

TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA: UMA FERRAMENTA PARA AUXILIAR NO DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DE MASTITE EM OVELHA*

Francisco Roserlândio Botão Nogueira¹⁺, Bonifácio Benício de Souza², Maria das Graças Xavier de Carvalho³, Felício Garino Junior⁴, Ana Valéria Mello S. Marques⁵ e Rodrigo Formiga Leite⁶

ABSTRACT. Nogueira F.R.B., Sousa B.B., de Carvalho M. das G.X., Garino Junior F., Marques A.V.M.S. & Leite R.F. [**Infrared thermography: an assistant tool in the diagnosis and prognosis of mastitis in sheep**]. Termografia infravermelha: uma ferramenta para auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelha. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(3):289-297, 2013. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba, Rua Presidente Tancredo Neves, s/n, Jardim Sorrilândia, Sousa, PB 58800-970, Brasil. E-mail: francisco.nogueira@ifpb.edu.br

The production of knowledge about mastitis in sheep is an immediate necessity to base prevention, treatment and control strategies or programs. In order to do so, it is required to develop easy-to-adopt diagnosis techniques and procedures to be used in field. Infrared thermography (IRT) is pointed in some dairy cattle mastitis studies as a tool which presents these characteristics. Considering the positive results produced by IRT, the present work is aimed at studying it as assistant tool in the diagnosis and prognosis of mastitis in sheared sheep. It was evaluated 49 sheep of the breeds Santa Inês, Dorper, or crossbreed resulting from both. A total of 98 half mammary gland was clinically evaluated, using as reference symmetry, consistency, existence of nodules, and milk aspect. It was also performed the California Mastitis Test (CMT) and microbiological test of milk secretions. Thermographic images were obtained from 06h30 to 07h30, with animals resting in the shadow. The average temperature and humidity index (THI) at that time was 68.9. Gland superficial temperatures (GST) obtained from thermographic images were 34.28°C(±1.2674), 33.04°C(±1.4423), and 33.8°C(±1.1126) in the healthy halves, with clinical mastitis, and subclinical mastitis, respectively. GST also presented some significant variation due to alterations in the consistency of the clinically diseased tissue, thus indicating several stages in the inflammatory process. Halves with decreased consistency and small nodules presented lower average values of 30.1°C(±0.708) and 32.7°C(±1.379), followed by increased consistency 33.5°C(±1.407), large nodule 33.9°C(±1.056), with no alteration 33.9°C(±1.168), and medium nodule 34.1°C(±0.340). Associated with other techniques such as clinical exams, IRT has great potential to be an assistant tool in

* Recebemos em 30 de agosto de 2012.

Aceito para publicação em 26 de agosto de 2013.

¹ Médico-veterinário, M.Sc., Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), Campus Sousa, Rua Presidente Tancredo Neves, s/n, Jardim Sorrilândia, Sousa, PB 58800-970, Brasil. + Autor para correspondência. E-mail: francisco.nogueira@ifpb.edu.br

² Zootecnista, D.Sc., Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Campus de Patos, Caixa Postal 64, Patos, PB 58708-110. E-mail: bonifacio@pq.cnpq.br

³ Médica-veterinária, DSc., Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG., CSTR, Campus de Patos, Caixa Postal 64, Patos, PB 58708-110. E-mail: mgxc@bol.com.br

⁴ Biólogo, DSc Hospital Veterinário, UFCG., CSTR, Campus de Patos, Caixa Postal 64, Patos, PB 58708-110. E-mail: garinofjr@hotmail.com

⁵ Médica-Veterinária, DSc., IFPB, Campus Sousa, Rua Presidente Tancredo Neves, s/n, Jardim Sorrilândia, Sousa, PB 58800-970, Brasil. E-mail: anavaleriavet@hotmail.com

⁶ Médico-Veterinário, IFPB, Campus Sousa, Rua Presidente Tancredo Neves, s/n, Jardim Sorrilândia, Sousa, PB 58800-970, Brasil. E-mail: rodrigoformigaleite@gmail.com

the diagnosis and prognosis of mastitis in sheep, and it may help in taking decisions and adopting herd management practices.

KEY WORDS. Infrared thermography, mastitis, sheep, semiarid.

RESUMO. Produzir conhecimentos sobre mastite em ovelhas é uma necessidade urgente, para fundamentar estratégias ou programas de prevenção, tratamento e controle. Para tanto se faz necessário o desenvolvimento de técnicas e procedimentos diagnósticos de fácil e rápida aplicação e que possam ser utilizados a campo. A termografia infravermelha (TIV) é apontada em alguns estudos de mastite bovina como uma ferramenta com estas características. Considerando os resultados promissores da TIV objetivou-se com este trabalho estudá-la como ferramenta auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelhas deslanadas. Foram avaliadas 49 ovelhas das raças Santa inês, Dorper, ou mestiças resultante dos cruzamentos entre as duas. Um total de 98 metades mamárias foram avaliadas clinicamente, tendo como referência; simetria, consistência, presença de nódulos e aspectos do leite. Também foram realizados California Mastitis Teste (CMT) e exame microbiológico das secreções lácteas. As imagens termográficas foram obtidas entre 06h30min e 07h30min da manhã, com os animais à sombra. O índice de temperatura e umidade (ITU) médio para o horário foi de 68,9. As Temperaturas Superficiais das Glândulas (TSG) obtidas nas imagens termográficas foram 34,28°C(±1,2674), 33,04°C(±1,4423) e 33,8°C(±1,1126) nas metades saudáveis, com mastite clínica e subclínicas, respectivamente. A TSG também variou, significativamente, em função das alterações na consistência do tecido das glândulas com mastite clínica, indicando variados estágios do processo inflamatório. As metades com consistência diminuída e nódulos pequenos foram as que apresentaram menores valores médios, 30,1°C(±0,708) e 32,7°C(±1,379), seguida por consistência aumentada 33,5°C(±1,407), nódulo grande 33,9°C(±1,056), sem alteração 33,9°C(±1,168) e nódulo médio 34,1°C(±0,340). A TIV, associada a outras técnicas, como exame clínico, apresenta potencial para ser uma ferramenta auxiliar no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelhas, podendo ajudar na tomada de decisão e adoção de práticas de manejo nos rebanhos.

PLAVRAS-CHAVE. Termografia infravermelha, mastite, ovino deslanado, semiárido.

INTRODUÇÃO

A mastite é o resultado da resposta imunológica a algum tipo de agressão sofrida pelo tecido mamário, com consequências imediatas para o animal, por provocar dor e desconforto, influenciando diretamente no seu bem estar e por consequência na eficiência produtiva dos rebanhos, pois reduz a produtividade e eleva os custos de produção.

A mastite possui etiologias variadas, porém as mais estudadas são as de origem microbiana, principalmente as bacterianas. Existe uma diversidade de estudos sobre mastite, principalmente em bovinos, cujos os conhecimentos contribuíram para o desenvolvimento de técnicas e procedimentos de diagnósticos já padronizados que permitem, inclusive, o a identificação em estágios iniciais da doença, ampliando as possibilidades de sucesso no tratamento, além de permitir o desenvolvimento de programas de manejo baseados na prevenção e controle. Porém, como afirmam Arsenault et al. (2008) em ovelhas criadas para produção de carne, poucos estudos foram realizados.

A escassez de pesquisas sobre esta patologia em ovinos tem como fator limitante a baixa eficiência dos diagnósticos, tratamento e prevenção. Alguns trabalhos já foram desenvolvidos em várias partes do mundo. Mas na sua maioria o objetivo principal foi estudar a etiologia e/ou epidemiologia (Fthenakis 1994, Lafi et al. 1998, Al-Majali & Jawabreh 2003, Silva et al. 2010, Fotou et al 2011).

Pouco se sabe, também, sobre seus impactos no desempenho dos rebanhos. Embora não dispondo de estudos mais sistematizados sobre seus impactos é possível inferir que sua presença nos rebanhos ovinos, assim como nos bovinos, contribui, significativamente, para diminuição do desempenho produtivo dos animais, devido ao seu principal efeito fisiológico, a redução na produção de leite. Tal efeito se expressa mesmo nos rebanhos de ovinos deslanados, cuja finalidade principal é a produção de carne. Nestes, o leite das ovelhas lactantes é o principal alimento para as crias nos primeiros dias de vida. Sua diminuição ou ausência terá efeito imediato na sobrevivência e no peso ao desmame dos borregos, como afirma Arsenault et al. (2008).

Produzir conhecimentos sobre o comportamento da mastite em ovelhas é uma necessidade urgen-

te, para fundamentar estratégias ou programas de prevenção, tratamento e controle. Para tanto se faz necessário o desenvolvimento de técnicas e procedimentos diagnósticos de fácil e rápida aplicação e que possam ser utilizados a campo.

Algumas técnicas de diagnóstico utilizadas em bovino são adotadas para os ovinos, como por exemplo: exame clínico, identificação da alteração das células de defesa na glândula mamária, pelas técnicas de contagem de Células Somáticas (CCS) ou California Mastitis Teste (CMT) e Isolamento do micro-organismo, (Mavrogenisa et al. 1995, Gonziilez-Rodriguez & Cárrnenes 1996, McDougall et al. 2001, Suarez et al. 2002, Silva et al. 2010).

Uma nova técnica que está sendo estudada para diagnóstico de processos inflamatórios em medicina humana e veterinária é a termografia infravermelha (TIV). Técnica baseada no princípio de que todos os corpos formados de matéria emitem certa carga de radiação infravermelha, proporcional a sua temperatura. Esta radiação pode ser capturada em um termograma que expressa o gradiente térmico em um padrão de cores (Eddy et al. 2001).

A temperatura de superfície dos animais depende, também, do fluxo sanguíneo e da taxa metabólica dos tecidos subcutâneos (Nikkhah et al. 2005). Muitas infecções que desencadeiam processos inflamatórios, como resposta imunológica, alteram o fluxo sanguíneo e por consequência a temperatura na região afetada (Berry et al. 2003). Alterações de superfície da pele podem ser detectadas, utilizando a TIV, com sucesso (Bouzida et al. 2009).

Na medicina humana, a TIV tem recebido maior atenção em áreas como: avaliação da termorregulação (Bouzida et al. 2009), procedimento cirúrgico (Weerd et al. 2011), diagnósticos intravascular por imagem (Verheye et al. 2004), Reumatologia (Ring 2004), fisiologia da respiração (Lewis et al. 2011), câncer de mama (Wishart et al. 2010, Bezerra et al. 2012), dentre outras; na medicina veterinária são desenvolvidas pesquisas nas áreas de: mastite bovina (Berry et al. 2003, Nikkhah et al. 2005, Colak, et al. 2008, Hovinen et al. 2008, Rodriquéz et al. 2008, Polat et al. 2010) lesões inflamatórias e problemas locomotores em equinos (Eddy, et al. 2001, Fonseca, et al. 2006, Basile et al. 2010), doença respiratória em bezerros (Schaefer et al. 2007, Schaefer, et al 2011) diagnóstico de febre aftosa (Rainwater-Lovett et al. 2009), avaliação de comportamento e bem estar animal (Stewart et al. 2005, Ludwig et al. 2007, Kotrba et al. 2007, McCafferty

et al. 2011, Paim et al. 2012) e avaliação da produção de gás metano por vacas leiteiras (Montanholi et al. 2008).

Vários estudos apresentam a TIV como potencial ferramenta para auxiliar no diagnóstico de processos inflamatórios nas várias espécies de animais mamíferos. Considerando este potencial, objetivou-se com este trabalho estudar o uso da termografia infravermelha como ferramenta auxiliar no diagnóstico de mastite em ovelhas deslanadas, criadas para produção de carne.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais e local

Foram avaliadas 49 ovelhas das raças Santa inês, Dorper, ou mestiças resultante dos cruzamentos entre as duas. Os animais estavam distribuídos em dois rebanhos um no município de Sousa-PB – no campus do IFPB - com 29 animais e o outro no município de Condado-PB, com 20 animais. Ambos os municípios estão localizados na mesorregião do sertão paraibano, sob influência do clima semiárido. Os dois rebanhos recebiam práticas de manejo semelhantes, com os animais liberados para o pastejo algumas horas após o nascer do sol e recolhidos para o curral no final da tarde.

Obtenção das imagens termográficas- termogramas

Os termogramas foram obtidos entre 06h30min e 07h30min da manhã, com os animais à sombra. O índice de temperatura e umidade (ITU) médio para o horário foi de 68,9. Os animais foram mantidos de pé com os membros pélvicos, levemente, afastados e a cauda levantada, para enquadramento centralizado da região caudal das duas metades da glândula. A câmera foi mantida a uma distância aproximada de 1 metro do animal, sempre colocada a um ângulo de 90° em relação ao solo.

A Câmera utilizada foi um Termovisor da marca Fulk, modelo Ti25® equipada com um microbolômetro que permite uma matriz de plano focal de 160 x 120 pixels e um sensor digital, que permite obter o termograma como parte de uma imagem digital. A câmera possui um calibrador interno para calibração automática da temperatura. A emissividade utilizada foi 0,98 e precisão de 0,1°C. As imagens termográficas geradas tinham resolução 160 X 120 pixels, onde cada pixel representa um ponto de temperatura.

Uma vez transferidas para o computador os termogramas foram avaliados com o auxílio do software SmartView 3.2, disponibilizado pelo fabricante da câmera. Para análise das temperaturas foram desenhados quadrados de 10x10 pixels, que acumulam a captação de 100 pontos de temperatura e apresentam a máxima, média e mínima da área onde estão localizados. Os quadros foram colocados nas regiões mais centrais das glândulas e a na região caudal do membro pélvico esquerdo sobre os músculos semimembrâneo e semitendíneo.

Exame clínico

Foi realizado um exame clínico geral de cada animal, segundo metodologia descrita por (Feitosa 2008). Este teve como objetivo identificar processos inflamatórios em outros

órgãos que não as glândulas mamárias. Achados deste gênero colocaram os animais em condição de impossibilidade de participarem da pesquisa.

O exame da glândula foi realizado pelo método de inspeção e palpação seguindo a metodologia descrita, também por (Feitosa 2008). Durante a inspeção observou-se, principalmente: simetria, presença de processos inflamatórios e cicatrizes ou corpos estranhos (umidade, esterco, terra) na superfície da pele. Durante a palpação avaliou-se alterações específicas do tecido glandular, classificando como: sem alteração; presença de nódulo pequeno, médio ou grande e consistência aumentada ou diminuída. Para classificar os nódulos adotou-se como referência o tamanho aproximado, em centímetros, de 1-3 para pequenos, 3-5 para médios e maior que 5 grande;

A avaliação da secreção láctea foi realizada, quanto ao aspecto, utilizando-se a caneca de fundo escuro para observar a cor ou presença de grumos, pus ou sangue. Em seguida foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT) como indicador da concentração de células de defesa na glândula. Adotou-se a seguinte classificação: Negativo, quando a reação foi negativa ou apresentou traços; positivo, quando a reação foi 1+, 2+ ou 3+.

A avaliação clínica e o CMT permitiram realizar o diagnóstico de cada metade das glândulas, classificadas como: saudável, com mastite clínica ou mastite subclínica. As metades saudáveis não apresentaram nenhum sinal clínico e foram negativas no CMT. Foram consideradas com mastite clínica as metades que apresentaram alguma alteração no tecido glandular identificada durante a palpação e/ou alteração no aspecto da secreção láctea, como: presença de grumos, sangue ou pus. As glândulas que apresentaram consistência aumentada somente foram consideradas com mastite clínica quando associadas a outros achados, como alteração no tamanho e consistência dos linfonodos mamários. Qualquer reação positiva no CMT, sem achado clínico, o diagnóstico foi de mastite subclínica.

Concentração de fibrinogênio plasmático

A concentração de fibrinogênio plasmático foi determinada através da técnica de precipitação térmica (Schalm, 1970). O sangue foi obtido por meio de venopunção na jugular, em tubos com sistema a vácuo, contendo ácido etilenodiaminotetracetato dissódico. As amostras foram imediatamente refrigeradas e assim mantidas até a análise.

No laboratório do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande- UFCG as amostras foram homogeneizadas e preencheram-se dois tubos capilares com posterior vedação de uma de suas extremidades. Em seguida, esse material foi centrifugado a 12.000rpm por dez minutos e, a partir do sobrenadante, determinou-se a concentração da proteína plasmática total PPT, com auxílio de um refratômetro. Os tubos capilares remanescentes foram acondicionados em Banho-Maria a 57°C por cinco minutos e, em seguida, re-centrifugados a 12.000rpm por cinco minutos. Por meio deste tubo capilar, pode-se efetuar outra análise refratométrica do sobrenadante, obtendo-se a concentração das proteínas plasmáticas, neste momento, sem o fibrinogênio precipitado. Por diferença de concentração entre os dois valores de proteína plasmática obteve-se a concentração do fibrinogênio plasmático em mg/dl.

Coleta e análise das secreções lácteas

Após os testes de triagem foram coletadas amostras de secreção láctea de cada metade das glândulas mamárias. Antes os tetos foram devidamente desinfetados, lavados com solução de hipoclorito de sódio a 1%, secos individualmente com papel toalha descartável, em seguida realizou-se a antisepsia com álcool iodado (2,5%) e coletaram-se as amostras em frascos estéreis, sendo estas encaminhadas ao laboratório de microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande - HV/UFCG, acondicionados em caixas térmicas com gelo.

No laboratório, as amostras foram semeadas em meio Agar sangue ovino 5% e Agar MacConkey, incubadas a 37°C, sendo realizadas leituras com 24 a 72 horas de incubação. Nos microrganismos isolados foram realizados exames bacterioscópicos pelo método de Gram, submetidos às seguintes provas de identificação: produção de catalase, coloração de Gram, coagulação de plasma de coelho, urease, indol; motilidade em ágar semi-sólido; esculina, acidificação de carboidratos; oxidação-fermentação em meio de Hugh e Leifson; produção de H₂S; crescimento em TSI, ágar citrato de Simmons, "Camp Test"¹, VM/VP, oxidase.

Tratamento estatístico

Cada metade de glândula foi considerada como uma unidade de análise, para efeitos de tratamento estatístico. Foi utilizado o teste-t para observar a variabilidade das médias das temperaturas superficiais das glândulas (TSG). A análise de correspondência foi utilizada para observar a associação entre o diagnóstico microbiológico e o diagnóstico clínico. Para avaliar a relação entre o diagnóstico clínico, as alterações clínicas específicas da glândula e a TSG ou a concentração de fibrinogênio plasmático, os dados foram distribuídos em um gráfico tipo Box-plot associado ao teste Kurskal-Wallis. Médias e frequências também foram utilizadas para apresentar os dados. O valor de significância considerado para todas as análises foi p<0,05. Utilizou-se o software STATISTICA 10.0.

RESULTADOS

Foram avaliadas, clinicamente e gerados termogramas de 98 (2x49 metades mamárias) glândulas mamárias, porém para o exame microbiológico só foram obtidas secreções lácteas de 85 metades, conforme se observa na Tabela 1.

Quanto aos achados específicos de alteração do tecido glandular observados durante a palpação

Tabela 1. Números e percentagens de metades mamárias de ovelhas deslanadas em rebanhos no semiárido Paraibano, segundo exame clínico e microbiológico¹.

Exame clínico da glândula	Microbiológico negativo		Microbiológico positivo		Total
	Nº	%	Nº	%	
Saudável	15	88,24	02	11,76	17
Mastite clínica	32	60,38	21	39,62	53
Mastite sub clínica	08	53,33	07	46,67	15
Total	55		30		85

¹ Inertia=,06359 Chi²=5,4055 df=2 p=,06704

38,78%(38/98) das metades mamárias não apresentaram nenhuma alteração, 30,61%(30/98) apresentaram nódulos pequenos, 13,27% (13/98) nódulos médios, 4,08%(4/98) nódulos grandes, 9,18% (9/98) consistência aumentada e 4,08 (4/98) consistência diminuída.

A frequência dos resultados do exame microbiológico variou também em função do tipo de alteração encontrado nas glândulas. Aquelas metades com nódulos grandes tiveram a maior taxa de isolamento 75%(3/4), seguidas pelas de consistência aumentada com 55%(5/9). Já nos achados de consistência diminuída foram 25%(1/4), nódulo pequeno 30,43%(7/23) e nódulo médio 30%(3/10). Ainda foram isolados micro-organismo em 31,43%(11/35) das metades sem alteração.

A concentração de fibrinogênio plasmático variou em função do diagnóstico: saudável, mastite clínica e mastite subclínica, com $p < 0,0006$, atingindo maior média nas ovelhas que tiveram diagnóstico de mastite clínica $412,3(\pm 148,43)$, as com mastite subclínica e saudáveis apresentara $346,46(\pm 124,59)$ e $266,66(\pm 108,4)$ de média, respectivamente. Esta proteína também variou significativamente em função dos achados de alterações no tecido glandular, Figura 1.

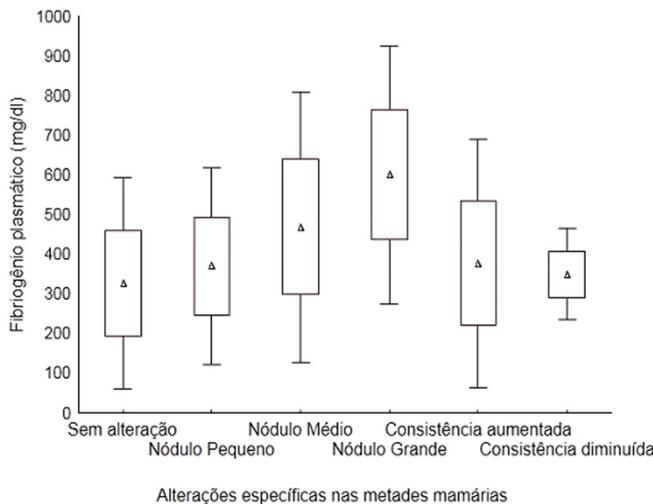


Figura 1 Concentração do fibrinogênio plasmático (mg/dl) de ovelhas deslanadas, em função das alterações específicas nas glândulas mamárias, $p < 0,0153$. Δ Média, \square média + desvio padrão, $|$ média + 2^* desvio padrão.

As TSG obtidas nas imagens termográficas apresentaram diferenças significativas entre os resultados do diagnóstico clínico Figura 2. As TSG nas glândulas saudáveis, com mastite clínica ou subclínicas foram $34,28^{\circ}\text{C}(\pm 1,2674)$, $33,04^{\circ}\text{C}(\pm 1,4423)$ e $33,8^{\circ}\text{C}(\pm 1,1126)$, respectivamente.

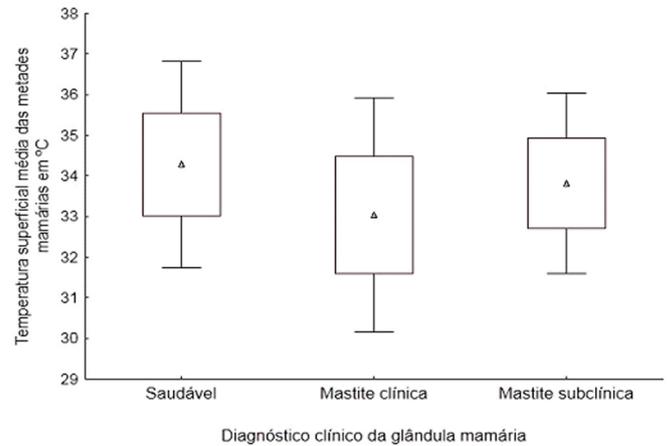


Figura 2 Temperatura média da superfície das metades mamárias de ovelhas deslanadas, em função do diagnóstico clínico da glândula mamária, $p < 0,0079$. Δ média, \square média + desvio padrão, $|$ média + 2^* desvio padrão.

Quando associadas as TSG com as alterações específicas do tecido glandular também foi encontrada uma relação significativa, conforme observase na Figura 3. Sendo que metades com consistência diminuída e nódulos pequenos foram as que apresentaram menores valores, $30,1^{\circ}\text{C}(\pm 0,708)$ e $32,7^{\circ}\text{C}(\pm 1,379)$, seguida por consistência aumentada $33,5^{\circ}\text{C}(\pm 1,407)$, nódulo grande $33,9^{\circ}\text{C}(\pm 1,056)$, sem alteração $33,9(\pm 1,168)$ e nódulo médio $34,1^{\circ}\text{C}(\pm 0,340)$.

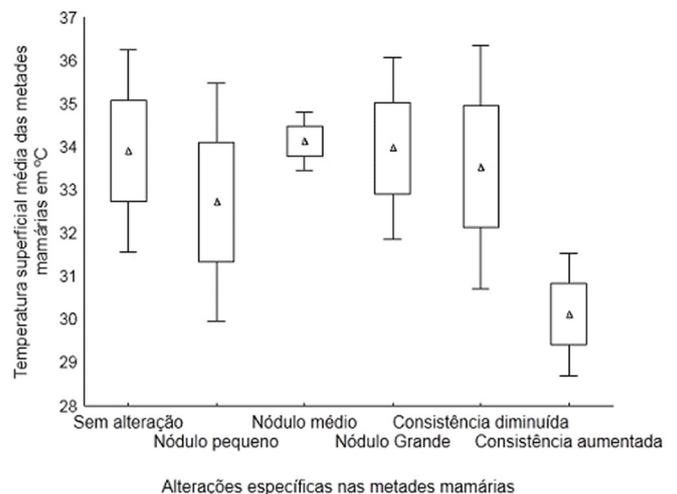


Figura 3 Temperatura superficial média das metades mamárias de ovelhas deslanadas, em função das alterações específicas na mama, $p < 0,0001$. Δ média, \square média + desvio padrão, $|$ média + 2^* desvio padrão.

Nas glândulas sem alteração e/ou saudáveis a temperatura é distribuída de forma, relativamente, uniforme, e é semelhante nas duas metades das glândulas $34,2^{\circ}\text{C}$ na esquerda e $34,0^{\circ}\text{C}$ na direita, Figura 4A. Enquanto nas glândulas com alterações

é possível observar heterogeneidade na distribuição de cores na imagem, com maior variação entre a mínima e máxima, o que indica variações de temperatura às vezes na mesma metade ou entre as duas metades. A Figura 4B teve média de 31,9°C na glândula esquerda e 31,4°C na direita e os achados clínicos foram nódulos pequenos nas duas. Na Figura 4C os achados clínicos foram nódulo médio e grande na esquerda e direita com médias de 34,2°C e 32,6°C respectivamente. Já na Figura 4D as temperaturas médias foram 29,3°C e 30,4°C e o achado clínico foi diminuição de consistência ou flacidez em ambas as metades.

nas secreções obtidas de glândulas com algum sinal clínico. O mesmo observado por (Silva et al. 2010) que obteve isolamento microbiano em 71,4% das glândulas nas mesmas condições. Segundo estes últimos autores o não isolamento do micro-organismo é um achado multifatorial e pode envolver: eliminação espontânea da infecção, baixa concentração de patógenos na secreção láctea, alteração no padrão de eliminação do micro-organismo, localização intracelular e técnicas inadequadas de coleta. Considerando que os procedimentos técnicos foram rigorosamente seguidos, os outros fatores ajudam a explicar a baixa taxa de isolamento, pois neste es-

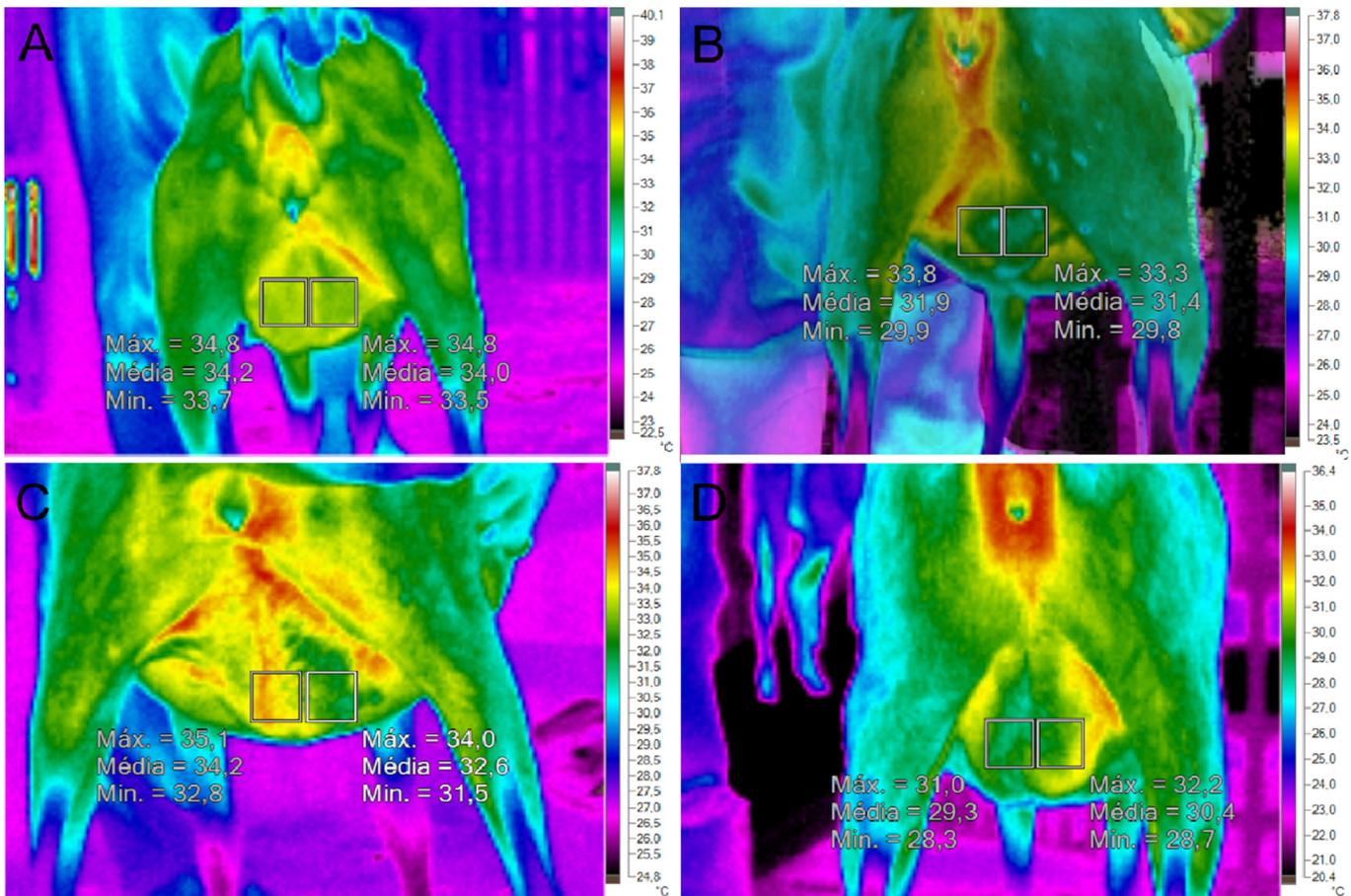


Figura 4. Imagens termográficas das mamas de ovelhas: A) sem alteração, B) nódulos pequenos nas duas metades, C) nódulo médio na esquerda e grande na direita, D) diminuição da consistência em ambas as metades.

DISCUSSÃO

O exame microbiológico é considerado uma importante prova para o diagnóstico de mastite, no entanto o crescimento de micro-organismos das secreções lácteas só foi possível em 39,6% (21/53) das glândulas com diagnóstico de mastite clínica. Alguns estudos relatam que este achado é comum. Marogna et al. (2010) estudando mastite em ovelhas verificaram uma taxa de isolamento de 81%

tudo, os diagnósticos de mastite clínica foram todos de curso crônico, o que contribui para a eliminação espontânea da infecção ou, no mínimo, diminuição da concentração do microrganismo.

As 98 metades de glândulas estudadas apresentaram significativa diferença de temperatura superficial entre elas, com média 33,9°C ($\pm 1,445$), mínima 29,4°C e máxima de 36,8°C e $p < 0,000$. Também foi possível observar uma associação entre esta e o

diagnóstico clínico, Figura 2. Aquelas com mastite clínica apresentaram TSG menor que as saudáveis ou com mastite subclínica $1,24^{\circ}\text{C}$ e $0,76^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Resultado diferente dos encontrados por Hovinen et al. (2008), Polat et al. (2010), que utilizando a mesma técnica para diagnosticar mastite em vacas encontraram elevação da temperatura, nos casos de mastite clínica. Os resultados destes autores eram esperados, pois processos inflamatórios aumentam o metabolismo do tecido com incremento na geração e irradiação de calor (Berry et al. 2003).

A diferença entre o resultado descrito por aqueles autores e este estudo explica-se pelo fato dos mesmos terem avaliados casos de mastite clínica aguda. Neste só foram encontradas metades mamárias com mastite clínica crônica caracterizada pela alteração na consistência do tecido glandular e presença de nódulos.

As formas aguda e crônica são, na verdade, dois estágios evolutivos do processo inflamatório da glândula. No primeiro há um aumento da atividade metabólica nos tecidos mamários, como resultado da ativação das respostas imunológicas contra os micro-organismos. No segundo inicia-se a retração das ações de defesa e um processo de substituição do tecido alveolar por tecido conjuntivo fibroso, este último como estratégia de reparação do tecido danificado pela agressão do micro-organismo.

Em um estudo (Fthenakis & Jones 1990) inocularam *Staphylococcus* spp em glândulas saudáveis de ovelhas e observaram no exame histopatológico que naquelas inoculadas havia infiltração massiva de neutrófilos do 4º ao 11º dia após a inoculação, característica de um processo pró-inflamatório. Após o 18º dia os principais achados foram: infiltração de linfócitos, destruição alveolar e proliferação de tecido conjuntivo fibroso - processo anti-inflamatório ou de reparação, resultando em áreas com consistência diferenciadas identificadas à palpação, principalmente, como nódulos. A substituição do tecido alveolar por tecido conjuntivo fibroso, em alguns casos, pode ser total (Alawa et al. 2000).

O tecido conjuntivo, devido a sua estrutura e composição bioquímica, é o que apresenta menor consumo de oxigênio e atividade metabólica (Whitehouse & Boström 1962). Isso sugere uma explicação para as metades com nódulos pequenos apresentarem áreas com menor temperatura, são áreas resultantes do processo de reparação tecidual onde o tecido alveolar é substituído por tecido conjuntivo fibroso que gera e irradia menos calor, que o

tecido glandular, Figura 3 e Figura 4B. Os nódulos grandes e médios ainda devem apresentar maior atividade pro-inflamatória, embora alguns nódulos grandes apresentem baixa temperatura, Figura 4C.

As hipóteses acima são reforçadas pelos achados da concentração de fibrinogênio plasmático que foram maiores nas ovelhas que apresentaram nódulos grandes em suas mamas e reduziram à medida que os nódulos diminuíram o tamanho, Figura 1. Este fato aponta para uma relação entre os achados clínicos, o estágio inflamatório e a TSG.

Não se pode afirmar qual estágio inflamatório encontra-se cada metade mamária, nem as concentrações de fibrinogênio apresentam valores de fibrinogenemia, com exceção das metades com nódulos grandes. Entretanto a concentração desta proteína de fase aguda guarda uma associação com os tipos de alterações no tecido, indicando algum estágio inflamatório, pois segundo (Costa et al. 2010) ela é um bom indicador de mastite em ovelhas, sua síntese mantém-se aumentada desde o início até o final dos sinais clínicos da doença.

A maior concentração média de fibrinogênio 600mg/dl foi encontrada nas ovelhas que tinham nódulos grandes em suas mamas, embora com TSG muito semelhantes aquelas sem alteração. Pode-se considerar como hipótese, que os nódulos grandes caracterizam-se por um processo de transição entre os estágios pró e anti-inflamatórios e com a evolução haverá aumento ou redução na temperatura superficial da glândula. Já as que apresentaram as menores TSG tiveram as mais baixas concentrações de fibrinogênio, nas com nódulos pequenos $370\text{mg/dl}(\pm 123,79)$ e consistência diminuída $350\text{mg/dl}(\pm 57,53)$, próximo aquelas sem alteração $326,31\text{mg/dl}(\pm 132,91)$, indicando o final do processo inflamatório. Esta hipótese aponta para a necessidade do estudo e desenvolvimento de padrões de uso da TIV, considerando, por exemplo, a patogenia da mastite em ovelhas.

Embora os estudos venham mostrando resultados promissores, alguns fatores devem ser observados durante uso desta tecnologia. Considerando a alta correlação entre a TSG e a temperatura da pele sobre os músculos do membro pélvico esquerdo, $r=0,700$ e $p<0,0000$ e sendo a pele o principal órgão de termorregulação dos animais homeotérmicos pode-se afirmar que o processo de termorregulação é um fator importante a ser observado durante o uso da TIV. Assim deve-se observar a condição de conforto térmico dos animais, pois animais em

hipo ou hipertermia podem dificultar e/ou diminuir a eficiência do diagnóstico.

Além do conforto térmico devem ser observados durante o uso da câmera, fatores como: umidade da pele, presença de corpos estranhos (esterco, solo, restos placentários) e tamanho do pelo, que também pode influenciar na real temperatura de superfície (Rodríguez et al. 2008); condições ambientais (Kunc et al. 2007); exposição a radiação solar, e atividade física dos animais (Berry et al. 2003); regiões ou estruturas do animal, que por sua localização anatômica apresentam, naturalmente, temperaturas mais elevadas, como a prega inguinal (Rodríguez et al. 2008).

CONCLUSÕES

A termografia permitiu identificar diferenças de temperaturas entre as metades mamárias saudáveis ou com mastite subclínicas daquelas com mastite clínica em estágio crônico.

As metades mamárias com alterações específicas na consistência e/ou presença de nódulos apresentaram temperaturas diferentes, quando comparados entre elas ou com as metades sem alteração, sugerindo diferentes estágios evolutivos do processo inflamatório no tecido glandular.

A termografia infravermelha se associada ao diagnóstico clínico e/ou microbiológico tem potencial para ser uma importante ferramenta no diagnóstico e prognóstico de mastite em ovelhas e auxiliar na tomada de decisões, bem como, na adoção de novas práticas de manejo em rebanhos de ovelhas deslanadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alawa J.P., Ngele M.B. & Ogwu D. Chronic caprine mastitis in Nigerian goat breeds: microbiological flora and histopathological findings. *Small Ruminant Research* 35:203-207, 2000.

Al-Majali A.M. & Jawabreh S. Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. *Small Ruminant Research* 47:243-248, 2003.

Arsenault J., Dubreuil P., Higgins R. & Bélanger D. Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.*, 87:373-393, 2008.

Basile R.C., Basile M.T., Ferraz G.C., Pereira M.C. & Queiroz-Neto A. Equine inflammatory process evaluation using. *Ars Veterinaria*, 2:077-081, 2010.

Berry R.J., Kennedy A.D., Scott S.L., Kyle B.L. & Schaefer A.L. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: Potential for mastitis detection. *Can. J. Anim. Sci.*, 83:687-693, 2003.

Bezerra L.A., Oliveira M.M., Rolim T.L., Conci A., Santos F.G.S., Lyra P.R.M. & Lima R.C.F. Estimation of breast tumor thermal properties using infrared images. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sigpro.2012.06.002>. 2012.

Bouzida N., Bendada A. & Maldague X.P. Visualization of body thermoregulation by infrared imaging. *Journal of Thermal Biology*, 34:120-126, 2009.

Colak A., Polat B., Okumus Z., Kaya M., Yanmaz L.E. & Hayirli A. Early detection of mastitis using Infrared thermography in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:4244-4248, 2008.

Costa N. de A. C., Simão L.C.V., Dos Santos R.A., Afonso J.A.B., Fagliari J.J., Cardoso E. da C., Soares P.C. & De Mendonça C.L. Proteínograma e teores de cobre, ferro e zinco no soro sanguíneo de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. *Pesq. Vet. Bras.* 5:435-442, 2010.

Eddy A.L., Vanhoogmoed L.M. & Snyder J.R. The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. *Vet. J.*, 162:172-181, 2001.

Feitosa F.L.F. Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico. 2ª ed. Roca, São Paulo, 2008. 754p.

Fonseca B.P.A., Alves A.L.G., Nicoletti J.L.M., Thomasian A., Hussni C.A. & Mikail S. Thermography and Ultrasonography in Back Pain Diagnosis of Equine Athletes. *J. Eq. Vet. Sci.*, 26:507-516, 2006.

Fotou K., Tzora A., Voidarou Ch., Alexopoulos A., Plessas S., Avgeris I., Bezirtzoglou Akrida-Demertzis E.K. & Demertzis P.G. Isolation of microbial pathogens of subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe* 17:315-319, 2011.

Fthenakis G.C. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of Southern Greece. *Small Ruminant Research*, 13:293-300, 1994.

Fthenakis G.C. & Jones J.E.T. The Effect of Inoculation of Coagulase-negative Staphylococci into the Ovine Mammary Gland. *J. Comp. Path.* 102:211-219, 1990.

González-Rodríguez M.C. & Cárnenes P. Evaluation of the California mastitis test as a discriminant method to detect subclinical mastitis in ewes. *Small Ruminant Research*, 21:245-250, 1996.

Hovinen M., Siivonen J., Taponen S., Hänninen L., Pastell M., Aisla A.-M. & Pyörälä S. Detection of Clinical Mastitis with the Help of a Thermal Camera. *J. Dairy Sci.* 91:4592-4598, 2008.

Kotrba R., Knížková I., Kunc P. Bartos L. Comparison between the coat temperature of the eland and dairy cattle by infrared thermography. *J. Ther. Biol.*, 32:355-359, 2007.

Kunc P., Knížková I., Příkryl M. & Maloun J. Infrared thermography as a tool to study the milking process: a review. *Agr. Trop. et Sub.* 1:29-32, 2007.

Lafi S.Q., Al-Majali A.M., Roman M.D. & Alawneh J.M. Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Prev. Vet. Med.*, 33:171-181, 1998.

Lewis G., Gatto R.G. & Porges S.W. A novel method for extracting respiration rate and relative tidal volume from infrared thermography. *Psychophysiology*, 48:877-887, 2011.

Ludwig N., Gargano M., Luzi F., Carezzi C. & Verga M. Tech-

- nical note: applicability of infrared thermography as a non invasive measurement of stress in rabbit. *World Rabbit Sci.*, 15:199-206, 2007.
- Marogna G., Rolesu S., Lollai S., Tola S. & Leori G. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. *Small Rum. Res.*, 88:119-125, 2010.
- Mavrogenisa P., Koumas A., Kakoyiannis C.K. & Taliotis C.H. Use of somatic cell counts for the detection of sub-clinical mastitis in sheep. *Small Rum. Res.*, 17:79-84, 1995.
- McCafferty D.J., Gilbert C., Paterson W., Pomeroy P.P., Thompson D., Currie J.I. & Ancel A. Estimating metabolic heat loss in birds and mammals by combining infrared thermography with biophysical modelling. *Comp. Biochem. Physiol.*, 158:337-345, 2011.
- McDougall S., Murdough P., Pankey W., Delaney C., Barlow J. & Scruton D. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. *Small Rum. Res.*, 40:245-254, 2001.
- Montanholi Y.R., Odongo N.E., Swanson K.C., Schenkel F.S., McBride B.W. & Miller S.P. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). *J. Thermal Biol.*, 33:468-475, 2008.
- Nikkhah A., Plaizier J.C., Einarson M.S., Berry R.J., Scott S.L. & Kennedy A.D. Infrared Thermography and Visual Examination of Hooves of Dairy Cows in Two Stages of Lactation. *J. Dairy Sci.*, 88:2749-2753, 2005.
- Paim T. do P., Borges B.O., Lima P. de M.T., Gomes E.F., Dalgado B.S.L., Fadel, R. de Menezes A.M., Louvandini H., Canozzi M.E.A., Barcellos J.O.J. & McManus C. Thermographic evaluation of climatic conditions on lambs from different genetic groups. *Int. J. Biometeorol.* DOI 10.1007/s00484-012-0533-y, 2012.
- Polat B., Colak A., Cengiz M., Yanmaz L.E., Oral H., Bastan A., Kaya S. & Hayirli A. Dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:3525-3532, 2010.
- Rainwater-Lovett K., Pacheco J.M., Packer C. & Rodriguez L.L. Detection of foot-and-mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. *Vet. J.*, 180:317-324, 2009.
- Ring E.F.J. The historical of development imaging in medicine. *Rheumatology*, 43:800-802, 2004.
- Rodríguez P. del C., Matamoros A.S., Valilla J.C., Murcia J.B. & Sánchez-Vizcaíno J.M. Posibles complicaciones patológicas. *RCCV*, 2:66-72, 2008.
- Schaefer A.L., Cook N.J., Church J.S., Basarab J., Perry B., Miller C. & Tong A.K.W. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Res. Vet. Sci.*, 83:376-384, 2007.
- Schaefer A.L., Cook N.J., Bench C., Chabot J.B., Colyn J., Liu T., Okine E.K., Stewart M. & Webster R. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. *Res. Vet. Sci.*, doi:10.1016/j.rvsc.2011.09.021, 2011.
- Schalm O.W. Clinical significance of plasma protein concentration. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 157:1672-1673, 1970.
- Stewart M., Webster J.R., Schaefer A.L., Cook N.J. & Cott S.L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Anim. Welf.*, 14:319-325, 2005.
- Silva N.S., Da Silveira J.A.S., Pinheiro C.P., De Sousa M.G.S., Oliveira C.M.C., De Mendonça C.L., Duarte M.D. & Barbosa J.D. Etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de ovelhas com mastite na região nordeste do estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.*, 12:1043-1048, 2010.
- Suarez V.H., Busetti M.R., Miranda A.O., Calvinho L.F., Bedotti D.O. & Canavesio V.R. Effect of Infectious Status and Parity on Somatic Cell Count and California Mastitis Test in Pampinta Dairy Ewes. *J. Vet. Med.*, 49:230-234, 2002.
- Verheye S., De Meyer G.R.Y., Krams R., Kockx Mark M., Van Damme L.C.A., Gourabi B.M., Knaepen M.W.M., Van Langenhove G., Serruys & Patrick W. Intravascular thermography: Immediate functional and morphological vascular findings. *Eur. Heart Jour.*, 25:158-165, 2004.
- Weerd L., Mercer J.B., & Weum S. Dynamic Infrared Thermography. *Clin. Plast. Surg.*, 38:277-292, 2011.
- Wishart G.C., Campisi M., Boswell M., Chapman D., Shackleton V., Iddles S., Hallett A. & Britton P.D. The accuracy of digital infrared imaging for breast cancer detection in women undergoing breast biopsy. *EJS.*, 36:535-540, 2010.
- Whitehouse M.W. & Boström H. The effect of some anti-inflammatory (anti-rheumatic) drugs on the metabolism of connective tissues. *Biochem. Pharmacol.*, 11:1175-1201, 1962.