



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

**FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CLINICHE VETERINARIE**

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE VETERINARIE
INDIRIZZO SCIENZE CLINICHE VETERINARIE
XXII° CICLO**

LA TERMOGRAFIA IN MEDICINA VETERINARIA

"SOMETHING NEW ABOUT SOMETHING OLD"

IL SUO VALORE DIAGNOSTICO NEL BENESSERE ANIMALE

DIRETTORE DELLA SCUOLA: CH. MO PROF. MASSIMO MORGANTE

DOTTORANDO: MICHELE GATTO

Indice

RIASSUNTO	7
SUMMARY	11
INTRODUZIONE	17
STORIA DELLA TECNOLOGIA A INFRAROSSI	17
TEORIA DELLA TERMOGRAFIA	21
INTRODUZIONE	21
LO SPETTRO ELETTROMAGNETICO	21
RADIAZIONE DEL CORPO NERO	22
LA LEGGE DI PLANCK	23
LA LEGGE DI SPOSTAMENTO DI WIEN	25
LEGGE DI STEFAN-BOLTZMANN	26
EMETTITORI DIVERSI DAI CORPI NERI	27
MATERIALI SEMITRASPARENTI AGLI INFRAROSSI	30
LA FORMULA DI MISURAZIONE	31
TECNICHE DI MISURAZIONE TERMOGRAFICA	38
INTRODUZIONE	38
COME STABILIRE L'EMISSIVITÀ DI UN OGGETTO	39
DISTANZA	40
UMIDITÀ RELATIVA	40
APPLICAZIONI DELLA TECNOLOGIA AD INFRAROSSO	41
IN AMBITO INDUSTRIALE ED INGEGNERISTICO	42
IN MEDICINA	43
APPLICAZIONI DELLA TERMOGRAFIA IN MEDICINA UMANA	44
APPLICAZIONI DELLA TERMOGRAFIA IN MEDICINA VETERINARIA	58
MATERIALI E METODI	79
DESCRIZIONE DELLO STRUMENTO	79
CARATTERISTICHE TECNICHE DELLO STRUMENTO	79
ESEGUIRE UNA TERMOGRAFIA	80
IL SOFTWARE	82
TRIAL 1	93
MATERIALI E METODI	94
MANAGEMENT DELL'AZIENDA	94
PUNTI CHIAVE DELLA PROVA SPERIMENTALE E SPIEGAZIONE DELL'ARRICCHIMENTO AMBIENTALE	94
PRELIEVI EFFETTUATI	96
RILIEVI EFFETTUATI	96
PROTOCOLLO DELLA PROVA SPERIMENTALE	97
PROCEDIMENTO	99

ANALISI EMATOBIOCHIMICHE	100
ANALISI STATISTICA DEI DATI	101
RISULTATI E DISCUSSIONE	102
ANALISI DESCRITTIVA DEI RISULTATI IN RELAZIONE A SETTIMANA, GRUPPO E TIPO DI PROVA	103
COMMENTI GENERALI	104
CONCLUSIONI	112
ANALISI DESCRITTIVA DELLA RELAZIONE TRA GRUPPI ARRICCHITI E DI CONTROLLO	112
ANALISI DEI RISULTATI DELLA PROVA DI BENDAGGIO	114
ANALISI DEI RISULTATI DELLA PROVA DI FRUSTRAZIONE	119
CONCLUSIONI	123
TRIAL 2	125
MATERIALI E METODI	129
GENERALITA' AZIENDA	129
PROTOCOLLO DEL LAVORO	129
ANALISI TERMOGRAFICA DELLE IMMAGINI	131
ANALISI DEI TEMPI DI MUNGITURA E DELLA QUANTITÀ DI LATTE PRODOTTO APPLICANDO RISPETTIVAMENTE ALTO E BASSO VUOTO.	132
RISULTATI E DISCUSSIONE	133
RISULTATI ANALISI CAPEZZOLO IN TOTO	133
RISULTATI ANALISI CAPEZZOLO DIVISO NELLE SUE TRE AREE	137
IMMAGINE DISTRIBUZIONE FREQUENZA TEMPERATURA	141
CONCLUSIONI	142
TRIAL 3	145
MATERIALI E METODI	147
PROTOCOLLO SPERIMENTALE	147
TECNICA DELLA RUMINOCENTESI	147
STUDIO TERMOGRAFICO	149
ANALISI STATISTICA	151
CONCLUSIONI	160
CONCLUSIONI FINALI	163
BIBLIOGRAFIA	165

Riassunto

La termografia è la produzione di immagini a infrarossi (o immagini termiche) ottenute con una telecamera a infrarossi, detta termocamera. Sulla base di tali immagini termiche si possono eseguire accurate misurazioni della temperatura, per individuare differenze di temperatura anche minime.

Le applicazioni scientifiche della termografia a infrarossi sono numerose e localizzate nei campi più disparati.

In campo medico la temperatura del corpo è un fenomeno complesso. L'organismo produce calore che si deve disperdere nell'ambiente. La cute funziona da interfaccia tra la produzione di calore e l'ambiente. Questo organo dinamico si adegua costantemente per bilanciare le condizioni interne ed esterne, rispondendo alle esigenze fisiologiche del corpo. Gli infrarossi sono ampiamente accettati come strumento accurato e affidabile per effettuare esami medici e diagnostici.

Numerosi medici veterinari utilizzano già la termografia a infrarossi come metodo non invasivo, affidabile e rapido, per individuare punti caldi. Questa tecnica fornisce infatti, in tempo reale, una mappa visiva dei gradienti della temperatura della cute. Poiché il calore è uno dei segnali principali dell'approssimarsi di infiammazioni o infortuni, si possono usare gli infrarossi per individuare e diagnosticare con largo anticipo tali problemi. Questa tecnologia consente anche di individuare facilmente nervi e muscoli lesionati. Tra le applicazioni più comuni: deviazioni assiali, patologie articolari, fratture, tendinopatie e molti altri stati infiammatori. Oltre al largo impiego nel cavallo sportivo, sta crescendo fortemente l'utilizzo degli infrarossi anche in altri campi e materie della medicina veterinaria, come il suo utilizzo negli allevamenti di piccoli e grandi ruminanti, selvatici e zoo, come strumento di diagnosi di patologie e valutazione di alterazioni di benessere animale.

Lavoro 1: La termografia ad infrarossi, permettendo di eseguire valutazioni di temperatura lontano dagli animali e senza contatto, può essere molto importante nella determinazione di un loro stress acuto. Lo scopo di questo studio è, perciò, valutare le potenzialità della termografia ad infrarossi come tecnica per individuare lo stress nel cavallo sportivo, al fine di ottenere un metodo non invasivo e complementare ad altre tecniche diagnostiche. La prova sperimentale consiste nel sottoporre diversi soggetti ad uno stress acuto ed esaminare se alcuni parametri fisiologici (corticotropina ematica,

cortisolo ematico, variazioni della temperatura rettale e frequenza cardiaca) ed altri di tipo comportamentale potessero essere in relazione alle variazioni della temperatura, rilevate con l'ausilio della termografia ad infrarossi, a livello dell'occhio e del trigono labiale. La prima situazione di stress è stata indotta mediante il bendaggio degli occhi degli animali (*prova di bendaggio*); successivamente è stata svolta un'altra prova nella quale l'evento stressante è stato la somministrazione di cibo in modo tale che i cavalli riuscissero a vederlo ed annusarlo senza raggiungerlo (*prova di frustrazione*).

Il nostro studio prevedeva, inoltre, il confronto della reazione ad uno stress acuto di due gruppi di animali; uno di questi è stato posto in ambiente arricchito, l'altro fungeva da controllo. L'arricchimento ambientale da noi messo in pratica è stato di tipo alimentare. A questo esperimento hanno partecipato 9 cavalli (di età compresa tra 5 e 20 anni, appartenenti a varie razze),

Per l'analisi statistica, dato il numero relativamente ridotto dei soggetti che hanno fatto parte della prova sperimentale, si è scelto di usare test statistici di tipo non parametrico.

Il test di Wilcoxon è stato utilizzato per il confronto tra i valori basali e quelli antecedenti ogni prova stressogena e successivamente per l'analisi statistica all'interno degli stessi gruppi di "arricchito" e di "controllo"; mentre il test per ranghi di Spearman è stato utilizzato per le correlazioni tra gli stessi. Nell'analisi dei risultati basali, in generale, possiamo affermare di aver osservato che le rilevazioni effettuate mediante l'uso della termocamera, non influenzano in maniera significativa i parametri considerati negli animali. Abbiamo potuto osservare che, infatti, nonostante le correlazioni e le differenze significative riportate per alcuni parametri in alcuni gruppi, non vi sono differenze rilevanti tra i valori basali e quelli pre prova; questo può indicare che le nostre manualità e la nostra presenza non hanno variato di molto le condizioni fisiologiche dei cavalli.

Nel corso di ogni singola prova di stress, invece, abbiamo potuto notare che la termocamera ad infrarossi rileva variazioni della temperatura, in aumento o in diminuzione, ed abbiamo perciò sempre rilevato una differenza della temperatura tra i valori iniziali e finali delle prove, sia a livello di occhio sia di trigono labiale.

Infine, Esaminando i nostri dati tra gruppo arricchiti e controllo, possiamo notare che, anche in questo caso, vi è una differenza che dipende dal tipo di prova di stress messa in atto. Dall'analisi descrittiva dei risultati ottenuti nei gruppi arricchiti e di controllo, così

come constatato analizzando in precedenza ogni gruppo singolarmente, abbiamo notato che la prova di bendaggio influenza la temperatura dell'occhio, aumentandola, mentre quella del trigono risulta variabile; la prova di frustrazione, invece, diminuisce la temperatura sia a livello oculare sia di trigono labiale.

Lavoro 2: Un corretto funzionamento dell'impianto di mungitura è essenziale sia per il benessere della bufala che per ottimizzare la produttività e mantenere una mammella sana. L'innalzamento del vuoto di lavoro se da un lato consente un'estrazione più rapida del latte, dall'altro condiziona l'integrità dei tessuti mammari. L'aumento del vuoto operativo accresce la velocità di deflusso del latte diminuendo i tempi di emissione, ma può anche essere causa dell'insorgenza di patologie a carico dell'apparato mammario nelle diverse specie da latte. L'azione meccanica esercitata durante la mungitura dall'effetto combinato del vuoto, delle guaine e del peso del gruppo, induce dei cambiamenti nei tessuti del capezzolo che ne possono alterare la resistenza all'ingresso dei batteri patogeni causa di infezioni mastitiche.

L'obiettivo di questa ricerca è stato quello di valutare l'influenza dei diversi livelli di alto e basso vuoto sui cambiamenti di temperatura del capezzolo nella bufala, prima, durante e dopo il processo di mungitura, attraverso la termografia ad infrarossi.

All'interno della mandria sono stati considerati due gruppi di 14 bufale, le quali venivano munte a 42kPa e dopo tre settimane di adattamento a livelli di vuoto progressivamente più bassi, erano munte a 36kPa, usando gli stessi parametri di pulsazione.

Le immagini termografiche dell'area posteriore della mammella e dei capezzoli erano catturate prima della mungitura, durante la mungitura, immediatamente dopo la mungitura e fino a 5 minuti dopo la mungitura.

La termocamera è risultata un metodo pratico per la rilevazione di alterazioni della temperatura superficiale del capezzolo ed analizzando i risultati ottenuti eseguendo le due prove di mungitura, abbiamo evidenziato dei dati importanti.

Ad una prima osservazione dei dati si nota che il basso vuoto influenza maggiormente l'innalzamento termico del capezzolo rispetto all'alto vuoto. Un'altra osservazione piuttosto interessante è relativa ai tempi di mungitura: infatti sono molto simili e dunque il gap riscontrato tra le temperature prese dopo la mungitura, non è dovuto ai tempi di mungitura, ma probabilmente dal livello di vuoto applicato.

Tutte queste analisi hanno dimostrato una superiore sensibilità del middle teat e del tip teat rispetto alla base teat, applicando indistintamente alto o basso vuoto. Ciò implica una maggiore influenza del capezzolo sia a livello anatomico, che termico.

Lavoro 3: L'acidosi ruminale subacuta (SARA dall'Anglosassone: subacute ruminal acidosis) rappresenta una delle principali problematiche nell'allevamento della bovina da latte, in grado di provocare notevoli ripercussioni economiche, sia dirette che indirette. Dalle ricerche effettuate in questi ultimi anni, si può affermare che la tecnica più idonea e sicura per il prelievo del liquido ruminale al fine di una diagnosi presuntiva di SARA è la ruminocentesi: in un'azienda si effettua la ruminocentesi in un gruppo di 12 bovine nelle prime fasi di lattazione e si emette diagnosi di SARA quando almeno il 30% delle bovine in esame presenta un pH ruminale inferiore a 5.5.

Scopo del presente lavoro è stato quello di verificare l'applicabilità della termografia ad infrarosso quale mezzo d'ausilio per la diagnosi di tale disturbo fermentativo; inoltre è stata valutata l'applicabilità della termografia nel punto di inserzione dell'ago da ruminocentesi al fine di valutare (o escludere) eventuali implicazioni negative di tale tecnica sullo stato di salute e benessere dell'animale.

Dai risultati di tale studio si può indicare come la termografia ad infrarosso possa essere di grande importanza quale mezzo d'ausilio per la diagnosi di SARA, per il fatto che l'alterazione delle fermentazioni ruminali conduce ad una variazione di temperatura del rumine e/o di circolo superficiale in relazione ai meccanismi di termo dispersione. Inoltre, a conferma di quanto ampiamente indicato in bibliografia i risultati del presente studio confermano che la ruminocentesi rappresenta uno strumento utile e prezioso di diagnostica in medicina bovina e che tale manualità non provoca alcun danno dal punto di vista della salute e del benessere della bovina da latte.

Summary

Thermography is the infrared imaging (or thermal imaging) obtained with an infrared camera. Based on these thermal images it is possible to perform accurate temperature measurements, to detect even small temperature differences. Scientific applications of infrared thermography are numerous and located in many different areas.

In medicine, the temperature of the body is a complex phenomenon. The body produces heat that must be dispersed into the environment. The skin functions as the interface between heat production and the environment. This dynamic body has adapted to balance the internal and external conditions, in response to physiological needs of the body. Infrared are widely accepted as accurate and reliable tool to perform medical examinations and diagnostic tests.

Many veterinarians already use infrared thermography as a noninvasive method, reliable and fast, to identify hot spots. This technique provides in fact, in real time, a visual map of gradients in temperature of the skin. Because heat is one of the main signals of approaching of inflammation or injury, it is possible to use infrared camera to detect and diagnose these problems in advance. This technology also allows to easily locate damaged nerves and muscles. Among the most common applications: axis deviation, diseases of joints, fractures, tendinopathy and many other inflammatory conditions. In addition to the wide use in the horse sports, is growing strongly the use of infrared materials and in other fields of veterinary medicine, as its use in farms of small and large ruminants, wild animals and into zoo, as a tool for diagnosis of diseases or evaluation of alterations of animal welfare.

Trial 1: Infrared thermography, allowing you to perform evaluations of temperature away from animals and without contact, can be very important in determining their acute stress. The purpose of this study is, therefore, assess the potential of infrared thermography as a technique to detect stress in the horses in order to obtain a non-invasive method of diagnostic and complementary to other diagnostic techniques. The experimental test is to subject various horses to acute stress and to examine certain physiological parameters (blood corticotropin and cortisol, changes in rectal temperature and heart rate) related to changes in temperature, detected by infrared thermography to eye level and the trigone lip. The first report of stress was induced by banding of the eyes of animals (proof of banding), then another test was conducted in

which the stressful event was the administration of food so that the horses were able to view it without reaching and smell (proof of frustration).

Our study also provided as a comparison of the response to acute stress in two groups of animals, one of which was placed in enriched environment, the other served as control. In this experiment participated in 9 horses (aged between 5 and 20 years, belonging to different races)

For statistical analysis, given the relatively small number of subjects who have been part of the experimental evidence, has chosen to use non-parametric statistical tests.

The Wilcoxon test was used for comparison between baseline values and those before the proof and subsequently statistical analysis within the same groups of "enriched" and "control", while the Spearman's rank test was used for the correlation between them. Baseline analysis of results, in general, we can claim to have observed that the surveys carried out by using the camera, do not significantly influence the parameters considered in animals. There are not major differences between the baseline and the pre-test, this may indicate that our manual and our presence does not have varied far the physiological conditions of the horses.

In the course of each stress test, however, we have noticed that the infrared camera detects temperature changes, increasing or decreasing, and therefore we have always noticed a difference in temperature between the initial and final values of the tests, both level of eye and lip trigone.

Finally, considering our data between enriched and control group, we can see that even in this case, there is a difference that depends on the type of stress test implementation. Descriptive analysis of results obtained in enriched and control groups, as has been previously analyzed each group individually, we noted that the proof bandage influence the temperature of the eye, increasing it, while the trigone is variable. The test of frustration, however, decreases the temperature at eye and attrigone lip.

Trial 2: Un corretto funzionamento dell'impianto di mungitura è essenziale sia per il benessere della bufala che per ottimizzare la produttività e mantenere una mammella sana. L'innalzamento del vuoto di lavoro se da un lato consente un'estrazione più rapida del latte, dall'altro condiziona l'integrità dei tessuti mammari. L'aumento del vuoto operativo accresce la velocità di deflusso del latte diminuendo i tempi di emissione, ma può anche essere causa dell'insorgenza di patologie a carico dell'apparato mammario

nelle diverse specie da latte. L'azione meccanica esercitata durante la mungitura dall'effetto combinato del vuoto, delle guaine e del peso del gruppo, induce dei cambiamenti nei tessuti del capezzolo che ne possono alterare la resistenza all'ingresso dei batteri patogeni causa di infezioni mastitiche.

L'obiettivo di questa ricerca è stato quello di valutare l'influenza dei diversi livelli di alto e basso vuoto sui cambiamenti di temperatura del capezzolo nella bufala, prima, durante e dopo il processo di mungitura, attraverso la termografia ad infrarossi.

All'interno della mandria sono stati considerati due gruppi di 14 bufale, le quali venivano munte a 42kPa e dopo tre settimane di adattamento a livelli di vuoto progressivamente più bassi, erano munte a 36kPa, usando gli stessi parametri di pulsazione.

Le immagini termografiche dell'area posteriore della mammella e dei capezzoli erano catturate prima della mungitura, durante la mungitura, immediatamente dopo la mungitura e fino a 5 minuti dopo la mungitura.

La termocamera è risultata un metodo pratico per la rilevazione di alterazioni della temperatura superficiale del capezzolo ed analizzando i risultati ottenuti eseguendo le due prove di mungitura, abbiamo evidenziato dei dati importanti.

Ad una prima osservazione dei dati si nota che il basso vuoto influenza maggiormente l'innalzamento termico del capezzolo rispetto all'alto vuoto. Un'altra osservazione piuttosto interessante è relativa ai tempi di mungitura: infatti sono molto simili e dunque il gap riscontrato tra le temperature prese dopo la mungitura, non è dovuto ai tempi di mungitura, ma probabilmente dal livello di vuoto applicato.

Tutte queste analisi hanno dimostrato una superiore sensibilità del middle teat e del tip teat rispetto alla base teat, applicando indistintamente alto o basso vuoto. Ciò implica una maggiore influenza del capezzolo sia a livello anatomico, che termico.

Trial 2: A proper operation of the milking is essential both for the welfare of the buffalo and for an optimize productivity, maintaining a healthy breast. Rising the vaccum level, while allowing more rapid extraction of milk, the other affects the integrity of the breast tissue. The increase of the vaccum increases the rate of flow of milk by lowering the time of issuance, but may also be a cause of occurrence of diseases borne apparatus in different species from breast milk. The mechanical action exerted by the compound during the milking vacuum, and the weight of the sheath,

induces changes in the tissues of the nipple that may alter the resistance to the entry of pathogenic bacteria causing infections.

The objective of this study was to evaluate the influence of different levels of high and low vacuum on temperature changes of the nipple in Buffalo, before, during and after the milking process, by infrared thermography.

Within the herd were considered two groups of 14 buffaloes, which were milked at 42kPa and after three weeks of adaptation to progressively lower levels of vacuum were milked at 36kPa, using the same parameters of pulsation.

Thermographic images of the back of the udder and teats were captured before milking, during milking, immediately after milking and up to 5 minutes after milking.

The camera was a practical method for detecting changes at surface temperature of the nipple and analyzing the results obtained using the two tests of milking, we highlighted the important data.

At first observation of the data reveals that the low vacuum influence greater than the high elevation of the nipple thermal vacuum. Another very interesting observation is related to the time of milking: in fact are very similar and therefore the gap found between the temperatures taken after milking, is not due to the time of milking, but probably on the level of vacuum applied.

All these tests have shown a higher sensitivity of the middle and tip teat from the base, applying equally high or low vacuum. This implies a greater influence of the nipple at both anatomical and thermal.

Trial 3: Subacute rumen acidosis (SARA) represent one of the most important metabolic disorders in intensive dairy farms that affects rumen fermentations, animal welfare, productivity and profitability. The determination of ruminal pH is a key factor for the diagnosis of SARA. Different methods are available for the collection of rumen fluid for pH analysis. According several researcher rumenocentesis may be useful for the collection of rumen fluid for pH determination. A group of at least 12 cows (early or middle lactation) is defined as having SARA when more than 30% of them show a ruminal pH lower than 5.5.

The purpose of this study was to verify the applicability of thermography as a tool as an aid to diagnosis of this disorder fermentative. Also, apply the thermographic evaluation

of point of needle insertion from rumenocentesis in order to further confirm the absence of negative implications of this technique on the health and animal welfare.

The results of this study may show how infrared thermography can be of great importance as a tool as an aid to diagnosing subacute rumen acidosis because the alterations of ruminal fermentations leads to a change in temperature of the rumen and/or surface circulation in relation to the mechanisms of heat loss.

Moreover, since some authors still consider rumenocentesis as an invasive technique and various professionals deem too difficult to use in routine clinical investigations, this study has again demonstrated that no animal has shown particular problems during this diagnostic procedure, and not have been identified local or systemic reactions following the ruminocentesis.

Introduzione

Storia della tecnologia a infrarossi

Fino a 200 anni fa circa, non si sospettava neanche l'esistenza della porzione a infrarossi dello spettro elettromagnetico. Il significato originale dello spettro infrarosso, o, come spesso viene chiamato, semplicemente "infrarosso", come forma di irradiazione di calore è forse meno ovvio oggi di quanto non lo fosse ai tempi in cui è stato scoperto da Herschel, nel 1800.

La scoperta avvenne accidentalmente durante la ricerca di un nuovo materiale ottico. Sir William Herschel, astronomo reale del re Giorgio III d'Inghilterra e già famoso per aver scoperto il pianeta Urano, era alla ricerca di un filtro ottico in grado di ridurre la luminosità dell'immagine del sole nei telescopi durante le osservazioni. Mentre provava diversi campioni di vetro colorato che fornivano analoghe riduzioni di luminosità, fu attratto dalla constatazione che alcuni di questi campioni filtravano quantità ridotte del calore del sole, mentre altri ne filtravano così tanto che egli rischiò di ferirsi gli occhi dopo solo pochi secondi di osservazione.

Herschel si convinse presto della necessità di condurre un esperimento sistematico, con l'obiettivo di individuare un unico materiale in grado di ridurre la luminosità ai valori desiderati e allo stesso tempo di ridurre al massimo il calore. All'inizio, i suoi esperimenti si basarono sull'esperimento del prisma condotto da Newton, ma furono rivolti più all'effetto termico che alla distribuzione visiva dell'intensità nello spettro. Herschel annerì con inchiostro il bulbo di un termometro sensibile contenente mercurio e lo utilizzò come rilevatore di radiazioni per studiare l'effetto termico dei vari colori dello spettro, definiti in base a una tabella, mediante il passaggio di luce solare attraverso un prisma di vetro. Altri termometri, collocati al riparo dai raggi del sole, servivano da elementi di controllo.

Man mano che il termometro annerito veniva spostato lentamente lungo i colori dello spettro, i valori della temperatura mostravano un aumento costante passando dal violetto al rosso. Il risultato non era del tutto imprevisto, considerato che il ricercatore italiano Landriani aveva osservato lo stesso effetto in un esperimento analogo condotto nel 1777. Fu Herschel, tuttavia, il primo a riconoscere l'esistenza di un punto in cui l'effetto

termico raggiunge un massimo e che le misurazioni limitate alla porzione visibile dello spettro non erano in grado di individuare questo punto.

Spostando il termometro nella regione scura, oltre l'estremità rossa dello spettro, Herschel ebbe la conferma che il calore continuava ad aumentare. Il punto massimo venne individuato da Herschel ben oltre l'estremità rossa, in quelle che oggi chiamiamo le "lunghezze d'onda degli infrarossi".

Quando Herschel compì la sua scoperta, denominò questa nuova porzione dello spettro elettromagnetico "spettro termometrico". Definì la radiazione stessa a volte come "calore nero", a volte semplicemente come "raggi invisibili". Paradossalmente, e contrariamente a quanto si pensa, non fu Herschel a introdurre il termine "infrarosso". La parola cominciò a comparire nei testi circa 75 anni più tardi e non è stato ancora chiarito a chi attribuirne la paternità.

L'uso del vetro nel prisma fatto da Herschel nel suo primo esperimento originale sollevò alcune dispute tra i suoi contemporanei sull'esistenza effettiva delle lunghezze d'onda degli infrarossi. Diversi ricercatori, nel tentativo di confermare i risultati del suo lavoro, utilizzarono indiscriminatamente vari tipi di vetro, ottenendo trasparenze diverse nell'infrarosso. Nei suoi esperimenti successivi, Herschel si rese conto della trasparenza limitata del vetro rispetto alla radiazione termica recentemente scoperta e fu costretto a concludere che l'ottica per l'infrarosso era probabilmente determinata esclusivamente dall'uso di elementi riflessivi, quali specchi piani o curvati. Fortunatamente, ciò si dimostrò vero solo fino al 1830, quando il ricercatore italiano Melloni fece una scoperta molto importante: il salgemma presente in natura (NaCl), contenuto nei cristalli naturali sufficientemente grandi per produrre lenti e prismi, è notevolmente trasparente all'infrarosso. Il risultato fu che il salgemma divenne il principale materiale ottico infrarosso nei successivi cento anni, fino a quando non si perfezionò la produzione di cristalli sintetici negli anni '30 del XX secolo.

I termometri utilizzati come rilevatori di radiazioni rimasero immutati fino al 1829, anno in cui Nobili inventò la termocoppia. (Il termometro di Herschel poteva segnare fino a 0,2 °C (0,36 °F) di temperatura, i modelli successivi fino a 0,05 °C (0,09 °F)). Grazie a Melloni, che collegò una serie di termocoppie in sequenza per formare la prima termopila, si realizzò una svolta decisiva. Il nuovo dispositivo era almeno 40 volte più

sensibile del miglior termometro disponibile allora per il rilevamento dell'irradiazione di calore, in grado di rilevare il calore di una persona a tre metri di distanza.

La prima cosiddetta "immagine del calore" fu possibile nel 1840, frutto del lavoro di Sir John Herschel, figlio dello scopritore dell'infrarosso e già famoso astronomo. In base all'evaporazione differenziale di una sottile pellicola di olio esposta a un modello termico, l'immagine termica poteva essere visualizzata dalla luce riflessa, laddove l'interferenza della pellicola di olio rendeva l'immagine visibile all'occhio umano. Sir John riuscì inoltre a ottenere un primitivo risultato di immagine termica su carta, che denominò "termografia".

Il perfezionamento della sensibilità del rilevatore di raggi infrarossi proseguì lentamente. Un'altra scoperta importante, il cui autore fu Langley nel 1880, fu l'invenzione del bolometro. Questo strumento era costituito da una sottile striscia annerita di platino collegata a un ramo di un circuito a ponte Wheatstone, esposta alle radiazioni dei raggi infrarossi e collegata a un galvanometro sensibile. Allo strumento era stata attribuita la capacità di rilevare il calore di una mucca a una distanza di 400 metri.

Lo scienziato inglese Sir James Dewar fu il primo a introdurre l'uso di gas liquefatti come agenti di raffreddamento, come l'azoto liquido a una temperatura di $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($-320,8\text{ }^{\circ}\text{F}$) nella ricerca sulle basse temperature. Nel 1892 inventò un contenitore a chiusura ermetica in cui era possibile conservare gas liquefatti per giorni interi. Il comune "thermos", utilizzato per conservare bevande calde o fredde, si basa su questa invenzione.

Tra il 1900 e il 1920, venne "scoperto" l'infrarosso. Furono concessi molti brevetti per dispositivi in grado di rilevare individui, artiglieria, velivoli, navi e perfino iceberg. Il primo sistema operativo, nel senso moderno, venne sviluppato durante la prima guerra mondiale, quando entrambe le parti in conflitto conducevano programmi di ricerca dedicati allo sfruttamento militare dell'infrarosso. Questi programmi includevano sistemi sperimentali per il rilevamento di intrusioni nemiche, il rilevamento della temperatura di oggetti lontani, le comunicazioni sicure e la guida dei "missili guidati". Un sistema di ricerca a infrarossi collaudato durante questo periodo era in grado di rilevare un velivolo in avvicinamento a una distanza di 1,5 km (0,94 miglia) o una persona a più di 300 metri (984 piedi).

In questo periodo, i sistemi più sensibili furono tutti basati su variazioni dell'idea di bolometro, ma fu nel periodo tra le due guerre che si assistette allo sviluppo di due nuovi rilevatori di raggi infrarossi rivoluzionari: il convertitore di immagini e il rilevatore di fotoni. All'inizio, il convertitore di immagini ricevette un'estrema attenzione da parte del settore militare, perché consentì per la prima volta nella storia, letteralmente, di "vedere nel buio". Tuttavia, la sensibilità del convertitore di immagini era limitata alle lunghezze d'onda degli infrarossi vicini e gli obiettivi militari più interessanti, i soldati nemici, dovevano essere illuminati da raggi di ricerca a infrarossi. Considerato che ciò comportava il rischio di annullare il vantaggio dell'osservatore perché il nemico poteva essere analogamente equipaggiato, è comprensibile che l'interesse militare per il convertitore di immagini alla fine diminuì.

Gli svantaggi militari tattici dei cosiddetti sistemi di imaging termico "attivi", vale a dire attrezzati con raggi di ricerca, fornirono l'occasione dopo la seconda guerra mondiale per ulteriori ricerche sugli infrarossi coperte da segreto militare, mirati allo sviluppo di sistemi "passivi", privi di raggi di ricerca, basati sul rilevatore di fotoni particolarmente sensibile. Durante questo periodo, i regolamenti sul segreto militare impedirono la diffusione della tecnologia di imaging a infrarossi. Solo alla metà degli anni '50 il segreto fu rimosso e i dispositivi di imaging termico cominciarono ad essere disponibili per la scienza e l'industria civili.

Teoria della termografia

Introduzione

Gli argomenti riguardanti le radiazioni infrarosse e la relativa tecnica termografica sono spesso poco noti a molti utilizzatori di termocamere a infrarossi. In questa sezione viene fornita una descrizione della teoria che sottende il concetto di termografia.

Lo spettro elettromagnetico

Lo spettro elettromagnetico è suddiviso arbitrariamente in un certo numero di regioni classificate in base alla lunghezza d'onda e denominate bande, distinte a seconda dei metodi utilizzati per emettere e rilevare le radiazioni. Non esiste alcuna differenza sostanziale tra le radiazioni presenti nelle diverse bande dello spettro elettromagnetico: tutte sono governate dalle stesse leggi e le sole differenze sono quelle determinate dalle diverse lunghezze d'onda.

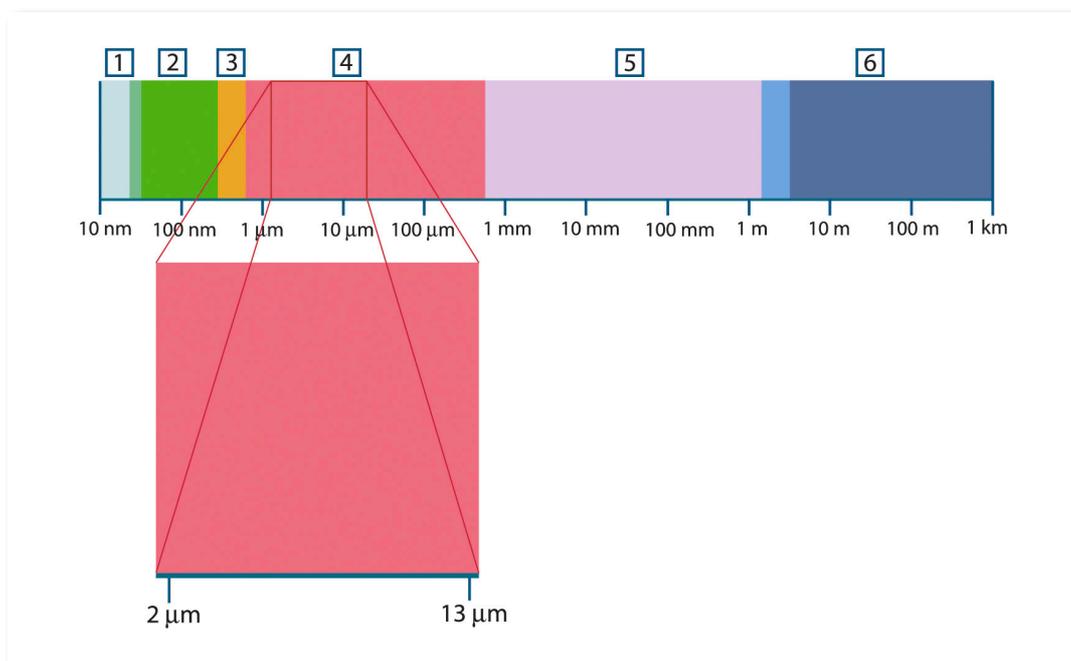


Figura 1: Lo spettro elettromagnetico. 1: raggi X; 2: ultravioletto; 3: luce visibile; 4: infrarosso; 5: microonde; 6: onde radio.

La termografia utilizza la banda spettrale dell'infrarosso. Il confine delle onde corte è situato al limite della percezione visiva, nella parte rossa dello spettro. Il confine delle

onde lunghe si fonde con la lunghezza d'onda delle microonde radio, nell'intervallo delle onde millimetriche.

La banda dell'infrarosso è spesso ulteriormente suddivisa in quattro bande più piccole, i cui confini vengono anch'essi scelti in modo arbitrario. Le bande comprendono: infrarosso vicino (0,75-3 μm), infrarosso medio (3-6 μm), infrarosso lontano (6-15 μm) e infrarosso estremo (15-100 μm). Anche se le lunghezze d'onda sono espresse in μm (micrometri), per misurare la lunghezza d'onda in questa regione dello spettro è spesso possibile utilizzare anche altre unità di misura, ad esempio nanometri (nm) e Angstrom (\AA).

Il rapporto tra le diverse unità di misura della lunghezza d'onda è:

$$10\,000\ \text{\AA} = 1\,000\ \text{nm} = 1\ \mu = 1\ \mu\text{m}$$

Radiazione del corpo nero

Per corpo nero si intende un oggetto che assorbe tutte le radiazioni che lo colpiscono a una lunghezza d'onda qualsiasi. L'utilizzo dell'apparente termine improprio nero riferito a un oggetto che emette radiazioni, è spiegato dalla legge di Kirchhoff (Gustav Robert Kirchhoff, 1824-1887), la quale afferma che un corpo in grado di assorbire tutte le radiazioni a una lunghezza d'onda qualsiasi è ugualmente in grado di emettere radiazioni.

La costruzione della sorgente di un corpo nero è, in linea di massima, molto semplice. Le caratteristiche delle radiazioni dell'apertura di una cavità isoterma costituita da un materiale opaco assorbente, rappresentano quasi esattamente le proprietà di un corpo nero. Un'applicazione pratica del principio per la costruzione di un perfetto assorbitore di radiazioni, è rappresentata da una scatola nascosta alla luce a eccezione di un'apertura su uno dei lati. Qualsiasi tipo di radiazione entri successivamente all'interno del foro viene diffuso e assorbito da ripetute riflessioni, in modo che solo una frazione infinitesimale possa sfuggire. L'oscurità ottenuta in corrispondenza dell'apertura è quasi simile a un corpo nero e pressoché perfetta per tutte le lunghezze d'onda.

Se la cavità isoterma viene riscaldata adeguatamente, questa diventa ciò che si definisce un radiatore a cavità. Una cavità isoterma riscaldata a una temperatura uniforme genera la radiazione di un corpo nero, le cui caratteristiche vengono stabilite

unicamente in base alla temperatura della cavità. Tali radiatori di cavità vengono comunemente usati in laboratorio come sorgenti di radiazione negli standard di riferimento della temperatura per la calibrazione di strumenti termografici, quali ad esempio le termocamere FLIR Systems.

Se la temperatura della radiazione del corpo nero aumenta raggiungendo un valore superiore a 525 °C (977 °F), la sorgente comincia a diventare visibile in modo da non apparire più nera all'occhio umano. Questo rappresenta la temperatura del radiatore che inizialmente è rossa e successivamente diventa arancione o gialla quando la temperatura aumenta ulteriormente. Infatti, per temperatura di colore di un oggetto si intende la temperatura che un corpo nero dovrebbe raggiungere per avere lo stesso aspetto.

Si considerino ora tre espressioni che descrivono la radiazione emessa da un corpo nero.

La legge di Planck

Max Planck fu in grado di descrivere la distribuzione spettrale della radiazione emessa da un corpo nero mediante la formula seguente:

$$W_{\lambda b} = \frac{2\pi hc^3}{\lambda^5 \left(e^{hc/\lambda kT} - 1 \right)} \times 10^{-6} \left[\text{Watt}/\text{m}^2 \mu\text{m} \right]$$

$W_{\lambda b}$	Emittanza energetica spettrale del corpo nero alla lunghezza d'onda λ .
c	Velocità della luce = 3×10^8 m/s
H	Costante di Planck = 6.6×10^{-34} Joule sec
k	Costante di Boltzmann = 1.4×10^{-23} Joule/K
T	Temperatura assoluta (K) di un corpo nero
λ	Lunghezza d'onda (μm)

→ Il fattore 10^6 viene utilizzato poiché l'emittanza spettrale sulle curve è espressa in Watt/m²·m. Escludendo tale fattore, la dimensione viene espressa in Watt/m²·m.

La formula di Planck, se rappresentata graficamente per le diverse temperature, genera una famiglia di curve. Seguendo una qualsiasi curva di Planck, l'emittanza spettrale è zero per $\lambda = 0$, successivamente aumenta rapidamente fino a raggiungere il massimo in corrispondenza della lunghezza d'onda λ_{max} e, dopo averla raggiunta, si avvicina nuovamente a zero per lunghezze d'onda elevate. Maggiore è la temperatura, minore è la lunghezza d'onda alla quale si raggiunge il massimo.

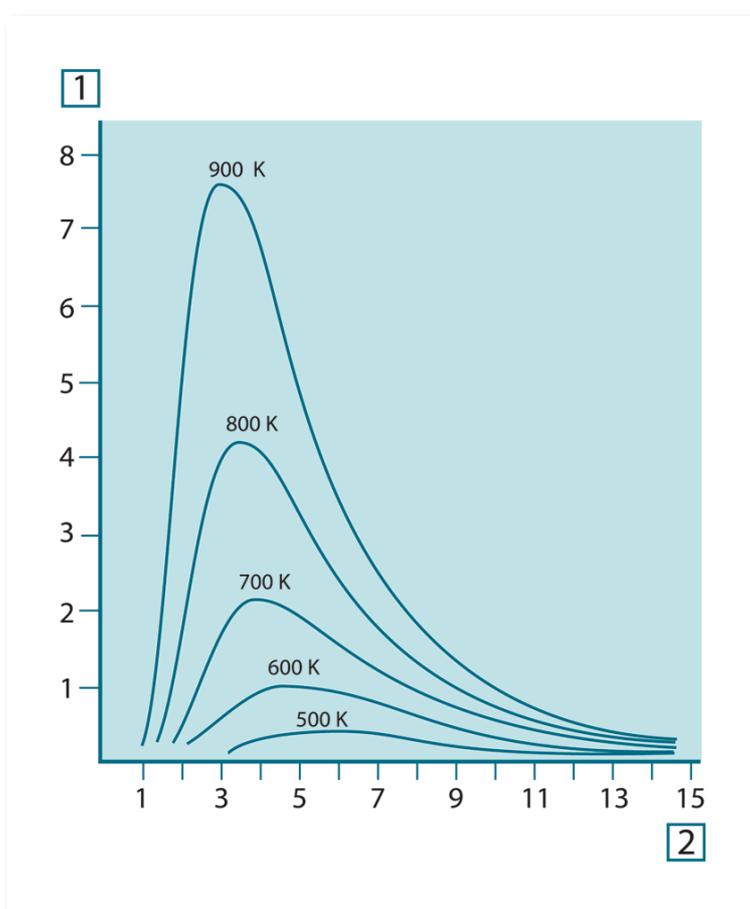


Figura 2: Emittanza energetica spettrale di un corpo nero, secondo la legge di Planck, rappresentata graficamente per diverse temperature assolute. 1: Emittanza energetica spettrale ($W/cm^2 \times 10^3 (\mu m)$); 2: Lunghezza d'onda (μm).

La legge di spostamento di Wien

Differenziandosi dalla formula di Planck relativamente a λ , e trovando il massimo, si ottiene:

$$\lambda_{\max} = \frac{2898}{T} [\mu m]$$

La formula di Wien descritta precedentemente rappresenta matematicamente l'osservazione comune in base alla quale i colori variano dal rosso all'arancione o al giallo con l'aumentare della temperatura di un radiatore termico. La lunghezza d'onda del colore è la stessa lunghezza calcolata per λ_{\max} . Una buona approssimazione del valore di λ_{\max} per una data temperatura del corpo nero si ottiene applicando la regola empirica $3000/T \mu m$. Per questo, una stella molto calda come Sirio (11000 °K), che emette una luce bianca tendente al blu, irradia con il picco di emittanza energetica spettrale che si sviluppa all'interno dello spettro invisibile dell'ultravioletto, alla lunghezza d'onda di $0,27 \mu m$

Il sole (circa 6000 °K) emette luce gialla, raggiungendo il picco a circa $0,5 \mu m$ nella parte centrale dello spettro di luce visibile.

A temperatura ambiente (300 °K), il picco di emittanza spettrale si trova a $9,7 \mu m$, negli infrarossi lontani, mentre alla temperatura dell'azoto liquido (77 °K) il massimo della quantità di emittanza spettrale, peraltro pressoché insignificante, si raggiunge a $38 \mu m$, nelle lunghezze d'onda degli infrarossi estremi.

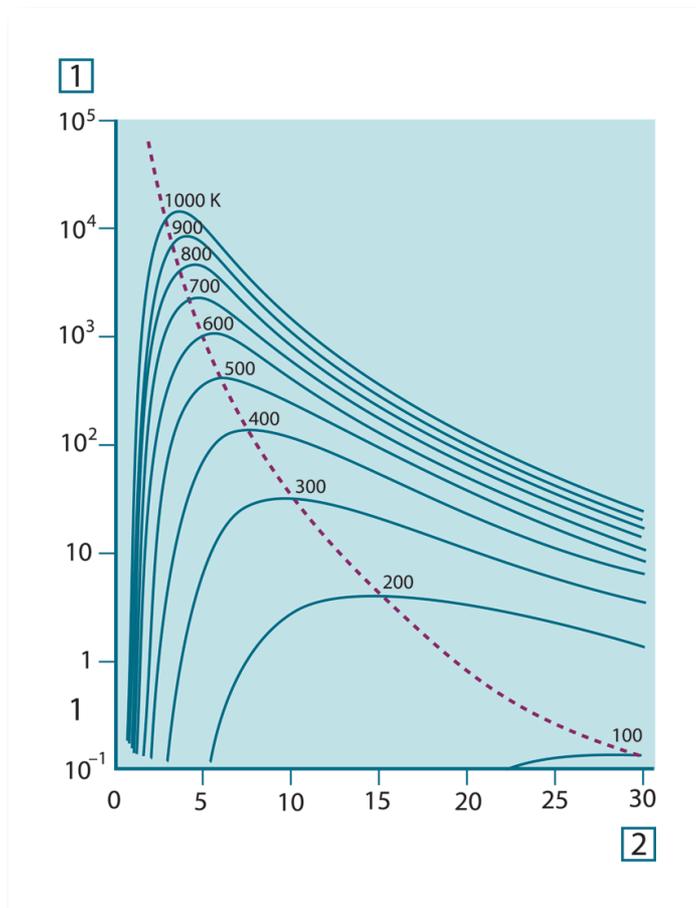


Figura 3: Curve di Planck rappresentate graficamente su scale semilogaritmiche da 100°K a 1000 °K. La linea tratteggiata rappresenta il punto di massima emittanza spettrale per ogni valore di temperatura, come descritto dalla legge di Wien. 1: Emittanza energetica spettrale ($W/cm^2 (\mu m)$); 2: Lunghezza d'onda (μm).

Legge di Stefan-Boltzmann

Integrando la formula di Planck da $\lambda = 0$ a $\lambda = \infty$, è possibile ottenere l'emittanza radiante totale (W_b) di un corpo nero:

$$W_b = \sigma T^4 \text{ [Watt/m}^2\text{]}$$

La formula di Stefan-Boltzmann descritta precedentemente afferma che la quantità totale di energia emessa da un corpo nero è proporzionale alla temperatura assoluta elevata alla quarta potenza. Graficamente, W_b rappresenta l'area al di sotto della curva

di Planck relativa a una data temperatura. È possibile dimostrare che l'emittanza radiante compresa nell'intervallo da $\lambda = 0$ a λ_{\max} è solo il 25 % del totale, il che rappresenta quasi la quantità della radiazione solare presente nello spettro di luce visibile.

Se si utilizza la formula di Stefan-Boltzmann per calcolare l'energia irradiata dal corpo umano, a una temperatura di 300 °K e una superficie esterna di circa 2 m², è possibile ottenere 1 kW. Questa perdita di energia non potrebbe essere sostenuta se non esistesse l'assorbimento di compensazione della radiazione dalle superfici circostanti, a temperature ambiente che non variano troppo drasticamente rispetto alla temperatura corporea, oppure, naturalmente, dall'aggiunta di indumenti.

Emettitori diversi dai corpi neri

Finora sono stati descritti solo i radiatori di corpo nero e la radiazione emessa da un corpo nero. Tuttavia, su una regione di lunghezza d'onda estesa, gli oggetti reali non rispettano quasi mai le leggi sopra illustrate - anche se tali oggetti, in taluni intervalli spettrali, potrebbero comportarsi come un corpo nero. Ad esempio, un dato tipo di vernice bianca può apparire perfettamente bianca nello spettro di luce visibile, ma diventa distintamente grigia a circa 2 μm , mentre oltre i 3 μm è pressoché nera.

Tre sono i processi che possono verificarsi e che impediscono a un oggetto reale di comportarsi come un corpo nero: una frazione della radiazione incidente α può essere assorbita, una frazione ρ può essere riflessa, mentre un'altra τ può essere trasmessa. Poiché tali fattori dipendono più o meno dalla lunghezza d'onda, l'indice λ viene utilizzato per stabilire la dipendenza spettrale delle loro definizioni. Pertanto:

- il coefficiente di assorbimento spettrale α_{λ} = il rapporto tra il flusso energetico spettrale assorbito da un oggetto e quello incidente;
- il coefficiente di assorbimento spettrale ρ_{λ} = il rapporto tra il flusso energetico spettrale assorbito da un oggetto e quello incidente;
- il coefficiente di assorbimento spettrale τ_{λ} = il rapporto tra il flusso energetico spettrale assorbito da un oggetto e quello incidente;

La somma di questi tre fattori va sempre aggiunta al totale a qualsiasi lunghezza d'onda, in modo da ottenere la seguente relazione:

$$\alpha_{\lambda} + \rho_{\lambda} + \tau_{\lambda} = 1$$

Per i materiali opachi $\tau_{\lambda} = 0$, quindi la relazione si semplifica in:

$$\alpha_{\lambda} + \rho_{\lambda} = 1$$

Un altro fattore, denominato emissività, è necessario per descrivere la frazione ε dell'emittanza radiante di un corpo nero prodotta da un oggetto a una data temperatura. Si ottiene quindi la definizione seguente:

l'emissività spettrale ε_{λ} = il rapporto tra il flusso energetico spettrale emesso da un oggetto e quello emesso da un corpo nero alla stessa temperatura e lunghezza d'onda.

Il rapporto tra l'emittanza spettrale di un oggetto e quella di un corpo nero può essere descritto mediante la seguente formula matematica:

$$\varepsilon_{\lambda} = \frac{W_{\lambda o}}{W_{\lambda b}}$$

In generale, esistono tre tipi di sorgenti di radiazione, distinti in base alle modalità in cui l'emittanza spettrale di ciascuno varia con il variare della lunghezza d'onda.

- Un corpo nero, per cui $\varepsilon_{\lambda} = \varepsilon = 1$
- Un corpo grigio, per cui $\varepsilon_{\lambda} = \varepsilon =$ costante inferiore a 1
- Un radiatore selettivo per cui ε varia in base alla lunghezza d'onda

In base alla legge di Kirchhoff, per qualsiasi materiale, l'emissività e l'assorbimento spettrali di un corpo sono uguali per qualsiasi temperatura e lunghezza d'onda specificate. In formula:

$$\varepsilon_{\lambda} = \alpha_{\lambda}$$

Da questo si ottiene, per un materiale opaco (poiché $\alpha_{\lambda} + \rho_{\lambda} = 1$):

$$\varepsilon_{\lambda} + \rho_{\lambda} = 1$$

Per i materiali particolarmente lucidi ε_λ tende a zero in modo che, per un materiale perfettamente riflettente (ad esempio uno specchio) si avrà:

$$\rho_\lambda = 1$$

Per il radiatore di un corpo grigio, la formula di Stefan-Boltzmann diventa:

$$W = \varepsilon\sigma T^4 \text{ [Watt/m}^2\text{]}$$

La formula dimostra che il potere emissivo totale di un corpo grigio è identico a quello di un corpo nero alla stessa temperatura ridotta in proporzione al valore di ε del corpo grigio.

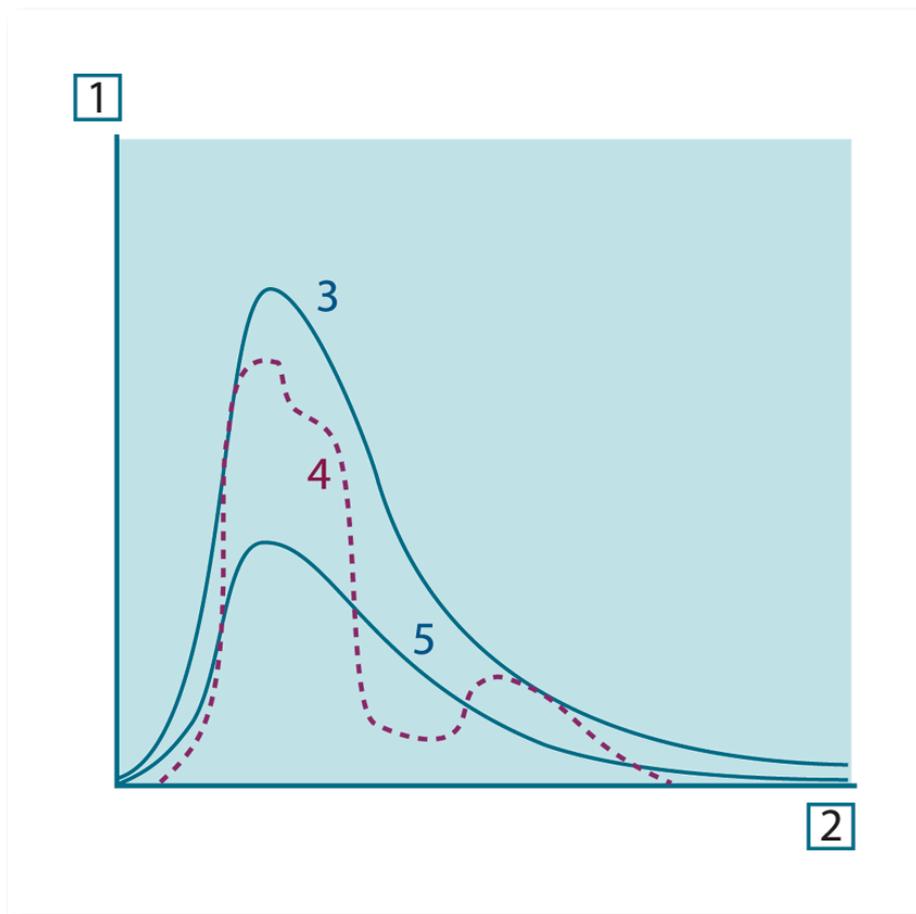


Figura 4: Emittanza energetica spettrale di tre tipi di radiatori. 1: Emittanza energetica spettrale; 2: lunghezza d'onda; 3: corpo nero; 4: radiatore selettivo; 5: corpo grigio.

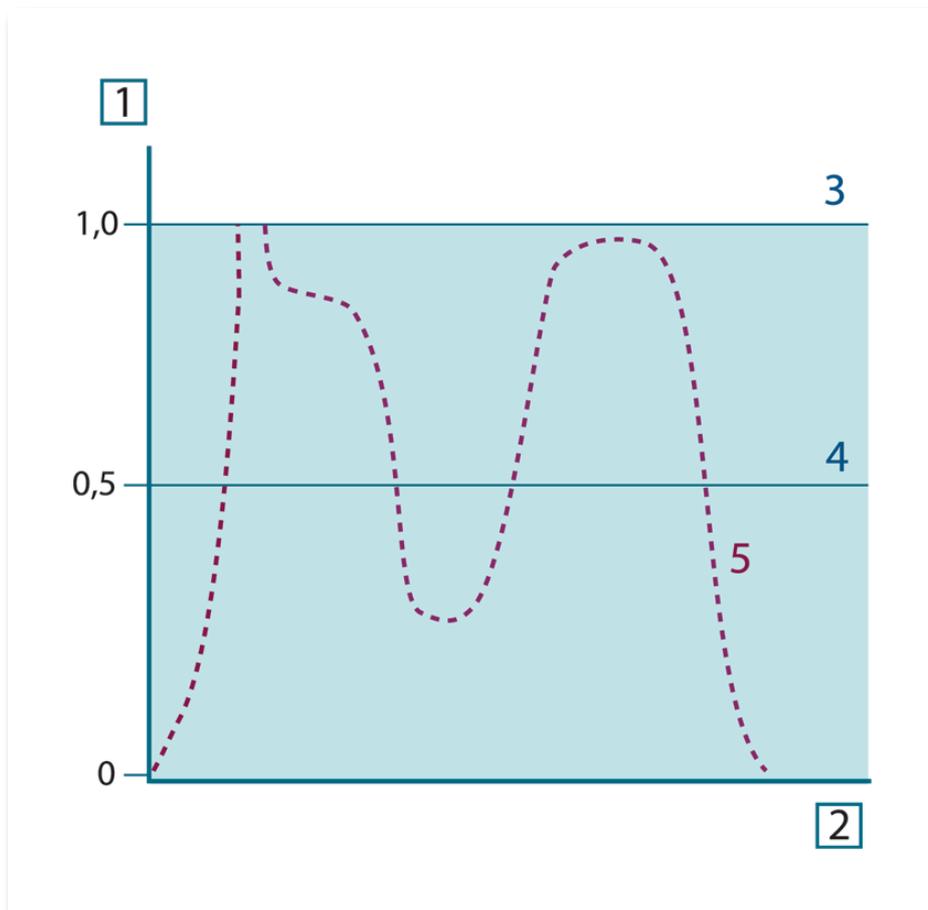


Figura 5: Emissività spettrale di tre tipi di radiatori. 1 : Emissività spettrale; 2: lunghezza d'onda; 3: corpo nero; 4: corpo grigio; 5: radiatore selettivo.

Materiali semitrasparenti agli infrarossi

Si consideri ora un corpo non metallico semitrasparente, ad esempio una spessa lastra di materiale plastico. Quando la lastra viene riscaldata, la radiazione generata al suo interno si propaga attraverso il materiale fino a raggiungere le superfici in cui la radiazione viene parzialmente assorbita. Inoltre, quando la radiazione raggiunge la superficie, una parte di essa viene nuovamente riflessa verso l'interno e parzialmente assorbita, ma una parte di questa radiazione raggiunge l'altra superficie attraverso cui fuoriesce in gran parte, mentre un'altra sua parte viene nuovamente riflessa. Anche se le riflessioni progressive diventano sempre più deboli, è necessario sommarle quando si

calcola l'emittanza totale della lastra. Quando viene eseguita la somma della serie geometrica ottenuta, l'emissività effettiva di una lastra semitrasparente è data da:

$$\varepsilon_{\lambda} = \frac{(1 - \rho_{\lambda})(1 - \tau_{\lambda})}{1 - \rho_{\lambda}\tau_{\lambda}}$$

Quando la lastra diventa opaca questa formula viene così semplificata:

$$\varepsilon_{\lambda} = 1 - \rho_{\lambda}$$

Quest'ultima relazione risulta particolarmente utile, poiché spesso è più semplice misurare direttamente la riflettanza piuttosto che l'emissività.

La formula di misurazione

Come illustrato in precedenza, quando è in azione, la termocamera riceve radiazioni anche da sorgenti diverse dall'oggetto sotto osservazione. Le radiazioni provengono inoltre dall'area circostante l'oggetto, riflessa tramite la superficie dell'oggetto stesso. Queste radiazioni vengono attenuate, in qualche misura, dall'atmosfera nel percorso di misurazione. A queste deve aggiungersi un terzo tipo proveniente dall'atmosfera stessa. La descrizione della situazione di misurazione, come illustrata nella figura seguente, è sufficientemente fedele alle condizioni reali. È possibile che siano stati trascurati alcuni elementi, come la dispersione di luce solare nell'atmosfera o le radiazioni vaganti provenienti da sorgenti di radiazione intensa, esterne al campo visivo. Tali interferenze sono difficili da quantificare e comunque, nella maggior parte dei casi, sono talmente piccole da poter essere trascurate. Qualora non fossero così trascurabili, la configurazione della misurazione sarebbe probabilmente tale da causare rischi di interferenze, quanto meno all'occhio di un operatore esperto. È quindi responsabilità dell'operatore modificare la situazione di misurazione per evitare interferenze, modificando ad esempio la direzione di visualizzazione, schermando le sorgenti di radiazione intensa e così via.

In base a quanto chiarito, è possibile utilizzare la figura sotto riportata per ottenere una formula per il calcolo della temperatura di un oggetto in base al segnale di uscita della termocamera calibrata.

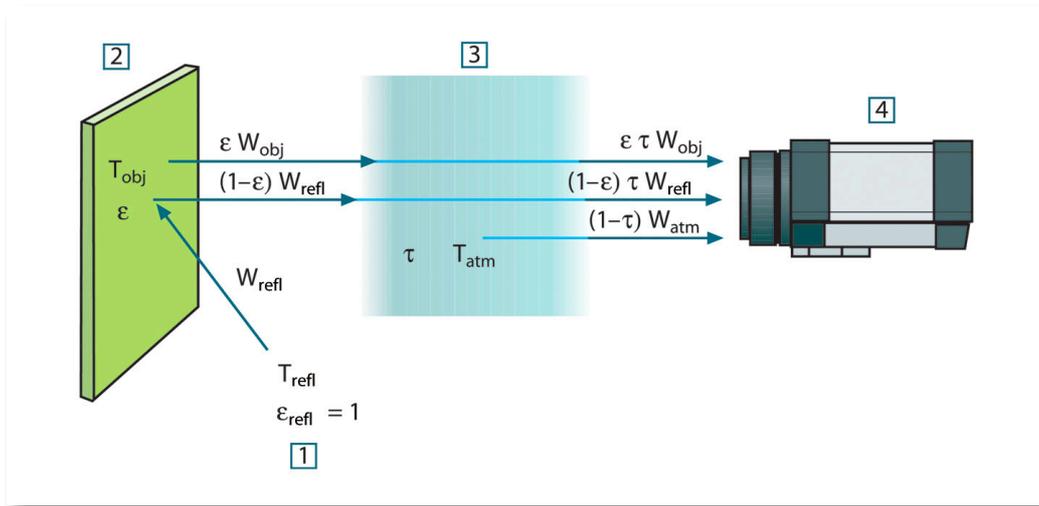


Figura 6: Una rappresentazione schematica della situazione di misurazione termografica generale. 1: Area circostante; 2: Oggetto; 3: Atmosfera; 4: Termocamera

Si supponga che l'energia irradiata ricevuta W dalla sorgente di un corpo nero di temperatura T_{source} su distanze corte generi un segnale di uscita della termocamera U_{source} , proporzionale all'energia in entrata (termocamera ad energia lineare). È quindi possibile scrivere (Equazione 1):

$$U_{source} = CW(T_{source})$$

o con notazione semplificata:

$$U_{source} = CW_{source}$$

dove C è una costante.

Se la sorgente è un corpo grigio con emittanza ϵ , la radiazione ricevuta sarà di conseguenza ϵW_{source} .

È ora possibile scrivere i tre termini dell'energia irradiata ricevuta:

1- Emissione dall'oggetto = $\varepsilon\tau W_{obj}$, dove ε è l'emittanza dell'oggetto e τ è la trasmittanza dell'atmosfera. La temperatura dell'oggetto è T_{obj} .

2- Emissione riflessa dalle sorgenti ambiente = $(1 - \varepsilon)\tau W_{refl}$, dove $(1 - \varepsilon)$ è la riflettanza dell'oggetto. Le sorgenti ambiente hanno la temperatura T_{refl} .

Questo esempio suppone che la temperatura T_{refl} sia la stessa per tutte le superficie emittenti interne alla semisfera, viste da un punto sulla superficie dell'oggetto. Si tratta ovviamente di una semplificazione della situazione reale. Tuttavia, la semplificazione è necessaria per ottenere una formula operativa e T_{refl} , almeno teoricamente, è possibile assegnarle un valore che rappresenti una temperatura valida per un'area complessa.

Si noti inoltre che, per ipotesi, l'emittanza dell'area circostante l'oggetto è = 1, rispettando in tal modo la legge di Kirchhoff, secondo la quale tutte le radiazioni che urtano le superfici dell'area circostante un'oggetto verranno alla fine assorbite dalle superfici stesse. Quindi, l'emittanza è = 1. (Si noti tuttavia che l'ultimo punto suppone che si prenda in considerazione tutta la sfera intorno all'oggetto).

3- Emissione dall'atmosfera = $(1 - \tau)\tau W_{atm}$, dove $(1 - \tau)$ è l'emittanza dell'atmosfera. La temperatura dell'atmosfera è T_{atm} .

È ora possibile scrivere l'energia irradiata totale ricevuta (Equazione 2):

$$W_{tot} = \varepsilon\tau W_{obj} + (1 - \varepsilon)\tau W_{refl} + (1 - \tau)W_{atm}$$

Moltiplicare ciascun termine per la costante C dell'Equazione 1 e sostituire i prodotti CW con il valore U corrispondente, in base alla medesima equazione, quindi ricavare (Equazione 3):

$$U_{tot} = \varepsilon\tau U_{obj} + (1 - \varepsilon)\tau U_{refl} + (1 - \tau)U_{atm}$$

Risolvere l'Equazione 3 per U_{obj} (Equazione 4):

$$U_{obj} = \frac{1}{\varepsilon\tau} U_{tot} - \frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon} U_{refl} - \frac{1 - \tau}{\varepsilon\tau} U_{atm}$$

Questa è la formula di misurazione generale utilizzata da tutte le apparecchiature termografiche FLIR Systems. I valori di tensione della formula sono:

U_{obj}	Tensione di uscita calcolata della termocamera per un corpo nero di temperatura T_{obj} , vale a dire una tensione direttamente convertibile nella temperatura reale dell'oggetto desiderato.
U_{tot}	Tensione di uscita misurata della termocamera per il caso specifico.
U_{refl}	Tensione di uscita teorica della termocamera per un corpo nero di temperatura T_{refl} , in base alla calibrazione.
U_{atm}	Tensione di uscita teorica della termocamera per un corpo nero di temperatura T_{atm} in base alla calibrazione

L'operatore deve fornire i valori di una serie di parametri per il calcolo:

- l'emittanza dell'oggetto ϵ ,
- l'umidità relativa,
- la distanza dell'oggetto (D_{obj})
- la temperatura (effettiva) dell'area circostante l'oggetto o la temperatura ambientale riflessa T_{refl}
- la temperatura dell'atmosfera T_{atm}

A volte, tale compito può risultare oneroso per l'operatore, poiché in genere non è facile ricavare i valori precisi dell'emittanza e della trasmittanza atmosferica per il caso specifico. In genere, le due temperature non costituiscono un problema, ammesso che l'area circostante l'oggetto non contenga sorgenti di radiazione intensa e di grandi dimensioni.

A questo punto, è naturale domandarsi quanto sia importante conoscere i valori corretti di tali parametri. Potrebbe quindi essere interessante avere subito un'idea del problema, osservando diversi casi di misurazione e confrontando le grandezze relative dei tre termini di radiazione. Ciò fornirà indicazioni utili per determinare quando è importante utilizzare i valori corretti di questi parametri.

Le figure seguenti illustrano le grandezze relative dei tre tipi di radiazione per le temperature di tre diversi oggetti, due emittanze e due intervalli spettrali: SW e LW. Gli altri parametri hanno i seguenti valori fissi:

- $\tau = 0.88$
- $T_{refl} = +20\text{ }^{\circ}\text{C} (+68\text{ }^{\circ}\text{F})$
- $T_{atm} = +20\text{ }^{\circ}\text{C} (+68\text{ }^{\circ}\text{F})$

Ovviamente, la misurazione di temperature basse è più delicata della misurazione di quelle alte, in quanto le sorgenti di radiazione di disturbo sono relativamente più forti nel primo caso. Se anche il valore dell'emittanza dell'oggetto fosse basso, la situazione sarebbe ancora più difficile.

Infine, è necessario chiarire l'importanza dell'uso della curva di taratura sul punto di taratura più alto, chiamato anche estrapolazione. Si supponga che in una determinata circostanza U_{tot} sia = 4,5 volt. Il punto di taratura più elevato per la termocamera era nell'ordine di 4,1 volt, un valore sconosciuto all'operatore. Quindi, anche se l'oggetto era un corpo nero, come $U_{obj} = U_{tot}$, in realtà si esegue un'estrapolazione della curva di taratura, convertendo i 4,5 volt nella temperatura.

Si supponga ora che l'oggetto non sia nero, abbia un'emittanza pari a 0,75 e una trasmittanza di 0,92. Si supponga inoltre che la somma dei due secondi termini dell'Equazione 4 dia 0,5 volt. Calcolando U_{obj} tramite l'Equazione 4 si ottiene come risultato $U_{obj} = 4,5 / 0,75 / 0,92 - 0,5 = 6,0$. Questa è un'estrapolazione piuttosto estrema, in particolare se si considera che l'amplificatore video può limitare il segnale di uscita a 5 volt! Si noti tuttavia che l'applicazione della curva di taratura è una procedura teorica che non prevede alcun limite elettronico o di altra natura. Se non fossero stati imposti limiti di segnale nella termocamera e se questa fosse stata calibrata su un valore superiore a 5 volt, la curva risultante sarebbe stata molto simile alla curva effettiva estrapolata oltre i 4,1 volt, a condizione che l'algoritmo di calibrazione fosse basato sulla fisica delle radiazioni, come l'algoritmo FLIR Systems. Naturalmente, deve esistere un limite per questo tipo di estrapolazioni.

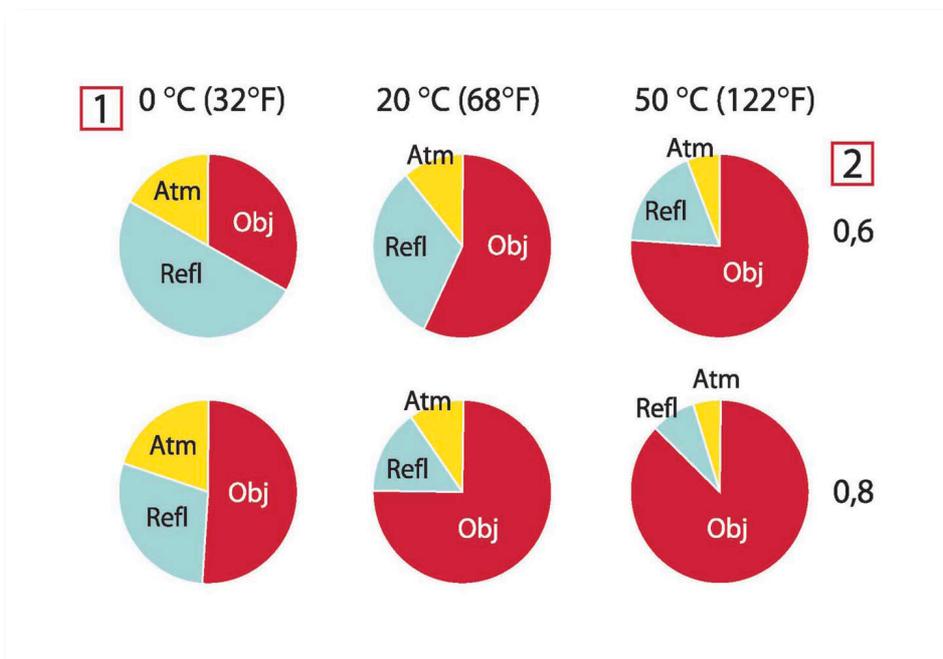


Figura 7: Grandezze relative delle sorgenti di radiazione in varie condizioni di misurazione (termocamera SW). 1: Temperatura dell'oggetto; 2: Emissanza; Obj: Radiazione dell'oggetto; Refl: Radiazione riflessa; Atm: radiazione dell'atmosfera. Parametri fissi: $t = 0,88$; $T_{ren} = 20$ °C (+68 °F); $T_{atm} = 20$ °C (+68 °F).

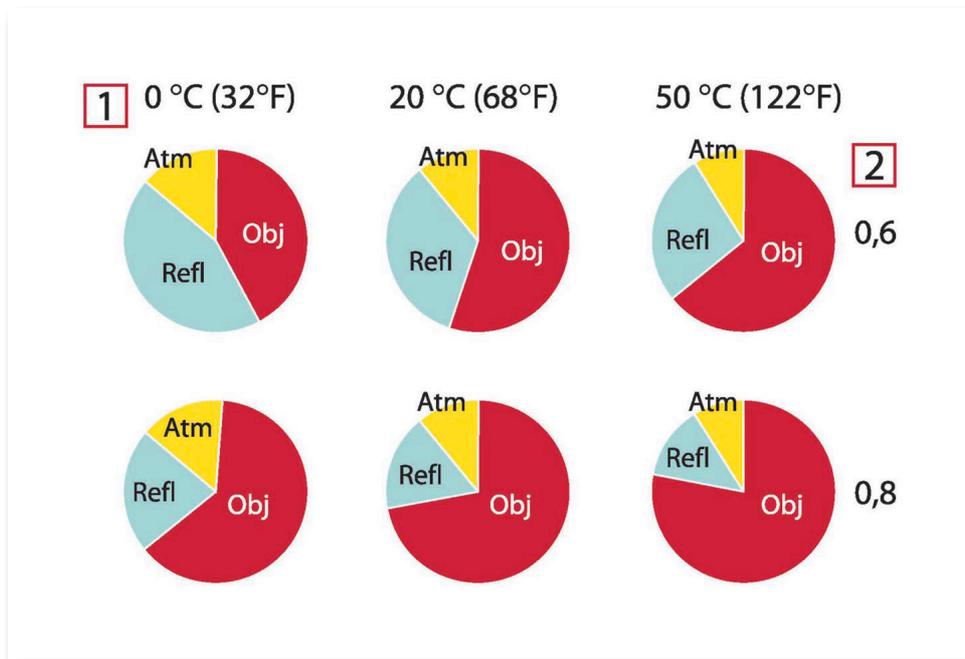


Figura 8: Grandezze relative delle sorgenti di radiazione in varie condizioni di misurazione (termocamera LW). 1: Temperatura dell'oggetto; 2: Emissanza; Obj: Radiazione dell'oggetto; Refl: Radiazione riflessa; Atm: radiazione dell'atmosfera. Parametri fissi: $T = 0,88$; $T_{refl} = 20$ °C (+68 °F); $T_{atm} = 20$ °C (+68 °F)

Tecniche di misurazione termografica

Introduzione

La termocamera consente di misurare e rappresentare la radiazione infrarossa emessa da un oggetto. La radiazione è una funzione della temperatura della superficie di un oggetto e la termocamera è in grado di calcolare e visualizzare tale temperatura.

Tuttavia, la radiazione rilevata dalla termocamera non dipende soltanto dalla temperatura dell'oggetto, ma è anche una funzione dell'emissività. La radiazione ha origine anche nelle zone circostanti l'oggetto e viene riflessa sull'oggetto stesso. La radiazione emessa dall'oggetto e quella riflessa variano anche in base all'assorbimento atmosferico.

Per rilevare la temperatura con precisione, è opportuno ovviare agli effetti provocati dalla presenza di diverse sorgenti di radiazione. Questa procedura viene eseguita automaticamente in tempo reale dalla termocamera. Tuttavia, è necessario che la termocamera disponga dei seguenti parametri che si riferiscono agli oggetti.

- L'emissività dell'oggetto
- La temperatura riflessa
- La distanza tra l'oggetto e la termocamera
- L'umidità relativa

Emissività

Poiché l'emissività è il parametro più importante dell'oggetto, è necessario che tale parametro venga impostato correttamente. In breve, l'emissività è una misura che si riferisce alla quantità di radiazione termica emessa da un oggetto, comparata a quella emessa dal perfetto corpo nero.

Generalmente, i materiali di cui sono composti gli oggetti e i trattamenti effettuati sulle superfici presentano emissività comprese tra 0,1 e 0,95. Una superficie particolarmente lucida, ad esempio uno specchio, presenta un valore inferiore a 0,1, mentre una superficie ossidata o verniciata ha un livello di emissività superiore. Una vernice a base di olio ha un'emissività superiore a 0,9 nello spettro infrarosso, indipendentemente dal

suo colore nello spettro visivo. La pelle umana è caratterizzata da un livello di emissività che si aggira attorno a 1.

I metalli non ossidati rappresentano un caso estremo di opacità pressoché perfetta e di elevata riflessività spettrale, la quale non subisce variazioni rilevanti al variare della lunghezza d'onda. Di conseguenza, l'emissività dei metalli è bassa: aumenta infatti solo con la temperatura. Per i non metalli, l'emissività tende a essere elevata e a diminuire con la temperatura.

Come stabilire l'emissività di un oggetto

Utilizzo di una termocoppia

Selezionare un punto di riferimento e procedere al rilevamento della sua temperatura mediante l'utilizzo di una termocoppia. Alterare il valore dell'emissività finché la temperatura rilevata dalla termocamera non corrisponde al valore riportato dalla termocoppia. Quello che si ottiene è il valore di emissività dell'oggetto di riferimento. Tuttavia, perché questo metodo funzioni, è necessario che la temperatura ambiente non sia troppo simile a quella dell'oggetto di riferimento.

Utilizzo dell'emissività di riferimento

Collocare sull'oggetto un nastro o una vernice di cui si conosce l'emissività. Misurare la temperatura del nastro o della vernice utilizzando la termocamera e impostando l'emissività sul valore corretto. Annotare la temperatura. Alterare l'emissività finché l'area adiacente al nastro o alla vernice di cui non si conosce l'emissività presenti la stessa temperatura. A questo punto, è possibile leggere il valore di emissività. Perché questo metodo funzioni, è necessario che la temperatura ambiente non sia troppo simile a quella dell'oggetto di riferimento.

Temperatura ambiente riflessa

Questo parametro viene utilizzato per bilanciare la radiazione riflessa nell'oggetto e quella emessa dall'atmosfera tra la termocamera e l'oggetto.

Se l'emissività è bassa, la distanza molto elevata e la temperatura dell'oggetto relativamente simile a quella dell'ambiente, risulta particolarmente importante impostare e bilanciare correttamente la temperatura ambiente.

Distanza

Per distanza si intende la distanza esistente tra l'oggetto e il fronte dell'ottica della termocamera.

Questo parametro viene utilizzato per bilanciare l'assorbimento della radiazione tra l'oggetto e la termocamera dovuto alla trasmittanza che diminuisce all'aumentare della distanza.

Umidità relativa

La termocamera consente anche di ovviare al fatto che la trasmittanza dipende in una certa misura dall'umidità relativa dell'atmosfera. Pertanto, è necessario impostare l'umidità relativa sul valore corretto. Per brevi distanze e un'umidità normale, è in genere possibile utilizzare il valore predefinito dell'umidità relativa pari al 50 %.

Applicazioni della tecnologia ad infrarosso

Le limitazioni tecnologiche delle apparecchiature disponibili in passato non hanno sempre permesso un'ampia applicazione in campo pratico della termografia ad infrarosso e molte volte gli studi di questa tecnica d'indagine sono stati trascurati per gli scarsi risultati ottenuti.

Eventuali dubbi sull'attendibilità delle informazioni ricavate con la termocamera possono insorgere sulla base delle interferenze che potrebbero essere create per esempio da fattori ambientali, dalle differenze fisiologiche tra i soggetti esaminati o da altre variabili, tra l'altro non sempre facilmente individuabili ed eliminabili. Tali osservazioni farebbero considerare la termografia un sistema d'indagine in grado di fornire dati poco ripetibili nelle diverse situazioni e quindi la renderebbero scarsamente applicabile nella pratica clinica e nella ricerca, perché incapace di fornire una misura oggettiva, come invece questa dovrebbe essere per definizione.

Tuttavia oggi si dispone dei progressi tecnologici raggiunti in questo campo soprattutto nell'ambito della ricerca a scopo militare e sono stati messi a punto strumenti molto più sensibili e affidabili in grado di aumentare le potenzialità di utilizzo pratico e negli studi scientifici con conseguente diffusione della termografia nei vari settori.

Le telecamere ad infrarossi attualmente sul mercato sono in grado di produrre immagini ad elevatissima risoluzione, in tempo reale e possono individuare anche piccole differenze di temperatura in un ampio range. Ciò consente di scattare immagini termografiche nitide anche di oggetti molto piccoli, molto grandi o in movimento. Si possono poi riprendere filmati e salvare fotogrammi, per eseguire analisi dettagliate e complete di eventi dinamici.

Passi in avanti sono stati fatti anche nei software di supporto; infatti, confrontare visivamente immagini termiche può essere difficile perché a volte si tratta di cambiamenti di temperatura minimi, che è impossibile individuare a occhio nudo; sono state così rese disponibili funzioni che permettono di analizzare le immagini termografiche mostrando le differenze e consentendo di elaborare modelli statistici più accurati.

Tra i vantaggi dell'utilizzo della termografia c'è la mancanza di contatto che permette di mantenere lontano l'operatore da eventuali rischi e la rende una tecnica non invasiva evitando interferenze sull'oggetto, come possibili effetti meccanici sulla superficie. Il

suo impiego riduce inoltre la necessità di manipolazione, rendendola utile per ricavare informazioni da oggetti difficili da raggiungere, non avvicinabili o in movimento. La rapidità di cattura dell'immagine nell'ordine dei millisecondi facilita poi la misurazione in situazioni dinamiche.

Le possibili applicazioni delle immagini ad infrarossi sono numerose, pertanto si farà una breve panoramica del suo utilizzo in ambito industriale ed ingegneristico, non strettamente pertinenti a questo studio, mentre nei successivi capitoli ci si soffermerà maggiormente sugli impieghi nel campo della medicina umana.

In ambito industriale ed ingegneristico

La termografia analizza l'informazione termica per utilizzarla come parametro in grado di controllare la funzionalità normale di un sistema, secondo l'idea per cui una variazione della temperatura da un certo range può indicare una condizione di anomalia.

Partendo dalla considerazione che quasi tutte le apparecchiature, prima di danneggiarsi, si surriscaldano, le termocamere rappresentano un valido strumento di diagnostica in ambito industriale per diverse applicazioni, allo scopo di implementare sistemi di miglioramento del processo produttivo, della gestione del consumo energetico, della qualità dei prodotti e della sicurezza sul luogo di lavoro, operando secondo il principio della prevenzione.

La termografia è utilizzata in ingegneria per indagare difetti di isolamento, infiltrazioni d'aria e d'acqua, per trovare un problema nascosto nelle connessioni elettriche, una pista surriscaldata su una scheda elettronica e per rilevare malfunzionamenti di motori, valvole, cuscinetti e cinghie. Nell'edilizia mette in evidenza la dispersione energetica, il distacco di piastrelle o intonaco e le strutture nascoste. Può essere poi d'aiuto nella sorveglianza, nella lotta contro gli incendi e nella localizzazione delle fughe di gas. Nel settore della ricerca e dello sviluppo si impiega per testare i nuovi prodotti, negli studi di stress meccanico e nell'analisi non distruttiva di materiale composito.

In medicina

Il quadro di applicazione della termografia in medicina umana e quindi anche in veterinaria si basa sulla forte correlazione che esiste fra le condizioni funzionali del corpo animale e la sua temperatura interna.

In situazioni normali esso è in grado di mantenere tale temperatura costante qualunque siano le condizioni esterne. Il calore prodotto si disperde all'esterno principalmente attraverso la pelle che, come qualsiasi altro corpo con una temperatura superiore allo zero assoluto, emana energia termica nell'ambiente circostante con un'intensità pari al punto più alto nella banda dell'infrarosso dello spettro elettromagnetico.

La termografia ad infrarossi, creando immagini e realizzando analisi dalla misurazione della temperatura corporea superficiale, è un buono strumento diagnostico e viene già applicata come metodo non invasivo, affidabile e rapido, per individuare i punti caldi del corpo umano o di un animale e per fornire in tempo reale, una mappa visiva dei gradienti della temperatura esistenti sulla sua superficie corporea.

Le informazioni termiche rilevate dallo strumento riflettono il metabolismo tissutale e la circolazione ematica che gioca il ruolo principale nella regolazione della temperatura corporea ed è regolata dai sistemi nervoso ed endocrino. Si può evidenziare in questo modo un'alterazione del flusso sanguigno sottostante, nel senso di un aumento o di una diminuzione, conseguente ad uno stimolo patologico o ad un'alterazione dello stato fisiologico del paziente. Regioni localizzate di ipertermia sono associate ad un aumento del flusso sanguigno arterioso verso un dato organo o regione anatomica oppure a stasi venosa, mentre aree di ipotermia indicano diminuzione della perfusione ematica in un certo distretto o la caduta del tono del tono vasomotorio. Così, ad esempio, i processi di degenerazione, le fibrosi, l'involutione di organi parenchimatosi e i problemi circolatori, causano un abbassamento della temperatura locale delle zone interessate per il ridotto flusso sanguigno che li caratterizzano, mentre un'eccessiva circolazione sanguigna verso una zona traumatizzata determina un aumento di temperatura. Perciò, essendo il calore uno dei segnali cardinali dell'approssimarsi di un'inflammatione per l'iperemia che essa comporta, si possono usare gli infrarossi per individuare e diagnosticare con largo anticipo tali problemi.

La termografia usa quindi la temperatura cutanea come indicatore di un processo patologico sottostante, ma, pur offrendo un aiuto per l'indagine a distanza delle

condizioni interne del corpo, evitando al paziente procedure dolorose, rischiose e costose, non è in grado di rilevare specifiche patologie. La tecnologia ad infrarosso è quindi molto efficace nella localizzazione delle zone interessate dall'alterazione e nel valutare l'estensione del processo patologico, ma fornisce solo indicazioni generiche sulla loro natura.

Applicazioni della termografia in medicina umana

Tra i vari soggetti d'interesse dell'analisi termografica, riveste particolare importanza il corpo umano.

Il rilancio della tecnica termografica in medicina si è avuto recentemente grazie alla creazione delle termocamere di nuova generazione a microsensori fotovoltaici (FPA). Questi dispositivi, creati e sviluppati inizialmente per scopi militari, si sono subito diffusi in ogni ambito ed hanno portato la termografia ad essere uno strumento d'indagine affidabile e preciso.

Il trasferimento di tali tecnologie all'imaging biomedico ha permesso di riconsiderare il ruolo diagnostico e le applicazioni mediche della termografia, rendendo possibile oggi studiare da un punto di vista funzionale le proprietà termiche del corpo umano.

Si possono sviluppare modelli del processo di scambio del calore all'interno dei tessuti per lo studio termico del corpo umano e ricavare parametri quantitativi da tali modelli, utili per la diagnostica o per la comprensione dei processi di controllo termico in condizioni diverse, ad esempio durante l'attività fisica o per effetto di somministrazione di farmaci.

E' stato sviluppato un modello matematico per l'analisi numerica delle condizioni termiche all'interno del corpo umano e l'algoritmo è basato sulla risoluzione dell'equazione del trasferimento di calore corporeo e sul modello matematico di termoregolazione. Usando questo programma per il computer sono calcolati simultaneamente le temperature interne, i flussi di calore e le temperature del sangue di tutti i segmenti corporei, visti come modelli cilindrici a multistrati concentrici. Si è applicato il modello alla diagnosi clinica usando la termografia ad infrarosso e i risultati calcolati corrispondono abbastanza bene ai dati sperimentali (Yokoyama *et al.*, 1997; Kakuta *et al.*, 1999).

La localizzazione di un "punto caldo" può essere attribuita all'aumentato flusso sanguigno e alla produzione di calore metabolico condotto verso la superficie per un

processo patologico nascosto in profondità. Si tratta di disfunzioni del microcircolo, del macrocircolo nei distretti più periferici, del sistema nervoso periferico, alterazioni locali del metabolismo tissutale, traumi e flogosi, già studiati in passato con la termografia medica classica, che possono essere studiati ora attraverso parametri oggettivi, ricavati dalla modellizzazione dell'evoluzione temporale e dalla distribuzione spaziale della temperatura.

In medicina umana la termografia è utilizzata come strumento diagnostico collaterale per la diagnosi precoce e non invasiva del tumore al seno e della pelle per la perfusione anormale dei loro tessuti, di patologie che interessano la ghiandola tiroidea, l'apparato respiratorio e nel diabete; è usata in cardiologia, angiologia, nefrologia, gastroenterologia e per i disordini della colonna vertebrale e delle articolazioni.

Oncologia

Molti autori hanno valutato le capacità della termografia ad infrarosso nel diagnosticare il cancro.

Gottlob *et al.* (1975) studiarono le basi dell'identificazione di una massa tumorale usando la tecnologia ad infrarosso.

Tapernoux e Hessler (1977) dimostrarono una correlazione tra ipertermia e malignità dei melanomi in circa i due terzi dei casi esaminati.

Karmadin e Kuzmichev (1983) riferiscono circa l'uso della termografia nella diagnosi differenziale tra gozzo e tumore a livello della tiroide e riportano di aver diagnosticato correttamente il carcinoma tiroideo in 59 pazienti su 66 che presentavano la patologia.

Gardani *et al.* (1983) studiarono statisticamente l'utilizzo termografico eseguito su tumori ossei e dei tessuti molli che fu fatto per un decennio e risultò che la tecnica d'indagine aveva una buona sensibilità nel diagnosticarli (81,5%).

In uno studio Misiolek *et al.* (1999) usarono la termografia per l'investigazione dei tumori della testa e della regione del collo. Furono presentati vari casi che comprendevano carcinomi alla base della lingua e laringei che mostravano vari quadri di emissione termica e furono messe in evidenza le possibilità della tecnica nella valutazione dell'estensione e del tipo di tumore, dimostrando la validità della termografia nella diagnosi di queste patologie.

Per decenni l'autopalpazione del seno è stata una tecnica molto usata per rilevare i noduli tumorali. Tuttavia, quando un carcinoma mammario è percepibile manualmente, spesso è già troppo tardi e l'intervento non permette di ottenere guarigione o un allungamento dell'aspettativa di vita della paziente accettabile. Più importante per la diagnosi è stata quindi la mammografia, poiché ha permesso che la rilevazione dei tumori mammari avvenisse più precocemente, riducendo il rischio di morte per chi contrae questa patologia. Nonostante la mammografia sia vista come il miglior strumento diagnostico che ben si applica ad un monitoraggio preventivo periodico, essa presenta delle limitazioni. Infatti possono essere difficili da identificare quei tumori che appaiono con una radiopacità simile a quella della ghiandola mammaria, le lesioni nelle donne con un tessuto mammario molto denso oppure un tumore che non forma un'ombra indicativa perchè non ancora abbastanza grande. Inoltre alcune neoplasie possono essere talmente aggressive e crescere così rapidamente da non essere rilevate in tempo dallo screening di routine.

Nella ricerca degli strumenti per migliorare la diagnosi e renderla più accurata e tempestiva, in modo da rilevare il tumore quando è più facilmente curabile trova così posto la termografia (Wright e McGechan, 2003).

L'immagine termica del seno femminile si è rilevata spesso importante e il più grande interesse dell'applicazione clinica della termografia è proprio nella diagnosi del carcinoma mammario (Nyirjesy, 1982).

Il principio si basa sul fatto che la crescita dei tumori e di altri tessuti anormali all'interno della ghiandola mammaria, come in altri organi, può essere rilevata da una perfusione circolatoria anomala dovuta alla neoangiogenesi o anche ad una proliferazione cellulare anormale che possono essere messe in evidenza con la termografia per l'aumento localizzato della temperatura che comportano.

Ricerche ed opinioni recenti sulla relazione tra termogrammi anormali e la presenza di neoplasie sono controverse e la termografia da molti non è ritenuta un esame specifico per rilevare il carcinoma o un'altra patologia del seno. Tuttavia, sebbene la termografia generalmente non abbia una sensibilità sufficiente per essere utilizzata da sola nella diagnosi del cancro al seno, l'associazione di un'anormalità termica con alcuni tumori mammari non può essere ignorata.

La termografia potrebbe essere un indicatore sensibile di un'anomalia termica e vascolare per essere d'aiuto nella ricerca e per focalizzare l'attenzione sulla paziente, in quanto potenzialmente in grado di segnalare la necessità di sottoporre un soggetto con un termogramma anormale ad una valutazione clinica completa.

Le perplessità che sembrano esserci sulla validità della tecnica sono riconducibili al fatto che alcuni cambiamenti della temperatura superficiale possono essere dovuti alle condizioni ambientali o a quando la paziente si leva gli indumenti al momento dell'esame (Borten *et al.*, 1984) più che ai fattori legati alla sua condizione clinica.

Un'altra complicazione insorge se si vogliono identificare le caratteristiche di un modello termico normale (Osman e Afify, 1984) o si vuole stabilire se un determinato quadro termografico è fisiologico o patologico. In questo caso devono essere considerate anche le variazioni termiche associate a cambiamenti fisiologici come la gravidanza (Burd *et al.*, 1977) oppure la simmetria e le dimensioni del seno, l'età della paziente, gli allattamenti precedenti o quelli in atto, il ciclo mestruale, eventuali terapie steroidee in corso, la menopausa o altre malattie mammarie benigne.

Per questi motivi la termografia non è stata sempre accettata come strumento per l'identificazione dei tumori al seno al pari della mammografia, considerando anche che il termogramma individua un'anomalia superficiale, mentre la mammografia fornisce la natura anatomica dell'anormalità.

Il risultato più rilevante e sconcertante osservato nelle prime esperienze di applicazione di questa tecnica era il grande numero di termogrammi dubbi o anormali nelle donne con mammelle normali, mentre nelle pazienti con diagnosi certa di cancro il termogramma era anormale in meno della metà, suggerendo che la termografia non fosse uno strumento sufficientemente preciso per l'utilizzo di routine nella diagnosi di tumore mammario (Sterns e Zee, 1991).

Si è visto invece che l'applicazione della termografia in associazione ad altri mezzi diagnostici ha permesso che l'identificazione del cancro al seno avvenisse più precocemente, con un evidente vantaggio per la cura di questa patologia.

Inoltre l'associazione tra mammografia ed esame termografico aumenta l'accuratezza e la sensibilità della diagnosi (Gautherie *et al.*, 1982; Keyserlingk *et al.*, 1998) e la termografia eseguita da sola in un secondo momento ha il vantaggio di poter essere ripetuta molte volte a breve distanza per un monitoraggio continuo della paziente per

valutare la crescita delle lesioni, senza il rischio che deriva dall'esposizione ad eccessive radiazioni (Golab-Lipinska *et al.*, 2004).

I medesimi autori sostengono anche che il difetto dell'analisi e gli errori che possono derivarne non sono dovuti alla tecnica in sé, ma ad un'interpretazione sbagliata dei termogrammi che deve essere eseguita in modo meticoloso, da persona esperta e supportata da un'avanzata tecnologia e dalla creazione di un modello matematico adeguato del seno femminile.

Tale modello numerico avrebbe lo scopo di ridurre i falsi negativi e i falsi positivi, massimizzando il segnale tumorale e minimizzando gli effetti di altri fattori, come perfusione sanguigna, attività metabolica ed ambiente. Per rendere i risultati ottenuti con la termografia più attendibili deve inoltre essere considerata la temperatura superficiale in relazione al profilo di trasferimento del calore attraverso i vari tessuti per diagnosticare tumori di varia grandezza e profondità (Eddie e Sudharsan, 2004) e predirne dimensioni e localizzazione. La possibilità di rilevare la presenza di masse tumorali è subordinata quindi alla capacità di elaborare modelli realistici della diffusione termica in vivo.

Un'analisi retrospettiva dei risultati clinici di alcune donne che erano state sottoposte ad analisi termografica della mammella dimostrò che un termogramma anormale era associato ad un aumento del rischio di contrarre un carcinoma se sane e ad una prognosi peggiore in caso di malattia (Gauthaire e Gros, 1980; Isard *et al.*, 1988; Head *et al.*, 1993; Golab-Lipinska *et al.*, 2004).

Il sistema di valutazione termografico mostra chiaramente un tempo di sopravvivenza breve per i pazienti che presentano fattori termici infausti, il 30% sopravvive 5 anni e solo il 20% 10 anni paragonati con la sopravvivenza totale che è 80% a 5 anni e 70% a 10 anni (Isard *et al.*, 1988).

Inoltre gli aspetti termografici sono stati paragonati con i risultati della classificazione TNM (tumor-node-metastasis), trovando che i pazienti i cui tumori erano termograficamente anormali avevano lesioni primarie molto più grandi e una proporzione più alta di linfonodi ascellari metastatici (Sterns e Zee, 1991).

La termografia sembra anche essere lo strumento migliore per analizzare il potenziale di malignità delle lesioni (Abe *et al.*, 1994), infatti la stretta relazione tra i risultati termografici e tre indicatori prognostici relativi al tasso di crescita (porzione di cellule in

fase di sintesi di DNA, tasso di proliferazione ed espressione di antigeni associati alla proliferazione) osservati in uno studio, suggerisce che le pazienti ammalate e aventi termogrammi anormali risultano colpite da una forma di cancro a crescita più rapida con più probabilità di dare metastasi e di ricorrere ad un intervallo più breve senza malattia (Head *et al.*, 1993). Le lesioni a crescita più rapida con tempi di duplicazione più breve solitamente mostrano anomalie termografiche progressive che consistono in un aumento della produzione di calore metabolico associate a questo tipo di tumori.

In più la termografia può essere usata per aiutare i chirurghi nell'eseguire la mammoplastica che è impiegata per eradicare i tessuti cancerosi della ghiandola mammaria. Questa tecnica è usata per guidare i chirurghi nella dissezione e rimozione di vari tessuti nel seno (Mir *et al.*, 1979).

SARS

La termografia ad infrarosso è stata usata anche come strumento di screening di massa per rilevare la febbre nei pazienti sospettati avere la sindrome respiratoria acuta grave (SARS) (Chiu e Lin, 2005), infatti la temperatura superiore ai 38 °C è un segno cardinale nelle persone affette.

Per ridurre il rischio di trasmettere l'infezione durante l'epidemia di SARS, a Taiwan, da metà aprile a metà giugno 2003, fu introdotto un protocollo di screening per rilevare la temperatura a tutti i pazienti e visitatori che entravano negli ospedali e nelle cliniche, allo scopo di rilevare quelli con la febbre. Furono monitorate con termocamere ad infrarosso 72327 persone tra pazienti non ricoverati e visitatori e si rilevò un totale di 305 pazienti febbrili, tra questi furono in seguito identificati 3 probabili casi infetti, attraverso studi che includevano anamnesi di contatti, test di laboratorio e indagini radiografiche.

Secondo l'autore, i risultati ottenuti suggeriscono che la termografia può rappresentare uno strumento utile ed affidabile, ideale per uno screening di massa preliminare dei pazienti con la febbre nella fase iniziale d'identificazione dei malati di SARS, come avvenne negli ospedali affollati di Taiwan, che vedevano durante il periodo dell'epidemia più 3000 persone ogni giorno.

Ng *et al.* (2004) inoltre valutarono l'efficacia del monitoraggio termico preliminare di massa nell'individuare i soggetti potenzialmente febbrili.

Fino a questo momento, infatti, non esistevano dati empirici che correlassero la temperatura della faccia con quella interna e il sistema ad infrarosso usato negli aeroporti e nei punti di controllo per l'immigrazione non era stato approvato, specialmente riguardo il tasso dei falsi negativi, creando un falso senso di sicurezza dovuto al mancato rilevamento degli individui febbrili e possibilmente infetti.

Ottenere la temperatura superficiale rappresentativa della condizione termica interna del corpo umano richiede l'identificazione su di esso di un punto che fornisca dati affidabili, che consideri un'ampia popolazione e che tenga conto che il valore ottenuto potrebbe essere influenzato anche da altri fattori, fisiologici ed ambientali.

I risultati furono molto utili per determinare la regione della faccia migliore e più pratica dove eseguire le misurazioni e per fissare un livello di temperatura soglia prestabilito in base ai fattori ambientali, in particolare delle condizioni termiche esterne, oltre il quale un soggetto doveva essere considerato febbrile.

Gli esiti dell'analisi statistica mostrarono una buona correlazione tra i valori termografici e le misurazioni della temperatura dell'orecchio, molto rappresentativa di quella interna, indicando il promettente utilizzo della termografia per il monitoraggio di massa dell'ipertermia. Inoltre si osservò che i risultati migliori si ottenevano dalla temperatura massima della regione dell'occhio, seguita dalla temperatura massima della regione della fronte. La controprova fu quella di verificare se un soggetto preso a caso da un gruppo di individui con la febbre avesse un valore termografico maggiore rispetto un qualsiasi individuo con temperatura normale e ciò si rilevò vero il 97,2% dei casi.

Questo tipo di indagine sarebbe quindi molto vantaggioso anche per rilevare con rapidità, tra molte persone i soggetti potenzialmente infetti di caso di una futura pandemia di influenza per mutazioni e ricombinazioni del virus aviario H5-N1 che permetterà la trasmissione anche da uomo a uomo.

Tunnel carpale

In uno studio condotto da Ming *et al.* (2005) furono eseguite scansioni termografiche delle mani di pazienti a cui era stata diagnosticata clinicamente la sindrome da tunnel carpale e di quelle di alcuni volontari sani che fungevano da controllo. I risultati ottenuti mostravano che le temperature nell'area di distribuzione del nervo mediano erano molto differenti tra il gruppo con la patologia e quello sano, come molto diverse erano pure le

temperature tra l'area di distribuzione del nervo mediano e quella dell'ulnare nelle mani dei pazienti con la sindrome da tunnel carpale.

La sensibilità e la specificità della termografia ad infrarosso nel rilevare le mani affette erano entrambe molto alte, indicandola come possibile strumento di indagine collaterale per la diagnosi di questa patologia, soprattutto in uno stadio iniziale. Inoltre lo stesso studio ha permesso di individuare la natura neurologica simpatica in questa sindrome.

Malattie reumatiche

Il fattore comune nella maggior parte delle malattie reumatiche è un'artrite e la termografia si è dimostrata efficace nell'individuare e nel misurare il calore proveniente dalla zona di infiammazione. Nell'artrite reumatoide, nell'artrite giovanile, nell'osteoartrosi, nella gotta e nella spondilite anchilosante è stata registrata una distribuzione di calore anormale sopra le articolazioni affette e i risultati sperimentali hanno mostrato che i cambiamenti di temperatura riflettevano appunto lo stato infiammatorio dell'articolazione (Salisbury *et al.*, 1983; Arnold *et al.*, 1989).

Per quanto riguarda la diagnosi di artrite reumatoide, Akerman e Koop (1988) scoprirono che a livello temporo-mandibolare l'infiammazione dell'articolazione reumatica si manifestava attraverso un'elevata temperatura superficiale sopra quella articolazione. Tuttavia in uno studio precedente (Paterson *et al.*, 1978) che prendeva in considerazione le ginocchia di alcuni pazienti con l'artrite reumatoide, i risultati furono differenti e la termografia non si rivelò utile per la diagnosi di tale patologia. La differenza tra le due esperienze poteva dipendere dal fatto che la temperatura superficiale vicino all'articolazione del ginocchio non è in stretta correlazione con la temperatura intrarticolare. Infatti, le ossa che formano l'articolazione del ginocchio sono molto più grandi delle ossa dell'articolazione temporo-mandibolare e le dimensioni delle ossa potrebbe influenzare il trasferimento di calore tra la cavità dell'articolazione e la cute.

Oltre che come aiuto nella diagnosi, la termografia ad infrarosso potrebbe essere usata per misurare gli effetti della terapia orale, parenterale o locale ed anche della chirurgia, come la sinoviectomia (Ring, 1975). Monitorando la temperatura attorno alle articolazioni si possono così valutare gli effetti dei farmaci antinfiammatori (Esselinckx *et al.*, 1978).

Apparato riproduttivo

E' stata studiata la termografia dell'apparato riproduttivo femminile per considerare la relazione esistente tra la temperatura del seno e il momento dell'ovulazione, per determinare l'intervallo di fertilità (Shah *et al.*, 1984).

La termografia è stata impiegata anche per diagnosticare le lesioni del collo dell'utero e in particolare nell'indagine di routine, a scopo preventivo, del carcinoma cervicale per individuarlo precocemente. La mappatura termografica verrebbe a costituire così un nuovo metodo di diagnosi biofisica di potenziale applicazione in medicina da affiancare al PAP-test.

A questo scopo è stato fatto un tentativo per stabilire il quadro termografico normale della porzione cervicale, analizzando sia cervici sane, che patologiche e sono state trovate differenze indicative nei profili termografici tra la regione cervicale normale e quella con lesioni, quali polipi, erosioni, neoplasie non invasive o cancro invasivo.

In particolare il carcinoma cervicale mostrava quadri termografici di specificità relativamente alti tra tutte le lesioni del collo dell'utero analizzate, dove risultavano importanti le differenze termiche tra il cancro cervicale invasivo, le lesioni benigne o la cervice sana. Tra tutti i gruppi studiati apparivano evidenti le differenze nella temperatura media e in quella maggiore, in più la temperatura media dell'intera porzione considerata era 1,4°C più alta nella cervice con cancro invasivo rispetto alla cervice sana, mentre per le altre lesioni tale differenza con il controllo non superava 0,5°C. L'analisi statistica dei profili medi della temperatura cervicale mostrava inoltre una rilevante differenza anche tra il cancro invasivo e gli altri gruppi di patologie, che era in media di 1,5°C. In più è stata trovata una stretta correlazione tra i singoli risultati di ogni gruppo (Smaga *et al.*, 2003).

La termografia ad infrarosso nello studio dell'apparato riproduttore maschile è stata spesso impiegata per valutare l'area testicolare e scrotale. Dal momento che la vitalità del seme è influenzata dal calore, questa tecnica trova applicazione nello studio dell'infertilità dell'uomo, potendola relazionare con temperature anormali degli organi esaminati (Amiel *et al.*, 1976; Coppola *et al.*, 1984; Coulter *et al.*, 1988).

Per esempio il varicocele influenza la termoregolazione scrotale per la dilatazione venosa ed il conseguente reflusso che lo caratterizza ed ha come conseguenza una riduzione della potenziale fertilità.

La venografia è generalmente considerata l'esame diagnostico migliore per questa condizione, tuttavia essendo una procedura invasiva non senza rischi (iniezione di un mezzo di contrasto), sono stati considerati anche altri metodi d'indagine compresa la termografia.

Il varicocele monolaterale è sempre associato a differenze maggiori di 0,5°C nella temperatura cutanea a livello del plesso pampiniforme o del testicolo rispetto alla parte controlaterale. Il varicocele bilaterale si caratterizza invece per ipertermia rispetto al controllo sano. La metodica è specifica (98%) e sensibile (100%) e permette di rilevare varicoceli asintomatici, ma con spermogramma non normale.

Gravidanza e parto

La termografia può essere usata per valutare l'estensione degli aumenti della temperatura superficiale nelle donne con vampate di calore durante la menopausa (Sturdee *et al.*, 1979) e la possibilità di infezioni corionamniotiche nelle donne in gravidanza (Goodlin e Brooks, 1987).

Più recentemente la tecnologia ad infrarosso è stata impiegata per monitorare le variazioni di temperatura che avvengono nel tempo e nello spazio sull'intera parete addominale materna durante il travaglio e il parto (Yang *et al.*, 1990). La temperatura aumenta transitoriamente ad ogni contrazione e poi progressivamente durante il corso del travaglio. Quando le contrazioni diventano più frequenti, una regione di temperatura maggiore si diffonde dall'angolo superiore destro verso il basso e circa 10 minuti prima del parto, l'intera parete addominale è ricoperta da una regione calda di circa 35,5°C. Partendo da queste misurazioni (Beinder E, 1990) Yang *et al.* (1991) svilupparono un modello per predire le contrazioni della muscolatura uterina durante il travaglio.

In uno studio condotto da Beinder *et al.* (1990) fu valutata la temperatura superficiale e la reazione del microcircolo durante la gestazione. Si riscontrò che nelle donne in gravidanza la differenza di temperatura superficiale tra la mano e l'avambraccio era maggiore rispetto al gruppo di controllo, in quanto anche nelle prime fasi di gravidanza la temperatura superficiale della mano era aumentata. Inoltre, applicando uno stimolo freddo, la diminuzione di temperatura nelle donne in gravidanza era minore.

Medicina e chirurgia cardiovascolare

Le malattie vascolari si adattano bene all'analisi infrarossa, per esempio in caso di una trombosi venosa profonda la termografia può essere usata per stabilire una relazione tra la temperatura dell'arto e il grado di pervietà del vaso (Holmgren *et al.*, 1988), oppure per determinare lo stato circolatorio di una regione ischemica (Spence *et al.*, 1984), di un organo trapiantato (Kopsa *et al.*, 1979), del cervello (Karpman *et al.*, 1972), del cuore (Adachi *et al.*, 1987) e delle coronarie (Robicek *et al.*, 1978), rilevando precocemente le disfunzioni.

Nella diagnosi di trombosi la termografia è molto vantaggiosa perché rispetto alla venografia, che è la tecnica di solito impiegata per questa patologia, non ha l'inconveniente di dover iniettare un contrasto radiopaco in vena. In uno studio i due mezzi diagnostici sono stati paragonati ed erano correlati nel 90,1% di 121 casi studiati da Bergqvist *et al.* (1977).

La termografia può essere utilizzata nella fase postoperatoria per determinare l'efficacia della chirurgia nel trattamento di una patologia circolatoria (Skliarenko e Zakalinskii, 1986; Zabransky, 1988; Holm *et al.*, 1974), per individuare il sito ottimale per un'amputazione, per valutare i farmaci attivi sulla circolazione, come la diminuzione delle resistenze vascolari dopo la somministrazione di beta-bloccanti a ipertesi (De Cesaris *et al.*, 1985), o per monitorare i pazienti con rischio di insufficienza cerebrovascolare (Henderson e Hackett, 1978).

L'occlusione grave di un'arteria degli arti inferiori comporta la necrosi dei tessuti che vascolarizza e per la sopravvivenza dei pazienti affetti da questo problema si rende necessaria l'amputazione. La termografia può essere usata per identificare in modo non invasivo il livello esatto dove eseguire l'amputazione, assicurando il chirurgo a non compierla ad un livello troppo alto o troppo basso che potrebbe, in questa seconda eventualità, non risolvere completamente il problema e rivelarsi fatale per il paziente (Lee *et al.*, 1979; Luk *et al.*, 1986). In più la termografia può essere utilizzata per diagnosticare anomalie circolatorie nel moncone restante che potrebbero determinare la sensazione di dolore intenso alla parte dell'arto che non c'è più, detto "fantasma" (Kristen *et al.*, 1984).

Più recentemente l'imaging funzionale infrarosso ha trovato nuove ed importanti applicazioni, tra le quali l'assistenza intraoperatoria in microchirurgia e cardiocirurgia.

E' possibile valutare la perfusione di alcune zone periferiche o del cuore sfruttando il contrasto termico tra i vasi sanguigni caldi e i tessuti circostanti ed eseguire misurazioni termografiche in condizione di paziente con il torace aperto e cuore esposto, che si verificano durante gli interventi chirurgici al cuore, come ad esempio quelli di bypass coronario. In questa particolare situazione, è possibile rilevare direttamente la radiazione infrarossa emessa dagli organi in esame (tessuti cardiaci e vasi sanguigni) senza che questa sia schermata dalla pelle, che risultava essere un problema per la corretta valutazione della temperatura dei tessuti meno superficiali. Quindi, date le condizioni ottimali per la rilevazione della radiazione e le crescenti risoluzioni spaziali e termiche delle attuali termocamere, la termografia può essere agevolmente utilizzata per valutare, in tempo reale e con minima invasività, esclusa quella dell'intervento, una precisa mappa della perfusione sanguigna degli strati più esterni del muscolo cardiaco, con particolare riferimento alla circolazione coronaria (Cirino, 2004). Può essere poi impiegata per il controllo di anastomosi nella ricostruzione dei microvasi e nel controllo della tenuta e della riperfusione (Merla *et al.*, 2002).

In uno studio (Di Carlo e Ippolito, 2003) sono stati inoltre valutati gli effetti acuti del fumo di sigaretta nell'innalzare la pressione arteriosa e nel diminuire la temperatura superficiale. Fu possibile osservare il comportamento simile di questi due effetti ed un peggioramento di entrambi, man mano che aumentava il numero di sigarette fumate durante la prova e in modo ancora più grave in un gruppo di soggetti ipertesi, confermando il danno provocato dal fumo sui vasi sanguigni periferici e l'effetto cumulativo del consumo di più sigarette. Per la correlazione con l'aumento della pressione, l'indagine termografia potrebbe essere utilizzata come metodo di routine per la valutazione di un danno vascolare da fumo e il suo immediato effetto visivo potrebbe essere utile nei programmi educativi contro il consumo di tabacco.

Pneumotorace

E' una complicazione rischiosa per la sopravvivenza del paziente che può derivare da un trauma, dalla ventilazione meccanica, o da una procedura invasiva. E' stata ipotizzata la capacità della termografia ad infrarosso nel rilevare questa condizione, identificando i cambiamenti della temperatura superficiale a livello del torace ad essa associati. E' stato condotto uno studio su ratti ai quali fu provocato un pneumotorace sperimentale a destra,

a sinistra o bilaterale, seguito delle scansioni termografiche della porzione interessata, senza conoscere dove fosse localizzata la lesione. La presenza del pneumotorace era caratterizzata da una consistente diminuzione della temperatura superficiale della regione quando paragonata a quella del controllo e in questo modo fu possibile identificare correttamente tutti i casi, dimostrando come questa tecnica fosse in grado di rilevare rapidamente e accuratamente i cambiamenti della temperatura superficiale toracica associati al pneumotorace sperimentale (Rich *et al.*, 2004).

Odontoiatria

La misurazione della temperatura superficiale del viso per mezzo della termografia ad infrarosso è stata usata per molte applicazioni in odontoiatria. E' stato mostrato come questa tecnica possa essere d'aiuto nella diagnosi del dolore cronico oro-facciale, nella valutazione di un deficit del nervo alveolare inferiore, per valutare i disordini dell'articolazione temporo-mandibolare e come promettente strumento per la ricerca. La termografia dinamica, recentemente, ha reso possibile, grazie ai progressi informatici associati a quelli tecnologici dei sensori ad infrarosso, l'estrapolazione d'informazioni quantitative sui processi emodinamici da centinaia di migliaia d'immagini termiche digitali delle aree facciali colpite, misurate e raccolte in meno di tre minuti. Questa tecnologia potrebbe offrire un metodo d'indagine per le aberrazioni del controllo nervoso della perfusione superficiale del viso e contribuire a capire la correlazione tra dolore oro-facciale e anomalie termiche facciali, aiutando la gestione di questa condizione (Gratt e Anbar, 1998).

È inoltre possibile, utilizzando l'analisi termografica, ottimizzare la conformazione delle protesi dentarie, si è infatti osservato che l'impianto di protesi non ottimali causava difficoltà al paziente nei movimenti della bocca come parlare, muovere le labbra, rilevabili dalla distribuzione della temperatura di alcune zone facciali.

Diabete

La termografia fu usata in uno studio per determinare le variazioni di temperatura sulla pianta dei piedi di persone affette da ulcere diabetiche (Stess *et al.*, 1986). I soggetti che presentavano ulcere avevano temperature più alte e furono studiati i profili di

temperatura della superficie plantare per determinare quali zone avevano gli incrementi maggiori e quali i minori.

Sun *et al.* (2005) condussero uno studio per definire un metodo standardizzato per quantificare la temperatura del piede usando la termografia. Inizialmente furono esaminati dei volontari sani per mappare le sottoregioni anatomiche e ricavare i valori medi delle temperature. Poi furono esaminati termograficamente i pazienti diabetici, studiando anche la temperatura plantare rispetto quella della fronte. Dallo studio si concluse che la normalizzazione della temperatura assoluta della pianta del piede con quella della fronte potrebbe fornire informazioni utili per identificare problemi al piede subclinici.

La termografia ha inoltre mostrato un aumento dello shunt artero-venoso nelle mani dopo la somministrazione di insulina a diabetici (Mitchell *et al.*, 1989).

Ustioni

Un altro esempio di applicazione medica della termografia è lo studio delle ustioni. Mediante l'analisi termografica è possibile, infatti, stimare la profondità e l'estensione di questo tipo di lesioni, ed eseguire l'analisi meccanica delle protesi realizzate con biomateriali, mediante prove di stress termoelastico dove si possono evidenziare le zone più sollecitate della protesi prima dell'impianto e valutare se il materiale in esame è adeguato allo scopo.

Tuttavia, per quanto riguarda la diagnosi di gravità, si può incorrere in degli errori dovuti alla presenza di vescicole ed al raffreddamento per evaporazione (Anselmo e Zawacki, 1977).

Altre applicazioni

I pattern di temperatura della superficie corporea offerti dalla termografia sono stati associati anche a lesioni o deformità della schiena. Sembrano esserci delle anomalie nelle immagini termiche della cute in pazienti con lesioni al midollo spinale e nel caso di lesione completa la zona di transizione è netta (Sherman *et al.*, 1987).

Un'alterazione dell'immagine termografica si rileva anche in corrispondenza della curvatura principale nelle scoliosi (Milano *et al.*, 1982) e in caso di protrusione discale.

La diagnosi di dolore cronico è collegata alla rilevazione di un'anormalità circolatoria locale in risposta ad uno stimolo nervoso che determina un'alterazione della temperatura superficiale. Ciò offre un'ulteriore possibilità di applicazione della termografia che si è rilevata utile anche nei dolori della colonna vertebrale (Sherman et al, 1987).

Liao e Liao (1985) usarono questo aspetto della termografia per determinare quanto l'agopuntura alleviasse il dolore.

L'asimmetria di un quadro termico può indicare problemi ai nervi e la termografia risulta utile quindi per determinare aree di danno neuronale periferico (Uematsu, 1988).

Si possono studiare, tramite l'uso dell'imaging infrarosso, anche alcuni processi afferenti al sistema nervoso simpatico che presiede alle reazioni involontarie, come la risposta a stimoli elettrici o psicogeni: è interessante osservare la distribuzione termica cutanea del soggetto in base allo stato emotivo, ad esempio in condizioni di stress o disagio (Merla *et al.*, 2001; Pavlidis *et al.*, 2000).

Applicazioni della termografia in medicina veterinaria

Cavallo sportivo

Il primo uso della termografia ad infrarosso per scopi diagnostici nella clinica di questi animali risale circa al 1963 e grazie ai nuovi modelli di dimensioni ridotte, al costo più accessibile, alla miglior risoluzione delle immagini e alla qualità dei software per il loro trattamento, l'utilizzo della termocamera in campo professionale è oggi abbastanza praticabile.

Oltre alla non invasività, l'applicazione della termografia in questo campo offre il vantaggio di ridurre l'esposizione a radiazioni ionizzanti che si ha con l'utilizzo della radiografia di solito impiegata per rilevare le patologie del cavallo sportivo.

In particolare la tecnologia ad infrarosso è stata utilizzata con successo nella diagnosi delle patologie del sistema locomotore e quindi delle ossa, dei legamenti, dei tendini, delle articolazioni e dei muscoli, poiché questa ne fornisce facilmente una localizzazione. La termografia si è mostrata essere così un aiuto pratico nella valutazione clinica delle zoppie del cavallo, aumentando in modo specifico l'accuratezza della diagnosi.

Quindi la tecnologia ad infrarosso si è rivelata essere un metodo di grande valore in associazione ad altri strumenti diagnostici di supporto all'esame clinico, come la radiologia, la scintigrafia e l'ecografia, a cui è complementare (Turner, 1991; Eddy, 2001). Deve essere fatto notare, infatti, che la termografia nella diagnosi di zoppia del cavallo è utile solo in combinazione al completo esame clinico che comprende procedure addizionali (Weil, 1998).

Inoltre, grazie a questa tecnica, tali problemi ortopedici possono essere diagnosticati ad uno stadio precoce attraverso segnali specifici di allarme prima che compaiano i sintomi clinici o si rilevino le alterazioni radiologiche. Ciò permette di adottare immediate decisioni sul programma sportivo del cavallo o sulla terapia da intraprendere così da garantire un intervento tempestivo e prevenire lo sviluppo di lesioni più serie.

Conoscere la situazione termografica degli animali sani è essenziale per comprendere quelle eseguite sul cavallo portatore di condizioni patologiche. Purohit e McCoy (1980) hanno esaminato termograficamente 6 cavalli clinicamente sani prima a riposo e poi in seguito ad un periodo di esercizio per determinare una mappa della temperatura superficiale in condizioni di normalità. Tutti gli animali indagati avevano quadri termografici di emissione infrarossa simile, ed era evidente un alto grado di simmetria tra destra e sinistra e tra dorsale e palmare/plantare negli arti distalmente al carpo e al tarso. Le aree più calde del termogramma corrispondevano alle strutture maggiormente vascolarizzate e il cerchio coronario rappresentava la parte dell'arto con temperatura maggiore. L'aumento di calore in seguito all'esercizio non alterava sostanzialmente il quadro termografico, ne determinava però un aumento uniforme mantenendo costanti le differenze di temperatura tra le varie parti.

Turner *et al.* (1983) termografarono gli arti anteriori distali di alcuni cavalli clinicamente normali a cui era stato tosato il pelo su uno degli arti ed eseguendo queste scansioni a riposo e dopo un allenamento, ottennero delle immagini termiche che mostravano i pattern termici, la distribuzione e i cambiamenti di temperatura prima e dopo lo sforzo. Fu possibile anche osservare che la tosatura del pelo non determinava cambiamenti nei pattern termici, tuttavia gli arti senza pelo risultavano più caldi di quelli che non erano stati tosati, dal momento che la presenza del pelo fornisce un ostacolo alla perdita dell'energia termica.

In una visione d'insieme le aree cutanee prive di peli, come l'occhio e il muso, si presentano normalmente più calde in quanto l'assenza di pelo permette una maggior dispersione del calore che equivale ad una maggior emissione di raggi infrarosso.

Per quanto riguarda gli arti, che sono le zone più indagate nella clinica, la cute che ricopre o che si trova vicina a vasi di grosso diametro, come la vena cefalica e la safena, è normalmente più calda. Le superfici invece distanti dalle zone di maggiore flusso ematico, come la superficie dorsale dei metacarpi, dei metatarsi, del nodello e del pastorale, sono in condizioni normali più fredde.

Le parti più calde della porzione distale dell'arto nel cavallo sono, come già ricordato, il cercine e il corion della corona, molto ricco di vasi. La vena palmare nell'arto anteriore e la vena metatarsale nel posteriore, generano zone calde tra il 3° metacarpo o metatarso e i tendini flessore profondo e flessore superficiale delle falangi. I tendini, osservati dalla loro superficie palmare o plantare appaiono relativamente freddi, mentre l'area compresa tra i glomi del fettone è quella che libera più calore.

Identificati i colori corrispondenti alle situazioni fisiologiche, le differenze cromatiche rispetto ai colori definiti "normali" possono essere utilizzate per rilevare segni riferibili alla zoppia e quindi alla patologia ortopedica o neurologica.

Per quanto riguarda invece un problema ad un singolo arto, è utile anche eseguire un confronto contemporaneo con il piede sano controlaterale, in modo da rilevare un'asimmetria termografica che risulta in questo modo indipendente da fattori esterni ed è facilmente attribuibile alla zoppia in atto (Weil, 1998).

Le aree di calore maggiore rispetto al controllo indicano un flusso sanguigno aumentato che può essere correlato con uno stato infiammatorio, ad un trauma o ad un ascesso, mentre le zone fredde indicano una riduzione della circolazione dovuta a danneggiamento dei nervi, a un trombo o a tessuto cicatriziale.

Stashak (1987) e Weil *et al.* (1998) trovarono che le immagini termografiche potevano mostrare e provare quantitativamente bene i cambiamenti della temperatura cutanea nel caso di zoppia agli arti anteriori.

Nello studio condotto da Turner *et al.* (1983) sono state comparate le immagini termografiche che si riferivano ai cavalli sani con quelle ottenute da alcuni cavalli a cui era stata diagnosticata una navicolite. Fu possibile osservare che la temperatura degli arti degli animali affetti da questa patologia non aumentava dopo l'esercizio come invece

avveniva, di circa mezzo grado, nei cavalli sani. Il mancato rialzo termico della superficie dell'arto fu poi correlato con l'evidenziazione radiografica di fori vascolari allargati nell'osso navicolare. Infatti, le modificazioni anatomiche che caratterizzano questa patologia determinano una situazione di minor flusso sanguigno a cui segue una ridotta temperatura dell'arto.

La termografia rileva il calore prima che sia percepibile all'esame fisico di routine, perciò essa è utile per la diagnosi precoce di fratture da stress e di tendinite, offrendo un indice non invasivo per valutare l'aumento del flusso sanguigno verso la parte traumatizzata (Turner, 1991).

Le immagini termografiche nella diagnosi di desmite, per esempio del legamento sospensore del nodello, e di tendinite si presentano come aree calde circoscritte che possono essere osservate nelle due settimane precedenti la comparsa di dolore o di tumefazione così da permettere una rilevazione tempestiva della condizione patologica e la sua esatta localizzazione per disporre subito i necessari interventi prima dello sviluppo di segni clinici di tendinite acuta (Weil *et al*, 1998).

Marr *et al*. (1993) aggiunsero che la sensibilità della termografia nel rilevare le lesioni dei tendini flessore profondo e flessore superficiale era dell'81% e la specificità del 74%. Si possono esaminare e diagnosticare diverse altre affezioni del piede, come ascessi, callosità, pododermatite, laminite nelle loro fasi iniziali o in mancanza di dati clinici e radiografici certi (Turner, 1996). In questi casi è patologica ogni differenza di temperatura di oltre un grado tra i piedi e se sono ammalati tutti e quattro i piedi, occorre registrare le temperature tra i glomi. Essendo la temperatura della banda coronaria già di per sé elevata (1-2°C in più rispetto al resto dello zoccolo), può essere difficile rilevare un'area infiammata, così è ancora più importante comparare la temperatura tra i piedi.

La laminite si evidenzia per la temperatura superiore, oltre 1-2 gradi, dello zoccolo. In questi casi la temperatura della muraglia raggiunge quella del cercine coronario e la termografia fornisce un accertamento molto vantaggioso nelle laminite sub-clinica e questo metodo si presta anche per uno screening sistematico.

La termografia rileva poi lo stato infiammatorio della capsula articolare e della sinoviale, anche in questi casi attraverso la produzione di immagini che mostrano aumenti della temperatura localizzati in corrispondenza delle aree colpite. L'immagine normale di un'articolazione appare fredda rispetto alle strutture che la circondano, tuttavia il quadro

termico in caso di infiammazione disegna un'area ovale ipertermica della cute sovrapposta all'articolazione, osservata in direzione latero-mediale (Eddy, 2001). Merita menzionare che nella valutazione di un'immagine termografica l'asimmetria di 1°C o più indica una possibile artrite (Turner, 1996) e il risultato è confermato dall'analisi del liquido sinoviale e dalla radiografia. Un'eccezione è rappresentata dal pastorale che disegna un cerchio di ipotermia delimitato da un anello periferico di ipertermia (Eddy, 2001).

La metodica di prima scelta per l'esame delle alterazioni ossee è invece la radiografia, soprattutto per le lesioni croniche o molto fini, e la termografia non può per il momento fornire molte informazioni sulle anomalie di queste strutture perché sono ricoperte da strati di tessuti molli, oltre che dalla cute. Comunque è egualmente utile per diagnosticare le periostosi sulla superficie dorsale dei metacarpi, sia in assenza che in presenza di dati radiografici e del sintomo dolore.

La termografia è utile anche per un'identificazione precoce dei traumi da stress all'arto controlaterale nei pazienti ortopedici convalescenti (Turner, 1991).

Un altro possibile impiego della tecnologia ad infrarosso è nella rilevazione delle malattie della schiena nel cavallo (Schweinitz, 1999). Risulta possibile identificare e localizzare le affezioni legate a lesioni della colonna, che si manifestano con dolore provocato alla palpazione, difficoltà nel movimento e anomalie di comportamento. La termocamera traccia lo stato dei tessuti nella sede esplorata e dà informazioni sui collegamenti nervosi quando radiografia, ecografia e scintigrafia non hanno ancora altrettante possibilità di farlo per le malattie di questa zona del corpo nel cavallo.

Turner (1989, 1996 e 2001), Schweinitz (1999) ed Eddy *et al.* (2001) trovarono che la termografia era lo strumento diagnostico per immagini più sensibile e obiettivo disponibile per la rilevazione del dolore dorsale specialmente se dovuto ad un trauma muscolare che non poteva essere ancora diagnosticato con un'indagine di laboratorio. Essi aggiunsero che la termografia poteva localizzare un'area di infiammazione associata ad un muscolo o ad gruppo di muscoli e poteva anche mettere bene in evidenza l'atrofia prima che diventasse apparente clinicamente.

Oggi le affezioni croniche del dorso di questi animali sono considerate sindromi algiche legate al sistema simpatico e le alterazioni della temperatura cutanea che si rilevano corrispondono a modificazioni del tono vasomotorio, controllato appunto dal sistema

simpatico e appaiono come punti freddi. Il dolore cronico alla schiena di solito determina vasocostrizione nelle aree affette e dagli studi termografici effettuati in medicina umana abbiamo un'opportunità di apprezzare come il dolore cronico determini eventi non infiammatori. Ciò avviene comunemente anche nel cavallo, ma i casi sono ancora raramente riconosciuti e trattati.

Purohit e McCoy (1980) termografarono 9 cavalli con processi infiammatori acuti e cronici ed è stato possibile diagnosticare anche una sublussazione della terza vertebra lombare, un ascesso subsoleale, artriti sieriche dell'articolazione femoro-patellare, periostiti alveolari e ascessi.

La termografia oltre ad essere impiegata per valutare i settori interessati da flogosi, traumi o altre sindromi rilevabili da un aumento o una diminuzione della temperatura, per aumentare le possibilità diagnostiche nelle zoppie e nei dolori dorsali dei cavalli, è usata anche per monitorare l'evoluzione del processo di guarigione in questi animali. Infatti, eseguendo delle scansioni termografiche prima e dopo il trattamento antinfiammatorio, su dei cavalli con un trauma ai muscoli del dorso, era evidente la scomparsa dei punti con maggior temperatura che indicava un miglioramento (Shamaa e Gohar, 2002). Inoltre Purohit e McCoy (1980) trovarono che la termografia era efficace nella valutazione qualitativa e quantitativa dei farmaci antinfiammatori nel trattamento delle infiammazioni indotte chimicamente.

Un'ulteriore applicazione della termografia nel cavallo sportivo consiste nella ricerca e nella segnalazione di metodi illegali utilizzati per migliorarne fraudolentemente il rendimento (Eddy, 2001). Esistono, infatti, molte possibilità di impiego e sviluppo della tecnologia ad infrarosso, nella ricerca clinica veterinaria in questo senso. La termografia potrebbe così rilevare frodi sportive attuate sottoponendo il cavallo a trattamenti che sfuggano alla ricerca anti-doping. Esempi di queste procedure illegali sono l'applicazione topica di prodotti come lo ioduro di mercurio sulla faccia dorsale del pastorale o del metacarpo, le iniezioni intradermiche di composti irritanti per accentuare la flessione dell'arto, le anestesie locoregionali, l'infiltrazione dell'area lesa con potenti analgesici o le nevrectomie dei nervi palmari e digitali.

Le variazioni di temperatura dovute a queste procedure fraudolente possono persistere anche 8 giorni e non durano meno di un giorno.

Purtroppo questo tipo di indagine non è ancora abbastanza specifico nelle sue risposte, dal momento che evidenzia variazioni dei valori termici senza che se ne possano identificare le cause. E' certo che la termografia è molto sensibile nel segnalare l'impiego o l'applicazione di composti chimici sulle parti distali degli arti, ma occorrono ancora ricerche che provino che sia una tecnica in grado di evidenziare sicuramente l'impiego di antinfiammatori o l'avvenuta esecuzione di nevrotomie, così eventuali risultati positivi della sola termografia non consentono di squalificare un cavallo.

Bowers *et al.* (2004) usarono la termografia ad infrarosso per rilevare se esistevano differenze di temperatura tra cavalle gravide e vuote, trovando che le prime avevano una temperatura del fianco più alta rispetto alle seconde indipendentemente dalle condizioni ambientali e suggerendo la termografia come strumento utile nella diagnosi o nella conferma di gravidanza in tarda gestazione in alcune specie animali.

Nell'allevamento suino

La termografia ad infrarosso si è rilevata essere sempre più utile come strumento di ricerca con il quale è possibile investigare la fisiologia dell'utilizzazione di energia da parte degli animali da reddito, per esempio nella produzione suinicola (Tivey e Benhazi 2002). Le immagini termiche dei maiali e delle strutture entro cui essi sono stabulati hanno reso possibile una valutazione oggettiva dell'ambiente e del comfort termico degli animali posti sotto un determinato regime di gestione, fornendo informazioni utili per le decisioni da prendere al fine di massimizzare il benessere dei maiali, la loro crescita e il profitto dell'allevamento. Gli obiettivi specifici furono la valutazione della variazione di temperatura sugli elementi strutturali dei rifugi di produzione, l'impatto del raffreddamento per doccia e dell'umidità della pelle sulla temperatura superficiale, il monitoraggio della produzione di calore degli animali e perciò la loro attività metabolica sia a riposo sia durante l'attività, o contemporaneamente e dopo la somministrazione dell'alimento.

Loughmiller *et al.* (2001) studiarono che la termografia ad infrarosso poteva essere adattata per render conto della temperatura ambientale e usata per rilevare i cambiamenti della temperatura superficiale media del corpo, osservando un'importante correlazione lineare tra queste due variabili. Inoltre trovarono che la termografia poteva registrare la

produzione di calore radiante attribuibile ad una risposta febbrile in seguito all'inocuazione di *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Vacca da latte

Finora, gli usi della termografia ad infrarosso includono il rilevamento precoce dell'estro (Hurnik *et al.*, 1985), delle mastiti (Scott *et al.*, 2000; Berry *et al.*, 2003) e delle zoppie (Nikkhah *et al.*, 2005).

Hurnik *et al.*, (1985) trovarono che l'area racchiusa dall'isoterma di 37°C sulla regione del gluteo della vacca tendeva ad allargarsi in presenza dell'estro e che tale aumento diventava statisticamente significativo al terzo estro dopo il parto. Durante i primi 50 giorni del postpartum le osservazioni termografiche comparate con la precisione della rilevazione dell'allevatore accrescevano l'identificazione dell'estro, tuttavia l'utilizzo della tecnologia ad infrarosso era ostacolato dai falsi positivi (33% intorno al terzo estro dopo il parto) e dall'incapacità di rilevazione per alcune vacche (7%), così al momento attuale l'applicazione di routine della termografia per l'identificazione degli estri negli allevamenti di vacche da latte è limitato.

La focalizzazione di alcuni studi scientifici sull'uso della termografia ad infrarosso per implementare la possibilità di diagnosticare le mastiti molto più precocemente di quanto fosse finora possibile (Scott *et al* 2000; Berry *et al* 2003) rappresenta un vantaggio considerevole perché sono uno dei problemi maggiori per il benessere e dal punto di vista economico nell'allevamento della vacca da latte. Attualmente, il metodo standard utilizzato per rilevare le mastiti nelle lattifere è la conta delle cellule somatiche (SCC), tuttavia, le alterazioni rilevabili con questo metodo sono spesso messe in evidenza tardi nello sviluppo di un'infezione mammaria oppure non identificano tutti i tipi di infezione, le infezioni subcliniche, o quelle che impiegano un po' di tempo per mostrare i segni clinici. Per di più, i sintomi clinici generali, come le variazioni della temperatura interna o rettale, si sviluppano in ritardo nel corso dell'infiammazione. Un segno affidabile di risposta infiammatoria è l'aumento frequente della temperatura nella stessa area infiammata, perciò un metodo alternativo per l'identificazione precoce delle mastiti potrebbe essere la misurazione dell'energia termica infrarossa irradiata dalla ghiandola mammaria, dal momento che questa rappresenta il sito dell'infezione.

Usando il modello di mastite endotossina indotta, Scott *et al.* (2000) trovarono che l'infiammazione poteva essere diagnosticata dalle differenze di temperatura usando la termografia più precocemente di quanto si potesse fare sia usando la conta delle cellule somatiche, sia l'albumina sierica bovina (BSA). La concentrazione di BSA raggiungeva il picco 6 ore dopo l'induzione, mentre gli aumenti di temperatura rilevati con la termografia erano evidenti entro un'ora dall'induzione della mastite.

Berry *et al.* (2003) utilizzarono la termografia ad infrarosso per studiare gli effetti dei fattori ambientali sulla variazione giornaliera della temperatura della mammella, trovando un evidente ritmo circadiano e un importante aumento di tale temperatura causato dall'esercizio. Tuttavia, questa variazione giornaliera era più piccola dell'aumento di temperatura dovuto all'induzione della mastite, perciò essi conclusero che la termografia rappresenta uno strumento valido per la diagnosi precoce di mastite se associata al monitoraggio accurato della temperatura ambientale.

Un'altra ingente perdita economica nell'allevamento della vacca da latte è rappresentata dalle zoppie. Nikkhah *et al.* (2005) esaminarono e termografarono gli unghioni di 16 Holstein per rilevare patologie delle parti distali degli arti. Misurarono le temperature del cercine coronario, di una zona di controllo cutanea posta sopra a questo e calcolarono la differenza (ΔT) tra i due valori, eseguendo le rilevazioni in due diversi stadi di lattazione per vedere se avevano effetti o correlazioni sulla temperatura registrata e sulle anomalie osservabili sul piede. Si notò che la temperatura del cercine coronario e il ΔT erano più alti nelle vacche in lattazione da meno di 200 giorni rispetto a quelle in tarda lattazione, inoltre il ΔT era maggiore nell'unghione laterale rispetto al mediale.

Secondo gli autori, tale aumento di temperatura misurato sugli unghioni laterali poteva dipendere dalla maggior frequenza di emorragie della suola da questa parte del piede che si verificò nello studio, dalla loro gravità tre volte maggiore nell'unghione laterale o perché, essendo l'unghia laterale più sottile e il peso del corpo maggiormente distribuito da questa parte, la crescita più rapida dell'unghione laterale determina un rapido turnover tissutale che comporta un flusso di sangue e nutrienti aumentato.

L'analisi statistica rilevò che la frequenza delle emorragie della suola negli unghioni laterali posteriori era maggiore per gli animali ad inizio lattazione e l'aumento della temperatura del cercine coronario ad inizio/metà lattazione coincideva quindi con un aumento dell'incidenza delle emorragie nella suola. Ciò è prevedibile perché le vacche

ad inizio lattazione producono molto latte e consumano molto mangime concentrato, quindi ci si aspetta che in questo periodo il metabolismo nutritivo sia elevato, il pH ruminale più basso e la probabilità di infiammazione del piede maggiore (Nocek, 1997). Poiché le temperature più alte dello zoccolo si rilevarono nelle vacche sotto i 200 giorni di lattazione, tra le quali erano poi più frequente le emorragie della suola che indicano infiammazione, la misurazione della temperatura dello zoccolo tra le vacche ad inizio lattazione potrebbe essere utile per monitorare la temperatura la salute dello zoccolo rilevando le infiammazioni.

Tuttavia sono necessarie ulteriori informazioni sulla relazione che esiste tra le osservazioni termografiche e le anomalie degli unghioni e ulteriore quantificazione dei fattori indipendenti dalle patologie che incidono sulla temperatura del piede, prima che la termografia ad infrarosso possa essere raccomandata per un uso in allevamento.

Altri studi hanno utilizzato la termografia ad infrarosso per valutare l'infiammazione attribuibile a marchiatura con il ferro incandescente e il freddo (Schwartzkopf-Genswein e Stookey, 1997).

Bovino da carne

I vitelli durante la loro vita vengono esposti ad una numerosa serie di esperienze stressanti che comprendono molti trasporti e tipi di manualità. Queste esperienze spesso li predispongono ad un aumento dell'incidenza di patologie, come la malattia respiratoria bovina (BRD) (Cusack *et al.*, 2003) e la diarrea virale bovina (BVD) (Houe, 1999), che determinano gravi conseguenze per il benessere e l'economia dell'allevamento. Attualmente il metodo standard applicato in campo per identificare i vitelli ammalati consiste nell'osservazione dei sintomi clinici fatta da un operatore di stalla esperto, a cui seguono le necessarie misure di intervento. Sfortunatamente il manifestarsi dei sintomi clinici avviene alcuni giorni o anche più in ritardo nel decorso della malattia e arrivati a quel momento gli animali per giungere a guarigione spesso necessitano di attenzioni mediche considerevoli. In un modello di induzione del virus BVD, Schaefer *et al.* (2003) usarono la termografia ad infrarosso come metodo di rilevazione precoce e non invasivo per l'identificazione dei vitelli affetti da BVD, trovando che aumenti delle temperature oculari, misurati con la termocamera, erano maggiori e più precoci di quelli in altre zone del corpo (come naso, orecchio e tronco) e che c'erano alterazioni importanti della

temperatura degli occhi da alcuni giorni fino ad una settimana prima della manifestazione di altri segni dell'infezione, clinici o sierici, come l'innalzamento della proteina della fase acuta.

In tali situazioni sarebbe possibile utilizzare la termografia ad infrarosso per il rilevamento non invasivo dei primi stadi di malattia negli animali da reddito e nello studio citato gli autori provarono un tipo di strategia, incorporando una stazione di rilevamento infrarosso nella zona di abbeverata, dal momento che gli animali visitano questa area con frequenza regolare. La stazione di rilevamento era affiancata da un sistema elettronico di riconoscimento per identificare automaticamente l'animale che si presentava all'abbeveratoio e per ottenere una sua immagine infrarosso della regione dell'occhio. Dagli indici di previsione, questo rappresenta un sistema in grado di indicare al responsabile dell'impianto se un animale sta mostrando segni precoci di malattia e se perciò necessita di cure mediche.

Lo stesso Schaefer *et al.* in un recente studio del 2006 trovarono che la termografia era in grado di rilevare segni di malattia respiratoria bovina (BRD) prima dei sistemi clinici convenzionali anche in un modello ad induzione spontanea.

Spire *et al.* (1999) usarono la tecnologia ad infrarosso per diagnosticare l'infiammazione causata da impianti auricolari di promotore della crescita contaminati, misurando differenze consistenti di temperatura e osservando le diverse immagini che provenivano dalle scansioni degli orecchi di questi animali, rispetto a quelli con impianti puliti o ai controlli senza impianto che apparivano più freddi.

La termografia ad infrarosso è stata utilizzata anche per valutare la temperatura dello scroto come indice di fertilità nei tori (Lunstra e Coulter, 1997). Nello studio citato furono registrate le immagini di temperatura della superficie scrotale in 73 tori da carne. Si trovò che gli animali che presentavano quadri termografici anormali avevano un seme con alte percentuali di spermatozoi con vacuoli prossimali e basse percentuali con morfologia della testa e della coda normali rispetto a quelli con termogrammi accettabili. Inoltre tra i tori con dimensioni testicolari e qualità del seme normali, quelli con un quadro termografico anormale mostravano una ridotta capacità di fecondazione durante gli accoppiamenti naturali.

Industria avicola

Tessier *et al.* (2003) determinarono termograficamente la temperature superficiali in broiler sani per valutare le normali variazioni tra i soggetti, considerando anche i fattori che potrebbero alterare i risultati, come la durata della contenzione, il lato dell'addome esaminato, l'età e il momento del giorno in cui si eseguono le scansioni. Dai risultati ottenuti si osservò che le variazioni erano minime, inferiori a 0,5°C, a parità di altre condizioni.

Lo studio suggerisce quindi che la termografia ad infrarosso può essere utilizzata per lo studio della temperatura superficiale in questi animali facendo intravedere l'applicazione dello strumento per un monitoraggio di massa nell'identificazione dei soggetti febbrili per esempio in caso di influenza aviaria.

Stress e benessere animale

Il benessere animale non è facilmente misurabile come avviene per le variabili semplici, tuttavia può essere valutato considerando i vari aspetti e problemi correlati e misurando le risposte degli animali alle pressioni esterne. Per quantificarlo si cerca così di raccogliere segnali diversi, interpretati come espressioni di stress, che coinvolgono una serie di discipline che interagiscono tra loro e consentono di descrivere il rapporto degli animali con il proprio ambiente, misurando la loro reattività e la capacità di adattamento in risposta alle varie situazioni. Questi segnali possono essere fisiologici, comportamentali, o riguardanti le produzioni.

Tra i parametri fisiologici, oltre al rilevamento dello stato di salute generale, come la presenza di patologie, il livello di nutrizione e l'efficienza riproduttiva, è possibile misurare il battito cardiaco, la frequenza respiratoria, la pressione arteriosa, l'attività del sistema immunitario e la concentrazione di alcune sostanze nel sangue, rappresentate dal cortisolo e da un gruppo di protidi detti appunto "proteine dello stress".

Quando un animale è stressato, l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è attivato e la produzione di calore, come risultato dell'aumento della concentrazione di catecolamine e cortisolo, in aggiunta alle risposte del flusso sanguigno, produrrà cambiamenti nella produzione di calore e nella dispersione dagli animali (Schaefer *et al.*, 2002). Ciò può essere rilevato usando una termocamera a infrarossi che raccolga immagini in tempo

reale e a distanza, senza la necessità di contatto o costrizione che provocherebbero essi stessi stress e renderebbero i risultati meno affidabili .

Quando si usa la termografia ad infrarosso per questo scopo, assieme alle corrette modalità di raccolta delle immagini, che includono la valutazione degli aspetti ambientali e del soggetto, devono essere considerati fattori quali l'effetto dei ritmi circadiani, del periodo che segue il pasto, della lattazione e del riposo che richiedono ulteriori indagini per avvalorare questa tecnologia come strumento capace di misurare lo stress.

La termografia ad infrarosso è stata usata con successo per rilevare i bovini che sono predisposti a produrre carne “dark-firm-dry” (Tong *et al.*, 1995), e suini “pale-soft-exudative” (Schaefer *et al.*, 1989) e per monitorare lo stress da trasporto nei bovini (Schaefer *et al.*, 1988).

Ci sono diversi siti del corpo che possono essere monitorati usando la termografia per indicare l'impatto di eventi potenzialmente avversi. Per esempio, è stato trovato un importante aumento del calore irradiato dalla superficie dorsale dello wapiti in risposta alla rimozione del velluto dal corno (Cook e Schaefer, 2002). Un altro studio ha mostrato aumenti nella temperatura dell'occhio in risposta alla rimozione del velluto dal corno del cervo e della renna (Cook *et al.*, 2005).

Qualità delle strutture negli allevamenti

L'applicazione della termografia ad infrarosso nel campo dell'edilizia zootecnica si è rilevata di grande interesse per una gestione attenta e accurata dei fattori ambientali nell'allevamento intensivo, dove gli animali hanno perso gran parte della loro rusticità. Infatti la verifica della qualità del ricovero, come pure la valutazione della funzionalità operativa dei sistemi per il ricambio dell'aria, sono essenziali per controllare l'insorgere di numerose patologie condizionate e quindi per garantire un miglior stato di salute e benessere degli animali e per il completo sfruttamento delle loro performance produttive, sia in termini quantitativi che qualitativi. (Navarotto *et al.*, 2003).

L'isolamento del ricovero è, tra tutti i fattori, sicuramente quello più difficile da verificare in una struttura esistente e causa la formazione dei temuti “ponti termici”, frequentemente riscontrabili nei ricoveri zootecnici.

La presenza di zone meno isolate, dove si ha quindi una maggiore dispersione del calore, può compromettere il grado di coibentazione dell'intera struttura e quindi la sua capacità di mantenere le condizioni termiche interne costanti nel tempo e indipendenti da quelle esterne. Nei periodi autunno-invernali, la presenza di discontinuità di isolamento determina poi la formazione di condensa sulle superfici interne con un evidente peggioramento delle condizioni igieniche dell'ambiente per lo sviluppo di flora fungina e aumento della carica microbica. Inoltre un'inadeguata coibentazione del ricovero genera un aggravio economico nelle spese di climatizzazione degli ambienti.

La possibilità di verificare facilmente il reale comportamento termico del ricovero risulta quindi di grande interesse applicativo e in questo contesto la termografia ad infrarossi rappresenta uno tra i mezzi più efficaci e pratici per questo tipo di indagine, e offre il vantaggio di poter acquisire vere e proprie mappe termiche delle strutture dell'allevamento con una singola ripresa.

Nello studio citato sono state messe in evidenza le caratteristiche di isolamento di alcuni ricoveri suinicoli attraverso la realizzazione di termogrammi in cui la diversa distribuzione dei colori indicava i fenomeni termici presenti nelle strutture esaminate. Inoltre lo strumento ha permesso di misurare la differenza di temperatura fra zone isolate e zone non isolate.

Monitorando la superficie esterna e quella interna delle pareti si è notata la presenza di disomogeneità fra zone contigue e di infiltrazioni d'aria fredda dall'esterno che inducono correnti d'aria fredda a livello degli animali e una notevole disomogeneità delle condizioni microclimatiche interne oltre che un forte impatto sulla temperatura ambientale.

La termografia ad infrarossi potrebbe trovare anche un importante impiego nel monitoraggio degli ambienti climatizzati per risalire alla distribuzione delle correnti d'aria e alla stratificazione della temperatura generate dagli impianti in un ambiente chiuso e per valutare se i sistemi di ventilazione, naturale o forzata, garantiscono temperature desiderate omogenee.

Analisi dei foraggi insilati

La qualità dell'insilato può essere determinata utilizzando sia approcci tradizionali, come analisi organolettiche e analisi chimiche, sia approcci innovativi, come quello proposto

dallo studio condotto da Cassinis *et al.* (1993) mediante la termografia. L'obiettivo principale del lavoro è stato quello di individuare le discontinuità termiche nelle masse insilate in silos orizzontali (trincee) a cui spesso corrispondono alterazioni nei processi di maturazione. Tali anomalie, riportate sotto forma di livelli discreti di temperatura e interpretate tenendo conto delle caratteristiche biochimiche dei foraggi, consentirebbero di monitorare i fenomeni che avvengono all'interno del sistema, nonché di individuare e quindi di intervenire sulle cause delle perdite quantitative e di appetibilità del foraggio. Sono stati studiati più tipi di foraggio con attitudini diverse all'insilamento, in relazione al contenuto di carboidrati solubili, al potere tampone e alla sostanza secca. Infatti i carboidrati solubili rappresentano il substrato ideale dove, in ambiente anaerobio, si sviluppano i batteri lattici. Tali batteri sono responsabili della buona conservazione della massa in quanto l'acido lattico che producono fa diminuire il pH e quindi fa cessare le attività fermentative ed enzimatiche rendendo stabile l'insilato sotto il profilo chimico-fisico.

La massa del foraggio deve essere stivata in modo da limitare i fenomeni di rirespirazione delle cellule vegetali e il proliferare di microrganismi aerobi dannosi alla buona conservazione del prodotto, che rappresentano la causa della maggiore perdita percentuale di sostanza secca e di energia sotto forma di calore di fermentazione. Tale innalzamento termico del prodotto è infatti un segnale inequivocabile del deterioramento dell'insilato.

Sulle termografie eseguite è stato possibile osservare innalzamenti di temperatura del "cappello" della massa insilata per fenomeni di rifermentazione aerobica dovuti all'inadeguato sistema di chiusura del silos che non esercitava una pressione uniforme e sufficiente sul materiale e aveva permesso infiltrazioni d'aria nello strato più superficiale.

Aumenti localizzati della temperatura furono rilevati anche nei due angoli superiori del fronte, zone particolarmente critiche, a seguito delle difficoltà di compattamento dalle quali possono derivare deterioramenti aerobici di superficie a causa della proliferazione microbica.

In certi casi una zona laterale presentava una condizione termica locale imputabile ad una desilatura eseguita da poco e la massa appena esposta non si era ancora stabilizzata termicamente perchè risentiva ancora delle condizioni di maggiore temperatura

caratteristiche del cuore dalla massa insilata. Questo fenomeno rappresenta una fonte di disturbo, perciò, per una migliore indagine termografia, occorrerebbe preparare opportunamente il fronte di taglio, ossia rimuovere omogeneamente e su tutto il fronte uno strato di almeno 70-100 cm.

La termografia permette inoltre di condurre eventuali indagini chimiche mirate solo alle zone che si sono rivelate critiche. Si possono poi dedurre indicazioni circa il corretto dimensionamento e le modalità costruttive del silos e può essere formulato un giudizio sulla realizzazione dell'insilato, analizzando caratteristiche quali compressione, copertura e isolamento.

Animali selvatici liberi ed allevati in cattività

Essendo la termografia una tecnica applicabile a distanza, sono evidenti i vantaggi che si ricavano dal suo utilizzo nelle specie esotiche, negli animali selvatici e in quelli allevati allo stato brado. Questa tecnica risolve problemi notevoli come la cattura dei soggetti, talvolta difficoltosa al punto da impedire la raccolta di qualsiasi dato. Negli stessi animali la non invasività fa della termografia uno strumento diagnostico preferibile rispetto ad altri in quanto evita di far subire degli stress che potrebbero peggiorare la situazione o alterare i risultati dell'indagine.

La diagnosi di disfunzioni fisiologiche in questi animali di solito avviene dopo che la malattia si palesa da sola attraverso la manifestazione dei segni clinici o quando un trauma o anomalie dello sviluppo impediscono le normali attività.

La termografia è una delle ultime tecnologie che ha trovato applicazione negli zoo e negli acquari in tutto il mondo e le prime testimonianze sull'uso della tecnica ad infrarosso negli animali in questi centri riguardarono la possibilità di arrivare ad una diagnosi di gravidanza, d'infezione o di rilevare la presenza di tessuti necrotici senza la necessità di ricorrere alla narcotizzazione.

I dipartimenti di ricerca e di veterinaria dello zoo di Memphis hanno collaborato in un progetto di studio con il Dr. Willard dell'università del Mississippi, per valutare le applicazioni della termografia ad infrarosso nel monitoraggio fisiologico degli animali selvatici in cattività (2005).

Gli obiettivi della ricerca erano valutare l'uso della termografia ad infrarosso nella capacità di definire i gradienti di temperatura associati alla salute in elefanti e giraffe, nel

monitoraggio della temperatura corporea attraverso valutazioni dei gradienti della temperatura oculare e della superficie cutanea in un grande numero di specie allevate in cattività e nell'indagare l'abilità della termografia ad infrarosso di rilevare stati fisiologici o anormali in questi animali.

Sta crescendo inoltre l'utilizzo degli infrarossi anche da parte di zoologi per comprendere meglio il comportamento degli animali, per osservarne gli spostamenti notturni o per effettuare il censimento nei parchi nazionali (Garner *et al.*, 1995).

Diagnosi precoce di zoppia negli erbivori

Attraverso l'uso della termografia come parte della gestione clinica di routine dei grandi erbivori, come elefanti e giraffe, si potrebbe arrivare precocemente a diagnosi di zoppia dovuta a patologie degli arti per prevenire l'aggravarsi di questi problemi grazie ad un intervento terapeutico tempestivo.

I problemi del piede costituiscono una delle indisposizioni più importanti per la gestione degli elefanti in cattività. Nei grandi esemplari africani, che pesano circa 6 tonnellate, in stazione quadrupedale ciascun arto deve supportare il peso di 1,5 tonnellate, che in movimento arriva fino a 3 tonnellate. Sostenere pesi di questa natura ovviamente comporta delle conseguenze per piedi e gambe, perciò tecnologie per la prevenzione o la diagnosi precoce sono molto utili.

Recentemente gli standard dell'**American Zoo and Aquarium Association (AZA)** per la gestione dell'elefante e le linee guida per la sua cura (aggiornati al 2003) consigliano che ogni elefante degli zoo del Nord America abbia un archivio di tipo radiografico o termografico dei loro piedi per fungere da controllo in caso si dovesse sviluppare un problema.

Il Dr. Willard in collaborazione con il Dr. Kouba e il Dr. Zimmerman dello zoo di Memphis hanno eseguito le scansioni dei cuscinetti plantari e delle unghie per cercare di identificare l'aspetto di un termogramma normale.

Ulteriori contributi in questo senso arrivano da strutture come il Santuario degli elefanti di Riddle in Arkansas dove, monitorando il grande numero di animali presenti si vuole stabilire cosa sia normale per un piede di un elefante in relazione alla specie (africano o asiatico), al sesso o l'età per migliorare così la cura e la diagnosi precoce dei problemi del piede.

Diagnosi di gravidanza e rilevazione dell'estro

Il monitoraggio del ciclo riproduttivo delle specie in cattività o selvatiche è stato compiuto per molto tempo e ha impegnato diversi ricercatori.

La tecnica consisteva nell'analisi dei livelli ormonali nei campioni di feci o urine e si è rilevata utile per determinare il momento ottimale dell'accoppiamento o per la rilevazione della gravidanza, aspetti molto importanti per la gestione dei parchi.

Negli ultimi anni la termografia è stata usata per valutare la gravidanza in alcune specie domestiche ed esotiche e può rappresentare una delle alternative non invasive per la diagnosi di gravidanza. L'aumento termico osservabile sarebbe probabilmente dovuto all'alta natura metabolica della placenta e al numero concentrato di vasi che la circondano per favorire il nutrimento del feto.

Nel 2003 la dottoressa Durrant dello zoo di San Diego usò la termografia ad infrarosso per diagnosticare la gravidanza in una femmina di panda gigante, confrontando i dati raccolti da una ecografia eseguita parallelamente.

Furono eseguite immagini seriali dopo un accoppiamento naturale e fu possibile osservare, al giorno 48 una zona di calore uniforme sulla cute della linea mediana, sopra l'apparato riproduttivo, che nelle termografie successive tendeva ad ingrandirsi e ad espandersi su entrambi i lati dell'addome. Ciò era indicativo di un'ingente perfusione di sangue ad entrambe le corna uterine in preparazione dell'impianto. Al giorno 97 apparvero due distinte aree di calore, una su ciascun corno uterino, ad indicare lo sviluppo di due placente e al giorno 134 un'ecografia rivelò due feti vivi nell'esatta posizione delle due zone di calore visualizzate, confermando così la veridicità delle immagini termografiche. Al giorno 150 un solo feto era sopravvissuto.

L'analisi termografica avrebbe anche la potenzialità di individuare una gravidanza o una perdita fetale ad impianto appena avvenuto o subito dopo, poichè gli ultrasuoni non sono efficaci nel mettere in evidenza gli embrioni durante i periodi che precedono l'impianto che in questi animali sono lunghi e variabili.

La termografia potrebbe rivelarsi quindi di grande interesse per stabilire la reale frequenza di concepimenti multipli e per quantificare la perdita fetale pre o post impianto nel panda.

La conoscenza del momento della perdita fetale aumenterà la comprensione sulla fisiologia della gestazione in questa specie e permetterà quindi di intervenire per aumentare la potenzialità di gestazioni multiple.

Termografia e stato emotivo dei primati

Esiste uno studio di Nakayama *et al.* (2005) su primati non umani in cui la termocamera è stata utilizzata per evidenziare i cambiamenti della temperatura in relazione ad uno stimolo emotivo. Sono state rilevate le immagini termografiche di varie regioni facciali di quattro macachi mentre veniva presentata loro una persona potenzialmente minacciosa, con camice e rete da cattura in mano. Si vide che la temperatura della regione nasale diminuiva sensibilmente in 10-30 secondi e continuava a scendere per l'intera durata dello stimolo. Durante tutto questo periodo le scimmie mostrarono anche una serie di espressioni facciali legate ad uno stato emotivo negativo che suggerì come la temperatura nasale potesse effettivamente essere un affidabile e accurato indicatore di un cambiamento dello stato emotivo in questi animali.

Censimento degli animali selvatici

La termografia ad infrarosso è stata utile per effettuare una stima accurata e precisa della densità della popolazione degli animali selvatici.

In uno studio condotto da Gregory (2005) fu utilizzata la videografia aerea ad infrarosso (ATIRV) per monitorare la popolazione del cervo dalla coda bianca. La tecnica si dimostrò vantaggiosa perché permetteva di superare alcune limitazioni dei metodi tradizionali (ad esempio lo "spot light") che offrono risultati variabili, necessitano di una manodopera intensa, sono costosi e possono essere di disturbo per gli animali.

Le misurazioni vennero effettuate di notte, in più zone di rilevamento e paragonando tre diversi metodi matematici per valutare la densità che utilizzavano i dati ottenuti dall'ATIRV.

Altri possibili utilizzi

Altri utilizzi potenziali della termografia per monitorare la fisiologia animale o l'ambiente continuano includono la valutazioni della dentizione nei mammiferi marini e la termoregolazione nei pipistrelli o in altri piccoli mammiferi.

Inoltre la termografia può essere applicata nelle ore notturne per registrare la presenza e l'attività di animali a sangue caldo nel buio e ciò è particolarmente utile nelle specie notturne per lo studio del loro comportamento.

Molti tipi di rettili, coccodrilli e tartarughe devono crogiolarsi al sole e raggiungere la temperatura corporea ottimale per la funzionalità del loro sistema enzimatico ed immunitario, per una buona digestione e un comportamento normale. Il Dr. Fleming ed i suoi collaboratori dell'università della Florida stanno usando la termografia per valutare visivamente l'ambiente termico di cattività di diversi rettili allo scopo di formulare alcune raccomandazioni per l'ambiente di allevamento e migliorare la loro salute e il loro benessere.

La termografia potrebbe essere anche utile per seguire la guarigione delle ferite in alcuni animali a sangue freddo, come avviene per quelli a sangue caldo.

Materiali e Metodi

Descrizione dello strumento

La termocamera utilizzata nelle esperienze è il modello ThermaCAM P25 della FLIR Systems, acquistata con i fondi per il progetto BEN-O-LAT finanziato dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali.

Le immagini ad infrarosso sono memorizzate dallo strumento in formato JPEG standard su scheda Flash estraibile da 128 Mb e, tramite collegamento USB o inserimento della scheda di memoria nella porta del PC, le immagini sono successivamente trasferite su computer grazie al software ThermaCAM QuickView e analizzate con il programma ThermaCAM Reporter 7.0, basato su Microsoft Word.

Caratteristiche tecniche dello strumento

- Campo di vista: 24°x 18°
- Distanza minima di messa a fuoco: 0,3 m
- Risoluzione spaziale: 1,3 mrad
- Detector FPA microbolometrico non raffreddato di IV generazione
- Sensibilità termica a 50,60 Hz: 0,08°C a 30°C
- Campo spettrale: da 7,5 a 13 μm
- Intervallo di misura della temperatura: da -40°C a +500°C
- Risoluzione delle immagini: 320x240 pixel
- Frequenza di acquisizione immagine: 50 Hz
- Digitalizzazione immagini: 14 bit
- Funzioni di misura: puntatore
- Messa a fuoco: automatica o manuale
- Commento vocale: 30 secondi per ogni immagine
- Controllo remoto: RS 232
- Uscite Video: PAL e S-Video
- Indicatore dello stato della batteria, del supporto per il salvataggio e dello stato del sistema.
- Visore monoculare a colori



- Alimentazione: 2 batterie Li-Ion ricaricabili, autonomia 2 ore di funzionamento continuato.
- Caricamento nella termocamera o su supporto esterno con due vani.

Eeguire una termografia

L'utilizzo pratico della termocamera è abbastanza intuitivo e le funzioni, alle quali si accede facilmente grazie al joystick e ai pulsanti posti sul corpo dello strumento, la rendono all'apparenza simile ad una macchina fotografica digitale.

Tuttavia questa è solo la prima impressione e incominciando ad utilizzare la termocamera ci si rende conto che non è sufficiente “scattare una foto” per sfruttare appieno le funzionalità della macchina.

Infatti, prima di eseguire la raccolta dell'immagine lo strumento deve essere tarato affinché la temperatura superficiale misurata sull'oggetto studiato sia reale e vengano meno i fattori di disturbo derivanti dall'ambiente e dalle caratteristiche della struttura esaminata.

L'operazione preparatoria è importante perché permette di focalizzare al meglio l'attenzione sull'area di maggior interesse in modo da permettere la rilevazione di differenze della temperatura superficiale minime dovute a fattori interni all'oggetto e quindi di interesse diagnostico clinico.

Per impostare lo strumento si sceglie dal menù delle funzioni la voce “Analisi” e dal sottomenù si entra nella regolazione dei “Parametri oggetto” che permette di impostare i valori dei seguenti parametri:

1. Emissività: si riferisce alla quantità di energia termica irradiata dall'oggetto. Tale coefficiente dipende dal materiale, dallo stato della superficie, dalla temperatura e dalla lunghezza d'onda ed è solitamente tabulato per i vari materiali in diverse condizioni. In tutte le misurazioni seguite nelle esperienze pratiche di questo lavoro è stato assegnato come valore di emissività per la cute degli animali 0,93; questo indica come essa si comporti in modo abbastanza simile ad un corpo nero, tendendo ad assorbire la radiazione incidente su di essa ad riflettere poco;
2. Temperatura ambientale;
3. Temperatura riflessa: per bilanciare la radiazione riflessa sull'oggetto e quella emessa dall'atmosfera tra la termocamera e l'oggetto stesso:

4. Distanza: per bilanciare l'assorbimento della radiazione tra l'oggetto e la termocamera dovuto alla "trasmittanza", che diminuisce all'aumentare della distanza. Si deve tener conto infatti della presenza di un mezzo tra l'oggetto e lo strumento, rappresentato dai gas dell'atmosfera terrestre che hanno anch'essi proprietà termiche e sono importanti da considerare per evitare eccessive attenuazioni della radiazione emessa dal corpo;
5. Umidità: La trasmittanza dipende in parte anche da questo parametro.

Inoltre lo strumento può eseguire le misurazioni della temperatura superficiale sia in modalità "continua", indicando automaticamente il range di temperatura che varia in base al calore rilevato nella direzione verso cui si punta la termocamera, sia "manuale", vale a dire facendo scegliere direttamente all'operatore l'intervallo di temperatura, che poi rimane fisso. Questa seconda possibilità permette di aumentare, diminuire, allargare o restringere a piacimento e a seconda delle necessità, la scala dei valori di temperatura. Ciò risulta molto vantaggioso quando si vuole focalizzare l'attenzione su un oggetto che in modalità continua risulta tutto della stessa temperatura, per discernerne le variazioni nelle diverse zone, oppure se l'oggetto in questione presenta valori fuori scala, con una temperatura troppo alta o troppo bassa rispetto all'ambiente che lo circonda.

Un'altra importante considerazione per ottenere una buona termografia sono le condizioni e le modalità di esecuzione, che devono essere controllate per evitare che i molti fattori esterni alterino in qualche misura il risultato. Lo scopo è quello di ottenere un ambiente e un soggetto che siano il più possibile standardizzati prevedendo quali potrebbero essere gli elementi di disturbo.

La qualità della scansione può essere peggiorata da diversi elementi, come il tipo di clima, l'animale ansioso o irrequieto, fattori che aumentano il tono simpatico, l'arrivo in un ambiente a temperatura diversa rispetto a quello dell'esame, la rimozione di coperte o bendaggi, le differenze stagionali della lunghezza del pelo e le tosature. Così, affinché la scansione sia efficace, è essenziale la verifica delle condizioni ambientali in cui è condotta la misurazione.

Le scansioni andrebbero compiute in un ambiente a temperatura controllata, a circa 20°, o in ogni caso non superiore ai 30°, con luce attenuata e non sotto i raggi diretti del sole per evitare erronei riscaldamenti della cute, in assenza di correnti d'aria e attendendo

circa 20 minuti in modo che avvenga l'acclimatazione all'ambiente dell'esame termografico.

L'animale deve essere correttamente immobilizzato, non strigliato né spazzolato da almeno due ore prima della misurazione, con il pelo di lunghezza regolare; deve avere il mantello pulito e asciutto, senza pomate, loro residui o altri materiali estranei. Lo sporco sull'animale altera l'emissività e la conducibilità e l'eccesso di umidità aumenta la perdita locale di calore verso l'ambiente o verso zone più secche del mantello (Palmer 1981, Turner, 1991).

Altri accorgimenti da tenere, soprattutto per quel che riguarda il cavallo sportivo, sono la sospensione nelle 24 ore precedenti l'esame dell'esecuzione di massaggi e dell'agopuntura in tutta la settimana precedente. Qualsiasi attività fisica o trattamento sedativo sono da evitare, in quanto influenzerebbero il flusso ematico in generale e in particolare la perfusione sanguigna cutanea.

A questo punto, una volta impostati tutti i parametri e fatte le opportune considerazioni sulla modalità migliore per eseguire la scansione, ivi compresa la scelta della distanza e del momento adatto, si inquadra il campo da termografare; viene messo a fuoco l'oggetto interessato e quindi si memorizza l'immagine nello strumento entrando nuovamente nel menù funzioni, scegliendo "File" e poi "Salva".

Inserendo la scheda Flash nel PC è possibile scaricare sul computer le immagini memorizzate nella termocamera per poterle successivamente analizzare con il software per lo studio termografico.

Il software

Il programma ThermaCAM Reporter 7.0 rappresenta il software di base per analizzare le immagini termografiche.

Dopo l'installazione del software su PC sarà sufficiente aprire un documento Microsoft Word per trovare assieme alle altre barre degli strumenti quella relativa al programma in questione (Figura 9).



Figura 9: Barra degli strumenti del software Thermacam Reporter 7.0.

Per inserire un nuovo termogramma bisogna selezionare l'icona "inserisci IR" in alto a sinistra e sarà così possibile visualizzare nel foglio Word la finestra del programma che indica il termogramma iniziale. Cliccando sull'immagine con il tasto destro del mouse compare una finestra di dialogo dalla quale si sceglie la voce "Apri..." per cercare tra le immagini termografiche salvate nel computer quella che si desidera analizzare (Figura 10).

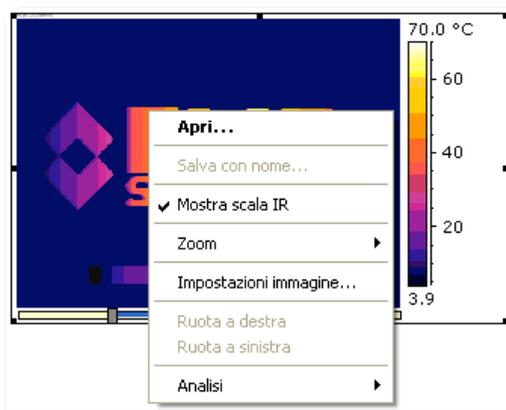


Figura 10.

Un termogramma è l'immagine dell'energia termica irradiata da un oggetto e della sua distribuzione su di esso. In questa rappresentazione visiva delle temperature i gradienti termici vengono mostrati utilizzando diverse colorazioni ed ogni tonalità corrisponde ad una determinata emissione di calore. Così i punti rappresentati dai colori posti più in alto sulla scala dei valori a lato dell'immagine corrispondono alle zone più calde. Al contrario ai punti il cui colore compare più in basso su questa scala corrispondono le temperature più fredde (Figura 11).

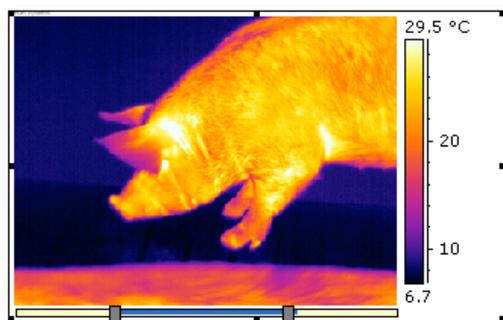


Figura 11

Prendiamo ora un'immagine a campione tra quelle raccolte nelle esperienze in campo come esempio per illustrare alcune delle funzioni base di analisi del programma utilizzate in questo lavoro.

Scegliendo la voce "Impostazione immagine" dallo stesso menù della figura 10 e poi "Scala" è possibile modificare la tavolozza dei colori con la quale rappresentare la distribuzione termica e i limiti del range di temperatura della scala sul lato sinistro (Figura 12). Questa ultima funzione può essere regolata anche spostando i due cursori che compaiono sotto l'immagine (Figura 13).

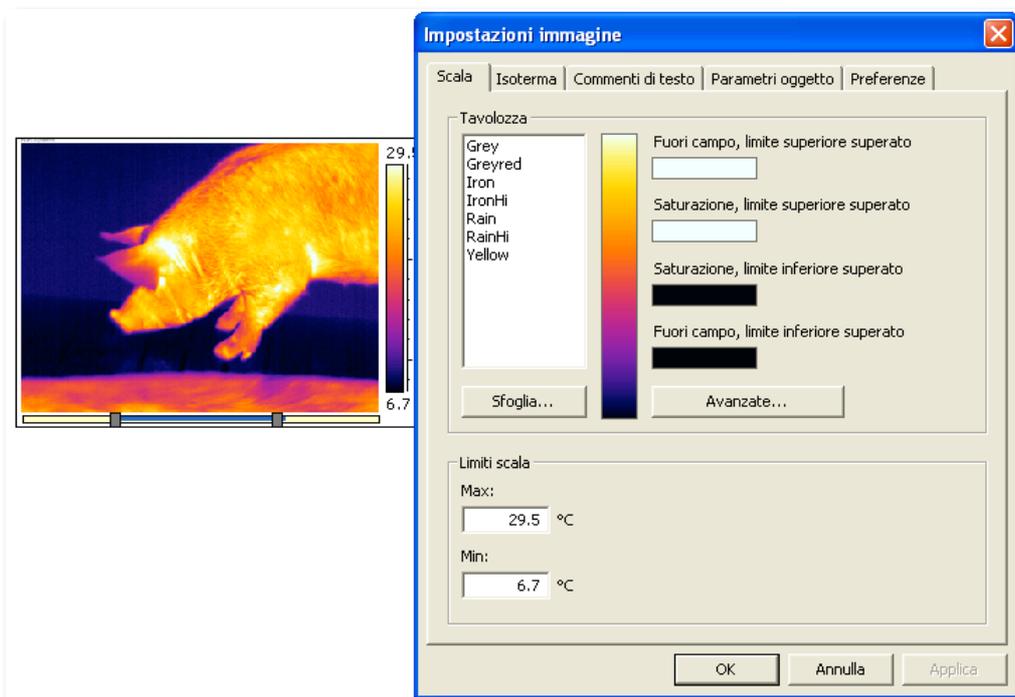


Figura 12

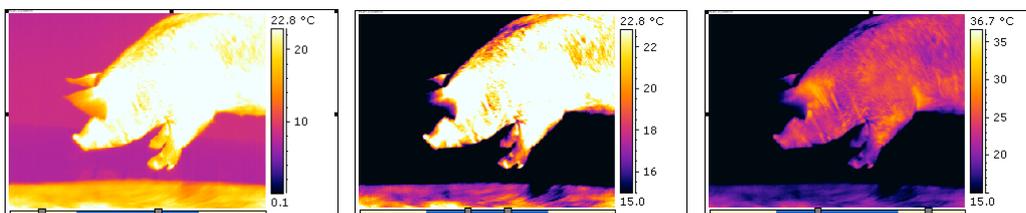


Figura 13

La scelta dei diversi tipi di tavolozza permette di visualizzare l'immagine termografia e identificare i gradienti termici con diverse colorazioni e tonalità che sono importanti per il colpo d'occhio e permettono una prima grossolana interpretazione dei risultati (Figura 14).

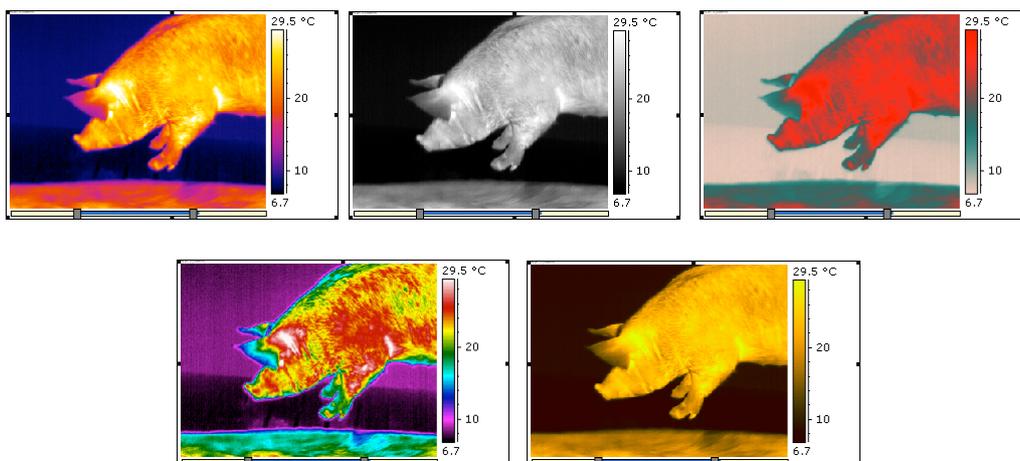


Figura 14: Rappresentazione della stessa immagine termografica con cinque diverse tavolozze: iron, grey, greyred, rain, yellow.

Scegliendo “Analisi” sempre dalla prima finestra si apre un sottomenù dal quale si possono selezionare diverse funzioni: “Puntatore”, “Area”, “Linea”, “Isoterma superiore”, “Isoterma inferiore” e “Intervallo isoterma” (Figura 15).

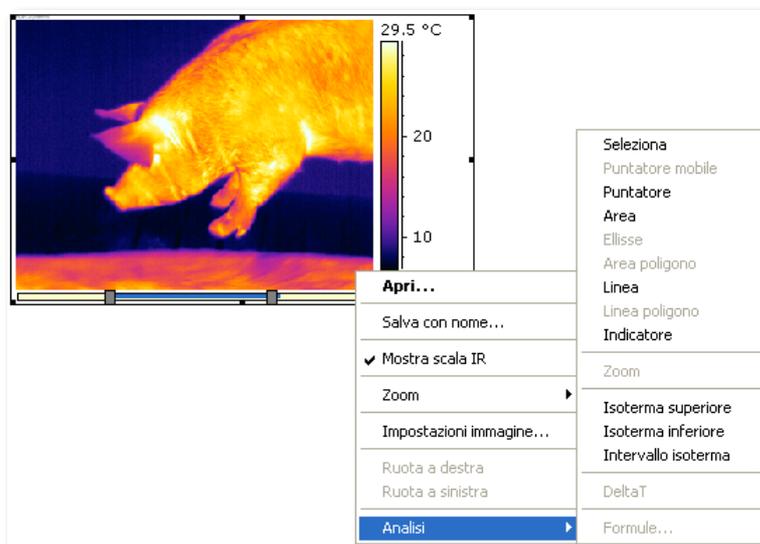


Figura 15

Scegliendo da questo nuovo elenco “Puntatore” compare sulla termografia un cursore e cliccando in un qualsiasi punto dell’immagine si può conoscere il valore della temperatura corrispondente. Premendo poi il tasto destro del mouse sopra il puntatore creato compare un altro menù dal quale è possibile scegliere “Impostazioni analisi”

(Figura 16) e apparirà la relativa finestra che permette di assegnare al punto individuato un'etichetta e di indicare il tipo di valore da mostrare (come temperatura, emissività, distanza) (Figura 17).

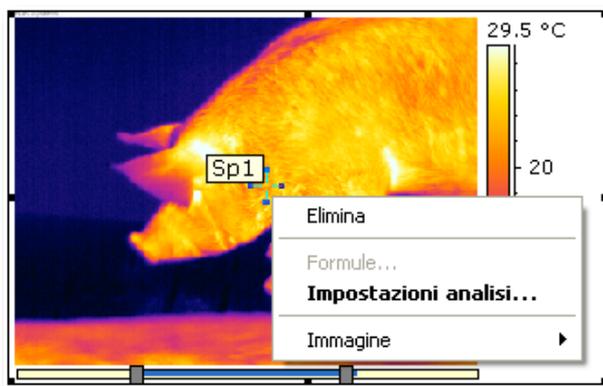


Figura 16

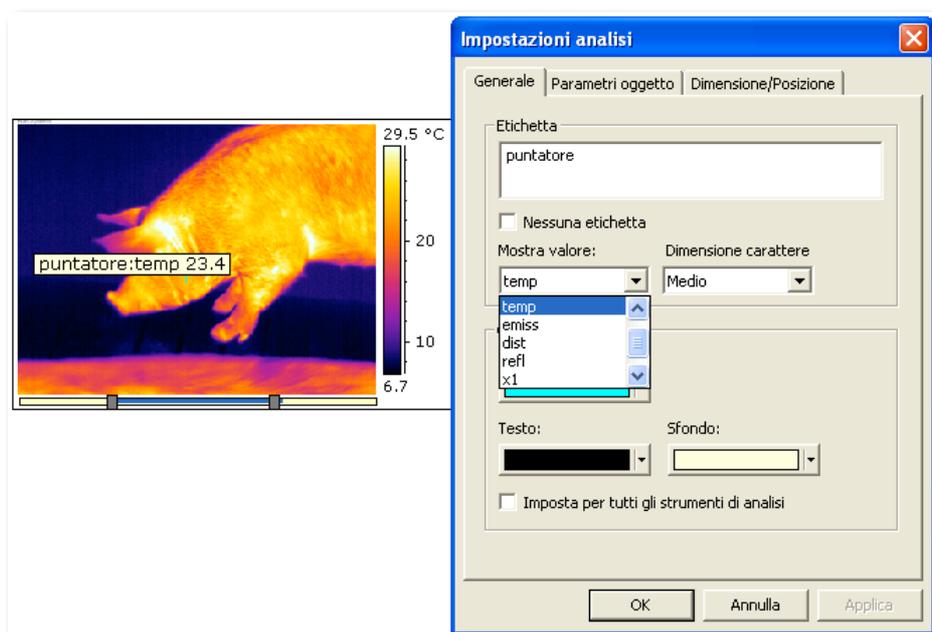


Figura 17

Se invece dal menù precedente si sceglie la voce “Linea” è possibile tracciare sull'immagine termografica una linea tra due punti qualsiasi e aprendo ancora la finestra

“Impostazioni analisi” si può anche in questo caso assegnare un’ etichetta e scegliere il valore da indicare lungo la linea selezionata (come temperatura media, temperatura massima, temperatura minima, emissività) (Figura 18).

Per questa funzione si può anche inserire un grafico che traccia per ogni punto della linea individuata il valore della temperatura (Figura 19).

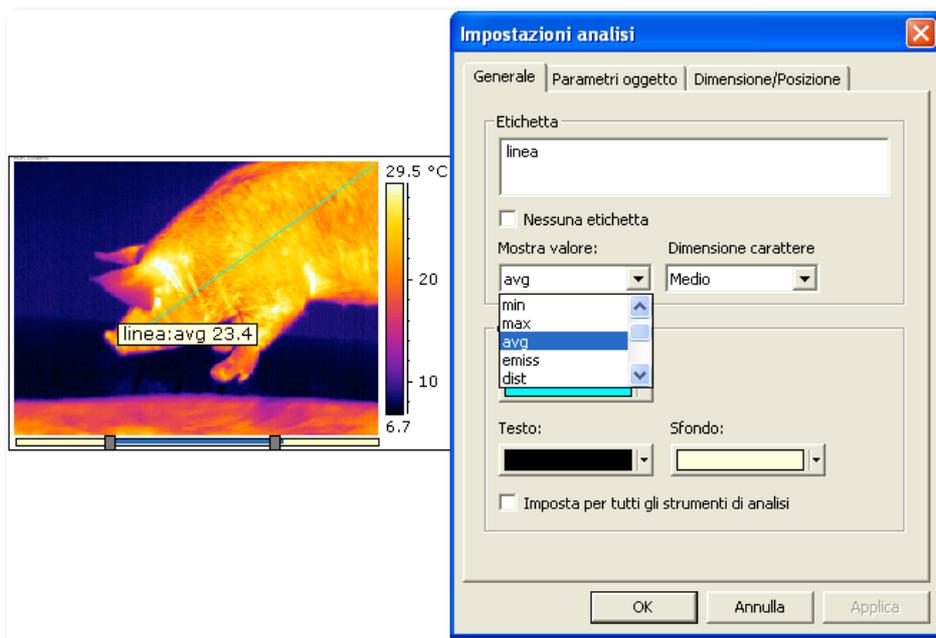


Figura 18

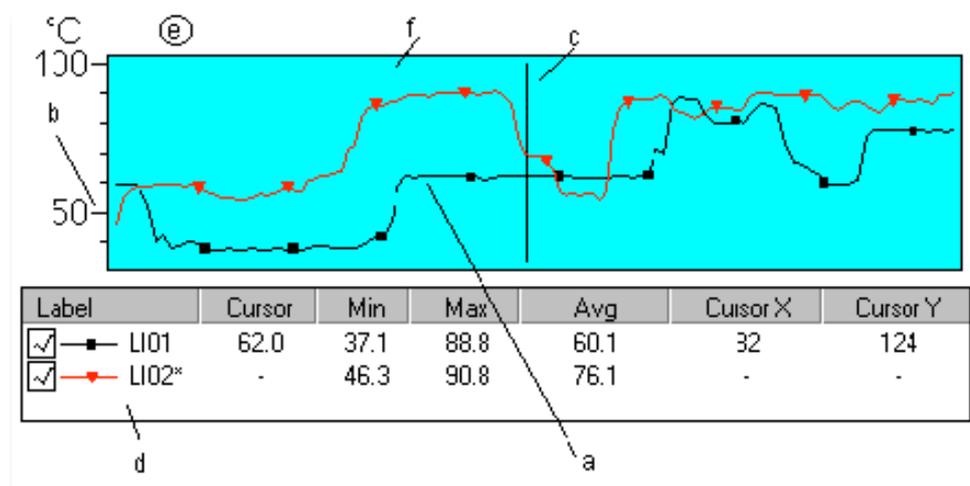


Figura 19

a Profilo	d Tabella Profilo
b Scala della Temperatura	e Grafico
c Linea del cursore	f Area del grafico

E' possibile inoltre scegliere "Area" per selezionare sull'immagine termografica una regione rettangolare delle dimensioni desiderate. Anche in questo caso è possibile inserire un'etichetta e indicare il valore da mostrare per l'area interessata (Figura 20).

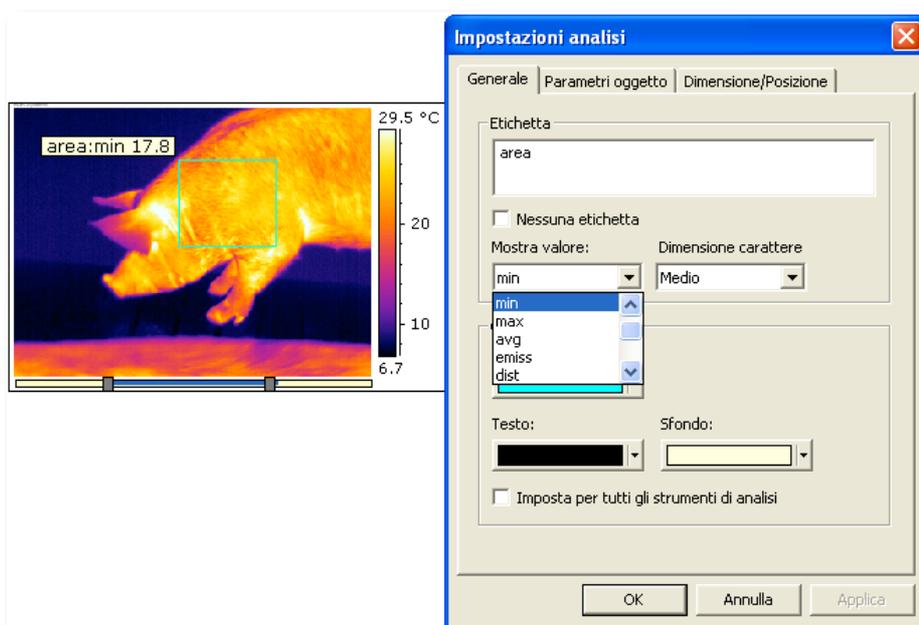


Figura 20

Il modo più semplice per valutare la distribuzione delle temperature all'interno di un'area o lungo una linea dell'immagine è guardare l'istogramma, che visualizza la quantità della area/linea che è occupato da un certo intervallo di temperatura (Figura 21). Basta mettere l'area/linea sull'immagine e passare alla finestra istogramma. Sotto il grafico a barre, vi è una tabella, in cui si seleziona quale strumento di analisi per la visualizzazione. Se si desidera modificare il numero di intervalli di classe o all'inizio/limite inferiore della la scala istogramma, questo può essere fatto dalla finestra di dialogo Impostazioni, disponibile sul tasto destro del mouse la mano quando si fa clic sulla parte superiore del istogramma. Il numero di classi permesso è 2-64. La scala istogramma è normalmente collegata alla scala di immagini a infrarossi, ma può essere impostata in modo diverso.

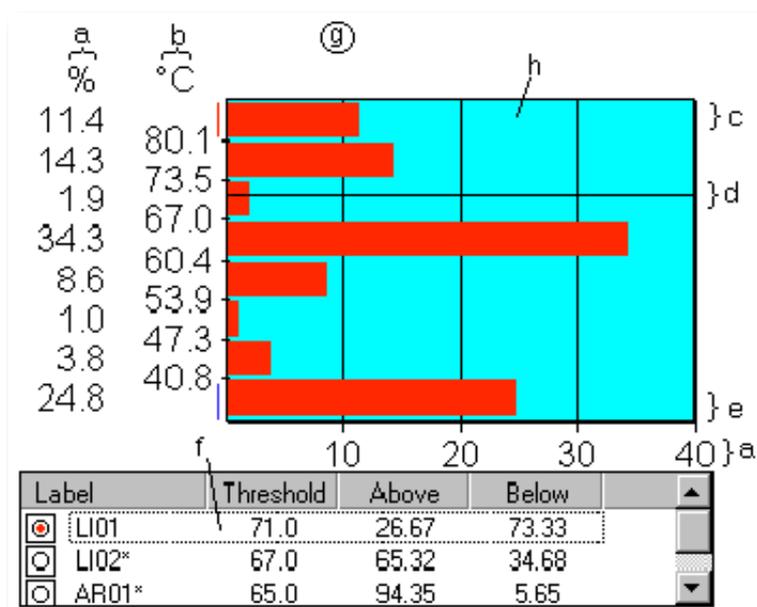


Figure 21

a Valori percentuali di ogni classe	e Underflow class
b Limiti delle classi di temperatura	f Tabella dell'istogramma
c Overflow class	g Grafico
d indicatore Threshold	h Area del grafico

Quelle parti della area/linea che ricadono al di fuori della scala di IR sono inclusi nel overflow/underflow classi.

Se si vuole essere in grado di vedere e confrontare due istogrammi, allo stesso tempo è necessario passare alla finestra istogramma oltre alla modalità dual istogramma. Successivamente, è possibile selezionare due strumenti di analisi per la visualizzazione, allo stesso tempo.

Dallo stesso menù si possono scegliere le funzioni per evidenziare le isoterme superiore, inferiore e l'intervallo di un'isoterma intermedia. Cliccando successivamente sull'immagine si sceglie dal menù che compare la voce "Impostazione immagini" e quindi dalla relativa finestra "Isoterma" dove è possibile stabilire i loro limiti e il colore con il quale rappresentarle (Figura 22 e Figura 23).

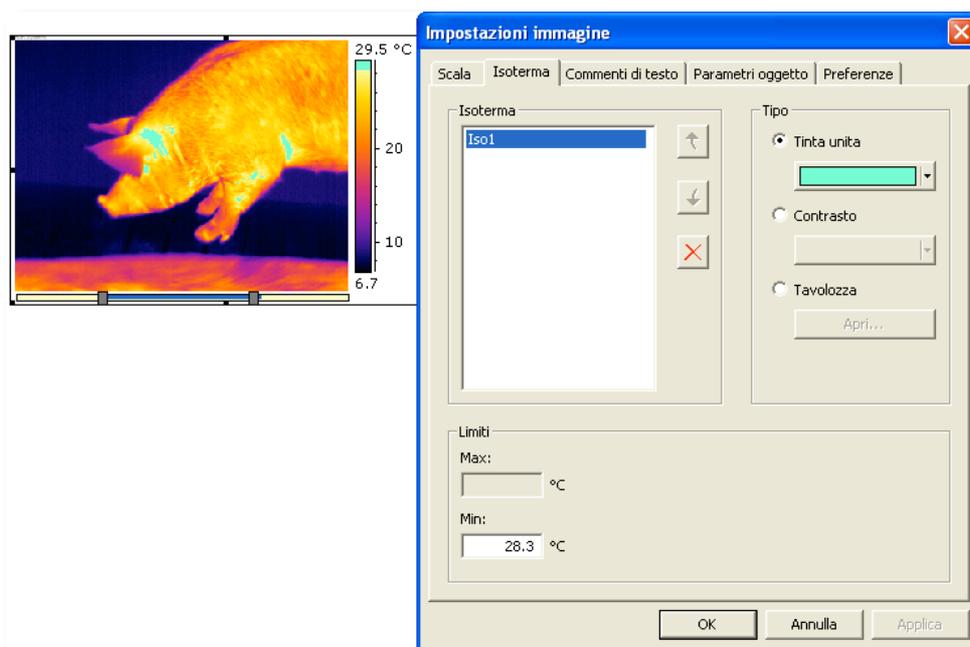


Figura 22: Rappresentazione dell'isoterma superiore e finestra in cui scegliere il colore per evidenziarla e il suo limite inferiore.

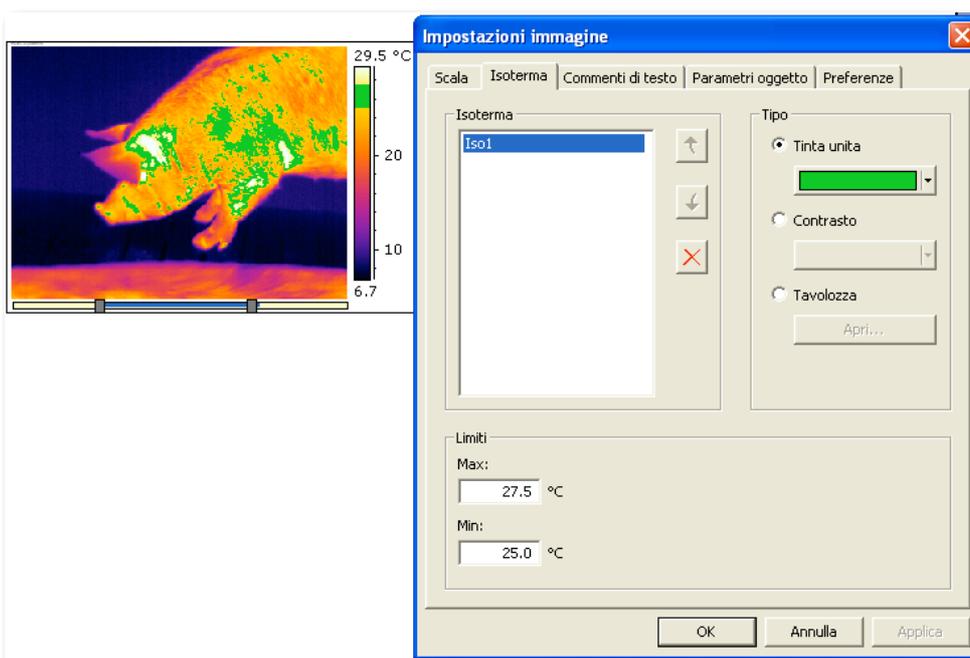


Figura 23: Rappresentazione dell'intervallo di un'isoterma intermedia e finestra che permette di sceglierne le caratteristiche.

Tra le funzioni del programma c'è quella che permette di inserire vicino all'immagine termografica una tabella che riassume tutti i parametri impostati ed eventualmente i valori delle analisi calcolati (Figura 24).

Parametri oggetto	Valore
Emissività	0.93
Distanza dell'oggetto	0.7 m
Temperatura riflessa	20.0 °C
Temperatura atmosferica	13.0 °C
Trasmissione atmosferica	1.00
Etichetta	Valore
puntatore	
linea: Max	
area: Avg	
Iso1	
Iso2	

Figura 24

Valutazione dello stress acuto nel cavallo sportivo: studio preliminare della termografia come ausilio diagnostico

I cavalli sono ben conosciuti per la loro acuta percezione sensoriale; essi sono attenti ai cambiamenti ambientali ed hanno utilizzato la loro capacità di percezione per facilitare la sopravvivenza (Waring, 2003); in una specie così sensibile, come quella considerata nel nostro studio, abbiamo pensato che una tecnica non invasiva per rilevare lo stress, avrebbe portato notevoli vantaggi sia per gli operatori sia per gli animali (Stewart *et al.*, 2005). Possiamo ricordare che tra i metodi attualmente impiegati per misurare lo stress negli animali, sono comuni alcune procedure, tra cui la valutazione di indicatori fisiologici mediante campionamento del sangue, che richiedono però il contenimento degli animali ed altre manualità, che possono, a loro volta, creare situazioni con probabile interpretazione dei risultati poco corretta. La termografia ad infrarossi, permettendo di eseguire valutazioni di temperatura lontano dagli animali e senza contatto, può essere molto importante nella determinazione di un loro stress acuto (Stewart *et al.*, 2005). Per la valutazione dello stress sono state effettuate due prove, una di bendaggio degli occhi e una di frustrazione alimentare; le variazioni della temperatura, rilevate con l'ausilio della termografia ad infrarossi, sono state poi confrontate con altri parametri, solitamente variabili in risposta allo stress, per valutare quanto potessero essere indicative. Per avere un'ulteriore approfondimento, abbiamo pensato di aggiungere un arricchimento ambientale alla prova sperimentale, ovvero una combinazione di complessi inanimati e di stimolazione sociale (Rosenzweig *et al.*, 1978) che, come dimostrano precedenti studi (Thorne *et al.*, 2005), dovrebbe migliorare il benessere degli animali stabulati e, di conseguenza, diminuirne lo stress; lo scopo di questa integrazione era, perciò, valutare se l'utilizzo della termocamera determinasse con accuratezza una situazione di stress differente tra soggetti sottoposti ad arricchimento alimentare e soggetti di controllo. Lo scopo di questo studio è, perciò, valutare le potenzialità della termografia ad infrarossi come tecnica per individuare lo

stress nel cavallo sportivo, al fine di ottenere un metodo non invasivo e complementare ad altre tecniche diagnostiche.

Materiali e metodi

MANAGEMENT DELL'AZIENDA

La parte sperimentale di questa tesi è stata svolta presso l'allevamento Valgranda situato a San Zenone degli Ezzelini (Treviso). L'azienda possiede all'incirca una sessantina di cavalli che vengono gestiti dall'allevatore aiutato da due efficienti e capaci "groomer" e da uno stalliere che si occupa dei box e della somministrazione mattutina di fieno. Il *management* dell'azienda prevede la crescita i cavalli in ampi recinti in collina per i primi tre anni della loro vita, trascorsi i quali inizia il loro ciclo di addestramento per il quale verranno trasferiti in scuderia. I box dei cavalli sono molto spaziosi, luminosi, ben areati e la loro pulizia viene effettuata ogni mattina in concomitanza al primo pasto. Il programma alimentare si svolge in tre momenti della giornata: il primo pasto viene somministrato alla mattina verso le ore 7 e consiste di solo fieno; al momento del secondo pasto, verso le ore 12.30, viene invece dato un mangime commerciale di buona qualità; per finire, la sera viene somministrato di nuovo fieno verso le ore 19 e dopo circa un'ora di tempo viene somministrato nuovamente il mangime.

PUNTI CHIAVE DELLA PROVA SPERIMENTALE E SPIEGAZIONE DELL'ARRICCHIMENTO AMBIENTALE

La prova sperimentale consiste nel sottoporre diversi soggetti ad uno stress acuto ed esaminare se alcuni parametri fisiologici (corticotropina ematica, cortisolo ematico, variazioni della temperatura rettale e frequenza cardiaca) ed altri di tipo comportamentale potessero essere in relazione alle variazioni della temperatura, rilevate con l'ausilio della termografia ad infrarossi, a livello dell'occhio e del trigono labiale.

La scelta delle aree sulle quali è stata effettuata la valutazione termografica è stata fatta dopo aver considerato i risultati presenti in letteratura inerenti al nostro lavoro.

La regione oculare è stata presa in considerazione valutando gli studi ed i risultati ottenuti in diversi articoli riguardanti il *welfare* animale (Cook *et al.*, 2001; Stewart *et al.*, 2007). Il trigono labiale, invece, è stato scelto come indicatore di vasocostrizione

periferica indotta da stress, dopo aver valutato altre regioni; era stato preso in considerazione, per esempio, anche l'orecchio, che, pur rappresentando un'eccellente alternativa, come dimostrano studi precedenti effettuati sui conigli (Blessing, 2003), nella specie equina non risulta essere un'area facile da analizzare per la continua mobilità della regione. Al contrario, il trigono labiale, si dimostra ideale per il nostro studio data anche la presenza di pelo corto e poco fitto, fattore molto importante per diminuire gli artefatti di questa tecnica.

La prova sperimentale è stata svolta in un ambiente normale (box) e le prove di stress sono state studiate in base al sistema sensoriale dei cavalli; la prima situazione di stress è stata indotta mediante il bendaggio degli occhi degli animali (*prova di bendaggio*); successivamente è stata svolta un'altra prova nella quale l'evento stressante è stato la somministrazione di cibo posto in una mangiatoia coperta mediante una rete di plastica, in modo che i cavalli riuscissero a vederlo ed annusarlo senza raggiungerlo (*prova di frustrazione*).

La prova di bendaggio degli occhi è stata scelta dato che quello visivo è il più importante sistema sensoriale dei cavalli (Waring, 2003); per spiegare ciò, bisogna ricordare che il cavallo non si è evoluto come predatore, e la sua sopravvivenza in natura si basa sulla capacità di fuga che scaturisce quando qualcosa viene percepito (soprattutto mediante la vista e l'udito) ma non compreso (Luxardo, 2005); ciò è permesso anche dalla larghezza del suo campo visivo, in grado di fornirgli un ampio panorama orizzontale (Waring, 2003). Data l'importanza di questo sistema sensoriale, come precedentemente affermato, abbiamo pensato che, privando temporaneamente il cavallo della vista, avremmo con molta probabilità indotto stress, come già dimostrato in un lavoro di Minero *et al.*, (2005).

La scelta della prova di frustrazione alimentare è stata fatta valutando la definizione di Broom (1993): "se i livelli della maggior parte dei fattori che favoriscono un comportamento sono sufficientemente elevati per lo scatenarsi dello stesso, è molto probabile che questo avvenga, ma, se a causa dell'assenza di stimoli chiave o per la presenza di barriere fisiche o sociali, il comportamento non avviene, si dice che l'animale è frustrato". In base a questa affermazione abbiamo dedotto che se noi avessimo offerto del cibo gradito ai cavalli, ma impedito a loro di raggiungerlo, avremmo presumibilmente indotto stress.

Il nostro studio prevedeva, inoltre, il confronto della reazione ad uno stress acuto di due gruppi di animali; uno di questi è stato posto in ambiente arricchito, l'altro fungeva da controllo. Per arricchimento ambientale si intende una combinazione di complessi inanimati e di stimolazione sociale (Rosenzweig *et al.*, 1978). L'arricchimento ambientale da noi messo in pratica è stato di tipo alimentare; la nostra scelta si è

indirizzata su una cassetta con del cibo (avena e carote), come spiegato nel sottocapitolo “Acclimatamento e mangime”.

Le direttive seguite nel nostro lavoro per ottenere un significativo arricchimento ambientale, sono state tratte, con alcune modifiche, da un articolo di Thorne *et al.*, (2005).

A questo esperimento hanno partecipato 9 cavalli (di età compresa tra 5 e 20 anni, appartenenti a varie razze), che, agendo come controllo di loro stessi, hanno ricevuto due trattamenti dietetici di peso comparabile: una dieta basata su un solo foraggio ed una a foraggi multipli. I cavalli sono stati divisi in coppie sulla base di altezza, peso, sesso, razza e quindi assegnati in maniera casuale ad uno dei due gruppi di trattamento. Uno dei due gruppi ha iniziato la dieta a foraggio unico e l'altro la dieta a foraggi multipli; dopo un periodo di acclimatamento di due giorni, sono stati osservati a giorni alterni, grazie ad una videocamera, durante la mattina ed il pomeriggio, per un periodo di 7 giorni. I gruppi sono stati successivamente invertiti e, dopo altri due giorni di acclimatamento, sono stati osservati per ulteriori 7 giorni.

Prelievi effettuati

Per ogni cavallo sono stati inizialmente effettuati due prelievi ematici, in maniera da ottenere per ognuno i valori basali di cortisolo e corticotropina. I prelievi sono sempre stati ripetuti all'inizio ed alla fine di ogni prova di stress effettuata, in modo da avere i valori di confronto prima e dopo il bendaggio e la frustrazione.

I materiali necessari per svolgere queste operazioni sono stati:

- cotone
- betadine (disinfettante battericida)
- alcool
- vacutainer
- provette per la raccolta del campione ematico:
 - provette a tappo rosso, senza anticoagulante, per la sierologia
 - provette a tappo viola, con K3EDTA

Rilievi effettuati

Per ogni cavallo sono stati effettuati ulteriori rilievi, sempre prima e dopo ogni prova, oltre a quelli basali; inoltre è stato sempre seguito lo stesso ordine di esecuzione, come indicato alla fine del capitolo nella scheda per la raccolta dei dati. I rilievi effettuati sono stati la temperatura rettale, con un termometro a mercurio, e la frequenza cardiaca, mediante il cardiofrequenzimetro Polar; sono state inoltre riprese delle immagini termografiche bilaterali a livello di occhio e di trigono labiale.

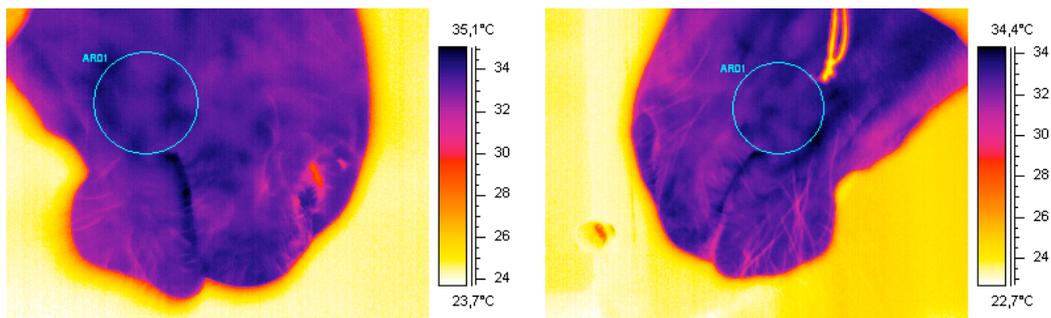


Figura 25: Immagini termografiche del trigono labiale.

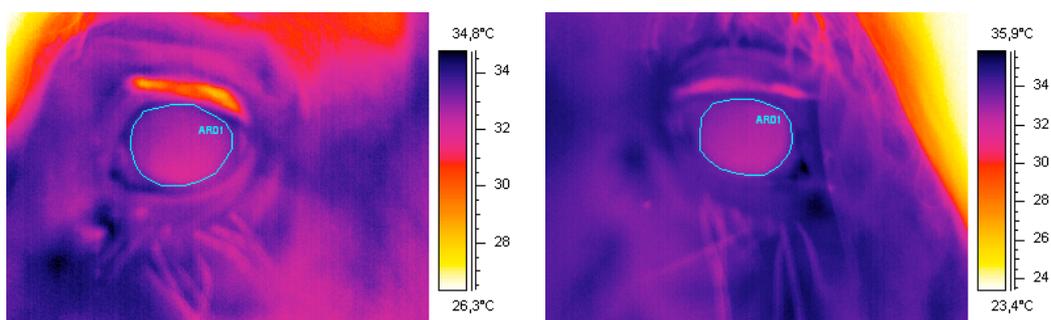


Figura 26: Immagini termografiche dell'occhio

Protocollo della prova sperimentale

Il protocollo scelto per questo esperimento è descritto di seguito; da tener presente che, allo scopo di migliorare la comprensione dello stesso, sono state usate delle abbreviazioni per indicare i gruppi interessati dalle varie attività citate; verrà indicato il gruppo A con l'abbreviazione GA, mentre per GB si intenderà il gruppo B.

PERIODO	GIORNI	OPERAZIONI DA SVOLGERE
Osservazioni baseline per tutti i cavalli (15 minuti per soggetto)		
0	1	Osservazione del GA
	3	Osservazione del GB
	5	Osservazione del GA
	7	Osservazione del GB
<i>GRUPPO A arricchito e GRUPPO B di controllo</i>		
1	1	PRELIEVI BASALI (GA e GB) ED INIZIO DELL'ACCLIMATAMENTO (GA)
	2	ACCLIMATAMENTO (GA)
	3	ACCLIMATAMENTO (GA) ED OSSERVAZIONI DURANTE IL PASTO (10') (GA e GB)
	4	ACCLIMATAMENTO (GA)
	5	ACCLIMATAMENTO (GA) ED OSSERVAZIONI DURANTE IL PASTO (10') (GA e GB)
	6	BENDAGGIO (10') (GA) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	7	FRUSTRAZIONE (5') (GA) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	8	BENDAGGIO (10') (GB) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	9	FRUSTRAZIONE (5') (GB) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
PAUSA DI 2 SETTIMANE		
Inversione dei gruppi		
<i>GRUPPO B arricchito e GRUPPO A di controllo</i>		
2	1	PRELIEVI BASALI (GA e GB) ED INIZIO DELL'ACCLIMATAMENTO (GB)
	2	ACCLIMATAMENTO (GB)
	3	ACCLIMATAMENTO (GB) ED OSSERVAZIONI DURANTE IL PASTO (10') (GA e GB)
	4	ACCLIMATAMENTO (GB)
	5	ACCLIMATAMENTO (GB) ED OSSERVAZIONI DURANTE IL PASTO (10') (GA e GB)
	6	BENDAGGIO (10') (GB) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	7	FRUSTRAZIONE (5') (GB) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	8	BENDAGGIO (10') (GA) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)
	9	FRUSTRAZIONE (5') (GA) Prelievi + Rilievi (ripresa video durante la prova)

I cavalli scelti per la tesi sono stati i seguenti (in ordine alfabetico):

NOME (in ordine alfabetico)	RAZZA	ETÀ (anni)	SESSO
ALABAMA	Sella Italiana	5	Femmina
AVANA	Sella Italiana	5	Femmina
BACCO	Sella Italiana	4	Stallone
BUGIA	Sella Italiana	4	Femmina
DIANA	Belga	5	Femmina
CRAZY	Sella Italiana	3	Stallone
LA ROME	Holstein	7	Castrone
URYQUEIN	Belga	11	Stallone

Procedimento

Durante il primo periodo, il gruppo A fungeva da gruppo sperimentale ed è stato quindi sottoposto ad arricchimento alimentare, mentre il gruppo B fungeva da controllo.

In questo periodo, abbiamo eseguito i prelievi baseline di tutti i cavalli prelevando mediante vacutainer due provette (siero e K3EDTA) di sangue per valutare la concentrazione ematica di cortisolo e corticotropina; inoltre sono stati eseguiti i rilievi di temperatura rettale, termogrammi dell'occhio e del trigono labiale da entrambi i lati, e di frequenza cardiaca.

Dal secondo giorno del primo periodo, per i cavalli del gruppo A è iniziato l'acclimatamento, dopo aver opportunamente standardizzato l'alimento ed il luogo del box dove l'arricchimento doveva essere localizzato; per comodità, ma soprattutto al fine di intervenire precocemente durante la prova di frustrazione (nel caso in cui i cavalli manifestassero troppo nervosismo e rischiassero di ferirsi), la cassetta è stata posta all'ingresso del box, subito dietro la porta scorrevole, dove veniva posto anche il fieno.

All'ottavo giorno sono iniziate le prove di bendaggio dei cavalli del gruppo A e anche la procedura per questa prova è stata il più possibile standardizzata; infatti, grazie ad una scheda di raccolta dei dati, ogni procedura è stata svolta dalle stesse persone e nello stesso ordine.

La prova di bendaggio, come quella di frustrazione, è iniziata con il contenimento dell'animale mediante capezza e lunghina. Per tutte le prove sono sempre stati eseguiti dei rilievi pre-prova e sempre con il medesimo ordine; inizialmente si è applicato il cardiofrequenzimetro Polar ai cavalli mediante l'ausilio di un gel (lo stesso usato per le ecografie), di cerotti per fissare gli elettrodi alla cute dell'animale e, infine, di una fascia che circondava tutto il torace (per questo scopo è stata usata una comune "fascia da lavoro" in pile, che ci è servita per fissare ulteriormente lo strumento in modo da evitare errori di lettura dovuti al distacco degli elettrodi a causa del movimento del cavallo). In seguito, si sono eseguiti i prelievi di sangue dalla vena giugulare previa disinfezione della cute con betadine ed alcool, si è misurata la temperatura rettale mediante un termometro al mercurio dopo averlo lubrificato con vaselina e, successivamente, si sono

registrati i termogrammi nel seguente ordine: occhio destro, occhio sinistro, labbro destro e labbro sinistro ad una distanza standard di 50 centimetri. Al termine dei rilievi prima della prova, si è proceduto con la prova bendaggio: senza agitare l'animale, gli è stata posta la maschera dalla parte sinistra (per convenzione); usciti poi dal box e si è continuato a riprendere con la videocamera tutta l'operazione per una durata totale di 10 minuti, trascorsi i quali, la maschera è stata tolta con la stessa cura con la quale era stata applicata, e si sono ripetuti tutti i prelievi ed i rilievi.

Il giorno seguente i cavalli di questo gruppo sono stati sottoposti alla prova di frustrazione, le cui linee guida seguite sono state le medesime della prova di bendaggio, con la differenza che, al momento della frustrazione, la mangiatoia con carote ed avena è stata posta nel luogo prestabilito del box; inoltre la cassetta era stata da noi precedentemente coperta con la rete di plastica per bloccare al cavallo l'accesso al mangime in essa contenuto.

Dall'inserimento nel box delle carote e avena, la prova è stata ripresa con la videocamera per una durata di 5 minuti, trascorsi i quali sono iniziati i prelievi ed i rilievi relativi alla fine della prova. Nei due giorni successivi le prove sono state eseguite in maniera identica e nello stesso ordine anche nei cavalli del gruppo B.

Dopo due settimane di pausa, i gruppi sono stati invertiti e le prove eseguite nuovamente. In tale maniera il gruppo B, fungendo da gruppo sperimentale, è stato posto in ambiente arricchito, mentre il gruppo A fungeva, questa volta, da gruppo di controllo senza arricchimento.

ANALISI EMATOBIOCHIMICHE

I campioni di siero e plasma, stoccati nelle provette Eppendorf e mantenuti a temperatura di congelamento, sono stati trasferiti all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, dove sono state effettuate le opportune analisi ematobiochimiche. Per l'analisi dell'ACTH (matrice plasma) e del cortisolo (matrice siero) è stato utilizzato l'analizzatore automatizzato Immulite One (MEDICAL SYSTEM, Genova, Italia), che impiega metodiche standardizzate in chemiluminescenza.

La determinazione dell'ACTH ha previsto un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti chemiluminescenti in fase solida; per il cortisolo, invece, il principio di analisi è stato un dosaggio immunometrico competitivo con rilevazione chemiluminescente in fase solida.

ANALISI STATISTICA DEI DATI

Innanzitutto, dato il numero relativamente ridotto dei soggetti che hanno fatto parte della prova sperimentale, si è scelto di usare test statistici di tipo non parametrico.

Inizialmente è stata fatta l'analisi statistica del confronto tra i valori basali e quelli antecedenti ogni prova stressogena (valore basale con pre-PB e poi valore basale con pre-PF) di ogni gruppo (GA e GB di entrambi i periodi) e di ogni rilievo, usando il test di Wilcoxon; il medesimo test è stato poi utilizzato successivamente per l'analisi statistica degli stessi dati, riunendo però i gruppi sotto la condizione di "arricchito" e di "controllo". Successivamente sono stati confrontati i valori pre e post delle prove PB e PF di ogni gruppo e di ogni periodo: il test impiegato è stato sempre quello di Wilcoxon; si è voluto verificare, inoltre, se ci fosse una correlazione tra le due serie di dati mediante il test per ranghi di Spearman: il medesimo test è stato utilizzato per analizzare i gruppi "arricchito" e "controllo" durante la PB e la PF, valutando così l'effetto dell'arricchimento "all'interno" delle prove di stress (tra il pre ed il post-prova). Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il programma SPSS 16.0 per Windows, fissando il livello di significatività a $P = 0,05$.

Risultati e discussione

Per facilitare la lettura di questo capitolo verranno usate alcune sigle (Tabella 1). Per indicare il gruppo A verrà usata l'abbreviazione GA, lo stesso vale per il gruppo B che risulterà perciò abbreviato GB; nel caso di riferimenti agli stessi gruppi nelle due settimane, alle abbreviazioni assegnate seguirà il numero della settimana corrispondente. Useremo GB1 e GB2 per indicare, rispettivamente il gruppo B nella prima e nella seconda settimana, mentre GA1 e GA2 serviranno da riferimento al gruppo A.

Inoltre saranno necessarie delle abbreviazioni da usare quando si confronteranno i risultati ottenuti nelle varie prove. Quando si parlerà della prova di bendaggio questa verrà siglata come PB; quando ci si riferirà alla prova di frustrazione, la sigla sarà PF. Anche nel caso si parli di prima e di seconda settimana risulterà più scorrevole indicarle rispettivamente come S1 e S2.

Le unità di misura utilizzate nei prossimi paragrafi sono: Occhi e Trigono = °C; Frequenza cardiaca = battiti/min; Temperatura Rettale = °C; Cortisolo = nmol/L; Acth = pg/mL.

Tabella 1: *legenda delle abbreviazioni che verranno usate nel corso del seguente capitolo*

Sigla	Significato
GA	<i>Gruppo A</i>
GB	<i>Gruppo B</i>
GA1	<i>Gruppo A considerato nella prima settimana</i>
GB1	<i>Gruppo B considerato nella prima settimana</i>
GA2	<i>Gruppo A considerato nella seconda settimana</i>
GB2	<i>Gruppo B considerato nella seconda settimana</i>
PB	<i>Prova di bendaggio</i>
PF	<i>Prova di frustrazione</i>
S1	<i>Settimana 1</i>
S2	<i>Settimana 2</i>

ANALISI DESCRITTIVA DEI RISULTATI IN RELAZIONE A SETTIMANA, GRUPPO E TIPO DI PROVA

ANALISI DEI RISULTATI BASALI

Tabella 2: confronto dei valori basali del gruppo A durante la settimana 1

	Basale	Pre PB	Pre PF
Occhi	34,31	34,39	34,50
Trigono	34,18	34,61	34,63
Frequenza Cardiaca	32,00	29,00	32,75
Temperatura Rettale	37,95 a	37,73 a	37,85
Cortisolo	102,75	111,95	85,57
Acth	17,55	16,80	15,50

a = Significatività con P = 0,05

Tabella 3: confronto dei valori basali del gruppo B durante la settimana 1

	Basale	Pre PB	Pre PF
Occhi	34,17 *	34,50 *	34,09
Trigono	34,33	34,99	34,89
Frequenza Cardiaca	29,00	33,12	33,75
Temperatura Rettale	37,88 a	37,64 a	37,73
Cortisolo	95,28	105,32	151,75
Acth	18,55	17,28	19,25

* = Correlazione con R = 0,955

a = Significatività con P = 0,05

Tabella 4: confronto dei valori basali del gruppo A durante la settimana 2

	Basale	Pre PB	Pre PF
Occhi	34,19 a	33,15 a	33,74
Trigono	33,68	33,48	33,79
Frequenza Cardiaca	31,00	31,00	29,50
Temperatura Rettale	38,00 a	37,73 a	37,68
Cortisolo	106,72	82,28	117,50
Acth	19,73	18,95	21,50

a = Significatività con P = 0,05

Tabella 5: confronto dei valori basali del gruppo B durante la settimana 2

	Basale	Pre PB	Pre PF
Occhi	33,37	32,96	33,17
Trigono	33,16	33,03	33,73
Frequenza Cardiaca	29,00	29,00	31,75
Temperatura Rettale	37,73	37,43	37,65
Cortisolo	127,48	120,75	120,50
Acth	20,95 *	22,55	22,30 *

* = Correlazione con R = 0,993

Commenti generali

Dall'osservazione delle tabelle sopra riportate (Tabella da 2 a 5), abbiamo potuto osservare che, generalmente, nonostante le correlazioni e le differenze significative riportate per alcuni parametri in alcuni gruppi, non vi sono differenze rilevanti tra i valori basali e quelli pre prova; questo può indicare che le nostre manualità e la nostra presenza non hanno variato di molto le condizioni fisiologiche dei cavalli.

Per quanto riguarda il GA considerato nella S1 (Tabella 2), il confronto tra la media dei valori di temperatura rettale basale e quella dei valori registrati prima della PB, mostra che la media pre-prova è minore rispetto a quella basale e la differenza è significativa ($P = 0,05$); però, dal momento che i valori non si presentano correlati tra loro, ciò significa che la variazione non sempre è stata omogenea; tuttavia, in alcuni soggetti, le differenze sono state sufficientemente ampie da risultare statisticamente correlate. Le stesse considerazioni fatte per quanto riguarda il GA nella S1, a proposito della temperatura rettale, sono valide anche per il GB considerato nella S1 (Tabella 3); questo gruppo ha mostrato, inoltre, una correlazione tra la media dei valori di temperatura basale registrata a livello oculare e la media dei valori registrati prima della PB ($R = 0,955$); in questo caso le temperature si sono dimostrate diminuite prima della prova rispetto ai valori basali, anche se la differenza non è risultata essere statisticamente significativa.

Nel GA durante la S2 (Tabelle 4) possiamo dedurre le stesse considerazioni fatte per i due gruppi precedentemente descritti a proposito della temperatura rettale; anche in questa situazione, infatti, vi è stata una differenza significativa tra la media dei valori basali registrati e quella prima della PB ($P = 0,05$); anche in questo caso l'ultima si è mostrata inferiore a quella basale.

In questo gruppo si è anche potuto notare una differenza significativa ($P = 0,05$) tra la media dei valori basali registrati al livello dell'occhio e quella registrata prima della PB; quest'ultima è risultata inferiore.

Per quanto riguarda il GB nella S2 (Tabella 5) abbiamo notato solo una correlazione ($R = 0,993$) tra la media dei valori di ACTH rilevati durante i prelievi basali e quella dei valori acquisiti prima della prova di frustrazione; tuttavia, questa non è risultata esserci una differenza statisticamente.

In generale, dopo queste considerazioni, possiamo affermare di aver osservato che le rilevazioni effettuate mediante l'uso della termocamera, sembrano non influenzare in maniera significativa i parametri considerati negli animali, sebbene vi sia un'importante nota da evidenziare, cioè la correlazione tra i valori di ACTH presente nel GB durante la S2 (Tabella 5) dove questo parametro aumenta rispetto ai valori basali; si può però, d'altro canto, presumere l'influenza da parte di qualche fattore ambientale esterno, dal momento che questa evenienza è stata notata solo all'interno del gruppo considerato. Fattori che possono aver alterato i valori ematici di ACTH potrebbero essere stati il rumore di un trattore, la presenza del personale di scuderia, il passaggio di cavalli o altri elementi di disturbo.

ANALISI DEI RISULTATI DELLE PROVE

Analisi delle prove della settimana 1, gruppo A, prova bendaggio

Tabella 6: valori di SI, GA, PB

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	34.38	34.46	0.075	*	
Trigono	34.61	34.68	0.075		
Frequenza Cardiaca	29	40.5	11.5		a
Temperatura Rettale	37.7	37.82	0.1		
Cortisolo	111.95	105.45	-6.5		
Acth	16.8	17.8	1	**	a

* = Correlazione con $R = 0,992$

** = Correlazione con $R = 0,96$

a = Significatività con $P = 0,05$

È stata trovata una correlazione statisticamente significativa dei valori dell'ACTH ($R = 0,96$), mediante il confronto tra la media dei valori rilevati precedentemente alla prova di bendaggio e quelli rilevati al termine della prova; dalla nostra analisi risulta anche che tra questi valori vi è una differenza significativa a livello statistico ($P = 0,05$), facendoci notare, perciò, che in questo gruppo l'ACTH può essere considerato un buon indicatore di stress. La media dei valori dell'ACTH, infatti, dopo la prova di stress si è mostrata aumentata in questo gruppo, e di conseguenza vi è stata una differenza tra il pre e post-prova ($\Delta = 1 \text{ pg/ mL}$).

Si può osservare che esiste una correlazione tra i valori termografici, rilevati a livello di occhio, registrati prima e dopo la prova di bendaggio ($R = 0,992$); questo ci indica che, probabilmente, nel corso dello svolgimento della suddetta prova c'è stata una variazione della temperatura a livello oculare ma non tale da determinare una differenza statisticamente significativa. La media dei valori registrata a livello di occhio nei cavalli è lievemente aumentata ($\Delta = 0,075 \text{ }^\circ\text{C}$). Infine, anche i valori della frequenza cardiaca presentano una differenza statistica ($P = 0,05$); la media dei valori registrati prima delle prove è minore di quella dei valori registrata a fine prova ($\Delta = 11,5 \text{ bpm}$), il che potrebbe fornirci un'indicazione aggiuntiva per valutare lo stress, da affiancare alla prova dell'ACTH.

Analisi delle prove della settimana 1, gruppo A, prova frustrazione

Tabella 7: valori di SI, GA, PF

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	34.5	34.06	-0.43	*	
Trigono	34.63	34.37	-0.25		
Frequenza Cardiaca	32.75	42.25	9.5		a
Temperatura Rettale	37.85	37.85	0	**	
Cortisolo	85.566	106.07	20.86		
Acth	15.5	17.17	0.73		

* = Correlazione con $R = 0,94$

** = Correlazione con $R = 0,96$

a = Significatività con $P = 0,05$

È stata trovata una differenza statisticamente significativa ($P = 0,05$) nei valori di frequenza cardiaca registrati prima e dopo la prova; la frequenza cardiaca potrebbe

essere quindi un buon indice per rilevare uno stress acuto ($\Delta = 9,5$ bpm), come avevamo già notato nello stesso gruppo e nella stessa settimana ma eseguendo l'altra prova di stress, ovvero quella di bendaggio (Tabella 6). Anche nel corso di questa prova abbiamo potuto rilevare una correlazione nella temperature registrate a livello di occhi ($R = 0,94$); ma bisogna segnalare che, in questo caso, abbiamo rilevato una diminuzione della media delle temperature ($\Delta = -0,4375$).

Un'altra correlazione che abbiamo potuto notare si è verificata tra i valori della temperatura rettale ($R = 0,96$) ($\Delta = 0$), anche se non c'è stata una differenza statisticamente significativa; questo potrebbe indicare che la termocamera abbia rilevato una differenza tra i valori di temperatura degli occhi, senza variazione imponente della temperatura corporea dell'animale.

Analisi delle prove della settimana 1, gruppo B, prova bendaggio

Tabella 8: valori di SI, GB, PB

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	34.5	34.14	-0.35		
Trigono	34.98	34.58	-0.4		
Frequenza Cardiaca	33.12	60.87	27.75		a
Temperatura					a
Rettale	37.63	37.77	0.13		
Cortisolo	105.32	135.75	30.4		
Acth	17.27	23.82	6.55		

a = Significatività con $P = 0,05$

Si è osservato, anche in questa tabella (Tabella 8), la presenza di una differenza significativa ($P = 0,05$) tra i valori medi delle frequenze cardiache pre e post prova ($\Delta = 27,75$). Durante la prima settimana, il gruppo A non ha avuto una differenza nelle medie di frequenza cardiaca importante come quella rilevata nel gruppo B, dal momento che il Δ era risultato solamente 11,5; questo potrebbe indicarci una possibile influenza dell'arricchimento alimentare nel GA, dal momento che, durante la prima settimana, la variazione della frequenza cardiaca è risultata minore rispetto a quella del gruppo B che fungeva da controllo, a parità di prova di stress.

Altra differenza significativa è stata tra la media della temperatura rettale ($P = 0,05$), che, a posteriori della prova si è dimostrata aumentata ($\Delta = 0,1375$) al contrario del GA

nell'PB e PF nella quale la temperatura rettale è rimasta quasi invariata. Da evidenziare in questa prova, anche se non statisticamente significativi, un aumento dei livelli di cortisolo e ACTH.

Analisi delle prove della settimana 1, gruppo B, prova frustrazione

Tabella 9: valori di S2, GB, PF

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	34.08	33.55	-0.53		a
Trigono	34.88	34.21	-0.67	*	a
Frequenza Cardiaca	33.75	37.5	3.75		
Temperatura Rettale	37.72	37.82	0.1		
Cortisolo	151.75	141.75	-10		
Acth	19.25	19.25	0		

* = Correlazione con R = 0,95

a = Significatività con P = 0,05

Da questa tabella (Tabella 9) è possibile evidenziare che vi è una differenza significativa tra la media dei valori di temperatura registrati a livello del trigono labiale prima della prova e quella dei valori registrati post prova (P = 0,05); inoltre, questi dati si presentano correlati (R = 0,95). In questo caso, i valori registrati al termine della prova sono diminuiti in maniera significativa ($\Delta = -0,675$), e questo potrebbe essere indice di una vasocostrizione periferica causata dall'attivazione del sistema nervoso simpatico che ha causato una rilevante diminuzione di calore in questo distretto.

Altra differenza significativa è stata rilevata nelle temperature registrate a livello di occhio (P = 0,05), dove la media delle temperature registrate dopo la prova si è rilevata inferiore rispetto a quella pre prova ($\Delta = -0,5375$).

Analisi delle prove della settimana 2, gruppo A, prova bendaggio

Tabella 10: valori di S2, GA, PB

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.15	33.86	0.712		a
Trigono	33.47	34.08	0.612		a
Frequenza Cardiaca	31	51.75	20.75		a
Temperatura Rettale	37.72	37.8	0.07		
Cortisolo	82.27	110.32	28.05		
Acth	18.95	25.2	6.25		

a = Significatività con P = 0,05

Questa tabella presenta numerose significatività; la prima è stata trovata nel confronto tra la media della temperatura rilevata a livello degli occhi ($P = 0,05$), dato che i valori registrati precedentemente al bendaggio risultavano minori rispetto a quelli rilevati al termine della prova ($\Delta = 0,7125$ °C). Da notare che nel GA nel corso della prima settimana (gruppo arricchito, PB), era stato trovato un aumento delle temperature post prova a livello degli occhi, ma non in maniera tale da essere considerata una differenza statisticamente significativa.

È stato possibile osservare una seconda differenza statisticamente significativa tra le medie delle temperature registrate a livello del trigono labiale ($P = 0,05$): a questo livello i valori rilevati al termine della prova si sono dimostrati mediamente aumentati ($\Delta = 0,6125$ °C); al contrario, la variazione delle temperature in questa regione, nel GA arricchito nella PB, non sono state significative.

La terza differenza statisticamente significativa è presente tra le medie della frequenza cardiaca ($P = 0,05$); anche a questo livello, infatti, abbiamo registrato valori maggiori al termine della prova di bendaggio ($\Delta = 20,75$ bpm), indicando ancora una volta la frequenza cardiaca un ottimo indice di stress.

Analisi delle prove della settimana 2, gruppo A, prova frustrazione

Tabella 11: valori di S2, GA, PF

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.73	33.27	-0.46		
Trigono	33.78	33.52	-0.26		
Frequenza Cardiaca	29.5	38.25	8.75		a
Temperatura Rettale	37.67	37.67	0		
Cortisolo	117.5	127.82	10.32	*	
Acth	21.5	25.55	4.05		

* = Correlazione con R = 0,96

a = Significatività con P = 0,05

È stato possibile osservare che, anche in questo gruppo, vi è una differenza significativa (P = 0,05) tra la media delle frequenze cardiache registrate prima e dopo la prova di frustrazione; infatti, la media si è dimostrata maggiore al termine di questa prova ($\Delta = 8,75$ bpm).

In questo gruppo, inoltre, abbiamo osservato una correlazione (R = 0,96) tra la media dei valori di cortisolo rilevati prima e dopo la prova di stress ($\Delta = 10,325$ $\mu\text{g/dL}$), ma i valori non hanno mostrato una differenza significativa. Rimangono però non rilevanti a livello statistico le differenze di temperatura di occhi, trigono e ACTH.

Analisi delle prove della settimana 2, gruppo B, prova bendaggio

Tabella 12: valori di S2, GB, PB

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	32.96	33.25	0.28		
Trigono	33.02	33.01	-0.02		
Frequenza Cardiaca	29	54.5	25.5		
Temperatura					
Rettale	37.42	37.6	0.17		
Cortisolo	120.75	128.75	8		
Acth	22.55	26.125	3.57		

In questo gruppo, come si può notare nella tabella (Tabella 12), non abbiamo notato correlazioni o differenze significative tra i parametri registrati prima e dopo la PB. Nel

corso di questa settimana, il GB fungeva da gruppo sottoposto ad arricchimento alimentare; l'assenza di correlazioni e differenze significative ci può portare all'ipotesi che, essendo queste presenti nel corso della prima settimana, durante la quale fungevano da gruppo di controllo, l'arricchimento alimentare abbia avuto un ruolo determinante nella diminuzione dello stress indotto dalle condizioni di prova.

Analisi delle prove della settimana 2, gruppo B, prova frustrazione

Tabella 13: valori di S2, GB, PF

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.16	33.11	-0.05		
Trigono	33.72	33.46	-0.26		
Frequenza Cardiaca	31.75	43.25	11.5		
Temperatura Rettale	37.65	37.55	-0.1		
Cortisolo	120.5	120	-0.5		
Acth	22.3	21.65	-0.65		

Anche in questo gruppo, come si può notare nella tabella (Tabella 13), non abbiamo notato correlazioni o differenze significative tra i parametri registrati prima e dopo la PF, come rilevato nella PB, svolta nello stesso gruppo e settimana (vedi Tabella 4.11 riportata precedentemente). Nel corso di questa settimana (Tabella 13), il GB fungeva da gruppo sottoposto ad arricchimento alimentare; l'assenza di correlazioni e differenze significative ci può portare all'ipotesi che, essendo queste presenti nel corso della prima settimana, durante la quale fungevano da gruppo di controllo, l'arricchimento alimentare abbia avuto un ruolo determinante nella diminuzione dello stress indotto dalle condizioni di prova.

Altra osservazione importante che si può fare, è che questo gruppo non appare stressato, dal momento che i valori di cortisolo e di ACTH rimangono pressoché invariati, e la media delle temperature registrate a livello di occhio e di trigono labiale registrano una lieve diminuzione, il cui Δ è rispettivamente $-0,0563$ °C e $-0,2625$ °C; questo potrebbe indicare nuovamente, quindi, una probabile influenza dell'arricchimento alimentare nella diminuzione dello stress delle prove di bendaggio e frustrazione.

Conclusioni

A seguito della dettagliata descrizione dei risultati in relazione a settimana, gruppo e tipo di prova, possiamo riassumere alcuni evidenti risultati. Nel corso di ogni singola prova di stress, abbiamo potuto notare che la termocamera ad infrarossi rileva variazioni della temperatura, in aumento o in diminuzione, ed abbiamo perciò sempre rilevato una differenza della temperatura tra i valori iniziali e finali delle prove, sia a livello di occhio sia di trigono labiale. Per quanto riguarda le due prove (PB e PF), abbiamo notato anche differenze rilevanti su come esse influenzino la temperatura dell'occhio. La prova di bendaggio fa aumentare, in quasi in tutti i casi, la temperatura oculare, mentre in quella di frustrazione abbiamo sempre notato una diminuzione della stessa.

Le prove modificano in maniera consistente anche la temperatura del trigono labiale.

Per quanto riguarda la prova di bendaggio, le temperature a livello di trigono labiale, sono variate in relazione al gruppo considerato; infatti, nel gruppo A, sia nella prima che nella seconda settimana, esse si sono presentate maggiori, mentre sono diminuite nel gruppo B. Per quanto riguarda invece la PF comporta sempre una diminuzione della temperatura del trigono in tutti i gruppi.

È importante tenere in considerazione le modalità di svolgimento della prova; infatti la PB è stata svolta per 15 minuti, durante i quali è stata applicata una maschera che impediva la visione ai cavalli: questa può aver influito sulla temperatura locale da noi rilevata a livello oculare e di trigono. Nella prova di frustrazione, invece, non va dimenticato che, per motivi tecnici volti ad impedire che i cavalli si ferissero con la cassetta di mangime, la durata è stata solamente di 5 minuti, portandoci ad ipotizzare perciò che l'arco di tempo della prova non sia stato sufficiente al fine di determinare una variazione di temperatura tale da essere significativa a livello statistico .

ANALISI DESCRITTIVA DELLA RELAZIONE TRA GRUPPI ARRICCHITI E DI CONTROLLO

ANALISI DEI RISULTATI BASALI

Sono stati presi in considerazione i valori basali e quelli precedenti le prove di stress di tutti i cavalli sottoposti ad arricchimento alimentare e a controllo, indipendentemente

dal fatto che lo fossero nella prima o nella seconda settimana del protocollo sperimentale

Gruppi sottoposti ad arricchimento alimentare (GA durante S1 e GB durante S2)

Tabella 14: Confronto dei valori basali dei gruppi sottoposti ad arricchimento alimentare

	Basale		Pre PB		Pre PF	
Occhi	33.84	*	33.68	*	33.83	*
Trigono	33.67	* a	33.82	*	34.18	* a
Frequenza Cardiaca	30.50		29.00		32.25	
Temperatura Rettale	37.84	a	37.58	a	37.75	
Cortisolo	115.11		116.35		105.53	
Acth	19.25		19.68		19.39	

* = Correlazione con $R \geq 0,8$

a = Significatività con $P = 0,05$

Una prima osservazione indica che le temperature rilevate a livello di trigono labiale mostrano una differenza statisticamente significativa nel confronto tra valori basali e quelli registrati prima della prova di frustrazione, dove quest'ultimi risultano correlati, e la media dei valori pre prova è aumentata rispetto a quella basale; inoltre i valori basali della temperatura, sempre a livello di trigono, si mostrano correlati con quelli eseguiti prima della prova di bendaggio, indicando una variazione omogenea dei valori, aumentati anche in questo caso, ma non in maniera tale da risultare come differenza significativa.

Un'altra differenza statisticamente rilevante è stata evidenziata tra la media delle temperature rettali basali e quella antecedente la prova, dove quest'ultima risulta diminuita ($P = 0,05$).

È possibile anche evidenziare una correlazione tra le medie dei valori registrate, a livello oculare, mediante la termocamera; i valori basali si sono dimostrati correlati con quelli precedenti ad entrambe le prove di stress, sia quella di bendaggio sia quella di frustrazione, considerando che la differenza maggiore si è evidenziata tra i valori basali e quelli pre bendaggio, mentre i valori pre frustrazione si sono dimostrati solo lievemente inferiori rispetto ai basali.

Gruppi di controllo (GB durante S1 e GA durante S2)

Tabella 15: Confronto dei valori basali dei gruppi controllo

	Basale		Pre PB		Pre PF	
Occhi	34.18		33.83		33.91	
Trigono	34.00	*	34.23		34.34	*
Frequenza Cardiaca	30.00		32.06		31.63	
Temperatura Rettale	37.94	* a	37.68	* a	37.70	a
Cortisolo	101.00		93.80		134.63	
Acth	19.14		18.11		20.38	

* = Correlazione con $R \geq 0,8$

a = Significatività con $P = 0,05$

L'unica significatività statistica ($P = 0,05$) che possiamo notare una differenza significativa è tra la media dei valori di temperatura rettale basale e, dei valori pre frustrazione, e quella presente tra la media dei valori basali e quella dei valori registrati pre bendaggio (che presentano anche una ottima correlazione positiva).

Possiamo anche notare la presenza di un aumento della temperatura rilevata, a livello del trigono labiale, dei valori pre prova rispetto a quelli basali; nel caso del confronto tra la media dei valori di temperatura basale e quella dei valori pre frustrazione, queste si dimostrano correlate tra loro.

Analisi dei risultati della prova di bendaggio

Abbiamo preso in considerazione i valori pre e post-prova di stress di tutti i cavalli sottoposti ad arricchimento alimentare e di controllo, indipendentemente dal fatto che appartenessero a questo gruppo nel primo o nel secondo periodo del protocollo sperimentale.

Analisi dei valori nei cavalli sottoposti ad arricchimento alimentare

Tabella 16: Confronto dei valori delle prove dei gruppi sottoposti ad arricchimento alimentare

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.50	33.60	0.102	*	
Trigono	33.78	33.72	-0.06	*	
Frequenza Cardiaca	29.92	46.08	16.16		a
Temperatura Rettale	37.6	37.65	0.058	*	a
Cortisolo	117.73	118.07	0.34		
Acth	20.55	21.85	1.308	*	

* = Correlazione con $R \geq 0,8$

a = Significatività con $P = 0,05$

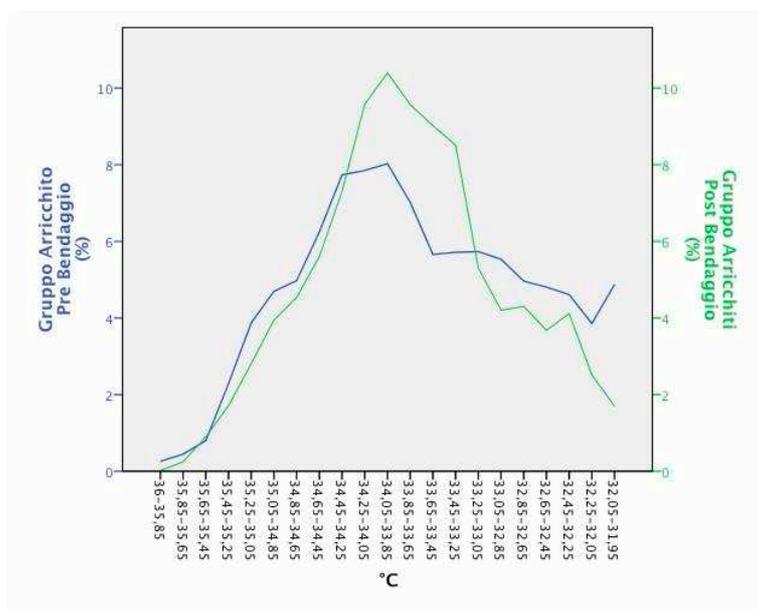


Figura 27: Grafico della temperatura oculare

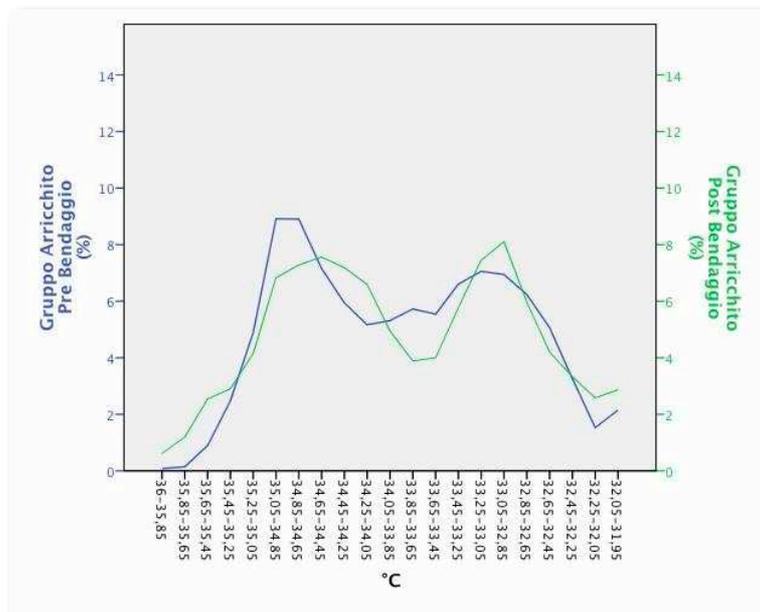


Figura 28: Grafico della temperatura a livello di trigono

Possiamo dunque notare che vi è stata una differenza significativa tra le medie dei valori di temperatura rettale registrate pre e post prova ($P = 0,05$); quest'ultima si è mostrata aumentata ($\Delta = 0,058$) e questi valori si sono presentati anche correlati. Un'altra differenza significativa è stata osservata nei valori di frequenza cardiaca tra la media dei valori pre prova e quelli post prova, la cui media ha mostrato un aumento pari a $\Delta = 16,16$ bpm.

Abbiamo osservato una correlazione anche dei valori dell'ACTH, la cui media, al termine della prova di stress, si è dimostrata maggiore rispetto alla media dei valori antecedenti alla prova ($\Delta = 1,308$).

Per quanto riguarda le medie delle temperature registrate con la termocamera a livello di occhi, si è notata una correlazione tra i valori pre e post prova, dove quest'ultimi si sono mostrati aumentati ($\Delta = 0,102$). Dal grafico che rappresenta com'è variata la temperatura prima e dopo la prova di stress (Figura 27) possiamo notare che, mentre prima della prova le temperature rilevate nei vari punti dell'occhio erano distribuite in un ampio range, dopo la prova la curva mostra un aumento delle frequenze di temperatura verso un range di temperatura minore.

Per quanto riguarda le medie delle temperature registrate a livello di trigono labiale prima e dopo la prova, anche in questo caso si sono mostrate correlate, ed in particolare,

diminuite nel post prova, con $\Delta = -0,0667$. Dal grafico, che rappresenta com'è variata la temperatura prima e dopo la prova di stress (Figura 28.) possiamo notare che in entrambe le curve ci sono due picchi di frequenza di temperatura, ed in particolar modo prima del bendaggio la maggior parte era tendenzialmente verso le temperature più alte, mentre al termine della prova di bendaggio le frequenze sembrano distribuirsi in maniera quasi speculare.

Analisi dei valori nei cavalli di controllo

Tabella 17: Confronto dei valori delle prove nei gruppi di controllo

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.82	34.00	0.17	*	
Trigono	34.23	34.33	0.106		
Frequenza Cardiaca	32.06	56.31	24.25		a
Temperatura Rettale	37.68	37.78	0.107		
Cortisolo	93.8	123.04	29.24		a
Acth	18.11	24.51	6.4		

* = Correlazione con $R \geq 0,7$

a = Significatività con $P = 0,05$

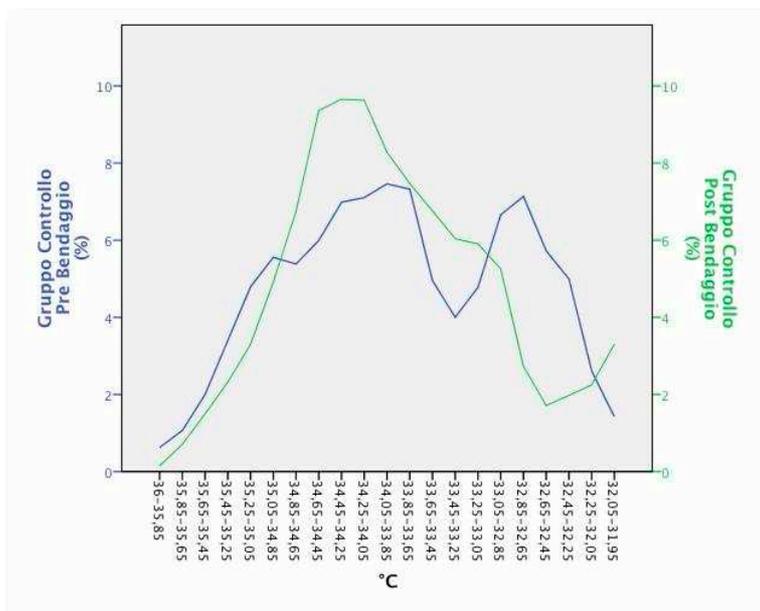


Figura 29: Grafico della temperatura oculare

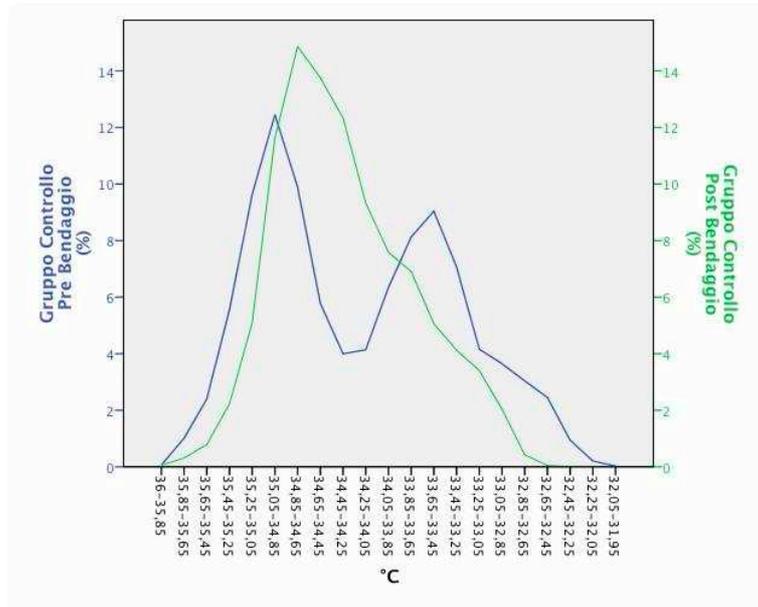


Figura 30: Grafico della temperatura del trigono

In questo gruppo abbiamo notato una differenza significativa tra la media dei valori di frequenza cardiaca registrati prima e dopo la prova di stress ($P = 0,05$); la media dei valori post prova, risulta infatti maggiore di quella pre prova ($\Delta = 24,25$). Un'altra differenza significativa è stata notata nei livelli di cortisolo ($P = 0,05$), dove, anche in questo caso, i valori rilevati al termine della prova sono risultati maggiori rispetto a quelli antecedenti la prova, con un Δ di 29,24.

Per quanto riguarda le temperature rilevate dalla termocamera a livello oculare, abbiamo notato che la media dei valori delle temperature rilevate si è dimostrata aumentata al termine della prova di bendaggio rispetto a quella dell'inizio della stessa ($\Delta = 0,178$), ed i valori pre e post prova sono correlati tra loro.

Dalla valutazione del grafico della temperatura a livello di occhi (Figura 29) abbiamo riscontrato che, alla fine della prova di stress, le frequenze di temperatura rilevate erano concentrate in un range meno ampio, rispetto all'inizio della prova dove erano distribuite in un intervallo di valori maggiore, spostandosi in intervalli di temperatura leggermente maggiori.

Dalla valutazione del grafico della temperatura a livello di trigono labiale (Figura 30), abbiamo notato che le frequenze di temperatura, precedenti alla prova, erano concentrate maggiormente verso due *range* opposti di intervalli di temperatura. Al

termine invece, si è notato uno spostamento delle frequenze verso valori più alti, dimostrando un aumento medio della stessa in questa regione al termine dello stress.

Analisi dei risultati della prova di frustrazione

Abbiamo preso in considerazione i valori pre e post-prova di stress di tutti i cavalli sottoposti ad arricchimento alimentare e di controllo, indipendentemente dal fatto che appartenessero a questo gruppo nel primo o nel secondo periodo del protocollo sperimentale.

Analisi dei valori nei cavalli sottoposti ad arricchimento alimentare

Tabella 18: Confronto dei valori delle prove dei gruppi sottoposti ad arricchimento alimentare

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.83	33.58	-0.24	*	
Trigono	34.17	33.91	-0.25		
Frequenza Cardiaca	32.25	42.75	10.5		a
Temperatura Rettale	37.75	37.7	-0.05	*	
Cortisolo	105.53	114.19	8.66		
Acth	19.38	19.32	-0.05	*	

* = Correlazione con $R \geq 0,8$

a = Significatività con $P = 0,05$

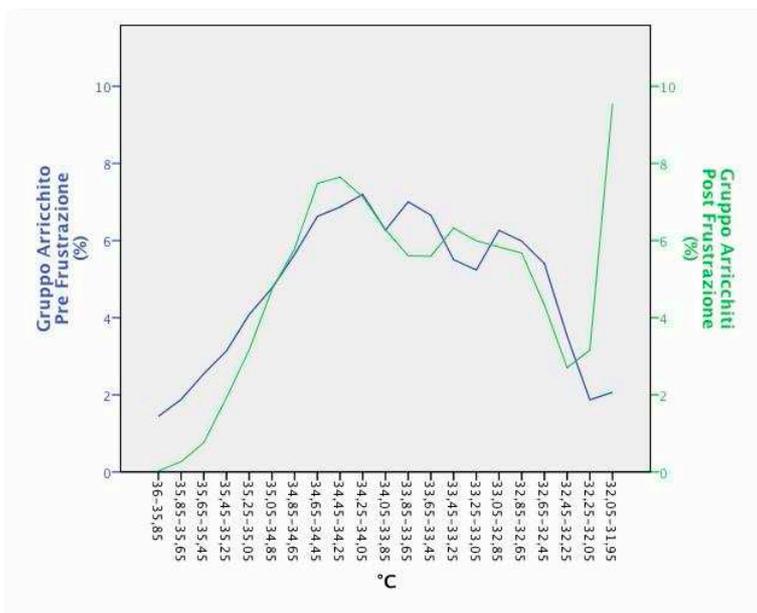


Figura 31: Grafico della temperatura oculare

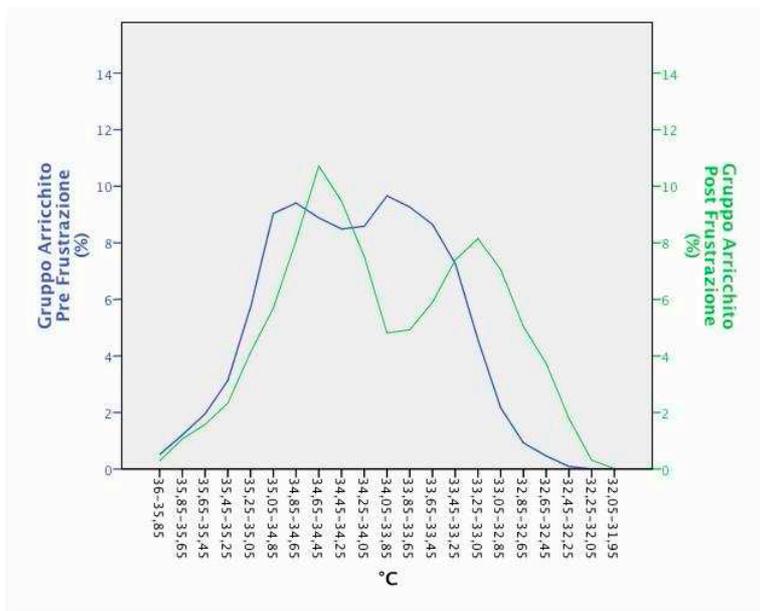


Figura 32: Grafici della temperatura del trigono

Si è notata una differenza significativa tra la media dei valori di frequenza cardiaca rilevata prima e dopo la prova di stress ($P = 0,05$); al termine della stessa la media dei valori di frequenza cardiaca risultava diversa nel confronto con quelli precedenti, con un Δ di 10,5 bpm.

Abbiamo potuto notare anche una correlazione tra le medie dei valori di temperatura rettale registrate pre e post prova, con un Δ di -0,05 tra le due; un'altra correlazione è stata notata tra le medie dei valori di ACTH plasmatici all'inizio ed al termine della prova di stress, con un Δ di -0,057, che indica una diminuzione dei valori dopo la prova. A livello degli occhi, i valori delle medie di temperatura registrati prima e dopo la prova hanno mostrato una correlazione; i valori sono diminuiti al termine della prova con un Δ di -0,246.

Dal grafico delle temperature registrate con la termocamera a livello di occhi (Figura 31), abbiamo notato come, nel pre prova il range di distribuzione delle frequenze è abbastanza ampio; nel post prova abbiamo rilevato una certa somiglianza di distribuzione, escludendo un picco di frequenza verso valori bassi di temperatura.

Dal grafico delle temperature registrate con la termocamera a livello del trigono (Figura 32), possiamo dedurre che, mentre all'inizio della prova le frequenze temperature sono distribuite percentualmente in un range ampio ed uniforme, al termine della stessa si osserva una ridistribuzione delle frequenze verso due range opposti

Analisi dei valori nei cavalli di controllo

Tabella 19: Confronto dei valori delle prove nei gruppi di controllo

	Pre	Post	Delta	Correl.	Sign.
Occhi	33.91	33.41	-0.5		a
Trigono	34.33	33.86	-0.46	*	a
Frequenza Cardiaca	31.62	37.88	6.26		a
Temperatura Rettale	37.7	37.75	0.05	*	
Cortisolo	134.62	134.79	0.17	*	
Acth	20.37	22.4	2.02		

* = Correlazione con $R \geq 0,8$

a = Significatività con $P = 0,05$

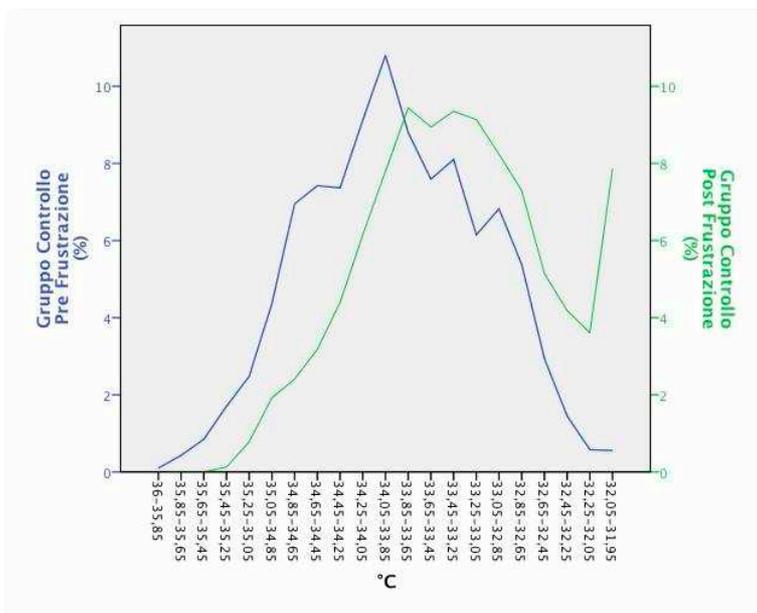


Figura 33: Grafico della temperatura oculare

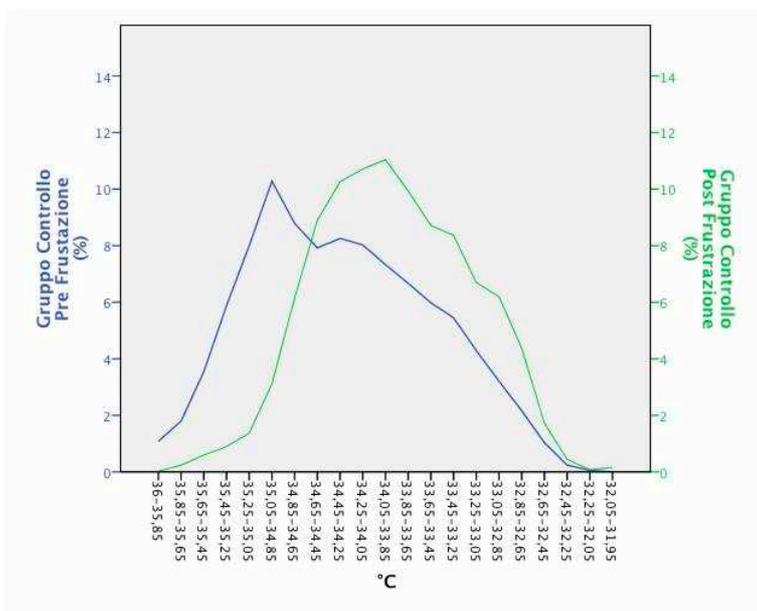


Figura 34: Grafici della temperatura del trigono

Dalla tabella notiamo una correlazione tra le medie delle temperature rettili registrate all'inizio ed alla fine della prova; queste, si sono dimostrate maggiori dopo lo stress con un Δ di 0,05.

Un'altra correlazione è presente tra i valori di cortisolo, le cui medie si presentano maggiori alla fine della prova di frustrazione ($\Delta = 0,17$). Importante differenza significativa invece presenta la variazione della frequenza cardiaca ($P = 0,05$).

Inoltre si nota una differenza significativa tra le medie dei valori di temperatura registrate a livello del trigono prima e dopo la prova di frustrazione ($P = 0,05$); inoltre questi valori si presentano anche correlati, e notiamo che la temperatura al termine della prova è diminuita ($\Delta = - 0,4687$).

Anche tra i valori medi della temperatura registrati a livello di occhi vi è una differenza significativa ed anche in questo caso alla fine della prova i valori si sono mostrati inferiori ($\Delta = - 0,5$).

Dal grafico delle temperature registrate con la termocamera a livello oculare (Figura 33) si osserva che, da una distribuzione di frequenze di temperature ampio, al termine della prova la distribuzione avviene in un range più ristretto, fornendo al grafico una forma più uniforme, spostato maggiormente verso temperature più basse.

Dal grafico delle temperature registrate con la termocamera a livello del trigono (Figura 34) notiamo che, vi è un solo picco sia prima sia dopo la prova di frustrazione, indicando quindi che le temperature si sono concentrate in una fascia piuttosto ristretta; tuttavia notiamo che, dopo la prova, le temperature sono diminuite, facendo spostare il picco verso valori minori.

Conclusioni

Dall'analisi descrittiva dei risultati ottenuti nei gruppi arricchiti e di controllo, così come constatato analizzando in precedenza ogni gruppo singolarmente, abbiamo notato che la prova di bendaggio influenza la temperatura dell'occhio, aumentandola, mentre quella del trigono risulta variabile; la prova di frustrazione, invece, diminuisce la temperatura sia a livello oculare sia di trigono labiale.

Esaminando i nostri dati, possiamo notare che, anche in questo caso, vi è una differenza che dipende dal tipo di prova di stress messa in atto.

Nella prova di bendaggio si può notare come tutti i parametri presi in considerazione, anche se non sempre statisticamente significativi, erano sensibilmente aumentati nel gruppo di controllo rispetto a quello arricchito (si veda la differenza dei del gruppo controllo rispetto ai del gruppo arricchito dei vari parametri): probabilmente l'arricchimento alimentare ha avuto un ruolo nel diminuire gli effetti dello stress da noi indotto; in questo caso la termocamera non ha però evidenziato ampie differenze di temperatura né a livello oculare né a livello di trigono.

Nella prova di frustrazione, per quanto riguarda il gruppo di controllo, i valori termografici sono diminuiti di molto rispetto a quelli dell'arricchito, e la loro differenza si mostra statisticamente significativa, sia nell'occhio sia nel trigono. La differenza tra i rimanenti valori si dimostra variabile nel gruppo controllo rispetto a quello di arricchito a seconda dei parametri in considerazione. L'arricchimento alimentare da noi fornito è stato probabilmente povero per motivi inerenti al *management* dell'azienda: perciò, ha probabilmente avuto una influenza relativa sull'esperimento. Una probabile ipotesi può essere la scarsa quantità dell'alimento o la sua poca variabilità rispetto ai mangimi ai quali i cavalli erano abituati; un'altra ipotesi può essere che la breve durata del periodo di arricchimento (5 gg) sia stata insufficiente al fine di apportare un miglioramento rilevante del loro benessere ed una diminuzione degli effetti delle nostre prove di stress.

Uso della termografia ad infrarossi per l'analisi della temperatura superficiale del capezzolo di bufale sottoposte a diverse modalita' di mungitura.

Un corretto funzionamento dell'impianto di mungitura è essenziale sia per il benessere della bufala che per ottimizzare la produttività e mantenere una mammella sana. Un impianto di mungitura che non funziona correttamente può fisicamente causare lesioni a livello del capezzolo, le quali compromettono, in seconda battuta, tutta la funzionalità della mammella. I difetti che si riscontrano più spesso nel funzionamento di queste macchine sono:

- errata regolazione del sistema di pulsazione;
- cattivo funzionamento della linea del vuoto.

Oltre a procurare danni fisici ai capezzoli, l'impianto di mungitura può costituire un vettore attivo per batteri tra i diversi quarti della mammella: per questo motivo è assolutamente necessario provvedere regolarmente, almeno una volta l'anno, alla verifica del corretto funzionamento dell'impianto. La verifica dovrebbe includere una valutazione del tempo di mungitura, la stabilità del vuoto a livello del capezzolo, la rimozione di accumuli di cellule, la verifica delle operazioni di mungitura e della condizione dei capezzoli.

L'innalzamento del vuoto di lavoro se da un lato consente un'estrazione più rapida del latte, dall'altro condiziona l'integrità dei tessuti mammari. L'aumento del vuoto operativo accresce la velocità di deflusso del latte diminuendo i tempi di emissione, ma può anche essere causa dell'insorgenza di patologie a carico dell'apparato mammario nelle diverse specie da latte. L'azione meccanica esercitata durante la mungitura dall'effetto combinato del vuoto, delle guaine e del peso del gruppo, induce dei cambiamenti nei tessuti del capezzolo che ne possono alterare la resistenza all'ingresso dei batteri patogeni causa di infezioni mastitiche (O'Shea, 1987; Neijenhuis *et al.*,

2000). La mastite è un processo infiammatorio della ghiandola mammaria generalmente causato da un agente batterico. E' la risultante dell'interazione fra ospite, patogeno e ambiente. Quando questo equilibrio viene ad alterarsi, si ha la malattia. La colonizzazione della mammella da parte dei microrganismi avviene solitamente per via ascendente e cioè attraverso il capezzolo. Il capezzolo sano si oppone all'ingresso dei patogeni attraverso barriere fisiche (sfintere del capezzolo e cheratina), cellulari (globuli bianchi) e umorali (enzimi e immunoglobuline). Quindi fra i fattori predisponenti intrinseci annoveriamo la diminuzione delle difese immunitarie dell'animale e la patogenicità del microrganismo, e fra gli estrinseci l'ambiente, la stabulazione e in generale il management aziendale.

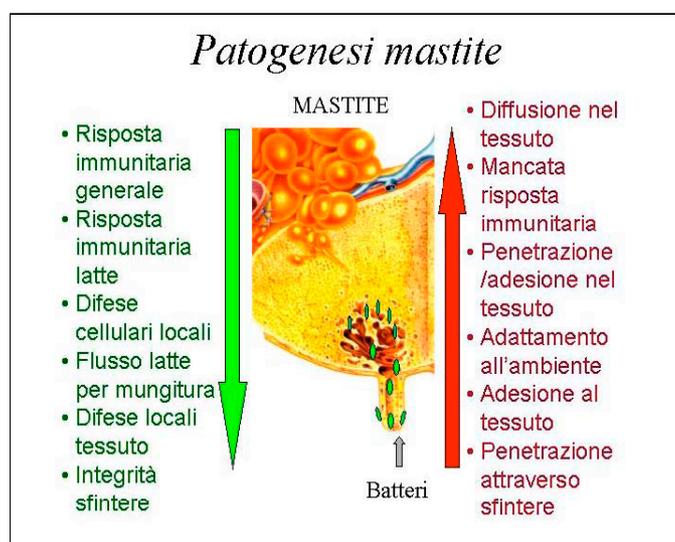


Figura 35: Schema che riassume gli eventi che portano allo sviluppo di un'infezione mammaria.

In conseguenza di elevati livelli di vuoto sono state evidenziate la congestione delle pareti del capezzolo, la formazione di edemi a causa della dilatazione dei capillari sanguigni (Hamann, 1993) e un maggior numero di sfinteri capezzolari aperti dopo la mungitura (Reinemann *et al.*, 2001). Un'elevata ipercheratosi all'apice del capezzolo (Rasmussen *et al.*, 1994), è stata rilevata in risposta alla tensione meccanica operata dalla mungitrice, che può essere interpretata come una normale reazione fisiologica del tessuto per aumentare l'efficienza dello strato di cheratina del dotto del capezzolo e quindi prevenire la penetrazione di agenti patogeni.

La componente più importante della macchina mungitrice, in relazione ai suoi effetti a medio e lungo termine sul capezzolo, è la guaina ed in particolare le sue caratteristiche (durezza, lunghezza, calibro, tensione, caratteristiche dell'imboccatura). Alcune modifiche al capezzolo, possono tradursi in fibrosi del tessuto del capezzolo, causate dal ripetersi degli stati di congestione indotti dalla mungitrice meccanica. Le guaine giocano il ruolo più importante nelle lesioni della punta del capezzolo perché esercitano in tale sede, un'azione comprimente. Questo tipo di lesioni si riscontrano spesso in modo visibile e palpabile sull'apice e meno frequentemente sulla zona centrale del capezzolo, infatti, l'ipercheratosi abnorme dell'apice, è molto comune e viene denominata con diversi termini: erosione, prolasso. La severità delle lesioni dipende dalle forze meccaniche del sistema di mungitura, specialmente dalla forza compressiva della guaina (Michel *et al.*, 1974). Le papille dello strato epiteliale del canale del capezzolo hanno una direzione diversa nei tre diversi tratti del canale (prossimale, medio e distale), e quindi anche la cheratinizzazione assume una direzione diversa a secondo del tratto coinvolto.

Le forze meccaniche applicate ripetutamente sull'epitelio stimolano la produzione di cheratina (Schulz *et al.*, 1974) a livello di sfintere, in un primo periodo, e lungo tutto il canale successivamente, in funzione della stimolazione durante la mungitura. Il grado d'ipercheratosi dell'apice del capezzolo, (rugosità, corneificazione e callosità) è una condizione dinamica (Neijnhuis *et al.*, 2000). Lo stato dell'apice del capezzolo può cambiare in alcuni giorni, specialmente in regioni con condizioni atmosferiche avverse, che influenzano soprattutto il livello di secchezza e di durezza della cheratina. In assenza di condizioni atmosferiche sfavorevoli comunque, le alterazioni dell'apice del capezzolo si manifestano in un periodo di 2-8 settimane. La predisposizione genetica di alcuni animali sembra influenzare il grado di ipercheratosi; questa influenza genetica si aggiunge ai più ovvi effetti dovuti alle dimensioni del capezzolo e alla sua forma. Oltre ai precedenti fattori, quelle che sembrano essere maggiormente associati all'ipercheratosi dell'apice del capezzolo sono il livello di produzione, lo stadio di lattazione e la gestione della mandria, della mungitura e la macchina mungitrice (specialmente una mungitura lenta e/o una sovramungitura). Il tempo totale di mungitura in cui il flusso di latte è meno di 1 kg/min, sembra avere un effetto importante sulle condizioni dello sfintere. Tale tempo è influenzato principalmente dalla

preparazione della mammella (pre-mungitura) e dal limite che viene posto per l'attivazione dello stacco automatico del gruppo di mungitura. L'ipercheratosi dell'apice del capezzolo può essere esacerbata dai disinfettanti, che causano irritazione chimica alla cute, e migliorata dall'uso di disinfettanti con un'alta concentrazione di emollienti.

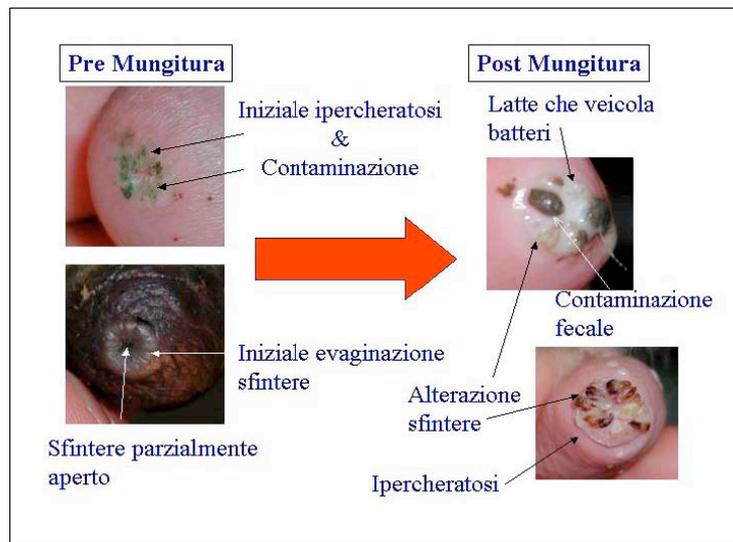


Figura 36: Alterazioni dello sfintere del capezzolo pre- o post- mungitura.

Prove sperimentali hanno indicato l'esistenza di una relazione di dipendenza fra l'incremento del vuoto e l'aumento del numero di cellule somatiche nel latte (Fernandez *et al.*, 2003; Sinapis *et al.*, 2006) come conseguenza dell'instaurarsi di processi infiammatori. L'esposizione al vuoto durante la mungitura, rallentando la circolazione sanguigna nei tessuti, influisce inoltre sulla temperatura superficiale del capezzolo; risultati preliminari su pecore (Morgante *et al.*, 2008) hanno mostrato che riducendo il vuoto operativo, il ripristino della temperatura fisiologica dei tessuti del capezzolo è più rapido. Modificazioni morfologiche a breve termine dell'apparato mammario sono state evidenziate anche tramite immagini ecografiche, mostrando un aumento delle dimensioni del capezzolo ed un ispessimento dei tessuti indotti dalla mungitura (Wojtowski *et al.*, 2006; Neijenhuis *et al.*, 2000).

MATERIALI E METODI

L'indagine si è inquadrata in un progetto più ampio svolto dal dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie di Padova. L'obiettivo di questa ricerca è stato quello di valutare l'influenza dei diversi livelli di alto e basso vuoto sui cambiamenti di temperatura del capezzolo nella bufala, prima, durante e dopo il processo di mungitura, attraverso la termografia ad infrarossi.

Generalita' azienda

La ricerca si è svolta presso l'“Azienda Agricola Circe Società Semplice” situata a Pontina in provincia di Latina. Si tratta di un'Azienda che alleva circa 1200 bufale in stabulazione libera, alimentate con la tecnica dell'unifeed (distribuito due volte al giorno rispettivamente alle 9.00 del mattino e alle 17.00 del pomeriggio), di cui 390 sono in lattazione e munte due volte al giorno: alle 6.00 del mattino e alle 16.30 del pomeriggio.

Protocollo del lavoro

All'interno della mandria sono stati considerati due gruppi di 14 bufale, le quali venivano munte a 42kPa e dopo tre settimane di adattamento a livelli di vuoto progressivamente più bassi, erano munte a 36kPa, usando gli stessi parametri di pulsazione. I test erano eseguiti in una sala con 28+28 poste disposte in parallelo, con un modesto sistema di mungitura dotato di gruppi leggeri (1,78kg), rimotori automatici dei gruppi ed un sistema elettronico di conduzione del bestiame.

L'analisi termografica veniva effettuata solamente durante la mungitura mattutina: le bufale erano riprese posteriormente a livello della fossa, sempre alla stessa distanza di 0,5m, impostando correttamente i dati della temperatura e dell'umidità ambientale durante tutte le osservazioni.

Le immagini termografiche (Flir Sistem, ThermaCam P25) dell'area posteriore della mammella e dei capezzoli erano catturate prima della mungitura (PM), durante la mungitura (M), immediatamente dopo la mungitura (IAM) e fino a 5 minuti dopo la mungitura (AM+).

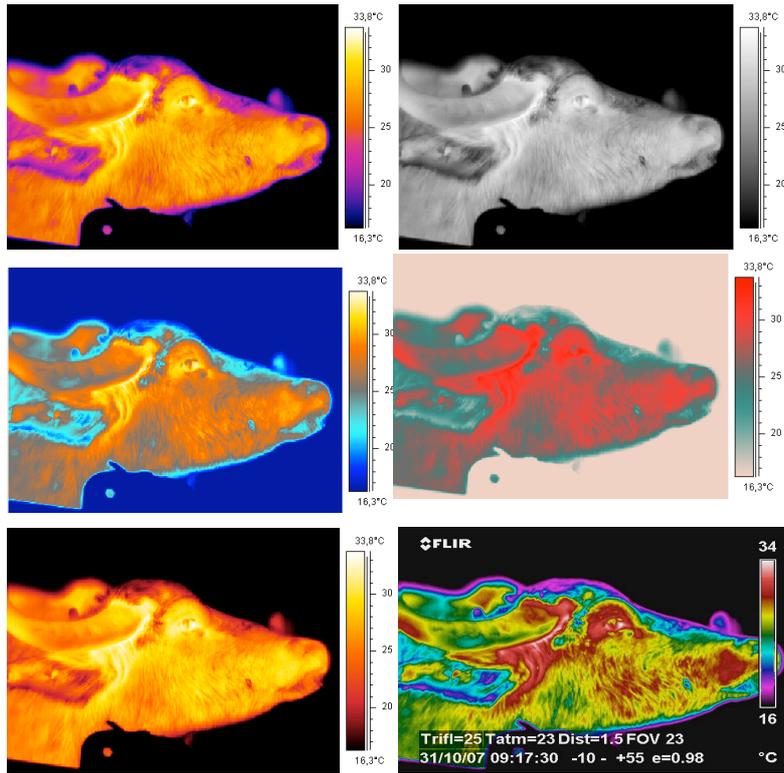


Figura 37. Rappresentazione della stessa immagine termografica con cinque diverse tavolozze: iron, grey, greyred, rain, yellow.

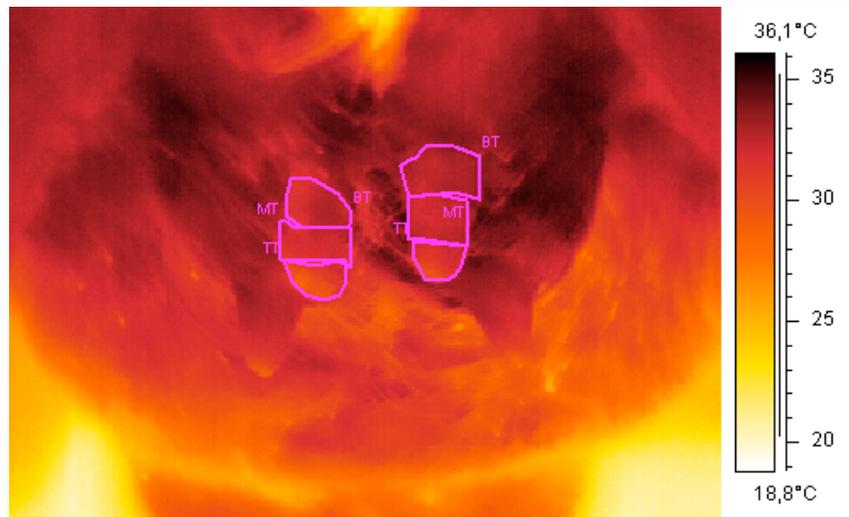


Figura 38: rappresentazione grafica della suddivisione dei capezzoli in aree di studio

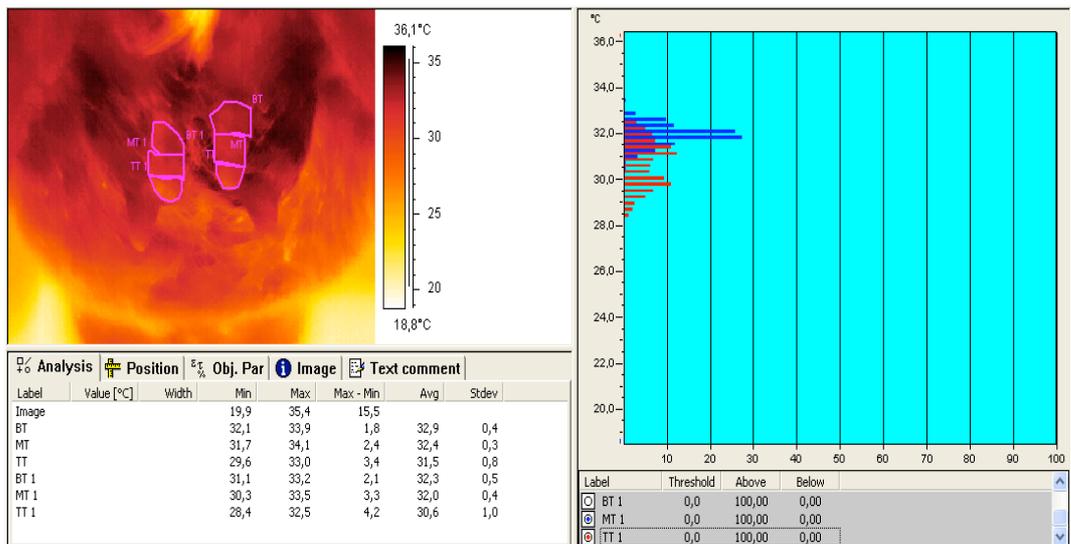


Figura 39: analisi termografica delle aree selezionate

Nel riquadro sottostante l'immagine sono riportati i valori relativi alla temperatura minima, massima, differenza tra massima e minima, media e deviazione standard (ds).

I dati sono riferiti all'immagine in toto, poi al capezzolo suddiviso in aree. Affianco è presente un istogramma che riporta la distribuzione della frequenza della temperatura rispettivamente delle aree del capezzolo selezionate.

Analisi termografica delle immagini

L'analisi termografica delle immagini è stata effettuata con il software specifico sopra descritto: ThermaCAM Researcher Basic 2.8 SR-1. Il capezzolo di ciascuna mammella era diviso in 3 aree: base, corpo e apice (BT, MT, TT) (Figura 38 e 39), per ciascuna delle quali è stata calcolata la temperatura massima, minima, media e la deviazione standard. I dati sono poi stati divisi nei diversi intervalli di tempo considerati e nella fase di post-mungitura ogni 30 secondi, sia nel caso in cui è stato applicato l'alto (HV) che il basso vuoto (LV). In seguito è stato analizzato anche il range di distribuzione delle frequenze della temperatura a livello della base (BT), del corpo (MT) e apice (TT) del capezzolo all'applicazione di alti e bassi livelli di vuoto, durante il tempo di monitoraggio della mungitura.

Analisi dei tempi di mungitura e della quantità di latte prodotto applicando rispettivamente alto e basso vuoto.

Nella tabella sotto riportata, abbiamo raccolto due parametri fondamentali quali la quantità di latte prodotto (MGG) (kg) e il tempo di mungitura totale (tMGG) (min), applicando rispettivamente alto e basso vuoto. In entrambe i casi per ogni parametro, sono state individuate la media associata alla deviazione standard (ds) e il range di variazione minimo e massimo.

PARAMETRI	42kPa			36kPa		
	media±ds	range		media±ds	range	
	media±ds	min	max	media±ds	min	max
Produzione latte (MGG) (kg)	4,1 ± 2,09	1,05	11,52	3,6 ± 1,54	1	8,50
Tempo di mungitura totale (tMGG) (min)	11,4 ± 2,90	5,69	22,03	12,9 ± 3,40	5,46	23,85

Tabella 20: Analisi dei tempi di mungitura e della quantità di latte prodotta applicando rispettivamente alto e basso vuoto

Risultati e discussione

RISULTATI ANALISI CAPEZZOLO IN TOTO

<i>Alto Vuoto</i>				<i>Basso Vuoto</i>			
Classe T	Media	ds	DeltaPM	ClasseT	Media	ds	DeltaPM
PM	29,98	0,94	0,00	PM	31,52	0,77	0,00
IAM	32,51	0,61	2,53	IAM	33,33	0,53	1,81
0-30	32,42	0,65	2,45	0-30	32,97	0,60	1,45
30-1	32,29	0,64	2,31	30-1	32,94	0,62	1,41
1-1,30	32,08	0,68	2,10	1-1,30	32,85	0,62	1,33
1,30-2	32,12	0,64	2,15	1,30-2	33,26	0,59	1,74
2-2,30	32,20	0,64	2,23	2-2,30	33,00	0,58	1,48
2,30-3	32,36	0,63	2,38	2,30-3	33,01	0,57	1,48
3-3,30	32,05	0,62	2,08	3-3,30	33,16	0,56	1,63
3,30-4	32,31	0,61	2,33	3,30-4	32,90	0,62	1,37
4-4,30	32,18	0,59	2,20	4-4,30	33,20	0,58	1,67
4,30-5	32,21	0,58	2,24	4,30-5	33,42	0,54	1,89

Tabella 21: Suddivisione per classi di tempo della temperatura media del capezzolo in toto, ds e delta PM, applicando rispettivamente alto e basso vuoto.

Nella tabella sovrapposta, abbiamo suddiviso per classi di tempo la temperatura media del capezzolo in toto, la deviazione standard (ds) e la differenza di temperatura di ogni fase con il PM (delta PM) rispettivamente nel caso dell'HV e del LV.

Si può notare nel caso dell'HV che tra PM (29,98°C) e IAM (32,51°C) c'è una differenza di ben 2,53°C la quale non è indifferente, e come tra IAM (32,51°C) e i 5 minuti (32,21°C) successivi alla mungitura il gap sia minimo 0,29°C.

Per quanto riguarda il LV invece, la scala di temperatura dalla quale partono le misurazioni è leggermente più alta rispetto all'HV, probabilmente perché le misurazioni per i due diversi livelli di vuoto sono state effettuate in periodi diversi e condizioni ambientali (temperatura e umidità) differenti. Tra PM (31,52°C) e IAM (33,33°C) si può riscontrare un gap di 1,81°C, mentre tra IAM (33,33°C) e i 5 minuti (33,42°C) c'è un'interessante, seppur minimo, aumento di +0,08°C.

Spostando l'attenzione sui tempi di mungitura (Tabella 1), si può notare che nel caso dell'HV i tempi hanno una media di $11,4 \pm 2,90$ minuti con un range minimo di 5,69 minuti e un massimo di 22,03 minuti capo; per quanto riguarda il LV invece la durata media è di $12,9 \pm 3,40$ minuti con un range minimo di 5,46 minuti e uno massimo di 23,45 minuti capo.

Queste considerazioni ci fanno capire che la durata della mungitura nei due casi non varia di molto sia nella media che nel range minimo e massimo, dunque il gap riscontrato tra le temperature prese dallo IAM in poi, non è dovuto al tempo di mungitura, ma presumibilmente dal livello di vuoto applicato.

ClasseT	Media	
	Alto	Basso
PM	29,98	31,52
IAM	32,51	33,33
0-30	32,42	32,97
30-1	32,29	32,94
1-1,30	32,08	32,85
1,30-2	32,12	33,26
2-2,30	32,20	33,00
2,30-3	32,36	33,01
3-3,30	32,05	33,16
3,30-4	32,31	32,90
4-4,30	32,18	33,20
4,30-5	32,21	33,42



Figura 40: Distribuzione dei valori medi di temperatura del capezzolo in toto per ogni intervallo di tempo considerato, nel caso dell'alto e basso vuoto.

Nella figura 40 abbiamo riportato l'andamento della temperatura media che nelle diverse classi di tempo sembra essere simile, però se osserviamo con maggior attenzione possiamo notare che il LV influenza maggiormente l'innalzamento termico medio del capezzolo in toto, rispetto all'HV; questo perché le misurazioni dapprima con

l’HV e poi il LV sono state eseguite in due momenti diversi e probabilmente nel secondo caso, le condizioni ambientali e/o fisiologiche dell’animale (tre settimane di adattamento del capezzolo a livelli di vuoto progressivamente più bassi) hanno influenzato in modo rilevante le misurazioni. Questo fatto potrebbe, ma non è detto, giustificare l’improvviso aumento di temperatura nel caso del LV dai 3,30 minuti successivi la mungitura, tutto ciò si può osservare in questo grafico e con maggior precisione nella figura 41.

Classe T	Media	
	Alto	Basso
PM	0	0
IAM	2,53	1,81
0-30	2,45	1,45
30-1	2,31	1,41
1-1,30	2,10	1,33
1,30-2	2,15	1,74
2-2,30	2,23	1,48
2,30-3	2,38	1,48
3-3,30	2,08	1,63
3,30-4	2,33	1,37
4-4,30	2,20	1,67
4,30-5	2,24	1,89

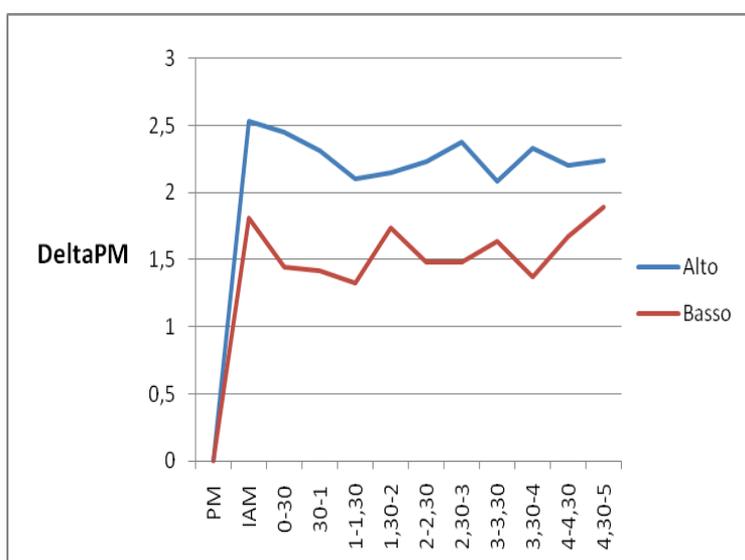


Figura 41: Distribuzione dei valori DeltaPM del capezzolo in toto per ogni intervallo di tempo considerato, nel caso dell’alto e basso vuoto.

Per un'analisi differenziale più precisa della temperatura tra HV e LV, abbiamo posto uguale a zero PM e i valori dei successivi intervalli di tempo sono stati ricavati per differenza dal valore originale di PM; in questo modo, il grafico a linee dimostra che in realtà è l'HV a determinare un significativo incremento della temperatura media del capezzolo con un gap di 0,9°C (Figura 42).

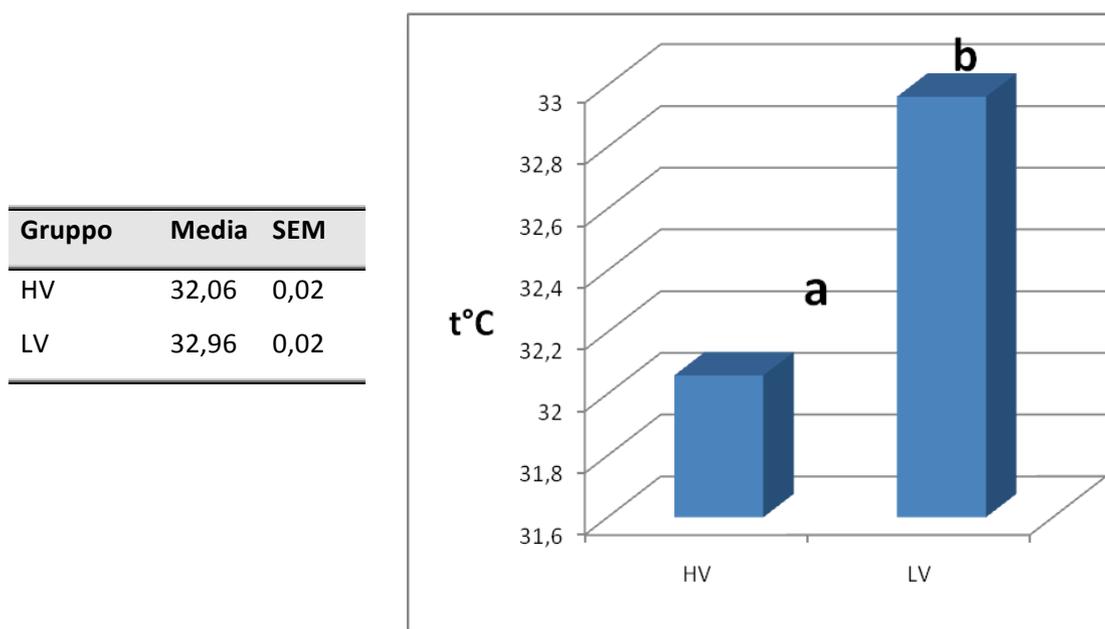


Figura 42: Analisi statistica della temperatura media del capezzolo in toto, applicando rispettivamente alto e basso vuoto, a & b con $P \leq 0,05$.

Nel figura 42 in seguito ad un'analisi statistica abbiamo riscontrato una differenza statisticamente significativa tra le temperature medie del capezzolo in toto registrate con HV e LV.

Confronto	Delta Media	t	Significatività
PM vs. 5min	0,43	4,28	Si

Tabella 22: Confronto tra PM e i 5min successivi alla mungitura nel caso del LV, unico intervallo di tempo per il quale è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa relativa alla differenza di temperatura media con $P \leq 0,05$.

Confronto	Delta Media	t	Significatività
IAM vs. PM	1,89	14,82	Si
5min vs. PM	1,41	14,27	Si
IAM vs. 5min	0,48	4,12	Si

Tabella 23: Confronto tra gli intervalli di tempo nel caso dell’HV, per i quali sono state individuate differenze statisticamente significative, relative alla differenza di temperatura media con $P \leq 0,05$.

Come possiamo osservare, nelle Tabelle 22 e 23 sono riportate le differenze statisticamente significative ($P \leq 0,05$) rilevate dapprima nel caso del LV, relative agli intervalli di tempo PM e i 5 minuti successivi alla mungitura, mentre per quanto riguarda l’HV sono stati individuati tre intervalli di tempo statisticamente significativi: IAM e PM, 5min e PM, IAM e 5min.

RISULTATI ANALISI CAPEZZOLO DIVISO NELLE SUE TRE AREE

Alto Vuoto			
ClasseT	Media		
	BT	MT	TT
PM	32,47	29,92	27,54
IAM	32,79	32,93	31,82
0-30	32,81	32,93	31,53
30-1	32,72	32,77	31,37
1-1,30	32,63	32,53	31,09
1,30-2	32,77	32,47	31,13
2-2,30	32,90	32,51	31,20
2,30-3	33,07	32,58	31,43
3-3,30	32,69	32,28	31,18
3,30-4	32,94	32,46	31,52
4-4,30	32,83	32,33	31,38
4,30-5	32,95	32,36	31,33

Tabella 24: Suddivisione per classi di tempo della temperatura media delle aree selezionate del capezzolo analizzate con l’alto vuoto.

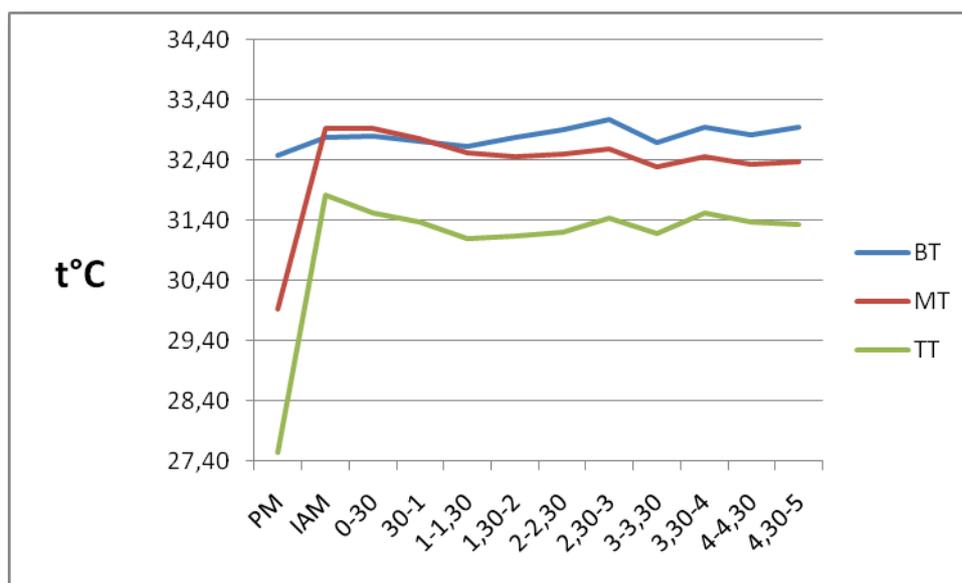


Figura 43: Distribuzione della temperatura media nelle diverse zone di divisione del capezzolo, nel caso dell'HV.

La situazione che si propone in questo grafico richiama quella della figura 40, solamente che in questo caso il capezzolo viene esaminato con più precisione nelle sue tre aree. Si può notare con chiarezza il repentino innalzamento termico a livello del TT e MT immediatamente dopo la mungitura (IAM) e come poi la temperatura si stabilizzi nei 5 minuti successivi; solo a livello della BT abbiamo un andamento quasi costante della temperatura. Va notato il gap tra TT e MT nell'intervallo di tempo IAM.

Basso Vuoto			
ClasseT	Media		
	BT	MT	TT
PM	33,51	31,50	29,57
IAM	33,83	33,64	32,52
0-30	33,41	33,43	32,09
30-1	33,58	33,34	31,90
1-1,30	33,45	33,21	31,89
1,30-2	33,94	33,62	32,24
2-2,30	33,67	33,29	32,06
2,30-3	33,78	33,19	32,05
3-3,30	33,95	33,25	32,28
3,30-4	33,85	32,99	31,86
4-4,30	34,00	33,33	32,27
4,30-5	34,11	33,45	32,68

Tabella 25: *Suddivisione per classi di tempo della temperatura media delle aree selezionate del capezzolo analizzate con il basso vuoto.*

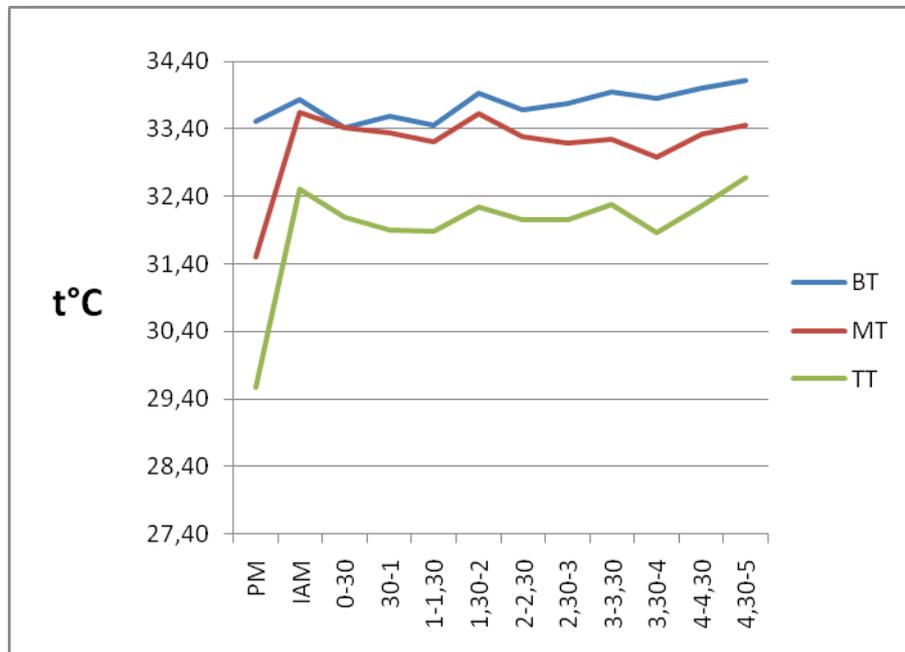


Figura 44: *Distribuzione della temperatura media nelle diverse zone di divisione del capezzolo, nel caso del LV.*

Nella figura 44, che considera il LV, possiamo osservare come la temperatura media della BT dai 3.30 minuti successivi alla mungitura subisca un'impennata rispetto a quanto accade nel Grafico 4, con un gap di ben 1,26°C, lo stesso sembra succedere per l'MT e il TT. Questo grafico ci aiuta a capire l'improvviso innalzamento termico medio del capezzolo in toto nel caso del LV nei 3,30 minuti successivi alla mungitura, influenzato per lo più dall'apice del capezzolo il quale rispetto alle altre zone risulta essere maggiormente sottoposto alle forze di pressione esercitate dal vuoto.

Alto Vuoto		
Gruppo	Media	SEM
BT	32,80	0,04
MT	32,34	0,04
TT	31,04	0,04

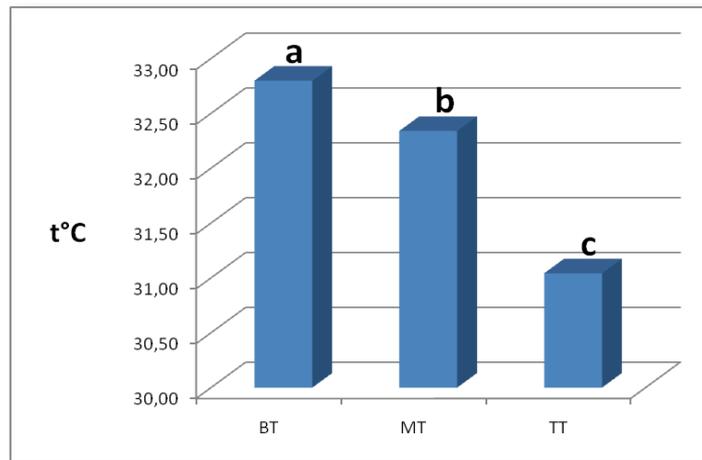


Figura 45: Analisi statistica della temperatura media nelle tre aree di suddivisione del capezzolo, applicando l'HV; a & b & c con $P \leq 0,05$.

Nell'analisi statistica della figura 45, abbiamo riportato la temperatura media delle tre aree di suddivisione del capezzolo (BT, MT, TT), applicando l'HV. Si tratta di tre medie statisticamente significative ($P \leq 0,05$) e diverse tra loro, che ci illustrano come rispetto al capezzolo nel suo complesso la temperatura media della BT sia leggermente superiore a quella della MT e molto lontana da quella del TT. Questo lo si può osservare anche nella figura 44, dove la temperatura iniziale (PM) della BT, risulta essere più alta rispetto alle altre due zone e si mantiene su quella linea per tutto il tempo della misurazione, mentre la temperatura del MT e TT nell'intervallo PM subiscono un forte ed improvviso innalzamento mantenendo la media al di sotto di quella della BT.

Basso Vuoto		
Gruppo	Media	SEM
BT	33,76	0,04
MT	33,19	0,04
TT	31,95	0,04

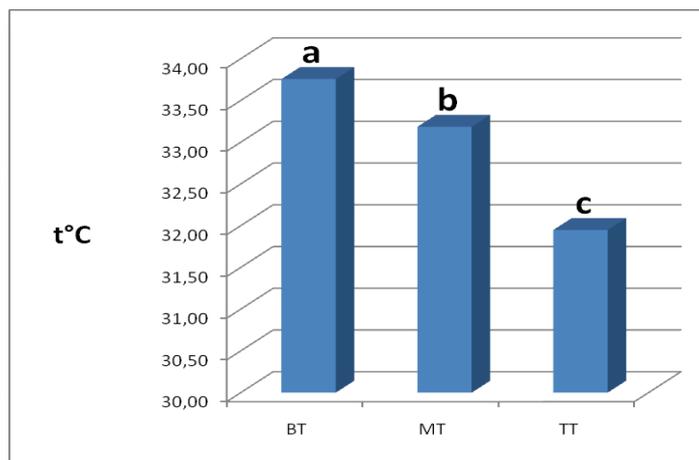


Figura 46: Analisi statistica della temperatura media nelle tre aree di suddivisione del capezzolo, applicando il LV; a & b & c con $P \leq 0,05$.

In questo istogramma, l'analisi statistica riporta la temperatura media di BT, MT, TT, applicando il LV. Anche in questo caso le tre medie sono statisticamente significative ($P \leq 0,05$) e diverse tra loro. Rispetto al grafico precedente le temperature medie sono più elevate e vanno in ordine decrescente da BT a MT e TT.

Immagine distribuzione frequenza temperatura

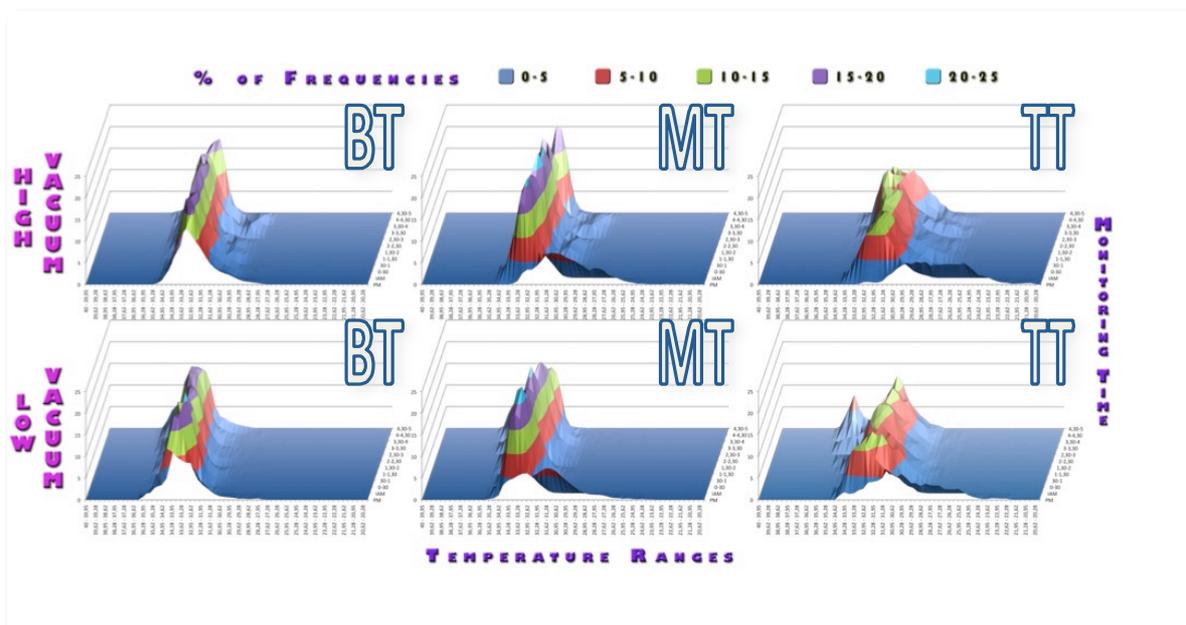


Figura 47: Distribuzione della frequenza dei range di temperatura ($0,33^{\circ}\text{C}$) sulle tre zone di suddivisione del capezzolo base del capezzolo BT, corpo del capezzolo MT e apice del capezzolo TT) applicando livelli di alto (HV) e basso (LV) vuoto durante il tempo di monitoraggio della mungitura.

Con il Software ThermoCAM Researcher Basic 2.8 SR-1, abbiamo analizzato la distribuzione della frequenza dei range di temperatura su: BT, MT e TT nel caso dell'HV e LV (Figura 47).

Poniamo a confronto il grafico relativo al TT sia nell'HV che nel LV. Possiamo vedere sulle ordinate il livello di vuoto applicato e sulle ascisse i range di temperatura da un lato e gli intervalli di tempo dall'altro. I diversi colori rappresentano le frequenze percentuali di un corrisponde range di temperatura. Nel grafico relativo al LV possiamo

notare una zona separata in cui la temperatura è molto più alta rispetto alle altre del medesimo colore (rosso). Se compariamo questo grafico con la figura 44, in cui è possibile notare lo slancio finale della temperatura media del TT, possiamo ipotizzare che questo sia stato condizionato maggiormente proprio dalla temperatura di questa superficie isolata.

Dopo aver fatto tali considerazioni dapprima sul capezzolo nel suo complesso e poi sulle sue tre zone di suddivisione, si è potuto constatare che la differenza di temperatura media negli intervalli di tempo successivi allo IAM tra HV e LV, non è dovuta ai tempi di mungitura in quanto sono molto simili, ma probabilmente al tipo di vuoto applicato.

Si è cercato di motivare l'improvviso innalzamento termico medio del capezzolo in toto nel caso del LV nei 3,30 minuti successivi alla mungitura, e si è visto che sembra influenzato per lo più dall'apice del capezzolo il quale rispetto alle altre zone risulta essere maggiormente sottoposto alle forze di pressione esercitate dal vuoto.

Tutte queste analisi hanno dimostrato la maggior sensibilità del MT ma soprattutto del TT rispetto alla BT, sia applicando l'HV che il LV, questo implica un maggior condizionamento del capezzolo sia a livello termico che anatomico con maggiore o minore cheratinizzazione e conseguenti infezioni. Infatti l'esposizione al vuoto durante la mungitura, rallentando la circolazione sanguigna nei tessuti, influisce sulla temperatura superficiale del capezzolo, perciò, riducendo il vuoto operativo, il ripristino della temperatura fisiologica dei tessuti del capezzolo è più rapido.

Conclusioni

La termocamera è risultata un metodo pratico per la rilevazione di alterazioni della temperatura superficiale di un corpo, sia in aumento sia in diminuzione, durante una situazione di stress. Analizzando i risultati ottenuti eseguendo le due prove di mungitura, abbiamo evidenziato dei dati importanti.

Prima di tutto bisogna ricordare che le misurazioni con i due livelli di vuoto sono state realizzate in due momenti diversi e che il passaggio è avvenuto gradualmente in tre settimane. Questi 15 giorni sono stati fondamentali perché hanno permesso al capezzolo di non subire uno stress eccessivo, ma soprattutto perché ad una prima osservazione dei dati fanno credere che il LV influenzi maggiormente l'innalzamento termico del capezzolo rispetto all'HV. Un'altra osservazione piuttosto interessante è relativa ai

tempi di mungitura, infatti si è visto che essi sono molto vicini nella media e che dunque il gap riscontrato tra le temperature prese dallo IAM in poi, non è dovuto ai tempi di mungitura, ma probabilmente dal livello di vuoto applicato.

Durante l'osservazione e studio dei dati si è potuto rilevare un improvviso innalzamento termico del capezzolo in toto nel caso del LV nei 3,30 minuti post-mungitura, presumibilmente dovuto all'aumento termico del TT il quale rispetto alle altre zone del capezzolo è sottoposto in maggior misura alle forze di pressione esercitate dal vuoto.

Tutte queste analisi hanno dimostrato una superiore sensibilità del MT e del TT rispetto alla BT, applicando indistintamente HV o LV. Ciò implica una maggiore influenza del capezzolo sia a livello anatomico (diversi gradi di cheratinizzazione dell'apice, infezioni mastitiche), che termico. E' necessario dunque prestare molta attenzione alla pratica della mungitura dal momento che la produzione lattea rappresenta la principale fonte di guadagno per le aziende di bufale da latte.

L'innalzamento del vuoto di lavoro se da un lato consente un'estrazione più rapida del latte, dall'altro condiziona l'integrità dei tessuti mammari e può anche essere causa dell'insorgenza di patologie a carico dell'apparato mammario nelle diverse specie da latte. L'azione meccanica esercitata durante la mungitura dall'effetto combinato del vuoto, delle guaine e del peso del gruppo, induce dei cambiamenti nei tessuti del capezzolo che ne possono alterare la resistenza all'ingresso dei batteri patogeni causa di infezioni mastitiche (O'Shea, 1987; Neijenhuis *et al.*, 2001).

Un'elevata ipercheratosi all'apice del capezzolo (Rasmussen *et al.*, 1994), è stata rilevata in risposta alla tensione meccanica operata dalla mungitrice, che può essere interpretata come una normale reazione fisiologica del tessuto per aumentare l'efficienza dello strato di cheratina del dotto del capezzolo e quindi prevenire la penetrazione di agenti patogeni. Questo tipo di lesioni si riscontrano spesso in modo visibile e palpabile sull'apice e meno frequentemente sulla zona centrale del capezzolo. La severità delle lesioni dipende dalle forze meccaniche del sistema di mungitura, specialmente dalla forza compressiva della guaina (Michel *et al.*, 1974). Le papille dello strato epiteliale del canale del capezzolo hanno una direzione diversa nei tre diversi tratti del canale, (prossimale, medio e distale) e quindi anche la cheratinizzazione assume una direzione diversa a secondo del tratto coinvolto.

Le forze meccaniche applicate ripetutamente sull'epitelio stimolano la produzione di cheratina a livello di sfintere, in un primo periodo, e lungo tutto il canale successivamente, in funzione della stimolazione durante la mungitura. L'esposizione al vuoto durante la mungitura, rallentando la circolazione sanguigna nei tessuti, influisce inoltre sulla temperatura superficiale del capezzolo, perciò, riducendo il vuoto operativo, il ripristino della temperatura fisiologica dei tessuti del capezzolo è più rapido.

Dopo aver considerato anche questi aspetti, possiamo dire che conviene utilizzare un livello di vuoto inferiore se si vuole preservare il benessere del capezzolo della bufala e dunque la sua produzione, che è la principale fonte di reddito. Infatti anche se a prima vista potrebbe risultare più svantaggioso perché i tempi di raccolta del latte si allungherebbero (ma molto relativamente), rappresenta un enorme vantaggio per il benessere dell'animale e della sua produzione.

Tra le prospettive future sarebbe importante effettuare un monitoraggio della mungitura molto più accurato, portandolo a 20-30 minuti post-mungitura e non fermandosi a 5 minuti come in questo caso, in modo da poter valutare con maggior accuratezza l'influenza del vuoto sul capezzolo ed eventualmente stabilire dei controlli periodici sul suo stato di salute.

Nonostante sia stato un lavoro introduttivo, questi dati evidenziano un ruolo importante della termografia nel monitoraggio degli effetti della procedura di mungitura sul capezzolo.

APPLICAZIONE DELLA TERMOGRAFIA NELLA DIAGNOSI DI ACIDOSI RUMINALE SUBACUTA NELLA VACCA DA LATTE

Nel campo della biologia e della medicina veterinaria l'applicazione della termografia ad infrarossi è relativamente recente; finora sono stati condotti studi principalmente nella clinica del cavallo sportivo (Bowers *et al.*, 2004; Eddy, 2001; Turner, 1991) e degli animali da reddito (Nikkhah *et al.*, 2005; Berry *et al.*, 2003). Gli studi su animali selvatici sono stati finora condotti principalmente su animali in stato di cattività, oppure per il censimento numerico degli esemplari nelle riserve naturali. Il funzionamento della termocamera si basa sulla rilevazione senza contatto dell'energia termica emessa dagli oggetti, con detector aventi proprietà piroelettriche, che viene in seguito elaborato da software specifici al fine di produrre immagini digitali. La visualizzazione delle immagini ad infrarosso, immagini termiche o radiazioni di calore, viene fatta utilizzando diverse colorazioni in scala per mettere in evidenza i punti caldi, quelli freddi e le differenze di calore esistenti tra le varie parti della superficie esaminata. Si ottiene così una rappresentazione del gradiente termico tra zone diverse del corpo e un modello della distribuzione termica dell'oggetto. La radiazione infrarosso può essere emessa, assorbita, riflessa e trasmessa. Così la termocamera non rileva soltanto la radiazione dovuta alla temperatura dell'oggetto, come avviene per un corpo nero reale, ma anche quella che origina dalle zone circostanti e viene riflessa dall'oggetto stesso. Per una rilevazione precisa della temperatura superficiale dell'oggetto è quindi opportuno tenere conto di tali fenomeni considerando l'emissività dell'oggetto, la temperatura riflessa, la temperatura atmosferica, la distanza tra oggetto e termocamera e l'umidità relativa. Le telecamere ad infrarossi attualmente sul mercato sono in grado di produrre immagini ad elevatissima risoluzione, tenendo conto delle variabili e dei parametri citati, in tempo reale e possono individuare anche piccole differenze di temperatura in un ampio range. Ciò consente di scattare immagini termografiche nitide anche di oggetti molto piccoli, molto grandi o in movimento. Tra i vantaggi dell'utilizzo della termografia c'è la mancanza di contatto che permette di mantenere lontano l'operatore da eventuali rischi e la rende una tecnica non invasiva evitando interferenze

sull'oggetto, come possibili effetti meccanici sulla superficie.

L'acidosi ruminale subacuta (SARA dall'Anglosassone: subacute ruminal acidosis) rappresenta una delle principali problematiche nell'allevamento della bovina da latte, in grado di provocare notevoli ripercussioni economiche, sia dirette che indirette (Plaizier *et al.*, 2008; Morgante *et al.*, 2007). Sull'insorgenza di tale patologia influiscono numerosi fattori: tipologia di alimentazione, modalità di alimentazione, capacità del rumine di assorbire gli acidi grassi volatili, periodo dell'anno, frequenza d'ingestione, periodo di transizione asciutta-lattazione e tutta un'altra serie di condizioni che possono contribuire all'insorgenza di tale patologia (Morgante *et al.*, 2009; Enemark, 2008; Krause e Oetzel, 2006). L'acidosi ruminale subacuta viene spesso sottovalutata perché non si evidenzia con sintomi eclatanti e gli unici segni che possono essere apprezzati sono quelli secondari, che si manifestano a settimane o addirittura a mesi di distanza dall'inizio del problema. Non è quindi possibile emettere diagnosi di SARA basandosi su di un solo segno o sintomo, ma l'unico modo per ottenere una diagnosi corretta, è quello di osservare e mettere in associazione vari aspetti: indagine anamnestica e clinica globale dell'allevamento; valutazione dell'alimentazione e soprattutto esame del liquido ruminale per la determinazione del pH. Quest'ultima è senza dubbio la prova più importante perché è l'unica che ci permette di mettere il luce le condizioni del rumine in quel momento. Dalle ricerche effettuate in questi ultimi anni, si può affermare che la tecnica più idonea e sicura per il prelievo del liquido ruminale al fine di una diagnosi presuntiva di SARA è la ruminocentesi (Gianesella, 2009; Kleen *et al.*, 2009; Duffield *et al.*, 2004). Nonostante sia ampiamente riportata in bibliografia l'efficacia, la validità e l'assenza di pericolosità di tale tecnica, la ruminocentesi rimane un mezzo diagnostico moderatamente invasivo per cui risulta difficilmente impiegata dal veterinario libero professionista, oltre ad essere scarsamente accettata dall'allevatore. A tale scopo, una concreta esigenza di Veterinari ed Alimentaristi, è quella di disporre di un metodo alternativo più semplice e ripetibile per la diagnosi di SARA, a fine di poter applicare in maniera tempestiva gli opportuni correttivi dietetici, eliminare le cause dell'insorgenza della dismetabolia e scongiurare il pericolo del progredire della stessa in forme più acute e di monitorizzarne nel tempo l'andamento della patologia (Gianesella, 2009).

Lo scopo del presente lavoro è quello di verificare l'applicabilità della termografia quale mezzo d'ausilio per la diagnosi di tale disturbo fermentativo basandosi

sull'ipotesi che l'alterazione delle fermentazioni ruminali conduca ad una variazione di temperatura del rumine e/o di circolo superficiale in relazione ai meccanismi di termo dispersione. Inoltre, applicare la valutazione termografica del punto di inserzione dell'ago da ruminocentesi al fine di confermare ulteriormente l'assenza di implicazioni negative di tale tecnica sullo stato di salute e benessere dell'animale.

MATERIALI E METODI

Animali

Da marzo a ottobre del 2009 sono state valutate per tre volte, sei aziende di vacche da latte presenti nella regione Veneto. Sono stati processati per ruminocentesi in media 10 animali per uscita, per un totale complessivo di 173 vacche da latte.

Protocollo sperimentale

Da marzo a ottobre del 2009 sono state valutate per tre volte, sei aziende di vacche da latte presenti nella regione Veneto. Per la prova sono stati presi in considerazione circa 10 animali per azienda, per un totale complessivo di 173 vacche da latte.

Ad ogni animale, oltre alla rilevazione del numero di lattazione e dei corrispondenti giorni di lattazione è stata effettuata la determinazione del Body Condition Score (BCS), secondo la procedura di Edmonson *et al.*, (1989), è stato prelevato il liquido ruminale mediante ruminocentesi, sono state effettuate rilevazioni termografiche e sono stati rilevati tutta una serie di parametri clinici (frequenza cardiaca e respiratoria, temperatura rettale e numero di atti ruminali rilevati in 5 minuti).

Tecnica della ruminocentesi

In ogni azienda sono stati selezionati casualmente 12 animali, in assenza di sintomatologia clinica, per la raccolta del liquido ruminale, in quanto questo rappresenta il numero di capi ritenuto statisticamente significativo e indicativo della presenza di SARA in azienda (Kleen *et al.*, 2009; Morgante *et al.*, 2008). Tuttavia, se i valori di pH del liquido ruminale, che via via venivano misurati in campo, davano già un'elevata frazione di bovine in acidosi ruminale o in condizioni di pH fisiologico i campioni

potevano scendere fino ad un minimo di 9 campioni. Si sono scelte preferibilmente le vacche nei primi 90 giorni di lattazione perché, come emerge dalla bibliografia, queste costituiscono la categoria di animali più a rischio di SARA.

Come accennato nel capitolo introduttivo, il pH ruminale raggiunge il picco di acidità tra le 4 e le 8 ore successive all'assunzione dell'unifeed: questa costituisce perciò la fase ideale di prelievo del liquido ruminale (Gianesella, 2009; Morgante et al., 2007). Il liquido ruminale è stato raccolto tramite ruminocentesi dato che, secondo quanto riportato in bibliografia (Kleen *et al.*, 2009; Gianesella *et al.*, 2007) questa è la tecnica che fornisce i risultati più accurati. La ruminocentesi è stata effettuata come descritto da Nordlund e Garrett (1994) e successivamente modificata da Gianesella (2009), utilizzando un ago da 13G di 105 mm di lunghezza (Figura 1 e 2).

Immediatamente dopo il prelievo, mediante pHmetro portatile, è stato determinato direttamente in campo il valore di pH ruminale.

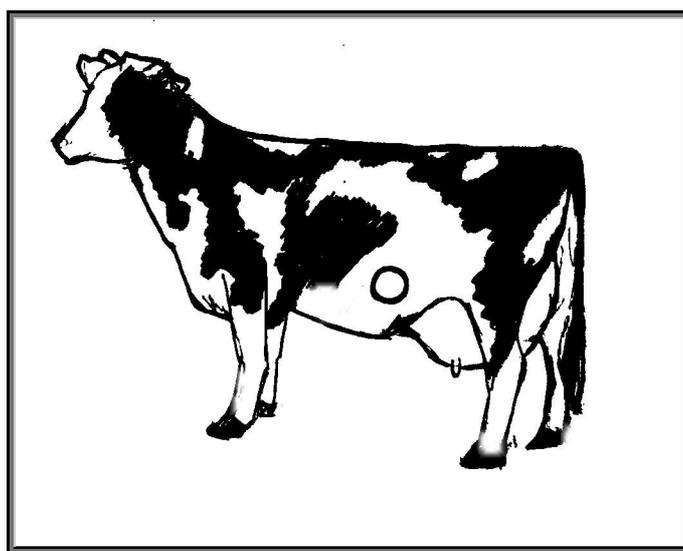


Figura 48: sede anatomica della ruminocentesi.



Figura 49: inserzione dell'ago da ruminocentesi e caduta delle prime gocce di liquido ruminale.



Figura 50: raccolta del liquido ruminale tramite ruminocentesi.

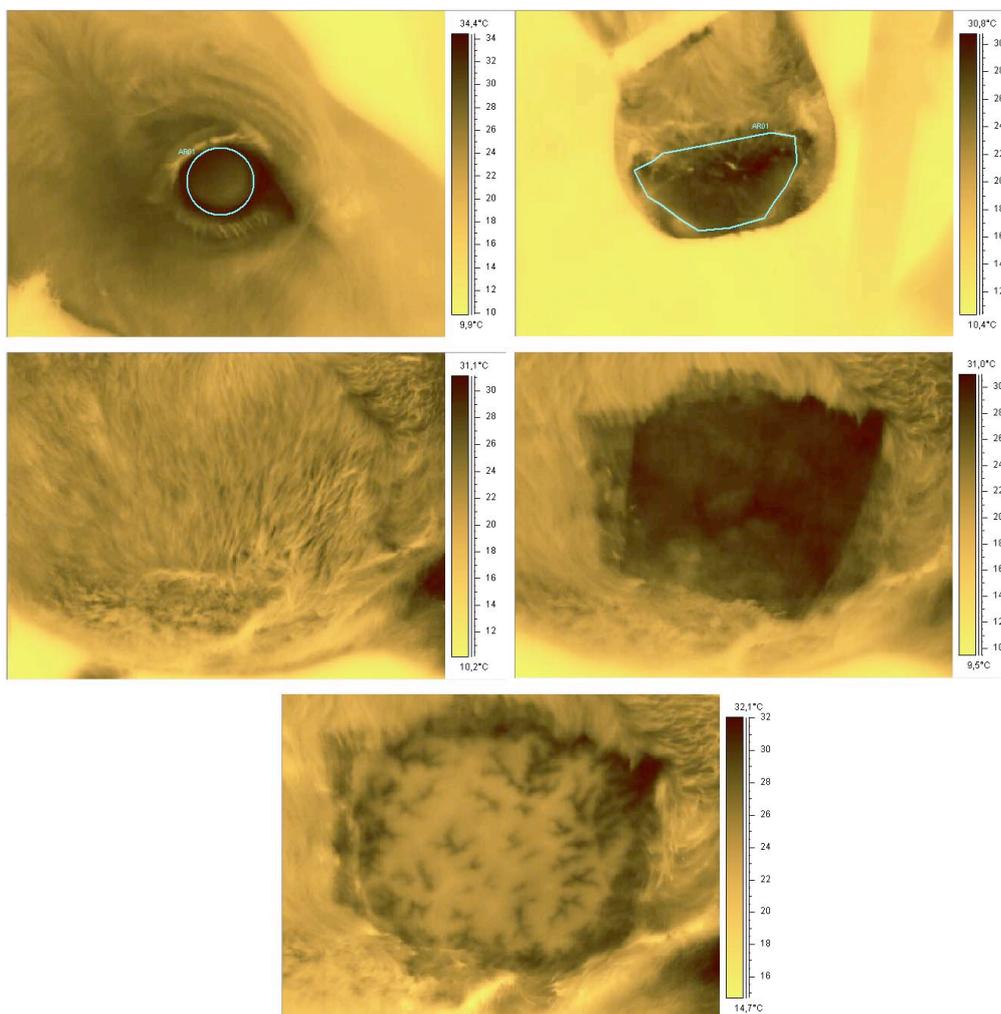
Studio termografico

Si sono effettuati dei rilievi termografici seguendo l'ordine sottodescritto, impostando l'emittanza a 0.98 e a una distanza di 50 cm dalla regione in esame:

1	Occhio destro	Pre ruminocentesi
2	Musello	Pre ruminocentesi
3	Area di ruminocentesi	Pre disinfezione
4	Area di ruminocentesi	Post disinfezione
5	Area di ruminocentesi	Post ruminocentesi
6	Musello	Post ruminocentesi
7	Occhio destro	Post ruminocentesi

Tutte le immagini termografiche sono state processate per mezzo del software ThermaCAM Researcher software di base (Flir System) e i dati ottenuti analizzati a livello statistico.

Figura 51: immagini termografiche delle varie regioni analizzate.



Analisi statistica

I singoli animali valutati sono stati suddivisi in tre gruppi in relazione al loro pH ruminale, secondo lo schema proposto da Nordlund e Garrett (1994):

- bovine “normali” (pH fisiologico): con $\text{pH} \geq 5.8$;
- bovine “a rischio”: pH compreso tra 5.6 e 5.8
- bovine in “acidosi”: $\text{pH} \leq 5.6$.

Inoltre, sempre seguendo tale classificazione proposta da Nordlund e Garrett (1994), successivamente le aziende sono state così suddivise:

- azienda “normale”: quando 2/3 degli animali hanno $\text{pH} > 5.8$;
- azienda “a rischio”: 1/3 degli animali ha pH compreso tra 5.6 e 5.8;
- azienda in “acidosi”: 1/3 degli animali ha $\text{pH} < 5.6$.

Per l'analisi statistica si è utilizzato il software SPSS Release 16.0.1.

Una prima analisi è stata effettuata con un T-Test (Paires Sample Test) per evidenziare differenze statistiche a livello termografico prima e dopo la procedura diagnostica.

Successivamente dopo aver classificato le bovine e le aziende in classi date dai risultati della ruminocentesi (1: non a rischio di acidosi, 2: a rischio di acidosi, 3: in acidosi) si è effettuato delle correlazioni di Pearson tra i dati termografici e i rilievi di pH ruminale e fisiologici, e delle analisi ANOVA a una via per classe azienda e classe bovina.

Risultati

Dall'esame statistico T-test a coppie per i dati termografici, si evidenzia come tra le temperature medie dell'occhio e del musello, prima e successivamente alla procedura, non sono statisticamente divergenti.

		<i>Mean</i>	<i>Std. Dev.</i>	<i>Std. Error Mean</i>	<i>Sig. (2-tailed)</i>
Occhio destro	Prerum. - Postrum.	-,0633	,9297	,0715	,377
Musello	Prerum. - Postrum.	-,1165	,7985	,0612	,059
Rumine	Postras. - Postdis.	4,3749	1,0672	,0826	,000
Rumine	Postras. - Postrum.	3,9438	1,1602	,0912	,000

		<i>Mean</i>	<i>Std. Dev.</i>	<i>Std. Error Mean</i>	<i>Sig. (2-tailed)</i>
Occhio destro	Prerum. - Postrum.	-,0633	,9297	,0715	,377
Musello	Prerum. - Postrum.	-,1165	,7985	,0612	,059
Rumine	Postras. - Postdis.	4,3749	1,0672	,0826	,000
Rumine	Postras. - Postrum.	3,9438	1,1602	,0912	,000
Rumine	Postdis. - Postrum.	-,4418	1,0112	,0787	,000

Tabella 26: T-Test a coppie delle diverse regioni termografiche; P>0,05.

Ricordando che spesso l'occhio e altre regioni della testa dell'animale vengono considerate per il rilievo di stress mediante termografia (Luxardo, 2005; Minero *et al.*, 1987; Waring, 2003) possiamo affermare i seguenti concetti: l'attuazione della ruminocentesi non comporta nè alterazione termica sulla superficie corporea e oculare, né a livello fisiologico (Morgante *et al.*, 2006; Giancesella *et al.*, 2006; Morgante *et al.*, 2007); che la temperatura rilevata sia prima che dopo l'atto diagnostico rappresenta lo *status* termico dell'animale di quel momento.

Per quanto riguarda la ruminocentesi, si evidenzia delle differenze statistiche significative nelle tre fasi ($P < 0,05$). La differenza statistica tra la fase postrasatura e fase postdisinfezione, rappresenta un abbassamento rapido della temperatura superficiale ($\Delta = 4,341$ °C) dato dai componenti liquidi (betadine chirurgico e alcool etilico).

Più interessante sembra essere la differenza statistica ($P < 0,05$) tra il terzo e secondo rilievo termico della regione ruminale ($\Delta = 0,41$) dato molto probabilmente dalla procedura della centesi che da un'alterazione locale dell'organismo.

Come già dimostrato precedentemente dallo studio di Giancesella *et al.* (2006), un'analisi termografica della regione ruminale non è utile in quanto la procedura diagnostica non comporta alterazioni superficiali della temperatura nelle successive 48 ore.

Statistica Descrittiva					
	N°	Minimo	Massimo	Media	Deviazione Standard
Animali	172	1	12	5,67	3,007
Occhio destro Prerum.	172	30	36	32,54	1,168
Occhio destro Postrum.	169	29,8	35,5	32,602	1,0789
Musello Prerum.	172	23,5	35,0	29,585	2,3140
Musello Postrum.	170	24,3	34,6	29,702	2,3465
Rumine Postrasatura	168	27,8	35,2	31,742	1,6784
Rumine Postdisinfez.	171	21,4	32,1	27,379	2,0037
Rumine Postrum.	166	22,0	33,3	27,787	2,1356
Numero di Lattazioni	147	1	6	2,20	1,244
Giorni Postpartum	172	7	104	46,63	24,509
BCS	172	2	4	3,11	,293
pH ruminale	172	5,00	6,90	5,8697	,38011
Temperatura Rettale	172	37,2	40,4	38,458	,4965
Freq. Cardiaca	172	39	147	79,73	16,831
Freq. Respiratoria	172	13	92	39,17	14,348
Atti ruminali	172	4	16	8,60	2,408

Tabella 27: *Analisi statistica descrittiva dei dati raccolti.*

La correlazione di Pearson tra le rilevazioni termiche delle regioni sopradescritte e i valori fisiologici (frequenza respiratoria e cardiaca, temperatura rettale, atti ruminali e pH ruminale) rileva due aspetti interessanti.

Il primo è la costante correlazione statistica (significatività con $P < 0,05$) tra le temperature superficiali dell'occhio, musello e rumine (sia prima che dopo la procedura) con la temperatura rettale e la frequenza respiratoria: troviamo dunque una corrispondenza reale tra i rilievi termici superficiali e la temperatura *core* le quali sono regolate e influenzate fisiologicamente dagli atti respiratori dell'animale.

Il secondo aspetto statistico è la correlazione positiva tra la temperatura superficiale del musello e del rumine (sia pre che post ruminocentesi) con il pH ruminale, suggerendo

che uno stato di acidosi o meno possa riflettersi in certe zone superficiali corporee e meno in altre (come la superficie oculare).

A posteriori dunque è stato valutato (dato quest'ultime correlazioni) se la termocamera potesse essere utilizzata come mezzo diagnostico collaterale nell'individuare la SARA.

Classe Azienda			
	1: non a rischio	2: SARA	3: in acidosi
Occhio destro Prerum.	31,62	32,70	32,35
Occhio destro Postrum.	31,44	32,69	32,61
Musello Prerum.	26,80	29,49	30,30
Musello Postrum.	26,48	29,67	30,35
Rumine Postrasatura	29,27	31,90	31,84
Rumine Postdisinfez.	25,03	27,66	27,16
Rumine Postrum.	24,98	28,06	27,70
pH ruminale	6,13	5,94	5,66
Temperatura Rettale	38,56	38,48	38,39
Freq. Cardiaca	83,00	78,88	81,06
Freq. Respiratoria	39,44	38,91	39,72

Tabella 28: Medie dei dati suddivisi per Classi Azienda.

L'ANOVA a una via per la classe azienda ha rilevato una differenza statistica significativa ($P < 0,05$) per tutte le regioni di rilievo (occhio, musello e rumine) (Tabella 28 e 29).

Variabile Dipendente (Temperatura)	Confronto all'interno delle Classi Aziende			Err. Stand.	Sign.	Variabile Dipendente (Temperatura)	Confronto all'interno delle Classi Aziende			Err. Stand.	Sign.
			Δ medie						Δ medie		
Occhio destro Prerum.	1	2	-1,082 [*]	,396	,019	Occhio destro Postrum.	1	2	-1,082 [*]	,396	,002
		3	-,724	,414	,190			3	-,724	,414	,007
	2	1	1,082 [*]	,396	,019		2	1	1,082 [*]	,396	,002
		3	,358	,194	,158			3	,358	,194	,896
	3	1	,724	,414	,190		3	1	,724	,414	,007
		2	-,358	,194	,158			2	-,358	,194	,896
Musello Prerum.	1	2	-2,6894 [*]	,7625	,002	Musello Postrum.	1	2	-3,1943 [*]	,7661	,000
		3	-3,5020 [*]	,7972	,000			3	-3,8702 [*]	,8004	,000
	2	1	2,6894 [*]	,7625	,002		2	1	3,1943 [*]	,7661	,000
		3	-,8126	,3739	,079			3	-,6759	,3765	,174
	3	1	3,5020 [*]	,7972	,000		3	1	3,8702 [*]	,8004	,000
		2	,8126	,3739	,079			2	,6759	,3765	,174
Rumine Postrasatura	1	2	-2,6333 [*]	,5479	,000	Rumine Postdisinfesz.	1	2	-2,6286 [*]	,6662	,000
		3	-2,5741 [*]	,5731	,000			3	-2,1238 [*]	,6976	,008
	2	1	2,6333 [*]	,5479	,000		2	1	2,6286 [*]	,6662	,000
		3	,0592	,2714	,974			3	,5048	,3290	,278
	3	1	2,5741 [*]	,5731	,000		3	1	2,1238 [*]	,6976	,008
		2	-,0592	,2714	,974			2	-,5048	,3290	,278
Rumine Postrum.	1	2	-3,0839 [*]	,7053	,000	pH ruminale	1	2	,18512	,12288	,290
		3	-2,7262 [*]	,7358	,001			3	,46938 [*]	,12847	,001
	2	1	3,0839 [*]	,7053	,000		2	1	-,18512	,12288	,290
		3	,3577	,3481	,561			3	,28425 [*]	,06026	,000
	3	1	2,7262 [*]	,7358	,001		3	1	-,46938 [*]	,12847	,001
		2	-,3577	,3481	,561			2	-,28425 [*]	,06026	,000

Tabella 29: Differenze statistiche tra medie delle temperature e del pH Ruminale all'interno delle Classi Azienda; $P < 0,05$.

Essendo però la classificazione dell'azienda una indicazione postuma alla lettura di almeno 12 pH ruminali per azienda, più utili a fine pratici sono i risultati dell'ANOVA a una via per classe bovina.

Classe Bovina			
	1: non a rischio	2: SARA	3: in acidosi
Occhio destro Prerum.	32,56	32,43	32,70
Occhio destro Postrum.	32,61	32,42	32,92
Musello Prerum.	29,16	29,71	30,82
Musello Postrum.	29,22	29,94	30,88
Rumine Postrasatura	31,52	31,75	32,47
Rumine Postdisinfez.	27,15	27,45	28,06
Rumine Postrum.	27,58	27,76	28,54
pH ruminale	6,15	5,65	5,30
Temperatura Rettale	38,47	38,40	38,52
Freq. Cardiaca	77,16	83,47	81,59
Freq. Respiratoria	38,04	38,90	43,63

Tabella 30: Medie dei dati suddivisi per Classi Bovina.

Variabile Dipendente (Temperatura)	Confronto all'interno delle Classi Aziende		Δ medie	Err. Stand.	Sign.	Variabile Dipendente (Temperatura)	Confronto all'interno delle Classi Aziende		Δ medie	Err. Stand.	Sign.
	1	2					1	2			
Occhio destro Prerum.	1	2	,124	,204	,815	Occhio destro Postrum.	1	2	,1907	,1885	,571
		3	-,146	,256	,835			3	-,3098	,2349	,387
	2	1	-,124	,204	,815		2	1	-,1907	,1885	,571
		3	-,270	,279	,597			3	-,5005	,2563	,127
	3	1	,146	,256	,835		3	1	,3098	,2349	,387
		2	,270	,279	,597			2	,5005	,2563	,127
Musello Prerum.	1	2	-,5470	,3916	,345	Musello Postrum.	1	2	-,7214	,3982	,169
		3	-1,6558*	,4917	,003			3	-1,6597*	,4992	,003
	2	1	,5470	,3916	,345		2	1	,7214	,3982	,169
		3	-1,1087	,5360	,099			3	-,9383	,5428	,198
	3	1	1,6558*	,4917	,003		3	1	1,6597*	,4992	,003
		2	1,1087	,5360	,099			2	,9383	,5428	,198
Rumine Postrasatura	1	2	-,2322	,2912	,705	Rumine Postdisinfesz.	1	2	-,2928	,3462	,675
		3	-,9506*	,3626	,026			3	-,9034	,4410	,104
	2	1	,2322	,2912	,705		2	1	,2928	,3462	,675
		3	-,7184	,3951	,167			3	-,6106	,4796	,412
	3	1	,9506*	,3626	,026		3	1	,9034	,4410	,104
		2	,7184	,3951	,167			2	,6106	,4796	,412
Rumine Postrum.	1	2	-,1824	,3784	,880	pH ruminale	1	2	,50472*	,03213	,000
		3	-,9590	,4648	,101			3	,85727*	,04033	,000
	2	1	,1824	,3784	,880		2	1	-,50472*	,03213	,000
		3	-,7766	,5102	,283			3	,35255*	,04396	,000
	3	1	,9590	,4648	,101		3	1	-,85727*	,04033	,000
		2	,7766	,5102	,283			2	-,35255*	,04396	,000

Tabella 31: Differenze statistiche tra medie delle temperature e del pH Ruminale all'interno delle Classi Azienda; $P < 0,05$.

Si rileva infatti una differenza statisticamente significativa tra le temperature superficiali del musello e del rumine post rasatura tra le bovine non in acidosi e quelle in acidosi, evidenziando dunque un *gap* termico in grado di essere utilizzato come screening iniziale nell'individuare possibili bovine già in acidosi (Tabella 30 e 31).

Infine l'analisi statistica Anova a una via con equazione lineare (e in seguito l'analisi statistica grafica) tra il pH ruminale e l'area del musello pre e post ruminocentesi ed il rumine post rasatura risalta una evidente diminuzione della temperatura con l'innalzamento del pH, o meglio una correlazione inversa statisticamente significativa ($P < 0,05$) tra il pH e la temperatura superficiale di queste regioni (più basso è il pH ruminale, più alta è la temperatura superficiale) (Tabelle 32-34 e Figure 52-54).

<i>ANOVA a una via con equazione lineare</i>				
R Square	F	df1	df2	Sig.
,064	11,585	1	170	,001

Tabella 32: Studio statistico ANOVA a una via con equazione lineare tra la variabile dipendente Musello Preruminocentesi e la variabile indipendente pH ruminale con $P < 0,05$.

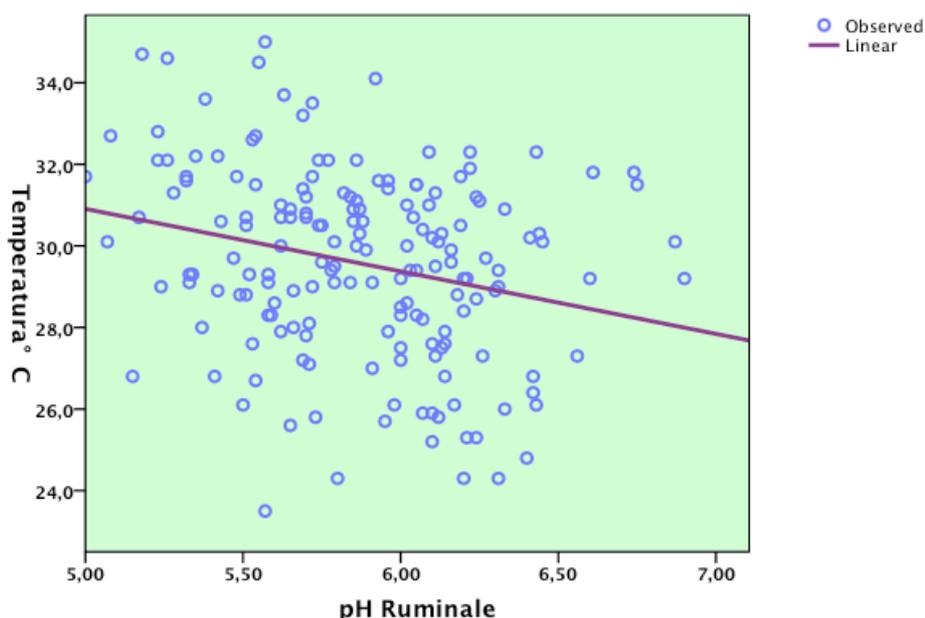


Figura 52: Correlazione tra la variabile dipendente Musello Preruminocentesi e la variabile indipendente pH ruminale.

ANOVA a una via con equazione lineare				
R Square	F	df1	df2	Sig.
,069	11,819	1	159	,001

Tabella 33: Studio statistico ANOVA a una via con equazione lineare tra la variabile dipendente Musello Postruminocentesi e la variabile indipendente pH ruminale con $P < 0,05$.

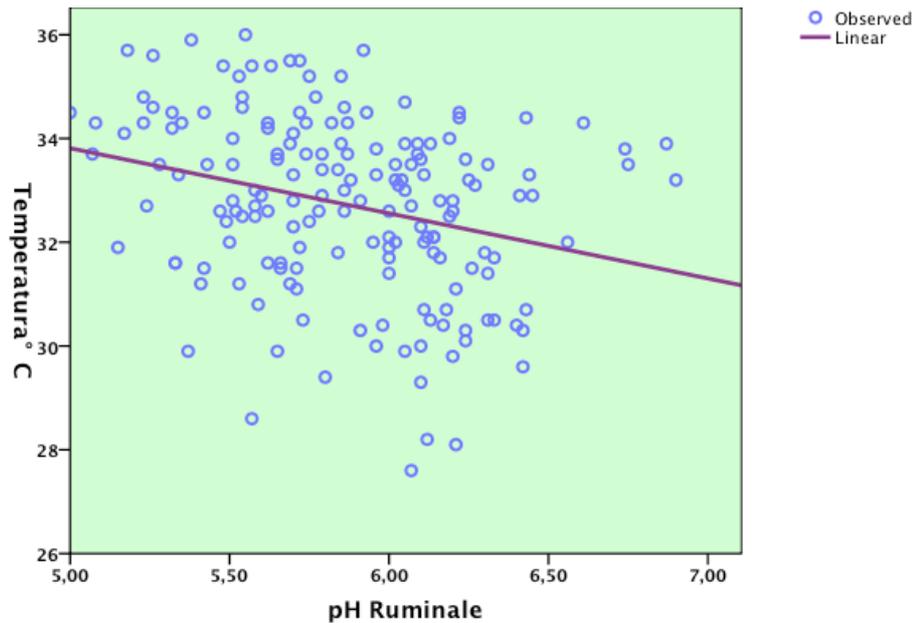


Figura 53: Correlazione tra la variabile dipendente Musello Postruminocentesi e la variabile indipendente pH ruminale.

ANOVA a una via con equazione lineare				
R Square	F	df1	df2	Sig.
,024	4,008	1	166	,047

Tabella 34: Studio statistico ANOVA a una via con equazione lineare tra la variabile dipendente Ruminie Postrasatura e la variabile indipendente pH ruminale con $P < 0,05$.

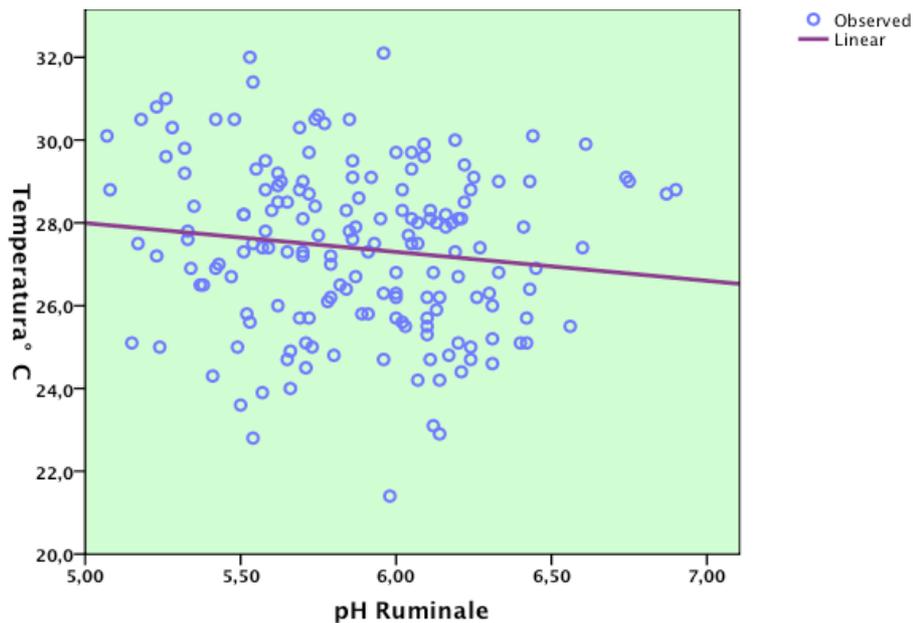


Figura 54: Correlazione tra la variabile dipendente Ruminie Postrasatura e la variabile indipendente pH ruminale.

Conclusioni

Molti autori considerano la ruminocentesi come una tecnica invasiva e professionisti vari ritengono troppo difficile da utilizzarla in indagini cliniche di routine. In questo studio nessuno degli animali ha mostrato alcuna resistenza durante il campionamento e assenza di reazioni locali o sistemiche si sono stati osservati in questo studio. Tuttavia, molti autori segnalati diversi problemi legati alla ruminocentesi quali ascessi e peritonite (Aceto *et al.*, 2000; Strabel *et al.*, 2006).

In questo studio abbiamo analizzato che l'indagine della ruminocentesi non altera significativamente la temperatura superficiale delle aree cosiddette stressogene (occhio e musello); inoltre la temperatura media dell'area di ruminocentesi aumentata (in maniera non significativa) solo di circa 0,5 °C subito dopo la raccolta rumine. Pertanto, possiamo vedere che questo aumento di 0,5 °C è probabilmente legato alla procedura manuale durante rumenocentesis. In effetti, già 24 ore dopo la ruminocentesi la temperatura tornato al livello iniziale e rimasta costante per il rimanente periodo dello studio.

Secondo studi precedenti (Duffield *et al.*, 2004; Kleen *et al.*, 2004; Morgante *et al.*,

2007) i nostri dati suggeriscono che la ruminocentesi è uno strumento utile e prezioso di diagnostica in medicina bovina. La nostra esperienza suggerisce che gli effetti collaterali della ruminocentesi dipende dal materiale e la procedura utilizzata. Un uso singola ago sterile di 12 cm 13 calibro è adeguato. Nella nostra esperienza, una buona preparazione della zona è molto importante (tricotomia e disinfezione), nonché la gestione della vacca durante la procedura. L'area di perforazione dovrebbe inoltre essere adeguatamente desensibilizzati dalla compressione preliminare il primo operatore al fine di evitare una improvvisa reazione dalla vacca per l'introduzione dell'ago. E 'anche molto importante evitare di inserire l'ago durante la contrazione del sacco ventrale del rumine ed è essenziale che la durata della procedura di aspirazione non deve essere superiore a uno o due minuti.

Per quanto riguarda la termocamera sembra che possa essere di grande ausilio diagnostico come indicatore di *status* acidotico delle bovine da latte. Difatti esiste una correlazione tra la temperatura superficiale del musello col pH ruminale tale da giustificare un possibile aiuto della diagnostica ad infrarosso nell'individuare o indicare possibili vacche in acidosi e quindi trattarle in maniera precoce.

CONCLUSIONI FINALI

L'utilizzo della termografia nella disciplina veterinaria è stata praticata almeno dal 1960, ma è solo ora, circa negli ultimi 5 anni, che è stata vista con una mente abbastanza aperta in veterinaria della comunità in generale.

Il suo utilizzo si può alla fine descrivere in tre semplici ma concreti e cardinali punti:

1. Medicina preventiva:

La termografia ad infrarossi entra in campo diagnostico per un problema e improvvisamente abbiamo una prospettiva diversa dell'intera situazione medica.

2. Diagnostica:

Dopo l'utilizzo di una telecamera a infrarossi per acquisire le immagini termiche del paziente, abbiamo informazioni affidabili sulla localizzazione potenziale del problema, e può quindi concentrare la maggior parte del nostro sforzo diagnostico in quella particolare area di interesse.

3. Trattamento, prognosi, riabilitazione:

Quando il trattamento è iniziato, si procede con l'uso di una telecamera a infrarossi per monitorare il processo di guarigione ed esporre una possibile prognosi.

Bibliografia

- Abe R, Nakayama K, Takada M. «Early detection and diagnosis of breast cancer.» *Gan To Kagaku Ryoho* 21 (1994): 21.
- Aceto H, Simeone AJ, Fergusson JD. «Effect of rumenocentesis on health and productivity in dairy cows.» *Journal Animal Science* 78, n. 1 (2000).
- Adachi H, Becker LC, Ambrosio G, Tekeda K, Dipaula AF, Baumgartner WA, Borkon AM, Reitz BA. «Assessment of myocardial blood flow by real-time infrared imaging.» *J. Surg. Res.* 43 (1987): 94-102.
- Akerman S, Koop S. «Intra-articular and skin surface temperature of the temporomandibular joint in patients with rheumatoid arthritis.» *Acta Odontol. Scand.* 46 (1988): 41-48.
- Amiel JP, Vignalou L, Tricoire J, Jamain B, Ravina JH. «Thermography of the testicle. Preliminary study.» *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)* 5 (1976): 917-923.
- Anselmo VJ, Zawaky BE. «Affect of evaporative surface cooling on thermographic assessment of burn depth.» *Radiology* 123 (1977): 331-332.
- Arnold MH, Preston SJ, Beller EM, Buchanan WW. «Infra-red surface thermography. Evaluation of a new radiometry instrument for measuring skin temperature over joints.» *Clin. Rheumatol.* 8 (1989): 225-230.
- Beinder E, Huch A, Huch RJ. «J. Peripheral skin temperature and microcirculatory reactivity during pregnancy. A study with thermography.» *Perinat Med* 18, n. 5 (1990): 383-90.
- Bergqvist D, Efsing HO, Hallbook T. «Thermography: A non-invasive method for diagnosis of deep venous thrombosis.» *Arch. Surg.* 112 (1977): 600-604.
- Berry RJ, Kennedy AD, Scott SL, Kyle BL, Schaefer AL. «Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for mastitis detection.» *Canadian Journal of Animal Science* 83 (2003): 687-693.
- Blessing WW. «Lower brainstem pathways regulating sympathetically mediated changes in cutaneous blood flow.» *Cellular and Molecular Biology* 23 (2003): 527- 538.

- Borten M, Ransil BJ, DiLei LA, Friedman EA. «Equilibration between breast surface and ambient temperature by liquid crystal thermography.» . *J. Reprod. Med* 29 (1984): 665-669.
- Bowers S, Gandy S, Anderson B, Ryan P and Willard S. «Assessment of pregnancy in the mare using digital infrared Thermography.» *American Society of Animal Science/American Society of Dairy Science*, 2004.
- Bramson, Mikael A. «Infrared Radiation, A Handbook for Applications.» *Plenum press*.
- Broom DM, Kennedy MJ. «Stereotypies in horses: their relevance to welfare and causation.» *Equine Veterinary Education* 5, n. 3 (1993): 151-154.
- Burd LI, Dorin M, Philipose V, Lemons JA. «The relationship of mammary temperature o parturition in human subjects.» . *Am. J. Obstet. Gynecol* 128 (1977): 272-278.
- Cassinis C, Pagnoni F, Tomasoni R. «Analisi di insilati per foraggiamento mediante termografia.» *L'Informatore Agrario* 15 (1993): 67-73.
- Chiu WT, Lin PW, Chiou HY, Lee WS, Lee CN, Yang YY, Lee HM, Hsieh MS, Hu CJ, Ho YS, Deng WP, Hsu CY. «Infrared thermography to mass-screen suspected SARS patients with fever.» *Asia Pac J Public Health* 17, n. 1 (2005): 26-8.
- Cirino F. «Sviluppo di modelli ed algoritmi per l'analisi del flusso nella circolazione coronaria attraverso immagini di termografia intraoperatoria ad alta risoluzione. Tesi di laurea in Ingegneria elettronica.» *Università di Pisa*, 2004.
- Cook NJ, Schaefer AL, Warren L, Burwash L, Anderson M, Baron V. «Adrenocortical and metabolic responses to ACTH injection in horses: an assessment by salivary cortisol and infrared thermography of the eye.» *Canadian Society of Animal Science* 81 (2001.): 621.
- Cook NJ, Church JS, Schaefer AL, Webster JR, Matthews LR, Suttie JM. «Stress and pain assessment of velvet antler removal from Elk (*Cervus elaphus Canadensis*) and Reindeer (*Rangifer tarandus*).» *Online Journal of Veterinary Research* 9 (2005): 24-36.

- Cook NJ, Schaefer AL. «Stress responses of Wapiti (*Cervus elaphus* Canadensis) to removal of velvet antler.» *Canadian Journal of Animal Science* 82 (2002): 11-17.
- Coppola V, Verrengia D, Rossi R, Gallo S. «Telethermography: application to problems of infertility.» *J. Reprod. Fertil.* 84 (1984): 417-423.
- Coulter GH, Senger PL, Bailey DR. «Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular temperature in the ram.» *J. Reprod. Fertil.* 84 (1988): 417-423.
- Cusack PMV, McMeniman N, Lean IJ. «The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots.» *Australian Veterinary Journal* 81 (2003): 480-487.
- De Caesaris R, Grimaldi A, Balestruzzi M, Ranieri G, Chiarappa R, Avantaggiato F. «Changes in blood pressure and thermographic values resulting from use of a beta-blocker plus diuretic and of an alpha-beta-blocker plus diuretic.» *Drugs Exp. Clin. Res.* 11 (1985): 725-729.
- Di Carlo A, Ippolito F. «Early effects of cigarette smoking in hypertensive and normotensive subjects. An ambulatory blood pressure and thermographic study.» *Minerva Cardioangiol.* 51, n. 4 (2003): 387-93.
- Duffield T, Plaizier JC, Fairfield A, Bagg R, Vessie G, Dick P, Wilson J, Aramini J, McBride B. «Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows.» *Journal of Dairy Science* 87 (2004): 59-66.
- Eddie Y-K Ng, Sudharsan NM. «Computer simulation in conjunction with medical thermography as an adjunct tool for early detection of breast cancer.» <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/4/17>, 2004.
- Eddy AL, van Hoogmoed LM and Snyder JR. «Review: The role of thermography in the management of equine lameness.» *Vet. J.* 162 (2001): 172-181.
- Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. «A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows.» *Journal of Dairy Science* 72 (1989): 68-78.
- Enemark JMD. «The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review.» *Veterinary Journal* 176 (2008): 32-34.

- Esserlinckx W, Bacon PA, Ring EF, Crooke D, Collins AJ Demottanz D. «A thermographic assessment of three intra-articular prednisolone analogues given in rheumatoid synovitis.» *Br. J. Clin. Pharmacol.* 5 (1978): 447-451.
- Fernández N, Peris C, Díaz JR, Balasch S, Beltrán MC, Molina MP. «Influence of Vacuum Level and Overmilking on Udder Health and Teat Thickness Changes in Dairy Ewes.» *Journal of Dairy Science* 86 (2003): 3891–3898.
- Gardani G, Bergonzi S, Viganotti G, Nessi R, Guzzon A. «Role of telethermography in the diagnosis of primary tumours of soft tissues and bones.» *Radiol Med (Torino)* 69, n. 6 (1983): 433-8.
- Garner DL, Underwood HB and Porter WF. «Use of modern infrared thermography for wildlife population surveys.» *Environmental Management* 19 (1995): 233-238.
- Gautheire M, Heahnel P Walter PJ, Keith LG. «Thermovascular changes associated with in situ and minimal breast cancers. Result of an ongoing prospective study after four years.» *J. Reprod. Med* 32 (1982): 833-842.
- Gautherie M, Gros CM. «Breast thermography and cancer risk prediction.» *Cancer* 45 (1980): 51-56.
- Giancesella M. «Subacute rumen acidosis in Italian dairy herds.» *Lambert Academic Publishing AG & Co. KG*, 2009.
- Giancesella M, Stelletta C, Cannizzo C, Berzaghi P, Andrighetto I, Morgante M. «Effects of rumenocentesis on health and welfare status of dairy cows.» *XXIV World Buiatrics Congress*, 2006.
- Golab-Lipinska MV, Jakubowska T, Wysocki M, Kaluzna K, Peszynski-Drews C. «Thermography in the early detection of breast cancer--our own experiences.» *Wiad Lek* 57 , n. 1 (2004): 87-90.
- Goodlin RC, Brooks PG. «Abdominal wall hot spots in pregnant women.» *J. Reprod. Med* 33 (1987): 177-180.
- Gottlob R, Tielsch W, Czembirek H, Imhoff H, Mayrhofer HP, Berger A. «The basis of tumor verification using thermography.» *Z. Exp. Chir*, n. 8 (1975): 299-308.

- Gratt BM, Anbar M. «Thermology and facial telethermography: Part II. Current and future clinical applications in dentistry.» *Dentomaxillofacial Radiology*, 27, n. 2 (1998): 68-74.
- Gregory SK. «Comparison of density estimators for white-tailed deer using aerial thermal infrared videography.» *Thesis for the degree of Master of Science in forest Resources. University of Arkansas-Monticello*, 2005.
- Hamann GA, Mein S, Wetzel. «Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level.» *J Dairy Sci* 76, n. 4 (1993): 1040-6.
- Head JF, Wang F, Elliott RL. «Breast thermography is a noninvasive prognostic procedure that predicts tumor growth rate in breast cancer patients.» *Annals of the New York Academy of Sciences* 698 (1993): 153-158.
- Heath AM, Navarre CB, Simpkins A, Purohit RC, Pugh DG. «A comparison of surface and rectal temperatures between sheared and non-sheared alpacas (*Lama pacos*).» *Small Ruminant Research* 39 (2001): 19-23.
- Henderson HP, Hackett ME. «The value of thermography in peripheral vascular disease.» *Angiology* 29 (1978): 65-75.
- Holm J, Johnsen C, Schersten T. «Thermography in vascular surgery. A preliminary report based on a study in 12 case.» *Acta Chir. Scand.* 140 (1974): 445-448.
- Holmgren K, Andersson G, Fagrell B, Johnsson H, Lofsjogard-Nillson E, Zetterquist. «One-year sequential follow-up of venous emptying rate and leg temperature profiles after acute deep vein thrombosis.» *Acta Med. Scand.* 224 (1988): 577-582.
- Houe H. «Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections.» *Veterinary Microbiology* 64 (1999): 89-107.
- Hurnik JF, Webster AB, and DeBoer S. «An investigation of skin temperature differentials in relation to estrus in dairy cattle using a thermal infrared scanning technique.» *Journal of Animal Science* 61 (1985): 1095-1102.
- Isard HJ, Sweitzer CJ, Edelstien GR. «Breast thermography: a prognostic indicator for breast cancer survival.» *Cancer* 62 (1988): 484-488.

- Kakuta N, Yokoyama S, Mabuche K. «Development of a human thermal model and its applications for thermographic diagnosis.» *Proceedings of Annual Fall Meeting of the Biomedical Engineering Soc.* Proceedings of Annual Fall Meeting of the Biomedical Engineering Soc, 1999.
- Karmardin LN, Kuzmikev AS. «Thermography in the differential diagnosis of nodular goiter and thyroid cancer.» *Vestn. Khir*, n. 130 (1983): 70-74.
- Karpman HL, Kalb IM, Sheppard J.J. «The use of thermography in a health care system for stroke.» *Geriatrics* 27 (1972): 96-105.
- Keyserlingk JR, Ahlgren PD, Yu E, Belliveau N. «Infrared imaging of breast: initial reappraisal using high-resolution digital technology in 100 successive cases of stage I and II breast cancer.» *The Breast Journal* 4 (1998): 241-251.
- Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JP. «Subacute ruminal acidosis in Dutch dairy herds.» *Veterinary Record* 164 (2009): 681-683.
- Kopsa H, Czech W, Schmidt P, Zazgornik J, Pils P, Balcke P. «Use of thermographic in kidney transplantation: Two year follow up study in 75 cases.» *Proc. Eur. Dial. Transplant Assoc.* 16 (1979): 383-7.
- Krause KM, Oetzel GR,. «Understanding and preventing ruminal acidosis: A review.» *Animal Feed Science and Technology* 126 (2006): 215-236.
- Kristen H, Lukeschitsch G, Plattner F, Sigmund R, Resch P. «Thermography as a mean for quantitative assessment of stump and phantom pain.» *Prosthet. Orthot. Int.* 8 (1984): 76-81.
- Lee BY, Trainor FS, Kavner D, McCann WJ, Madden JL. «Non-invasive hemodynamic evaluation in selection of amputation level. » *Surg. Gynecol. Obstet.* 149 (1979): 241-244.
- Liao SJ, Liao MK. «Acupuncture and tele-electronic infrared thermography.» *Acupunct. Electrother. Res.* 10 (1985): 41-66.
- Loughmiller JA, Spire MF, Dritz SS, Fenwick BW, Hosni MH and Hogge SB. «Relationship between mean body surface temperature measured by use of infrared thermography and ambient temperature in clinically normal pigs and pigs inoculated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*.» *American Journal of Veterinary Research* 62 , n. 5 (2001):): 676-681.

- Luk KD, Yeung PS, Leong JC. «Thermography in the determination of amputation levels in ischemic limbs.» *Int. Orthop.* 10 (1986): 79-81.
- Lunstra DD., Coulter GH. «Relationship Between Scrotal Infrared Temperature Patterns and Natural-Mating Fertility in Beef Bulls.» *J. Anim. Sci.* 75 (1997): 767-774.
- Luxardo M. «Conosciamo il cavallo. Alla scoperta della fisiologia e del comportamento degli equini.» (Edagricole) 2005.
- Madding RP. «Thermographic Instruments and systems.» *Madison, Wisconsin: University of Wisconsin – Extension, Department of Engineering and Applied Science.*
- Marr C, McMillan L, Boyd J. «Wright and Murray M. Ultra sonographic and histopathological findings in equine superficial digital flexor tendon injury.» *Equine Vet. J.* 25 (1993): 23-29.
- Merla A, Di Donato L and Romani GL. «Assistance to surgery by means of infrared functional imaging: preliminary results.» *Proceedings of 23rd Annual International Conference IEEE Eng. Med. Biol.* (Istanbul), 2001.
- Michel G, Seffner W, Schulz J. «Zur Frage der Hyperkeratose des Strichkanalepithels der Zitze des Rindes.» *Monatsh Veterinarmed.* 29 (1974): 570-574.
- Milano C, Rocco P, Paolino G, Greco P, Lotti G. «Telethermographic aspect of the dorsolumbar region in idiopathic scoliosis.» *Ital. J. Orthop.Traumatol* (1982) 8: 361-367.
- Minero M, Dassi M, Martelli A. «Chronic stress in riding horses.» *Equine Vet J* 19 (1987): 268-269.
- Ming Z, Zaproudina N, Siivola J, Nousiainen U, Pietikainen S. «Sympathetic pathology evidenced by hand thermal anomalies in carpal tunnel syndrome.» *Pathophysiology* 12, n. 2 (2005): 137-41.
- Mir L, Planes AB, Caragol, SM. «The value of preoperative thermography in patients undergoing reduction mammoplasty and mastopexy.» *Ann. Plast. Surg* 3 (1979): 504-515.
- Misiolek M, Namyłowski G, Czecior E. «Thermography in the investigation of head and neck tumors.» *Med Sci Monit* 5, n. 6 (1999): 1187-1190.

- Mitchell WS, Winocour PH, Gush RJ, Taylor LJ, Baker RD, Anderson DC, Jayson MI. «Skin blood flow and limited joint mobility in insulin-dependent diabetes mellitus.» *Br. J. Rheumatol.* 28 (1989): 195-200.
- Morgante M, Gatto M, Murgia L, Caria M, Stelletta C, Pazzona A. «Evaluation of different milking vacuum levels on teat skin temperature in dairy buffaloes by infrared thermography.» *World Buiatrics Congress* (Budapest, Hungary), 2008.
- Morgante M, Giancesella M, Cannizzo C, D'Alterio G, Stelletta C. «Use of infrared thermography for evaluating health and welfare status in ruminants.» *14th International congress Fe.Me.S.P.Rum.*, , 2006: 215-220.
- Morgante M, Stelletta C, Berzaghi P, Giancesella M, Andrighetto I. «Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian Dairy.» *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 91 (2007): 226-234.
- Nakayama K, Goto S, Kuraoka K and Nakamura K. «Decrease in nasal temperature of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) in negative emotional state.» *Physiology & Behavior* 84 (2005): 783-790.
- Navarotto P, Guarino M, Vincenti M, Garavaglia V. «La termografia per verificare la qualità costruttiva delle stalle.» *L'informatore agrario* 2 (2003): 57-60.
- Neijenhuis F, Barkema HW, Hogeveen H, Noordhuizen JPM. «Classification and longitudinal examination of callused teats ends in dairy cows.» *Journal of Dairy Science.* 83 (2000): 2795-2804.
- Ng EY, Kaw GJ, Chang WM. «Analysis of IR thermal imager for mass blind fever screening.» *Microvasc Res* 68, n. 2 (2004): 104-9.
- Nikkhah A, Plaizier JC, Einarson MS, Berry RJ, Scott SL and Kennedy AD. «Short communication: Infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages of lactation.» *Journal of Dairy Science* 88 (2005): 2749-2753.
- Nocek JE. «Bovine acidosis: Implications on laminitis.» *J. Dairy Sci* 80 (1997): 1005-1028.
- Nordlund KV, Garrett EF. «Rumenocentesis – a technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds.» *The Bovine Prac* 28 (1994): 109–112.

- Nyirjesy. «Breast thermography.» *Clin Obstet Gynecol.* 25, n. 2 (1982): 401-8.
- O'Shea J. «Machine Milking and Mastitis Section 2: Machine Milking Factors Affecting Mastitis - A Literature Review.» *Bull. Int. Dairy Fed.* 215 (1987): 5-32.
- Osman MM, Afify EM. «Thermal modelling of the normal woman's breast.» *J. Biomech. Eng* 106 (1984): 123-130.
- Palmer SE. «Use of the portable infrared thermometer as a means of measuring limb surface temperature in the horse.» *Am J Vet Res.* 42 (1981): 105-8.
- Paterson J, Watson WS, Teasdale E, Evans AL, Newman P, James WB, Pitkeathly DA. «Assessment of rheumatoid inflammation in the knee joint.» *A reprintsail, Ann. Rheum. Dis.* 37 (1978): 48-52.
- Pavlidis, Levine, Baukol. «Thermal imaging for anxiety detection. IEEE Workshop on computer Vision Beyond the Visible spectrum: Methods and Applications.» *Hilton Head Island*, 2000.
- Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. «Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences.» *Veterinary Journal* 176 (2008): 21-31.
- Purohit RC, McCoy MD. «Thermography in the diagnosis of inflammatory processes in the horse.» *American Journal of Veterinary Research* 41 (1980): 1167-1174.
- Rasmussen MD, Frimer ES, Decker EL. «Reverse pressure gradients across the teat canal related to machine milking.» *Journal of Dairy Science* 77 (1994): 984-993.
- Reinemann DJ, Rasmussen MD, LeMire S, Neijenhuis F, Mein GA, Hillerton JE, Morgan WF, Timms L, Cook N, Farnsworth R, Baines JR, Hemling T. «Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds.» 2001.
- Rich PB, Dulabon GR, Douillet CD, Liswa TM, Robinson WP, Zarzaur BL, Pearlstein L, Katz LM. «Infrared thermography: a rapid, portable, and accurate technique to detect experimental pneumothorax.» *J Surg Res* 120 (2004): 163-70.
- Ring EF. «Thermography and rheumatic diseases.» *Bibl Radiol.*, n. 6 (1975): 97-106.

- Robiesek F, Masters TN, Svenson RH, Daniel WG, Daugherty HK, Cook JW, Selle JG. «The application of thermography in the study of coronary blood flow.» *Surgery* 84 (1978): 858-6.
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Hebert M, Morimoto H. «Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments.» *Brain Research* 153, n. 3 (1978): 563-576.
- Salisbury RS, Parr G, De Silva M, Hazleman BL, Page-Thomas DP. «Heat distribution over normal and abnormal joints: Thermal pattern and quantification.» *Ann. Rheum. Dis.* 42 (1983): 494-499.
- Schaefer AL, Cook NJ, Tessaro SV, Deregts D, Desroches G, Dubeski PL, Tong AKW and Godson DL. «Early detection and prediction of infection using infrared thermography.» *Canadian Journal of Animal Science* 84 (2003): 73-80.
- Schaefer AL, Jones SDM, Murray AC, Sather AP, Tong AKW. «Infrared thermography of pig with known genotypes for stress susceptibility in relation to pork quality.» *Canadian Journal of Animal Science* 69 (1989): 491-495.
- Schaefer AL, Matthews LR, Cook NJ, Webster J, Scott SL. «Novel non-invasive measure of animal welfare.» *Animal Welfare and Behaviour: From Science to Solution, Joint NAWAC/ISAE Conference. Hamilton, New Zealand, 2002.*
- Schaefer AL, Perry BJ, Cook NJ, Miller C, Church J, Tong AKW, Stenzler. A. «Infrared detection and nitric oxide treatment of bovine respiratory disease.» *Online Journal of Veterinary Research Volume 10* (2006): 7- 16.
- Schulz J, Michel G, Seffener W. «Zur Abwehrfunktion der Zitze des Rindes.» *Monatsh Veterinarmed* 29 (1974): 662-667.
- Schwartzkopf-Genswein KS, Stookey. «The use of infrared thermography to assess inflammation associated with hot-iron and freeze branding in cattle.» *Can. J. anim. Sci.* 77 (1997): 577-583.
- Schweinitz DG. «Thermographic diagnostics in equine back pain.» *Vet Clin North Am Equine Pract.* 15 (1999): 161-177.
- Scott SL, Schaefer AL, Tong AKW and Lacasse P. «Use of infrared thermography for early detection of mastitis in dairy cows.» *Canadian Journal of Animal Science* 80 (2000): 764-765.

- Shaefer AL, Jones SDM, Tong AKW, Vincent BC. «The effect of fasting and transportation on beef cattle. Acid-base-electrolyte balance and infrared heat loss of beef cattle.» (*Livestock Production Science*) 69 (1988): 491-495.
- Shah A, Rao KH, Ruedi B, Magrini G. «Determination of fertility interval with ovulation time estimation using differential skin surface temperature (DST) measurement.» *Fert. Steril* 41 (1984): 771-774.
- Shamaa AA., Gohar HM. «Clinical Assessment of Thermography as a Diagnostic and Prognostic Tool in Horse Practice.» <http://www.flirthermography.com/media/12Embay2002s.pdf>, 2002.
- Sherman RA, Ernst JL, Markowski J. «Differences between trunk heat patterns shown by complete and incomplete spinal cord injured veterans.» *Paraplegia* 25 (1987): 466-474.
- Sinapis E., Diamantopoulos K., Abas Z., Vlachos I. «Effect of vacuum level on milking efficiency, somatic cell counts (SCC) and teat end wall thickness in ewes of Greek mountain Boutsiko breed.» *Livestock Science*. 104 (2006): 128–134.
- Skliarenko RT, Zakalinskii IA. «Role of thermography in the evaluation of the result of the surgical treatment of patient with arteriosclerosis obliterans.» *Vestn. Khir.* 136 (1986): 49-53.
- Smaga, Paszkowski, Wozniak, Walczak. «Analysis of physiologic and abnormal pictures of uterine cervix by means of infrared thermography.» *Ginekol Pol.* 74, n. 9 (2003): 847-54.
- Spence VA, Walzer WF. «The relationship between temperature isotherms and skin blood flow in the ischemic limb.» *J. Surg. Res.* 36 (1984): 278-281.
- Spire MF, Drouillard JS, Galland JC, Sargeant JM. «Use of infrared thermography to detect inflammation caused by contaminated growth promotant ear implants in cattle.» *J Am Vet Med Assoc.* 215, n. 9 (1999): 1320-4.
- Stashak T. «Adam's lameness in horses.» *Fourth Ed., Lea and Febiger*, 1987: 100-156.
- Sterns EE, Zee B. «Thermography as a predictor of prognosis in cancer of the breast.» *Cancer* 15 (1991): 1678-80.

- Stess RM, Sisney PC, Moss KM, Graf PM, Louie KS, Gooding GA, Grunfeld C. «Use of liquid crystal thermography in the evaluation of the diabetic foot.» *Diabetes Care* 9 (1986): 267-272.
- Stewart M, Webster JR, Schaefer AL, Cook NJ, Scott SL. «Infrared thermography as a non invasive tool to study animal welfare.» *Animal Welfare*, 14: (2005.): 319-325.
- Stewart M, Webster JR, Verkerk GA, Schaefer AL, Colyn JJ, Stafford KJ. «Non-invasive measurement of stress in dairy cows using infrared thermography.» *Physiology & Behavior* 92, n. 3 (2007): 520-525.
- Strabel D, Ewy A, Kaufmann T, Steiner A, Kirchhofer M. «Rumenocentesis: a suitable technique for analysis of rumen juice pH in cattle?» *Schweizer Archiv für Tierheilkunde* 149 (2007): 301-306.
- Sturdee DW, Reece BL. «Thermography of menopausal hot flushes.» *Maturitas* 1 (1979): 201-205.
- Sun PC, Jao SH, Cheng CK. «Assessing foot temperature using infrared thermography.» *Foot Ankle Int.* 26, n. 10 (2005): 847-53.
- Systems, Flir. «ThermCAM Reporter.» 2003.
- Tapernoux, Hessler. «Thermography of malignant melanomas.» *J Dermatol Surg Oncol.*, n. 3 (1977): 299-302.
- Tessier M, Du Tremblay D, Klopfenstain C, Beauchamp G, Baulianne M. «Abdominal skin temperature variation in healthy broiler chickens as determined by thermography.» *Poult Sci* 82 (2003): 846-9.
- Thorne JB, Goodwin D, Kennedy MJ, Davidson HPB., Harris P. «Foraging enrichment for individually housed horses: Practicality and effects on behaviour.» *Applied Animal Behaviour Science* 94 (2005.): 149-164.
- Tivey D, Benhanzy T. «The potential to asses environmental conditions within pig production system.» 2002.
- Tong AKW, Schaefer AL, Jones SDM. «Detection of pour quality beef using infrared thermography.» *Meat Focus International* 4 (1995): 443-445.
- Turner TA, Fessler JF, Lamp M, Pearce JA, Geddes LA. «Thermographic evaluation of horses with podotrochlosis.» *Am J Vet Res.* 44, n. 4 (1983): 535-9.

- Turner TA. «Alternative methods of soft tissue imaging.» *Dubai Int Equine Symp*, 1996: 165–176.
- Turner TA. «Hind limb muscle strain as a cause of lameness in horses.» *Proceedings Am. Assoc Eq Pract.* 34 (1989): 281-286.
- Turner TA. «Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation.» *Vet Clin North Am Equine Pract.* 7, n. 2 (1991): 311-38.
- Uematsu S, Jankel WR, Edwing DH, Kim W, Kozizowski J, Rosenbaum A, Long D. M. «Quantification of thermal asymmetry. Part 2: Application in low-back pain and sciatica.» *J. Neurosurg.* 69 (1988): 556-561.
- Waring GH. «Horse behaviour.» William Andrew publishing, 2003.
- Weil M, Litzke LF, Fritsch R. «Diagnostic validity of thermography of lameness in horses.» *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 26 (1998): 346-54.
- William L. Wolfe, George J. Zissis. «The Infrared Handbook.» *Office of Naval Research, Department of Navy.*
- Wolfe, William L. «Handbook of Military Infrared Technology.» *Office of Naval Research, Department of Navy.*
- Wright, McGechan. «Breast cancer: new technologies for risk assessment and diagnosis.» *Mol Diagn* 7, n. 1 (2003): 49-55.
- Wójtowski J, Ślósarz p, Bielińska S, Nowicki S, Gut A, Danków R. «Ultrasound image of morphological changes of teat end in sheep caused by machine milking.» *Arch. Tierz., Dummerstorf.* 49 (2006): 231-237.
- Yang W-J, Zhang N, Yang PPT, Lin ZZ. «Determination of uterine activity during labor by means of infrared thermography.» 1991.
- Yang, W-J, Zhang N, Andersen HF. «Abdominal wall temperature variation during labor and parturition by infrared thermography.» *1st World Congress of Biomechanics* 1990.
- Yokoyama S, Kakuta N, Ochifuji K. «Development of a new algorithm for heat transfer equation in human body and its applications.» *Appl Human Sci* , n. 16 (1997): 153-159.
- Zabranski F. «Thermography of gluteal regions after hypogastric artery ligation.» *Zentralbl. Gynakol.* 110 (1988): 283-290.