

Mastitis por *Aspergillus fumigatus* en ganado ovino

José Miguel Aller Gancedo, Juan Miguel Fregeneda Grandes y
Máximo Fernández Díez

Enfermedades Infecciosas, Departamento de Patología Animal-Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria,
Universidad de León, España

Resumen

Se estudiaron varios focos de mastitis por *Aspergillus fumigatus* que afectaron a ovejas lecheras en explotaciones de Castilla y León (España). La mastitis se presentó solamente en ovejas que fueron tratadas intramamariamente con antibióticos antibacterianos en el período seco, con el fin de prevenir las mastitis en la siguiente lactación. La mastitis cursó de modo agudo con una morbilidad de hasta el 14 % y una mortalidad cercana al 100 %. La mama estaba aumentada de tamaño, fibrótica, hemorrágica y con múltiples nódulos compactos, algunos con contenido purulento; a los 30-50 días posparto presentaba abscesos caseosos de varios centímetros de diámetro. Algunas ovejas tenían nódulos granulomatosos en los pulmones. La microscopía y los cultivos demostraron la presencia abundante de *A. fumigatus* en la secreción mamaria, mama y pulmones. La infección se produjo por vía intramamaria y estuvo relacionada con la aplicación antihigiénica del tratamiento intramamario en el período seco.

Palabras clave

Aspergillus fumigatus, Mastitis, Oveja, Tratamiento intramamario, Período seco

Mastitis by *Aspergillus fumigatus* in sheep

Summary

Several outbreaks of sheep mastitis by *Aspergillus fumigatus* in Castilla y León (Spain), were studied. Only sheep that were treated intramamarily with antibacterial antibiotics during the dry period suffered this mastitis. Mastitis was acute with a morbidity up to 14 % and mortality near 100 %. The udder was markedly enlarged in size, fibrotic, haemorrhagic and with multiple compact nodules, some with purulent material inside; after 30-50 days postpartum, cheesy abscess of several centimetres in diameter were present. Some sheep had granulomatous nodules in the lung. Microscopy and culture shown the presence of *A. fumigatus* in milk, udder and lung. The route of infection was by intramammary via as a consequence of unhygienic intramammary treatment in the dry period.

Key words

Aspergillus fumigatus, Mastitis, Sheep, Intramammary treatment, Dry period

La aspergilosis tiene una distribución geográfica amplia y afecta a numerosos animales, principalmente mamíferos y aves, tanto domésticos como silvestres. Varias especies del género *Aspergillus* pueden comportarse como agentes patógenos, destacando entre ellas *Aspergillus fumigatus*. En los rumiantes estos hongos causan procesos respiratorios, aborto, mastitis y otros cuadros clínicos, siendo las referencias bibliográficas más numerosas en ganado vacuno que en ovino y caprino [1-4].

En la oveja las citas de infecciones naturales por *A. fumigatus* y *Aspergillus* spp. se refieren casi exclusivamente a procesos pulmonares [5-8], frecuentemente en corderos. Experimentalmente se ha comprobado que la infección artificial con *A. fumigatus* en la oveja y cabra puede provocar aborto [9,10] y mastitis [11,12]. Aunque en la literatura existen bastantes referencias de mastitis por *A. fumigatus* en ganado vacuno [13-17], no ocurre lo mismo en los pequeños rumiantes. Hay escasísimas citas de mastitis por *Aspergillus* spp. en la cabra [18,19]; en nuestro conocimiento, en la oveja solo se han descrito recientemente [20-22].

En España las mastitis ovinas están producidas principalmente por *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp., predominando *Staphylococcus aureus* en las mastitis clínicas y *Staphylococcus coagulans* negativos, principalmente *Staphylococcus epidermidis*, en las mastitis subclínicas [23-26]. Los estudios microbiológicos y de recuento celular de la leche han demostrado que hay una incidencia importante de las mastitis subclínicas en el ganado ovino, lo que ha motivado que en los últimos años en Castilla y León y en otras zonas de España hayan comenzado a realizarse tratamientos antibacterianos intramamarios en el

Dirección para correspondencia:

Dr. JM Aller Gancedo
Enfermedades Infecciosas, Dpto. de Patología Animal-Sanidad Animal,
Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n,
24071 León, España
Tel.: +34 987 291 303; Fax: +34 987 291 304;
E-mail: dsajag@unileon.es

período seco, con el objeto de eliminar las infecciones subclínicas que se producen durante la lactación y evitar que se presenten cuadros de mastitis en el período seco o tras el parto.

En el presente trabajo se describen varios brotes de mastitis por *A. fumigatus* en ganado ovino lechero en Castilla y León (España), vinculados al tratamiento antibacteriano intramamario en el período seco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Durante 1996 y 1997 se presentaron bastantes casos de mastitis aguda posparto entre los animales de cuatro explotaciones de ganado ovino lechero, que no respondían al tratamiento antibacteriano. El rebaño 1 (R1) pertenecía a la provincia de Palencia y era de ovejas cruzadas con predominio de la raza Awassi. Los rebaños 2 y 3 (R2 y R3) ubicados en la provincia de Valladolid y el rebaño 4 (R4) en la de Segovia, eran de la raza Churra. Estos rebaños tenían entre 300 y 1200 ovejas adultas. Los inviernos de 1996 y 1997 fueron bastante lluviosos. Unos rebaños estuvieron estabulados y otros salieron frecuentemente al campo.

En todos los rebaños se realizaron tratamientos antibacterianos intramamarios en el momento del secado, 1 a 4 meses antes del parto, para prevenir la aparición de mastitis en la siguiente lactación. Se emplearon preparados comerciales diseñados para el tratamiento en el período seco en la vaca, aplicándose media jeringa por mama (una por oveja). En los rebaños R1 y R4 cada mama recibió 250 mg de cloxacilina benzatina y 125 mg de ampicilina trihidrato (Zeltimas®); en el R2 se aplicaron 100.000 UI de penicilina G procaína y 200 mg de novobiocina (Albadry Plus®); y en el R3 250 mg de cloxacilina benzatina (Cloxacum®). Tras el parto muchas de estas ovejas sufrieron mastitis aguda seguida de alta mortalidad. Se realizó la necropsia a 12 ovejas que tenían mastitis clínica y que pertenecían cinco al R1, dos al R2 y cinco al R4.

Análisis microbiológicos. Se efectuaron estudios micológicos y bacteriológicos en 29 ovejas (ocho del R1, siete del R2, cuatro del R3 y 10 del R4) de las cuales 26 tenían mastitis clínica y las tres restantes mastitis subclínica con unos recuentos de células somáticas por ml de leche (RCS) de 5.218.000, 5.837.000 y 10.003.000; en estas ovejas están incluidas las 12 a las que se realizó la necropsia (Tabla 1). Todas ellas habían recibido el tratamiento intramamario en el período seco. Dependiendo de

supramamarios, riñón, bazo, hígado; la secreción y el tejido mamario fueron los más utilizados. Para la detección de hongos en la secreción mamaria y en los tejidos, se realizó una microscopía directa de tinciones fluorescentes con Cellufluor (Fungi-Fluor®, Polysciences Inc., EE.UU.) empleándose un microscopio Nikon Optiphot-2 (Japón) con un filtro de fluorescencia UV-2A; en algunos casos se efectuó también una microscopía con KOH-tinta. Asimismo, se realizaron cultivos en agar glucosado de Sabouraud (Sabouraud Dextrose agar, Difco, EE.UU.) con 0,05 mg de cloranfenicol por ml incubándose a 28° ó 37°C. Para la detección de bacterias se efectuaron tinciones Gram y cultivos en agar Columbia + 5% sangre de cordero (BioMérieux, Francia) a 37°C.

Independientemente de las ovejas anteriores, en otras 15 ovejas clínicamente sanas que recibieron el tratamiento intramamario en el secado, pertenecientes al rebaño 4 en el que hubo bastantes casos de mastitis clínica por *Aspergillus*, se recogió una muestra de la mezcla de leche de las dos mamas, entre 40 y 70 días después del parto, realizándose microscopía con Cellufluor y cultivo en agar glucosado de Sabouraud. También se efectuaron cultivos, en el mismo medio micológico, del preparado comercial que se utilizó en el tratamiento intramamario durante el período seco en el rebaño 1.

RESULTADOS

Aspectos clínicos y lesionales. Las mastitis por *Aspergillus* afectaron solamente a ovejas que recibieron el tratamiento intramamario antibacteriano en el momento del secado. No se detectó ningún caso entre las ovejas que no recibieron dicho tratamiento.

El proceso cursó frecuentemente de modo agudo, observándose los síntomas iniciales en la primera semana después del parto, aunque en algunas ovejas se manifestaron en los días anteriores a éste. Las ovejas tenían un estado general deficiente, con postración, febrícula, anorexia y enflaquecimiento, agravándose la sintomatología con el paso de los días. La mama estaba inflamada, muy aumentada de tamaño, con gran induración al tacto y con la piel generalmente de tonalidad morada (Figura 1). En algunas ovejas la mastitis era bilateral. La secreción mamaria estaba muy alterada, presentando frecuentemente un aspecto seroso amarillento, formándose tras la recogida precipitados a modo de membranas blanquecinas; a veces tenía un aspecto seroso sanguinolento o purulento rosáceo. En el rebaño descendió la producción láctea. La morbilidad entre las ovejas que recibieron el tratamiento intramamario en el secado fue del 10,8 % y 14 % en los rebaños R4 y R1, respectivamente. La mortalidad de las ovejas afectadas se acercó al 100 %, produciéndose generalmente entre la 1ª y 5ª semana posparto. Aunque algunas sobrevivieron, la mayoría tuvieron que sacrificarse en el plazo de 1-2 meses después del parto debido a las lesiones irreversibles de la glándula mamaria.

Tras la aparición de los primeros síntomas de mastitis, algunas ovejas se trataron con antibacterianos, lo que agravó el proceso. Unas pocas recibieron un tratamiento antifúngico intramamario a base de nistatina combinada con amoxicilina e hidrocortisona, pero salvo excepciones tampoco tuvo buenos resultados, probablemente porque las lesiones ya eran irreversibles.

La necropsia mostró que el tejido mamario estaba hemorrágico y fibrótico en mayor o menor grado (Figura 2). Muchas ovejas tenían diseminados por todo el parénquima multitud de nódulos, que según los casos oscilaron desde menos de 1 mm a varios milímetros de diámetro, aislados o agrupados, formados por tejido com-

Tabla 1. Número de ovejas con mastitis de cuatro rebaños: analizadas microbiológicamente, con necropsia y con mastitis por *A. fumigatus*.

| Rebaños | Ovejas con mastitis | |
|----------------|--|---|
| | Nº de ovejas analizadas* (nº de necropsias) | Nº de ovejas con mastitis por <i>A.fumigatus</i> |
| R1 | 8c (5) | 7 |
| R2 | 4c + 3s (2) | 7 |
| R3 | 4c (-) | 1 |
| R4 | 10c (5) | 10 |
| Totales | 29 (12) | 25 |

*El número de ovejas analizadas microbiológicamente es un muestreo al azar entre las ovejas afectadas de mastitis.
c: ovejas con mastitis clínica; s: ovejas con mastitis subclínica

las circunstancias las muestras se recogieron *in vivo*, *post mortem* o en ambas situaciones, frecuentemente a los pocos días del parto, pero abarcando desde dos días antes de éste hasta ocho semanas después. Igualmente dependiendo del animal, se analizaron una o varias de las siguientes muestras: leche, mama, pulmón, ganglios



Figura 1. Mastitis por *A. fumigatus* en una oveja Churra. Mama inflamada, indurada y amoratada.

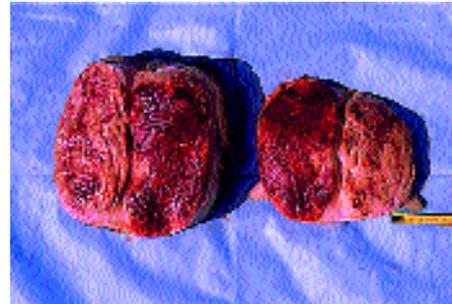


Figura 2. Mastitis por *A. fumigatus* en una oveja Churra. Corte de las dos mamas que muestran hemorragia intensa y fibrosis.

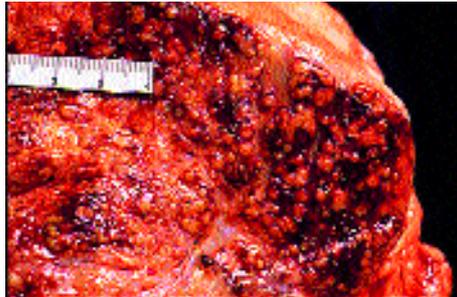


Figura 3. Mastitis por *A. fumigatus* en una oveja Awassi. Múltiples nódulos granulomatosos en la mama y tejido hemorrágico.



Figura 4. Mastitis por *A. fumigatus* en una oveja Churra. Múltiples abscesos caseosos en la mama y tejido hemorrágico.



Figura 5. Mastitis por *A. fumigatus* en una oveja Churra. Múltiples nódulos granulomatosos en el pulmón derecho.

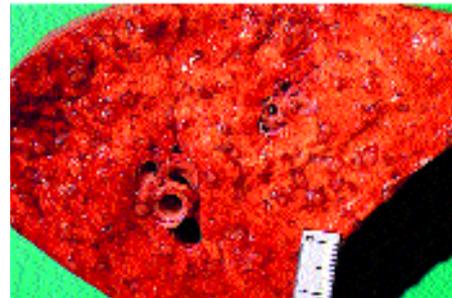


Figura 6. Idem Figura 5. Múltiples nódulos en el corte transversal del lóbulo diafragmático pulmonar.

pacto, alguno de los cuales contenía material purulento (Figura 3). A medida que avanzaban los días los nódulos aumentaban de tamaño. En las ovejas con mastitis crónica muertas o sacrificadas entre los 33 y 53 días posparto, se observó la presencia de un tejido mamario fibrótico y numerosos abscesos encapsulados de hasta 4 cm de diámetro, que contenían abundante material purulento o caseoso de color verde amarillento (Figura 4). Con frecuencia el ganglio linfático supramamario de la mama afectada estaba aumentado de tamaño. En algunas ovejas también se desarrollaron lesiones en los pulmones, formándose nódulos blanco grisáceos, brillantes, generalmente rodeados de un halo fino hemorrágico, compactos al corte, de menos de 1 mm a 6 mm de diámetro. En algunos casos eran muy abundantes, estando diseminados por todo el parénquima de uno o de los dos pulmones (Figuras 5 y 6). En los restantes órganos no se vieron alteraciones macroscópicas dignas de mención.

Análisis micológicos. De las 29 ovejas con mastitis analizadas, en 25 (siete de R1, siete de R2, una de R3 y 10 de R4) se comprobó la presencia de *Aspergillus* por microscopía, cultivo o ambas técnicas (Tabla 1). En las cuatro restantes la mastitis no tenía etiología fúngica, siendo en un caso por *Arcanobacterium pyogenes* (*Actinomyces pyogenes*).

A partir de la secreción mamaria y de los tejidos afectados, la microscopía con Cellufluor y con KOH-tinta en los casos en que se utilizó, demostró la presencia de las hifas tabicadas con ramificación dicotómica y arborescente, que se describen habitualmente en las infecciones por *Aspergillus* (Figura 7). Estas hifas formaban agregados más o menos esféricos por su crecimiento radial. También había hifas deformadas con diámetro irregular y con aspecto levaduriforme o globoso por la presencia de ensanchamientos a modo de vesículas, en algunos casos muy abundantes y situados terminal o intercaladamente (Figura 8). Igualmente se observó la presencia de "asteroides" formados por material de Splendore-Hoeppli que rodeaba las hifas (Figura 9). Todos estos tipos de hifas podían verse con facilidad en el material caseoso de los abundantes nódulos o abscesos mamarios. En la microscopía de la leche entera se vio que en unos casos la presencia de hifas era muy abundante y en otros escasa; por el contrario, la microscopía de las lesiones mamarias y pulmonares fue muy positiva, observándose gran cantidad de hifas en el material caseoso y en el tejido granulomatoso de los nódulos, mientras que en el tejido macroscópicamente sano la presencia de hifas era muy escasa.

Los cultivos en agar Sabouraud fueron positivos en 23 de las 25 ovejas en las que se comprobó la presencia de

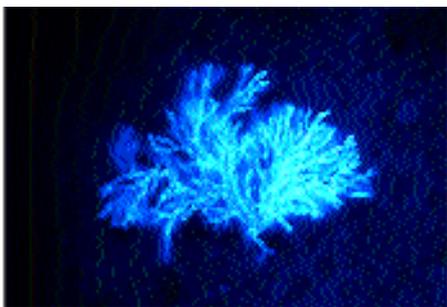


Figura 7. Hifas tabicadas, dicotómicas y arborescentes de *A. fumigatus*. Preparación teñida con Cellufluor de un absceso mamario de una oveja Churra. 125x.

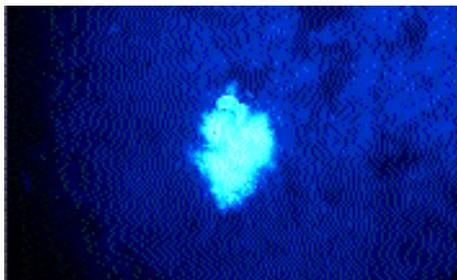


Figura 9. Asteroide formado por una hifa rodeada de material de Splendore-Hoeppli. Preparación teñida con Cellufluor de un absceso mamario de una oveja Churra. 125x.

Aspergillus, aislándose en todos los casos *A. fumigatus*. La identificación se realizó según los criterios morfológicos descritos por Raper y Fennell [3]. El cultivo de las muestras proporcionó un número de colonias variable, oscilando desde escasas unidades hasta cifras incontables, siendo frecuentemente abundantes; los cultivos fueron positivos desde los de una oveja analizada dos días antes del parto hasta los de otra 50 días después. Las siembras en agar Columbia-Sangre fueron bacteriológicamente negativas, pero creció con facilidad *A. fumigatus*.

En algunas ovejas fueron positivos la microscopía o el cultivo de la leche, tejido mamario, pulmones y ganglios linfáticos supramamarios. Por otra parte, sólo se analizó el riñón, hígado y bazo de tres ovejas con mastitis aspergilar y todos fueron negativos. En algunos casos la microscopía de una muestra resultó positiva y el cultivo negativo o viceversa.

Dos ovejas con mastitis clínica aspergilar que se trataron precozmente con antifúngicos en la primera semana posparto, al sacrificarlas 45 días más tarde presentaban grandes abscesos caseosos mamarios; los cultivos de las lesiones y de la secreción mamaria fueron negativos o de crecimiento escaso, pero la microscopía con cellufluor demostró la presencia abundantísima de hifas de *Aspergillus*.

En el rebaño R2 las tres ovejas clínicamente sanas que tenían RCS muy altos dieron cultivos positivos de *A. fumigatus* en la leche recogida 2-5 días después del parto.

De las 15 ovejas clínicamente sanas del rebaño R4 en las que se analizó una muestra de la mezcla de leche de las dos mamas, en nueve de ellas se comprobó la presencia de hifas o se aisló *A. fumigatus*, aunque el número de colonias fue mas bien bajo. Los análisis fueron claramente más positivos con el sedimento de la leche obtenido por centrifugación que con la leche entera.

Los cultivos que se realizaron del contenido de cinco jeringas del preparado comercial utilizado para el tratamiento antibacteriano en el período seco en los rebaños R1 y R4 dieron en todos los casos resultado negativo.

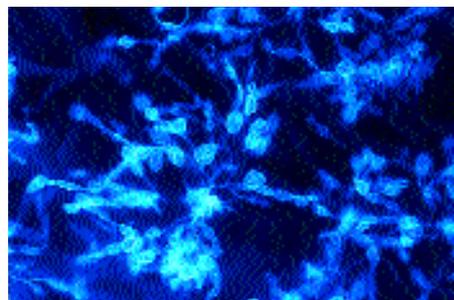


Figura 8. Hifas deformadas y globosas de *A. fumigatus*. Preparación teñida con Cellufluor de un absceso mamario de una oveja Churra. 125x.

DISCUSIÓN

La mastitis por *A. fumigatus* fue uni o bilateral y en algunas ovejas la infección se difundió desde la glándula mamaria a ganglios supramamarios y pulmones, en los que se comprobó la presencia del hongo. En casos similares a los nuestros se ha descrito también la difusión a otros órganos [21]. La gravedad de la infección mamaria con afectación o no de otros órganos, las lesiones nodulares granulomatosas y la necrosis tisular con formación de abscesos con contenido caseoso, corresponde con lo que se ha descrito en otros procesos mamíticos por *A. fumigatus* y *Aspergillus* sp. en la vaca, cabra y oveja [11-21].

La presencia de las hifas típicas con ramificación dicotómica, las formas vesiculares y los asteroides han sido citados por otros autores en casos de mastitis [13,18,19]. Si bien frecuentemente la microscopía y el cultivo fueron positivos, en algunas muestras de casos crónicos la microscopía dió positiva y el cultivo negativo, lo que también ha sido descrito anteriormente [15]. Se admite que el crecimiento de escasas colonias o la visualización de alguna hifa aislada en la leche por sí solo no es suficiente para un diagnóstico de mastitis micótica, ya que podría deberse a una contaminación. En nuestro caso, se dió algún resultado de este tipo, pero como coincidió con otras ovejas del rebaño en las que la microscopía y el cultivo de la leche fueron muy ricos, unido a la positividad de las lesiones en la necropsia, el diagnóstico no planteó ninguna duda; a su vez, éste se ratificó con estudios serológicos que demostraron la presencia de anticuerpos frente a *A. fumigatus*, cuyos resultados se publicarán próximamente.

Además de la mastitis clínica se comprobó que las ovejas también pueden tener mastitis subclínica por *A. fumigatus*, ya que éste se aisló en cultivo puro en la leche de las tres ovejas clínicamente sanas del rebaño R2 que tenían un RCS muy alto. Después de tratarlas con antifúngicos descendió el RCS, por lo que cabe pensar que existía una infección subclínica por *A. fumigatus*, lo que ya ha sido descrito en vacuno [15,27]. A su vez en el rebaño R4 se comprobó que nueve de 15 ovejas clínicamente sanas, de las que desconocemos si tenían un RCS alto, tenían presencia de *A. fumigatus* en la leche. Quizás alguna muestra pudiera estar contaminada, pero en otras cabe pensar que pudiera corresponder con ovejas que tenían infección subclínica, lo que no sería de extrañar en animales que recibieron el tratamiento en el secado y que pertenecían a un rebaño en el que hubo bastantes ovejas diagnosticadas de mastitis clínica por *A. fumigatus*. En este sentido, Pepin [15] describió el aislamiento de *A. fumigatus* en leche de vacas sin sintomatología, alguna de las cuales posteriormente sufrió mastitis aspergilar.

Dada la importancia de las mastitis subclínicas en el ganado ovino, en los últimos años se ha generalizado la realización del tratamiento intramamario antibacteriano en el período seco. Coincidiendo con la implantación de esta práctica diversos veterinarios nos informaron de la aparición de brotes de mastitis ovina, similares a los que describimos en este trabajo, en los que se detectó la presencia de *Aspergillus* en la leche. En todos ellos coincidió que el tratamiento en el secado se aplicó con poca higiene. En nuestro caso, en tres de las cuatro rebaños estudiados, las condiciones higiénicas de aplicación del tratamiento intramamario fueron también bastante deficientes, ya que los ganaderos no lavaron ni desinfectaron adecuadamente los pezones antes y después del tratamiento, ni tampoco la cánula; en el rebaño restante la higiene fue correcta, pero se desinfectó con alcohol etílico que no tiene suficiente actividad antifúngica. En todos los casos se utilizó una sola cánula para las dos mamas introduciéndola 2-3 cm en el pezón. Estos rebaños era la primera vez que recibían el tratamiento en el secado y que sufrían este tipo de mastitis. En los secados posteriores se suprimió el tratamiento y no hubo nuevos casos de mamitis por *Aspergillus*. Sin duda, la aplicación incorrecta del tratamiento intramamario fue la causa que condujo a la mastitis aspergilar, ya que las ovejas que no recibieron el tratamiento, tanto primíparas como pluríparas, no enfermaron y los análisis del producto aplicado dieron negativos. Estudios histopatológicos de otros autores en casos similares de mastitis bovina, caprina y ovina indican que la infección parece

producirse por vía intramamaria [14,19,21]. En nuestro estudio todo indica que la infección se produjo por dicha vía intramamaria, al no haber sido desinfectados adecuadamente la piel y el orificio del pezón, y la cánula; ésta probablemente arrastró las esporas del hongo hasta el interior del pezón. El posible traumatismo producido en el canal al introducir profundamente la cánula, sobre todo al utilizar las diseñadas para vacuno, así como la acción antibacteriana de los antibióticos, favorecerían la implantación y posterior multiplicación de *Aspergillus*. A su vez la concurrencia de años húmedos pudo propiciar una mayor concentración de esporas de *A. fumigatus* en las instalaciones y en el ambiente, en los que ya de por sí son habituales. De hecho el análisis de la alfalfa rama utilizada en el rebaño R4 demostró la presencia de un número incontable de colonias de hongos.

El lavado de la ubre y la desinfección del pezón con un buen desinfectante antifúngico, la utilización de una cánula estéril apropiada para ovino introduciéndola solo unos milímetros para evitar traumatismos, junto con las medidas higiénicas comunes, deberían ser suficientes para evitar la mastitis aspergilar vinculada al tratamiento intramamario en el secado. En este sentido, en el rebaño R2 no hubo nuevos casos de mastitis aspergilar después de que se pasó a introducir la cánula solamente unos milímetros y se desinfectó con una solución yodada en vez de con alcohol.

Agradecemos la valiosa colaboración proporcionada por los veterinarios/as y ganaderos de las explotaciones estudiadas.

Bibliografía

1. Ainsworth GC, Austwick PKC. Fungal diseases of animals. Farnham Royal, Slough, England, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1973.
2. Smith JM. Opportunistic mycoses of man and other animals. Wallingford, Oxon, UK, CAB International Mycological Institute, 1989.
3. Austwick PKC. Pathogenicity. En: Raper KB, Fennell DI (Eds.) The genus *Aspergillus*. Baltimore, The Williams & Wilkins Company, 1965: 82-126.
4. Gourreau JM, Laval A, Badinand F. Les aspergilloses des bovins. Point Vét 1988; 20: 589-608.
5. Chauhan HVS, Dwivedi P. Pneumomycosis in sheep and goats. Vet Rec 1974; 95: 58-59.
6. Nicolas JA, Loubet R, Pestre-Alexandre M, et al. Les pneumopathies à *Aspergillus fumigatus* chez le mouton, synthèse d'observations. Point Vét 1985; 17: 180-182.
7. González JF, Heras M, García de Jalón JA, Bárcena C. Aspergilosis pulmonar en corderos jóvenes. Rev Iberoam Micol 1993; 10: 98-99.
8. Reh binder C. Mycotic granulomatous pneumonia in a lamb (case report). Nord Vet-Med 1977; 29: 343-346.
9. Corbel Mj, Day CA, Cole DJW. Examination of the relationship between pathological changes, immunological response and serum protein concentrations in pregnant sheep inoculated with *Aspergillus fumigatus*. Mycopathologia 1980, 71: 53-64.
10. Muñoz MC, Merino N, Vieira S, González M, González E, Figueredo JM. Demostración de placentitis micótica en ovejas inoculadas con *Aspergillus fumigatus*. Rev Salud Anim 1989; 11: 25-34.
11. El-Naggar AL, Ahmed YF, Ibrahim FA, Refai MKM. Some pathological studies in the udder of small ruminants intramammarily infected with *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. Egypt J Comp Path Clin Path 1997; 10: 93-104.
12. Mandal PC, Gupta PP. Sequential pathological studies in the udder of goats intramammarily infected with *Aspergillus fumigatus*. Mycopathologia 1994; 126: 9-14.
13. Thompson KG, di Mena ME, Carter ME, Carman MG. Mycotic mastitis in two cows. N Z Vet J 1978; 26: 176-177.
14. Schällibaum M, Nicolet J, König H. *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus* as causal agents of bovine mastitis. Sabouraudia 1980; 18: 33-38.
15. Pepin GA. Udder infections in cattle and goats caused by filamentous fungi. En: Torres-Rodríguez JM (Ed.) Proceedings of the X Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Barcelona, JR Prous Science, 1988: 313-317.
16. Bauer J, Gareis M, Bott A, Gedek B. Isolation of a mycotoxin (gliotoxin) from a bovine udder infected with *Aspergillus fumigatus*. J Med Vet Micol 1989; 27: 45-50.
17. Katamoto H, Shimada Y. Intra-arterial and intramammary injection of miconazole for bovine mastitis caused by *Aspergillus fumigatus*. Br Vet J 1990; 146: 354-357.
18. Lepper AWD. Mycotic mastitis in a dairy goat. Vet Rec 1964; 76: 1469-1472.
19. Jensen HE, Espinosa de los Monteros A, Carrasco L. Caprine mastitis due to aspergillosis and zygomycosis: a pathological and immunohistochemical study. J Comp Path 1996; 114: 183-191.
20. Aller JM, Fregeneda JM, Fernández M. Aspergilosis mamaria en un rebaño ovino. Tercer Congreso Nacional de Micología, SEM and AEM. Peñíscola, Spain, 1996:66.
21. Pérez V, Corpa JM, García-Marin JF, Adúriz JJ, Jensen HE. Mammary and systemic aspergillosis in dairy sheep. Vet Pathol 1998; 35: 235-240.
22. García ME, Fernández Garayzábal JF, Las Heras A, Guedeja Marrón J, López I, Blanco JL. Diagnóstico inmunológico por una técnica Elisa de un brote de aspergilosis en ganado ovino. Producción Ovina y Caprina 1998; XXIII: 399-402.
23. González-Rodríguez MC, Gonzalo C, San Primitivo F, Carmenes P. Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. J Dairy Sci 1995; 78: 2753-2759.
24. Ziluaga I, Romeo M, Marco JC. Prevalencia, patogenicidad y epidemiología de los microorganismos implicados en procesos mamíticos del ganado ovino. Ovis 1998; 59: 27-49.
25. Bergonier D, Berthelot X, Romeo M, et al. Fréquence des différents germes responsables de mammites cliniques et subclínicas chez les petits ruminants laitiers. 6th International Symposium on the Milking of Small Ruminants. Athens, Greece, 1998: 93-98.
26. Gonzalo C, Ariznabarreta A, Tardaguila JA, San Primitivo F. Factores infecciosos de variación del recuento celular de la leche de oveja. Ovis 1998; 56: 27-34.
27. Fenizia D, De Anseris P, Cicala G. Mastite bovina subclínica atribuible ad *Aspergillus fumigatus*. Atti Soc Ital Scienze vet 1975; 29: 664-668.