

## Evaluación del efecto de *Panax ginseng* combinado con un sellador interno de pezones en la terapia selectiva para vaca seca

### *Effects of Panax ginseng combined with an internal teat sealant in the selective dry cow therapy*

Beccaria, C.<sup>1,2</sup>; Molineri, A.<sup>3</sup>; Neder, V.<sup>3</sup>; Suárez Archilla G.<sup>3</sup>; Simonutti, V.<sup>1</sup>; Silvestrini, P.<sup>1</sup>; Renna, M.S.<sup>1,2</sup>; Calvino, L.F.<sup>2,4</sup>; Dallard, B.E.<sup>1,2</sup>; Baravalle, C.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL)/Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral (UNL), Esperanza, Santa Fe, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina.

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba, Córdoba, Argentina.

\* Correspondencia: Dra. Celina Baravalle, ICIVET-Litoral (UNL-CONICET) – R. P. Kreder 2805, (3080) Esperanza, Santa Fe, Argentina. Tel: 54-3496-420639-223 | cbaraval@fcv.unl.edu.ar

Recibido 20/03/2025 – Aceptado 27/06/2025

**Resumen:** Se evaluó el efecto de *Panax ginseng* (Pg) y un sellador interno de pezones en una terapia selectiva para prevenir infecciones intramamarias (IIM) y curar IIM por *Staphylococcus no aureus* (SNA) al secado. La unidad experimental fue el cuarto mamario (n=140), divididos en: Grupo 1 (G1): cuartos libres de IIM, y Grupo 2 (G2): cuartos positivos a SNA. A los mismos se los dividió en dos subgrupos y se aplicó al secado Pg + sellador (G1Pg+S y G2Pg+S) o solo sellador (G1S y G2S). Se tomaron muestras de leche al posparto de todos los cuartos y las mismas fueron examinadas microbiológicamente. No se encontraron asociaciones estadísticas entre el secado y el posparto independientemente del tratamiento recibido (P=0,442). Del análisis de nuevas IIM al posparto se obtuvieron resultados similares para ambos grupos (P=0,397), obteniéndose valores de 25,8 y 19 % de cuartos con nuevas IIM para los G1Pg+S y G1 S, respectivamente. Del análisis sobre nuevas IIM por SNA se obtuvo un 75% de cura en los cuartos del G2Pg+S y G2S (P=0,999). Si bien el efecto del tratamiento de Pg+S para eliminar IIM por SNA al secado fue similar al uso de sellador solo, la terapia selectiva de secado es una alternativa a la administración masiva de antimicrobianos que puede aplicarse en forma segura y amerita su incorporación a nuevos estudios evaluando estrategias de uso en condiciones de campo de establecimientos de nuestro país.

**Palabras clave:** *Panax ginseng*; sellador interno de pezones; infecciones intramamarias; *Staphylococcus no aureus*; terapia selectiva de secado.

**Summary:** The effect of *Panax ginseng* (Pg) and an internal teat sealant to prevent intramammary infections (IMI) and cure of non-aureus *Staphylococcus* (NAS) IMI in a selective dry cow therapy was evaluated. Experimental unit was the mammary quarter (n=140), divided into: Group 1 (G1): IIM free quarters, and Group 2 (G2): NAS positive quarters. They were divided into two subgroups and Pg + internal sealant (G1Pg+S and G2Pg+S) or internal sealant alone (G1S and G2S) was applied at drying off. Postpartum milk samples were taken from all quarters and examined microbiologically. No statistical associations were found between drying-off and postpartum period regardless of the treatment received (P=0.442). Analysis of new IIMs at

postpartum, showed similar results for both groups ( $P=0.397$ ), obtaining values of 25.8 and 19 % of quarters with new IMI for G1Pg+S and G1 S, respectively. Analysis of new IIMs by NAS, showed 75% of cures in the G2Pg+S and G2S quarters ( $P=0.999$ ). The effect of Pg+S treatment to cure IMI by NAS at drying-off was similar to the internal sealant treatment alone. Selective dry cow therapy is a promising alternative to the use of antimicrobials that warrants future studies under local field conditions using larger numbers of animals.

**Keywords:** *Panax ginseng*; internal teat sealant; intramammary infections; Non-aureus *Staphylococcus*; selective dry cow therapy.

## Introducción

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria (GM) y es usualmente considerada como una enfermedad infecciosa (Zecconi *et al.*, 2020). Dentro de los agentes causantes de mastitis bovina, los *Staphylococcus* no *aureus* (SNA) constituyen un grupo de patógenos que, si bien son considerados como integrantes de la flora normal de la piel de la ubre y los pezones, también pueden causar infecciones del canal del pezón y de la GM. Los SNA en los últimos años se han convertido en los patógenos predominantes causantes de mastitis bovina en numerosos países del mundo (Kateete *et al.*, 2013; Abrahmsén *et al.*, 2014, Crespi *et al.*, 2022).

Al finalizar la lactancia comienza la involución de la GM bovina, comúnmente denominada etapa de “vacca seca”, la cual es de fundamental importancia para asegurar una máxima producción de leche durante la lactancia siguiente (Sorensen y Enevoldsen, 1991). Tradicionalmente, al momento del secado se realiza una terapia que consiste generalmente en la administración intramamaria (IMM) de antibióticos de acción prolongada a todos los cuartos de todos los animales del rodeo, ya sea en vacas con GM sanas o con infecciones intramamarias (IIM) subclínicas. Esta terapia profiláctica en GM sanas contribuye a controlar el riesgo de nuevas IIM durante el periodo de secado (Dodd *et al.*, 1969), conduciendo a una menor prevalencia de IIM al parto y de mastitis clínicas durante la lactancia siguiente (McCubbin *et al.*, 2022). Sin embargo, el uso de antibióticos en forma profiláctica es una práctica que potencialmente favorece la aparición de cepas bacterianas resistentes y un aumento en los fracasos terapéuticos, convirtiéndose en un problema grave para la salud humana y animal (Naranjo-Lucena y Slowey, 2023). Varios países como Finlandia, Países Bajos y Dinamarca, han enfocado sus esfuerzos en la implementación de medidas que regulen el uso de antibióticos en el sector lácteo, prohibiendo efectivamente el uso profiláctico de antimicrobianos en el secado a las vacas si no se conoce su estado infeccioso previo (Bennedsgaard *et al.*, 2010; Scherpenzeel *et al.*, 2016). Una estrategia alternativa que promueve un menor uso de antimicrobianos y que ha comenzado a implementarse en establecimientos con tecnología y registros adecuados, es la terapia selectiva de vacas al secado (TSVS), donde solo las vacas infectadas o potencialmente infectadas (usando pruebas de diagnóstico directo o indirecto) reciben tratamiento antibiótico (Berry y Hillerton, 2002; Cameron *et al.*, 2014). Asimismo, para reducir el número de nuevas IIM durante el periodo de vaca seca, se ha difundido el uso de selladores internos de pezones que forman una barrera física para impedir la entrada de microorganismos en esta etapa crítica (Sanford *et al.*, 2006; Krömker y Leimbach, 2017).

Para determinar qué animales deben ser tratados con antibióticos al inicio del período seco se utilizan métodos de diagnóstico directo, que consisten en detectar la presencia de patógenos en leche, e indirectos que son indicativos de la presencia de una respuesta inflamatoria en respuesta a la infección por un patógeno (Dohoo y Leslie, 1991). Dentro de los métodos de diagnóstico indirectos, el indicador del estado de salud de la GM más utilizado en los rodeos comerciales es el recuento de células somáticas (RCS) de la leche, estableciéndose un umbral o punto de corte para definir qué animales presentan un mayor riesgo de tener una IIM y por lo tanto deben ser tratados con terapia antibiótica en todos sus cuartos (Biggs *et al.*, 2016). Sin embargo, animales con bajos RCS podrían tener IIM por SNA que podrían persistir durante esta etapa (Newton *et al.*, 2008).

Las políticas mundiales actuales sobre la resistencia antimicrobiana (RAM) hacen prever, en una fecha no lejana, que el tratamiento antibiótico profiláctico de cada vaca al secarse, conocido como terapia masiva de vaca seca (todos los cuartos), será prohibido o estrechamente legislado en la mayor parte de los países. En consecuencia, los productores pecuarios deberán ajustarse a un procedimiento selectivo más racional que implique tratar con antibióticos solamente a los animales infectados a partir de la identificación por metodología diagnóstica (Biggs *et al.*, 2016).

Económicamente, en establecimientos con menor incidencia de mastitis y bajos RCS en tanque (<250.000 cél./ml), la terapia selectiva es más rentable que la terapia a todo el rodeo (Halasa *et al.*, 2010, Scherpenzeel *et*

al., 2016, McCubbin *et al.*, 2022). Dependiendo del protocolo de terapia selectiva realizada, la misma puede disminuir las IIM en el secado entre un 55% (Rowe *et al.*, 2020) y un 95% (Kabera *et al.*, 2021). Por lo tanto, el secado selectivo del rodeo con RCS relativamente bajos podría considerarse como una alternativa al tratamiento masivo con antibióticos, con posibles beneficios económicos para los productores, así como la mitigación del incremento de la RAM (McCubbin *et al.*, 2022).

El ginseng es la raíz del *Panax ginseng* (Pg) cuyo nombre en chino es “rénshēn” y que significa “raíz del hombre”. Numerosos estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado las capacidades inmunomoduladoras y efectos adyuvantes de Pg en la GM bovina (Hu *et al.*, 2001, Sun *et al.*, 2007; 2009). Estudios realizados por Baravalle *et al.* (2010, 2011) en GM bovinas libres de IIM, demostraron que la inoculación IMM de un extracto de Pg al momento del secado, ejerció un efecto inmunoestimulante. Por otro lado, pruebas de campo realizadas por Beccaria y col (2021), demostraron que las tasas de nuevas IIM al posparto para *S. aureus*, SNA y para las categorías contagiosos/ambientales fueron similares en cuartos mamarios tratados al secado con cefalexina con respecto a los tratados con cefalexina combinada con Pg, indicando un efecto preventivo similar. Con respecto a las tasas de cura bacteriológica, si bien las diferencias estadísticas halladas no fueron significativas considerando en conjunto a todos los patógenos, en los cuartos mamarios infectados con SNA las tasas de cura fueron mayores en los tratados con Pg + cefalexina (95,8%) con respecto a los tratados con cefalexina solamente (69,8%) (Beccaria *et al.*, 2021).

En este trabajo se propuso como objetivo evaluar el efecto de un extracto de raíz de Pg en combinación con un sellador interno de pezones, para prevenir IIM en un protocolo de terapia selectiva de secado. Además, se evaluó el efecto del tratamiento sobre las IIM por SNA adquiridas previamente al momento del secado.

## Materiales y Métodos

### 1. Panax ginseng y sellador interno de pezones

El extracto seco de *Panax ginseng* (Pg) fue provisto por Indena Company (Indena® SpA, Milan, Italy) conteniendo saponinas equivalentes a 27% expresadas como ginsenósido Rg1 (lote N° 27988/2). La solución stock fue preparada disolviendo el extracto en solución salina (0,89%), esterilizada por filtración, y controlada microbiológicamente. Para descartar la posibilidad de contaminación con endotoxinas bacterianas la solución fue testeada previa administración con un kit comercial (Test *Limulus Amebocyte Lysate*, Lonza Inc., Walkersville, MD). Las formulaciones de aplicación IMM contenían 3 mg/ml de Pg en un vehículo hidrosoluble gelificado de liberación rápida (volumen final 10 ml). Las mismas fueron elaboradas bajo estrictas normas de calidad por el Laboratorio Allignani Hermanos S.R.L, Santa Fe, Argentina.

Como sellador intramamario se utilizó un sellador interno de pezones a base de subnitrito de bismuto (Ubresan Sell®, Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina).

### 2. Animales

Se utilizaron 43 vacas Holando Argentino que se encontraban en producción en el rodeo de la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) o "biotipo" perteneciente a la Estación Experimental Agropecuaria (E.E.A) INTA Rafaela, Santa Fe. Las mismas se mantuvieron bajo un régimen alimenticio de silaje de maíz (35,8%), heno de alfalfa (15,9%), semilla de algodón (7,9%), balanceado (28,7%) y pastura de alfalfa (11,5%) y fueron incorporadas al ensayo a medida que se aproximaba el momento del secado. Durante el ensayo, el RCS promedio registrado en leche de tanque de frío del establecimiento fue menor a 250.000 cél/ml.

Criterios de elegibilidad: para la incorporación de un animal al estudio, en primer lugar, se corroboró que el RCS individual de los últimos 3 meses no superara las 250.000 cél/ml, en promedio. Las vacas que cumplieron con este pre-requisito fueron seleccionadas y se realizaron cultivos microbiológicos a partir de leche de cada cuarto mamario 72 h antes y el día del secado. Animales con cultivo negativo o positivo a SNA fueron incluidos en el ensayo y asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de tratamiento (Pg más sellador interno de pezones o sellador sólo). Animales con cultivo positivo a otros patógenos en cualquier cuarto no fueron incluidos en el ensayo. Los criterios de elegibilidad planteados influyeron en el bajo número de animales enrolados en este estudio, ya que fueron difíciles de cumplir por un número de animales suficiente en el tiempo que duró el ensayo, que debió ser suspendido de forma prematura debido al cierre de la UPLI.

Las lactancias para ambos grupos de animales fueron interrumpidas entre 60 y 45 días antes de la fecha probable de parto. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las normas sobre experimentación animal (Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Federation of Animal Science Societies. Third edition. 2010) y a su vez fueron evaluados y aprobados por el Comité Asesor de Ética y Seguridad de la FCV-UNL (protocolo 579/20).

### 3. Diseño experimental

La unidad experimental fue el cuarto mamario. Se consideró como cuarto mamario libre de IIM cuando el mismo presentó cultivo negativo en ambos momentos de muestreo pre-secado. Por el contrario, se consideró cuarto con SNA a aquel que presentó aislamiento positivo a este microorganismo en al menos uno de los dos momentos de muestreo pre-secado. La totalidad de los cuartos mamarios con estas condiciones (n=140) se dividieron en 2 grupos experimentales: Grupo 1 (G1): cuartos mamarios libres de IIM (n=124), y Grupo 2 (G2): cuartos mamarios positivos a SNA (n=16). A su vez los G1 y G2 se dividieron en dos subgrupos de tratamiento, los cuales fueron secados de la siguiente manera: grupo secado con Pg (3 mg/ml, 10 ml) + sellador interno de pezones (G1Pg+S y G2Pg+S) y grupo secado sólo con sellador interno de pezones (G1S y G2S). Las aplicaciones IMM con las formulaciones de secado (Pg y sellador interno) se llevaron a cabo desinfectando previamente la punta de los pezones con un algodón embebido en alcohol de 70° y luego introduciendo en el canal del pezón el extremo de la cánula de la jeringa aplicadora. De acuerdo con los grupos experimentales, en primer término, se aplicó la jeringa de Pg y luego la del sellador interno.

### 4. Toma de muestras y evaluación clínica del animal

Se tomaron muestras de leche de manera aséptica de todos los cuartos enrolados en el ensayo en tres momentos: 72 h antes del secado, el último día del ordeño (previo al secado) y al posparto inmediato (dentro de las 24 h posteriores al parto). Para la toma de muestra, los pezones fueron desinfectados, se descartaron los primeros chorros y se colectaron aproximadamente 5 ml de leche en tubos estériles.

Las muestras de cada cuarto mamario fueron tomadas por duplicado y refrigeradas hasta su procesamiento en la EEA Rafaela del INTA.

Todas las vacas fueron revisadas clínicamente por palpación de la GM previo a la toma de muestra en todos los momentos de muestreo, a los fines de detectar mastitis clínicas (alteración macroscópica de la leche, hinchazón, calor).

No se incluyeron en el estudio animales que presentaran signos de mastitis clínica.

### 5. Exámenes microbiológicos

La identificación microbiológica a partir de las muestras de leche tomadas antes del secado y después del parto se realizó de acuerdo a procedimientos estándar (Oliver *et al.*, 2004). Cada muestra se incubó en forma aeróbica en placas de agar suplementadas con sangre ovina (5%) a 37°C y se examinaron a las 24 y 48 h. Brevemente, los estafilococos se identificaron presuntivamente en función de la morfología de las colonias, la tinción de Gram, la prueba de catalasa y la hemólisis en agar sangre. Los aislamientos con doble hemólisis y producción de coagulasa usando plasma de conejo fueron considerados como *Staphylococcus aureus*, mientras que aquellos no hemolíticos, con hemólisis única y negativos a la prueba de coagulasa fueron considerados como SNA. Los *Streptococcus* spp. se identificaron en función de la tinción de Gram, prueba de catalasa y prueba de CAMP. Las bacterias Gram negativas se identificaron mediante tinción de Gram, prueba de oxidasa y se realizó una diferenciación presuntiva en medio Hierro de Triple Azúcar (TSI) y medio Sulfuro Indol Movilidad (SIM) (Britania, Buenos Aires, Argentina). Se definió un cultivo positivo cuando se observaron tres o más colonias de un solo patógeno de un cuarto mamario, excepto para *S. aureus* donde la presencia de una sola colonia se consideró positiva. Una muestra se consideró contaminada si estaban presentes tres o más tipos de colonias y se excluyó del estudio.

### 6. Diagnóstico de infecciones intramamarias y análisis estadístico

Se definieron como nuevas IIM al posparto a aquellos cuartos libres de IIM al secado (G1) y con IIM al posparto temprano. Se consideró como cura bacteriológica a aquellos cuartos que mostraron IIM al secado (G2) y ausencia de infección al posparto temprano mediante cultivo microbiológico negativo por duplicado.

En primer lugar, se realizó una prueba de Chi cuadrado para evaluar si existía asociación entre el estado inicial (pre secado) vs. estado final (toma de muestra final, posparto) independientemente del tratamiento recibido. Luego, se realizó una prueba de Chi cuadrado para evaluar si existía asociación entre el efecto del tratamiento y las nuevas IIM al posparto y otra prueba de Chi cuadrado para evaluar si existía asociación entre el efecto del tratamiento aplicado sobre la cura bacteriológica al posparto. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el Software InfoStat (versión 2011) y se trabajó con una confianza del 95%.

## Resultados

No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el estado inicial y el estado final independientemente del tratamiento recibido ( $P=0,442$ ). No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el efecto del tratamiento y las nuevas IIM al posparto temprano ( $P=0,397$ ) o entre el efecto del tratamiento aplicado sobre la cura bacteriológica al posparto temprano ( $P=0,999$ ).

Entre los cuartos secados libres de IIM (G1; n:124), 96 cuartos (77,4 %; IC95% 70-84,7%) se mantuvieron libres de IIM al posparto y 28 cuartos (22,6 %, IC95% 15,2-29,9%) se infectaron. De los cuartos secados infectados (SNA+) (G2; n:16), 11 cuartos se curaron (68,8 %; IC95% 46,1-91,5%) y 5 cuartos se mantuvieron infectados (31,3 %; IC95% 8,5-54%,  $P=0,442$ ; Tabla 1).

Cuando se analizaron las nuevas IIM al posparto temprano se obtuvieron resultados similares para ambos grupos de estudio, donde de los cuartos del G1Pg+S (n=66), 17 cuartos adquirieron nuevas IIM al posparto (25,8 %; IC95% 18,1-33,5%), y de los cuartos provenientes del G1S (n=58), 11 cuartos adquirieron nuevas IIM al posparto (19 %; IC95% 12,1-25,9%) ( $P=0,397$ ; Tabla 2).

De la totalidad de cuartos con nuevas IIM al posparto temprano (n=28), 22 cuartos correspondieron a aislamientos positivos a SNA (78,6 %); 2 cuartos a aislamientos positivos para *Staphylococcus aureus* (7,1 %); 2 cuartos a aislamientos positivos para *Streptococcus spp.* (7,1 %); un cuarto a aislamiento positivo para *Escherichia coli* (3,6 %) y un cuarto a aislamiento positivo para *Bacillus spp.* (3,6 %). En la Tabla 3 se describen los agentes etiológicos causantes de nuevas IIM al posparto temprano por grupo de tratamiento aplicado.

Cuando se analizaron las curas bacteriológicas de los cuartos con IIM por SNA al secado (n=8 por grupo), se obtuvieron resultados iguales para ambos grupos de estudio, en donde 6 cuartos inoculados para los grupos G2Pg+S y G2S presentaron aislamientos negativos al posparto temprano, dando un 75% de cura para ambos grupos de tratamiento ( $P=0,999$ ) (Tabla 4).

**Tabla 1.** Distribución de cuartos mamarios según el estado inicial al pre-secado vs. estado final al posparto temprano. Se representan los números de cuartos libres de infección intramamaria (IIM) o infectados al posparto temprano para cada grupo de experimentación y los porcentajes obtenidos. G1: Grupo 1 (libres de IIM); G2: Grupo 2; SNA+: *Staphylococcus no aureus* positivo. Los G1 y G2 fueron tratados al pre-secado con *Panax ginseng* (Pg) + sellador: Pg+S ó con sellador solo (G1Pg+S y G1S; G2Pg+S y G2S). No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el estado inicial y el estado final independientemente del tratamiento recibido ( $P=0,442$ ).

PRE-SECADO	POSPARTO		TOTAL
	LIBRES DE IIM	INFECTADOS	
<b>G1: LIBRES DE IIM</b>	96	28	124
	77,4 %	22,6%	100%
<b>G2: SNA +</b>	11	5	16
	68,8 %	31,3%	100%
<b>TOTALES</b>	107	33	140

**Tabla 2.** Efecto del tratamiento sobre las nuevas IIM al posparto temprano. Se representan los números de cuartos del Grupo 1 (G1, libres de infecciones intramamarias: IIM) tratados con *Panax ginseng* + sellador (G1Pg+S) o sellador

solo (G1S) al pre-secado y los números de cuartos libres de IIM e infectados y los porcentajes obtenidos al posparto. No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el efecto del tratamiento y las nuevas IIM al posparto temprano ( $P=0,397$ ).

PRE- SECADO: G1	POSPARTO		TOTAL
	LIBRES DE IIM	INFECTADOS	
G1Pg + S	49	17	66
	74,2 %	25,8 %	100%
G1S	47	11	58
	81,0 %	19,0 %	100%
TOTALES	96	28	124

**Tabla 3.** Agentes etiológicos causantes de nuevas IIM al posparto temprano por grupo de tratamiento. Se representan los números de cuartos (n), los porcentajes obtenidos (%) y la distribución por agente etiológico causante de nuevas IIM al posparto para el Grupo 1 (G1, libres de infecciones intramamarias: IIM) tratados con *Panax ginseng* + sellador (G1Pg+S) o sellador solo (G1S) al pre-secado. SNA: *Staphylococcus no aureus* positivo.

PRE- SECADO: G1	POSPARTO				TOTAL
	G1Pg + S		G1S		
	n	%	n	%	
SNA	15	88,2	7	63,6	22
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,9	1	9,1	2
<i>Streptococcus spp.</i>	-	-	2	18,2	2
<i>Escherichia coli</i>	1	5,9	-	-	1
<i>Bacillus spp.</i>	-	-	1	9,1	1
TOTALES	17	100	11	100	28

**Tabla 4.** Efecto del tratamiento en las curas bacteriológicas al posparto temprano. Se representan los números de cuartos del Grupo 2 (infectados con *Staphylococcus no aureus* positivo: SNA+) y tratados con *Panax ginseng* + sellador (G2Pg+S) o sellador solo (G2S) al pre-secado y los números de cuartos libres de IIM e infectados y los porcentajes obtenidos al posparto.

PRE- SECADO: G2 (INFECTADOS SNA+)	POSTPARTO		TOTAL
	LIBRES DE IIM	INFECTADOS	
G2Pg+S	6	2	8
	75,0 %	25,0 %	100%
G2S	6	2	8
	75,0 %	25,0 %	100%
TOTALES	12	4	16

## Discusión

En los últimos años, se han llevado a cabo varios estudios que compararon la eficacia entre el tratamiento masivo con antibióticos de vacas al secado (TAVS) y la TSVS como un concepto alternativo, donde los

tratamientos con antibióticos son asignados a vacas individuales o cuartos que presentan o se sospecha que tienen IIM (Weber *et al.*, 2021, Muller *et al.*, 2023).

Numerosos ensayos a campo han demostrado que la implementación de la TSVS guiada por algoritmos que consideran la historia de mastitis clínicas de la vaca durante la lactancia previa al secado, el RCS previo al secado, y/o el cultivo bacteriológico, pueden reducir el uso de antibióticos al momento del secado entre un 21 y un 58% sin comprometer la salud de las vacas en la lactancia posterior (Bradley *et al.*, 2010; Cameron *et al.*, 2014; Kabera *et al.*, 2021; Rowe *et al.*, 2021). Además, los estudios de simulación han demostrado que del pasaje del TAVS al TSVS, se logra un aumento en los rendimientos económicos para los productores (Scherpenzeel *et al.*, 2016; Hommels *et al.*, 2021; Rowe *et al.*, 2021). Sin embargo, también se ha demostrado que en algunas situaciones (especialmente cuando no se utilizan selladores internos de pezones) la implementación de TSVS puede aumentar las IIM durante el período seco y aumentar la mastitis clínica y subclínica en la lactancia posterior (Berry y Hillerton, 2002; McDougall, 2010; Scherpenzeel *et al.*, 2016). En el presente estudio, sobre la base de investigaciones previas (Cameron *et al.*, 2014; Rowe *et al.*, 2020) se utilizó un algoritmo que incluyó criterios exigentes de diagnóstico (método indirecto + método directo con muestreo por duplicado) aumentando la sensibilidad para minimizar la probabilidad de la presencia de cuartos falsos negativos a IIM al secado (Rowe *et al.*, 2020), excluyendo del ensayo cuartos infectados por patógenos mayores al secado y solamente incluyendo cuartos infectados por SNA o no infectados. Si bien el hecho de realizar cultivo bacteriológico sobre muestras duplicadas no es una práctica fácilmente aplicable en condiciones de campo, en esta condición experimental se priorizó la no inclusión de animales falsos negativos al test diagnóstico (Cameron *et al.*, 2014; Rowe *et al.*, 2020), ya que no se utilizaron antibióticos para las vacas a secar incluidas en el estudio. Actualmente se encuentran disponibles sistemas de cultivo bacteriológico a campo, que, en conjunto con los recuentos de células somáticas individuales realizados mensualmente, podrían ser empleados para definir estrategias de tratamiento al momento del secado, lo que sería de utilidad en aquellos establecimientos que decidan realizar una estrategia de secado selectivo en su rodeo.

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas entre el estado inicial (pre-secado) y final (posparto) de los cuartos mamarios, independientemente del tratamiento recibido. Esto podría deberse a que ambos tratamientos presentan la misma eficacia para prevención de nuevas IIM y cura de las IIM existentes al secado o a que el número de animales incluidos en el estudio fue insuficiente. De hecho, el poder estadístico del estudio al final fue muy bajo y es esta una de las debilidades más importantes de nuestro trabajo. Si bien la continuidad del estudio se vio imposibilitada debido al cierre de la unidad en donde se realizaba, sería necesario repetir el estudio, con la inclusión de mayor cantidad de animales, para poder realizar una nueva evaluación de la estrategia de secado selectivo a campo, bajo las condiciones locales. Es importante destacar que, a pesar de las debilidades anteriormente expuestas, resulta importante contar con la información generada en este estudio para poder plantear futuros trabajos con objetivos similares, utilizando métodos de diagnóstico de menor costo, para explorar la aplicabilidad en condiciones locales de campo.

En cuanto al uso de Pg en el tratamiento selectivo de los animales con IIM por SCN al secado, se esperaba una diferencia a favor del Pg, debido a resultados previos del grupo (Silvestrini *et al.*, 2017; Beccaria *et al.*, 2021). Particularmente, para el grupo Pg + S, ya que la utilización de Pg genera una respuesta inflamatoria controlada, la cual contribuiría a la eliminación de SNA del tejido mamario (Silvestrini *et al.*, 2017; Beccaria *et al.*, 2021). Se debe tener en cuenta que el presente fue un estudio preliminar, realizado con un número limitado de animales. Sería interesante poder realizar el ensayo con la inclusión de un mayor número de animales para poder evaluar la eficacia del Pg.

En relación a las nuevas IIM adquiridas en el posparto temprano, los porcentajes fueron similares para ambos grupos de tratamiento (Pg+S vs S). Este resultado sugiere que la asociación Pg+S no mostró una ventaja sobre el uso de sellador interno para prevenir las nuevas IIM en el posparto temprano. Por otro lado, en el presente estudio, la proporción de nuevas IIM adquiridas luego del secado selectivo con sellador interno en vacas sanas fue similar a lo reportado por Filippone Pavesi *et al.* (2023). En otro estudio, Mullen *et al.*, (2013) compararon diferentes productos comerciales que fueron aplicados al momento del secado sobre la prevención de nuevas IIM. En el presente trabajo se encontraron efectos similares a los reportados por Mullen *et al.*, donde los porcentajes de nuevas IIM fueron de un 24 % en los cuartos tratados con terapia convencional (penicilina-dihidroestreptomicina y subnitrato de bismuto), de un 15 % en los tratados con sellador interno a base de hierbas y de un 35 % para los que no recibieron ningún tipo de tratamiento.

Numerosos estudios documentan los beneficios generales del tratamiento con sellador interno de pezones tanto en cuartos libres de IIM no tratados con antimicrobianos (Winder *et al.*, 2019b; Kabera *et al.*, 2021) como en combinación con antimicrobianos IMM (Bradley *et al.*, 2011; Golder *et al.*, 2016); sin embargo, algunas investigaciones sugieren la posibilidad de interacciones negativas cuando se usan en forma combinada. Es así que en estos trabajos el uso de selladores internos de pezones en combinación con antimicrobianos IMM limitó la penetración de los antimicrobianos en el revestimiento del canal del pezón y perjudicó potencialmente la eficacia de eliminación de bacterias crónicas dentro de la ubre (Derakhshani *et al.*, 2018). Además, se ha hipotetizado que los antimicrobianos IMM a base de aceite socavan la retención interna del sellador al afectar la viscosidad del mismo (Bradley *et al.*, 2010). Dados los resultados encontrados en este trabajo, se destaca que el uso de Pg no interactuó negativamente con el uso del sellador interno. Esto podría deberse a que la solución de inoculación de Pg fue preparada con una base acuosa hidrosoluble.

En un estudio previo realizado por el grupo que llevó a cabo el presente trabajo, administrando cefalexina (100 mg) como terapia de secado en cuartos mamarios libres de IIM, se observó un 16 % de nuevas IIM al posparto temprano (Beccaria *et al.*, 2021). Si tomamos en cuenta este porcentaje y lo comparamos con el obtenido en el G1S de este trabajo (19 %) y con los obtenidos por Mullen *et al.* (2013), podemos inferir que los porcentajes de nuevas IIM al posparto luego de terapias convencionales o con terapias alternativas sin antibióticos fueron similares. Esto fortalece el concepto actual donde el tratamiento preventivo con antibióticos en vacas sanas al momento del secado debe ser revisado, con alta implicancia en el uso responsable de antimicrobianos (OMSA, 2020).

Con respecto al tipo de microorganismo identificado al posparto temprano, el mayor porcentaje de nuevas IIM correspondió a SNA (78,6 %). A este grupo de microorganismos se los clasifica como patógenos menores causantes de mastitis, con un impacto limitado en la salud de la GM, lo que refuerza el uso de selladores internos como práctica al secado (Cobirka *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos en este estudio fueron similares a los de Beccaria *et al.* (2021) utilizando cefalexina o cefalexina + Pg como tratamientos al secado, en el cual los microorganismos más prevalentes al posparto temprano fueron los SNA. Si bien las mastitis causadas por SNA responden de manera positiva al tratamiento antimicrobiano (Taponen *et al.*, 2007), en algunos países no se recomienda dicho tratamiento en caso de mastitis leves y subclínicas (Oliver *et al.*, 2003). En base a esto, y en relación con la evaluación de las curas bacteriológicas para SNA, en este trabajo se obtuvieron tasas de cura del 75% con los dos tratamientos aplicados (Pg+S ó S). Estos resultados coinciden con los reportados en estudios previos donde se demuestra que la mayoría de las IIM causadas por SNA al momento del secado se resuelven de manera espontánea luego del parto (Bradley y Green, 2004; Barkema *et al.*, 2006). Por otro lado, en el estudio de Beccaria *et al.* (2021), el porcentaje de cura bacteriológica luego del tratamiento con cefalexina (100 mg) de cuartos infectados con SNA al momento del secado fue similar (71,5 %) al observado en este estudio. El hecho de que las tasas de cura espontánea de IIM por SNA en este estudio fueron similares a las obtenidas con terapia antibiótica (Beccaria *et al.*, 2021), refuerza el potencial del uso de herramientas de diagnóstico para detectar animales sin IIM o con IIM por SNA, los cuales serían elegibles para un tratamiento con sello interno solamente. Si bien este tipo de diagnóstico incrementa los costos operativos, se puede lograr una reducción de los gastos en antibióticos (Cameron *et al.*, 2014), lo que resultaría más económico. En este sentido, un estudio en Estados Unidos realizó una comparación de los costos entre diferentes estrategias de secado y encontraron que el secado sábana fue el más costoso (Hommels *et al.*, 2021). Además, los resultados de nuestro estudio refuerzan la posibilidad de disminuir el uso de antibióticos mediante secado selectivo, generando un menor impacto potencial en el desarrollo de resistencia antimicrobiana (OMSA, 2020). Estos resultados tienen importancia clínica, fortaleciendo el concepto actual donde el tratamiento con antibióticos en vacas con cuartos infectados con SNA al momento del secado debería revisarse.

Como conclusión de los resultados obtenidos en este trabajo se destaca que la eficacia del tratamiento de Pg+S para eliminar IIM por SNA presentes al secado fue similar a la aplicación de sellador interno (S) solo, no observándose efectos adversos aparentes en la combinación del inmunomodulador y el sellador a base de subnitrato de bismuto. Si bien no se observaron diferencias significativas en el estado final de todos los animales tratados (independientemente del tratamiento recibido), el secado selectivo con selladores internos de pezones, es una alternativa prometedora que debe continuar en estudio. Por ello, nuevos ensayos con un mayor número de animales son necesarios para lograr reforzar el poder estadístico de los resultados obtenidos. Los datos aportados en este estudio son relevantes y tienen implicancias prácticas para veterinarios o productores lecheros ya que refuerzan la teoría de promover a la TSVS como terapia sustituta al uso profiláctico de antibióticos.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional del Litoral y a Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (AN-PCyT) por la financiación de las actividades mediante los proyectos CAI+D cód: 50620190100084LI y PICT-2020-SERIEA-02378, respectivamente.

A las empresas Allignani Hnos. por la formulación de los pomos intramamarios con Pg y Biogénesis Bagó por cedernos los selladores internos de pezones.

A la Asociación Cooperadora de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, a la Ing. Agr. Mariela Pece y al personal de campo de la Unidad de Producción Lechera Intensiva por su apoyo y colaboración en tareas de campo.

## Referencias

- Abrahmsén M, Ylva P, Benon MK, Renée B. 2014. Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Trop. Anim. Health Prod.* 46: 99-105. DOI:10.1007/s11250-013-0455-7.
- Baravalle C, Dallard BE, Ortega HH, Neder VE, Canavesio VR, Calvinho LF. 2010. Effect of *Panax ginseng* on cytokine expression in bovine mammary glands at drying off. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 138: 224-230. DOI:10.1016/j.vetimm.2010.07.019.
- Baravalle C, Dallard BE, Cadoche MC, Pereyra EAL, Neder VE, Ortega HH, Calvinho LF. 2011. Proinflammatory cytokines and CD14 expression in mammary tissue of cows following intramammary inoculation of *Panax ginseng* at drying off. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 144: 52-60. DOI:10.1016/j.vetimm.2011.07.003
- Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. 2006. Invited Review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* 89: 1877-95. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72256-1.
- Beccaria C, Baravalle C, Silvestrini P, Renna MS, Molineri AI, Signorini ML, Neder VE, Archilla GAS, Calvinho LF, Dallard BE. 2021. Efficacy of *Panax ginseng* extract combined with cephalixin as a dry cow therapy. *J. Dairy Res.* 88: 64-68. DOI:10.1017/S0022029921000017.
- Bennedsgaard TW, Klaas IC, Vaarst M. 2010. Reducing use of antimicrobials experiences from an intervention study in organic dairy herds in Denmark. *Livest. Sci.* 131: 183-192. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.03.018.
- Berry EA, Hillerton JE. 2002. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 85: 112-121. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(02)74059-9.
- Biggs A, Barrett D, Bradley A, Green M, Reyher K, Zadoks R. 2016. Routine antibiotic dry cow therapy. Where next? *Vet. Rec.* 178: 174. DOI:10.1136/vr.i338.
- Bradley AJ, Green MJ. 2004. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20: 547-568. DOI:10.1016/j.cvfa.2004.06.010.
- Bradley AJ, Breen JE, Payne B, Williams P, Green MJ. 2010. The use of a cephalonium containing dry cow therapy and an internal teat sealant, both alone and in combination. *J. Dairy Sci.* 93: 1566-1577. DOI:10.3168/jds.2009-2725.
- Bradley AJ, Breen JE, Payne B, Green MJ. 2011. A comparison of broad-spectrum and narrow-spectrum dry cow therapy used alone and in combination with a teat sealant. *J. Dairy Sci.* 94: 692-704. DOI:10.3168/jds.2010-3192.
- Cameron M, McKenna SL, MacDonald KA, Dohoo IR, Roy JP, Keefe GP. 2014. Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 97: 270-284. DOI:10.3168/jds.2014-8876.
- Cobirka M, Tancin V, Slama P. 2020. Epidemiology and classification of mastitis. *Animals* 10: 2212. DOI: 10.3390/ani10122212.

- Crespi E, Pereyra AM, Puigdevall T, Rumi MV, Testorelli MF, Caggiano N, Gulone L, Mollerach M, Gentilini ER, Srednik ME. 2022. Antimicrobial resistance studies in staphylococci and streptococci isolated from cows with mastitis in Argentina. *J. Vet. Sci.* 23: e12. DOI: 10.4142/jvs.21062.
- Derakhshani H, Plaizier JC, De Buck J, Barkema HW, Khafipour E. 2018. Composition of the teat canal and intramammary microbiota of dairy cows subjected to antimicrobial dry cow therapy and internal teat sealant. *J. Dairy Sci.* 101: 10191-10205. DOI:10.3168/jds.2018-14858.
- Dodd FH, Westgarth DR, Neave FK, Kingwill RG. 1969. Mastitis—The strategy of control. *J. Dairy Sci.* 52: 689-695. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(69)86631-2.
- Dohoo IR, Leslie KE. 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev. Vet. Med.* 10:225-237. DOI: 10.1016/0167-5877(91)90006-N
- Filippone Pavesi L, Pollera C, Sala G, Cremonesi P, Monistero V, Biscarini F, Bronzo V. 2023. Effect of the selective dry cow therapy on udder health and milk microbiota. *Antibiotics* 12: 1259. DOI:10.3390/antibiotics12081259.
- Golder HM, Hodge A, Lean IJ. 2016. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. *J. Dairy Sci.* 99: 7370-7380. DOI:10.3168/jds.2016-11114.
- Halasa T, Nielen M, van Werven T, Hogeveen H. 2010. A simulation model to calculate costs and benefits of dry period interventions in dairy cattle. *Livest. Sci.* 129: 80-87. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.01.009.
- Hommels NM, Ferreira FC, van den Borne BH, Hogeveen H. 2021. Antibiotic use and potential economic impact of implementing selective dry cow therapy in large US dairies. *J. Dairy Sci.* 104: 8931-8946. DOI:10.3168/jds.2020-20016
- Hu S, Concha C, Johannisson A, Meglia G, Waller KP. 2001. Effect of subcutaneous injection of Ginseng on cows with subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Vet. Med.* 48: 519-528. DOI:10.1046/j.1439-0450.2001.00470.x
- Kabera F, Roy JP, Afifi M, Godden S, Stryhn H, Sanchez J, Dufour S. 2021. Comparing blanket vs. selective dry cow treatment approaches for elimination and prevention of intramammary infections during the dry period: A systematic review and metaanalysis. *Front. Vet. Sci.* 8: 688450. DOI: 10.3389/fvets.2021.688450.
- Kabera F, Roy JP, Keefe G, Dufour S. 2021b. Bayesian estimation of diagnostic accuracy of somatic cell counts history and on-farm milk culture using Petrifilm to identify quarters or cows that should be treated with antimicrobials in selective treatment protocols at dry off. *Prev. Vet. Med.* 195: 105452. DOI:10.1016/j.prevetmed.2021.105452.
- Kateete DP, Kabugo U, Baluku H, Nyakarahuka L, Kyobe S, Okee M, Najjuka FC, Joloba ML. 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around kampala, Uganda. *Plos one.* 8: 1-12. DOI:10.1371/journal.pone.0063413.
- Krömker V, Leimbach S. 2017. Mastitis treatment-reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 52: 21-29. DOI:10.1111/rda.13032.
- McCubbin KD, de Jong E, Lam TJGM, Kelton DF, Middleton JR, McDougall S, de Vliegher S, Godden S, Rajala PJ, Schultz, Rowe S, Speksnijder DC, Kastelic JP, Barkema HW. 2022. Invited review: Selective use of antimicrobials in dairy cattle at dry-off. *J. Dairy Sci.* 105: 7161-7189. DOI:10.3168/jds.2021-21455.
- McDougall S, Williamson J, Cohary K, Lacy-Hulbert J. 2021. Detecting intramammary infection at the end of lactation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 104: 10232-10249. DOI:10.3168/jds.2020-20036.
- Müller S, Nitz J, Tellen A, Klocke D, Krömker V. 2023. Effect of Antibiotic Compared to Non-Antibiotic Dry Cow Treatment on the Bacteriological Cure of Intramammary Infections during the Dry Period—A Retrospective Cross-Sectional Study. *Antibiotics* 12, 429. DOI:10.3390/antibiotics12030429.

- Mullen KAE, Sparks LG, Lyman RL, Washburn SP, Anderson KL. 2013. Comparisons of milk quality on North Carolina organic and conventional dairies. *J. Dairy Sci.* 96: 6753-6762. DOI:10.3168/jds.2012-6519.
- Naranjo-Lucena A, Slowey RJ. 2023. Invited review: Antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens: A review of genetic determinants and prevalence of resistance in European countries. *J. Dairy Sci.* 106: 1-23. DOI:10.3168/jds.2022-22267.
- Newton HT, Green MJ, Benchaoui H, Cracknell V, Rowan T, Bradley AJ. 2008. Comparison of the efficacy of cloxacillin alone and cloxacillin combined with an internal teat sealant for dry-cow therapy. *Vet. Rec.* 162: 678-683. DOI:10.1136/vr.162.21.678.
- Oliver SP, Lewis MJ, Gillespie BE, Dowlen HH, Jaenicke EC, Roberts RK. 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: milk production, milk quality and economic benefit. *J. Dairy Sci.* 86: 1187-1193. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(03)73702-3.
- Oliver SP, Gonzalez RN, Hogan JS, Jayarao BM, Owens WE. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. Verona WI, USA: National Mastitis Council. 47 pp.
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). 2020. Normas, directrices y resoluciones de la OIE en material de resistencia a los antimicrobianos y del uso de agentes antimicrobianos. 156 pp.
- Rowe SM, Godden SM, Nydam DV, Gorden PJ, Lago A, Vasquez AK, Royster E, Timmerman J, Thomas MJ. 2020. Randomized controlled trial investigating the effect of 2 selective dry-cow therapy protocols on udder health and performance in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 103: 6493-6503. DOI:10.3168/jds.2019-17961.
- Rowe SM, Nydam DV, Godden SM, Gorden PJ, Lago A, Vasquez AK, Lynch RA. 2021. Partial budget analysis of culture- and algorithm-guided selective dry cow therapy. *J. Dairy Sci.* 104: 5652-5664. DOI:10.3168/jds.2020-19366.
- Sanford CJ, Greg PK, Ian RD, Ken EL, Randy TD, Luc DC, Herman WB. 2006. Efficacy of using an internal teat sealer to prevent new intramammary infections in nonlactating dairy cattle. *JAVMA* 228: 1565-1573. DOI:10.2460/javma.228.10.1565.
- Scherpenzeel CGM, den Uijl IEM, van Schaik G, Riekerink O, Hogeveen H, Lam TJGM. 2016. Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *J. Dairy Sci.* 99: 3753-3764. DOI:10.3168/jds.2015-9963.
- Silvestrini P, Beccaria C, Pereyra EAL, Renna MS, Ortega HH, Calvino LF, Dallard BE, Baravalle C. 2017. Intramammary inoculation of *Panax ginseng* plays an immunoprotective role in *Staphylococcus aureus* infection in a murine model. *Res. Vet. Sci.* 115: 211-220. DOI:10.1016/j.rvsc.2017.05.010
- Sorensen JT, Enevoldsen C. 1991. Effect of dry period length on milk production in subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 74: 1277-1283. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(91)78283-0.
- Sun HX, Yong Xie, Yi-Ping Ye. 2009. Advances in saponin based adjuvants. *Vaccine* 27: 1787-1796. DOI:10.1016/j.vaccine.2009.01.091
- Sun J, Hu S, Song X. 2007. Adjuvant effects of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponins from ginseng roots on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine* 25: 1114-1120. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.09.054.
- Taponen S, Koort J, Björkroth J, Saloniemi H, Pyörälä S. 2007. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J. Dairy Sci.* 90: 3301-3307. DOI:10.3168/jds.2006-860.
- Weber J, Borchardt S, Seidel J, Schreiter R, Wehrle F, Donat K, Freick M. 2021. Effects of selective dry cow treatment on intramammary infection risk after calving, cure risk during the dry period, and antibiotic use at drying-off: a systematic review and meta-analysis of current literature (2000–2021). *Animals (Basel)* 11: 3403. DOI:10.3390/ani1123403.

Winder CB, Sargeant JM, Kelton DF, Leblanc SJ, Duffield TF, Glanville J, Wood H, Churchill KJ, Dunn J, Bergevin MD, Dawkins K, Meadows S, O'Connor AM. 2019b. Comparative efficacy of blanket versus selective dry-cow therapy: A systematic review and pairwise meta-analysis. *Anim. Health Res. Rev.* 20: 217-228. DOI:10.1017/S1466252319000306.

Zecconi A, dell'Orco F, Rizzi N, Vairani D, Cipolla M, Pozzi P, Zanini L. 2020. Cross-sectional study on the prevalence of contagious pathogens in bulk tank milk and their effects on somatic cell counts and milk yield. *Italian J. Animal Sci.* 19: 66-74. DOI:10.1080/1828051X.