Fisher et al., 2003), con niveles crecientes según el grado de humedad del piso (Chen et al., 2017).

Por otro lado, el estrés calórico es definido como la suma de estímulos externos que actúan sobre el animal causando un aumento no saludable de su temperatura corporal (Dikmen & Hansen, 2009). Frente a condiciones de estrés calórico, los animales activan respuestas fisiológicas buscando adaptarse, como el aumento de la tasa cardíaca y respiratoria, jadeo, transpiración, aumento del consumo de agua y disminución del consumo de alimentos, así como mayor tiempo paradas y disminución de ejercicio (Das et al., 2016; Polsky & von Keyserlingk, 2017). Además, estudios recientes han reportado adaptaciones del metabolismo frente a condiciones de estrés calórico, como una mayor utilización de las proteínas corporales y preservación de las reservas lipídicas (Baumgard & Rhoads, 2013; Gao et al., 2017; Sammad et al., 2020). Estas condiciones de estrés ambiental son un riesgo para la salud y bienestar animal, con consecuencias negativas sobre la performance productiva y reproductiva (Kadzere et al., 2002; De Rensis & Scaramuzzi, 2003; West, 2003; Das et al., 2016).

La medida más apropiada para medir las condiciones ambientales que producen el estrés calórico es el índice de temperatura y humedad (ITH). Este fue desarrollado originalmente por Thom (1959), y adaptado posteriormente para determinar los valores de confort térmico en vacas lecheras, tomando como valor límite un ITH de

72 (Armstrong, 1994). Posteriormente, Zimbelman et al. (2009) determinaron que para vacas con una producción mayor a 35 L diarios, el ITH crítico sería menor, promediando un valor de 68 durante 17 horas seguidas o más.

## **2.6. Período de transición**

La vaca lechera debió adaptar su metabolismo para cumplir con la alta producción para la cual ha sido seleccionada genéticamente (Baumgard et al., 2017). Pero mucho antes de esa selección genética generada por el hombre, la naturaleza estableció un orden de prioridades fisiológicas como el mantenimiento de su propio equilibrio y salud (Baumgard et al., 2017), y el mantenimiento de la preñez y la lactación (Bauman & Currie, 1980), para garantizar la supervivencia de su cría. Ese equilibrio de la vaca es dependiente de una regulación del uso de nutrientes y procesos biológicos que permiten tal estabilidad, conocida como homeostasis. Por otro lado, la homeorhesis asegura el flujo adecuado de nutrientes para la síntesis de leche (así como en otros procesos fisiológicos o incluso patológicos), a través de una orquestación de funciones entre muchos órganos (Bauman & Currie, 1980; Baumgard et al., 2017).

El momento más crítico para el éxito de estos mecanismos ocurre justamente en el cambio de estado fisiológico, en que la vaca transita del estado de preñez tardía para el inicio de la lactación. Se considera que este periodo de transición se extiende desde las tres semanas previas a las tres semanas posteriores al parto (Grummer et al., 2004). Desde la tercer semana previa al parto el animal empieza a disminuir el consumo, mientras que los requerimientos nutricionales van aumentando rápidamente para iniciar la producción de leche, generando un déficit (Drackley, 1999; Grummer et al., 2004). Este BEN, comienza a los pocos días antes del parto, extendiéndose hasta 10 a 12 semanas postparto, con su nivel más negativo (nadir) alrededor de las 2 semanas postparto (Butler, 2003).

Para cubrir sus necesidades energéticas, el animal debe recurrir a sus reservas corporales, utilizando en primer lugar el glucógeno almacenado, y posteriormente sus reservas lipídicas y proteínas tisulares (Bauman & Currie, 1980; Bell, 1995; Nelson & Cox, 2013). Es así, que desde el tejido adiposo se da la hidrólisis de los triacilglicéridos almacenados, liberando ácidos grasos no esterificados (NEFA). Posteriormente, estos son metabolizados a través de la  $\beta$ -oxidación en hígado y músculo, culminando en la formación de acetil-CoA. En periodos de clara carencia energética como este, en el hígado, no todo el acetil-CoA logra ingresar al ciclo de Krebs y completar su oxidación, debido a que el poco oxaloacetato se prioriza y dirige para la neoglucogénesis. El exceso de acetil-CoA termina ingresando a la vía de la cetogénesis hepática, formando cuerpos cetónicos como el  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), acetoacetato y acetona en el hígado (Nelson & Cox, 2013). El músculo esquelético también cumple un rol importante en la adaptación durante el BEN para garantizar la homeostasis. El uso de glucosa es reducido por los tejidos periféricos, producto de la resistencia a la insulina en los mismos, y durante esta etapa uno de los combustibles usados en el tejido muscular son los cuerpos cetónicos (Robinson & Williamson, 1980). Además, también ocurre la degradación de proteínas tisulares para obtener esqueletos carbonados de los

aminoácidos, destinados a la neoglucogénesis, vía que ocurre principalmente en el hígado (Bauman & Currie, 1980; Herdt, 2000).

Dada la importancia que tienen estos procesos para garantizar la performance y salud del animal, se vuelve necesario monitorear el manejo y evolución de las reservas corporales. Para ello, se cuenta con indicadores como la condición corporal (CC) y peso vivo (PV). Como una evidencia del BEN, la CC generalmente disminuye durante la lactación temprana, dada la movilización de reservas, con una recuperación durante la lactancia media y tardía (Souissi & Bouraoui, 2020). Vacas con condición muy alta o muy baja, así como con pérdidas excesivas, podrían presentar problemas de salud y consecuencias negativas en producción y reproducción. La CC recomendada para el momento del parto de vacas lecheras está entre 3 a 3,25 (Roche et al., 2009).

## **2.7. Salud de la vaca lechera**

El estrés metabólico que el período de transición representa, puede tener impactos sobre el correcto funcionamiento de diversos sistemas, incluyendo el sistema inmune. Evidencias acerca de la relación entre el perfil metabólico y la incidencia de enfermedades (Ospina et al., 2010; McArt et al., 2013) e inmunosupresión, han aumentado en los últimos años (Ingvarlsen & Moyes, 2013, 2015; Leblanc, 2020). Se ha relacionado la alta concentración de NEFA y BHB con una peor respuesta inmunológica (Lacetera et al., 2004; Grinberg et al., 2008).

Además, la vaca lechera también se debe enfrentar al estrés del parto y otros cambios que este momento representa. Se ha evidenciado menores niveles de IgM e IgG alrededor del parto (Herr et al., 2011), así como una menor concentración de células del sistema inmune en sangre (Ingvarlsen & Moyes, 2015; Bentancor, 2020). Esto podría estar promovido por la migración de células y globulinas hacia el calostro, así como la menor disponibilidad de calcio y glucosa, principal combustible para las células del sistema inmune (Kvidera et al., 2017; Leblanc, 2020). El colesterol y la albúmina en sangre también disminuyen alrededor del parto, como reflejo del menor consumo (Adrien et al., 2012) y han sido relacionados como indicadores predictivos de enfermedades como la mastitis (Rupprechter et al., 2018).

Por otro lado, el parto también viene acompañado de otros desafíos para la vaca, dados por cambios en la estructura social y ambiente -encierros o establos-, instalaciones/piso inadecuados, hacinamiento, exposición a infecciones (Drackley, 2005). De igual manera como fue descrito anteriormente, el organismo activa mediadores fisiológicos para responder a estos estresores (activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal) que podría acentuar la depresión del consumo que el animal ya viene sufriendo, así como volverlo más susceptible a desarrollar una enfermedad (Drackley et al., 2005).

En 1972, Payne definió las enfermedades de la producción como “un problema creado por el hombre, resultado de un desbalance entre *inputs* y *outputs*, debido a la ruptura ocasionada por la presión de la alta producción combinada con el sistema de

producción intensivo moderno”. El concepto se fue expandiendo de manera a incluir no solo desórdenes metabólicos, considerados en el primer momento, sino también otras enfermedades no infecciosas, así como también infecciosas, con una raíz común en la interacción entre la fisiología animal y el ambiente en el que viven (Drackley, 2005).

Un avance fundamental, ha sido el reconocimiento del carácter multifactorial de estas enfermedades, para lo cual un abordaje integral que considere el ambiente, manejo, nutrición e inmunidad, entre otros factores, es necesario (Hogeveen et al., 2011; LeBlanc et al., 2006). El ambiente es uno de los tres componentes de la tríada epidemiológica que impacta la salud, junto con el hospedero y el agente; todos ellos afectados por prácticas de manejo (LeBlanc et al., 2006).

Si bien los sistemas a pasto han sido asociados de manera general a mejores indicadores de salud respecto a los sistemas estabulados (Lacy-Hulbert et al., 2002; Washburn et al., 2002), el grado de intensificación que vienen sufriendo podría significar una mayor incidencia de enfermedades, ya sea por la alta carga animal o la elevada exigencia metabólica para cumplir con los niveles de producción actuales (Lean et al., 2008).

Es frecuente encontrar en la literatura asociaciones entre la mayor producción de leche y el aumento en la incidencia de enfermedades (Oltenu & Algers, 2005), pero evidencias consistentes de esa relación son limitadas (Ingvarsen et al., 2003). No obstante, la selección genética para alta producción trajo acompañada otras características morfológicas y metabólicas para dar sostén a esa cualidad, basados en los principios de homeorhesis. En este sentido, se debe considerar especialmente si el mayor grado de productividad y demanda de la vaca moderna se ha acompañado en la misma medida por adaptaciones de manejo e infraestructura acordes, considerando que son parte de los factores desencadenantes de dichas enfermedades (Drackley, 2005), pudiendo promover la inmunosupresión de las vacas (Barkema et al., 2015; Aleri et al., 2016).

## **2.8. Mastitis**

La mastitis es la enfermedad más común en los sistemas de producción de leche, resultando en importantes pérdidas económicas que aún son subvaloradas por los productores, y raramente reconocida como un factor en detrimento del bienestar animal (Halasa et al., 2007; Hogeveen et al., 2011). Esta enfermedad resulta de la invasión de microorganismos, comúnmente bacterias, a la glándula mamaria a través del canal del pezón, estableciendo una infección intramamaria (IIM) y resultando en una reacción inflamatoria clínica o subclínica (Harmon, 1994). La mastitis clínica se caracteriza por presentar anomalías visibles en leche, pudiendo además presentar signos de inflamación en ubre o toque sistémico, por lo cual se puede clasificar en leve, moderada o severa, respectivamente (Ruegg, 2012). La mastitis subclínica es asintomática, pero puede ser diagnosticada por medio del recuento de células somáticas (RCS, Dohoo & Leslie, 1991). Es aceptado que por encima de 200.000

cél/mL se puede considerar al animal infectado (Schukken et al., 2003). También se utiliza el *Linear Score* o Score de células somáticas (SCS) calculado a partir del logaritmo en base 2 del RCS, el cual está asociado linealmente con las pérdidas en producción de leche ocasionadas por la mastitis (Kirk, 1984; Shook, 1993; Shook et al., 2017).

Las bacterias que causan mastitis pueden ser clasificadas como contagiosas y/o ambientales, basándose en su reservorio y patrones de transmisión (LeBlanc et al., 2006; Zadoks et al., 2011). El plan de 5 puntos de control de la mastitis (Neave et al. 1969) implementado en los últimos años, ha colaborado en la reducción de la transmisión de mastitis contagiosa (LeBlanc et al., 2006; Hogeveen et al., 2011; Ruegg & Pantoja, 2013). Sin embargo, se ha observado un aumento relativo en la incidencia de mastitis ambientales con respecto a las contagiosas durante este periodo (Hogeveen et al., 2011; Klaas & Zadoks, 2017). La predominancia de patógenos ambientales ha sido atribuida a cambios en el manejo, alojamiento y tamaño de rodeo (Rowbotham & Ruegg, 2015; Ruegg, 2012; Ruegg & Pantoja, 2013).

Datos nacionales de un relevamiento en Florida, reportan la mayor incidencia de mastitis en tambos de mayor escala (más de 500 VM), asociándose además con la ocurrencia de precipitaciones. Adicionalmente, la mayor proporción de enfermedades (54,6% de las vacas) y muertes ocurrió en los primeros 90 días postparto (Pereira et al., 2017).

Dados los nuevos desafíos de la epidemiología de la mastitis, se expandió el plan inicial de 5 puntos a uno de 10 puntos (NMC, 2000), el cual contiene en el punto 2 la recomendación de mantener un ambiente limpio, seco y confortable. Varios estudios relacionan el ambiente donde se encuentran las vacas con la incidencia de mastitis, y en este sentido, el grado de suciedad de los animales podría utilizarse como indicador de riesgo (DeVries et al., 2012; Ellis et al., 2007; O'Driscoll et al., 2008b; Sjostrom et al., 2019; Wolfe et al., 2018). El score de suciedad de ubre (SSU) ha sido correlacionado positivamente con aumentos en el SCS (Reneau et al., 2005) y de IIM (Schreiner & Ruegg, 2003). Aún más, el grado de suciedad de los animales es un componente indicador de bienestar animal (Welfare Quality Consortium, 2009).

El SSU en sistemas de *compost barn* puede variar según la temperatura y humedad de la cama, que a su vez, puede ser afectada por las características ambientales de la región donde se encuentran (Black et al., 2013; Eckelkamp et al., 2016; Leso et al., 2020). Eckelkamp et al. (2016) encontraron que el SSU disminuía a menor humedad de la cama, lo que a su vez estaba asociado a la mayor temperatura del galpón. Sin embargo, los mismos autores encontraron una correlación positiva entre la temperatura del galpón y el RCS o la IIM (Eckelkamp et al., 2016).

De manera similar, en el cielo abierto los resultados son dependientes de las condiciones ambientales y factores climáticos como lluvia y barro, así como medidas de manejo implementadas (Sant'Anna & Paranhos da Costa, 2011). En evaluaciones realizadas durante el invierno Boyle et al. (2008) y O'Driscoll et al. (2008b) reportaron

mayor suciedad en encierros a cielo abierto para vaquillonas y vacas secas respectivamente, cuando comparados a sistemas *free-stall*; mientras que Sjostrom et al. (2019) encontraron menor suciedad en vacas en lactación a cielo abierto cuando comparados a sistemas *compost barn*. En este último, además, se encontró una mayor incidencia de mastitis en el *compost barn* respecto al cielo abierto (27.1% vs 15.1%, respectivamente).

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es amplia la variedad de opciones a la hora de elegir el modelo productivo, y esa elección puede tener impacto en la salud de los animales. Es necesario alcanzar un mayor entendimiento acerca de los factores del ambiente que predisponen a que los animales se enfermen (Hogeveen et al., 2011). Crecientes presiones sociales por la disminución del uso de antibióticos, refuerzan aún más la necesidad de entender los factores que podrían ayudar a prevenir enfermedades (Klaas & Zadoks, 2017).

Las condiciones ambientales y el manejo pueden tener impacto en el confort y respuestas fisiológicas, con distintas adaptaciones metabólicas que podrían repercutir en el bienestar, la salud y producción (Drackley et al., 2005). De la misma manera, considerando que los animales están echados el 50 a 60% del día, las condiciones del piso con el cual sus pezones están en contacto (humedad, presencia de materia fecal y carga bacteriana) puede significar una mayor exposición a patógenos ambientales, siendo un factor de riesgo en la incidencia de mastitis (Hogan & Smith, 2012).

Uruguay ha presentado mejoras en la nutrición y productividad en los últimos años (Fariña & Chilibroste, 2019), sin embargo, falta información a nivel nacional acerca del impacto del ambiente productivo e infraestructura disponible sobre la salud de los animales. A nivel internacional, de acuerdo a los antecedentes encontrados, tampoco se han realizado trabajos, con condiciones controladas, que evalúen el efecto de la infraestructura utilizada en encierros y las condiciones de los mismos en sistemas mixtos con pastoreo y suplementación, durante toda la lactancia, sobre la salud de vacas lecheras en distintas épocas de parto. Teniendo en cuenta los distintos aspectos antes mencionados, se plantea evaluar si el tipo de encierro, *compost barn* vs cielo abierto, utilizado en sistemas mixtos, afecta indicadores de salud, mediante la evaluación del metabolismo, inmunidad, suciedad de ubre e incidencia relativa de mastitis en vacas lecheras, durante la lactancia completa, en las dos principales épocas de parición en Uruguay.

## 4. HIPÓTESIS

Mejores condiciones ambientales durante el encierro en sistemas mixtos, logradas en el *compost barn*, promueven una mejor performance productiva, perfil metabólico y estatus inmunitario, un menor grado de suciedad de ubre y consecuente mejor salud de la glándula mamaria, evidenciado en un menor recuento de células somáticas y menor incidencia relativa de mastitis clínica, comparado a sistemas a cielo abierto.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Determinar si el ambiente durante el encierro en sistemas mixtos, afecta la producción de leche, los perfiles metabólicos, el estatus inmunitario, el nivel de suciedad de ubre y la incidencia relativa de mastitis en vacas lecheras, con pariciones de otoño y primavera, durante la lactancia completa.

### 5.2. Objetivos específicos

Determinar si las distintas condiciones durante el encierro (sistemas *compost barn* vs cielo abierto) afectan:

- I. La producción de leche individual
- II. La evolución del balance energético evaluado a través de la condición corporal y peso vivo, perfil de ácidos grasos no esterificados,  $\beta$ -hidroxibutirato y colesterol.
- III. La concentración de proteínas totales, albúmina y globulinas.
- IV. El recuento leucocitario total y diferencial (linfocitos, neutrófilos y monocitos).
- V. El score de suciedad de ubre e indicadores de salud de la glándula mamaria (recuento de células somáticas individual, incidencia relativa de mastitis clínica, determinación del perfil de agentes etiológicos).

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Ética en el Uso de Animales de la Facultad de Agronomía, UdelaR (CEUA-CHEA, ID 682- Exp. 020300-000602-18).

### 6.1. Localización y período experimental

Las evaluaciones se llevaron a cabo en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC), de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República; localizada en el Departamento de Paysandú, Ruta 3 km 363 (32° 23'07.6 "S 58° 03'17.9" W), desde febrero del 2019 a abril del 2020.

### 6.2. Diseño experimental

Se evaluó una lactación completa de vacas paridas en otoño (marzo-abril) y otra de vacas paridas en primavera (julio-agosto). Los tratamientos se iniciaron inmediatamente luego del parto y se extendieron hasta el final de la correspondiente lactancia. Previo al parto, los animales fueron bloqueados de acuerdo al número de lactancias, fecha prevista de parto, peso vivo y condición corporal, considerando que todos los animales fueran sanos al examen clínico, sin antecedentes de mastitis crónica. Luego se realizó la distribución de los animales en bloques completos al azar en dos tratamientos: *compost barn* (CB) y cielo abierto (CA).

### 6.3. Animales

Para los partos de otoño se utilizaron treinta y un bovinos hembra de la raza Holando (CB: n = 16, CA: n = 15). El número de lactancias promedio fue de  $2,8 \pm 1,4$ ; el PV al parto fue de  $660 \pm 78$  kg, la CC al parto fue de  $3,0 \pm 0,3$ . La fecha de parto promedio fue el 17/03/19  $\pm 15$  días, y la evaluación se realizó hasta el 06/02/2020.

En los partos de primavera se utilizaron veintisiete bovinos hembra de la raza Holando (CB: n = 13, CA: n = 14). El número de lactancias promedio fue de  $2,7 \pm 1,2$ ; el PV al parto fue de  $620 \pm 64$  kg, la CC al parto fue de  $2,8 \pm 0,2$ . La fecha de parto promedio fue el 09/08/19  $\pm 13$  días, y la evaluación se realizó hasta el 27/05/2020.

### 6.4. Tratamientos

#### *Compost Barn* (CB)

Constaba de un galpón completamente techado, con ventilación (natural y ventiladores), así como aspersores. El área de cama era de  $13,5 \text{ m}^2/\text{animal}$ , siendo utilizado como sustrato aserrín de eucaliptus y pino, chips de madera, cáscara de pino y cáscara de arroz. El material era movido dos veces al día utilizando un cincel y se adicionaba alrededor de 15 cm de sustrato nuevo cada 15-20 días, según la temperatura y humedad de la cama. También contaba con un área de alimentación adyacente con piso de cemento, comederos de acero y bebederos con agua *ad libitum*.





Figura 1. Imagen aérea del compost barn (A), animales echados en la cama de compost (B) y sistema de refrescamiento con aspersores y ventiladores (C)

#### Cielo abierto (CA)

El encierro a cielo abierto constaba de corrales con piso de tierra y zonas con agregado de tosca, disponían de sombra artificial con una estructura de madera y techo de nylon de 4 metros de altura y un área de  $19,2 \text{ m}^2$  para cada 4 vacas. Se disponía de bebederos con agua *ad libitum* y comederos de cemento donde se depositaba el suplemento. Entre el área de alimentación y la sombra existía un área subdividida en dos mitades de manera a utilizar cada una de forma alternada a medida que se acumulaba barro. Con este manejo, el área efectiva utilizada era de  $72,8 \text{ m}^2$  por animal.



Figura 2. Imagen aérea del encierro a cielo abierto (A), sombras artificiales (B) y estado del piso luego de lluvias (C)

(Foto A: gentileza de Rodrigo Lynch y Maximiliano Martínez)

### 6.5. Rutina y manejo de alimentación

Todos los animales tuvieron el mismo manejo preparto en potreros, donde se les suministraba dieta totalmente mezclada (DTM) con sales aniónicas, en comederos de madera acorde a la cantidad de animales. En caso de corresponder (partos de otoño), las vaquillonas y vacas multíparas eran manejadas en potreros separados.

Las vacas ingresaban a su tratamiento correspondiente luego del parto y eran ordeñadas dos veces al día (04:00 y 15:00 h en otoño-invierno y 04:00 y 16:00 h en primavera-verano). La rutina de ordeño iniciaba con el despunte de los pezones, seguido de aplicación de pre-dipping con una solución a base de peróxido de hidrógeno (OxyCide®, GEA Farm Technologies, Inc.) y posterior secado con toallas de papel descartables. Luego del ordeño se realizaba el post-dipping con una solución yodada (LuxSan® X, GEA Farm Technologies, Inc.).

El manejo de la alimentación fue similar en ambas épocas de parto, basado en un modelo mixto con una sesión de pastoreo y otra sesión donde se suministraba la

suplementación en uno de los dos encierros que caracterizaban los tratamientos. Cada sesión era marcada por el intervalo entre ambos ordeños.

La sesión de pastoreo durante el periodo de marzo a octubre 2019 fue entre las 07:00 y 14:00 h, encerrando a los animales luego del ordeño de la tarde. De noviembre 2019 a abril 2020 el pastoreo fue realizado entre las 17:30 a 03:00 h, encerrando a los animales luego del ordeño de la mañana. La suplementación era ofrecida en los comederos de cada encierro luego del ordeño correspondiente a la época: de marzo a octubre a las 17:30 h, y de noviembre a abril a las 08:00 h.

Cuando existía bajo stock forrajero, las vacas se debieron encerrar durante todo el día, lo cual ocurrió cuatro veces durante el período experimental: del 11 al 21/04/2019, del 06 al 19/06/2019, del 19/12/2019 al 01/01/2020 y del 19/03 al 16/04/2020. En dicho caso, los animales eran alimentados con DTM dividida en dos raciones diarias. Durante esos periodos, los animales recibían el mismo manejo, con la única diferencia en el tipo de encierro en que se encontraban.

#### 6.5.1. Suplementación

La DPM era compuesta de ensilaje de planta entera de maíz o sorgo, heno de pastura, y ración comercial. La composición promedio durante todo el periodo para ambas épocas de parto fue de 55,6% de materia seca; 40,7% de fibra detergente neutra; 19,1% de fibra detergente ácida; 14,9% de proteína cruda, 4,6% de extracto etéreo y 9,1% de cenizas. El consumo promedio de suplemento fue de 12,5 kgMS/vaca/día para las vacas con partos de otoño, y 13,5 kgMS/vaca/día para las vacas con partos de primavera.

#### 6.5.2. Pasturas

La carga animal anual era de 2,5 VO (1500 kg de PV) por hectárea de plataforma de pastoreo. Cada tratamiento contaba con 4 recursos forrajeros de 3,2 ha cada uno, formados por: Pradera de primer año de *Medicago sativa* y *Dactylis glomerata*, pradera de segundo año de *Festuca arundinacea*, pradera de tercer año de *Festuca arundinacea* y *Lotus corniculatus*, y verdeos de *Avena sativa* y *Lolium multiflorum* en invierno y *Glycine max* durante el verano.

Dentro del mismo potrero, los tratamientos estaban separados por parcelas contiguas. Durante el periodo que coincidieron en lactación, las vacas del mismo tratamiento de ambas épocas de parto compartieron parcela. El pastoreo era realizado en parcelas de ocupación semanal. La oferta de pastura era ajustada semanalmente considerando la tasa de crecimiento, condiciones de entrada (número de hojas y/o nudos) y el stock de forraje en la plataforma de pastoreo (objetivo de 1800 kgMS/ha). El consumo promedio de pastura fue de 7,8 kgMS/vaca/día para las vacas con partos de otoño, y 6,6 kgMS/vaca/día para las vacas con partos de primavera.

## 6.6. Mediciones

La producción de leche individual se registró en cada ordeño utilizando el sistema de ordeño GEA y su software asociado (DairyPlan C21 herd and parlor management, GEA Farm Technologies Ltd., Cambridge, New Zealand).

Se registró el peso vivo (PV) mensualmente desde los 21 días antes del parto hasta el final de la lactancia. La condición corporal (CC) fue registrada utilizando la escala de 5 puntos (Ferguson et al., 1994), siempre por el mismo observador, de forma quincenal desde los -15 hasta los 120 días respecto al parto y posteriormente de manera mensual. El día del parto también se registraron ambos parámetros.

Se realizó la extracción de sangre de la vena coccígea en tubos con vacío (BD Vacutainer® con activador de coágulo) para determinación de metabolitos en suero (NEFA, BHB, proteínas totales, albúmina, colesterol). Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos y el suero almacenado a -20°C hasta la determinación de los metabolitos. La concentración de globulinas se obtuvo de la diferencia entre las concentraciones de proteínas totales y albúmina (Grille et al., 2019). Las determinaciones se realizaron de forma quincenal desde los -15 hasta los 30 días respecto al parto y luego de forma mensual hasta el día 210 en lactación aproximadamente.

Los metabolitos fueron determinados mediante espectrofotometría (BA200, Biosystems S.A, Barcelona, España), en el Laboratorio de endocrinología y metabolismo animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. Se utilizaron kits comerciales: NEFA -HR 2, Fujifilm Wako Pure Chemical Industries Ltd., Osaka, Japan; BHB, colesterol, proteínas totales y albúmina: Biosystems S.A, Barcelona, España. Para todos los casos, el CV inter ensayo de los sueros control comercial fueron  $\leq$  al 10%.

Además, se colectó sangre en tubos con vacío y anticoagulante (BD Vacutainer® con EDTA K2) para la determinación del recuento leucocitario total (RLT) y diferencial (RLD: linfocitos, neutrófilos, monocitos), de forma quincenal, desde el parto hasta los 60 DPP. Dichas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Análisis Clínicos ALFA, Paysandú, Uruguay. El RLT se determinó mediante impedancia eléctrica más colorimetría (Counter 19, Wiener Lab S.A., Rosario, Argentina). Para determinar el RLD se realizaron extendidos en portaobjetos de la sangre entera, se realizó una coloración de May Grunwald-Giemsa y se observó por microscopía (100x) con aceite de inmersión.

Mensualmente y también al día siguiente de producirse precipitaciones  $> 30$  mm (información obtenida de la Estación Meteorológica de la EEMAC), se evaluó el grado de suciedad de ubre utilizando una escala del 1 al 4: (1) Completamente limpia o muy poca suciedad, 2) Levemente sucia 3) Mayormente cubierta de suciedad 4) Completamente sucia (Schreiner & Ruegg, 2002). Las evaluaciones fueron realizadas siempre por el mismo observador. Se estableció de forma arbitraria el nivel mínimo

de precipitaciones a partir de 30 mm como la cantidad suficiente para la formación de barro de forma significativa, basado en observaciones previas del grupo de investigación (datos no publicados).

Se colectaron muestras de leche (pool de los cuatro cuartos), durante los dos ordeños, para la determinación del RCS por citometría de flujo (Delta CombiScope™ FTIR 600 HP), semanalmente desde el parto hasta los 90 DPP, quincenalmente desde los 91 hasta los 180 DPP y mensualmente desde los 181 hasta los 270 DPP.

En base al RCS se calculó el SCS a través de la fórmula ( $SCS = \log_2(RCS/100.000) + 3$ ) reportada por Shook (1993).

Para determinar la prevalencia relativa de IIM mensual, los animales que presentaron al menos una instancia con RCS mayor a 200.000 cél/mL en ese mes, fueron considerados infectados (Schukken et al., 2003).

Los casos de mastitis clínica eran detectados durante el despunte al inicio de la rutina de ordeño. Además, también se realizaba la inspección de animales con alto recuento individual. El criterio de diagnóstico de mastitis clínica fue la detección de anomalías visibles en leche, con o sin signos de inflamación en ubre (no hubieron casos con toque sistémico, Ruegg, 2012). Una vez diagnosticado el cuarto mamario que presentaba el cuadro clínico, se obtenían muestras de leche en frasco estéril como reportado por NMC (2004), para realizar el cultivo y antibiograma correspondiente. Las muestras fueron conservadas a -5°C y remitidas al Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE, Paysandú para dichos análisis. Las muestras se cultivaron en placas de agar sangre y fueron llevadas a la estufa a 37°C por 24-48 h para poder determinar los microorganismos causantes de la enfermedad, de acuerdo a lo reportado por Giannechini et al. (2002). Se estableció un protocolo único de tratamiento ante casos clínicos de mastitis o según los resultados de antibiograma.

La incidencia de mastitis clínica fue calculada como el número de nuevos casos (vacas presentando la enfermedad por primera vez) dividido por el número de vacas en lactación para cada tratamiento por mes. La incidencia acumulada de mastitis clínica fue calculada como el número total de vacas exhibiendo la enfermedad durante la lactancia entera sobre el número de vacas por tratamiento por 100 (Ruegg, 2011).

Semanalmente se registraron variables de temperatura y humedad de la cama del *compost barn* medidos a una profundidad de 20 cm (Leso et al., 2013). Se tomaron como valores de referencia de humedad entre 40 y 60% , y de temperatura entre 45 y 60°C a los 20-30 cm de profundidad (Black et al., 2013). En marzo se realizó el recambio completo del material de la cama señalado por la flecha en la Figura 3.

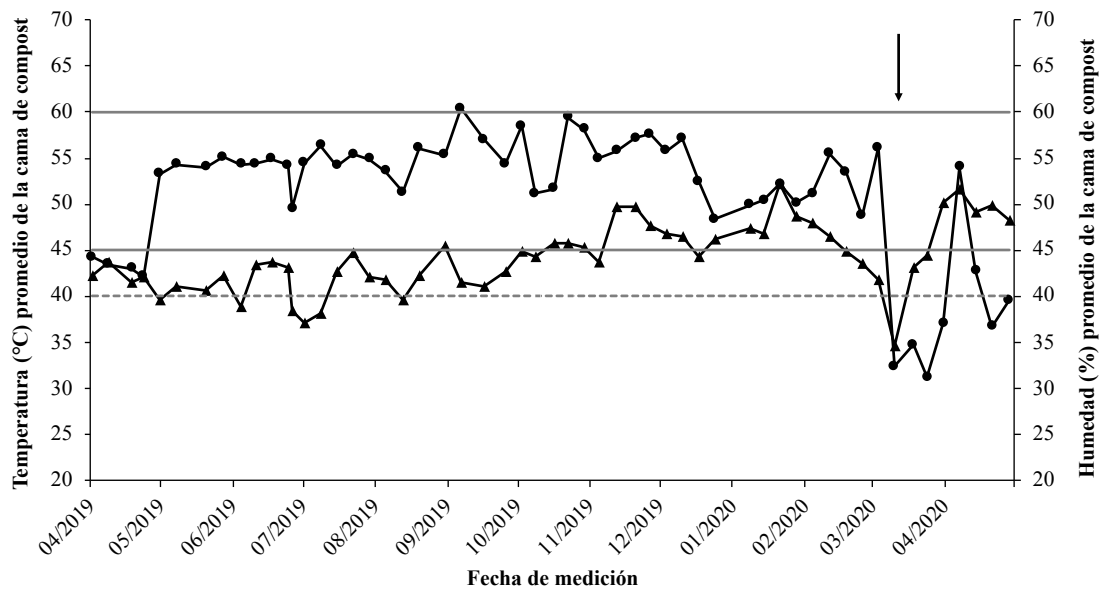


Figura 3. Temperatura (°C, ▲) y humedad (% , ●) promedio de la cama de compost medidas a 20 cm de profundidad durante el periodo experimental. La flecha indica el momento en que se realizó el recambio total de la cama. La línea discontinua paralela al eje x indica la humedad mínima recomendada y las líneas continuas indican la mínima temperatura y la máxima temperatura y humedad recomendadas

Se registró la temperatura y humedad ambiente a cada 30 minutos, obtenidas de la Estación Meteorológica de la EEMAC. En base a la temperatura y humedad se calculó el ITH:  $(1,8 \times T + 32) - [(0,55 - 0,0055 \times HR) \times (1,8 \times T - 26)]$ , donde T = temperatura (°C) y HR = humedad relativa (%); (Dikmen & Hansen, 2009). Se obtuvieron datos de ITH promedio diario, así como los registros máximos y mínimos en el día (Fig. 4).

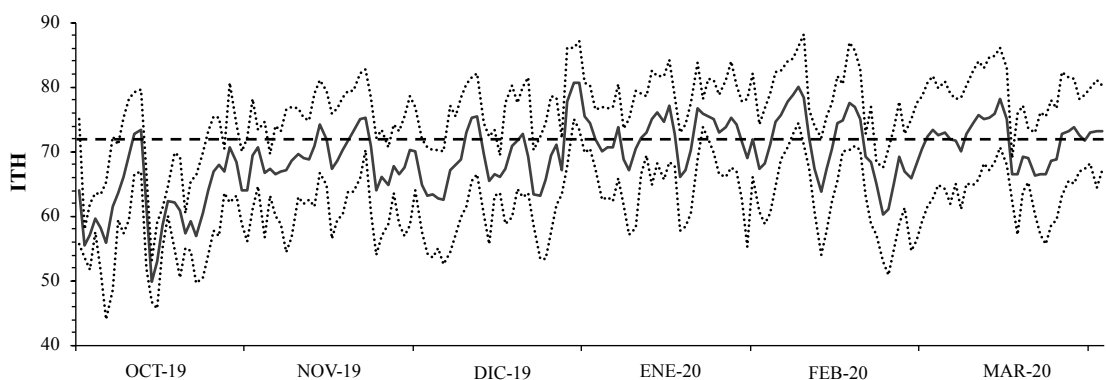


Figura 4. Índice de temperatura y humedad (ITH) promedio diario (línea continua), ITH mínimo y máximo (líneas punteadas inferior y superior, respectivamente) registrados por día, y límite de confort térmico para vacas lecheras (Armstrong, 1974; línea paralela discontinua) entre los meses de octubre 2019 a marzo 2020

## 6.7. Análisis estadístico

La producción de leche diaria se analizó utilizando un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo (Proc MIXED; SAS University Edition, versión 9.4, 2020). En el modelo se incluyeron como efectos fijos el tratamiento, días respecto al parto, la interacción entre tratamiento y días respecto al parto, y el bloque.

Las variables de peso vivo (PV), condición corporal (CC), ácidos grasos no esterificados (NEFA),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), colesterol (COL), proteínas totales, albúmina (ALB) y globulinas (GLOB) fueron analizadas utilizando un modelo lineal generalizado mixto (Proc GLIMMIX; SAS University Edition, versión 9.4 2020), con medidas repetidas en el tiempo. En el modelo se incluyeron como efectos fijos el tratamiento, días respecto al parto y la interacción entre tratamiento y días respecto al parto, y como efecto aleatorio el bloque.

El RLT y el RLD (linfocitos, neutrófilos, monocitos) fueron analizados utilizando un modelo lineal generalizado mixto (Proc GLIMMIX), asumiendo una distribución de Poisson. En los modelos se incluyeron como efectos fijos el tratamiento, días respecto al parto, la interacción entre tratamiento y días respecto al parto, y el bloque.

Todas las comparaciones múltiples post hoc fueron realizadas utilizando Tukey-Kramer.

Se construyó una tabla de frecuencias para visualizar la proporción de vacas de cada tratamiento asignada a cada SSU (1 a 4). Dentro de cada nivel de la escala, se comparó la distribución de observaciones entre tratamientos, mediante la prueba de bondad de ajuste Chi cuadrado, asumiendo una distribución igual entre tratamientos.

Para estudiar el efecto de los tratamientos y de la ocurrencia de precipitaciones sobre el SSU, se ajustó un modelo lineal generalizado mixto (Proc GLIMMIX), de medidas repetidas en el tiempo, asumiendo que la variable de respuesta es Bernoulli, agrupando en “limpias” -score 1 y 2- y “sucias” -score 3 y 4-, como en Schreiner & Ruegg (2003). En el modelo se incluyeron como efectos fijos el tratamiento, día de observación y la interacción entre tratamiento y día de observación, y como efecto aleatorio el bloque. Las comparaciones múltiples post hoc fueron realizadas utilizando Tukey-Kramer. El efecto de las precipitaciones (>30 mm) sobre el SSU se estudió mediante contrastes en que se compararon los días de observación posteriores a la ocurrencia de precipitaciones contra los días sin precipitaciones previas, en forma diferencial para cada tratamiento.

La correlación entre SSU y SCS, y entre SSU e IIM, fue evaluado utilizando el test de correlación de Spearman.

La prevalencia relativa de IIM fue analizada mediante un modelo lineal generalizado mixto (Proc GLIMMIX), para una variable de distribución binomial, con efectos fijos

definidos por el tratamiento, mes y la interacción entre tratamiento y mes, mientras que se tomó el bloque como efecto aleatorio.

Para el análisis de la incidencia relativa de mastitis clínica se realizaron tablas de contingencia y se analizó por medio del test exacto de Fisher para variables binomiales. Además, se calcularon intervalos de confianza (IC) 95% por el método de Wilson Score. Adicionalmente se reportan odds ratio (OR) y su IC 95%.

Estos análisis fueron realizados para cada época de parto (otoño y primavera) separadamente. Para todos los análisis fue considerado un  $P \leq 0,05$  como efecto significativo y tendencia cuando  $0,05 < P \leq 0,10$ .

Los resultados de cultivos bacterianos se presentan de forma descriptiva para cada época de parto según tratamiento.



## 7. RESULTADOS

En los partos de otoño, el tratamiento CB presentó una mayor producción de leche diaria promedio que el tratamiento CA (CB: 26,8±0,2 L/vaca/día vs CA: 26,1±0,2 L/vaca/día, P=0,002). No hubo efecto de la interacción entre tratamiento y días en la producción de leche (Tabla 1, Fig. 5-A). La producción también varió en función del tiempo, aumentando hacia los 35 dpp, manteniéndose hasta los 119 dpp, y disminuyendo posteriormente hacia el final de lactancia (P<0.05).

La producción de leche de las vacas paridas en primavera fue mayor en CB con respecto a CA (CB: 27,0±0,2 L/vaca/día vs CA: 26,1±0,2 L/vaca/día, P=0,0001). No hubo efecto de la interacción entre tratamiento y días sobre la producción de leche (Tabla 1, Fig. 5-B). La producción varió en función del tiempo (P<0,0001), aumentando hacia los 14 dpp y manteniéndose hasta los 42 dpp (P<0,05), disminuyendo posteriormente hacia el día 77 (P<0,05). Desde el día 84 al día 168 postparto los niveles de producción no fueron diferentes y continuaron disminuyendo luego hacia el final de la lactancia (P<0,05).

Tabla 1. Efectos fijos incluidos en el modelo estadístico y su P valor para el análisis de producción de leche, peso vivo (PV), condición corporal (CC), ácidos grasos no esterificados (NEFA), β-hidroxibutirato (BHB), colesterol (COL), proteínas totales (PT), albúmina (ALB) y globulinas (GLOB) en vacas con partos de otoño y primavera

	Partos de Otoño			Partos de Primavera		
	Trat	Per	Trat×Per	Trat	Per	Trat×Per
Producción	0,002	<0,0001	ns	0,0001	<0,0001	ns
PV	ns	<0,0001	ns	0,002	<0,0001	ns
CC	ns	<0,0001	ns	ns	<0,0001	ns
NEFA	ns	<0,0001	ns	ns	<0,0001	0,05
BHB	ns	<0,0001	ns	ns	0,002	0,009
COL	ns	<0,0001	ns	ns	<0,0001	ns
PT	ns	<0,0001	ns	0,07	<0,0002	ns
ALB	ns	<0,0001	ns	ns	0,03	ns
GLOB	ns	<0,0001	ns	ns	<0,0001	ns

ns= no significativo; Trat= tratamiento; Per= días respecto al parto; Trat×Per= interacción tratamiento y días respecto al parto

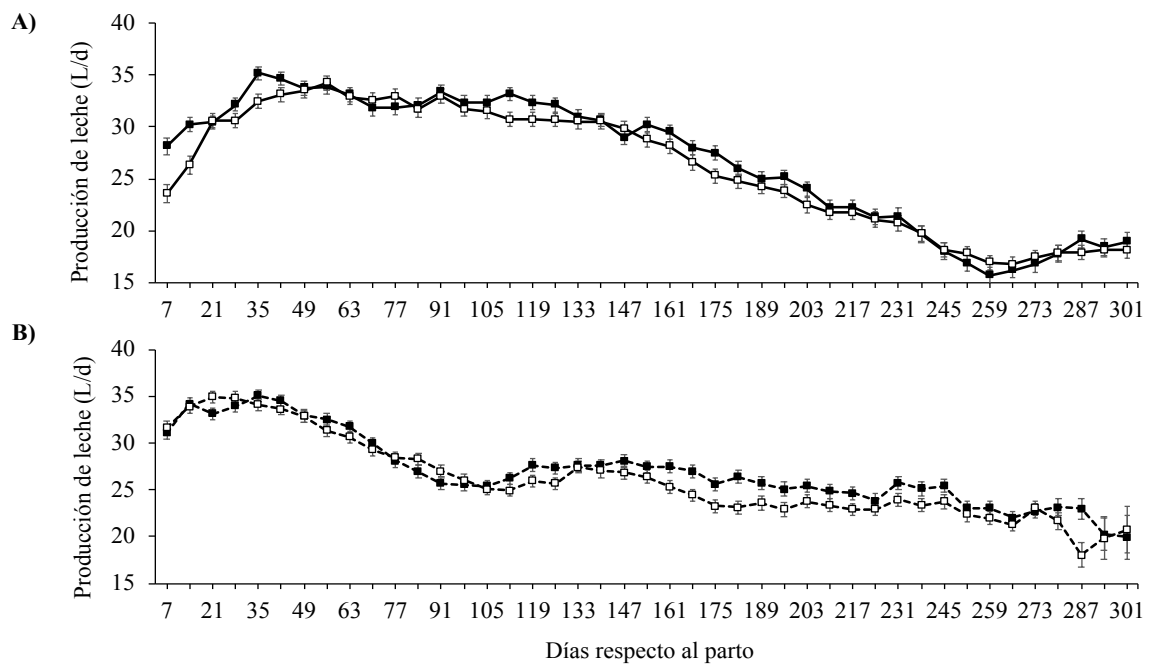


Figura 5. Producción de leche (L/día) promedio y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

No hubo efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días sobre el PV de las vacas con partos de otoño (Tabla 1, Fig. 6-A). El PV cambió en función del tiempo ( $P < 0,0001$ ). Se observó un menor PV a partir del día 30 postparto en comparación a las mediciones realizadas en el preparto (-21) y parto (0) ( $P < 0,0001$ ). A partir del día 30, el PV se mantuvo sin diferencias estadísticas hasta el día 240. Al día 240 el PV fue mayor al registrado al día 180 y 210 ( $P < 0,02$ ), sin diferencias con respecto a los demás periodos. El PV al día 300 fue mayor que al día 60, 180 y 210 ( $P < 0,05$ ), sin diferencias con los demás periodos.

Para los partos de primavera, las vacas del CB presentaron un PV promedio de  $612 \pm 12$  kg, que fue mayor con respecto a las vacas del CA que presentaron un PV de  $585 \pm 13$  kg, en promedio para toda la lactancia ( $P = 0,002$ ). No hubo efecto de la interacción entre tratamiento y días sobre el PV (Tabla 1, Fig. 6-B). A partir del día 30 postparto los valores de PV fueron menores en comparación al parto ( $P < 0,0001$ ). Al día 120, 180 y posteriores, no hubo diferencia significativa con respecto al PV al parto.

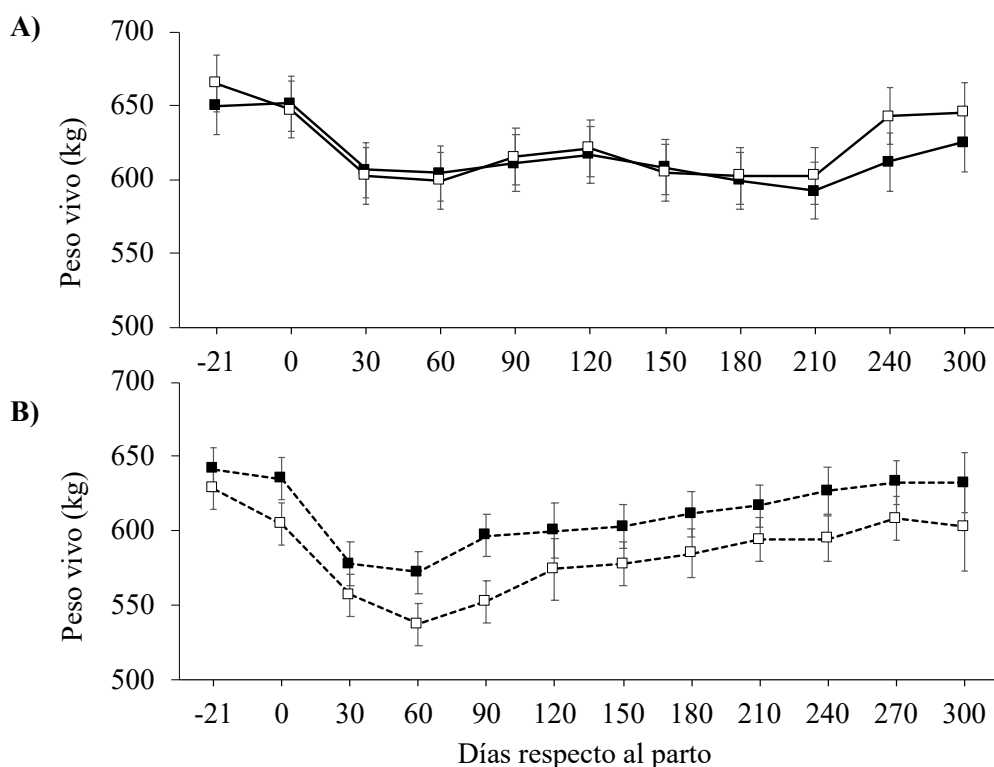


Figura 6. Evolución del peso vivo (kg) promedio y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

Para ambas épocas de parto, no se encontró efecto del tratamiento o la interacción entre tratamiento y días sobre la CC (Tabla 1, Fig. 7). En ambas épocas de parto la CC varió según los días ( $P < 0,0001$ ). Los animales que parieron en otoño llegaron con una CC de  $3,0 \pm 0,04$  al momento del parto, presentando una disminución a partir del día 15 postparto ( $P < 0,0001$ ) que se mantuvo hasta el final de la lactancia. Al día 300 postparto la CC alcanzada no presentó diferencias respecto a la CC preparto de las vacas paridas en otoño. En el caso de los partos de primavera, la CC al parto fue de  $2,8 \pm 0,05$ . Los valores de CC más bajos con respecto al parto se registraron entre el día 30 y 180 en lactación ( $P < 0,05$ ). La recuperación fue más nítida a partir del día 210 postparto, donde ya no presentaron diferencias significativas con respecto a la CC al parto.

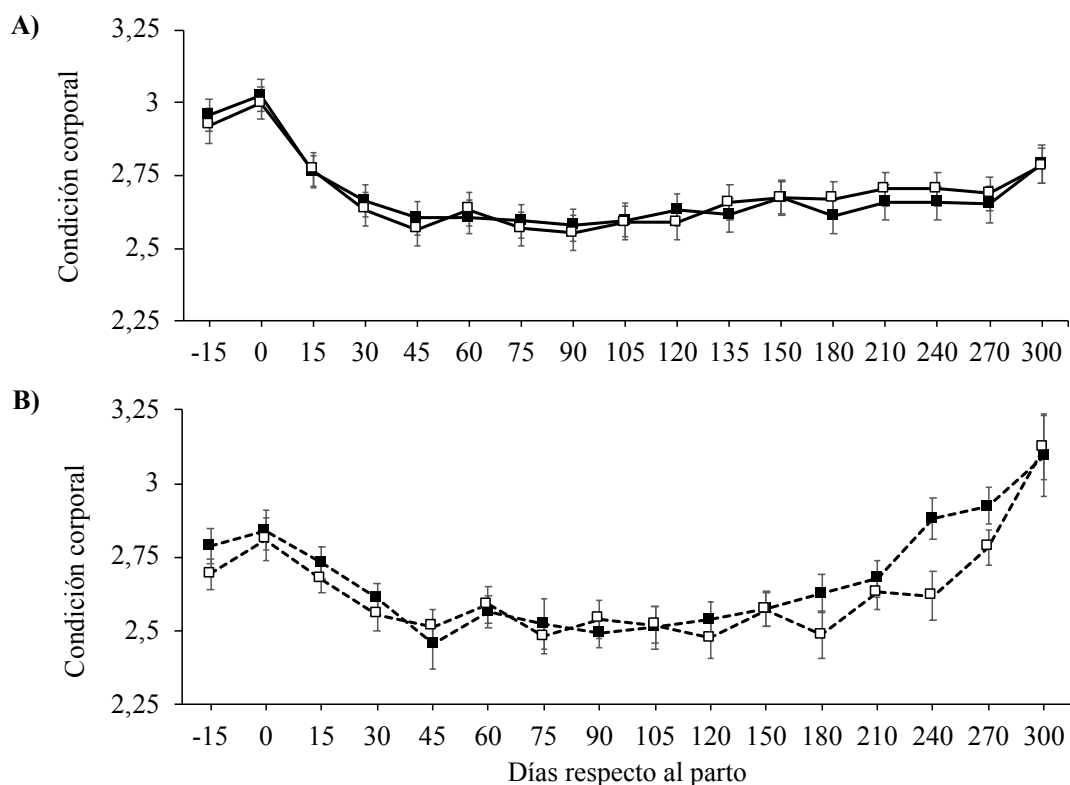


Figura 7. Evolución de la condición corporal (escala 1 a 5) promedio y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA□), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

En las vacas paridas en otoño, no hubo efecto de tratamiento o la interacción entre tratamiento y días sobre la concentración de NEFA (Tabla 1, Fig. 8-A). La concentración de NEFA varió en función del tiempo, y fue más elevada al parto y a los 15 días postparto ( $P < 0,0001$ ) con respecto a los demás periodos. A partir del día 30 postparto la concentración fue similar a la del preparto.

En la parición de primavera, no hubo efecto significativo del tratamiento sobre la concentración de NEFA (Tabla 1). Hubo efecto de los días ( $P < 0,0001$ ), y de la interacción entre tratamiento y días ( $P = 0,05$ ) sobre la concentración de NEFA de las vacas paridas en primavera. Ambos tratamientos tuvieron valores más elevados al parto con respecto al preparto ( $P < 0,0001$ ), sin diferencias entre tratamientos. Sin embargo, a los 15 días postparto la concentración de NEFA en CA fue más baja con respecto a CB ( $P = 0,0001$ ; Fig. 8-B). La concentración de NEFA volvió a alcanzar valores similares a las del preparto a partir del día 60 en CA y del día 90 en CB.

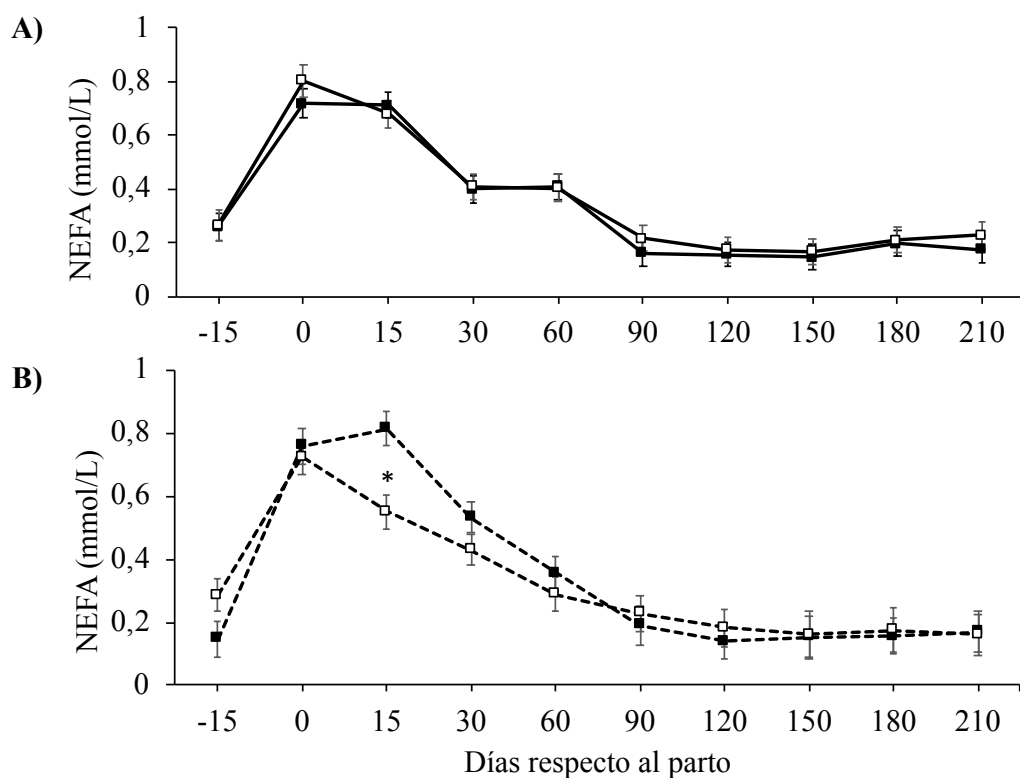


Figura 8. Concentración de ácidos grasos no esterificados (NEFA, mmol/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B). El asterisco (\*) indica diferencias significativas entre tratamientos para ese día

La concentración de BHB no presentó efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días, en las vacas paridas en otoño (Tabla 1, Fig. 9-A). Hubo efecto de los días ( $P < 0,0001$ ) sobre la concentración de BHB, que fue significativamente mayor al día 15 postparto con respecto a los demás periodos ( $P < 0,05$ ), con excepción del día 30, con el cual no hubo diferencias. La concentración al día 30 también fue mayor en comparación al día 60 ( $P < 0,04$ ), sin diferencias con respecto a los demás periodos.

Para los partos de primavera, no hubo diferencias significativas entre tratamientos en la concentración de BHB (Tabla 1). Sin embargo, hubo efecto de la interacción entre tratamiento y días ( $P = 0,009$ ) y de los días ( $P = 0,002$ ) sobre la concentración de BHB. Al día 15 postparto el tratamiento CB presentó una concentración de BHB mayor en comparación a CA ( $P = 0,03$ ). Por otro lado, al día 90 postparto, las vacas del tratamiento CA presentaron una concentración más elevada ( $P = 0,004$ ), con un promedio de  $1,3 \pm 0,1$  mmol/L, con respecto a CB que presentó un promedio de  $0,7 \pm 0,2$  mmol/L de BHB (Fig. 9-B). Para las vacas del CB, además de una mayor concentración al día 15, también se registró un aumento de la concentración de BHB al día 150, con respecto al parto y preparto ( $P < 0,05$ ). Para las vacas en CA, la concentración promedio de BHB al día 90 fue superior a la de los demás días ( $P < 0,05$ ), con excepción con el día 30 y 120 donde no hubo diferencias significativas. La concentración del día 30 y 120 fue superior a los demás días ( $P < 0,05$ ), salvo con la del

día 60 donde no presentó diferencias significativas. A su vez, la concentración del día 60 fue estadísticamente superior a la del parto (P=0,02).

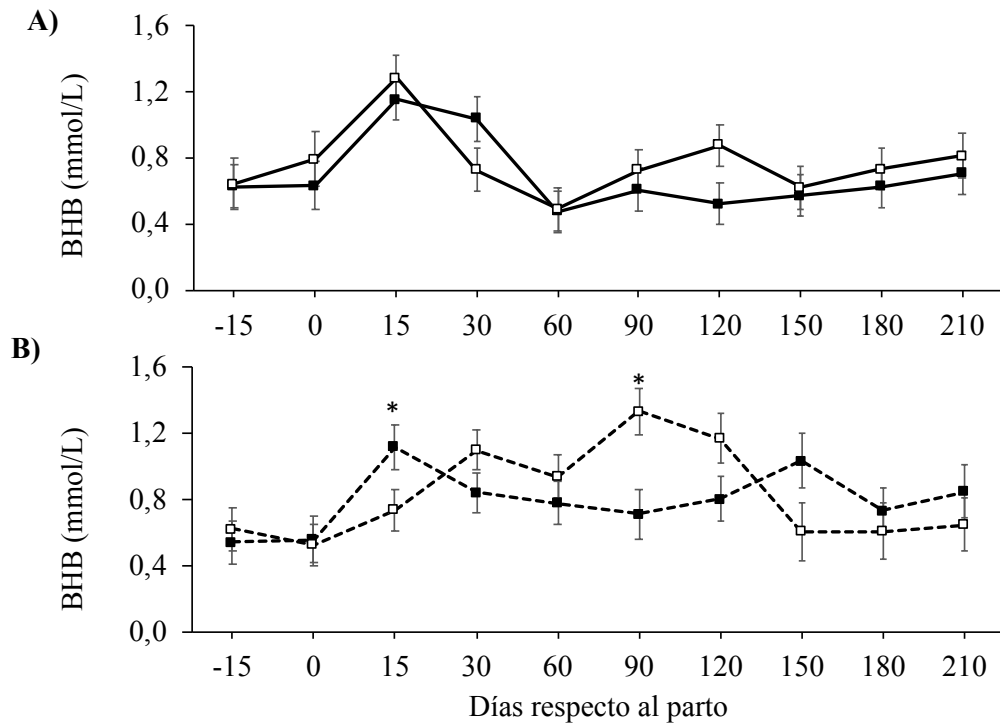


Figura 9. Concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB, mmol/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y *cielo abierto* (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B). Los asteriscos (\*) indican diferencias significativas entre tratamientos para ese día

El colesterol no presentó efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días (Tabla 1, Fig. 10), en ambas épocas de parto. Sin embargo el colesterol varió en función del tiempo (P<0,0001) en ambas pariciones. Para los animales con partos de otoño, el valor más bajo de colesterol se registró el día del parto (P<0,001). La concentración fue aumentando luego del parto, con una disminución puntual al día 90, registrándose los mayores valores al día 180 y 210 postparto (P<0,0001). En el caso de la parición de primavera, la concentración más baja de colesterol se registró en el preparto y parto. El colesterol fue aumentando luego del parto y a partir del día 60 en adelante alcanzaron los valores más altos con respecto a los demás periodos (P<0,005).

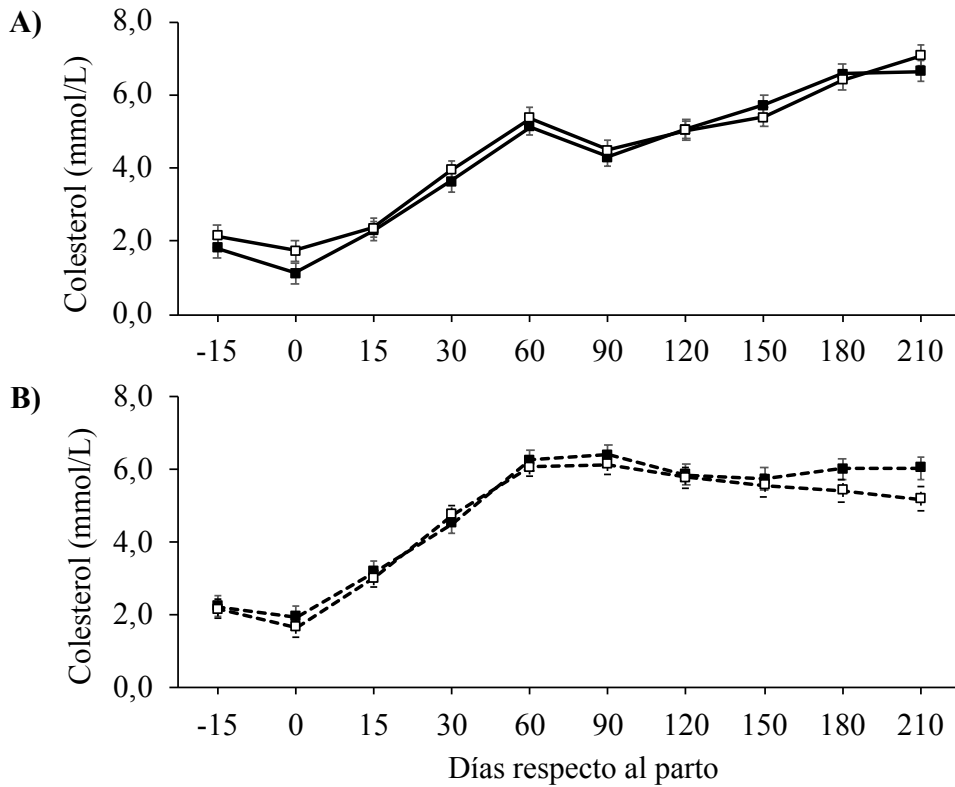


Figura 10. Concentración de colesterol (mmol/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

Respecto a las proteínas totales séricas, en el caso de las vacas con partos de otoño, no hubo efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días (Tabla 1, Fig. 11-A). Se evidenció efecto de los días ( $P < 0,0001$ ), con menor concentración de proteínas totales al parto, respecto a los demás periodos ( $P < 0,05$ ) y una posterior recuperación en el transcurso de la lactancia.

Las vacas paridas en primavera del tratamiento CB, tendieron a presentar una mayor concentración de proteínas totales ( $67,6 \pm 1,6$  g/L) respecto a CA ( $64,2 \pm 1,6$  g/L), en promedio para toda la lactancia ( $P = 0,07$ ). No hubo efecto de la interacción entre tratamiento y días (Tabla 1, Fig. 11-B). Las proteínas totales variaron en función del tiempo en dicha parición ( $P < 0,0001$ ), con una menor concentración al parto, respecto a los demás periodos ( $P < 0,05$ ), salvo al día -15 y 60, con los cuales no presentó diferencias significativas.

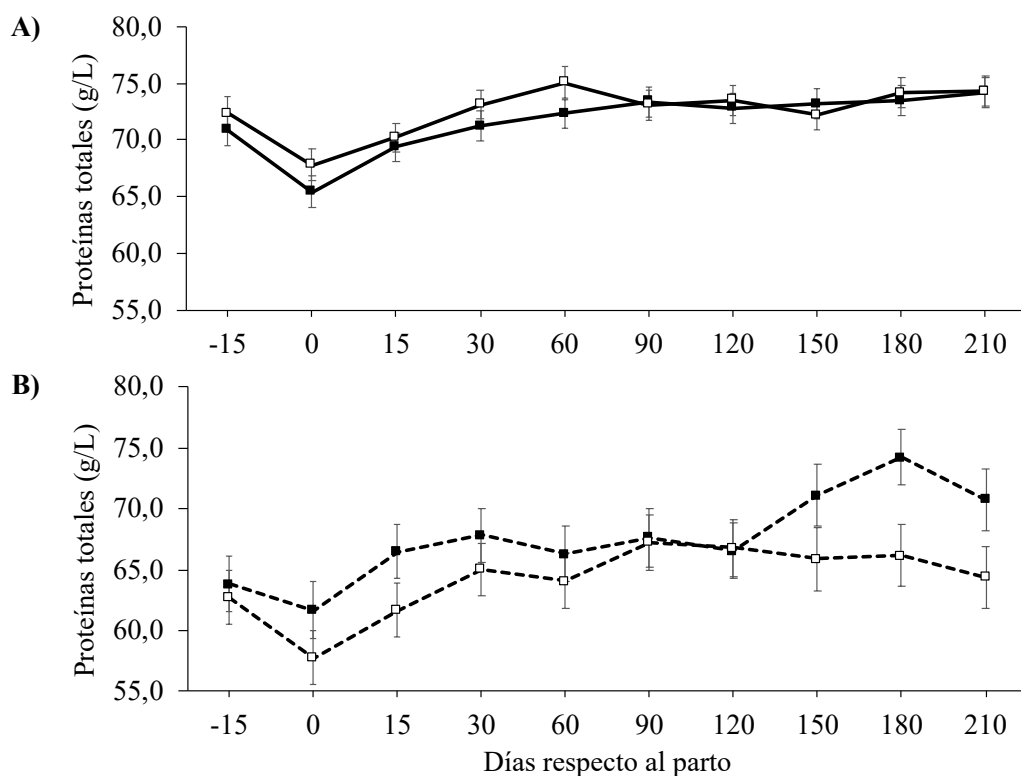


Figura 11. Concentración de proteínas totales (g/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA□), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

No hubo efecto de tratamiento y de la interacción entre tratamiento y días sobre la concentración de albúmina, en ambas pariciones (Tabla 1, Fig. 12). La albúmina presentó efecto de los días en la parición de otoño ( $P < 0,0001$ ), donde se registraron valores más bajos al día 15 postparto con respecto a los demás periodos ( $P < 0,05$ ), con excepción con los días 30 y 90 postparto, con los cuales no presentó diferencias significativas. En los partos de primavera, también hubo efecto de los días ( $P = 0,03$ ), y la diferencia estuvo marcada por una menor concentración de albúmina en el preparto con respecto al día del parto ( $P = 0,009$ ), sin diferencias entre los demás periodos.



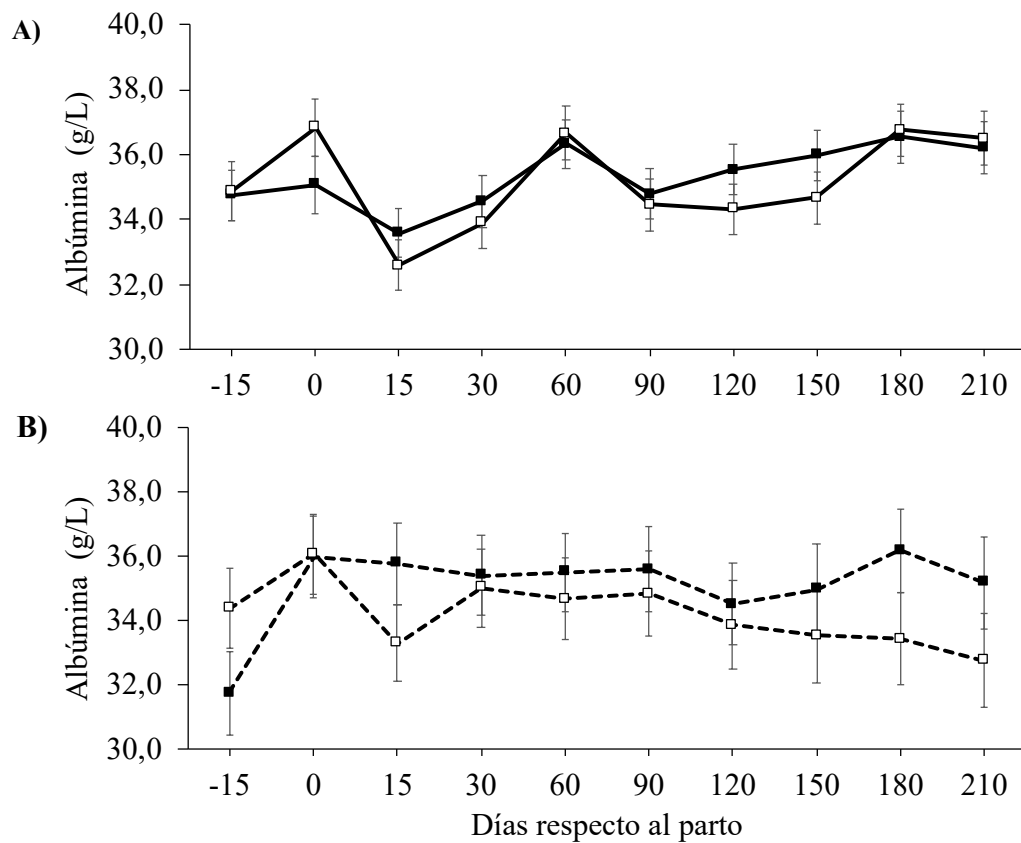


Figura 12. Concentración de albúmina (g/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

Las globulinas no presentaron efecto del tratamiento o la interacción entre tratamiento y días en ambas épocas de parición (Tabla 1, Fig. 13). La concentración de globulinas varió en función del tiempo ( $P < 0,0001$ ), en ambas pariciones, donde el valor más bajo fue registrado al momento del parto comparado a los demás periodos ( $P < 0,001$ ), con posterior recuperación.

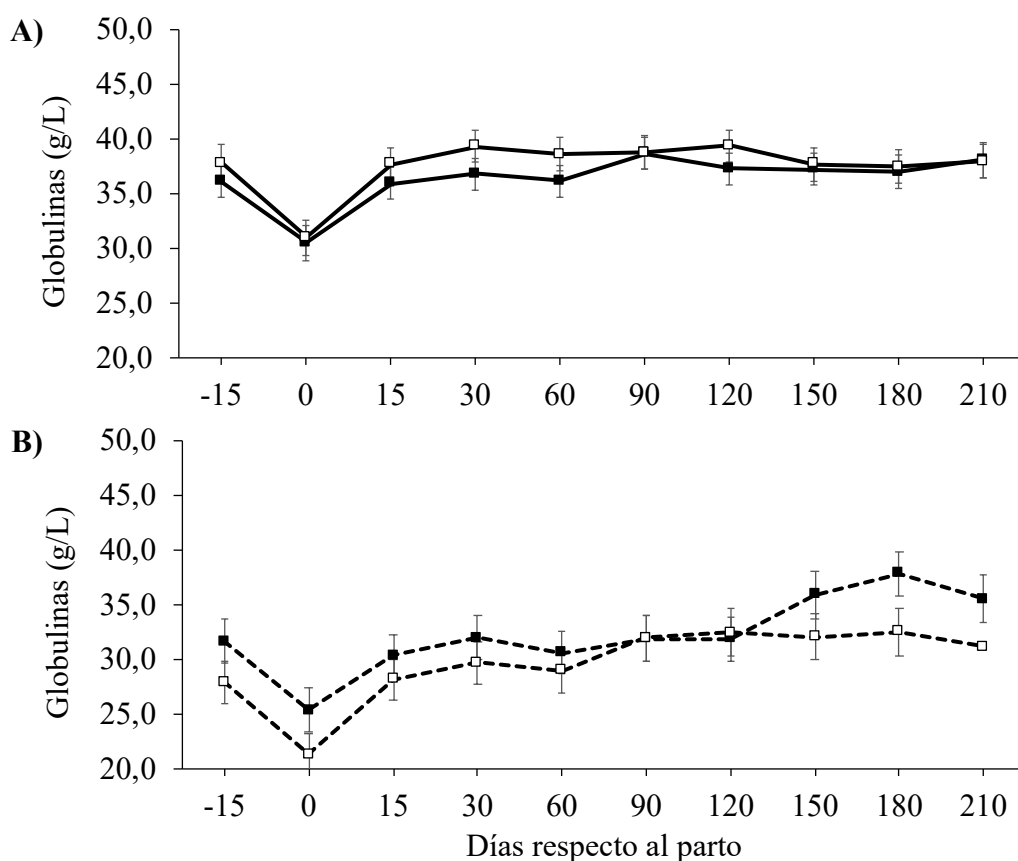


Figura 13. Concentración de globulinas (g/L) y error estándar de la media para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (A) y primavera (B)

En lo que respecta al RLT, no hubo efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días en las vacas paridas en otoño (Tabla 2, Fig. 14-A). El RLT varió según los días ( $P=0,0003$ ), siendo más alto al día 1 postparto con respecto a los demás periodos ( $P<0,05$ ). En la parición de primavera, no hubo efecto de tratamiento sobre el RLT (Tabla 2). Sin embargo, hubo una tendencia de efecto de la interacción entre tratamiento y días, donde al día 60, el RLT del tratamiento CA tendió a ser a mayor con respecto a CB ( $P=0,09$ ; Fig. 14-B). También hubo efecto de los días ( $P=0,01$ ), con un mayor RLT al día 15 respecto al día 45 ( $P=0,04$ ), sin diferencias con respecto a los demás periodos.

Tabla 2. Efectos fijos incluidos en el modelo estadístico y su P valor para el análisis de recuento leucocitario total (RLT), linfocitos, neutrófilos y monocitos en número de células/ $\mu$ L, en vacas con partos de otoño y primavera

	Partos de Otoño			Partos de Primavera		
	Trat	Per	Trat×Per	Trat	Per	Trat×Per
Leucocitos	ns	0,0003	ns	ns	0,01	0,09
Linfocitos	ns	0,04	ns	ns	ns	ns
Neutrófilos	ns	0,0003	ns	ns	0,005	0,06
Monocitos	ns	ns	ns	ns	0,06	ns

ns= no significativo; Trat= tratamiento; Per= días respecto al parto; Trat×Per= interacción tratamiento y días respecto al parto

No hubo efecto del tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días sobre el recuento de linfocitos para las vacas paridas en otoño (Tabla 2, Fig. 14-C). Hubo efecto de los días ( $P=0,04$ ), sin embargo, por la prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer no se encontraron diferencias significativas, y desde el punto de vista biológico las diferencias son mínimas. En la parición de primavera, no hubo efecto significativo del tratamiento, días o la interacción entre ambos (Fig. 14-D) sobre el recuento de linfocitos (Tabla 2).

El recuento de neutrófilos no presentó efecto del tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días en la parición de otoño (Tabla 2, Fig. 14-E). Hubo efecto de los días ( $P=0,0003$ ): se encontró mayor número de neutrófilos al día 1 con respecto a los demás periodos ( $P<0,05$ ), para las vacas paridas en dicha estación. No hubo efecto significativo de tratamiento sobre el recuento de neutrófilos de las vacas paridas en primavera (Tabla 2). Hubo una tendencia de efecto de la interacción entre tratamiento y días ( $P=0,06$ ; Fig. 14-F), con un mayor recuento de neutrófilos en el CA con respecto a CB al día 15 ( $P=0,07$ ). También hubo efecto de los días ( $P=0,005$ ), donde se encontró un mayor número de neutrófilos al día 1 y 15 con respecto al día 45 postparto ( $P<0,05$ ), sin diferencias entre los demás periodos.

El número de monocitos no presentó efecto de tratamiento, días o de la interacción entre tratamiento y días, en las vacas paridas en otoño (Tabla 2; Fig. 14-G). En las vacas paridas en primavera no hubo efecto de tratamiento o de la interacción entre tratamiento y días sobre el recuento de monocitos (Tabla 2, Fig. 14-H). El recuento de monocitos en las vacas paridas en primavera tendió a ser mayor al día 15 con respecto al día 45 ( $P=0,06$ ).

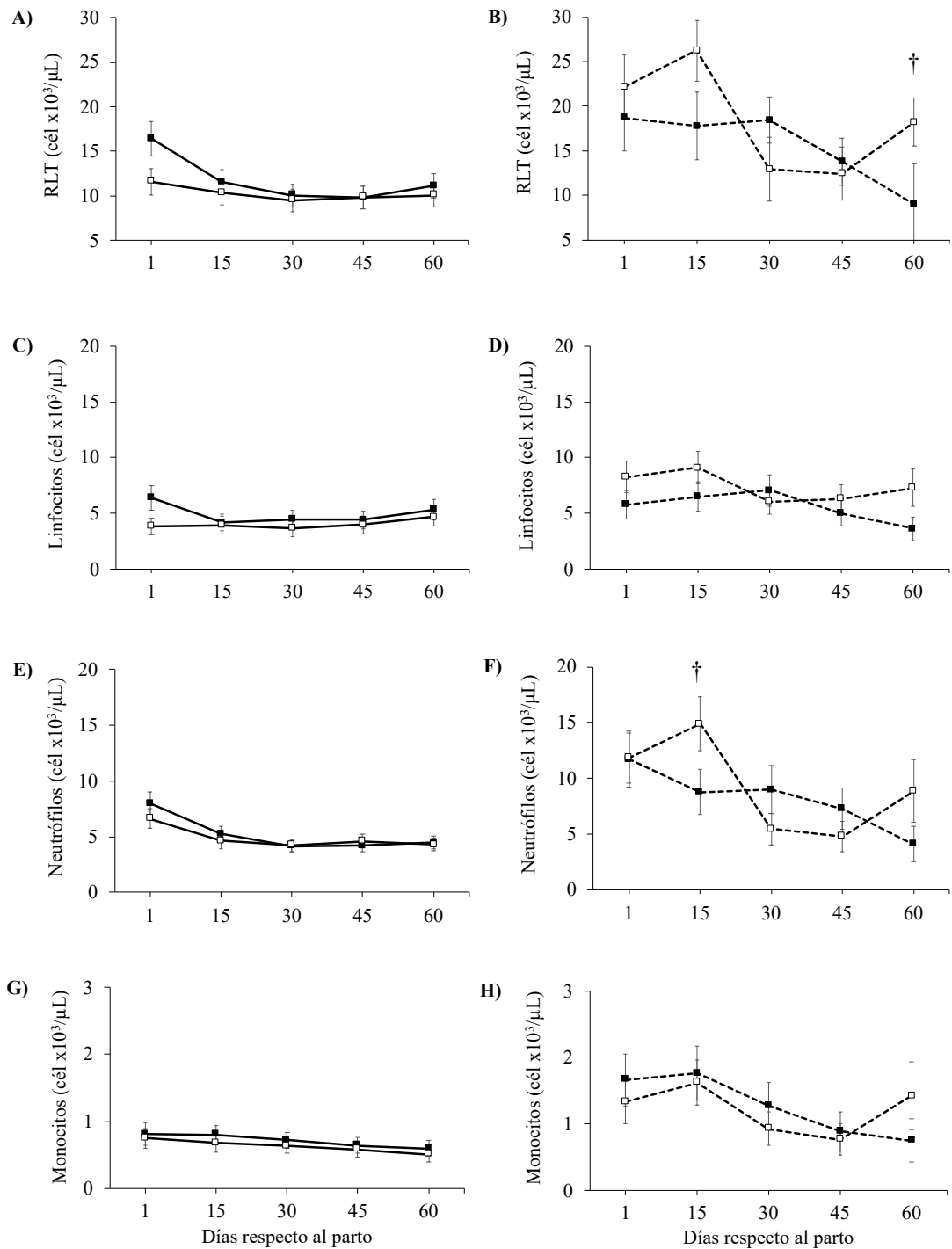


Figura 14. Recuento leucocitario total (RLT, A y B), linfocitos (C y D), neutrófilos (E y F) y monocitos (G y H) en células  $\times 10^3/\mu\text{L}$  y error estándar de la media, para los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), según días respecto al parto, para los partos de otoño (izquierda: A, C, E, G) y primavera (derecha: B, D, F, H). La cruz (†) indica tendencia ( $0,05 < p < 0,1$ ) de diferencia entre tratamientos para ese día respecto al parto.

Del total de vacas asignadas a cada nivel del SSU se calculó la proporción de las mismas pertenecientes a cada tratamiento. En el score 1 (limpio), predominaron las vacas del CB (> 70%) en comparación a CA, tanto para la parición de otoño ( $P<0,0001$ ; Fig. 15-A) como para la de primavera ( $P=0,001$ ; Fig. 15-B). De manera contraria, en el score 4 (muy sucio) hubo un mayor porcentaje de vacas del CA con respecto a CB ( $P<0,0001$ ), en ambas épocas de parto. En los SSU intermedios no hubo diferencias significativas entre tratamientos, salvo para el score 3 en otoño donde también predominaron las vacas del CA con respecto a CB ( $P=0,001$ ).

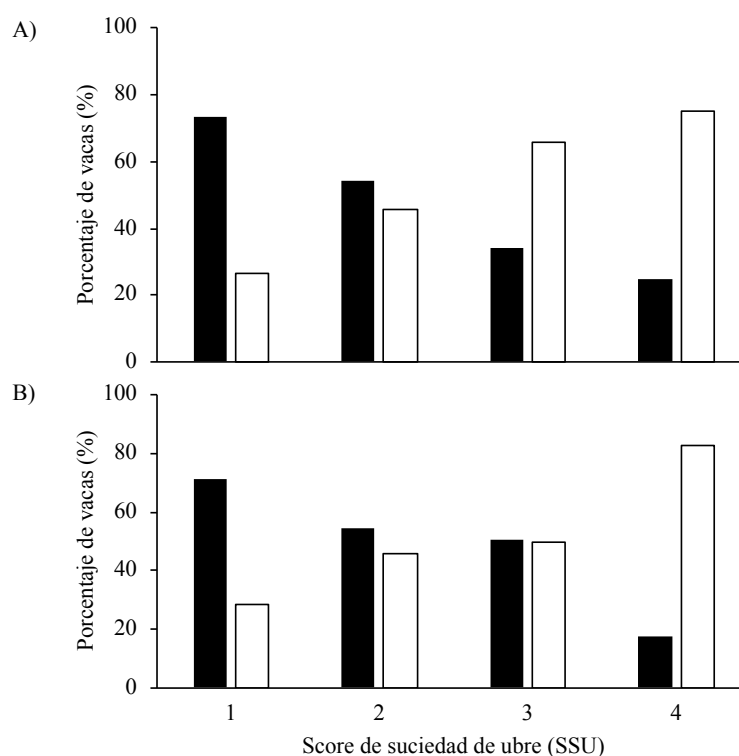


Figura 15. Porcentaje de vacas de los tratamientos *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □) atribuidas a cada grado (1-4) de score de suciedad de ubre (SSU) para los partos de otoño (A) y primavera (B) en promedio para la lactancia completa

El SSU clasificado como “limpio” y “sucio” tuvo efecto del tratamiento ( $P<0,0001$ ): el tratamiento CA presentó un mayor porcentaje de vacas con SSU “sucio” con respecto a CB, en ambas pariciones. Referente a los partos de otoño, el tratamiento CA presentó un 43,0% de las vacas clasificadas con SSU “sucio”, mientras que en el CB este valor fue de un 19,8% (OR= 3,6; IC 95%: 2,4-5,3;  $P<0,0001$ ), en promedio para toda la lactancia. Para los partos de primavera, un 57,5% de las vacas del CA y el 28,0% del CB fueron clasificadas con SSU “sucio” (OR= 2,4; IC 95%: 1,5-3,8;  $P<0,0001$ ), en promedio para todo el periodo experimental. En otoño, no hubo interacción entre tratamiento y día sobre el porcentaje de vacas con SSU “sucio” (Fig. 16-C). Dicha interacción fue significativa en el caso de las vacas paridas en primavera ( $P=0,03$ ), donde hubo un mayor porcentaje de vacas con SSU “sucio” en el tratamiento CA con respecto a CB, en las observaciones realizadas durante diciembre y enero (Fig.

16-B). Dentro de CB, el mayor porcentaje de vacas sucias se registró en la observación de setiembre, la segunda observación de octubre, y las observaciones de noviembre ( $P<0.05$ ). En CA, la segunda observación realizada en noviembre y las observaciones de diciembre y enero presentaron mayor porcentaje de vacas sucias ( $P<0,05$ ). Se observó efecto del día de observación sobre el porcentaje de vacas con SSU “sucio” en los partos de otoño ( $P<0,0001$ ). Hubo mayor porcentaje de vacas con SSU “sucio” en mayo con respecto a la primera observación realizada en abril 2019, a la observación de agosto y a la primera observación de octubre ( $P<0,05$ ). La primera observación realizada en noviembre presentó mayor porcentaje de vacas con SSU “sucio” con respecto a la medición de agosto ( $P<0,05$ ), sin diferencias entre las demás observaciones. En la parición de primavera también hubo efecto del día de observación ( $P=0,01$ ). La segunda observación realizada en noviembre presentó un mayor porcentaje de vacas con SSU “sucio” con respecto a las observaciones de agosto y febrero ( $P<0,05$ ).

Cuando se analizó el efecto de la ocurrencia de precipitaciones sobre el SSU, no se encontró efecto significativo para el tratamiento CB de partos de otoño. Sin embargo, para las vacas del CA paridas en otoño, hubo diferencias significativas ( $P=0,05$ ). En dicho tratamiento, un 50,5% de las vacas fueron consideradas con un SSU “sucio” en las observaciones realizadas luego de lluvias mayores a 30 mm, mientras que, en las observaciones sin precipitaciones previas, este porcentaje fue de 34,8% (OR=1,85; IC 95%: 1,1-3,1;  $p=0,02$ ). Para los partos de primavera, no hubo efecto de precipitaciones sobre el porcentaje de vacas con SSU “sucio” para ninguno de los dos tratamientos.

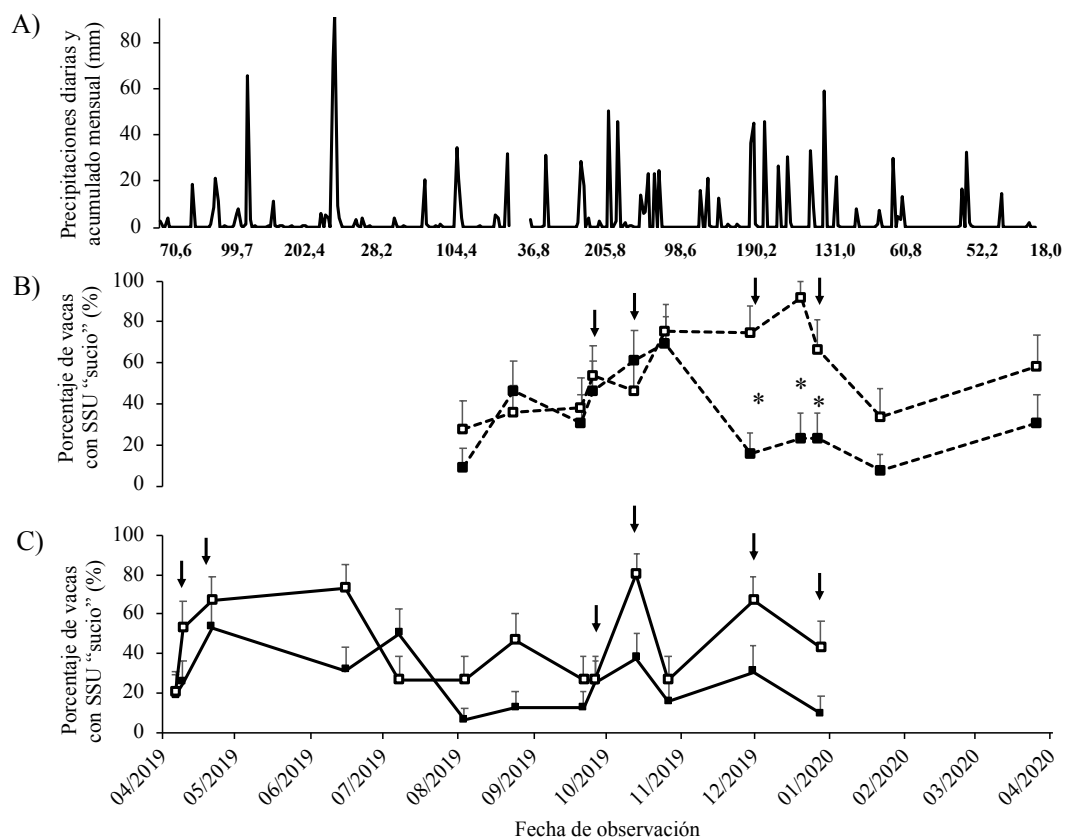


Figura 16. Porcentaje de vacas con score de suciedad de ubre (SSU) “sucio” (score 3 y 4) según día de observación, para el tratamiento *compost barn* (CB ■) y cielo abierto (CA □), en los partos de otoño (C) y primavera (B), precipitaciones diarias y acumulado mensual en mm (A) durante el mismo periodo. Las flechas indican las observaciones post precipitaciones (> 30 mm). Asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de los partos de primavera ( $P < 0,05$ )

Para los partos de otoño, no se encontró efecto de la correlación entre SSU y SCS para CB, sin embargo, hubo una tendencia en el tratamiento CA ( $r=0,11$ ;  $P=0,09$ ). Referente a los partos de primavera, no hubo correlación significativa para ninguno de los dos tratamientos.

De manera similar, no se observó correlación significativa entre SSU e IIM para CB con partos de otoño, sin embargo, esta correlación fue significativa ( $r=0,13$ ;  $P=0,05$ ) para el tratamiento CA en dicha época de parición. Para los partos de primavera no hubo significativa correlación en ningún tratamiento.

La prevalencia relativa de IIM no fue afectada por el tratamiento, mes o la interacción entre tratamiento y mes en los partos de otoño. Esta prevalencia de IIM fue de 48,0% para CB y 36,3% para CA.

De la misma manera, en los partos de primavera no hubo efecto significativo del tratamiento o la interacción entre tratamiento y mes, siendo la prevalencia relativa de IIM de 35,6% y 39,1% para CB y CA, respectivamente. Sin embargo, se encontró efecto del mes ( $P=0,01$ ), y esto estuvo dado por una mayor ( $P=0,02$ ) prevalencia relativa de IIM en diciembre ( $63,7 \pm 10,0\%$ ) en comparación a agosto ( $13,8 \pm 8,2\%$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la incidencia relativa acumulada de mastitis clínica, en ambas épocas de parición. Para los partos de otoño, la incidencia relativa de mastitis clínica acumulada durante todo el periodo experimental en el CB fue de 31% (IC 95%: 14-56%), y en el CA fue de 53% (IC 95%: 30-75%). Mientras que para los partos de primavera esta fue de 54% (IC95%: 29-77%) para CB y 50% (IC95%: 27-73%) para CA.

Se realizaron 19 cultivos bacterianos de los cuartos individuales afectados por mastitis clínica para CB y 8 para CA, con partos de otoño. Por otro lado, en los partos de primavera, fueron realizados 15 cultivos para CB y 8 para CA. En ambas épocas de parto el tratamiento CA presentó aislamientos de *Escherichia coli* y *Streptococcus uberis*, mientras que en CB además de esas bacterias, fueron aisladas *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Nocardia spp* y *Staphylococcus coagulasa* negativo (Tabla 3).

Tabla 3. Aislamientos bacterianos de muestras de leche de cuartos individuales con mastitis clínica de los tratamientos *compost barn* (CB) y cielo abierto (CA) para los partos de otoño y primavera

Patógeno	Partos de otoño		Partos de primavera	
	CB	CA	CB	CA
	n (19)	n (8)	n (15)	n (8)
<b>Gram-negativos</b>				
<i>Escherichia coli</i>	1	2	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2	-
<b>Gram-positivos</b>				
<i>Streptococcus uberis</i>	2	1	1	1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	-	-	-
<i>Nocardia spp.</i>	1	-	1	-
Staphylococcus Coagulasa-negativo	2	-	2	-
Sin crecimiento	11	4	7	5
Contaminadas	1	1	1	-



## 8. DISCUSIÓN

En este trabajo se confirmó parcialmente la hipótesis planteada, que las condiciones de mayor confort y menor exposición al clima durante el encierro ofrecidas en el CB resultarían en mejor performance comparado a CA. El sistema CB presentó una mayor producción de leche y menor score de suciedad de ubre, en ambas épocas de parición. Otros efectos se hicieron más evidentes según la época de parto, como los parámetros metabólicos e inmunes que presentaron diferencias en la parición de primavera, y en el caso de la parición de otoño con el agravado del SSU bajo condiciones de lluvia y la correlación entre SSU e IIM para el tratamiento CA. No obstante, no se detectaron diferencias en la incidencia de mastitis entre tratamientos, en ambas épocas de parición. De acuerdo a los antecedentes disponibles, este es el primer trabajo a nivel nacional e internacional que ha evaluado el efecto del ambiente productivo durante el encierro en sistemas mixtos en la lactancia completa de vacas lecheras paridas en dos épocas distintas, sobre estos parámetros de salud.

A pesar de ser modesta, se evidenció un aumento en la producción de leche para el tratamiento CB con respecto a CA, de aproximadamente 0,7 L/vaca/día (+ 2,6%) y 0,9 L/vaca/día (+ 3,3%), en la parición de otoño y primavera, respectivamente. De acuerdo a la hipótesis de este trabajo, la mejor producción en el sistema CB estaría favorecida por las condiciones de confort de este sistema, con ausencia de barro y mitigación del estrés calórico dada la infraestructura disponible. Marcondes et al. (2019) también encontraron una respuesta positiva en la producción individual (+13,3%) en sistemas comerciales que migraron de CA a CB. La mayor respuesta visualizada en dicho estudio pudo deberse a que eran sistemas totalmente estabulados. Hallazgos similares en sistemas que provenían de *tie-stall* o *free-stall* también han sido reportados (Barberg et al., 2007). En la parición de otoño, los niveles de producción de las primeras semanas postparto, por encima de 30 litros diarios, se asemejan a los antecedentes reportados por Fajardo et al. (2015) para vacas con similar tipo de dieta y época de parición. Si bien, no se evidenciaron tan claramente los dos picos de producción reportados por Chilbroste (2012) para esta época de parto en sistemas pastoriles, sí se constató una persistencia por encima de 30 L/d por un amplio periodo, desde el día 35 y hasta el día 140 respecto al parto. Si bien la producción de leche de las vacas paridas en primavera llegó a valores por encima de 30 litros diarios, esto se sostuvo hasta el día 63 postparto. La menor persistencia del pico productivo en las vacas paridas en primavera con relación a lo observado en la lactancia de otoño, podría deberse al inicio del estrés calórico (Polsky & von Keyserlingk, 2017). Además, la CC al parto por debajo de lo recomendado podría también estar limitando el potencial productivo (Roche et al., 2009). A pesar de que la producción de leche bajó paulatinamente luego de ese periodo, a partir del día 90, aproximadamente, logró estabilizarse por encima de 20 litros hasta el final de la lactancia, resultando en un promedio diario similar al de la lactancia de otoño.

Para los partos de otoño, los indicadores de balance energético (PV, CC, NEFA y BHB) no se diferenciaron entre tratamientos, a diferencia de la hipótesis planteada.

Tucker et al. (2007) encontraron un aumento en las concentraciones de NEFA en condiciones de lluvia y viento simulando el invierno, comparado a vacas mantenidas en corrales cubiertos. Por otra parte, Schütz et al. (2010) encontraron una disminución en el consumo de alimento en vacas expuestas a lluvia y viento, respecto a un grupo control, lo que podría tener prejuicios en el balance energético. Es probable que el clima más ameno de otoño en el que transcurrieron la lactancia temprana, contribuyó a que los desafíos ambientales no fueran tan contrastantes entre sistemas durante el periodo más crítico de BEN, explicando estos resultados. Además, la estructura de madera con techo del CA podría haber sido suficiente como refugio para los animales, similar al tratamiento control utilizado por Tucker et al. (2007). Respecto a la evolución en función del tiempo, el BEN se evidenció en ambos tratamientos de otoño, a través de la disminución de PV y CC, así como por el aumento de NEFA y BHB luego del parto (Meikle et al., 2013). La CC presentó una recuperación tardía, dado que recién en la última medición realizada al final de la lactancia se registraron niveles de CC similares al preparto. Esto es coherente con los niveles de producción que se mantuvieron elevados (Fajardo et al., 2015), reflejando un mecanismo de homeorhesis que priorizó la producción de leche a expensas de las reservas corporales (Meikle et al., 2013), durante gran parte de la lactancia. De manera similar, la recuperación de PV se evidencia a partir del día 240, momento en que la producción presentó niveles más cercanos a los 20 litros diarios. El aumento de NEFA en suero sanguíneo al momento del parto y al día 15 postparto, coincide con los antecedentes (Meikle et al., 2013), y superaron el punto de corte de 0,7 mmol/L (Ospina et al., 2013). El aumento de BHB al día 15 postparto también fue reflejo de esa lipomovilización y aumento de la cetogénesis, alcanzando concentraciones de 1,2 mmol/L, considerados como referencia para el diagnóstico de cetosis subclínica (McArt et al., 2012). Se han vinculado altas concentraciones de NEFA y BHB con una menor producción de leche, mayor riesgo a desarrollar enfermedades y peor performance reproductiva (Duffield et al., 2009; McArt et al., 2013; Benedet et al., 2019).

En cuanto a la movilización de reservas en los partos de primavera, si bien el PV fue mayor en CB con respecto a CA, la CC no presentó efecto de tratamiento. Es posible que las diferencias de PV no se visualicen en la CC que es una medida más subjetiva de la grasa subcutánea. Los perfiles de NEFA de las vacas paridas en primavera difirieron acorde al tratamiento, y eso se visualizó a los 15 días postparto cuando se mantuvieron altas en el grupo CB y comenzaron a disminuir en CA. Estos datos no se acompañaron temporalmente con una mayor producción de leche en CB que explicara la mayor movilización lipídica (Meikle et al., 2013) pero si podrían indicar una mayor reserva de grasa visceral que explicaría el mayor PV (Drackley et al., 2014). Las mayores concentraciones de NEFA el día 15 en las vacas CB coincide con la concentración de BHB que también fue mayor en este día, reflejando la cetogénesis característica durante el periodo de balance energético negativo (Baumgard et al., 2017). Es posible que las menores concentraciones de NEFA y BHB en CA sean reflejo de un mayor consumo de estos metabolitos debido a la actividad física, como postulado por (Astessiano et al., 2015), teniendo en cuenta que son utilizados por el

tejido muscular como fuente de energía (Robinson & Williamson, 1980; Adewuyi et al., 2005). Apoyando esta hipótesis, en este trabajo se evidenció una menor frecuencia del comportamiento de estar echadas (Pons et al., 2021) durante el encierro en CA con respecto a CB, lo que pudo haber implicado un mayor gasto energético. Sin embargo, al día 90 el tratamiento CA presenta mayor concentración de BHB en comparación a las vacas en CB. Esto fue un hallazgo inesperado, ya que no coincide con su respectiva curva de NEFA, citado como el precursor clásico de BHB (Nelson & Cox, 2013). No obstante, existen evidencias de que las concentraciones de NEFA y BHB no necesariamente aumentan de forma asociada (McCarthy et al., 2015). En este sentido, cabe recordar que además del AcetilCoA proveniente de la  $\beta$ -oxidación de los lípidos, otra fuente de formación de cuerpos cetónicos son los aminoácidos cetogénicos (Sun et al., 2014), lo que podría ser una explicación para este aumento de BHB, indicando que hubo degradación de proteínas corporales. En vacas flacas, se ha constatado un aumento de indicadores plasmáticos de catabolismo de proteínas tisulares durante las primeras semanas en lactación, explicado por la limitada disponibilidad de grasa corporal (Pires et al., 2013). Esto podría ser el caso de las vacas paridas en primavera, que llegaron al parto con una CC por debajo de lo ideal (Roche et al., 2009). La bibliografía reciente también reporta que, bajo condiciones de estrés, como puede ser el estrés calórico, el metabolismo es reorganizado de manera a que prioriza el catabolismo de proteínas tisulares, en lugar de las reservas lipídicas (Baumgard & Rhoads, 2013; Gao et al., 2017; Sammad et al., 2020). Además, el cortisol liberado durante el estrés promueve el aumento de la proteólisis (Braun & Marks, 2015). Los 90 días postparto de las vacas paridas en primavera coinciden con los muestreos de sangre realizados durante la segunda mitad de octubre y primeros días de noviembre. Durante esas fechas fueron registrados valores de ITH máximos por encima de 80 (Fig. 4), y que se mantuvieron por encima del límite de 72, considerado para el confort térmico de vacas lecheras, durante varias horas por día (datos por hora no presentados). Además, debe notarse que la concentración de BHB del tratamiento CA se encontraba alrededor de 1,2 mmol/L durante los 90 y 120 días respecto al parto, lo que se puede considerar como cetosis subclínica (McArt et al., 2012). En este sentido, Gantner et al. (2016) encontraron un mayor riesgo a desarrollar cetosis en vacas bajo estrés calórico durante la lactancia media. Se debe resaltar que, durante el periodo de encierro, el tratamiento CA poseía un techo de nylon de 19,2 m<sup>2</sup> para cada cuatro vacas y agua *ad libitum*, como recursos para mitigar el calor. Sin embargo, el tratamiento CB contaba con un galpón completamente techado, ventilación artificial y aspersores. De hecho, se constató una mayor temperatura subcutánea en las vacas de CA con respecto a CB medidas en los meses de diciembre y enero (Pons et al., 2021). Estas diferencias en las comodidades de cada encierro pudieron haber generado que los animales enfrentaran de manera distinta los periodos de mayor riesgo al estrés calórico y esto se evidenció en los indicadores metabólicos.

Las proteínas totales no presentaron diferencias entre tratamientos en los partos de otoño. Sin embargo, las vacas paridas en primavera del tratamiento CA tendieron a presentar menor concentración de proteínas totales respecto a CB. Estos resultados

podrían también tener relación con el efecto del estrés calórico sobre el metabolismo proteico, como ya fue mencionado para NEFA y BHB. En este sentido, Gao et al. (2017) encontraron una menor concentración de aminoácidos libres en plasma en vacas bajo estrés calórico, respecto a vacas que se mantuvieron en zona termoneutral. Estos autores también evidenciaron menor NEFA y mayor concentración de urea en plasma, orina y leche en las vacas bajo estrés calórico, y sostienen que tales resultados se debieron a una mayor utilización de aminoácidos como precursores gluconeogénicos, ya que se prioriza la utilización de glucosa en condiciones de estrés calórico en lugar de NEFA (Gao et al., 2017). La priorización del uso de aminoácidos para este fin podría estar limitando la disponibilidad para formación de proteínas séricas. No obstante, esto estaría en desacuerdo con los hallazgos de Cozzi et al. (2011), quienes reportaron un aumento de proteínas totales y globulinas séricas durante el verano. Es de destacar que en ambos tratamientos de primavera las concentraciones de proteínas totales estuvieron cercanas o por debajo del rango de referencia de 67,4-74,6 g/L (Kaneko et al., 2008). De la misma manera, si bien sin diferencias entre tratamientos, las globulinas también estaban por debajo del rango de referencia de 33-62 g/L (Cozzi et al., 2011), lo que podría explicar la baja concentración de proteínas totales en esa estación de parto. Esto podría estar indicando una supresión de la inmunidad adquirida de las vacas paridas en esta época, aunque el motivo por el cual las globulinas estuvieron más bajas es incierto. Una posible explicación para la menor concentración general de proteínas totales se relaciona a la menor CC de las vacas paridas en primavera, como reportado por Roche et al. (2013). Estos autores encontraron menor concentración de proteína total sérica en el postparto y mayor urea sérica en el preparto de vacas de CC delgada comparado con alta CC, dando indicios de cambios en el metabolismo proteico ocasionados por la menor CC. En este mismo sentido, Pires et al. (2013) constataron un aumento de indicadores plasmáticos de catabolismo de proteínas tisulares durante las primeras semanas en lactación en vacas flacas, explicado por la limitada disponibilidad de grasa corporal. Como fue mencionado anteriormente, una posible limitación en la disponibilidad de aminoácidos, así como también la falta de glucosa en si misma como combustible principal para las células del sistema inmune (Kvidera et al., 2017) podría estar incidiendo en la concentración de globulinas. Además, también se podría considerar la alta concentración de BHB, tanto cercano al parto como en las diversas etapas de la lactancia, de las vacas paridas en primavera, ya que el BHB podría perjudicar la blastogénesis de los linfocitos y por ende la producción de inmunoglobulinas (Ingvarsen & Moyes, 2015). Por último, los valores de proteínas totales también variaron en función del tiempo, con menor concentración al parto y posterior recuperación, en ambas épocas de parición. Esto pudo haber reflejado el menor consumo alrededor del parto y la migración de proteínas como globulinas al calostro (Cavestany et al., 2005; Herr et al., 2011; Adrien et al., 2012), las cuales también estaban disminuidas al parto.

Las concentraciones de colesterol y albúmina no presentaron diferencias entre tratamientos en ambas épocas de parto. La baja concentración de colesterol alrededor

del parto, en ambas épocas de parición, coincide con la bibliografía que asocia este hallazgo con la disminución del consumo durante el periodo de transición (Adrien et al., 2012; Meikle et al., 2013). La concentración de colesterol se fue recuperando de forma paulatina luego del parto y esta curva coincidió con los resultados de Rupprechter et al. (2018). La albúmina se mantuvo de forma general dentro de los valores de referencia de entre 33 a 41 g/L (Cozzi et al., 2011) en ambas épocas de parición y para ambos tratamientos. Sin embargo, se registró un descenso a los 15 días postparto en las vacas paridas en otoño y en el preparto de las vacas paridas en primavera. Estos periodos coinciden con el momento de BEN e inmunosupresión alrededor del parto, y en este sentido, se ha reportado que la albúmina es una proteína de fase aguda negativa y, por lo tanto, disminuye en presencia de enfermedad o función hepática alterada (Bionaz et al., 2007; Rupprechter et al., 2018).

El RLT y recuento de neutrófilos, presentaron una tendencia a mayores valores en el CA respecto a CB en días puntuales, nuevamente solo en la parición de primavera, sugiriendo un estado de mayor inflamación en el tratamiento CA. Así mismo, se debe notar que, de manera general, los recuentos de RLT, neutrófilos y monocitos registrados para los partos de primavera superaron los valores de referencia para bovinos, que estarían entre  $4-12 \times 10^3$  cél/ $\mu$ L para RLT, y entre  $0,6$  y  $4 \times 10^3$  cél/ $\mu$ L para neutrófilos y entre  $0$  a  $0,8 \times 10^3$  cél/ $\mu$ L para monocitos. Los valores de referencia de linfocitos son de entre  $2$  a  $7,5 \times 10^3$  cél/ $\mu$ L, por lo que estarían en general dentro del rango, salvo en el tratamiento CA al día 1 y 15 postparto (Radostits et al., 2000). Esto sugiere un estado de estimulación de la inmunidad innata de estos animales, lo que es contradictorio con la bibliografía que sugiere una inmunosupresión en vacas en BEN (Ingvarlsen & Moyes, 2015). Sin embargo, también se ha postulado que el estrés oxidativo generado durante el desbalance metabólico en vacas lecheras, podría llevar a un aumento de la inflamación mediante el incremento de mediadores pro-inflamatorios (Sordillo & Mavangira, 2014). En relación a la evolución en función del tiempo, el RLT debió estar influenciado por la evolución de los neutrófilos en ambas épocas, con aumentos cercanos al parto. Esto concuerda con lo reportado por Cui et al. (2019), quienes encontraron un aumento de ambos recuentos al momento del parto en vacas sanas. Al parto se da el estímulo de la inmunidad innata a través de procesos inflamatorios relacionados a los cambios a nivel de útero, liberación de placenta, y defensa contra posibles infecciones ya sea del tracto reproductor o de la glándula mamaria (Sheldon et al., 2020).

Las condiciones ambientales durante el encierro en CB o CA, en sistemas mixtos, afectaron el SSU. El tratamiento CA presentó peores condiciones de higiene, reflejadas en los mayores niveles de SSU, en ambas estaciones de parto. Este resultado se corresponde con la literatura que lo atribuye a las condiciones ambientales con presencia de barro (Fisher et al., 2003; Chen et al., 2017) generadas por el pisoteo y excreciones de los animales sobre el piso de tierra, así como la exposición a precipitaciones (Sant'Anna & Paranhos da Costa, 2011). De manera similar, O'Driscoll et al. (2008b) y Boyle et al. (2008), encontraron un mayor nivel de suciedad

en encierros a cielo abierto en comparación a *free-stall*, utilizando vacas secas y vaquillonas, respectivamente, también durante el invierno y en estabulación completa. Por el contrario, Sjostrom et al. (2019) encontraron mayor nivel de suciedad en *compost barn* respecto al cielo abierto. Sin embargo, en dicho estudio los sistemas eran de estabulación completa y las evaluaciones fueron solamente durante el invierno, con presencia de nieve, y se disponían de camas de paja para los animales en algunas zonas del encierro a cielo abierto (Sjostrom et al., 2019). Además, cuando ocurrieron precipitaciones mayores a 30 mm, las vacas del CA con partos de otoño se encontraban más sucias respecto a las observaciones sin lluvias previas. Esto lleva a cuestionar si las condiciones climáticas, durante el otoño-invierno, con un retraso en el proceso de secado del suelo debido a la menor radiación solar (Laguarda et al., 2020) y temperatura ambiente (baja evaporación), contribuyó a que las lluvias tuvieran este efecto, ya que no se observó lo mismo durante los partos de primavera.

La interacción entre tratamiento y día de observación visualizada en la parición de primavera, significó un mayor SSU en el CA con respecto al CB, durante los meses de diciembre y enero. Esto pudo haber sido resultado de una sumatoria de condiciones dadas en ese momento, como la estabulación completa desde el 19 de diciembre de 2019 al 1 de enero de 2020. Además, si bien no hubo efecto de la ocurrencia de precipitaciones sobre el SSU para los partos de primavera, hubo lluvias durante varios días seguidos en esos meses (Fig. 16-A) que, sumado al pisoteo de los animales y mayor cantidad de excreciones dada la mayor permanencia, pudieron haber aumentado la formación de barro en el CA. Este aspecto puede ser visualizado en la interacción entre CA y día de observación, donde los días con mayor porcentaje de vacas sucias coincidieron con el aumento en la frecuencia y acumulado de lluvias (Fig. 16-A y B). Estos resultados podrían indicar que una utilización más intensa de estos encierros, sumado a la vulnerabilidad frente a las condiciones climáticas, podrían provocar peores resultados en cuanto a SSU. Por otro lado, la interacción entre CB y día de observación demostró un mayor porcentaje de vacas sucias entre los meses de setiembre y noviembre. Coincidentemente, en esos meses se registraron valores para humedad de la cama de compost cercanos al límite superior, así como una temperatura de la cama por debajo o en el límite inferior. Esto coincide con la literatura que asocia las condiciones de la cama de compost y el SSU (Black et al., 2013, 2014; Fávero et al., 2015; Eckelkamp et al., 2016; Leso et al., 2020). Eckelkamp et al. (2016) encontraron un mayor SSU en vacas en *compost barn* asociado a una mayor humedad de la cama, lo que a su vez estuvo relacionado a una menor temperatura ambiente del galpón. Black et al. (2013) reportaron efecto significativo de la temperatura ambiente, la temperatura de la cama y la interacción entre humedad de la cama y temperatura ambiente, sobre la media de SSU del rodeo.

La correlación entre SSU e IIM, así como la tendencia de correlación entre SSU y SCS, también fueron encontradas solamente para CA de partos de otoño, pero a pesar de ser positivas, presentaron una baja magnitud. Este valor fue similar a lo reportado por Reneau et al. (2005), quienes encontraron una asociación ( $R=0,15$ ) entre SSU y

SCS para vacas lecheras en estabulación completa en *free-stall*. Sumado a estos resultados, la falta de diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a prevalencia relativa de IIM permitiría sostener que, para estas condiciones experimentales, el grado de suciedad no estuvo fuertemente asociado a la incidencia de mastitis como era la hipótesis. En este sentido, Ellis et al. (2007) no encontraron efecto de la suciedad de las vacas (sumatoria de 4 regiones anatómicas) sobre la incidencia de mastitis clínica. DeVries et al., (2012) encontraron una mayor suciedad atribuida a una menor frecuencia de limpieza del establo, pero esto no estuvo asociado a diferencias en la incidencia de mastitis clínica. De manera similar y si bien el número de vacas incluidas en este ensayo para esta variable es limitado, en nuestras condiciones experimentales tampoco se detectaron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a la incidencia de mastitis clínica. En lo que refiere más específicamente a los tipos de encierro estudiados en el presente trabajo, en el seguimiento de tambos comerciales con encierro total en sistemas a cielo abierto que migraron a sistemas de *compost barn*, tampoco fueron encontradas diferencias en cuanto a RCS o gastos en tratamientos (Marcondes et al., 2019). Por otro lado, Sjostrom et al. (2019) encontraron una mayor incidencia de mastitis clínica en vacas en *compost barn* comparado con cielo abierto durante el invierno, sin acceso a pastoreo. Como fue mencionado, las condiciones de manejo de los trabajos citados difieren del presente. El clima de la región y el uso del encierro durante un turno del día la mayor parte del tiempo en el presente trabajo, podrían ser parte de la explicación de los distintos resultados. No encontramos similares antecedentes para sistemas mixtos de alimentación, utilizando estos tipos de encierro y a lo largo de la lactancia completa. Otro factor que pudo tener impacto sobre los presentes hallazgos, como la incidencia de mastitis, son las diferencias en el área disponible por animal en cada uno de los sistemas de encierro. Algunos trabajos reportan una asociación entre la alta carga y una mayor incidencia de mastitis (Blowey & Edmondson, 2000; Hogan & Smith, 2012) y en este sentido, es de destacar que el tratamiento CA presentaba un área por animal 4 veces mayor a CB, lo que también pudo haber contribuido a la ausencia de diferencias en incidencia de mastitis entre tratamientos. Además, la rutina completa de ordeño con aplicación de *pre-dipping* pudo haber contribuido a evitar peores resultados en cuanto a mastitis en el tratamiento CA, teniendo en cuenta el mayor grado de SSU que presentaban las vacas al momento del ordeño. En estudios en sistemas pastoriles, en que los pezones se encontraban relativamente limpios, al utilizar *pre-dipping* no se observaron diferencias en la incidencia de mastitis comparado a no utilizar (Morton et al., 2014). Sin embargo, existen estudios que indican una disminución en la carga bacteriana y por lo tanto de riesgo de IIM luego del *pre-dipping* en sistemas estabulados (Pankey et al., 1987; Smith & Hogan, 1993). Por lo tanto, el *pre-dipping* podría estar explicando los resultados de este trabajo.

La mayor prevalencia relativa de IIM en diciembre comparada a agosto en los partos de primavera, independientemente del tratamiento, concuerda con algunos estudios que han reportado un mayor RCS durante el verano (Summer et al., 2007) y que lo han relacionado con el estrés calórico (Bouraoui et al., 2002; Garcia et al., 2015). Sin

embargo, la interacción tratamiento por mes no fue significativa en la misma época de parición para sustentar esta hipótesis, considerando que la infraestructura disponible en cada tipo de encierro ofrecía condiciones distintas para atenuar el estrés calórico, con ventilación, aspersores y galpón completamente techado en CB, en contraste con el CA que solamente contaba con un área de sombra artificial de 19,2 m<sup>2</sup> para cada 4 vacas. En este sentido, para nuestras condiciones experimentales no pudimos concluir que el estrés calórico que podría ser mayor en el CA, aumenta la prevalencia relativa de IIM.

La mayoría de los patógenos aislados de los casos de mastitis clínica fueron bacterias ambientales, lo que acompaña la tendencia reportada internacionalmente, dado que el tambo de la estación experimental aplica un programa de control de mastitis contagiosa desde hace varios años (LeBlanc et al., 2006; Ruegg, 2012; Ruegg & Pantoja, 2013; Rowbotham & Ruegg, 2015). Este hallazgo también podría vincularse con los tipos de encierro utilizados (Hogeveen et al., 2011; Klaas & Zadoks, 2017).



## 9. CONCLUSIONES

El ambiente productivo durante el encierro en sistemas mixtos, utilizando *compost barn* presentó una mayor producción individual con respecto al cielo abierto. Las diferentes respuestas entre tratamientos en las concentraciones de ácidos grasos no esterificados,  $\beta$ -hidroxibutirato, y células del sistema inmune en las vacas paridas en primavera, podrían ser un alerta a los efectos del estrés calórico en esa época de parición, a lo cual están especialmente expuestas las vacas del cielo abierto. Si bien el cielo abierto presentó mayor nivel de suciedad en ambas épocas de parto con respecto al *compost barn*, en nuestras condiciones experimentales no se detectaron diferencias en la incidencia relativa de mastitis entre tratamientos.

## 10. IMPLICANCIAS

Los sistemas mixtos son un modelo atractivo dada la combinación de ventajas del sistema pastoril y el uso de suplementación en encierros, permitiendo la mayor intensificación. Sin embargo, es necesario tener en cuenta el ambiente en que se encuentran los animales y las posibles fuentes de estrés que pueden poner en riesgo su integridad fisiológica y desempeño productivo. En el presente trabajo se observó como, mas allá del periodo de transición, los problemas metabólicos y desequilibrios del sistema inmune también se pueden dar en momentos posteriores de la lactancia, pudiendo ser reflejo de las condiciones ambientales y del grado de reservas corporales de los animales. Las características climáticas de la región y época de partos también pueden impactar en aspectos como el buen funcionamiento de la cama de compost, así como la ocurrencia de lluvias e intensidad de uso de los encierros a cielo abierto, favorecer a un mayor grado de suciedad de ubre y por ende el riesgo a mastitis, así como peor bienestar animal. Conocer y caracterizar los distintos indicadores de salud de la vaca lechera durante su lactancia, y tener un mayor control sobre los factores que impactan en el éxito del sistema es clave para actuar de forma preventiva, evitando pérdidas de distintos tipos. La información obtenida en esta tesis brinda evidencia sobre las condiciones de un sistema de encierro (*compost barn*) que se incrementa en nuestro país, con sus implicancias productivas y de bienestar animal.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adewuyi, A. A., Gruysi, E., & Eerdenburg, F. J. C. M. V. (2005). Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly*, 27(3), 117–126. <https://doi.org/10.1080/01652176.2005.9695192>
- Adrien, M. L., Mattiauda, D. A., Artegoitia, V., Carriquiry, M., Motta, G., Bentancur, O., & Meikle, A. (2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: Milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(2), 292–299. <https://doi.org/10.1017/S175173111100142X>
- Aleri, J. W., Hine, B. C., Pyman, M. F., Mansell, P. D., Wales, W. J., Mallard, B., & Fisher, A. D. (2016). Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in Veterinary Science*, 108, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.07.007>
- Armstrong, D. V. (1994). Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2044–2050. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77149-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77149-6)
- Arnott, G., Ferris, C. P., & O'connell, N. E. (2017). A review of the welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*, 11(2), 261–273. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001336>
- Astessiano, A. L., Meikle, A., Fajardo, M., Gil, J., Mattiauda, D. A., Chilibroste, P., & Carriquiry, M. (2015). Metabolic and endocrine profiles and hepatic gene expression of Holstein cows fed total mixed ration or pasture with different grazing strategies during early lactation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0163-6>
- Barberg, A. E., Endres, M. I., Salfer, J. A., & Reneau, J. K. (2007). Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1575–1583. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71643-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71643-0)
- Barca, J., Carriquiry, M., Olazabal, L., Fajardo, M., Chilibroste, P., & Meikle, A. (2017). Milk fatty acid profile from cows fed with mixed rations and different access time to pastureland during early lactation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 1–10. <https://doi.org/10.1111/jpn.12826>
- Barkema, H. W., von Keyserlingk, M. A. G., Kastelic, J. P., Lam, T. J. G. M., Luby, C., Roy, J. P., LeBlanc, S. J., Keefe, G. P., & Kelton, D. F. (2015). Invited review: Changes in the dairy industry affecting dairy cattle health and welfare. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7426–7445. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9377>
- Barnes, A. P., McCalman, H., Buckingham, S., & Thomson, S. (2013). Farmer decision-making and risk perceptions towards outwintering cattle. *Journal of Environmental Management*, 129, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.05.026>
- Baudracco, J., Lopez-Villalobos, N., Romero, L. A., Scandolo, D., Maciel, M.,

- Comeron, E. A., Holmes, C. W., & Barry, T. N. (2010). Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing lucerne pasture. *Animal Feed Science and Technology*, *168*(1–2), 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.017>
- Bauman, D. E., & Currie, W. B. (1980). Partitioning of Nutrients During Pregnancy and Lactation: A Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, *63*(9), 1514–1529. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)83111-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)83111-0)
- Baumgard, L. H., Collier, R. J., & Bauman, D. E. (2017). A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 10353–10366. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13242>
- Baumgard, L. H., & Rhoads, R. P. (2013). Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Biosciences*, *1*, 311–337. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103644>
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, *73*(9), 2804–2819. <https://doi.org/10.2527/1995.7392804x>
- Benedet, A., Manuelian, C. L., Zidi, A., Penasa, M., & De Marchi, M. (2019). Invited review:  $\beta$ -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal*, *13*(8), 1676–1689. <https://doi.org/10.1017/S175173111900034X>
- Bentancor, M. (2020). Interacción entre el sistema endócrino-metabólico e inmune en vacas lecheras durante el parto. In *Facultad de Veterinaria*. Universidad de la República.
- Bewley, J. M., Robertson, L. M., & Eckelkamp, E. A. (2017). A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 10418–10431. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13251>
- Bionaz, M., Trevisi, E., Calamari, L., Librandi, F., Ferrari, A., & Bertoni, G. (2007). Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(4), 1740–1750. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-445>
- Black, R. A., Taraba, J. L., Day, G. B., Damasceno, F. A., & Bewley, J. M. (2013). Compost bedded pack dairy barn management, performance, and producer satisfaction. *Journal of Dairy Science*, *96*(12), 8060–8074. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6778>
- Black, R. A., Taraba, J. L., Day, G. B., Damasceno, F. A., Newman, M. C., Akers, K. A., Wood, C. L., McQuerry, K. J., & Bewley, J. M. (2014). The relationship between compost bedded pack performance, management, and bacterial counts. *Journal of Dairy Science*, *97*(5), 2669–2679. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6779>
- Blowey, R., & Edmondson, P. (2000). The environment and mastitis. In *Practice*,

22(7), 382–394. <https://doi.org/10.1136/inpract.22.7.382>

- Bouraoui, R., Lahmar, M., Majdoub, A., Djemali, M., & Belyea, R. (2002). The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.*, *51*, 479–491. <https://doi.org/10.1051/animres:2002036>
- Boyle, L. A., Boyle, R. M., & French, P. (2008). Welfare and performance of yearling dairy heifers out-wintered on a wood-chip pad or housed indoors on two levels of nutrition. *Animal*, *2*(5), 769–778. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001870>
- Braun, T. P., & Marks, D. L. (2015). The regulation of muscle mass by endogenous glucocorticoids. *Frontiers in Physiology*, *6*(FEB), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00012>
- Butler, W. R. (2003). Energy balance relationships with follicular development ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, *83*(2–3), 211–218. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00112-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00112-X)
- Cardoso, C. S., von Keyserlingk, M. A. G., & Hötzel, M. J. (2019). Views of dairy farmers, agricultural advisors, and lay citizens on the ideal dairy farm. *Journal of Dairy Science*, *102*(2), 1811–1821. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14688>
- Cavestany, D., Blanc, J. E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilibroste, P., Meikle, A., Febel, H., Ferraris, A., & Krall, E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: Metabolic profiles. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, *52*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00679.x>
- Chen, J. M., Stull, C. L., Ledgerwood, D. N., & Tucker, C. B. (2017). Muddy conditions reduce hygiene and lying time in dairy cattle and increase time spent on concrete. *Journal of Dairy Science*, *100*(3), 2090–2103. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11972>
- Chilibroste, P. (2012). Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril. *Cangüé*, *32*, 2–8.
- Chilibroste, P., & Battegazzore, G. (2019). *Proyecto Producción Competitiva 2013-2018 Dinámica bio-económica de los sistemas de producción de leche*. Conaprole.
- Cozzi, G., Ravarotto, L., Gottardo, F., Stefani, A. L., Contiero, B., Moro, L., Brscic, M., & Dalvit, P. (2011). Short communication: Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *Journal of Dairy Science*, *94*(8), 3895–3901. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3687>
- Cruz, G., & Saravia, C. (2008). Un índice de temperatura y humedad del aire para regionalizar la producción lechera en Uruguay Air temperature and humidity index for regionalization of dairy farming in Uruguay. *Agrociencia*, *XII*, 56–60.
- Cui, L., Wang, H., Ding, Y., Li, J., & Li, J. (2019). Changes in the blood routine, biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral

- leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1912-y>
- Das, R., Sailo, L., Verma, N., Bharti, P., Saikia, J., Imtiwati, & Kumar, R. (2016). Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Veterinary World*, 9(3), 260–268. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.260-268>
- De Rensis, F., & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - A review. *Theriogenology*, 60(6), 1139–1151. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00126-2)
- DeVries, T. J., Aarnoudse, M. G., Barkema, H. W., Leslie, K. E., & von Keyserlingk, M. A. G. (2012a). Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5730–5739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5375>
- DeVries, T. J., Aarnoudse, M. G., Barkema, H. W., Leslie, K. E., & von Keyserlingk, M. A. G. (2012b). Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5730–5739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5375>
- DIEA. (2010). Estadísticas del sector lácteo 2009. *Serie Trabajos Especiales*, N° 295, 44.
- DIEA. (2020). Estadísticas del sector lácteo 2019. *Serie Trabajos Especiales* N° 363, 47 p. [https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2020-10/industrias\\_lacteas\\_final\\_2020\\_final\\_0.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2020-10/industrias_lacteas_final_2020_final_0.pdf)
- Dikmen, S., & Hansen, P. J. (2009). Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *Journal of Dairy Science*, 92(1), 109–116. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1370>
- Dohoo, I. R., & Leslie, K. E. (1991). Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, 10(3), 225–237. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(91\)90006-N](https://doi.org/10.1016/0167-5877(91)90006-N)
- Drackley, J. K. (1999). ADSA foundation scholar award: Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259–2273. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75474-3)
- Drackley, J. K., Dann, H. M., Douglas, G. N., Janovick Guretzky, N. A., Litherland, N. B., Underwood, J. P., & Loor, J. J. (2005). Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science*, 4(4), 323–344. <https://doi.org/10.4081/ijas.2005.323>
- Drackley, J. K., Wallace, R., Graugnard, D., Vasquez, J., Richards, B., & Loor, J. (2014). Visceral adipose tissue mass in nonlactating dairy cows fed diets differing in energy density<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3420–3430. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8014>
- Duffield, T. F., Lissemore, K. D., McBride, B. W., & Leslie, K. E. (2009). Impact of

- hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92(2), 571–580. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1507>
- Eckelkamp, E. A., Taraba, J. L., Akers, K. A., Harmon, R. J., & Bewley, J. M. (2016). Understanding compost bedded pack barns: Interactions among environmental factors, bedding characteristics, and udder health. *Livestock Science*, 190, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.05.017>
- Ellis, K. A., Innocent, G. T., Mihm, M., Cripps, P., McLean, W. G., Howard, C. V., & Grove-White, D. (2007). Dairy cow cleanliness and milk quality on organic and conventional farms in the UK. *Journal of Dairy Research*, 74(3), 302–310. <https://doi.org/10.1017/S002202990700249X>
- Endres, M. I., & Barberg, A. E. (2007). Behavior of dairy cows in an alternative bedded-pack housing system. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4192–4200. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-751>
- Fajardo, M., Mattiauda, D. A., Motta, G., Genro, T. C., Meikle, A., Carriquiry, M., & Chilibroste, P. (2015). Use of mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation Holstein cows. *Livestock Science*, 181, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.023>
- Fariña, S. R., & Chilibroste, P. (2019). Opportunities and challenges for the growth of milk production from pasture: The case of farm systems in Uruguay. *Agricultural Systems*, 176. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.05.001>
- Fávero, S., Portilho, F. V. R., Oliveira, A. C. R., Langoni, H., & Pantoja, J. C. F. (2015). Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. *Livestock Science*, 181, 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.002>
- Ferguson, J. D., Galligan, D. T., & Thomsen, N. (1994). Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, 77(9), 2695–2703. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77212-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77212-X)
- Fisher, A. D., Stewart, M., Verkerk, G. A., Morrow, C. J., & Matthews, L. R. (2003). The effects of surface type on lying behaviour and stress responses of dairy cows during periodic weather-induced removal from pasture. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00240-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00240-X)
- Gantner, V., Kuterovac, K., & Potočnik, K. (2016). Effect of Heat Stress on Metabolic Disorders Prevalence Risk and Milk Production in Holstein Cows in Croatia. *Annals of Animal Science*, 16(2), 451–461. <https://doi.org/10.1515/aoas-2015-0097>
- Gao, S. T., Guo, J., Quan, S. Y., Nan, X. M., Fernandez, M. V. S., Baumgard, L. H., & Bu, D. P. (2017). The effects of heat stress on protein metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 5040–5049. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11913>
- Garcia, A. B., Angeli, N., Machado, L., de Cardoso, F. C., & Gonzalez, F. (2015). Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy

cows in southern Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 47(5), 889–894. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0804-9>

- García, S. C., & Holmes, C. W. (2005). Seasonality of calving in pasture-based dairy systems: Its effects on herbage production, utilisation and dry matter intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45(1), 1–9. <https://doi.org/10.1071/EA00110>
- Giannechini, R., Concha, C., Rivero, R., Delucci, I., & Moreno López, J. (2002). Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43(4), 221–230. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-221>
- Grille, L., Adrien, M. L., Olmos, M., Chilbroste, P., & Damián, J. P. (2019). Diet change from a system combining total mixed ration and pasture to confinement system (total mixed ration) on milk production and composition, blood biochemistry and behavior of dairy cows. *Animal Science Journal*, 90(11), 1484–1494. <https://doi.org/10.1111/asj.13288>
- Grinberg, N., Elazar, S., Rosenshine, I., & Shpigel, N. Y. (2008).  $\beta$ -hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 76(6), 2802–2807. <https://doi.org/10.1128/IAI.00051-08>
- Grummer, R. R., Mashek, D. G., & Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 20(3 SPEC. ISS.), 447–470. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2004.06.013>
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29(1), 18–31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>
- Harmon, R. J. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103–2112. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)
- Hennessy, D., Delaby, L., van den Pol-van Dasselaar, A., & Shalloo, L. (2020). Increasing grazing in dairy cow milk production systems in Europe. *Sustainability (Switzerland)*, 12(6), 1–15. <https://doi.org/10.3390/su12062443>
- Herd, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 16(2), 215–230. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30102-X](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30102-X)
- Herr, M., Bostedt, H., & Failing, K. (2011). IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology*, 75(2), 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.009>
- Hogan, J., & Smith, K. L. (2012). Managing Environmental Mastitis. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 28(2), 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.009>

- Hogeveen, H., Huijps, K., & Lam, T. J. G. . (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16–23. <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.547165>
- Hogeveen, H., Pyorala, S., Waller, K. P., Hogan, J. S., Lam, T. J. G. M., Oliver, S. P., Schukken, Y. H., Barkema, H. W., & Hillerton, J. E. (2011). Current status and future challenges in mastitis research. *NMC Annual Meeting Proceedings*, 36–48.
- Ingvartsen, K. L., Dewhurst, R. J., & Friggens, N. C. (2003). On the relationship between lactational performance and health: Is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*, 83(2–3), 277–308. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00110-6](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00110-6)
- Ingvartsen, K. L., & Moyes, K. (2013). Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*, 7(SUPPL.1), 112–122. <https://doi.org/10.1017/S175173111200170X>
- Ingvartsen, K. L., & Moyes, K. M. (2015). Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 63, S15–S24. <https://doi.org/10.14943/jjvr.63.suppl.s15>
- Janni, K. A., Endres, M. I., Reneau, J. K., & Schoper, W. W. (2007). Compost dairy barn layout and management recommendations. *Applied Engineering in Agriculture*, 23(1), 97–102.
- Jordan, E. R. (2003). Effects of heat stress on reproduction. *Journal of Dairy Science*, 86(SUPPL. 1), E104–E114. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74043-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74043-0)
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livestock Production Science*, 77(1), 59–91. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X)
- Kaneko, J., Harvey JW, & ML, B. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (Academic Press (ed.); 6th ed.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3>
- Kirk, J. H. (1984). Programmable Calculator Program for Linear Somatic Cell Scores to Estimate Mastitis Yield Losses. *Journal of Dairy Science*, 67(2), 441–443. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81322-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81322-3)
- Klaas, I. C., & Zadoks, R. N. (2017). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(April), 166–185. <https://doi.org/10.1111/tbed.12704>
- Kolver, E. S., & Muller, L. D. (1998). Performance and Nutrient Intake of High Producing Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration. *Journal of Dairy Science*, 81(5), 1403–1411. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75704-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75704-2)
- Kvidera, S. K., Horst, E. A., Abuajamieh, M., Mayorga, E. J., Fernandez, M. V. S., & Baumgard, L. H. (2017). Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2360–2374.



<https://doi.org/10.3168/jds.2016-12001>

- Lacetera, N., Scalia, D., Franci, O., Bernabucci, U., Ronchi, B., & Nardone, A. (2004). Short communication: Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 1012–1014. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73246-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73246-4)
- Lacy-Hulbert, S. J., Kolver, E. S., Williamson, J. H., & Napper, A. R. (2002). Incidence of mastitis among cows of different genotypes in differing nutritional environments. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 62, 24–29. <https://doi.org/10.1079/BJN19660078>
- Laguarda, A., Alonso-Suárez, R., & Terra, R. (2020). Solar irradiation regionalization in Uruguay: Understanding the interannual variability and its relation to El Niño climatic phenomena. *Renewable Energy*, 158, 444–452. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.083>
- Lean, I. J., Westwood, C. T., & Playford, M. C. (2008). Livestock disease threats associated with intensification of pastoral dairy farming. *New Zealand Veterinary Journal*, 56(6), 261–269. <https://doi.org/10.1080/00480169.2008.36845>
- Leblanc, S. J. (2020). Review: Relationships between metabolism and neutrophil function in dairy cows in the peripartum period. *Animal*, 14(S1), S44–S54. <https://doi.org/10.1017/S1751731119003227>
- LeBlanc, S. J. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period introduction—metabolic challenges in peripartum dairy cows and their associations with reproduction. *Journal of Reproduction and Development J. Reprod. Dev*, 56(56), 29–35.
- LeBlanc, S. J., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1267–1279. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72195-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6)
- Leso, Barbari, M., Lopes, M. A., Damasceno, F. A., Galama, P., Taraba, J. L., & Kuipers, A. (2020). Invited review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1072–1099. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16864>
- Leso, L., Uberti, M., Morshed, W., & Barbari, M. (2013). A survey on Italian compost dairy barns. *Journal of Agricultural Engineering*, 44(2s). <https://doi.org/10.4081/jae.2013.s2.e40>
- Lopez-Benavides, M., Dohoo, I., Scholl, D., Middleton, J., Perez, R. (2004). National Mastitis Council Procedures for Collecting Milk Samples. *National Mastitis Council (NMC)*. <http://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/09/Procedures-for-Collecting-Milk-Samples.pdf>
- Marcondes, M. I., Mariano, W. H., & De Vries, A. (2019). Production, economic viability and risks associated with switching dairy cows from drylots to compost bedded pack systems. *Animal*, 1–10. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001848>
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V., Oetzel, G. R., Overton, T. R., & Ospina, P. A. (2013).

- Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Veterinary Journal*, 198(3), 560–570. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.011>
- McArt, Nydam, D., & Oetzel, G. (2012). Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 5056–5066. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5443>
- McCarthy, M. M., Mann, S., Nydam, D. V., Overton, T. R., & McArt, J. A. A. (2015). Short communication: Concentrations of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in dairy cows are not well correlated during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6284–6290. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9446>
- Meikle, A., Adrien, M. de L., Mattiauda, D. A., & Chilibroste, P. (2013). Effect of sward condition on metabolic endocrinology during the early postpartum period in primiparous grazing dairy cows and its association with productive and reproductive performance. *Animal Feed Science and Technology*, 186(3–4), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.10.003>
- Mendoza, A., Cajarville, C., & Repetto, J. L. (2016). Digestive response of dairy cows fed diets combining fresh forage with a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8779–8789. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11023>
- Monge, J., Damasceno, F. A., Oliveira, C. E. A., Saraz, J. A. O., & Chiavassa, C. (2019). Instalaciones para confinamiento de vacas lecheras del tipo Compost Barn en la Argentina y Brasil: Revisión. *O Papel Da Bioengenharia Na Segurança Alimentar Frente Às Mudanças Climáticas*, June, 248–256. <https://www.researchgate.net/publication/333676983>
- Morton, J. M., Penry, J. F., Malmo, J., & Mein, G. A. (2014). Premilking teat disinfection: Is it worthwhile in pasture-grazed dairy herds? *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7525–7537. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8185>
- Neave, F. K., Dodd, F. H., Kingwill, R. G., & Westgarth, D. R. (1969). Control of Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *Journal of Dairy Science*, 52(5), 696–707. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86632-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86632-4)
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2013). Lehninger Principles of Biochemistry, Seventh Edition. In *Regulation*.
- NMC. (2000). *Recommended mastitis control program*. National Mastitis Council (NMC).
- O'Driscoll, K., Boyle, L., French, P., & Hanlon, A. (2008). The effect of out-wintering pad design on hoof health and locomotion score of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(2), 544–553. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0667>
- O'Driscoll, K., Boyle, L., French, P., Meaney, B., & Hanlon, A. (2008). The effect of out-wintering pad design on dirtiness score, somatic cell score and mastitis incidence in dairy cows. *Animal*, 2(6), 912–920. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001882>
- Oltenacu, P. A., & Algers, B. (2005). Selection for increased production and the

welfare of dairy cows: Are new breeding goals needed? *Ambio*, 34(4–5), 311–315. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-34.4.311>

- Ospina, McArt, J., Overton, T., Stokol, T., & Nydam, D. (2013). Using nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations during the transition period for herd-level monitoring of increased risk of disease and decreased reproductive and milking performance. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 29(2), 387–412. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2013.04.003>
- Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*, 93(2), 546–554. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2277>
- Pankey, J. W., Wildman, E. E., Drechsler, P. A., & Hogan, J. S. (1987). Field Trial Evaluation of Premilking Teat Disinfection. *Journal of Dairy Science*, 70(4), 867–872. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80085-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80085-1)
- Pereira, I., Cruz, I., Ruprecht, G., & Meikle, A. (2017). Salud y eficiencia reproductiva de vacas lecheras en sistemas de base pastoril de florida: resultados preliminares del monitoreo. *XLV Jornadas Uruguayas de Buiatria*.
- Pires, J. A. A., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Pomiès, D., & Chilliard, Y. (2013). Effects of body condition score at calving on indicators of fat and protein mobilization of periparturient Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6423–6439. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6801>
- Polsky, L., & von Keyserlingk, M. A. G. (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8645–8657. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12651>
- Pons, M. V., Adrien, M. L., Mattiauda, D. A., Breijo, M., Chilbroste, P., & Damián, J. P. (2021). Las características del encierro afectan el comportamiento y la temperatura subcutánea de vacas lecheras. *ISAE II Congreso Latinoamericano de Comportamiento y Bienestar Animal*, 103–104.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., & Hinch-cliff, K. W. (2000). Appendix 2 - Reference laboratory values. In W. B. Saunders (Ed.), *Veterinary Medicine* (9th ed., pp. 1819–1822). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9780470752425.app2>
- Reneau, J. K., Seykora, A. J., Heins, B. J., Endres, M. I., Farnsworth, R. J., & Bey, R. F. (2005). Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(8), 1297–1301. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1297>
- Ribeiro, E. S., Lima, F. S., Greco, L. F., Bisinotto, R. S., Monteiro, A. P. A., Favoreto, M., Ayres, H., Marsola, R. S., Martinez, N., Thatcher, W. W., & Santos, J. E. P. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5682–5697. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6335>
- Robinson, A. M., & Williamson, D. H. (1980). Physiological roles of ketone bodies as

- substrates and signals in mammalian tissues. *Physiological Reviews*, 60(1), 143–187. <https://doi.org/10.1152/physrev.1980.60.1.143>
- Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J., & Berry, D. P. (2009). Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5769–5801. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2431>
- Roche, J. R., Macdonald, K. A., Schütz, K. E., Matthews, L. R., Verkerk, G. A., Meier, S., Loor, J. J., Rogers, A. R., McGowan, J., Morgan, S. R., Taukiri, S., & Webster, J. R. (2013). Calving body condition score affects indicators of health in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(9), 5811–5825. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6600>
- Rowbotham, R. F., & Ruegg, P. L. (2015). Association of bedding types with management practices and indicators of milk quality on larger Wisconsin dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7865–7885. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9866>
- Ruegg, P. L. (2011). Managing Mastitis and Producing Quality Milk. *Dairy Production Medicine*, 207–232. <https://doi.org/10.1002/9780470960554.ch18>
- Ruegg, P. L. (2012). New Perspectives in Udder Health Management. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 28(2), 149–163. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.001>
- Ruegg, P. L., & Pantoja, J. C. F. (2013). Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 52(2 SPEC. ISSUE 2), 101–117.
- Ruprechter, G., Adrien, M. de L., Larriestra, A., Meotti, O., Batista, C., Meikle, A., & Noro, M. (2018). Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 118(2017), 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.02.005>
- Salado, E. E., Maciel, M. G., Bretschneider, G., Cuatrin, A., & Gagliostro, G. A. (2020). Productive Response and Reproductive Performance of Dairy Cows Subjected to Different Feeding Systems. *Open Journal of Animal Sciences*, 10(01), 10–32. <https://doi.org/10.4236/ojas.2020.101002>
- Sammad, A., Wang, Y. J., Umer, S., Lirong, H., Khan, I., Khan, A., Ahmad, B., & Wang, Y. J. (2020). Nutritional physiology and biochemistry of dairy cattle under the influence of heat stress: Consequences and opportunities. *Animals*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/ani10050793>
- Sant'Anna, A. C., & Paranhos da Costa, M. J. R. (2011). The relationship between dairy cow hygiene and somatic cell count in milk. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3835–3844. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3951>
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21(1), 55–89. <https://doi.org/10.1210/er.21.1.55>

- Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2002). Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *Journal of Dairy Science*, 85(10), 2503–2511. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74333-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74333-6)
- Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2003). Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3460–3465. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73950-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73950-2)
- Schukken, Y. H., Wilson, D. J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., & Gonzalez, R. N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.*, 34, 579–596. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Schütz, K. E., Clark, K. V., Cox, N. R., Matthews, L. R., & Tucker, C. B. (2010). Responses to short-term exposure to simulated rain and wind by dairy cattle: time budgets, shelter use, body temperature and feed intake. *Animal Welfare*, 19, 375–383.
- Shane, E. M., Endres, M. I., & Janni, K. A. (2010). Alternative bedding materials for compost bedded pack barns in Minnesota: A descriptive study. *Applied Engineering in Agriculture*, 26(3), 465–473.
- Sheldon, I. M., Molinari, P. C. C., Ormsby, T. J. R., & Bromfield, J. J. (2020). Preventing postpartum uterine disease in dairy cattle depends on avoiding, tolerating and resisting pathogenic bacteria. *Theriogenology*, 150, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.017>
- Shook, G. E. (1993). Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(3), 563–577. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30622-8](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30622-8)
- Shook, G. E., Kirk, R. L. B., Welcome, F. L., Schukken, Y. H., & Ruegg, P. L. (2017). Relationship between intramammary infection prevalence and somatic cell score in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9691–9701. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12810>
- Sjostrom, L. S., Heins, B. J., Endres, M. I., Moon, R. D., & Sorge, U. S. (2019). Effects of winter housing system on hygiene, udder health, frostbite, and rumination of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(11), 10606–10615. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15759>
- Smith, K. L., & Hogan, J. S. (1993). Environmental mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(3), 489–498. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30616-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30616-2)
- Sordillo, L. M., & Mavangira, V. (2014). The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. *Animal Production Science*, 54(9), 1204–1214. <https://doi.org/10.1071/AN14503>
- Souissi, W., & Bouraoui, R. (2020). Relationship between Body Condition Score, Milk Yield, Reproduction, and Biochemical Parameters in Dairy Cows. In *Lactation in Farm Animals - Biology, Physiological Basis, Nutritional Requirements, and Modelization*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85343>

- Summer, A., Sandri, S., Tosi, F., Franceschi, P., Malacarne, M., Formaggioni, P., & Mariani, P. (2007). Seasonal trend of some parameters of the milk quality payment for Parmigiano-Reggiano cheese. *Italian Journal of Animal Science*, 6(SUPPL. 1), 475–477. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.1s.475>
- Sun, L. W., Zhang, H. Y., Wu, L., Shu, S., Xia, C., Xu, C., & Zheng, J. S. (2014). <sup>1</sup>H-Nuclear magnetic resonance-based plasma metabolic profiling of dairy cows with clinical and subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 97(3), 1552–1562. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6757>
- Thom, E. C. (1959). The Discomfort Index. *Weatherwise*, 12(2), 57–61. <https://doi.org/10.1080/00431672.1959.9926960>
- Tresoldi, G., Schütz, K. E., & Tucker, C. B. (2017). Cow cooling on commercial drylot dairies: A description of 10 farms in California. *California Agriculture*, 71(4), 249–255. <https://doi.org/10.3733/ca.2017a0042>
- Tucker, C. B., Rogers, A. R., Verkerk, G. A., Kendall, P. E., Webster, J. R., & Matthews, L. R. (2007). Effects of shelter and body condition on the behaviour and physiology of dairy cattle in winter. *Applied Animal Behaviour Science*, 105(1–3), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.06.009>
- USDA-NAHMS. (2016). *Dairy 2014 Dairy Cattle Management Practices in the February*. <http://www.aphis.usda.gov/nahms>
- Vibart, R. E., Washburn, S. P., Green, J. T., Benson, G. A., Williams, C. M., Pacheco, D., & Lopez-Villalobos, N. (2012). Effects of feeding strategy on milk production, reproduction, pasture utilization, and economics of autumn-calving dairy cows in eastern North Carolina. *Journal of Dairy Science*, 95(2), 997–1010. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4755>
- Washburn, S. P., White, S. L., Green, J. T., & Benson, G. A. (2002). Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved holstein and jersey cows in confinement or pasture systems. *Journal of Dairy Science*, 85(1), 105–111. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74058-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74058-7)
- Webster, J. R., Stewart, M., Rogers, A. R., & Verkerk, G. A. (2008). Assessment of welfare from physiological and behavioural responses of New Zealand dairy cows exposed to cold and wet conditions. *Animal Welfare*, 17(1), 19–26.
- Welfare Quality Consortium. (2009). Welfare Quality Applied to Dairy Cows. *Welfare Quality® Assessment Protocol for Cattle*. <http://edepot.wur.nl/233467>
- West, J. W. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2131–2144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X)
- Wolfe, T., Vasseur, E., DeVries, T. J., & Bergeron, R. (2018). Effects of alternative deep bedding options on dairy cow preference, lying behavior, cleanliness, and teat end contamination. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 530–536. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12358>
- Zadoks, R. N., Middleton, J. R., McDougall, S., Katholm, J., & Schukken, Y. H. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and

comparative relevance to humans. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 357–372. <https://doi.org/10.1007/s10911-011-9236-y>

Zimbelman, R. B., Rhoads, R. P., Collier, R. J., & Duff, G. C. (2009). A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. *Proc. Southwest Nutr. Man. Conf., Tempe, AZ. Univ., January*, 158–169.

## 12. ANEXO

### **Environmental conditions in compost barn vs open lot in mixed feeding systems (grazing plus housing): effects on udder hygiene and health indicators in dairy cows during the whole lactation in two calving seasons**

G.R. Mendina<sup>a\*</sup>, J.P. Damián<sup>b</sup>, P. Chilibroste<sup>c</sup>, O. Bentancur<sup>c</sup>, and M.L. Adrien<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Ruta 3, km 363, Paysandú, 60000, Uruguay;

\*Corresponding author: Graciana R. Mendina. E-mail adress: g.rmendina@gmail.com

<sup>b</sup> Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Alberto Lasplaces 1620, Montevideo, 11600, Uruguay;

<sup>c</sup> Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Ruta 3, km 363, Paysandú, 60000, Uruguay

#### **Abstract**

This study aimed to compare two types of housing, compost barn (CB) vs open lot (OL), on udder hygiene and health indicators, in Holstein dairy cows calved in autumn (n=31) and late winter (n=27). After calving, cows were put in a mixed feeding system composed of grazing and total mixed ration (TMR) offered in one of the two treatments: CB or OL. The udder hygiene score (UHS) was evaluated monthly and also on days after rainfall over the entire lactation. Individual somatic cell count (SCC) was determined throughout the entire lactation and the prevalence of intramammary infection (IMI) to each treatment was calculated. Incidence of clinical mastitis was recorded and milk samples were taken from affected quarters for bacterial culture. Rainfall (mm) was registered, and temperature (°C) and moisture (%) of the compost bedded pack were measured weekly at a depth of 20 cm. The cows housed in CB achieved a lower UHS compared to cows in OL ( $P<0.05$ ), in both calving seasons. Besides, when it rained, OL cows that calved in autumn were dirtier than days without previous rains (OR=1.85, CI95%: 1.1-3.1,  $P=0.05$ ). Also, only for cows of OL that calved in autumn, there was a correlation between UHS and IMI ( $r=0.13$ ,  $P=0.05$ ). However, no differences in IMI and clinical mastitis were found between OL and CB cows, in either calving season. Unlike the CB, the housing conditions in OL increased the risk of poorer udder hygiene and udder health indicators in dairy cows under mixed systems.

**Keywords:** mastitis, mud, rainfall, moisture.

#### **Introduction**

A fundamental advancement in knowledge of most production diseases has been the recognition of its multifactorial nature (Hogeveen et al., 2011; LeBlanc et al., 2006). The environment is one of the three components of the epidemiological triad that impacts health, plus host and agent, all of them affected by management practices (LeBlanc et al., 2006). Dairy production systems have intensified over time (Fariña



and Chilibroste, 2019), and mixed systems based on grazing plus total mixed ration (TMR) in housing have emerged as an alternative that combines the advantages of both production models (Bargo et al., 2002; Fajardo et al., 2015; Salado et al., 2020; Vibart et al., 2008). In these systems, a high stocking rate is necessary to maximize pasture utilization. This also forces the use of supplementation to meet the individual nutritional requirements of the animals and cover the periods when the available pasture is insufficient (Baudracco et al., 2010). Although grazing systems have been associated with better indicators of animal health, the use of housing could increase the risk of mastitis (Fontaneli et al., 2005; Lacy-Hulbert et al., 2002; Washburn et al., 2002).

Several studies relate the environment where the cows are with the degree of dirtiness of the animals (DeVries et al., 2012; Ellis et al., 2007; O'Driscoll et al., 2008b; Sjostrom et al., 2019; Wolfe et al., 2018). Schreiner and Ruegg (2003) and Reneau et al. (2005) found an association between the udder hygiene score (UHS) and the intramammary infection (IMI) and somatic cell score (SCS) in confined dairy cows. Furthermore, depending on the time of calving season, animals are exposed to different environmental conditions throughout lactation. In systems that use grazing, the main calving seasons are autumn and spring (García and Holmes, 2005; Washburn et al., 2002; White et al., 2002). The autumn calving season challenges cows to spend their lactation during cold seasons where, in temperate climates, the rains and mud formation predispose to higher UHS (Sant'Anna and Paranhos da Costa, 2011). On the other hand, spring calvings have the course of lactation during times of greater heat stress, which can increase the risk of diseases such as mastitis (Bouraoui et al., 2002; Garcia et al., 2015; Summer et al., 2007). In this sense, the place where the animals are housed and the degree of exposure to the environment, in these mixed systems, could represent a limiting factor for animal health and welfare (Fariña and Chilibroste, 2019).

The compost barn (CB) emerged as a friendlier alternative to animal welfare, with positive impacts on health when compared to traditional free-stall systems (Barberg et al., 2007). The animals in CB are free on a comfortable bed of organic substrate (commonly sawdust) (Bewley et al., 2017; Endres and Barberg, 2007; Shane et al., 2010). This material undergoes a composting process through aerobic fermentation with the excretions of animals, which could reach temperatures, such that it could inactivate pathogens that cause mastitis (Barberg et al., 2007; Black et al., 2014). Proper bed management is essential to maintain the cow's cleanliness and udder health (Barberg et al., 2007). It is recommended that the bed maintains a temperature between 45 and 60°C, and moisture between 40 and 60% (Black et al., 2013). The high bacterial load is often linked to high moisture levels, especially during the cold and humid climate of some regions, which may require greater replacement of material (Black et al., 2014, 2013; Leso et al., 2020).

On the other hand, the open lot is increasingly used around the world, particularly in arid climate regions (Tresoldi et al., 2017), due to its simple and low-cost infrastructure

and management (Barnes et al., 2013; O’Driscoll et al., 2008a; Salado et al., 2020; USDA-NAHMS, 2016). In Uruguay, it is the most used type of housing (Chilibroste and Battezzore, 2019) despite having a temperate humid climate. In this way, health and welfare can be at risk in these systems if the animals are exposed to outdoor conditions such as rain, mud, or heat stress (Boyle et al., 2008; O’Driscoll et al., 2008b; Tresoldi et al., 2017; Tucker et al., 2007). The floor of open lot systems may have high moisture and manure accumulation, with a large bacterial load that could predispose the cows to mastitis (Hogan and Smith, 2012). Considering that cows are lying 50 to 60% of the day, the floor with which their teats have contact could predispose them to greater exposure to environmental pathogens, being directly related to the bacterial load of the environment (Hogan and Smith, 2012).

There are many options when choosing production models which can affect the health of the animals. Growing societal pressures for decreased use of antibiotics further reinforces the need to understand the factors that could help prevent mastitis, such as the environment and management (Klaas and Zadoks, 2018). The literature lacks well-controlled studies that evaluate the effect of the facilities of housing (e.g., ground, bed, roof) used in mixed production systems throughout entire lactation, on udder hygiene and udder health of dairy cows in different calving seasons. This work hypothesized that the conditions during the housing period in OL, with greater exposure of the cows to the environment and adverse weather factors, can generate a higher level of UHS and consequently a higher incidence of mastitis than CB. Considering the dynamic aspects that can affect mastitis, the present work aims to compare the housing conditions in compost barn vs open lot, used in mixed systems, in two calving seasons, and its impact on UHS and udder health throughout entire lactation.

## **Materials and methods**

The evaluations were carried out at the Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Paysandú, Uruguay (32° 23'07.6 "S 58° 03'17.9" W) between March 2019 and April 2020. The protocol was approved by the Ethics Committee of Universidad de la República, (Comité de Ética en el uso de Animales de Experimentación), CEUA-CHEA ID 682- Exp. 020300-000602-18).

### **Experimental design**

The study was performed with Holstein dairy cows that calved in March and April (n=31; hereafter called autumn) and in July and August (hereafter called late winter, n=27). Before calving, cows were blocked according to parity, expected calving date, body weight (BW), and body condition score (BCS), considering that all were healthy animals on clinical examination, without a background of chronic mastitis. They were then randomly distributed into 2 treatments: compost barn (CB) + grazing, and open lot (OL) + grazing. The treatments started immediately after calving and lasted until the end of the corresponding lactation.

### **Animals**

In autumn calving season, thirty-one Holstein dairy cows were used (CB: n=16, OL: n=15). The mean parity was  $2.8 \pm 1.4$ , BW at calving was  $660 \pm 78$  kg, BCS at calving was  $3.0 \pm 0.3$ . The mean calving date was  $03/17/19 \pm 9.7$  days, and the evaluation was carried out until 02/06/2020. Daily milk production was  $26.8 \pm 0.2$  L/day for CB and  $26.1 \pm 0.2$  L/day for OL, on average for the entire lactation.

In late-winter calving season, twenty-seven Holstein dairy cows were used (CB: n=13, OL: n=14). The mean parity was  $2.7 \pm 1.2$ , BW at calving was  $620 \pm 64$  kg, BCS at calving was  $2.8 \pm 0.2$ . The mean calving date was  $08/07/19 \pm 9.7$  days, and the evaluation was carried out until 05/27/2020. Daily milk production was  $27.0 \pm 0.2$  L/day for CB and  $26.1 \pm 0.2$  L/day for OL, on average for the entire lactation.

### *Treatments*

#### *Compost Barn*

The CB consisted of a roofed barn, with ventilation (both natural and with fans) and sprinklers for cooling the animals. The cows were housed in pens (4 cows/pen), which each had a compost bedded pack area of  $54 \text{ m}^2$  ( $13.5 \text{ m}^2/\text{animal}$ ). The adjacent feeding area was  $27 \text{ m}^2$  of concrete with a 3-meter long feed trough shared by the 4 animals. Each pen had fresh water *ad libitum*.

The materials used in the bedded pack were eucalyptus and pine sawdust, wood chips, and rice husk stirred with a chisel plow twice a day. A 15 cm layer of new material was added every 15-20 days, depending on the temperature and moisture of the bedded pack.

#### *Open Lot*

The OL was subdivided into pens for 4 cows. Each pen had an area of  $478 \text{ m}^2$  with an artificial shade area provided by a wooden structure and a  $19.2 \text{ m}^2$  nylon roof with a height of 4 m, the rest of the area was uncovered and therefore exposed to the weather. Each pen had a 4.5-meter-long cement feed trough and fresh water *ad libitum*. Between the feeding area and the shaded area, there was an area divided into two parts that were used alternately, depending on the accumulation of mud. With this management, the effective area of use was  $72.8 \text{ m}^2/\text{animal}$ .

### **Routine and feeding management**

All the animals had the same pre-calving management. The cows entered the corresponding treatment after calving and were milked twice a day (04:00 a.m. and 03:00 p.m. in autumn-winter, and 04:00 a.m. and 04:00 p.m. in spring-summer). The milking routine started with forestripping to stimulate milk descent and to detect clinical mastitis. Then, pre-dipping was carried out with a hydrogen peroxide-based sanitizing solution (OxyCide®, GEA Farm Technologies, Inc.), dried with disposable paper towels, and after milking, teats were immersed in an iodine solution (LuxSan® X, GEA Farm Technologies, Inc.) as post-dipping.

In both calving seasons, the feeding management was the same, based on a mixed model with a grazing period and a housing period, where supplementation was offered. This occurred in two different types of housing that characterized the treatments. Each period was marked by the interval between milking.

The grazing access from March to October was between 07:00 a.m. and 02:00 p.m., housing animals after the p.m. milking. From November to April the grazing access was between 05:30 p.m. and 03:00 a.m., housing animals after the a.m. milking.

Supplementation was provided in the housing system after milking according to the corresponding period: from March to October at 05:30 pm and from November to April at 08:00 am.

When low pasture stock conditions were present, the cows were housed the entire day. This occurred three times: from 04/11/19 to 04/21/19, from 06/06/19 to 06/19/19, and 12/19/19 to 01/01/2020. In this case, animals were fed a TMR divided into two daily rations. During these periods, the animal management was the same for both treatments, differing only the housing system.

#### *Supplementation*

The amount of supplement was adjusted according to pasture supply to ensure the cows reached target milk production. TMR was composed of whole plant corn silage or sorghum silage, pasture hay, soy husk, corn grain, wheat bran, soybean meal and sunflower expeller. The average composition was 55.6% dry matter (DM), 16.0% crude protein (CP), 40.7% neutral detergent fiber (NDF), 19.1% acid detergent fiber (ADF), 14.9% crude protein (CP), 4.6% ether extract (EE), and 9.1% ash. The average supplement consumption was 12.5 kg DM/cow/day for cows that calved in autumn and 13.5 kg DM/cow/day for cows that calved in late winter.

#### *Pastures*

The grazing management was based on a high annual pasture stocking rate of 2.5 lactating cows (1500 kg LW) per hectare. Each treatment had independent plots of 4 forage resources of 3.2 ha each. The forage resources were: 1st-year pasture of *Medicago sativa* and *Dactylis glomerata*, 2nd year *Festuca arundinacea*, 3rd year *Festuca arundinacea*, and *Lotus corniculatus*, and annual grass of *Avena sativa* and *Lolium multiflorum* in winter and *Glycine max* during summer. Grazing was carried out in a weekly occupation of the plots. Pasture supply was adjusted weekly considering the pasture growth rate, plant condition when grazing started (number of leaves and/or nodes), and the forage stock in the grazing area (target: 1800 kg DM/ha). The average pasture herbage mass for CB treatment in the autumn and winter months was  $2373 \pm 547$  kg DM/ha and in spring-summer months  $3426 \pm 759$  kg DM/ha. For OL treatment, pasture herbage mass in autumn-winter months was  $2466 \pm 496$  kg DM/ha and in spring-summer months  $3232 \pm 1067$  kg DM/ha.

#### **Measurements**

### *Udder hygiene score*

Udder hygiene was scored using a scale of 1 to 4: (1) Completely free of or has very little dirt, 2) Slightly dirty 3) Mostly covered in dirt, or 4) completely covered caked-on dirt (Schreiner and Ruegg, 2002). Observations were always made by the same person at the time of milking. The evaluations were carried out monthly as well as on days after rainfall greater than 30 mm. This cut-off point was arbitrarily considered as the minimum rainfall from which significant amounts of mud would be generated in our region, determined in previous observations of the research group (unpublished data).

### *SCC and IMI probability*

Milk samples were collected during both daily milking to determine SCC weekly from calving to 90 days in milk (DIM), biweekly from 91 to 180 DIM, and monthly from 181 to 300 DIM, using flow cytometry (Delta CombiScope™ FTIR 600 HP).

Somatic cell score (SCS) was calculated according to Shook et al. (2017):  $SCS = \log_2(SCC/100,000) + 3$ . To determine the monthly IMI, animals that had at least one instance of SCC greater than 200,000 cells/mL in that month were considered infected (Schukken et al., 2003).

### *Clinical mastitis determinations*

During the milking routine, cases of clinical mastitis were detected through forestripping, as well as through the monitoring of the SCC with a subsequent check of the cow looking for clinical signs, according to Ruegg (2011). In both situations, animals were checked by the technical team that carried out the records and obtained milk samples from the affected quarter to carry out the corresponding culture and antibiogram (NMC, 2004). The animals with mastitis were treated following a previously stipulated antibiotic protocol or according to the antibiogram results.

Milk samples of affected quarters were taken in sterile flasks, stored at -20°C (Giannechini et al., 2002), and sent to the Northwest Regional Laboratory of DILAVE, Paysandú, Uruguay. There, they were cultured on blood agar plates and incubated at 37°C for 24-48 hours to determine the microorganisms causing the disease (Giannechini et al., 2002).

The incidence of clinical mastitis was calculated as the number of new cases (cows presenting the disease for the first time) divided by the number of lactating animals in each treatment per month (Ruegg, 2011). Cumulative incidence of clinical mastitis was calculated as the total number of cows exhibiting mastitis for the entire lactation divided by the number of lactating cows per treatment per 100.

### *Meteorological records*

Daily rainfall (mm) was recorded at the meteorological station located on the same site where the experiment was carried out.

#### *Compost bedded pack measurements*

Weekly, temperature (°C) and moisture (%) of the compost bedded pack was measured (Figure 1) at a depth of 20 cm (Leso et al., 2013).

Insert figure 1 here.

#### **Statistical analysis**

UHS was analyzed classifying the data into two categories "clean" (scores 1 and 2) and "dirty" (scores 3 and 4) (Schreiner and Ruegg, 2003). For this analysis, a generalized linear mixed model was used, for a binomial distribution variable (GLIMMIX; SAS University Edition version 9.4, 2020). The fixed effects were the treatment, date of observation of UHS, and the interaction between treatment and date of observation, and the block was considered as a random effect. The effect of rainfall (> 30 mm) on UHS was studied by contrast analysis, in which the observations after the occurrence of rainfall were compared with the observations on days without previous rainfall, differentially for each treatment. Additionally, the odds ratio (OR) and its 95% CI were reported.

To determine the correlation between UHS and IMI and between UHS and SCS, the closest measure of IMI or SCS after UHS observation (1 to 20 days; Schreiner and Ruegg, 2003) was used, and the Spearman test was carried out.

The relative prevalence of IMI was analyzed using a generalized linear mixed model, for a binomial distribution variable (GLIMMIX; SAS University Edition version 9.4, 2020), with fixed effects defined as treatment, month, and the interaction between treatment and month, and the block with the animal nested as a random effect.

For the analysis of the monthly and cumulative incidence of clinical mastitis, contingency tables were made, and it was analyzed by Fisher's exact test for binomial variables. Besides, 95% confidence intervals were estimated by the Wilson Score method.

These analyzes were performed for each calving season separately. For all analyzes, a value of  $P \leq 0.05$  was considered as a significant effect and a tendency when  $0.05 < P \leq 0.10$ .

The results of the bacterial cultures are presented as descriptive statistics according to the calving season for both treatments and included samples of cases of clinical mastitis (first or recurrent events) (Ruegg, 2011).

## **Results**

The UHS classified as “clean” and “dirty” had a treatment effect in both calving seasons ( $P < 0.0001$ ). Regarding the cows calved in autumn, the OL presented 43.0% of the cows classified as dirty, while in CB this value was 19.8% (OR= 3.6, CI 95%: 2.4-5.3;  $P < 0.0001$ ), on average for the entire lactation. For cows calved in late winter, 57.5% of the OL cows and 28.0% of the CB cows were classified as dirty (OR= 2.4, CI 95%: 1.5-3.8;  $P < 0.0001$ ), on average for the entire experimental period.

There was an effect of the date of observation on the percentage of dirty cows calved in autumn ( $P < 0.0001$ ). The observation of UHS made in May presented a higher percentage of dirty cows compared to the first observation of April 2019, to the August observation, and to the first October observation ( $P < 0.05$ ). Also, the first observation carried out in November showed a higher percentage of dirty cows compared to the August observation ( $P < 0.05$ ), without differences between the other observations. In the late winter calving season, there was also an effect of the date of observation ( $P = 0.01$ ). The second observation carried out in November showed a higher percentage of dirty cows compared to the observations of August and February ( $P < 0.05$ ), without differences between the other observations.

There was no effect of the interaction between treatment and date of observation on the percentage of dirty cows calved in autumn (Figure 2-C). This interaction had a significant effect on cows calved in late winter ( $P = 0.03$ ), where there was a higher percentage of dirty cows in the OL compared to CB, during December and January (Figure 2-B). Additionally, considering only CB calved in late winter, the differences were given by a higher percentage of dirty cows in the second observation in November, compared to the first observation carried out in August, the first observation in October, and the observations of December, January, and February. The first November observation of CB also had a higher percentage of dirty cows compared to August, December, January, and February. The September observation and the second observation in October of CB had a higher percentage of dirty cows compared to February. Within OL, the first observation of January had a higher percentage of dirty cows compared to those of August, September, October, the first of November, and the February observation. Besides, the second observation made in November and the December observation showed a higher percentage of dirty cows in OL compared to those of August, September, and February. Finally, the second observation in January in OL had a higher percentage of dirty cows than in August.

Rainfall greater than 30 mm only affected the percentage of dirty cows of OL calved in autumn ( $P = 0.05$ ). There were 50.5% of dirty cows in the observations made after rains, while, in the observations without previous rainfall, this percentage was 34.8% (OR=1.85, CI 95%: 1.1-3.1;  $P = 0.02$ ). For CB calved in autumn and both treatments of late winter calvings, there was no effect of rainfall on the percentage of dirty cows.

Insert figure 2 here.

The correlation between UHS and IMI was significant only for OL cows calved in autumn ( $r = 0.13$ ;  $P = 0.05$ ). Also, there was a tendency of correlation between UHS and

SCS in the OL in the same calving season ( $r=0.11$ ;  $P=0.09$ ). These correlations were not significant in CB calved in autumn and both treatments of late winter calvings.

The prevalence of IMI was not affected by treatment (CB: 48.0% and OL: 36.3%), month, or interaction between treatment and month for cows calved in autumn. For cows calved in late winter, there was no effect of treatment on the prevalence of IMI (CB: 35.6% and OL: 39.1), nor the interaction between treatment and month ( $P=0.57$ ). However, there was an effect of the month ( $P=0.01$ ) for cows calved in late winter: the prevalence of IMI was greater ( $P=0.02$ ) in December ( $63.7 \pm 10.0\%$ ) than in August ( $13.8 \pm 8.2\%$ ).

In either calving season, monthly and cumulative clinical mastitis incidence had no significant differences between treatments. For CB cows calved in autumn, the cumulative incidence of clinical mastitis in the whole lactation was 31% (95% CI: 14-56%), and in OL cows was 53% (95% CI: 30-75%). For cows calved in late winter, the cumulative incidence of clinical mastitis in CB was 54% (95% CI: 29-77%) and in OL was 50% (95% CI: 27-73%) for OL.

Nineteen isolates were made for CB and 8 for OL cows calved in autumn, and 15 isolates for CB and 8 for OL cows calved in late winter. In OL, in both calving seasons, the isolated bacteria were *Escherichia coli* and *Streptococcus uberis*, while in CB, in addition to these bacteria, others such as *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Nocardia* spp. and coagulase-negative *Staphylococcus* were isolated (Table 1).

Insert table 1.

## Discussion

The housing conditions in CB vs OL, in mixed feeding systems, affected the UHS during both calving seasons. The higher UHS in OL than in CB agreed with the literature that attributes it to muddy conditions of the environment (Chen et al., 2017; Fisher et al., 2003) generated by trampling and animal excretions on the dirt floor, as well as by exposure to rainfall (Sant'Anna and Paranhos da Costa, 2011). This result is in accordance with that reported by O'Driscoll et al. (2008b) and (Boyle et al., 2008), who found higher dirtiness in the open lot when compared to free-stall, using dry cows and heifers respectively. On the other hand, Sjostrom et al. (2019) found a higher UHS in compost barn compared to open lot. However, these evaluations were in complete confinement and were carried out only during the winter with the presence of snow (Boyle et al., 2008; O'Driscoll et al., 2008b; Sjostrom et al., 2019). Besides, in Sjostrom et al. (2019) wheat straw was used as bedding in the open lot.

Furthermore, when it rained more than 30 mm, the OL cows calved in autumn were dirtier than days without previous rains. This may lead to think that weather conditions during the autumn-winter period, with a delay in the ground drying process due to low solar radiation (Laguarda et al., 2020) and ambient temperature (low evaporation),



contributed to the rains having this effect since the same was not observed in late winter. This result highlights the fact that cows housed in OL are more exposed to environmental conditions than cows housed in CB, and therefore OL cows are more vulnerable in udder health to such conditions.

The interaction between treatment and date of observation visualized in late winter, signified a higher UHS in OL compared to CB during December and January. This could have been the result of some conditions given at that time, such as those caused by the higher frequency of rains or complete confinement from December 19, 2019, to January 1, 2020. Although there was no effect of the occurrence of rainfall on the UHS in late winter, the sum of rains during several days in those months (Figure 12-A), added to the trampling and a greater amount of excretions given the greater permanence, could have increased the formation of mud in OL. This aspect could be visualized in the interaction between OL and date of observation, where the days with the higher percentages of dirty cows coincided with the higher frequency and accumulated rainfall (Figure 2 - A and B). These results could indicate that more intense use of this housing system, plus the weather conditions, could cause worse results in terms of UHS. On the other hand, within CB calved in late winter, the highest percentages of dirty cows were observed between September and November, and it is noteworthy that in those months the moisture of the bedded pack was close to the upper limit, and the temperature of the bedded pack was below or at the lower limit (Figure 1). This is in accordance with the literature that reported an association between bedded pack parameters and the UHS (Black et al., 2013; Eckelkamp et al., 2016; Fávero et al., 2015). Eckelkamp et al. (2016) found higher UHS in compost barn at higher bedded pack moisture, which in turn, was associated with a lower barn temperature. Black et al. (2013) also reported that the herd UHS was affected by ambient temperature, bedded pack temperature measured at a depth of 20.3 cm, and the interaction between bedded pack moisture and ambient temperature. Therefore, even with partial use in mixed systems, the management of the bedded pack and its temperature and humidity parameters could have an impact on UHS.

The correlation between UHS and IMI, as well as the tendency of correlation between UHS and SCS, were found only on OL calved in autumn, but despite being positive, they presented a small magnitude. This magnitude of correlation coincides with Reneau et al. (2005), who reported an association ( $R=0.15$ ) between UHS and SCS for dairy cows in complete confinement in free-stall. Additionally, in the present experimental conditions, no significant differences were detected between treatments in terms of IMI and the incidence of clinical mastitis. Therefore, the differences found in UHS would not be explaining the results in terms of mastitis incidence. In this sense, Ellis et al. (2007) found no effect of dirtiness on the incidence of clinical mastitis. DeVries et al. (2012) found a higher dirtiness attributed to a lower frequency of barn (free-stall) cleaning, but this was not associated with differences in the incidence of clinical mastitis. Regarding more specifically to the types of housing studied in the present work, Sjoström et al. (2019) found a higher incidence of clinical mastitis in

cows in compost barn compared to open lot during winter, without access to grazing. On the other hand, in a survey of commercial dairy farms in Brazil with total confinement in open lot systems that migrated to compost barn systems, no differences were found in terms of SCC or treatment costs (Marcondes et al., 2020). As mentioned, the management conditions of the cited works differ from the present one. We did not find studies that evaluated the UHS and the incidence of mastitis in mixed systems, using these types of housing and during the entire lactation. The differences in the climate of the region in the present study and the use of housing for only half of the day, during most of the year, could impact the results. The present results reaffirm the complex and multifactorial character of this disease.

Another factor that could have an impact on the present results, such as the incidence of mastitis, is the difference in the available area per animal in each housing. Some studies report an association between a high stocking rate and a higher incidence of mastitis (Blowey and Edmondson, 2000; Hogan and Smith, 2012). In this sense, it is noteworthy that OL presented an area per animal more than 3 times greater than CB. Also, the complete milking routine with the pre-dipping application could have contributed to avoiding worse results in terms of mastitis in OL, considering the higher UHS that the cows presented at the time of milking. In a study in grazing systems, where the teats were relatively clean, the use of pre-dipping did not affect the incidence of mastitis compared to when it was not used (Morton et al., 2014). However, others indicate a decrease in teat bacterial load and therefore the probability of IMI after pre-dipping in confined systems (Pankey et al., 1987; Smith and Hogan, 1993). Therefore, the management adopted like available area per animal and milking routine could have contributed to the absence of differences in the incidence of mastitis between treatments.

The higher prevalence of IMI in December compared to August, for late winter, could be associated with heat stress, as reported in the literature (Bouraoui et al., 2002; Garcia et al., 2015; Summer et al., 2007). However, no differences were detected in other months, or for cows calved in autumn that were lactating until January. Still, the interaction between treatment and month did not affect the IMI, considering the facilities in CB to mitigate heat stress, in contrast to the greater exposure to heat in OL. Therefore, for these experimental conditions, we do not have sufficient evidence that these results were reinforced by the effect of heat stress, and further studies would be necessary.

Most of the pathogens isolated in the present work were environmental bacteria. The literature reports that the 5-point mastitis control plan (Neave et al., 1969) implemented in recent years has reduced transmission of contagious mastitis (Hogeveen et al., 2011; LeBlanc et al., 2006; Ruegg and Pantoja, 2013). However, a relative increase in the incidence of environmental mastitis has been observed (Hogeveen et al., 2011; Klaas and Zadoks, 2018), and it has been attributed to changes in management, housing, and herd size (Rowbotham and Ruegg, 2015; Ruegg, 2012;

Ruegg and Pantoja, 2013). In this sense, although combined with grazing access, the housing systems used could be associated with these results in the bacterial cultures.

### **Conclusions**

The cows housed in OL presented a higher UHS compared to cows in CB in both calving seasons. Besides, when it rained more than 30 mm, OL cows that calved in autumn were dirtier than days without previous rains. Also, only for cows of OL that calved in autumn, there was a correlation between UHS and IMI. However, no differences in IMI and clinical mastitis were found between OL and CB cows, in either calving season. Unlike the CB, the housing conditions in OL increased the risk of poorer udder hygiene and udder health indicators in dairy cows under mixed systems.

### **CRedit authorship contribution statement**

**G.R. Mendina:** Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Writing - original draft; Writing - review & editing. **J.P. Damián:** Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Methodology; Supervision; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. **P. Chilibroste:** Conceptualization; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Supervision; Visualization; Writing - original draft; Writing - review & editing. **O. Bentancur:** Formal analysis. **M.L. Adrien:** Conceptualization; Funding acquisition, Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Supervision; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing.

### **Declarations of interest**

None.

### **Acknowledges**

The authors thank all the staff of the Dr. Mario A. Cassinoni Experimental Station, for their help during the fieldwork of the study. This research was funded by the Agencia Nacional de Investigación e Innovación of Uruguay (ANII – RTS\_1\_2014\_1\_03) and through the graduate scholarship awarded to G. R. Mendina (POS\_NAC\_2018\_1\_151585).

### **References**

- Barberg, A.E., Endres, M.I., Salfer, J.A., Reneau, J.K., 2007. Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. *J. Dairy Sci.* 90, 1575–1583. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71643-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71643-0)
- Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., Cassidy, T.W., 2002. Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85, 2948–2963. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74381-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74381-6)

- Barnes, A.P., McCalman, H., Buckingham, S., Thomson, S., 2013. Farmer decision-making and risk perceptions towards outwintering cattle. *J. Environ. Manage.* 129, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.05.026>
- Baudracco, J., Lopez-Villalobos, N., Romero, L.A., Scandolo, D., Maciel, M., Comeron, E.A., Holmes, C.W., Barry, T.N., 2010. Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing lucerne pasture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 168, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.017>
- Bewley, J.M., Robertson, L.M., Eckelkamp, E.A., 2017. A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. *J. Dairy Sci.* 100, 10418–10431. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13251>
- Black, R.A., Taraba, J.L., Day, G.B., Damasceno, F.A., Bewley, J.M., 2013. Compost bedded pack dairy barn management, performance, and producer satisfaction. *J. Dairy Sci.* 96, 8060–8074. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6778>
- Black, R.A., Taraba, J.L., Day, G.B., Damasceno, F.A., Newman, M.C., Akers, K.A., Wood, C.L., McQuerry, K.J., Bewley, J.M., 2014. The relationship between compost bedded pack performance, management, and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 97, 2669–2679. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6779>
- Blowey, R., Edmondson, P., 2000. The environment and mastitis. *In Pract.* 22, 382–394. <https://doi.org/10.1136/inpract.22.7.382>
- Bouraoui, R., Lahmar, M., Majdoub, A., Djemali, M., Belyea, R., 2002. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.* 51, 479–491. <https://doi.org/10.1051/animres:2002036>
- Boyle, L.A., Boyle, R.M., French, P., 2008. Welfare and performance of yearling dairy heifers out-wintered on a wood-chip pad or housed indoors on two levels of nutrition. *Animal* 2, 769–778. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001870>
- Chen, J.M., Stull, C.L., Ledgerwood, D.N., Tucker, C.B., 2017. Muddy conditions reduce hygiene and lying time in dairy cattle and increase time spent on concrete. *J. Dairy Sci.* 100, 2090–2103. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11972>
- Chilibroste, P., Battegazzore, G., 2019. Proyecto Producción Competitiva 2013-2018 Dinámica bio-económica de los sistemas de producción de leche.
- DeVries, T.J., Aarnoudse, M.G., Barkema, H.W., Leslie, K.E., von Keyserlingk, M.A.G., 2012. Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 95, 5730–5739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5375>
- Eckelkamp, E.A., Taraba, J.L., Akers, K.A., Harmon, R.J., Bewley, J.M., 2016.

- Understanding compost bedded pack barns: Interactions among environmental factors, bedding characteristics, and udder health. *Livest. Sci.* 190, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.05.017>
- Ellis, K.A., Innocent, G.T., Mihm, M., Cripps, P., McLean, W.G., Howard, C.V., Grove-White, D., 2007. Dairy cow cleanliness and milk quality on organic and conventional farms in the UK. *J. Dairy Res.* 74, 302–310. <https://doi.org/10.1017/S002202990700249X>
- Endres, M.I., Barberg, A.E., 2007. Behavior of dairy cows in an alternative bedded-pack housing system. *J. Dairy Sci.* 90, 4192–4200. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-751>
- Fajardo, M., Mattiauda, D.A., Motta, G., Genro, T.C., Meikle, A., Carriquiry, M., Chilibraste, P., 2015. Use of mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation Holstein cows. *Livest. Sci.* 181, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.023>
- Fariña, S.R., Chilibraste, P., 2019. Opportunities and challenges for the growth of milk production from pasture: The case of farm systems in Uruguay. *Agric. Syst.* 176. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.05.001>
- Fávero, S., Portilho, F.V.R., Oliveira, A.C.R., Langoni, H., Pantoja, J.C.F., 2015. Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. *Livest. Sci.* 181, 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.09.002>
- Fisher, A.D., Stewart, M., Verkerk, G.A., Morrow, C.J., Matthews, L.R., 2003. The effects of surface type on lying behaviour and stress responses of dairy cows during periodic weather-induced removal from pasture. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 81, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00240-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00240-X)
- Fontaneli, R.S., Sollenberger, L.E., Littell, R.C., Staples, C.R., 2005. Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *J. Dairy Sci.* 88, 1264–1276. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72793-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72793-4)
- Garcia, A.B., Angeli, N., Machado, L., de Cardoso, F.C., Gonzalez, F., 2015. Relationships between heat stress and metabolic and milk parameters in dairy cows in southern Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.* 47, 889–894. <https://doi.org/10.1007/s11250-015-0804-9>
- García, S.C., Holmes, C.W., 2005. Seasonality of calving in pasture-based dairy systems: Its effects on herbage production, utilisation and dry matter intake. *Aust. J. Exp. Agric.* 45, 1–9. <https://doi.org/10.1071/EA00110>
- Giannechini, R., Concha, C., Rivero, R., Delucci, I., Moreno López, J., 2002.

- Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. *Acta Vet. Scand.* 43, 221–230. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-221>
- Hogan, J., Smith, K.L., 2012. Managing Environmental Mastitis. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 28, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.009>
- Hogeveen, H., Pyorala, S., Waller, K.P., Hogan, J.S., Lam, T.J.G.M., Oliver, S.P., Schukken, Y.H., Barkema, H.W., Hillerton, J.E., Hogeveen, H.; Pyorala, S.; Waller, K. P.; Hogan, J. S.; Lam, T.; Oliver, S.; Schukken, Y.; Barkema, H.; Hillerton, J.E., 2011. Current status and future challenges in mastitis research. *NMC Annu. Meet. Proc.* 36–48.
- Klaas, I.C., Zadoks, R.N., 2018. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transbound. Emerg. Dis.* 65, 166–185. <https://doi.org/10.1111/tbed.12704>
- Lacy-Hulbert, S.J., Kolver, E.S., Williamson, J.H., Napper, A.R., 2002. Incidence of mastitis among cows of different genotypes in differing nutritional environments. *Proc. New Zeal. Soc. Anim. Prod.* 62, 24–29. <https://doi.org/10.1079/BJN19660078>
- Laguarda, A., Alonso-Suárez, R., Terra, R., 2020. Solar irradiation regionalization in Uruguay: Understanding the interannual variability and its relation to El Niño climatic phenomena. *Renew. Energy* 158, 444–452. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.083>
- LeBlanc, S.J., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Duffield, T.F., Leslie, K.E., 2006. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89, 1267–1279. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72195-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6)
- Leso, Barbari, M., Lopes, M.A., Damasceno, F.A., Galama, P., Taraba, J.L., Kuipers, A., 2020. Invited review: Compost-bedded pack barns for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103, 1072–1099. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16864>
- Leso, L., Uberti, M., Morshed, W., Barbari, M., 2013. A survey on Italian compost dairy barns. *J. Agric. Eng.* 44. <https://doi.org/10.4081/jae.2013.s2.e40>
- Marcondes, M.I., Mariano, W.H., De Vries, A., 2020. Production, economic viability and risks associated with switching dairy cows from drylots to compost bedded pack systems. *Animal* 14, 399–408. <https://doi.org/10.1017/S1751731119001848>
- Morton, J.M., Penry, J.F., Malmo, J., Mein, G.A., 2014. Premilking teat disinfection: Is it worthwhile in pasture-grazed dairy herds? *J. Dairy Sci.* 97, 7525–7537. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8185>
- Neave, F.K., Dodd, F.H., Kingwill, R.G., Westgarth, D.R., 1969. Control of Mastitis

- in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *J. Dairy Sci.* 52, 696–707. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(69\)86632-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(69)86632-4)
- NMC, 2004. National Mastitis Council Procedures for Collecting Milk Samples. Natl. Mastit. Council.
- O’Driscoll, K., Boyle, L., French, P., Hanlon, A., 2008a. The effect of out-wintering pad design on hoof health and locomotion score of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 544–553. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0667>
- O’Driscoll, K., Boyle, L., French, P., Meaney, B., Hanlon, A., 2008b. The effect of out-wintering pad design on dirtiness score, somatic cell score and mastitis incidence in dairy cows. *Animal* 2, 912–920. <https://doi.org/10.1017/S1751731108001882>
- Pankey, J.W., Wildman, E.E., Drechsler, P.A., Hogan, J.S., 1987. Field Trial Evaluation of Premilking Teat Disinfection. *J. Dairy Sci.* 70, 867–872. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80085-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80085-1)
- Reneau, J.K., Seykora, A.J., Heins, B.J., Endres, M.I., Farnsworth, R.J., Bey, R.F., 2005. Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227, 1297–1301. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1297>
- Rowbotham, R.F., Ruegg, P.L., 2015. Association of bedding types with management practices and indicators of milk quality on larger Wisconsin dairy farms. *J. Dairy Sci.* 98, 7865–7885. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9866>
- Ruegg, P.L., 2012. New Perspectives in Udder Health Management. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 28, 149–163. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.001>
- Ruegg, P.L., 2011. Managing Mastitis and Producing Quality Milk. *Dairy Prod. Med.* 207–232. <https://doi.org/10.1002/9780470960554.ch18>
- Ruegg, P.L., Pantoja, J.C.F., 2013. Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality. *Irish J. Agric. Food Res.* 52, 101–117.
- Salado, E.E., Maciel, M.G., Bretschneider, G., Cuatrin, A., Gagliostro, G.A., 2020. Productive Response and Reproductive Performance of Dairy Cows Subjected to Different Feeding Systems. *Open J. Anim. Sci.* 10, 10–32. <https://doi.org/10.4236/ojas.2020.101002>
- Sant’Anna, A.C., Paranhos da Costa, M.J.R., 2011. The relationship between dairy cow hygiene and somatic cell count in milk. *J. Dairy Sci.* 94, 3835–3844. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3951>
- Schreiner, D.A., Ruegg, P.L., 2003. Relationship between udder and leg hygiene

- scores and subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 86, 3460–3465. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73950-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73950-2)
- Schreiner, D.A., Ruegg, P.L., 2002. Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. *J. Dairy Sci.* 85, 2503–2511. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74333-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74333-6)
- Schukken, Y.H., Wilson, D.J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzalez, R.N., 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.* 34, 579–596. <https://doi.org/10.1051/vetres:2003028>
- Shane, E.M., Endres, M.I., Janni, K.A., 2010. Alternative bedding materials for compost bedded pack barns in Minnesota: A descriptive study. *Appl. Eng. Agric.* 26, 465–473.
- Sjostrom, L.S., Heins, B.J., Endres, M.I., Moon, R.D., Sorge, U.S., 2019. Effects of winter housing system on hygiene, udder health, frostbite, and rumination of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102, 10606–10615. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15759>
- Smith, K.L., Hogan, J.S., 1993. Environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9, 489–498. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30616-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30616-2)
- Summer, A., Sandri, S., Tosi, F., Franceschi, P., Malacarne, M., Formaggioni, P., Mariani, P., 2007. Seasonal trend of some parameters of the milk quality payment for Parmigiano-Reggiano cheese. *Ital. J. Anim. Sci.* 6, 475–477. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.1s.475>
- Tresoldi, G., Schütz, K.E., Tucker, C.B., 2017. Cow cooling on commercial drylot dairies: A description of 10 farms in California. *Calif. Agric.* 71, 249–255. <https://doi.org/10.3733/ca.2017a0042>
- Tucker, C.B., Rogers, A.R., Verkerk, G.A., Kendall, P.E., Webster, J.R., Matthews, L.R., 2007. Effects of shelter and body condition on the behaviour and physiology of dairy cattle in winter. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 105, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.06.009>
- USDA-NAHMS, 2016. Dairy 2014 Dairy Cattle Management Practices in the United States.
- Vibart, R.E., Fellner, V., Burns, J.C., Huntington, G.B., Green, J.T., 2008. Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J. Dairy Res.* 75, 471–480. <https://doi.org/10.1017/S0022029908003361>
- Washburn, S.P., White, S.L., Green, J.T., Benson, G.A., 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved holstein and jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85, 105–111. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74058-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74058-7)



White, S.L., Benson, G.A., Washburn, S.P., Green, J.T., 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved holstein and jersey cows. *J. Dairy Sci.* 85, 95–104. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74057-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74057-5)

Wolfe, T., Vasseur, E., DeVries, T.J., Bergeron, R., 2018. Effects of alternative deep bedding options on dairy cow preference, lying behavior, cleanliness, and teat end contamination. *J. Dairy Sci.* 101, 530–536. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12358>

Figure 1. Average temperature ( $^{\circ}\text{C}$ , ▲) and moisture (% , ●) of the compost bedded pack measured at a depth of 20 cm during both calving seasons. The arrow indicates the moment when the total bed material replacement occurred. The dashed straight line indicates the minimum moisture recommended, the continuous straight lines indicate the minimum temperature, and the maximum temperature and moisture recommended

Figure 2. Percentage of dirty cows (UHS score 3 and 4) per date of observation, for the compost barn (CB ■) and open lot (OL □), in autumn (C) and late winter calvings (B), and daily and monthly accumulated rainfall (A) during the same period. Arrows indicate post-rainfall observations. Asterisks indicate significant differences between treatments within late winter ( $P=0.03$ )

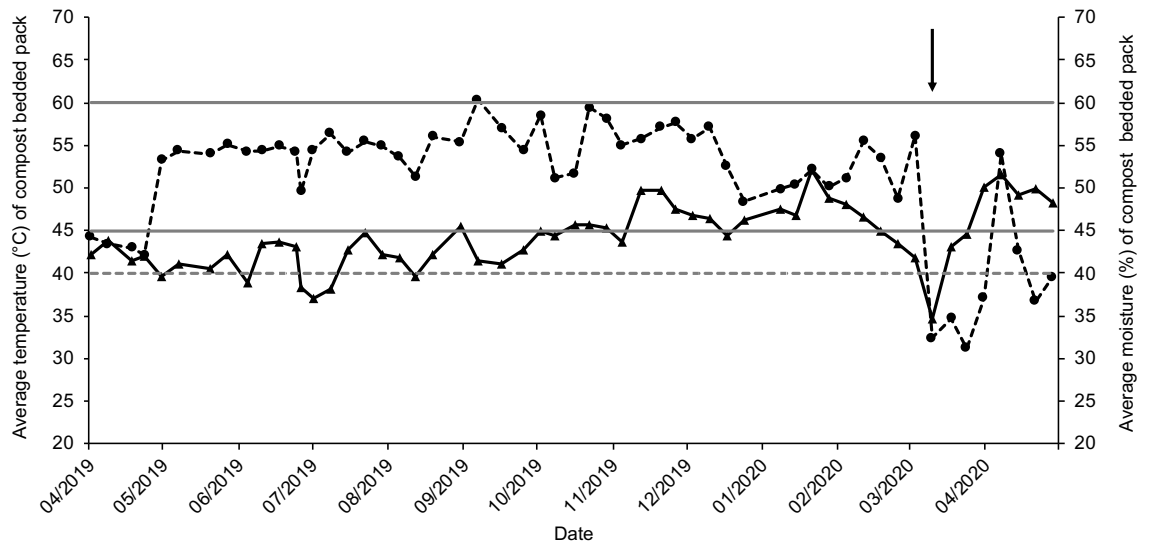


Figure 1

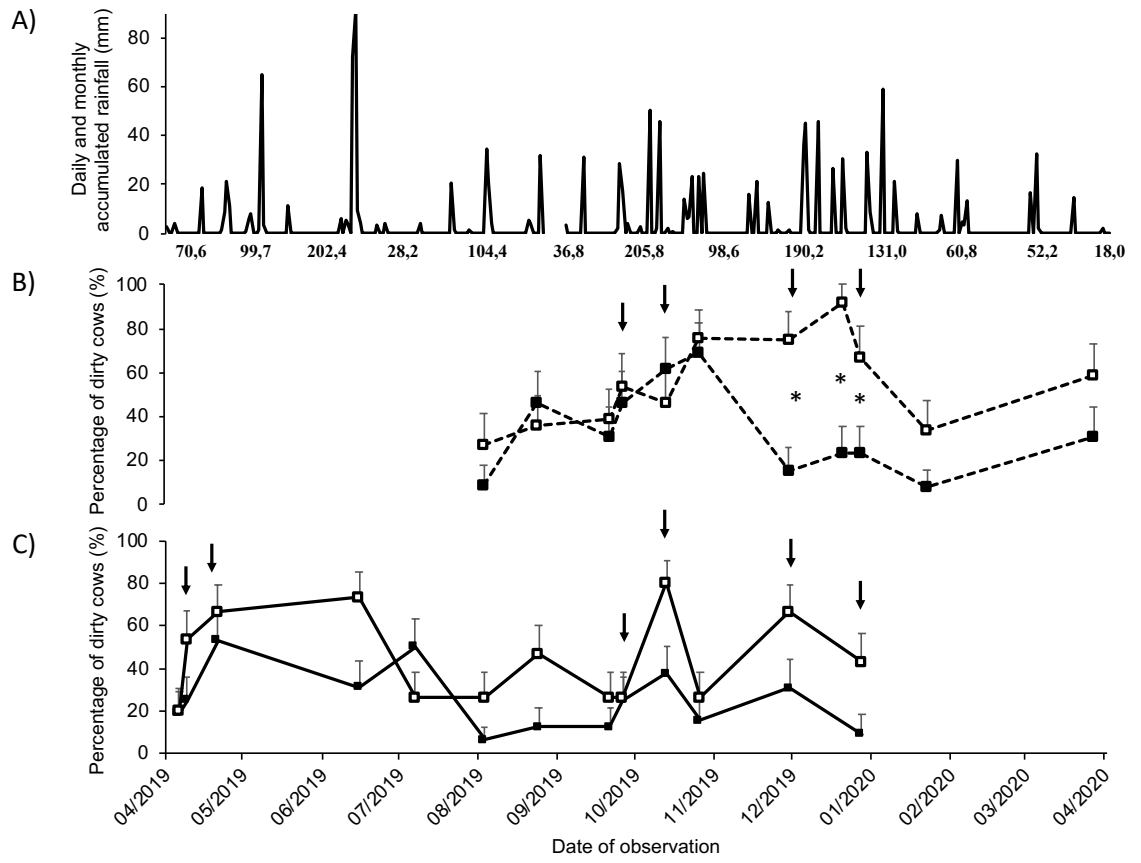


Figure 2

Table 1. Bacterial isolates from milk samples from individual quarters with clinical mastitis from the compost barn (CB) and open lot (OL) treatment in autumn and late winter calving seasons

Pathogen	Autumn		Late winter	
	CB	OL	CB	OL
	n (19)	n (8)	n (15)	n (8)
Gram-negative				
<i>Escherichia coli</i>	1	2	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2	-
Gram-positive				
<i>Streptococcus uberis</i>	2	1	1	1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	-	-	-
<i>Nocardia spp.</i>	1	-	1	-
Coagulase-negative Staphylococcus	2	-	2	-
No growth	11	4	7	5
Contaminated	1	1	1	-