

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
Dip. di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in
MEDICINA VETERINARIA

L'uso della termografia nella diagnosi
di patologie respiratorie negli ofidi.

Relatore
Prof. Alessandro Zotti
Correlatore
Dott. Tommaso Banzato

Laureando
Andrea Martin
Matricola n.
527115

ANNO ACCADEMICO 2012 – 2013

Ai miei genitori.

“L'essenziale è invisibile agli occhi.”

da Il piccolo principe di Antoine de Saint-Exupéry.

INDICE

OBIETTIVO DEL LAVORO	pag. 11
INTRODUZIONE	pag. 13
LA TERMOGRAFIA	pag. 15
CENNI STORICI	pag. 15
CONCETTI FISICI DI BASE	pag. 17
Lo spettro elettromagnetico	pag. 17
La temperatura e le onde elettromagnetiche	pag. 18
Il corpo nero	pag. 18
La legge di <i>Plack</i>	pag. 19
La legge di <i>Wien</i>	pag. 20
La legge di <i>Stefan-Boltzmann</i>	pag. 20
I corpi reali	pag. 21
MISURAZIONE TERMOGRAFICA	pag. 22
APPLICAZIONI DELLA TERMOGRAFIA	pag. 25
IN AMBITO INDUSTRIALE ED INGEGNERISTICO	pag. 26
IN MEDICINA	pag. 27
<u>MEDICINA UMANA</u>	pag. 28
Oncologia	pag. 28
Neuroscienze	pag. 28
Malattie infettive: la SARS	pag. 29
Pneumotorace	pag. 29
Medicina e chirurgia cardiovascolare	pag. 30
Andrologia	pag. 31
Ostetricia	pag. 31
Malattie reumatiche	pag. 32
Tunnel carpale	pag. 32

<u>MEDICINA VETERINARIA</u>	pag. 33
Il cavallo sportivo	pag. 33
Allevamento bovino	pag. 34
Allevamento suino	pag. 34
Allevamento avicolo	pag. 35
Cani e gatti	pag. 35
Animali selvatici liberi e allevati in cattività	pag. 36
Medicina legale	pag. 36
RETTILI IN CATTIVITÀ	pag. 37
BUONE NORME PER LA LORO DETENZIONE	pag. 37
Il terrario	pag. 37
La termoregolazione	pag. 38
L'umidità	pag. 40
La sanificazione	pag. 41
I parassiti	pag. 42
I SERPENTI E LA DISTRIBUZIONE DEL CALORE CORPOREO	pag. 43
LE PATOLOGIE RESPIRATORIE	pag. 46
Anatomia e fisiologia dell'apparato respiratorio dei serpenti	pag. 47
Diagnosi di una patologia respiratoria	pag. 49
Il lavaggio broncoalveolare	pag. 50
La radiografia	pag. 51
La tomografia computerizzata e la risonanza magnetica	pag. 52

MATERIALI E METODI	pag. 53
ANIMALI	pag. 55
TERMOGRAFIA	pag. 57
LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE	pag. 57
ESAME COLTURALE	pag. 58
ESAMI PARASSITOLOGICI	pag. 59
Ectoparassiti	pag. 59
Endoparassiti	pag. 59
ANALISI STATISTICA	pag. 60
RISULTATI	pag. 61
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	pag. 79
BIBLIOGRAFIA	pag. 89
APPENDICE	pag. 103
RINGRAZIAMENTI	pag. 109

OBIETTIVO DEL LAVORO

L'obiettivo del nostro lavoro è quello di fornire una correlazione tra i valori di temperatura superficiale, estrapolati dalle immagini termografiche raccolte attraverso l'uso di una termocamera e la diagnosi di patologie respiratorie dei serpenti esaminati tramite l'uso del lavaggio broncoalveolare (BAL) abbinato ad un esame colturale come *Gold standard*.

Tutti gli animali sottoposti a indagine sono stati registrati tramite un opportuna scheda personale¹, di essi si sono raccolti un insieme di dati biometrici: l'età, il sesso, il peso, la lunghezza, la distanza in giorni dal pasto, se vi fossero sintomi respiratori, se questi fossero acuti o cronici e l'eventuale stagione riproduttiva; si è provveduto ad effettuare un BAL ad ogni animale; si è contestualmente valutata la presenza di ectoparassiti e si è raccolto un campione di feci.

Si sono ricavati dei valori di temperatura superficiali dei vari distretti corporei di nostro interesse, dalle termografie effettuate, tramite appositi programmi.

Si è provveduto ad effettuare sui campioni raccolti, gli esami colturali e parassitologici.

Si sono applicati dei test statistici volti a verificare se vi fosse una correlazione statisticamente significativa tra le misure di temperatura superficiali rilevate e la diagnosi di patologie respiratorie nei serpenti esaminati.

INTRODUZIONE

LA TERMOGRAFIA

CENNI STORICI

Fino al 1800 non si sospettava l'esistenza degli infrarossi, come componente dello spettro elettromagnetico. Il primo ad ipotizzarne l'esistenza fu Sir Frederick William Herschel, astronomo reale di re Giorgio III d'Inghilterra. La scoperta avvenne accidentalmente durante la ricerca di un nuovo materiale ottico, che filtrasse la luce del sole durante le osservazioni. Questi effettuando un esperimento con il prisma di Newton evidenziò che la temperatura aumentava costantemente passando dal violetto al rosso, ciò era già stato notato dal italiano Landriani nel 1777, ma fu comunque Herschel che per primo riscontrò l'esistenza di un punto al di fuori dello spettro del visibile in cui la temperatura rilevata sul termometro raggiunge il suo massimo, dato che quest'ultima continuava ad aumentare pur avendo superato l'estremità rossa dello spettro non illuminata dalla luce rifratta dal prisma. Oggi questa regione dello spettro è definita come "lunghezza d'onda degli infrarossi". Non fu egli a coniare il termine che noi tutti conosciamo ed usiamo: "infrarosso", infatti in un primo momento chiamò la radiazione come "calore nero" o "raggi invisibili"; ma quest'ultimo comparve sui testi circa 75 anni più tardi e ancora a tutt'oggi non ci è dato sapere chi fu il padre di questo termine. L'esperimento suscitò delle perplessità nella comunità scientifica contemporanea a Herschel, molti lo misero in discussione visto che non riuscivano a ripeterlo e questo fece perdere interesse per tale scoperta. Il figlio di Herschel, Sir John credette al padre e nel 1840 continuò gli studi e riuscì a produrre la prima "immagine del calore"; ottenendo inoltre un primitivo risultato di immagine termica su carta, che denominò "termografia". Negli anni successivi non vi furono grandi passi avanti delle ricerche sull'infrarosso. Fino all'avvento del primo conflitto bellico mondiale che diede uno slancio ai programmi militari di ricerca. In concomitanza del quale, entrambi i contendenti cercavano mezzi: per rilevare le eventuali intrusioni nemiche, la rilevazione della temperatura di oggetti lontani e la possibilità di "guidare i missili". Uno di questi sistemi era in grado di rilevare un automezzo in avvicinamento a una distanza di 1,5 km e/o una persona a più di 300 metri. Fu nel periodo successivo, tra i due conflitti, che si vide lo sviluppo di nuovi rilevatori, in particolare due

rivoluzionarono il concetto di rilevatori infrarossi: il rilevatore di fotoni e il convertitore di immagini. Per il secondo vi fu molto interesse da parte del settore militare, visto che per la prima volta era possibile “vedere al buio”. Esso però aveva un potenziale difetto, i soldati nemici dovevano essere illuminati da raggi infrarossi di ricerca, provocando così l’annullamento dell’effetto sorpresa se il nemico fosse stato in possesso di un analogo equipaggiato; per questo non venne molto utilizzato. Ma l'interesse per tali sistemi non venne del tutto accantonato dopo il secondo conflitto bellico, si effettuarono nuove ricerche coperte da segreto militare che andarono a sviluppare sistemi "passivi", privi di raggi di ricerca, basati sul rilevatore di fotoni maggiormente sensibile. In questo periodo, il segreto militare impedì la diffusione di tale tecnologia di imaging a infrarossi. Dovremmo aspettare la metà degli anni '50, quando il segreto fu rimosso ed i dispositivi di imaging termico cominciarono ad essere disponibili per la scienza e l'industria civile. Le prime “termocamere” per uso industriale/medico erano veramente ingombranti e pesanti, all’incirca 20 kg di strumento ed altri 18 kg per il processore, in più dovevano essere raffreddate con idrogeno liquido che andava ricaricato ogni 2 ore. Per questi motivi, per la difficoltà di movimentazione e non ultimo il costo dello strumento (350.000 Euro, rivalutato ad oggi), ne rallentarono molto la diffusione. Negli anni successivi vi furono dei successivi *step* di miglioramento che ne facilitarono il trasporto, sostituendo l’alimentazione elettrica dalla rete con quella data dalle batterie; risolsero il problema di raffreddamento, utilizzando altri mezzi, ad esempio gas come l’argon. Il vero passo in avanti, fu però nel 1997, quando venne presentata la prima camera con sensore microbolometrico a matrice piana non raffreddato, aprendo così la strada alla produzione industriale di termocamere ad un costo più contenuto; promuovendo così un maggiore interesse dei ricercatori sull’utilizzo pratico degli infrarossi in vari campi (Ricca, 2013).

CONCETTI FISICI DI BASE

Lo spettro elettromagnetico

Lo spettro elettromagnetico è stato suddiviso arbitrariamente in un certo numero di regioni classificate in base alla lunghezza d'onda, chiamate bande, classificate a seconda dei metodi utilizzati per emettere e/o rilevare le radiazioni. La banda spettrale dell'infrarosso confina con le onde più lunghe della percezione visiva (all'incirca $0,75 \mu\text{m}$) e con le onde più corte delle microonde (sui $1000 \mu\text{m}$). Tra queste lunghezze d'onda vi è la banda spettrale dell'infrarosso, che a sua volta viene suddivisa in tre bande più piccole: infrarosso vicino ($0,76-1,5 \mu\text{m}$), infrarosso medio ($1,5-5,6 \mu\text{m}$) e infrarosso lontano ($5,6-1000\mu\text{m}$) (Figura 1). La porzione che interessa più strettamente la termografia è quella compresa tra i $7,5 \mu\text{m}$ e i $13 \mu\text{m}$ (FLIR Systems, 2009).

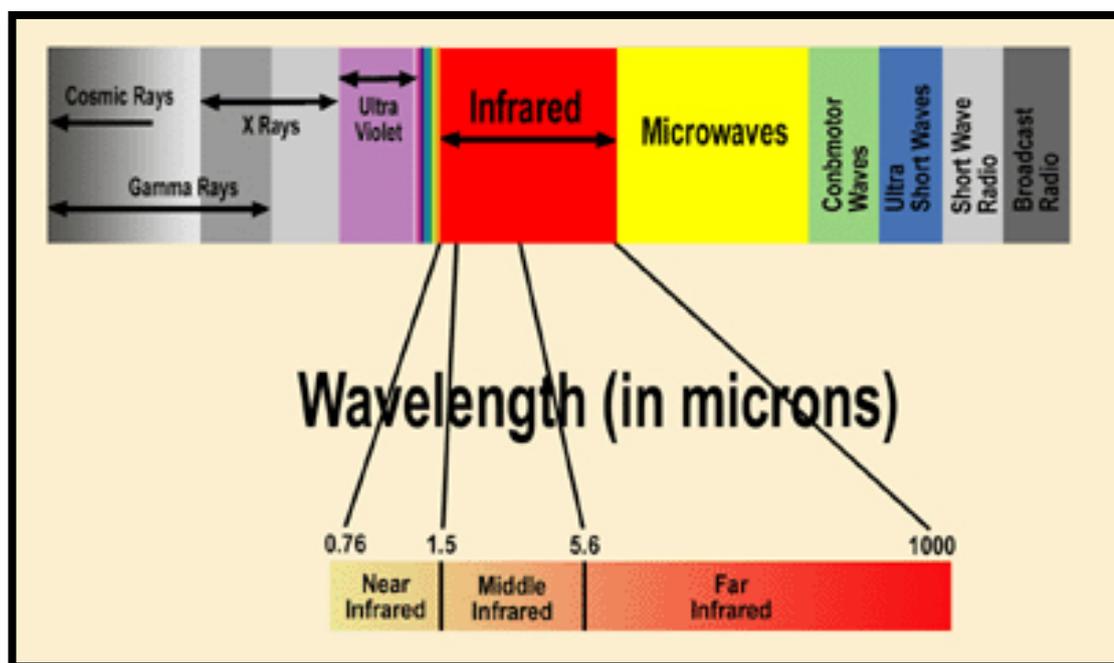


Figura 1: La banda spettrale dell'infrarosso e le sue suddivisioni: infrarosso vicino ($0,76-1,5 \mu\text{m}$), infrarosso medio ($1,5-5,6 \mu\text{m}$) e infrarosso lontano ($5,6-1000\mu\text{m}$).

La temperatura e le onde elettromagnetiche

Tutti i corpi aventi una temperatura sopra lo zero assoluto ($-273,16^{\circ}\text{C}$) emettono onde elettromagnetiche che aumentano la loro lunghezza d'onda al crescere della temperatura dell'oggetto per la maggior energia termica da esso irradiata. Ad esempio oggetti a temperatura ambiente emettono in prevalenza fotoni nella gamma degli infrarossi (detti raggi termici), corpi molto freddi irradiano microonde (quelli vicini allo zero assoluto semplici onde radio), mentre i corpi molto caldi arrivano ad emettere luce visibile, dapprima rossa (Temperatura del cosiddetto "calor rosso", circa 700°C) poi sempre più bianca (Temperatura del "calor bianco", circa 1200°C): man mano che la temperatura aumenta, la frequenza della luce emessa aumenta fino al bianco-azzurro, per poi passare ai raggi ultravioletti, e ai raggi X nel caso dei plasmi stellari che hanno temperature dell'ordine di milioni di gradi. Questa emissione di onde è giustificata da un fenomeno fisico denominato: "irraggiamento", che è uno dei tre modi attraverso cui può avvenire la propagazione del calore, gli altri sono: "conduzione" e "convezione". La particolarità di quest'ultimo, a differenza degli altri due, è di non aver bisogno di un mezzo o del contatto diretto tra gli scambiatori per propagarsi (Barducci, 1999).

Il corpo nero

In fisica, per corpo nero si intende un oggetto (ideale) che assorbe tutta la radiazione elettromagnetica incidente, né la riflette, né la trasmette e quindi appare in prima approssimazione nero. Con il termine "nero" non viene normalmente associato un oggetto che emette radiazioni, ma questo viene spiegato dalla legge di *Kirchhoff*, 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. Quindi se noi prendiamo una cavità isoterma e la riscaldiamo uniformemente questa genererà la radiazione di un corpo nero, prendendo così il nome di radiatore a cavità (Figura 2). Tali radiatori vengono comunemente usati in laboratorio come sorgenti di radiazione negli standard di riferimento della temperatura per la calibrazione di strumenti termografici. Lo spettro (intensità o densità della

radiazione emessa in funzione della lunghezza d'onda) di un corpo nero ha la caratteristica forma a “campana” (più o meno asimmetrica e più o meno schiacciata) dipendente unicamente dalla sua temperatura (Figura 2) (Mencuccini e Silvestrini, 1998).

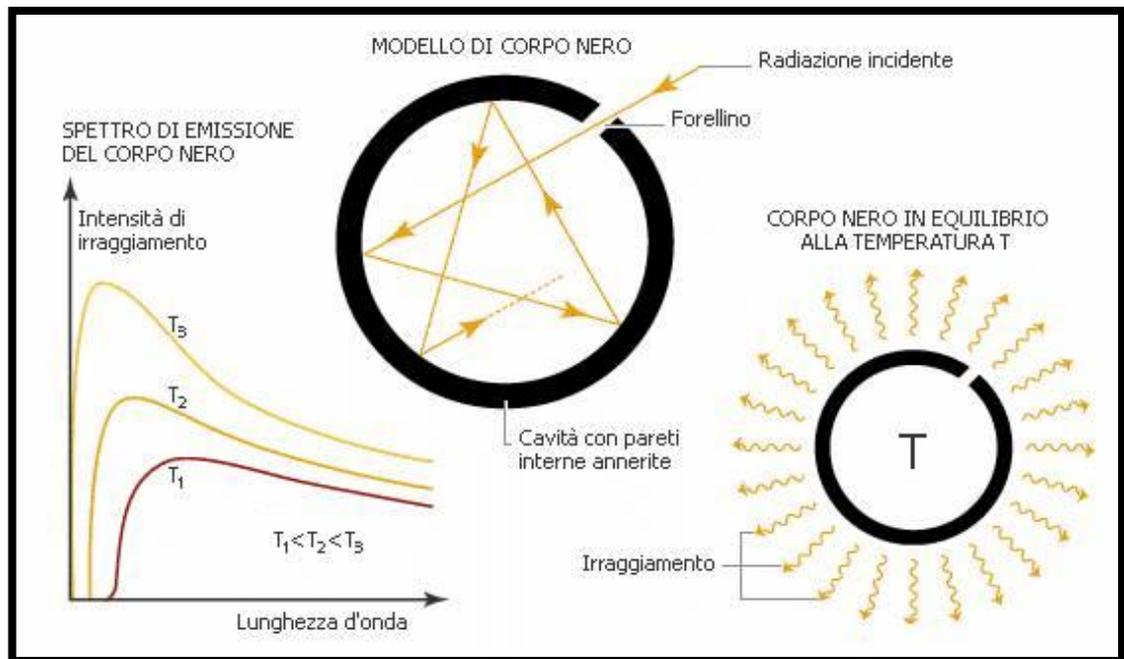


Figura 2: Spettro di emissione del Corpo Nero; Modello di Corpo Nero; Corpo Nero in equilibrio alla temperatura T.

La legge di *Planck*

Definisce l'emittanza energetica spettrale (W) della radiazione emessa dal corpo nero ad ogni lunghezza d'onda (λ) e per una data temperatura (T), fornendo una descrizione della distribuzione spettrale dell'energia termica irradiata. La rappresentazione grafica di questa espressione a varie temperature mostra un insieme di curve caratterizzate da emittanza spettrale uguale a zero per lunghezze d'onda uguali a zero, che però aumenta rapidamente fino a raggiungere il massimo, per poi avvicinarsi di nuovo a zero per lunghezze d'onda elevate (Figura 3). Si nota poi che per temperature maggiori l'emittanza è più alta e la lunghezza d'onda alla quale si raggiunge il massimo è minore (Mencuccini e Silvestrini, 1998).

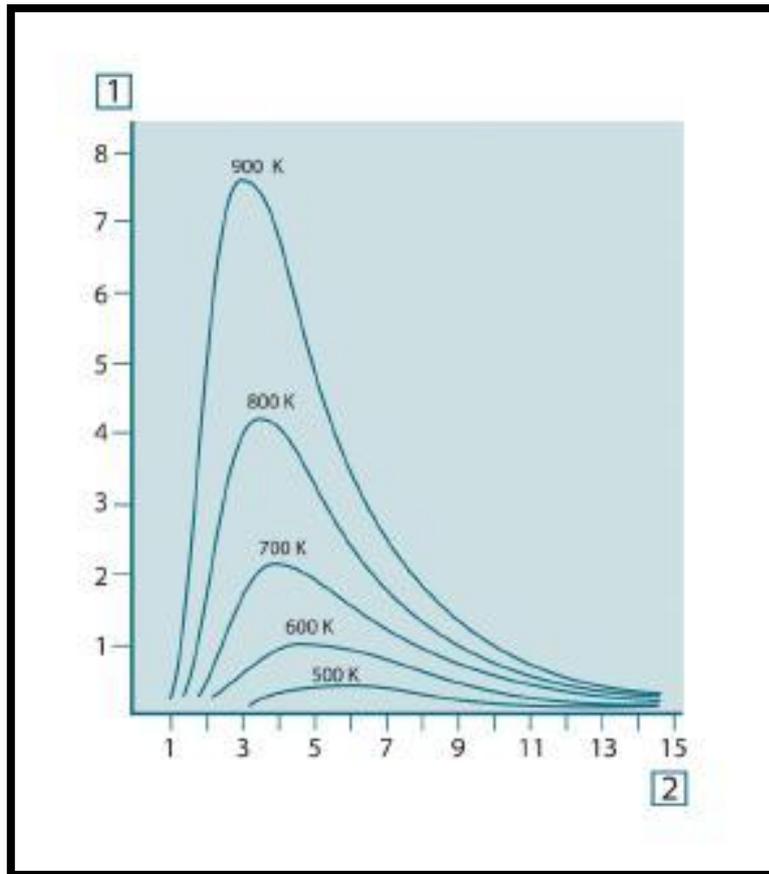


Figura 3: Emissione energetica spettrale di un corpo nero, secondo la legge di Planck, rappresentata graficamente per diverse temperature assolute.

1: Emissione energetica spettrale ($\text{W}/\text{cm}^2 \times 10^3(\mu\text{m})$); 2: Lunghezza d'onda (μm).

La legge di Wien

È un legge sperimentale che consente di individuare per quale lunghezza d'onda (λ_{max}) è massima l'emissione spettrale di un corpo nero di massa generica posto ad una certa temperatura (T).

$$\lambda_{\text{max}} = \frac{2897}{T}$$

La legge di *Stefan-Boltzmann*

Stabilisce che la potenza irradiata da un corpo nero è proporzionale alla quarta potenza della sua temperatura.

$$E = \sigma T^4$$

Nella formula citata: E è l'energia irradiata per unità di superficie per unità di tempo (emittanza), T la temperatura assoluta espressa in kelvin e σ è la costante di *Stefan-Boltzmann*. La legge, però è valida solo per corpi neri ideali. (Mencuccini e Silvestrini, 1998)

I corpi reali

Tuttavia non vi sono in natura corpi neri (assorbono tutta la radiazione elettromagnetica incidente) o corpi bianchi (riflettono buona parte della radiazione che li colpisce, ma ne assorbono sempre una parte), ma corpi reali, idealmente grigi. Per questo si modifica la legge di *Stefan-Boltzmann*, si moltiplica la costante (σ) per l'emissività (ϵ), che dipende dalla superficie del corpo preso in considerazione oltre che alla sua temperatura, che è compresa fra 0 (per i corpi idealmente bianchi) e 1 (per i corpi idealmente neri).

$$E = \epsilon \sigma T^4$$

Però, in un corpo grigio ideale l'emissività (ϵ) è costante al variare della temperatura (T), ossia per ogni valore di T deve essere emessa la stessa frazione ϵ di energia rispetto al corpo nero. Questo non avviene nei corpi reali, per i quali l'emissività dipende in generale dalla temperatura. Un corpo reale si comporta perciò come un corpo grigio solamente ad una temperatura prefissata, nel senso che a quella temperatura emette una frazione ϵ dell'energia del corpo nero, però non si può definire un corpo grigio perché a una temperatura diversa emetterà in generale una frazione diversa di energia. In altre parole, l'emissività di un corpo reale è una funzione della temperatura $\epsilon = \epsilon(T)$, mentre per un corpo grigio è $\epsilon = costante$. (Mencuccini e Silvestrini, 1998)

MISURAZIONE TERMOGRAFICA

Ad una prima osservazione, la termocamera può essere scambiata per una videocamera, per la presenza di un'interfaccia intuitiva e di funzioni facilmente accessibili tramite l'uso di un joystick e di pulsanti posti sul corpo macchina. Tuttavia il suo utilizzo non è così semplice come scattare una foto. La termocamera consente di misurare e rappresentare la radiazione infrarossa emessa da un oggetto. La radiazione è in funzione della temperatura superficiale dell'oggetto. La termocamera è in grado di calcolare e visualizzare tale temperatura. La radiazione rilevata dalla termocamera non dipende soltanto dalla temperatura dell'oggetto, ma anche, come già detto nel paragrafo precedente, dalla sua emissività. Bisogna però considerare, che 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 (Figura 4). 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, per una migliore e più precisa acquisizione dei valori, impostare alcuni parametri fondamentali (FLIR Systems, 2009).

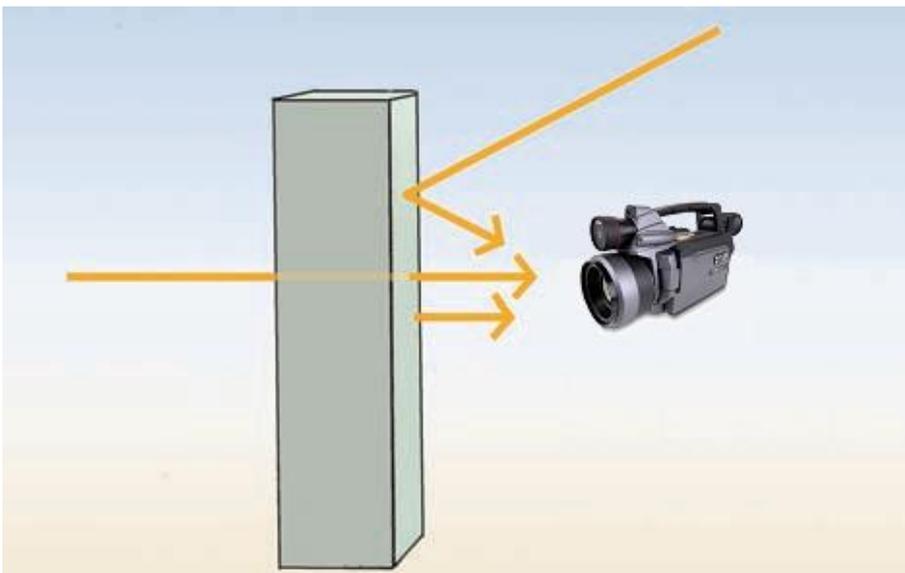


Figura 4: Le radiazioni rilevate dalla termocamera sono quelle emesse dall'oggetto, dalle zone limitrofe ad esso, quelle che lo attraversano e che vengono riflesse su quest'ultimo.

Per settare lo strumento, si ricerca dal menù funzioni la voce “Analisi” e dal sottomenù la voce “Parametri oggetto”; questo permette di impostare i valori per i seguenti parametri:

- ✓ *Emissività.* È il parametro cardine dell'oggetto esaminato, è necessario che tale parametro venga impostato correttamente. Riassumendo, l'emissività è la 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. I metalli hanno un emissività bassa, che aumenta solo con l'aumentare della temperatura. I non metalli hanno un emissività abbastanza elevata, che però diminuisce con la temperatura. Una superficie lucida, ad esempio uno specchio, ha un valore inferiore a 0,1, mentre una superficie ossidata o verniciata ha un livello di emissività superiore. La cute umana è caratterizzata da un livello di emissività pari a 0,95 (FLIR Systems, 2009). Studi condotti da Blumberg *et al.* (2002) su dei piccoli sauri (*Paroedura pictus*) hanno utilizzato la stessa emissività della cute umana anche per questi rettili.
- ✓ *Temperatura ambientale.* Viene utilizzata 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 è relativamente simile a quella dell'ambiente, risulta particolarmente importante impostare e bilanciare correttamente la temperatura ambiente (FLIR Systems, 2009).
- ✓ *Distanza.* Serve a bilanciare l'assorbimento della radiazione tra l'oggetto e la termocamera dovuto alla “trasmissione”, che diminuisce all'aumentare della distanza. Bisogna ricordarsi che l'infrarosso attraversa un mezzo prima di arrivare allo strumento (i gas dell'atmosfera terrestre hanno anch'essi proprietà termiche) e quindi si deve tenerne conto (FLIR Systems, 2009).
- ✓ *Umidità.* Influisce per una certa misura sulla trasmissione e per questo, è necessario impostarla. Per brevi distanze e con un'umidità relativa normale, è possibile utilizzare il valore predefinito pari al 50% (FLIR Systems, 2009).

La termocamera può eseguire le misurazioni della temperatura superficiale sia in modalità “continua” che “manuale”; nel primo caso si individuerà automaticamente il range di temperatura, che varierà in base al calore rilevato nella direzione verso cui si punta la termocamera; nel secondo caso sceglieremo direttamente l’intervallo di temperatura desiderato. Quest'ultima modalità è molto utile per focalizzare l’attenzione su un oggetto che in modalità continua presenta la stessa temperatura in tutte le sue parti, ad esempio animali che hanno la temperatura superficiale molto simile alla temperatura ambiente. Per ottenere misurazioni attendibili, bisogna prestare molta attenzione alle condizioni e modalità di esecuzione dell’esame. Lo scopo è quello di ottenere un ambiente ed un soggetto che siano il più possibile standardizzati, neutralizzando gli elementi di disturbo. Le termografie andrebbero compiute in un ambiente a temperatura controllata tra i 18°C e i 26°C, comunque non superiore ai 30°C; in presenza di una luce attenuata, che aiuti la messa a fuoco dei soggetti; al riparo dai raggi diretti del sole, che causano surriscaldamento della cute; lontano da fonti di calore (piastra riscaldante, resistenza, ecc.) o di raffreddamento (climatizzatori, ventilatori), che possono alterare la temperatura superficiale dell'animale. L’animale deve avere la cute pulita e asciutta, poiché qualsiasi impurità altera l’emissività e l’irraggiamento del calore, mentre un eccesso di umidità aumenta la perdita di calore verso l’ambiente o verso zone più secche (Palmer, 1981). I soggetti non devono presentare uno stato emotivo particolare (agitazione, paura, ricerca di cibo),ne devono essere sotto trattamento farmacologico;inoltre, non devono essergli stati somministrati pasti nei precedenti 5 giorni,in quanto,ciò potrebbe influenzare la temperatura superficiale degli animali esaminati (Wang *et al.*, 2002; Tattersall *et al.*, 2004; Borrell *et al.*, 2005). A questo punto, impostati i parametri e le condizioni migliori per effettuare la scansione, compresa la distanza ideale e il momento adatto; si inquadra il soggetto, si mette a fuoco e si memorizza l’immagine nella termocamera cliccando “Salva” tramite il joystick. Le immagini ad infrarosso vengono memorizzate in formato JPEG standard su una scheda di memoria flash estraibile. Inserendo la scheda in un lettore dedicato, collegato con porta USB ad un computer, e grazie al software ThermaCAM™ Researcher, le immagini possono essere trasferite e analizzate.

APPLICAZIONI DELLA TERMOGRAFIA

Come già anticipato precedentemente, in passato le apparecchiature disponibili non permettevano un'ampia applicazione in campo pratico della termografia ad infrarosso e molte volte gli studi condotti con tali strumenti sono stati trascurati a causa degli scarsi risultati ottenuti. L'attendibilità delle informazioni veniva molto spesso messa in dubbio visto che vi potevano essere delle interferenze causate per esempio da fattori ambientali, da differenze fisiologiche dei soggetti esaminati e da altre variabili, non sempre individuabili ed eliminabili facilmente. Ciò fece considerare la termografia un sistema d'indagine in grado di fornire dati poco ripetibili nelle diverse situazioni, incapace di fornire una misura oggettiva, quindi venne catalogato come strumento scarsamente applicabile nella pratica clinica e nella ricerca. Oggi, invece, grazie ai progressi tecnologici raggiunti in questo campo, soprattutto nell'ambito della ricerca a scopo militare, 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 elevata risoluzione, fino a 1280 x 1024 pixel, con una sensibilità di 0.03°C ed una frequenza dei fotogrammi fino a 200Hz; individuando così anche piccole differenze di temperatura in un ampio *range*. Si possono scattare immagini termografiche nitide anche di oggetti di varie dimensioni o in movimento. Si può poi, rielaborare i filmati e salvare i fotogrammi che ci servono. Con l'avvento dei software di supporto, si sono avuti dei miglioramenti, permettendoci di confrontare le immagini termografiche, analizzandole e mostrandoci le differenze di temperatura, queste sarebbero state molto difficili da individuare visivamente ad occhio nudo, visto che sono molto spesso dei cambiamenti di temperatura minimi; rendendo così possibili nuove funzioni e consentendo di elaborare modelli statistici più accurati. Il vantaggio principale nell'utilizzo della termografia è la mancanza del contatto, che permette di mantenere lontano l'operatore da eventuali rischi e la rende una tecnica non invasiva. Riduce, inoltre, la necessità di manipolazione, utile per ricavare informazioni da oggetti difficili da raggiungere, non avvicinabili,

pericolosi o in movimento, visto che lo “scatto” dell'immagine è nell'ordine dei millisecondi. Viste queste premesse, le possibili applicazioni delle immagini ad infrarossi sono molto numerose. Spaziano dall'ambito industriale ed ingegneristico, dalla botanica all'agricoltura e non ultimo nel campo della medicina umana e veterinaria (Ricca, 2013).

IN AMBITO INDUSTRIALE ED INGEGNERISTICO

L'informazione termica che noi analizziamo attraverso la termocamera viene utilizzata come parametro per valutare/controllare la funzionalità normale di un sistema, visto che una variazione della temperatura da un certo *range* può indicare un'anormalità. Quasi tutte le apparecchiature, siano esse elettroniche o meccaniche, prima di danneggiarsi, si surriscaldano, la termocamera, quindi, rappresenta un valido strumento diagnostico. La termografia è utilizzata in ingegneria per indagare difetti di isolamento elettrico, infiltrazioni d'aria e d'acqua. In edilizia per la dispersione termica degli edifici. Viene poi utilizzata come sistema per localizzazione degli incendi o dei residui di quest'ultimi, delle fughe di gas ed anche come sistema di video sorveglianza avanzato avendo la capacità di individuare soggetti a diversi km di distanza ^[1].

IN MEDICINA

L'applicazione della termografia in medicina si basa sulla correlazione tra le condizioni funzionali del corpo e la temperatura interna dello stesso. Di norma il corpo è in grado di mantenere la propria temperatura ad un livello costante, anche se le condizioni termiche esterne variano. Il calore prodotto si disperde all'esterno principalmente attraverso la pelle che emana energia termica nell'ambiente circostante (come qualsiasi altro corpo con una temperatura superiore allo zero assoluto). La termocamera le rileva e crea delle immagini, dalle quali si possono individuare le temperature corporee superficiali. Già questo, è un buon strumento diagnostico, applicato come tale in alcune situazioni. È rapido, non invasivo e affidabile. Si possono individuare degli *hot spot*, dando in tempo reale una mappa visiva dei gradienti termici esistenti sulla superficie corporea. Il metabolismo tissutale e la circolazione ematica hanno un ruolo cardine nella regolazione della temperatura corporea che è a sua volta regolata dai sistemi nervoso ed endocrino. Visualizzando le immagini termografiche si possono evidenziare in questo modo alterazioni del flusso sanguigno sottostante, aumentato o diminuito, conseguenza di causa patologica o di un alterazione fisiologica del soggetto. I segni cardini dell'infiammazione sono: arrossamento, tumefazione, calore della parte infiammata, dolore, alterazione funzionale (*rubor, tumor, calor, dolor, functio lesa*). Essendo il sintomo "*calor*", causato dall'iperemia, si può usare la termografia per individuare e diagnosticare con largo anticipo tali patologie (Ludwiget, 2013). La termografia ha però un limite, non è in grado di rilevare specifiche patologie, ma ci può però aiutare nella loro localizzazione, quindi facilitare l'iter diagnostico.

MEDICINA UMANA

In medicina umana la termografia è utilizzata come strumento diagnostico collaterale per la diagnosi precoce e non invasiva in oncologia, angiologia e cardiologia, nefrologia, gastroenterologia, patologie endocrine (diabete e patologie della ghiandola tiroidea), malattie infettive e dell'apparato respiratorio; inoltre, per i disordini della colonna vertebrale e delle articolazioni.

Oncologia

Diversi autori hanno valutato la capacità della termografia nella diagnostica delle neoplasie. In ordine cronologico:

- Gottlob *et al.* (1975), le basi per l'identificazione di una massa tumorale;
- Tapernoux e Hessler (1977), correlazione tra ipertermia e malignità dei melanomi in circa i 2/3 dei casi esaminati;
- Nyirjesy (1982), diagnosi del carcinoma mammario;
- Karmadin e Kuzmichev (1983), diagnosi differenziale tra gozzo e tumore tiroideo;
- Gardani *et al.* (1983), diagnosi di tumori ossei e dei tessuti molli, lo studio continuò per un decennio e diede il risultato che la tecnica aveva una buona sensibilità (81,5%);
- Louis *et al.* (1982) e Gautherie (1983) associano la mammografia all'esame termografico aumentando l'accuratezza e la sensibilità della diagnosi;
- Eddie e Sudharsan (2004) migliorano ulteriormente la tecnica avvalendosi di un modello matematico adeguato al seno femminile, con la riduzione dei falsi negativi e i falsi positivi.

Neuroscienze

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).

Malattie Infettive: la SARS

Durante l'epidemia che colpì Taiwan, da metà aprile a metà giugno 2003, vennero monitorate più di 70.000 persone con l'uso della termografia, lo screening di massa rilevava lo stato febbrile in soggetti sospetti affetti della sindrome respiratoria acuta grave (SARS), visto che l'ipertermia ($>38^{\circ}\text{C}$), è il sintomo principale nelle persone affette (Chiu *et al.*, 2005). Inoltre Ng *et al.* (2004) ebbero la possibilità di correlare le varie regioni del viso con la temperatura interna del corpo. L'analisi statistica mostrò una correlazione tra i valori termografici e le misurazioni della temperatura del orecchio, molto rappresentativa di quella interna. Misero a confronto la temperatura massima rilevata nella regione dell'occhio e quella della regione della fronte, individuando che la prima era migliore della seconda. Effettuarono un test ROC, presero a caso un soggetto febbrile e verificarono se avesse un valore termografico maggiore rispetto ad un qualsiasi individuo con temperatura normale, questo si rilevò vero per il 97,2% dei casi.

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).

Medicina e chirurgia cardiovascolare

La medicina e la chirurgia cardiovascolare si sono molto avvantaggiati negli ultimi decenni nell'uso della termografia, questo ha suscitato l'interesse della comunità scientifica, con la pubblicazione di diversi articoli. Si può utilizzare per valutare 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 (Robicsek *et al.*, 1978), rilevando precocemente le disfunzioni. Un altro vantaggio è la mancata iniezione del m.d.c. (mezzo di contrasto), utilizzato per effettuare la venografia, comunemente usata per diagnosticare la trombosi. In uno studio i due mezzi diagnostici sono stati paragonati ed erano correlati nel 90,1% dei 121 casi studiati (Bergqvist *et al.*, 1977). Più recentemente si sono trovate nuove applicazioni, tra le quali l'assistenza intraoperatoria in microchirurgia e cardiocirurgia. E' possibile valutare la perfusione della rete vascolare e del cuore sfruttando il contrasto termico tra i vasi sanguigni caldi e i tessuti circostanti, eseguendo misurazioni termografiche in condizione di paziente con il torace aperto e cuore esposto, che migliorano così la qualità delle immagini e eliminando gli eventuali errori dati dalla schermatura della pelle sulla radiazione emessa dagli organi o tessuti meno superficiali. Si creano così le condizioni ottimali per la rilevazione della radiazione, evidenziando 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 anche poi impiegata per il controllo di anastomosi nella ricostruzione dei micro vasi e nel controllo della tenuta e della riperfusione (Merla *et al.*, 2002).

Andrologia

La termografia ad infrarosso nello studio dell'apparato riproduttore maschile è stata spesso impiegata per valutare l'area testicolare e scrotale. Visto che la vitalità del seme è influenzata dal calore, questa tecnica trova un'utile applicazione nello studio dell'infertilità, evidenziando temperature anormali sugli organi esaminati (Amiel *et al.*, 1976; Coppola *et al.*, 1984). Il varicocele influenza la termoregolazione scrotale per la dilatazione venosa ed il conseguente reflusso che lo caratterizza e ha come conseguenza una riduzione della potenziale fertilità. Il varicocele monolaterale è associato a differenze $>0,5^{\circ}\text{C}$ 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 spermioγραμμα non normale (Coulter *et al.*, 1988).

Ostetricia

La termografia è stata impiegata per monitorare le variazioni di temperatura, sull'intera parete addominale, che avvengono durante il travaglio e il parto. Si è visto che la temperatura aumentava transitoriamente ad ogni contrazione e poi progressivamente durante il corso del travaglio. Quando le contrazioni divenivano più frequenti, una regione con temperatura maggiore si diffondeva dall'angolo superiore destro verso il basso e circa 10 minuti prima del parto l'intera parete addominale si presentava come una regione calda di circa $35,5^{\circ}\text{C}$ (Yang *et al.*, 1993). Videro che le donne in gravidanza avevano una differenza di temperatura superficiale tra la mano e l'avambraccio maggiore rispetto ad un gruppo di controllo; in quanto, già nelle prime fasi di gravidanza, la temperatura superficiale della mano era aumentata. Inoltre si vide una reazione del microcircolo nelle donne gestanti; l'applicazione di uno stimolo freddo provocava una diminuzione di temperatura che era minore, rispetto al gruppo di controllo (Beinder *et al.*, 1990).

Malattie reumatiche

L'artrite caratterizza la maggior parte delle malattie reumatiche e la termografia si è dimostrata efficace nell'individuare e misurare il calore proveniente dalla zona infiammata, si è notato, però, che regioni anatomiche diverse possono dare sensibilità differenti dello strumento. Akerman e Koop (1988) studiarono l'artrite reumatoide a livello di articolazione temporo-mandibolare (ATM), evidenziando che l'infiammazione si manifestava attraverso un'elevata temperatura superficiale sopra quest'ultima. Tuttavia in uno studio precedente Paterson *et al.*, (1978), presero in considerazione l'articolazione del ginocchio di alcuni pazienti con la stessa patologia, ebbero risultati differenti; quindi la termografia non si rilevò utile per la diagnosi di tale patologia. La differenza tra le due esperienze può 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 di quelle che formano l'ATM e le dimensioni possono influenzare il trasferimento di calore tra la cavità dell'articolazione e la cute.

Tunnel carpale

Ming *et al.* (2005) condussero uno studio in cui eseguirono scansioni termografiche alle mani di due gruppi, il primo conteneva pazienti a cui era stata diagnosticata clinicamente la sindrome da tunnel carpale, l'altro con volontari sani che fungevano da controllo. I risultati ottenuti mostravano differenze sostanziali tra i due gruppi: le temperature nell'area di distribuzione del nervo mediano erano molto differenti; 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 erano entrambe molto alte, indicando la termografia come possibile strumento di indagine collaterale per la diagnosi di questa patologia, soprattutto in una fase precoce.

MEDICINA VETERINARIA

La prima pubblicazione in cui si parla di termografia veterinaria fu nel lontano 1964 quando Smith pubblicò *Applications of thermography in veterinary medicine* in cui mostrava le prime termografie fatte ad un cavallo. Da quel momento la termografia in medicina veterinaria ha fatto molti passi avanti ed è stata sempre di più utilizzata come strumento diagnostico collaterale in molte specie.

Il cavallo sportivo

L'interesse per la termografia e i suoi possibili utilizzi nell'ambito dell'ippica cominciò all'incirca del 1963 ed aumentò ancora di più con l'avvento delle termocamere portatili, di minori dimensioni, maggiore risoluzione e minor costo. Soprattutto nella diagnosi di patologie che affliggono il cavallo da sempre, quali quelle del sistema locomotore e quindi delle ossa, dei legamenti, dei tendini, delle articolazioni e dei muscoli (Turner, 2001). Altre applicazioni possibili possono essere: la ricerca di metodi illegali per migliorarne fraudolentemente il rendimento del cavallo, che sfuggono alla comune ricerca anti-doping (Eddy, 2001); come le iniezioni di composti irritanti per accentuare la flessione dell'arto, le anestesi loco-regionali, l'infiltrazione di potenti analgesici nell'area lesa o le nevrectomie dei nervi palmari e digitali. Queste procedure, come già detto, sfuggono ai controlli, ma danno delle variazioni di temperatura che possono persistere anche per 8 giorni e non durano meno di un giorno, evidenziabili con la termografia. Purtroppo questo tipo di indagine non è ancora abbastanza specifica, dal momento che evidenzia sì le variazioni termiche dell'area, senza però, identificarne le cause e questo non basta per squalificare un cavallo da una competizione. Altra interessante applicazione è la differenziazione tra cavalle gravide e vuote, le prime hanno una temperatura del fianco più alta rispetto alle seconde indipendentemente dalle condizioni ambientali e suggerendo così che la termografia è uno strumento utile nella diagnosi o nella conferma di gravidanza in tarda gestazione in alcune specie animali (Bowers *et al.* 2009). Ricordiamo che, oltre alla non invasività, l'applicazione della termografia in questo campo offre il vantaggio di ridurre l'esposizione a radiazioni ionizzanti (sia per il paziente che per l'operatore) che si hanno con l'utilizzo della radiografia impiegata convenzionalmente per rilevare le patologie del cavallo sportivo.

Allevamento bovino

L'utilizzo della termografia ha interessato contemporaneamente tutto il mondo della buiatria; sia essa da latte: con il rilevamento precoce dell'estro (Hurnik *et al.*, 1985); delle mastiti (Berry *et al.*, 2003; Colaket *et al.*, 2008); delle zoppie (Nikkhah *et al.*, 2005); della valutazione dello stato di salute e benessere (Morgante *et al.*, 2006); nella diagnosi dell'acidosi ruminale subacuta (Gatto *et al.*, 2010); che da carne: diagnosi precoce della malattia respiratoria bovina (BRD) e della diarrea virale bovina (BVD) (Schaefer *et al.* 2004, 2006) e della temperatura dello scroto come indice di fertilità nei tori (Lunstra e Coulter, 1997). Va evidenziato che Schaefer *et al.* (2004), notarono alterazioni importanti di temperatura nella regione oculare da alcuni giorni fino ad una settimana prima della manifestazione di altri segni dell'infezione: clinici o sierici.

Allevamento suino

La termografia ad infrarosso si rileva essere sempre più utile come strumento per studiare vari aspetti chiave dell'allevamento suinicolo. I suini sono animali molto sensibili agli stress da calore, la loro temperatura ideale, per un suino adulto è compresa tra i 15 e 20°C, con una bassa umidità relativa dell'aria (Tosi *et al.*, 2003), questo implica una buona gestione delle strutture che accolgono questi animali, dovranno essere abbastanza calde d'inverno e fresche d'estate, per questo l'uso della termografia, soprattutto per evidenziare eventuali difetti alla coibentazione delle strutture o al sistema di aerazione, fanno di questo strumento un valido aiuto agli operatori del settore per migliorare il benessere e la produttività di questi animali ^[2]. Un'importante studio ha rilevato che vi è una correlazione lineare tra la temperatura ambientale e quella superficiale media del corpo dei suini (Loughmiller *et al.*, 2001). Inoltre gli stessi autori registrarono, grazie alla termografia ad infrarosso, la reazione acuta febbrile post inoculazione di *Actinobacillus pleuropneumoniae*, coccobacillo gram negativo responsabile di patologie respiratorie, vedendo un aumento della produzione di calore radiante.

Allevamento avicolo

L'allevamento avicolo ha delle analogie con quello suinicolo, come: il grande numero di animali allevati e l'alta sensibilità di entrambe le specie allo stress termico.

Tessier *et al.* (2003) hanno determinato termograficamente la temperature superficiali in broiler sani, dai risultati ottenuti si mette in luce che le variazioni erano minime, inferiori a 0,5°C, a parità delle 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.

Cani e Gatti

Una ricercatrice dell'Università di Helsinki, Mari Vainionpää, sta studiando nuove possibili applicazioni della termografia nel campo dei piccoli animali, tra questi vi è la diagnosi di zoppia tramite la visione diretta sull'animale, evidenziando gli "hot spot" che probabilmente sono aree soggette ad infiammazione; o tramite visione indiretta; le zampe degli animali lasciano una "traccia" sulla superficie del pavimento su cui camminano, quest'ultima è data dal calore trasmesso alla superficie che è visibile con la termocamera. Queste "impronte termiche" ci possono aiutare ad individuare eventuali problemi di zoppia. L'animale normalmente ripartisce ugualmente il proprio peso tra le quattro zampe, se evidenziamo che una di queste ne sopporta meno, molto probabilmente il problema è situato a quell'arto. Un altro studio è stato condotto sull'osteoartrite dei gatti anziani, patologia non facile da dimostrare. Il gatto è un animale stoico e spesso tale patologia rimane non diagnosticata. Si è visto come l'uso di farmaci antinfiammatori faccia non solo migliorare la qualità della vita di questi ultimi, ma ne riduca termograficamente il quadro dell'infiammazione articolare ^[3].

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 ^[4]. 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 ^[4]. 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 ^[5]. Molti tipi di rettili, cocodrilli 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 in cattività di diversi rettili allo scopo di formulare alcune raccomandazioni per l'ambiente di allevamento e migliorare la loro salute e il loro benessere ^[5]. 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.

Medicina legale

Di Girolamo e Selleri (2013) dichiarano che la termografia è un utile strumento per valutare lo stato di benessere dei rettili in cattività essendo questa molto più specifica e sensibile di un termometro convenzionale per valutare le "zone calde e fredde" in un terrario. Le immagini raccolte possono a tutti gli effetti essere utilizzate per scopo legale come prova delle temperature rilevate ed utilizzabili in sede di giudizio.

RETTILI IN CATTIVITÀ

BUONE NORME PER LA LORO DETENZIONE

Negli anni, gli studi e le pubblicazioni a riguardo sono state molteplici, ma ancor di più nell'ultimo decennio, in cui il rettile si è trasformato da animale da Zoo a PET, entrando così nelle case degli italiani (1,4 milioni) ^[6] e degli europei in generale, se pensiamo che in UK la stima attuale è di oltre 8 milioni di *Pet reptiles* (Kubiak, 2013). Vediamo quindi come dovremmo detenere questi animali nel migliore dei modi, cominciando da dove li andremo a stabulare, cioè nel terrario.

Il terrario

In cattività, il tipo di terrario e lo spazio ad esso dedicato, hanno un impatto diretto sulla salute del serpente. Lo spazio richiesto per un serpente dipende dalla specie con cui abbiamo a che fare. Come regola di base sia per i giovani serpenti che per gli adulti la teca deve permettere a quest'ultimi come minimo di potersi completamente allungare. Questo parametro è un requisito minimo visto che i polmoni/sacchi aerei devono essere in grado di espandersi completamente in un singolo ciclo respiratorio. La profondità del terrario non è solitamente un problema per la maggior parte dei serpenti; idealmente, deve essere abbastanza grande da poter permettere il movimento al serpente. Dei posatoi sono importanti anche per le specie non prettamente arboricole, questi possono essere utilizzati dai grossi serpenti per favorire l'espulsione di essudati o muco dai sacchi aerei grazie alla forza di gravità. Altri parametri che sono correlati con la salute degli animali alloggiati sono: la capacità dell'animale di termoregolarsi, l'umidità ed infine la possibilità di effettuare un adeguata sanificazione (Rossi, 2005).

La termoregolazione

Ad alcuni sembrerà un controsenso, i serpenti sono nella cultura popolare animali a “sangue freddo” e per ciò considerati “freddi”, definiti dalla biologia come ectotermici, cioè che la loro temperatura corporea dipende dall'ambiente esterno; ma in realtà non è proprio così. Essi possono regolare la propria temperatura e in alcuni periodi della loro vita possono produrre calore (Bartholomew, 1982). I fisiologi hanno constatato che molti animali vertebrati (pesci, anfibi e rettili) definiti come ectotermici sono in realtà poichilotermi, organismi che variano notevolmente la loro temperatura interna grazie alla capacità di accumulare e rilasciare energia. Il tutto è orchestrato gestendo l'energia ricavata dalle sorgenti termiche che ritrovano in natura o in cattività (irraggiamento solare e/o superfici riscaldate) e la dissipazione di quest'ultima, mantenendo così la loro temperatura corporea all'interno di un range mediante un sapiente scambio termico con l'ambiente (Hildebrand *et al.*, 2001). Gli animali omeotermi, come i mammiferi e gli uccelli, mantengono costante la propria temperatura corporea, indipendentemente dalla temperatura esterna. Questa temperatura è spesso, ma non necessariamente, superiore a quella dell'ambiente circostante, così facendo mantengono attivo il metabolismo anche alle basse temperature. (Gans e Dawson, 1976). Tuttavia, vi sono alcuni animali terrestri ectotermici, che vivono in ambienti a temperatura relativamente costante (vedi i tropici), in cui riescono a mantenere effettivamente una temperatura interna costante, e quindi paradossalmente sono omeotermi (Hildebrand *et al.*, 2001). Il metabolismo energetico dei poichilotermi è variabile ed è prevalentemente di tipo anaerobico a scapito di quello aerobico che è prediletto dagli animali omeotermi, che necessitano di energia per effettuare un'attività sostenuta e continuativa come il volo, la corsa e la presenza di un organo molto importante e voluminoso, quale è il cervello. I predatori poichilotermi sono animali che prediligono la caccia d'attesa, in cui utilizzano tutta l'energia a loro disponibile in un breve lasso di tempo di pochi secondi, se non meno. L'opposto avviene nei predatori omeotermi, che inseguono la preda con un costo di energia molto più alto (Figura 5). Si è valutato che un poichilotermo necessita di un decimo dell'energia consumata da un pari peso omeotermo (Gans e Dawson, 1976).

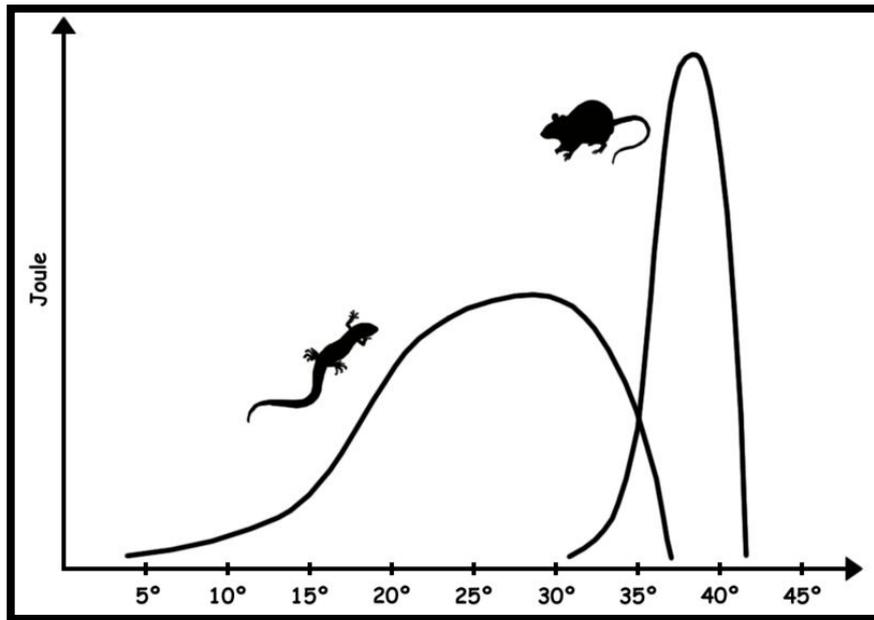


Figura 5: Confronto tra temperatura corporea e energia disponibile per un animale poichilotermo (geco, a sinistra) e un animale omeotermo (ratto, a destra). L'omeotermo ha un'energia disponibile molto più alta, ma può sfruttarla solo in una stretta fascia di temperatura corporea.

Tornando al concetto iniziale, i serpenti, soprattutto delle specie di origine tropicale, riescono agevolmente a regolare la propria temperatura corporea. Questo è dovuto al fatto che la temperatura dell'ambiente varia in uno stretto *range*, tra la temperatura diurna e quella notturna e tra le diverse stagioni. Per questo, i primi studiosi pensarono di alloggiare i serpenti in *room* riscaldate uniformemente ad una temperatura "ideale", pensando che fosse questa la stabulazione migliore; invece, molti di questi animali si ammalarono e morirono (Gans e Dawson, 1976). Ciò era dovuto al fatto, che questi animali non riuscivano a termoregolarsi.

La gestione in cattività non è così semplice; non basta conoscere la temperatura ideale per la specie che si accinge ad allevare, ma vanno prese in considerazione anche altre informazioni: il continente di origine, il clima, il periodo di attività, le abitudini e la nicchia ecologica che questi occupano in natura. Allevare un serpente in cattività è un processo che comporta delle conoscenze specie-specifiche che non vanno sottovalutate. Lo scopo del veterinario è quello di educare i proprietari che si accingono o già detengono rettili come animali domestici a questo concetto.

Per far sì che un animale poichilotermo si possa termoregolare efficacemente in cattività è necessario fornirgli all'interno di un terrario dei microambienti, dove potrà trovare quello più adatto a permettergli di controllare la propria temperatura in base alle proprie esigenze biologiche. Dovremmo trovare aree: calde e secche, caldo-umide, fresche ed asciutte e fresco-umide. La prevalenza di tali aree è dipendente dalla specie allevata ed è compito del proprietario, supportato da un medico veterinario esperto, riuscire ad ottenerlo. La maggior parte dei problemi avvengono nei terrari di piccole dimensioni, nei quali le fonti di calore occupano buona parte dello spazio, causando all'animale una riduzione della capacità di termoregolarsi. In questa situazione, essi vanno incontro a disidratazione, che se si cronicizza, può portare a malattie renali e respiratorie; lo stress causato da questa situazione può aggravare eventuali malattie sub-cliniche. Un altro potenziale problema, associato alle piccole dimensioni dei terrari è l'aumento del "carico organico". Più grandi sono le dimensioni del serpente, più grandi saranno i "rifiuti metabolici" che esso produrrà. Di conseguenza, necessiteranno di maggiori interventi di pulizia per ridurre l'esposizione ai rifiuti organici. I grandi terrari permettono all'animale di termoregolarsi, ma molto spesso non è facile riscaldarli adeguatamente. Quindi, vanno utilizzate delle combinazioni di fonti di calore per realizzare diverse aree di termoregolazione. Ad esempio: lampade ad incandescenza, pannelli radianti da collocare al di sopra dell'animale, resistenze di varia natura e forma da collocare al di sotto, ma mai a contatto diretto con quest'ultimo, per non rischiare lesioni. Si consiglia di controllare con l'ausilio di un termometro, se il *range* di temperatura è adatta alla specie allevata (Rossi, 2005).

L'umidità

L'umidità è un fattore importante per la termoregolazione ed è fondamentale per la salute respiratoria dei serpenti tropicali. L'alta umidità trattiene il calore. La bassa umidità permette la dissipazione del calore. Lo si capisce osservando ciò che avviene in natura nei paesi tropicali, dove le nuvole proteggono la terra dall'eccessiva evaporazione. L'evaporazione è un processo di raffreddamento; meno evaporazione avviene più umidità c'è nell'aria. L'umidità nell'aria ha un elevato calore specifico, permettendo a quest'ultimo di accumularsi. Al crepuscolo,

l'umidità mantiene il calore nelle proprie molecole d'acqua e comporta una minore variazione di temperatura rispetto a quella diurna. Nei deserti, il clima è relativamente asciutto, non vi sono nuvole e vi è una bassa precipitazione, il sole batte sulla terra e causa una forte evaporazione. Ciò comporta un forte variazione delle temperature diurne/notturne che scendono di molti gradi durante la notte, ad esempio nel deserto di Sonora (USA) si può arrivare normalmente a 43°C di giorno e a 21°C di notte, il tutto è dovuto in buona parte dalla forte evaporazione. Nella foresta pluviale, dove vivono i grandi serpenti tropicali, le temperature raramente scendono sotto i 24°C o superano i 32°C. I cali di temperatura certamente possono essere immunosoppressivi, soprattutto in cattività, durante il periodo invernale. Quando i serpenti tropicali sono allevati in un ambiente asciutto, la perdita inconsapevole d'acqua è maggiore. Le secrezioni respiratorie diventano maggiormente viscosi e tendono ad accumularsi nelle vie respiratorie. Il muco si accumula e agisce da terreno per eventuali infezioni o sindromi ostruttive. È bene perciò tenere controllato questo parametro grazie ad un igrometro. La ventilazione e l'ossigenazione dei terrari sono altrettanto essenziali e sono primariamente coinvolti nella regolazione della temperatura e dell'umidità (Rossi, 2005). Solo con l'esperienza, si può tentare di gestire al meglio la complessità dell'ambiente naturale, che noi tentiamo di semplificare nel terrario.

La sanificazione

Non è da sottovalutare questo aspetto nella gestione di questi animali. Essi molto spesso vengono alloggiati in terrari che sono stati utilizzati precedentemente per specie ed esemplari differenti, non sottoponendoli a nessuna sanificazione, con il rischio di trasmissione di patogeni. In altri casi le infezioni si possono verificare in quei terrari che sono di difficile pulizia. Ad esempio quelli costruiti in legno verniciato che molto spesso con il passare del tempo accumulano su di esso notevoli cariche organiche: sostanze di scarto dell'animale (se il fondo del terrario non è impermeabile) e di parassiti che trovano nel legno l'habitat ideale su cui moltiplicarsi. Riassumendo, un terrario di piccole dimensioni in cui l'animale defeca e a cui non segue un'adeguata e tempestiva pulizia, porta l'animale in esso stabulato ad uno stato di immunosoppressione e allo scatenarsi di infezioni di

patogeni opportunisti. Si consiglia quindi un accurata pulizia tramite detergenti a base di acqua calda e sapone e/o candeggina, composti a base di clorexidina, e composti di ammonio quaternario. Un risciacquo accurato ed una asciugatura sono importanti dopo l'utilizzo di qualsiasi detergente (Gillespie, 2005).

I parassiti

I parassiti che si possiamo ritrovare nei serpenti allevati in cattività, possono essere suddivisi in due gruppi:

- ✓ Ectoparassiti. Si ritrovano soprattutto tra l'orbita ed il bulbo oculare, nello spazio intermandibolare e a livello dell'orifizio cloacale (Greiner e Mader, 2005). Possono essere ulteriormente divisi in:

- ✓ zecche (*Argas sp.*, *Ixodes sp.* ed *Ornithodoros*);
- ✓ acari (*Ophionyssus natricis*).

Possono trasmettere malattie infettive e dare con la loro azione irritativa, una reazione infiammatoria locale (Greiner e Mader, 2005).

- ✓ Endoparassiti. I sottoregni principalmente causa di infestazione, sono due:
 - ✓ protozoi (amebe, coccidi, criptosporidi, emoparassiti e flagellati);
 - ✓ metazoi (trematodi, cestodi e nematodi).

Per evidenziare la loro presenza il metodo più semplice ed efficace è quello di effettuare un esame coprologico qualitativo o in alcuni casi, ad esempio per la ricerca di *Cryptosporidium*, uno striscio fecale colorato con la colorazione di Ziehl-Nielsen (Greiner e Mader, 2005; Urquhart *et al.*, 2006)

Vi è una paradossale caratteristica che lega alcuni generi di serpente alla termografia, ed è la loro capacità di percepire la radiazione infrarossa.

Questi animali posseggono dei singolari organi di senso, che prendono il nome di recettori per l'infrarosso. Si localizzano nei serpenti del genere *Crotalus* in due fossette tra l'occhio e la narice, nei *Boa* e *Python* sono distribuite a livello labiale. Questi recettori permettono di individuare le prede, e forse anche di analizzare le caratteristiche termiche dell'ambiente che gli circonda, dandogli la possibilità di vedere come se possedessero una termocamera (Gans e Dawson, 1976).

Questa digressione vuole essere il tramite tra la termografia e la distribuzione del calore corporeo in questi animali.

I SERPENTI E LA DISTRIBUZIONE DEL CALORE CORPOREO

Prima dell'avvento della termocamera i ricercatori per individuare la temperatura superficiale di questi animali usavano termometri e/o termocoppie (Gans e Dawson, 1976). Gli studi miravano soprattutto ad individuare come questi ad una determinata temperatura distribuivano il calore nel proprio corpo. Studi più recenti con l'ausilio della termocamera hanno valutato altri interessanti aspetti, in alcune specie di serpente a sonagli. Tattersall *et al.* (2004) con un gruppo di *Crotalus durissus* videro come questi effettuavano una vera e propria termogenesi dopo il pasto, aumentando così la propria temperatura per velocizzare la digestione delle prede; Borrell *et al.* (2005) con un gruppo di *Crotalus atrox* videro come essi riuscivano termoregolare il proprio corpo, abbassandolo di molto rispetto alla temperatura ambiente, grazie alla respirazione. I serpenti distribuiscono la loro "dissipazione" del calore in maniera differente sulla superficie del loro corpo anche in funzione del loro stato emotivo e fisiologico. Negli stessi studi sopra citati si può vedere come un animale in stato di quiete ha una distribuzione del calore uniforme sul tutto il corpo, tranne una variazione sulla testa, a livello del naso, dove si nota un abbassamento di temperatura dovuto all'evaporazione data dal flusso d'aria respirata (Figura 6); ciò avviene anche nella fase termogenica postprandiale, in cui la temperatura seppur aumentata si presenta uniformemente distribuita (Figura 6) (Borrell *et al.*, 2005). Nelle immagini termografiche dell'altro studio (Tattersall,

2004), si può valutare come gli animali messi in allerta, si presentino con il sonaglio ad una temperatura superiore ed una temperatura della testa molto inferiore a quella del corpo (Figura 7). Già nel 1966, si evidenziava la capacità di alcuni serpenti, in particolar modo nelle femmine gestanti e nel periodo di cova, di effettuare una termogenesi molto marcata, riuscendo ad arrivare a produrre il calore necessario all'incubazione delle uova (Hutchison *et al.*, 1966). In alcuni casi, questa termogenesi poteva arrivare a cinque o più °C, rispetto alla temperatura dell'ambiente (Bartholomew, 1982). Altri studi, hanno dimostrato come il flusso sanguigno in pitoni e boa può essere fortemente incrementato verso quegli apparati che ne necessitano maggiormente l'esigenza; ad esempio il tratto gastrointestinale durante la digestione (Wang *et al.*, 2001; Tattersall *et al.*, 2004), la regione degli organi genitali durante il periodo riproduttivo (Bartholomew, 1982), i muscoli della regione ventrale e la cute nel periodo di cova (Bartholomew, 1982) e durante i fenomeni flogistici (Stacy e Pessier, 2007). Un'altra significativa variazione di temperatura nel corpo dei serpenti, può essere il fenomeno della *behavioral fever* o "febbre comportamentale", processo che spinge i serpenti malati a trovare fonti di calore esterne e a stazionarvi, simulando così il processo di ipertermia che avviene negli animali omeotermi, presumibilmente allo scopo di aumentare l'efficienza della risposta dell'animale agli agenti infettivi (Stacy e Pessier, 2007). Altre alterazioni, possono essere le infestazioni di ectoparassiti; queste causano fenomeni infiammatori locali, richiamando così una maggiore quantità di sangue nella zona colpita (Jacobson, 2007).

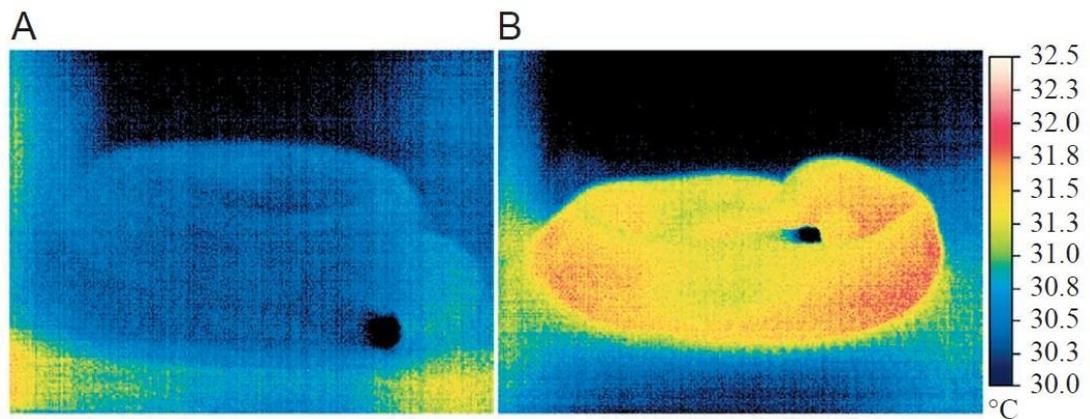


Figura 6: Immagine termica ad infrarossi di un serpente a sonagli (*Crotalus durissus*) prima dell'alimentazione (A) e 48 h dopo il pasto (B). La barra di scala mostra una gamma totale di 2,5°C, dove il nero è il punto più freddo ed il bianco è il più caldo. Notare l'aumento uniforme temperatura superficiale del corpo nel serpente a seguito del pasto. La macchia più scura di ogni immagine è il naso, dove l'evaporazione porta ad una significativa riduzione di temperatura di quell'area (Borrell *et al.*, 2005).

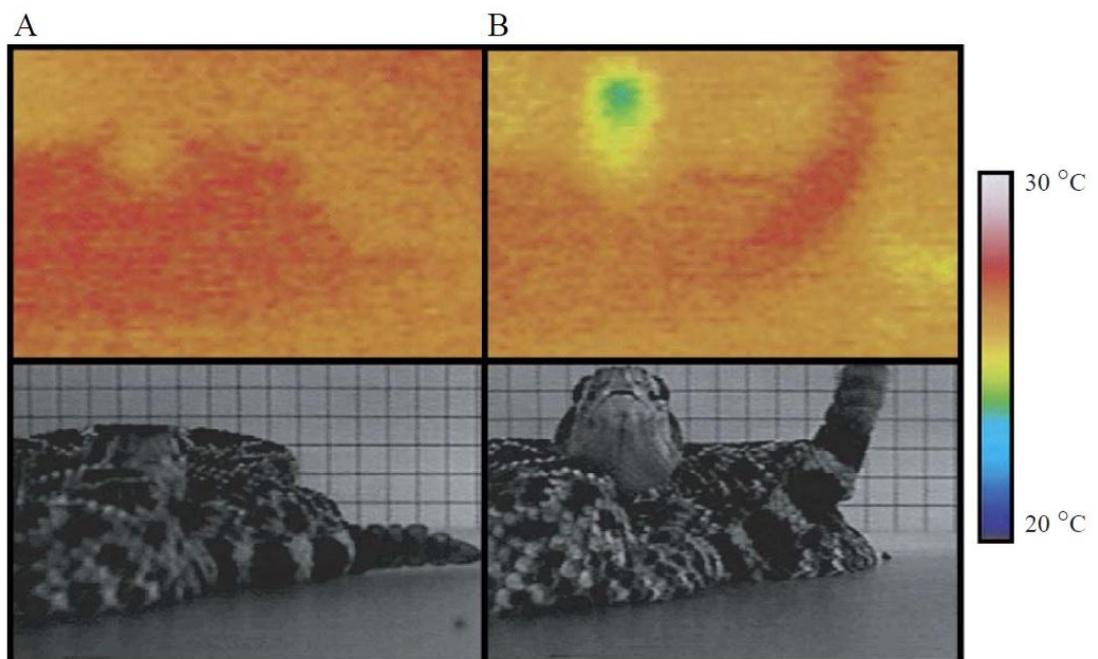


Figura 7 Immagine termografica (in alto) e video (in basso) di un serpente a sonagli (*Crotalus atrox*), mentre è in quiete (A) e durante lo stato di allerta (B). La temperatura ambiente è di 25°C. Notare come nello stato di allerta la temperatura del naso si abbassi e la temperatura del sonaglio si innalzi (Tattersall *et al.*, 2004).

LE PATOLOGIE RESPIRATORIE

La patogenesi delle malattie del tratto respiratorio nei serpenti è complessa. Prima di tutto, un serpente deve essere esposto a un agente infettivo. Se il serpente è immunocompetente, allora solitamente prevale sulla malattia. Quando le condizioni di allevamento in cattività sono peggiori di quelle che avrebbero incontrato in natura, i serpenti cominciano una dura battaglia che spesso hanno difficoltà a vincere. Una preventiva educazione, una tempestiva terapia medica, un periodo di quarantena e non ultima, la collaborazione con i proprietari, permettono di realizzare la missione di ogni veterinario, cioè la salute di ogni animale.

(Driggers, 2000)

Le malattie respiratorie sono un insieme di patologie che colpiscono comunemente i serpenti in cattività. I serpenti possono avere patologie a carico delle vie aeree superiori ed inferiori. Le malattie respiratorie riscontrate in cattività possono avere molte eziologie differenti tra cui batteriche, virali, parassitarie e fungine. Fattori che contribuiscono l'espressione della malattia comprendono l'allevamento in cattività, lo stress, la grandezza del terrario, la genetica, gli stati fisiologici, caratteristiche individuali delle specie e la pulizia del terrario. In questo capitolo tenteremo di capire la natura degli agenti patogeni che causano la malattia, sia i fattori ambientali di allevamento, che spesso sopprimono il sistema immunitario del serpente, favorendo così l'esordio della malattia clinica. La conoscenza della fisiologia e delle differenze anatomiche tra il sistema respiratorio dei mammiferi e dei rettili è un concetto base, che influisce prima sulla prevenzione e poi sulle terapie. Diagnosticare la patologia respiratoria è relativamente semplice, grazie ai vari sistemi che la medicina ci fornisce (culture cellulari, sierologia, radiologia, esame parassitologico, citologia, ecc.) È il diagnosticare un problema di fondo in allevamento, che è molto spesso un concetto estraneo a molti veterinari che non hanno avuto un'adeguata preparazione in materia. I serpenti sono un gruppo abbastanza vasto e diversificato di rettili che hanno come proprio habitat naturale diverse nicchie ecologiche: dagli alberi, al suolo, al sottosuolo, all'acqua dolce e marina. La forma del serpente varia relativamente poco, ma le dimensioni possono

variare da pochi cm ad una decina di metri. Per questo, vista la variabilità degli ecosistemi d'origine e delle loro dimensioni, non è così semplice la loro detenzione. Chi si accinge a prendersi cura di questi animali, dovrà conoscere la biologia, l'etologia e le buone prassi di gestione e manipolazione; non ultimo, lo stato di salute attuale e passato per poter così dare una migliore risposta alle loro esigenze.

Anatomia e fisiologia dell'apparato respiratorio dei serpenti

Mentre le provenienze geografiche sono molteplici, l'anatomia delle vie respiratorie dei serpenti è abbastanza costante. I serpenti hanno un evidente glottide rostrale posta nella parte ventrale della bocca, che si inserisce nella fessura delle coane, quando questa è chiusa. Quando il serpente si alimenta, la glottide è mobile e può permettere all'animale di mantenere attiva la respirazione (Funk, 2005). La trachea, inizia dalla glottide e prosegue caudalmente fino all'altezza del cuore, dove termina. È formata da anelli cartilaginei incompleti a una forma di "C", chiusi dorsalmente da tessuto molle. Al proprio interno, troviamo un epitelio di rivestimento meno evoluto rispetto a quello dei mammiferi, con una funzione di *clearance* mucociliare ridotta (Murray, 2005). Per questo, si è visto che i serpenti utilizzano la forza di gravità ed il posizionamento del corpo, per favorire l'espulsione delle secrezioni fisio-patologiche dai polmoni e trachea durante i periodi di infezione (Driggers, 2000). Alcune specie hanno solo il polmone destro funzionante, altre come i boidi hanno anche un rudimentale, ma funzionale, polmone sinistro. Esso comincia appena caudalmente al cuore e si estende sulla superficie dorsale del fegato. Il polmone è costituito da una porzione craniale, dove avviene lo scambio dei gas attraverso gli alveoli posti perifericamente; e di una porzione centrale e caudale avascolare, che termina come un sacco vuoto vicino allo stomaco (Murray, 2005). Alcune specie hanno un "polmone tracheale", composto da un tessuto alveolare, posto dorsalmente alla trachea, che permette gli scambi gassosi in alcuni momenti, ad esempio durante l'ingestione di grosse prede (Murray, 2005). La respirazione avviene grazie ai gruppi muscolari collegati alle costole. L'ispirazione è data dalla contrazione dei muscoli intercostali; essi provocano l'espansione delle coste, creando una pressione intrapolmonare negativa, quest'ultima richiama l'aria atmosferica esterna all'interno dei polmoni, riempiendoli. La fase espiratoria è

passiva, ed inizia con il rilassamento dei muscoli inspiratori, il conseguente aumento della pressione intrapolmonare abbinato all'apertura della glottide favorisce la fuoriuscita dell'aria (Murray, 2005). Lo stimolo alla respirazione non è come avviene nei mammiferi per l'aumento della pressione parziale di anidride carbonica ($p\text{CO}_2$), ma per una bassa pressione parziale di ossigeno ($p\text{O}_2$). Ciò è da ricordare in clinica, quando si sottopone un serpente ad un'anestesia gassosa, se lo si sottopone ad una bassa pressione parziale di ossigeno esso sarà stimolato a respirare maggiormente, se invece la si aumenta tramite un apporto esterno di O_2 questi non sarà stimolato a respirare; entrambe le situazioni comportano un allungamento dei tempi di anestesia, nel primo caso perché questi assume più anestetico del necessario, nel secondo caso perché non lo metabolizza adeguatamente (Schumacher e Yellen, 2005). Molti studi hanno riconosciuto ai rettili la capacità di tollerare molto bene stati di anossia e ipossia (Wood e Lenfant, 1976). Il significato clinico di tutto ciò, è che durante gli stati patologici a livello polmonare, questi animali possono comunque riuscire ad effettuare normali scambi gassosi, mimando così fittiziamente uno stato fisiologico normale. Mancando il diaframma, i serpenti non possono esercitare un efficace riflesso della tosse (Murray, 2005). Stati di polmonite grave sono compensati sia a livello comportamentale che fisiologico, il serpente si presenta inattivo: rifiuta di mangiare e di muoversi, inarca la schiena a livello dei polmoni o solleva la testa ed il primo quarto del corpo in posizione verticale per favorire la rimozione dell'essudato purulento dalla superficie respiratoria funzionalmente attiva (Murray, 2005). Sbadigliare è un ulteriore sintomo riscontrato frequentemente nelle patologie muco produttive (Driggers, 2000).

Diagnosi di patologia respiratoria

I segni clinici associati a disfunzioni respiratorie possono essere anoressia, letargia, perdita di peso, vomito, diarrea, opacità della pelle, discinesia, stomatite, sbadiglio, mucose cianotiche, glottide protrusa, respirazione esagerata, posizione non usuale nel terrario, sollevamento polmonare, dispnea, scuotimento della testa, aborto/distocia, e la morte. La mancata volontà ad alimentarsi, i problemi con la muta, possono essere uno dei primi segni che fanno sospettare un infezione respiratoria subclinica. Cause infettive delle vie respiratorie possono essere di eziologia batterica, virale, fungina o parassitaria. La polmonite batterica è di gran lunga la più comune. Questa affermazione è supportata dal fatto che le colture batteriche sono comunemente usate nelle prime fasi della diagnostica e che le infezioni batteriche secondarie vengono erroneamente scambiate per infezioni primarie (Murray, 2005). Secondo Driggers (2000), le infezioni virali, fungine e parassitarie sono sotto-diagnosticate. I batteri patogeni del tratto respiratorio sono principalmente gram negativi aerobi: *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *Aeromonas sp.*, *E. coli.* e *Proteus* sono isolati comunemente nella pratica, secondo Schumacher (2011). Si possono ritrovare occasionalmente batteri atipici quali: *Mycoplasma sp.*, *Clamidia sp.*, e micobatteriosi. Pees *et al.* (2007) sostengono che se si sospettano patologie sostenute da batteri a carico dell'apparato respiratorio nei serpenti, si deve eseguire il campionamento tramite lavaggio broncoalveolare (BAL) e successiva coltura su *Columbia Agar* con sangue di montone. Schmidt *et al.* (2013) consigliano inoltre il BAL come elemento diagnostico. I migliori campionamenti si ottengono dal BAL, rispetto a quelli presi dalla faringe (Pees *et al.*, 2007). Le patologie virali possono essere causa di malattie respiratorie, ma difficilmente vengono diagnosticate. Molte volte, i serpenti con patologie virali hanno una polmonite batterica secondaria, quest'ultima viene diagnosticata attraverso l'esame colturale e/o terapeutamente trattata con antibiotici; facendo così erroneamente credere che siano i batteri la causa di queste patologie.

Il lavaggio broncoalveolare

Questa tecnica consiste nell'instillare della soluzione fisiologica sterile a livello del tratto caudale della trachea e nei polmoni; e successivamente aspirare il fluido che precedentemente è stato iniettato. Secondo molti autori è un utile strumento diagnostico per rilevare patogeni virali e batterici (Schmidt *et al.*, 2013). Per effettuare la manovra si procede aprendo la bocca dell'animale; alcuni autori (Driggers, 2000; Hernandez-Divers, 2005) consigliano l'uso di spatolette di legno, simili agli abbassalingua utilizzati in medicina umana; nella nostra esperienza abbiamo preferito utilizzare delle garze sterili, perché si è visto essere meno traumatiche per la mucosa orale e la dentatura dei soggetti. Utilizzando una tecnica sterile, attraverso l'uso di un catetere di dimensione appropriata, lo si inserisce nella trachea, attraverso la glottide, facilmente individuabile nella parte ventrale della bocca, quando questa si apre per effettuare l'atto respiratorio. Una siringa riempita con soluzione fisiologica sterile con un volume dai 5 ai 10ml/kg pv (Hernandez-Divers, 2005).

La soluzione viene iniettata a livello della porzione caudale della trachea e del polmone, il serpente viene delicatamente mosso per favorire un migliore lavaggio, infine il fluido viene nuovamente aspirato. È normale ottenere solo un piccolo quantitativo di volume, rispetto a ciò che si è iniettato. Sul campione ottenuto si effettuano gli esami colturali.



Figura 8 Lavaggio broncoalveolare su un serpente.

La radiografia

La radiografia (RX) è un buon strumento per la diagnosi di patologie respiratorie e per la valutazione dei miglioramenti dati dalla terapia medica (Murray, 2005).

La radiografia va fatta in proiezione latero-laterale (LL) con l'animale posto sul fianco. Il parenchima polmonare normale avrà un leggero *pattern* reticolare simile ad un soffice tessuto tra gli organi. In caso di malattia, questo si presenterà accentuato, per l'aumento patologico della consistenza (Murray, 2005) (Figura 9). Questa tecnica ha delle limitazioni che sono date dalla sua bassa sensibilità, dalla difficoltà di trasporto e dal rischio biologico per gli operatori.

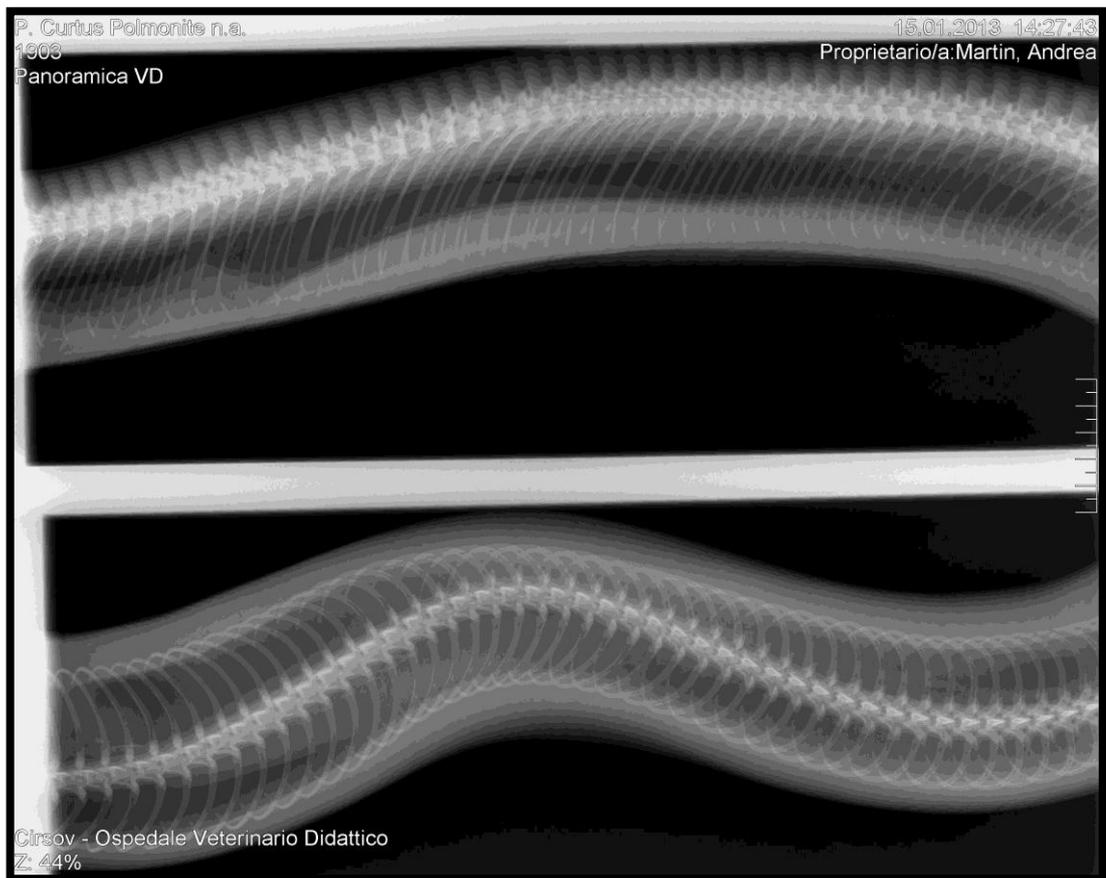


Figura 9 Immagine radiografica di un soggetto di *Python curtus* con sintomatologia respiratoria, si può notare un pattern aumentato della porzione caudale del polmone, soprattutto nella proiezione LL. (C.I.R.S.O.V. - Ospedale Veterinario Didattico, 2013)

La tomografia computerizzata e la risonanza magnetica

La Tomografia Computerizzata (TC) e la Risonanza Magnetica (RM) sono i migliori strumenti per la localizzazione delle lesioni a livello polmonare (Murray, 2005), però hanno delle limitazioni, che sono il costo della strumentazione e la necessità di dover sedare il paziente per effettuare l'esame in questione.

MATERIALI E METODI

ANIMALI

Sono stati esaminati un totale di novantotto (98) serpenti di due differenti specie:

- ✓ *Python regius*,
58 esemplari (11 maschi e 47 femmine),
presso l'allevamento commerciale: "MC Serpenti" di Marco Carrozzi;
- ✓ *Python curtus*,
40 esemplari (10 maschi, 12 femmine e 18 esemplari non sessati),
presso l'allevamento amatoriale: "Andrew Python" di Andrea Martin.

Metodo e procedura di raccolta dati

Dopo aver eliminato ogni possibile fonte di interferenza (fonti riscaldanti o rinfrescanti, ventilatori, contenitori per l'acqua) ed aver aspettato un tempo congruo (20 minuti) perché gli animali si acclimatassero alla temperatura dell'ambiente, si procede a raccogliere un numero rappresentativo di immagini termografiche.

Per ogni animale vengono registrati i dati biometrici, tramite opportuna scheda personale¹:

- ✓ età (espressa in mesi);
- ✓ sesso (maschio, femmina e non sessato);
- ✓ peso (espresso in grammi);
- ✓ lunghezza (espressa in cm);
- ✓ giorni trascorsi dall'ultimo pasto (t_pasto).

Su una scheda di rilevazione² è stata annotata l'eventuale presenza di ectoparassiti.

Il lavaggio broncoalveolare è stato eseguito da un operatore con l'aiuto di uno o due collaboratori.

Inoltre, è stato raccolto un campione di feci per accertare l'eventuale presenza di oocisti, uova e oncosfere di endoparassiti.

Le immagini termografiche raccolte sono state successivamente elaborate con il software "ThermaCAM™ Researcher" per ricavarne i valori di:

- ✓ temperatura dell'esperto (t_{esp} : valore rilevato a livello delle narici);
- ✓ temperatura della testa (t_{ts} : valore rilevato a livello occipitale);
- ✓ temperatura media del corpo (t_{mc} : valore calcolato sull'intero corpo dell'animale);
- ✓ range di temperatura del corpo (range_{mc} : differenza di temperatura tra il valore maggiore e minore sul corpo dell'animale).

Tutti i valori sono espressi in gradi *Celsius*.

Tramite un foglio elettronico (Microsoft Office Excel 2007), è stata calcolata la differenza di temperatura (ΔT) tra:

- ✓ la temperatura della testa e la temperatura dell'esperto, ($d_{t_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$);
- ✓ la temperatura media del corpo e temperatura della testa, ($d_{t_{\text{mc}}_{\text{ts}}}$);
- ✓ la temperatura media del corpo e la temperatura dell'esperto ($d_{t_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$).

I serpenti sono stati poi suddivisi in 4 gruppi, in seguito all'accoppiamento tra i dati raccolti sulla sintomatologia respiratoria e dall'esito dell'esame colturale:

- negativi alla sintomatologia e negativi all'esame colturale (NN);
- negativi alla sintomatologia e positivi all'esame colturale (NP);
- positivi alla sintomatologia e negativi all'esame colturale (PN);
- positivi alla sintomatologia e positivi all'esame colturale (PP).

Tutti i dati, raccolti ed elaborati, sono stati infine accorpati in un unico foglio elettronico (Microsoft Office Excel 2007).

TERMOGRAFIA

In questo studio è stata utilizzata la termocamera *ThermaCAM P25* della *FLIR Systems (USA)*, in possesso al Dipartimento Medicina Animale, Produzioni e Salute dell'Università degli studi di Padova (*MAPS*). Le rilevazioni sono state effettuate presso i luoghi adibiti alla detenzione degli animali, nel mese di settembre 2011; la temperatura dei locali, in cui si sono acquisite le immagini termografiche, era di circa 26°C, con un'umidità del 70%. Tutte le misurazioni sono state eseguite con un valore di emissività di 0,95. Le immagini sono state acquisite a una distanza focale di circa 40cm. Le immagini termografiche vengono memorizzate in formato *JPEG standard* su una scheda di memoria flash estraibile da 128 Mb (*Compact Flash™*). Inserita quest'ultima in un lettore dedicato, collegato ad una porta *USB* di un computer, e grazie al software *ThermaCAM™ Researcher*, si è potuto trasferire le immagini e analizzarle.

LAVAGGIO BRONCOALVEOLARE

Con l'aiuto di uno o due collaboratori si è provveduto ad effettuare il campionamento per l'esame colturale attraverso la tecnica del lavaggio broncoalveolare. Per tenere aperta la bocca si sono utilizzate delle garze sterili. Si sono adoperati dei cateteri di dimensioni e diametri appropriati, la nostra scelta è ricaduta sui cateteri per cani femmina *Bear* da 1,6 mm di diametro e 450 mm di lunghezza della *MED EUROPE® S.r.l.* predisposti per l'innesto di una siringa convenzionale. Una volta intubato l'animale, si è provveduto a far gentilmente scendere il catetere nella trachea per almeno un quarto della sua lunghezza. Quindi, si è iniettata, a livello caudale della trachea e nel polmone, una soluzione fisiologica sterile (pari a 5 ml/kg), precedentemente caricata su di una siringa. A questo punto, si muove con gentilezza l'animale per favorire il lavaggio e si aspira il fluido precedentemente iniettato. Si è utilizzata la stessa siringa, adeguatamente tappata, come mezzo di trasporto. I campioni sono stati trasportati fino al laboratorio del Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute dell'Università degli studi di

Padova, all'interno di un contenitore coibentato termicamente affinché questi non subissero un eccessivo stress termico.

ESAME COLTURALE

Gli esami colturali sono stati condotti presso il laboratorio di Microbiologia e Malattie Infettive del Dipartimento Medicina Animale, Produzioni e Salute dell'Università degli studi di Padova. Si è provveduto a mettere in coltura i campioni effettuati tramite il lavaggio broncoalveolare su piastre di coltura con *Columbia Agar* con sangue di montone, per ricercare ceppi batterici potenzialmente patogeni. Nello specifico, si sono utilizzate delle piastre già pronte "*Columbia CNA Blood Agar*" della *Biolife Italiana S.r.l.*. Si è incubato e controllato giornalmente le eventuali positività nelle piastre per almeno 15 giorni. Una volta che le colonie batteriche sono cresciute, si è potuto effettuare un'identificazione preliminare. Ciò è avvenuto attraverso la visione microscopica di un campione di queste; precedentemente fissate su di un vetrino e colorato con la colorazione di *Gram*. Questa procedura permette di distinguere Gram positivi (G+) dai negativi (G-) e determinare se essi sono bacilli e cocci. Ogni colonia identificata, è stata trasferita in una nuova piastra dove è stata coltivata e cresciuta in purezza. Questa fase si è resa necessaria per procedere alla successiva identificazione di specie, avvenuta tramite la consultazione delle pubblicazioni correnti. I risultati ottenuti sono stati raccolti su di un foglio elettronico (Microsoft Office Excel 2007).

ESAMI PARASSITOLOGICI

Tutti gli accertamenti parassitologici sono stati condotti presso il laboratorio di Malattie Parassitarie del Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute dell'Università degli studi di Padova.

Ectoparassiti

Si è provveduto ad esaminare ad occhio nudo la presenza di esemplari adulti e ad effettuare uno *Scotch Test* per l'eventuale presenza di forme larvali. I risultati ottenuti sono stati raccolti attraverso un adeguata scheda di laboratorio³.

Endoparassiti

Esame copro microscopico qualitativo

Tutti i campioni di feci sono stati sottoposti ad esame copro microscopico qualitativo per sedimentazione e successiva flottazione, per evidenziare la presenza di oocisti, uova e oncosfere di endoparassiti. Si è utilizzata una soluzione a peso specifico pari a 1350 g/L. I due cicli di centrifuga sono stati eseguiti a 2000 rpm. Tutti i preparati sono stati osservati al microscopio ottico, utilizzando i seguenti ingrandimenti 4X e 10X, esaminando tutta la superficie del vetrino.

I risultati ottenuti sono stati raccolti attraverso un adeguata scheda di laboratorio³.

Esame dello striscio fecale con la colorazione di Ziehl-Nielsen

La prova dello striscio fecale con colorazione *Ziehl-Nielsen* modificata ha lo scopo di evidenziare l'eventuale presenza di oocisti di *Cryptosporidium* nei soggetti esaminati. Eseguita la procedura di preparazione dei vetrini, si sono osservati attraverso un microscopio ottico a forte ingrandimento, 100X.

I risultati ottenuti sono stati raccolti attraverso un adeguata scheda di laboratorio³.

ANALISI STATISTICA

Tramite il programma *GraphPad Prism* della *GraphPad Software* (USA), si è provveduto ad effettuare due analisi statistiche sui dati raccolti:

- ✓ il calcolo del *coefficiente di Pearson* (comunemente detto “*coefficiente di correlazione*”);
- ✓ la procedura *GLM* (comunemente detta “*metodo dei minimi quadrati*”).

La prima analisi voleva valutare se vi fosse correlazione tra le variabili raccolte ed elaborate, e se queste fossero statisticamente significative ($P\text{-value} = < 0.05$).

La seconda, invece, ha preso in considerazione la correlazione tra i gruppi (NN; NP; PN; PP) ed il sesso (M e F), con alcuni valori di nostro interesse (t_{esp} ; t_{ts} ; t_{mc} ; range_{mc} ; $d_{t_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$; $d_{t_{\text{mc}}_{\text{ts}}}$; $d_{t_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$), per valutare se questi fossero utili come strumento diagnostico.

Inoltre si è provveduto ad effettuare un'ulteriore prova con la stessa procedura valutando la correlazione tra i gruppi NN e PP ed il sesso con gli stessi valori sopra riportati, per un'ulteriore controprova.

RISULTATI

Il totale di novantotto (98) soggetti osservati era suddiviso in due specie (Grafico 1):

- ✓ *Python regius*, 58 esemplari (11 maschi e 47 femmine);
- ✓ *Python curtus*, 40 esemplari (10 maschi, 12 femmine e 18 non sessati).

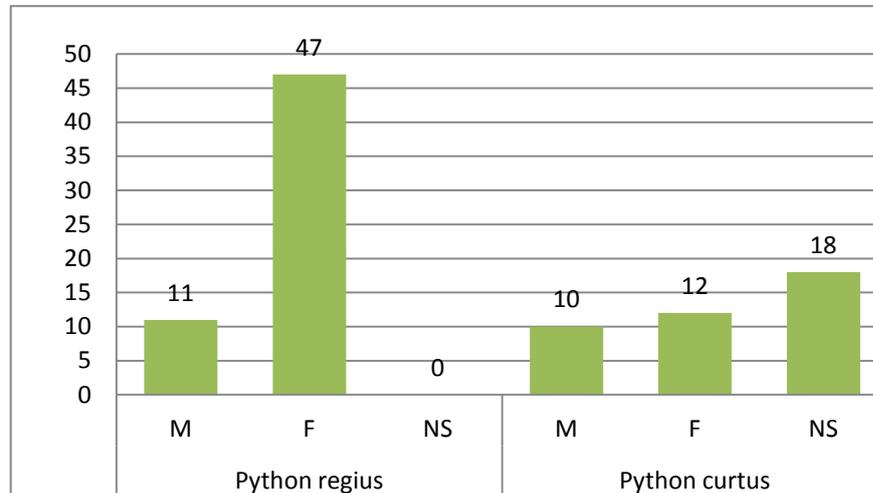


Grafico 1 Specie e sesso degli esemplari osservati (M = maschi; F = femmine; NS = non sessati).

I dati biometrici raccolti per ogni animale sono riassunti in Tabella 1: per ogni variabile sono stati registrati il numero di osservazioni utilizzate a fini statistici, i valori medi, le deviazioni standard (DS) e i valori minimi e massimi. Si può inoltre osservare che non tutte le variabili sono state rilevate o considerate ai fini statistici per tutti i soggetti esaminati, perché mancanti o non corrette.

Variabile	N° Osservazioni	Media	Dev. standard	Minimo	Massimo
età	88/98	34.0909091	25.3180397	6	120
peso	98/98	1854.34	1818.82	150	8000
lunghezza	98/98	107.6020408	40.7609930	40	170
t_pasto	98/98	17.5	7.4005433	5	30
t_esp	94/98	23.4659574	1.8294222	20.2	27.6
t_ts	94/98	24.7297872	2.1084994	20.4	28.9
t_mc	98/98	25.2010204	2.1574849	20.5	28.7
range_mc	98/98	1.3112245	0.5673019	0.6	3.2
d_t_ts_esp	93/98	1.2344086	0.6755826	-0.1	2.9
d_t_mc_ts	94/98	0.4436170	0.4162192	-1.5	2.1
d_t_mc_esp	94/98	1.6925532	0.8354047	0.2	3.6

Tabella 1 Dati biometrici raccolti: età (espressa in mesi); peso (espresso in grammi); lunghezza (espressa in cm); giorni trascorsi dall'ultimo pasto (t_pasto); t_esp (temperatura espirato); t_ts (temperatura della testa); t_mc (temperatura media del corpo); range_mc (range di temperatura media del corpo); d_t_ts_esp (ΔT tra la temperatura della testa e la temperatura dell'espirato); d_t_mc_ts (ΔT tra la temperatura media del corpo e la temperatura della testa); d_t_mc_esp (ΔT tra la temperatura media del corpo e la temperatura dell'espirato).

- Nessun soggetto esaminato è risultato positivo agli esami parassitologici.

Gli animali sono stati successivamente suddivisi in 4 gruppi a seconda della presenza di sintomatologia respiratoria e del risultato ottenuto dall'esame colturale

(Tabella 2):

- il 76,53 % dei soggetti, di cui 10 maschi e 30 femmine *Python regius* e 7 maschi, 10 femmine e 18 non sessati *Python curtus*, è risultato negativo alla sintomatologia e negativo all'esame colturale (NN);
- il 4,08 % dei soggetti, di cui 3 femmine *Python regius* e 1 femmina *Python curtus*, è risultato negativo alla sintomatologia e positivo all'esame colturale (NP);
- il 10,20 % dei soggetti, di cui 8 femmine *Python regius* e 1 maschio 1 femmina *Python curtus*, è risultato positivo alla sintomatologia e negativo all'esame colturale (PN);
- il 9,18 % dei soggetti, di cui 1 maschio e 6 femmine *Python regius* e 2 maschi *Python curtus*, è risultato positivo alla sintomatologia e positivo all'esame colturale (PP).

Gruppo	Frequenza	Percentuale	Specie e Sesso					
			<i>Python regius</i>			<i>Python curtus</i>		
			M	F	NS	M	F	NS
NN	75	76,53	10	30	0	7	10	18
NP	4	4,08	0	3	0	0	1	0
PN	10	10,20	0	8	0	1	1	0
PP	9	9,18	1	6	0	2	0	0
Totale	98	100	11	47	0	10	12	18

Tabella 2 Suddivisione in gruppi, rapporto con la specie e il sesso.

L'esame colturale è risultato positivo per i seguenti batteri potenzialmente patogeni (Grafico 2):

- ✓ *Bordetella sp.*, n°8 ceppi pari al 50% dei batteri individuati;
- ✓ *Pseudomonas sp.*, n°5 ceppi pari al 31% dei batteri individuati;
- ✓ *Pasteurella sp.*, n°2 ceppi pari al 13% dei batteri individuati;
- ✓ *Klebsiella sp.*, n°1 ceppi pari al 6% dei batteri individuati.

In alcuni esemplari erano contemporaneamente presenti due ceppi batterici differenti.

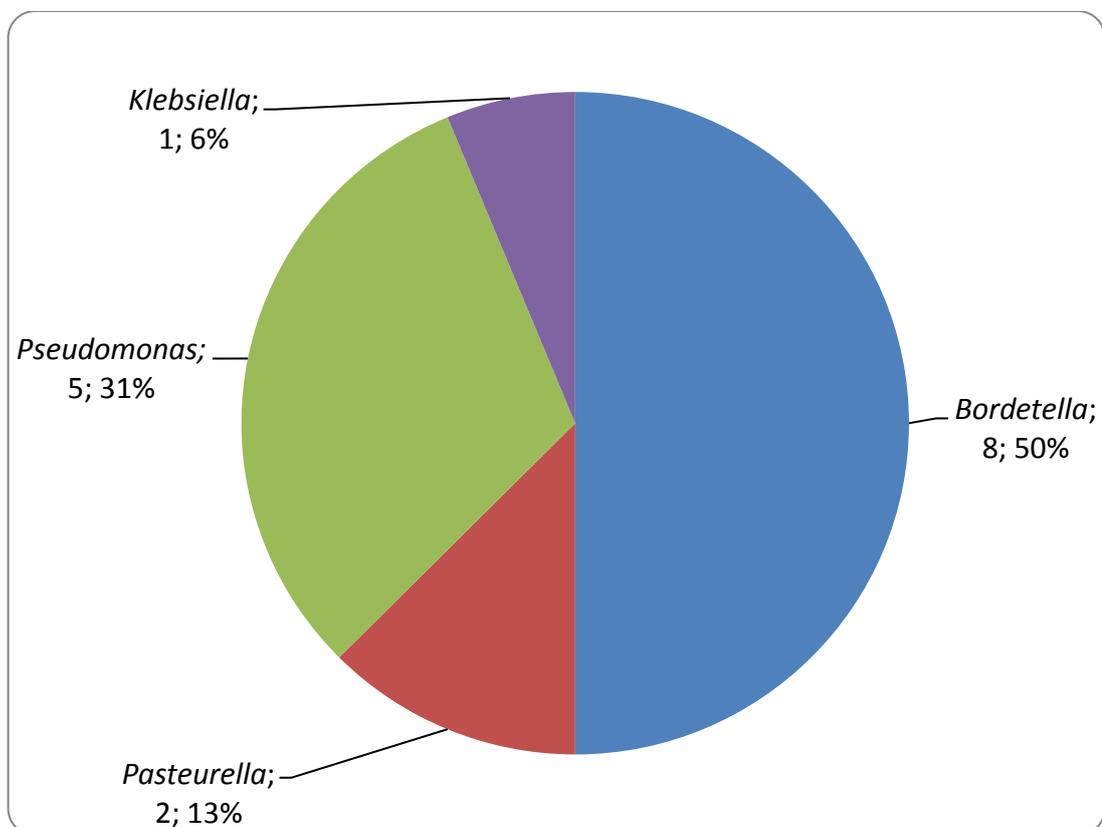


Grafico 2 Generi di batteri potenzialmente patogeni ritrovati nell'esame colturale.

Durante gli studi abbiamo avuto l'occasione di poter valutare termograficamente vari esemplari. Di sesso, età, peso, lunghezze, giorni intercorsi dall'ultimo pasto, fasi riproduttive e stati sanitari differenti.

Molto spesso, già direttamente visionando l'immagine elaborata dalla termocamera si poteva capire lo stato fisiologico dell'animale. Si sono trovati esemplari sani che presentavano un uniforme temperatura superficiale su tutto il corpo, tranne per delle aree caratteristiche quali quella del naso, in cui si nota una macchia scura per la significativa riduzione di temperatura dovuta dall'evaporazione causata dal passaggio dell'aria; e dei polmoni dove si nota un area più calda dovuta alla maggiore presenza di vasi in quel distretto (Figura 1).

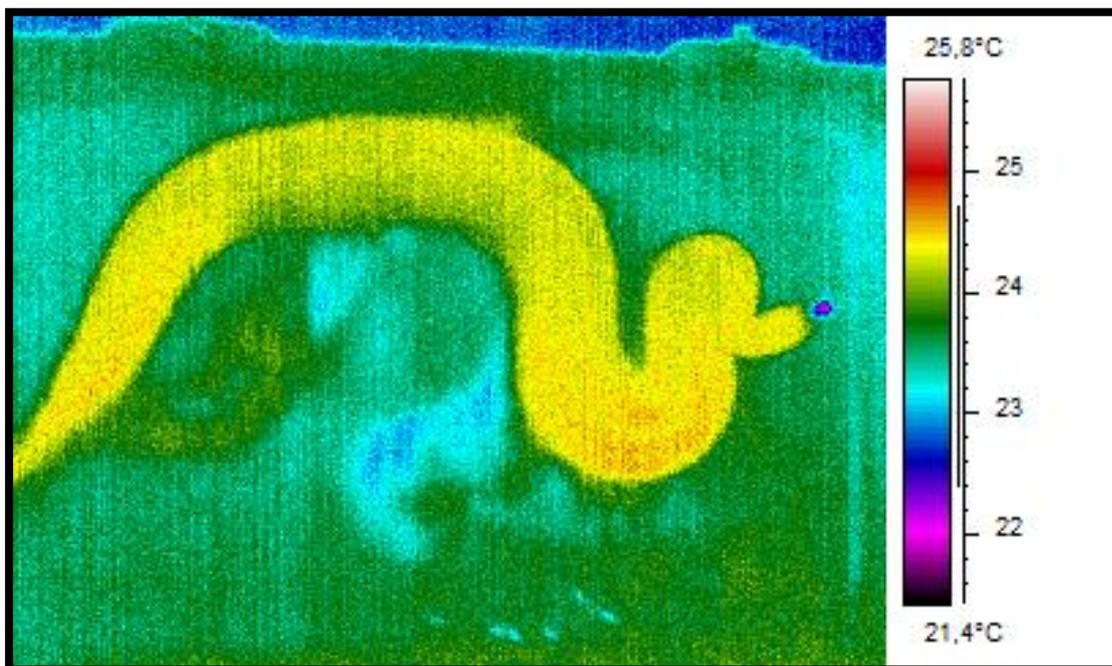


Figura 1 Immagine termografica di un esemplare maschio di *Python curtus* sano, non in periodo riproduttivo. Notare la macchia più scura in prossimità del naso dell'animale, dove l'evaporazione, data dalla respirazione, porta ad una significativa riduzione di temperatura di quell'area.

Si sono notati animali malati in fase acuta (Figura 2) e cronica (Figura 3), nella prima fase si nota la maggiore irrorazione nella regione polmonare, nella seconda invece si notano dei *cold spot* a livello dei polmoni, che denotano una riduzione della irrorazione sanguinea in quell'area.

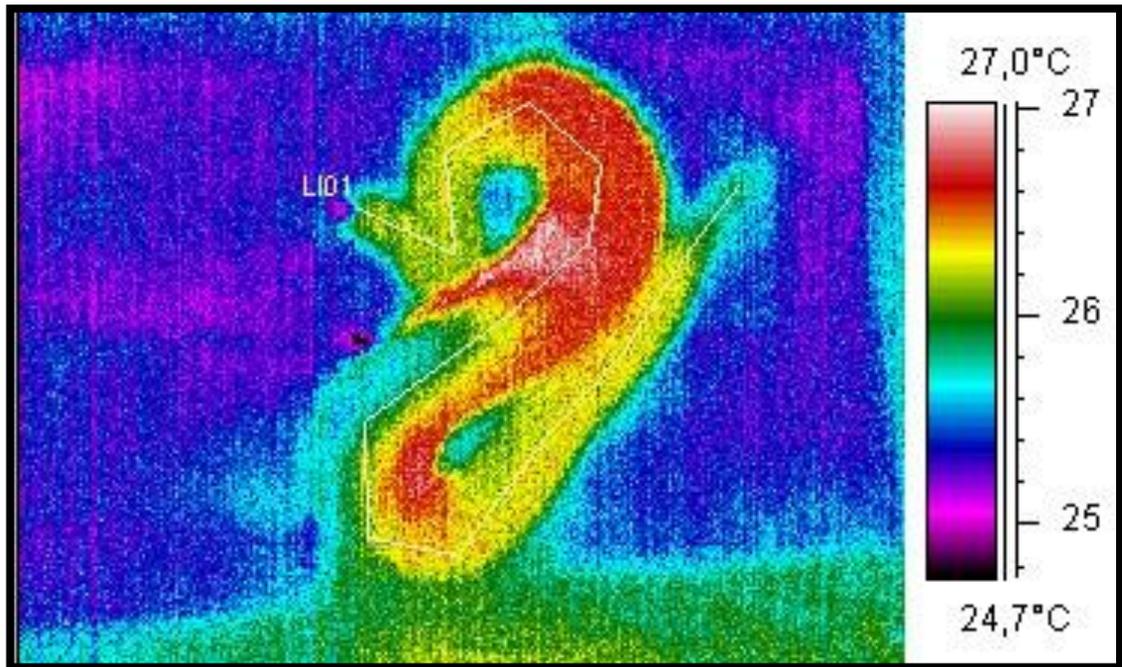


Figura 2 Immagine termografica di un esemplare maschio di *Python curtus* malato, in fase acuta, non in periodo riproduttivo. Notare la macchia più scura in prossimità del naso dell'animale e l'area a livello dei polmoni che risulta maggiormente irrorata dal circolo sanguineo.

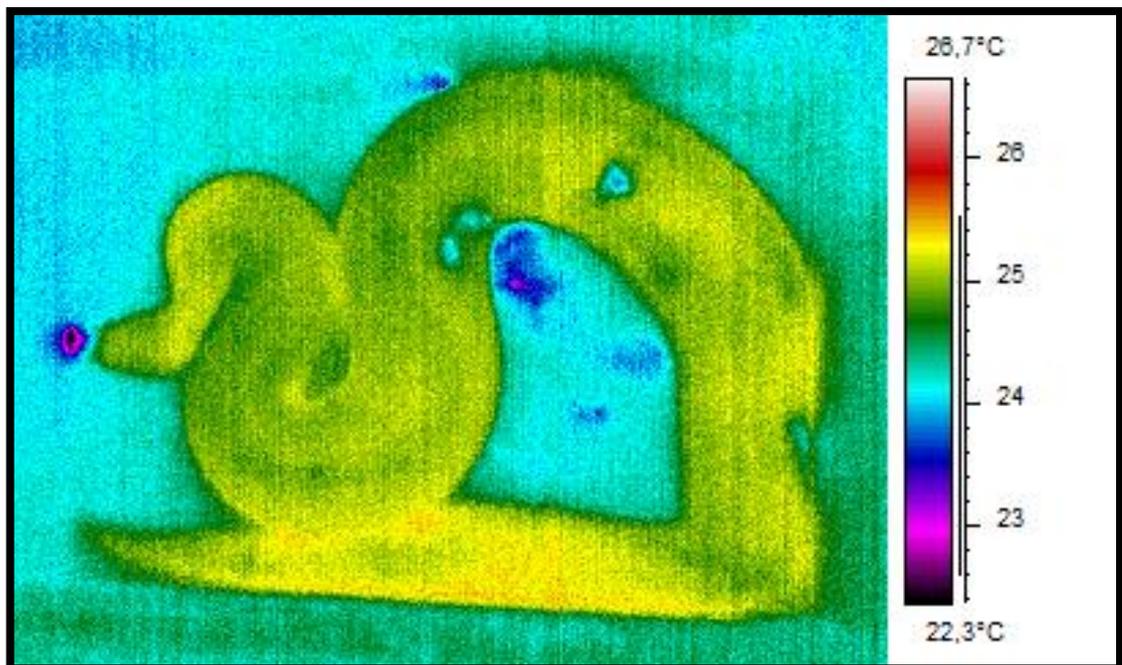


Figura 3 Immagine termografica di un esemplare femmina di *Python curtus* malato cronico, non in periodo riproduttivo. Notare la macchia più scura in prossimità del naso dell'animale; dei *cold spot* a livello dei polmoni, che denotano una riduzione della irrorazione sanguinea in quell'area.

Abbiamo notato, come un animale può sembrare malato, ma in realtà è sano, se non si presta attenzione al *range* di temperatura settato sul *software*.

Un *range* stretto (Figura 4), fa sembrare l'animale estremamente caldo, ma in realtà è solo frutto dell'errato settaggio (*range* 24.5-26.9°C), che falsa i colori dell'immagine; ciò si può ulteriormente notare visionando un'altra immagine (Figura 5) con un *range* più ampio (*range* 23-27.2°C).

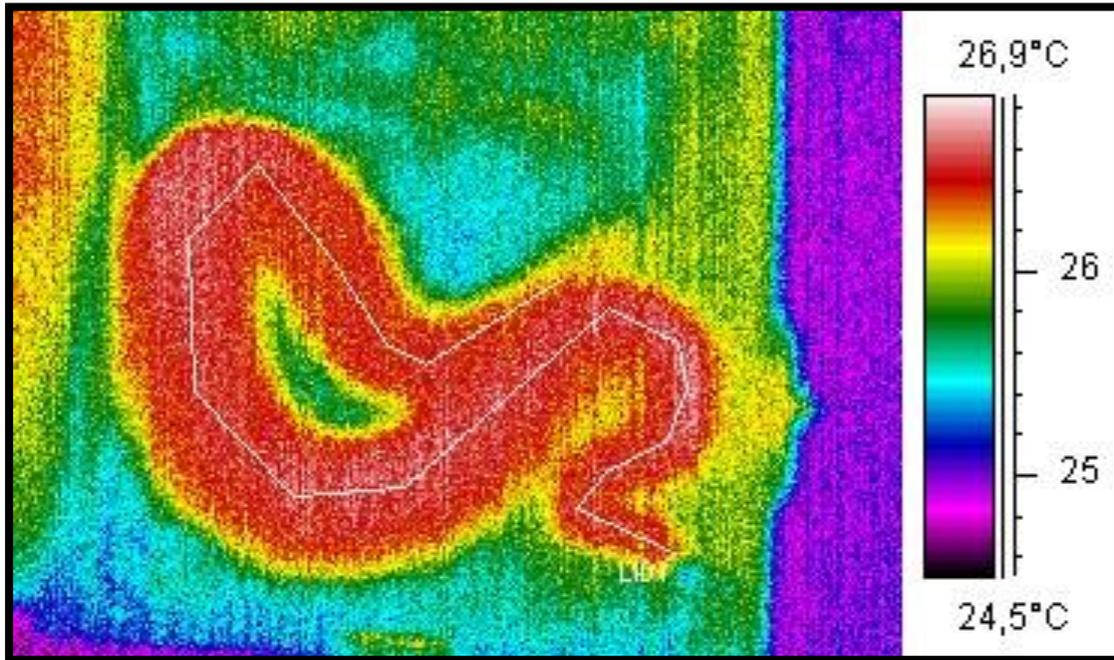


Figura 4 Immagine termografica di un esemplare maschio di *Python curtus* sano, in uno stretto *range* di temperatura (24.5-26.9°C).

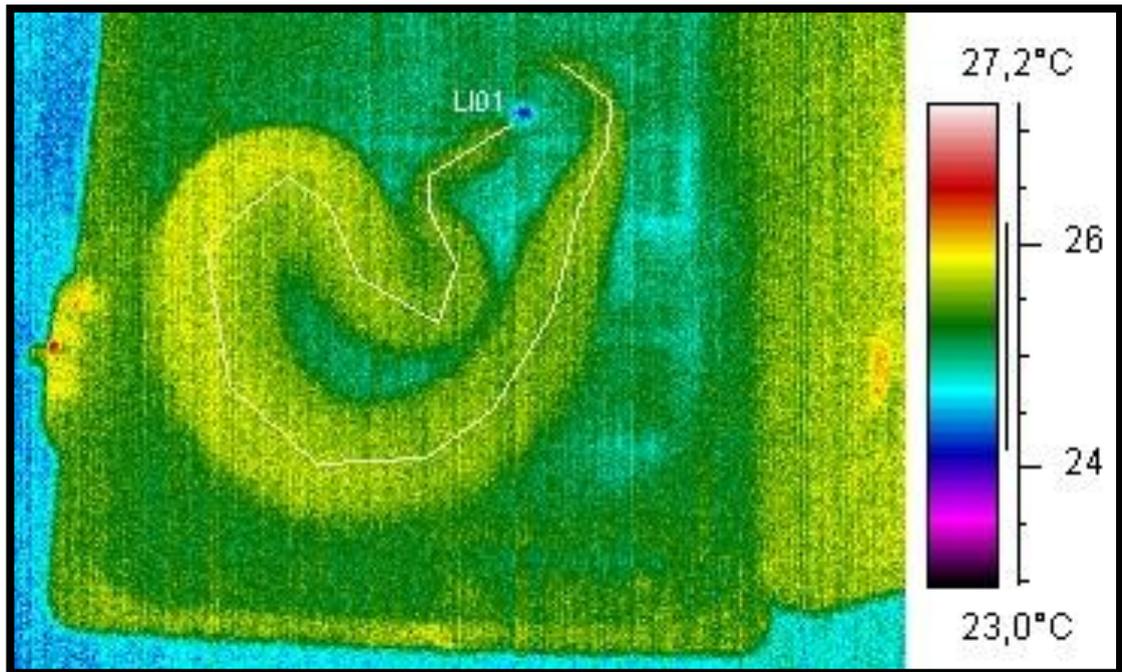


Figura 5 Immagine termografica di un esemplare maschio di *Python curtus* sano, in un più ampio range di temperatura (23-27.2°C).

Infine, due esemplari femmina in fase riproduttiva: una nella fase successiva all'ovulazione, che presentava a livello della regione ovarica una zona più calda rispetto al resto del corpo e dell'ambiente (Figura 6); l'altra nei giorni antecedenti la deposizione delle uova, che presentava tutta la porzione caudale molto più calda rispetto al resto del corpo e della temperatura ambientale (Figura 7).

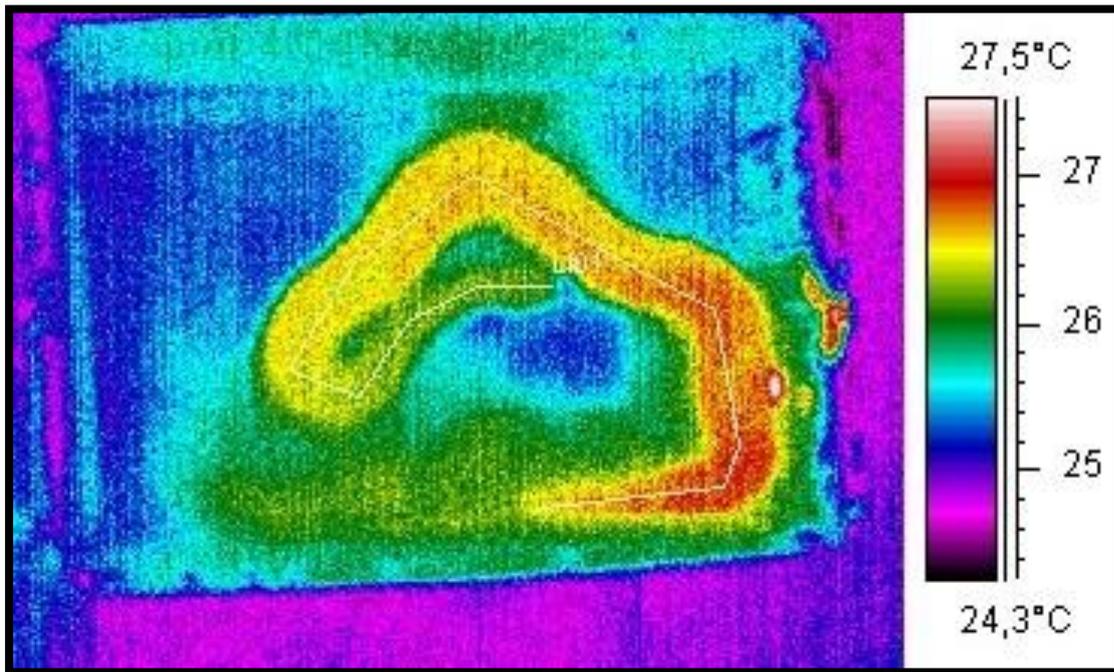


Figura 6 Immagine termografica di un esemplare femmina di *Python curtus* nella prima fase di gestazione.

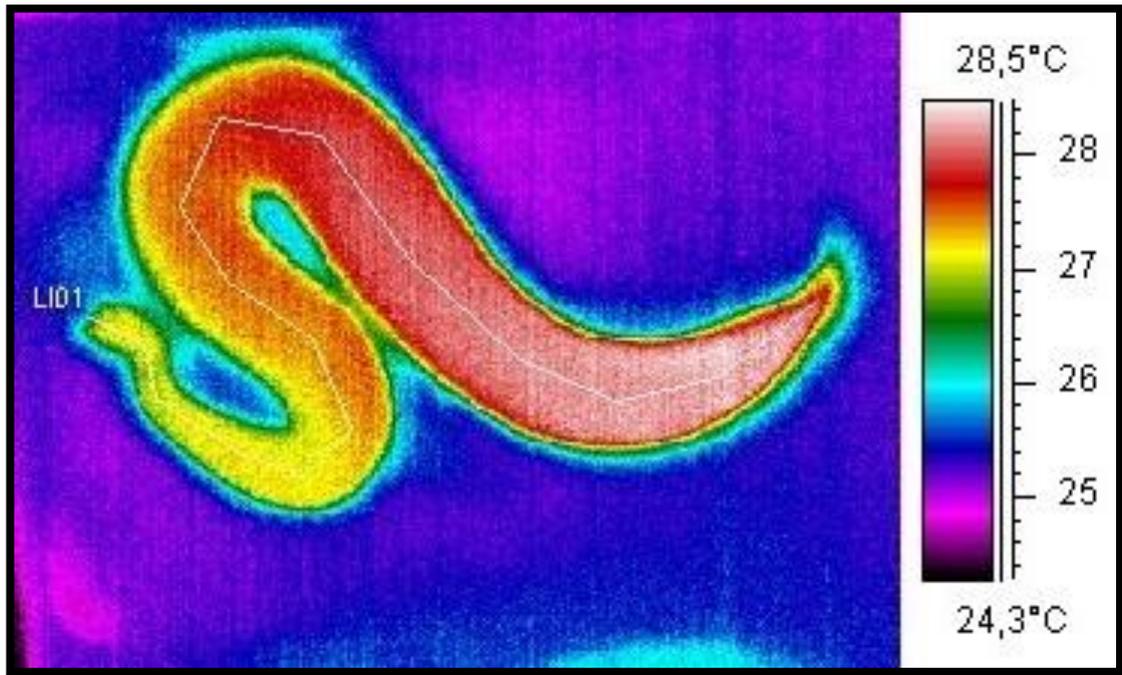


Figura 7 Immagine termografica di un esemplare femmina di *Python curtus* nella ultima fase di gestazione.

Un ulteriore risultato, può essere il confronto visivo tra i grafici elaborati dalla funzione “Grafico” del programma *ThermaCAM™ Researcher*, esso evidenzia la temperatura rilevata su ogni punto di una linea da noi tracciata sull’esemplare. Si può così notare, come il grafico del soggetto malato in fase acuta (Figura 8), presenta un picco a livello della regione polmonare; ciò non accade in un soggetto sano (Figura 9).

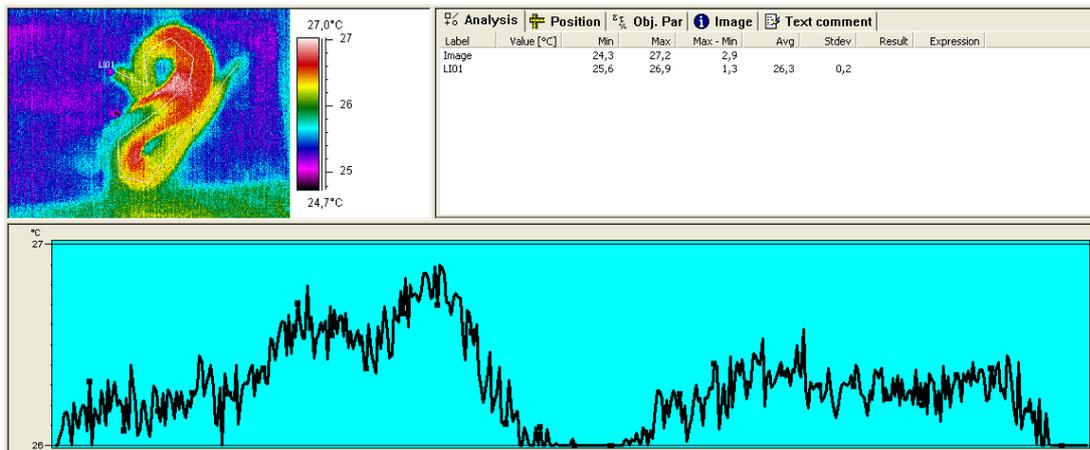


Figura 8 Schermata del programma *ThermaCAM™ Researcher*. in cui si evidenzia il grafico della termografia di un esemplare di *Python curtus* malato, in fase acuta. Notare come il grafico presenti un picco in prossimità delle regione polmonare.

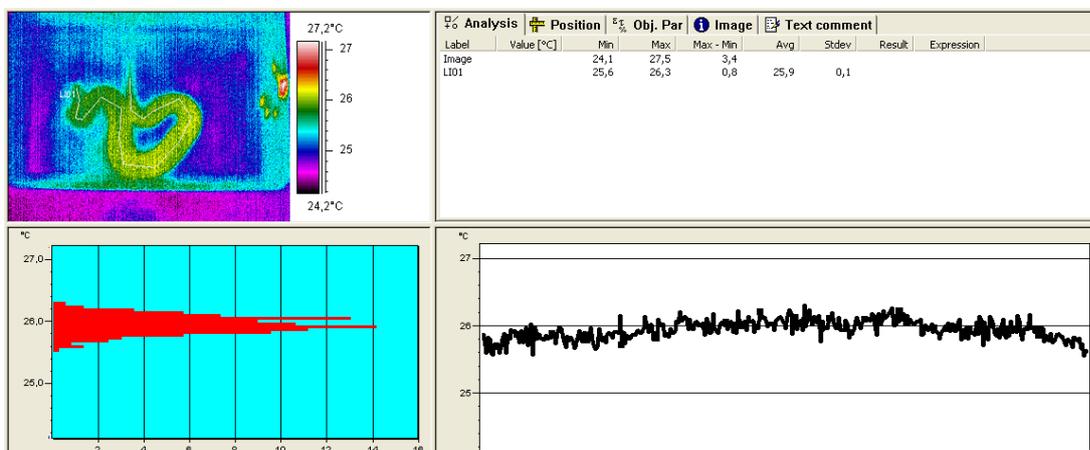


Figura 9 Schermata del programma *ThermaCAM™ Researcher*. in cui si evidenzia il grafico della termografia di un esemplare di *Python curtus* sano. Notare come il grafico si presenti come un linea spezzata che si mantiene su di un valore medio.

Con lo stesso strumento possiamo evidenziare l'aumento di temperatura nei soggetti gestanti, questo è caratterizzato da un aumento crescente dei valori via via che essi procedono verso la regione caudale del corpo; riuscendo così a differenziare soggetti nella prima fase da quelli a termine (Figura 10 e 11).

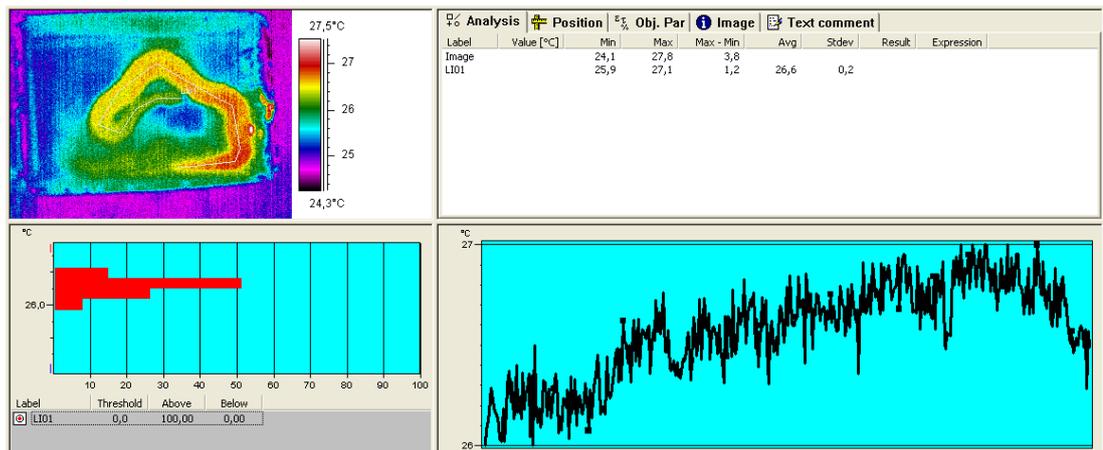


Figura 10 Schermata del programma *ThermaCAM™ Researcher*. in cui si evidenzia il grafico della termografia di un esemplare di *Python curtus* nella prima fase di gestazione. Notare come il grafico si presenti un picco di temperatura nella regione caudale del corpo.

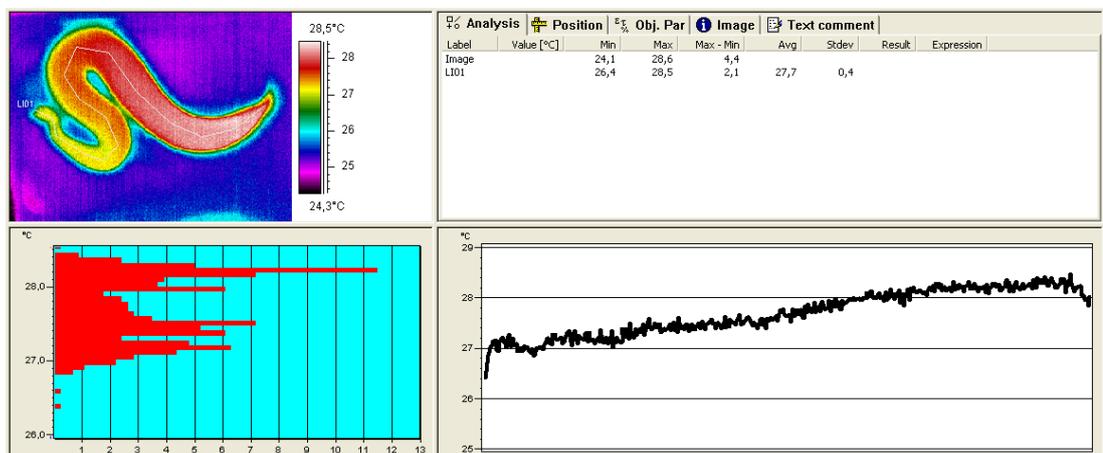


Figura 11 Schermata del programma *ThermaCAM™ Researcher*. in cui si evidenzia il grafico della termografia di un esemplare di *Python curtus* nella ultima fase di gestazione. Notare come il grafico si presenti come un linea spezzata che aumenta in maniera crescente i suoi valori via via che si procede verso la regione caudale del corpo.

Il calcolo del *coefficiente di correlazione di Pearson*, valuta il grado di correlazione tra le variabili (da 0 a 0.3, bassa; da 0.3 a 0.7, moderata e sopra i 0.7, elevata).

Nei risultati (Tabella 3) si notano dei valori correlati in modo statisticamente significativo ($P\text{-value} = <0,05$):

- ✓ L'età dei soggetti ha un'elevata correlazione con il peso ($r = 0,824$) e la lunghezza ($r = 0,7062$);
- ✓ Il peso ha una correlazione elevata con l'età ($r = 0,824$), moderata con la lunghezza dell'animale ($r = 0,6171$) e negativa con la temperatura dell'esperto (t_{esp}) ($r = -0,2557$);
- ✓ la lunghezza ha una correlazione con tutte le altre variabili, tranne il ΔT tra la temperatura media del corpo (t_{mc}) e temperatura della testa ($d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{ts}}}$) ($r = -0,0764$);
- ✓ la distanza dal pasto (t_{pasto}) ha una correlazione moderata con la lunghezza dell'animale ($r = 0,5182$), con la t_{esp} ($r = 0,5733$), con la temperatura della testa (t_{ts}) ($r = 0,5284$) e la temperatura media del corpo (t_{mc}) ($r = 0,4941$);
- ✓ la t_{esp} ha una correlazione negativa con il peso ($r = -0,2557$), con la lunghezza ($r = 0,3062$) e il ΔT tra la temperatura della testa e la temperatura dell'esperto ($d_{\text{t}_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$) è bassa ($r = 0,208$), con la t_{pasto} è moderata ($r = 0,5733$), invece con la t_{ts} ($r = 0,9484$) e alla t_{mc} è elevata ($r = 0,9211$);
- ✓ la t_{mc} ha una correlazione moderata con la lunghezza ($r = 0,3877$), la t_{pasto} ($r = 0,5284$), la $d_{\text{t}_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,9484$) e il ΔT tra la temperatura media del corpo e la temperatura dell'esperto ($d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$) ($r = 0,4099$), elevata con la t_{esp} ($r = 0,9484$) e la t_{mc} ($r = 0,9809$);
- ✓ la t_{ts} ha una correlazione bassa con il *range* di temperatura media del corpo (range_{mc}) ($r = 0,2352$), moderata con la lunghezza ($r = 0,4076$), la t_{pasto} ($r = 0,4941$), il $d_{\text{t}_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,522$) e il $d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,5226$), elevata con la t_{esp} ($r = 0,9211$) e la t_{ts} ($r = 0,9809$);
- ✓ il range_{mc} è risultato avere una correlazione bassa con la lunghezza ($r = 0,2118$), la t_{mc} ($r = 0,2352$), il $d_{\text{t}_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,2636$) e il $d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{ts}}}$ ($r = 0,2962$);
- ✓ il $d_{\text{t}_{\text{ts}}_{\text{esp}}}$ ha una correlazione bassa con t_{esp} ($r = 0,208$), moderata con la lunghezza ($r = 0,3723$), la t_{ts} ($r = 0,5073$), la t_{mc} ($r = 0,522$) ed elevata con il $d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,8705$);
- ✓ il $d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{ts}}}$ ha una correlazione bassa con il range_{mc} ($r = 0,2636$) e moderata con il $d_{\text{t}_{\text{mc}}_{\text{esp}}}$ ($r = 0,5972$);

- ✓ il d_t_mc_esp ha una correlazione bassa con la lunghezza ($r = 0,2704$) e il range_mc ($r = 0,2962$), moderata con la t_ts ($r = 0,4099$), la t_mc ($r = 0,5226$) e il d_t_mc_ts ($r = 0,5972$), elevata per il d_t_ts_esp ($r = 0,8705$).

	Età	Peso	Lun- ghezza	t_pasto	t_esp	t_ts	t_mc	range_ mc	d_t_ts_ esp	d_t_mc_ ts	d_t_ mc_esp
Età	1	0,8240	0,7062	0,1191	-0,1242	-0,0423	-0,0224	0,0816	0,2048	-0,0309	0,1530
Liv. signif.		<0,0001	<0,0001	0,269	0,2604	0,7021	0,836	0,4497	0,0632	0,7804	0,1648
N° osserv.	88	88	88	88	84	84	88	88	83	84	84
Peso	0,8240	1	0,6171	-0,0989	-0,2557	-0,1639	-0,1460	0,1740	0,1990	-0,0124	0,1480
Liv. signif.	<0,0001		<0,0001	0,3328	0,0129	0,1144	0,1513	0,0867	0,0558	0,9056	0,1545
N° osserv.	88	98	98	98	94	94	98	98	93	94	94
Lunghezz	0,7062	0,6171	1	0,5182	0,3062	0,3877	0,4076	0,2118	0,3723	-0,0764	0,2704
Liv. signif.	<0,0001	<0,0001		<0,0001	0,0027	0,0001	<,0001	0,0363	0,0002	0,4643	0,0084
N° osserv.	88	98	98	98	94	94	98	98	93	94	94
t_pasto	0,1191	-0,0989	0,5182	1	0,5733	0,5284	0,4941	-0,1259	0,0823	-0,1885	-0,0219
Liv. signif.	0,269	0,3328	<0,0001		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,2169	0,4327	0,0689	0,8343
N° osserv.	88	98	98	98	94	94	98	98	93	94	94
t_esp	-0,1242	-0,2557	0,3062	0,5733	1	0,9484	0,9211	0,1138	0,2080	-0,0465	0,1495
Liv. signif.	0,2604	0,0129	0,0027	<,0001		<0,0001	<0,0001	0,2746	0,0455	0,6581	0,1504
N° osserv.	84	94	94	94	94	93	94	94	93	93	94
t_mc	-0,0423	-0,1639	0,3877	0,5284	0,9484	1	0,9809	0,1968	0,5073	-0,0251	0,4099
Liv. signif.	0,7021	0,1144	0,0001	<0,0001	<0,0001		<0,0001	0,0573	<0,0001	0,8099	<0,0001
N° osserv.	84	94	94	94	93	94	94	94	93	94	93
t_ts	-0,0224	-0,1460	0,4076	0,4941	0,9211	0,9809	1	0,2352	0,5220	0,1698	0,5226
Liv. signif.	0,836	0,1513	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001		0,0197	<0,0001	0,1018	<0,0001
N° osserv.	88	98	98	98	94	94	98	98	93	94	94
range_mc	0,0816	0,1740	0,2118	-0,1259	0,1138	0,1968	0,2352	1	0,2000	0,2636	0,2962
Liv. signif.	0,4497	0,0867	0,0363	0,2169	0,2746	0,0573	0,0197		0,0546	0,0102	0,0037
N° osserv.	88	98	98	98	94	94	98	98	93	94	94
d_t_ts_es	0,2048	0,1990	0,3723	0,0823	0,2080	0,5073	0,5220	0,2000	1	0,1250	0,8705
Liv. signif.	0,0632	0,0558	0,0002	0,4327	0,0455	<,0001	<0,0001	0,0546		0,2324	<0,0001
N° osserv.	83	93	93	93	93	93	93	93	93	93	93
d_t_mc_t	-0,0309	-0,0124	-0,0764	-0,1885	-0,0465	-0,0251	0,1698	0,2636	0,1250	1	0,5972
Liv. signif.	0,7804	0,9056	0,4643	0,0689	0,6581	0,8099	0,1018	0,0102	0,2324		<0,0001
N° osserv.	84	94	94	94	93	94	94	94	93	94	93
d_t_mc_e	0,1530	0,1480	0,2704	-0,0219	0,1495	0,4099	0,5226	0,2962	0,8705	0,5972	1
Liv. signif.	0,1648	0,1545	0,0084	0,8343	0,1504	<0,0001	<0,0001	0,0037	<0,0001	<0,0001	
N° osserv.	84	94	94	94	94	93	94	94	93	93	94

Tabella 3 Analisi della correlazione tra le variabili indipendenti tramite *coefficiente di correlazione di Pearson*, Prob > |r| con H0: Rho=0.

Con la procedura *GLM* (comunemente detta “*metodo dei minimi quadrati*”) si sono correlati i valori raccolti nei vari gruppi (NN, NP, PN, PP), il sesso (M e F) e le variabili: *t_esp*; *t_ts*; *t_mc*; *range_mc*; *d_t_ts_esp*; *d_t_mc_ts*; *d_t_mc_esp*. I risultati, riassunti in Tabella 4, evidenziano che quasi tutti i valori non hanno un livello di significatività statisticamente significativo. L’unico valore che si evidenzia come significativo (*P-value* = <0,05) è la temperatura media del corpo (*t_mc*) rapportata con il sesso dei soggetti (*P* = 0,0334).

	N° osservazioni	Livello di significatività	R-quadro
t_esp	76/98		0,088175
Modello		0,1559	
Gruppi		0,2476	
Sesso		0,1085	
t_mc	80/98		0,095334
Modello		0,1068	
Gruppi		0,3676	
Sesso		0,0334	
t_ts	76/98		0,80054
Modello		0,1987	
Gruppi		0,3349	
Sesso		0,1031	
range_mc	80/98		0,088683
Modello		0,1329	
Gruppi		0,0829	
Sesso		0,4546	
d_t_ts_esp	75/98		0,085635
Modello		0,1742	
Gruppi		0,1927	
Sesso		0,1968	
d_t_mc_ts	76/98		0,082215
Modello		0,1864	
Gruppi		0,1098	
Sesso		0,7469	
d_t_mc_esp	76/98		0,093251
Modello		0,1334	
Gruppi		0,1180	
Sesso		0,2724	

Tabella 4 Procedura *GLM*, rapporto tra il Modello, i Gruppi (NN; NP; PN; PP) ed il Sesso.

Con la stessa procedura, si è proceduto a testare la correlazione tra i valori raccolti nei gruppi (NN e PP), il sesso (M e F) e le variabili: *t_esp*; *t_ts*; *t_mc*; *range_mc*; *d_t_ts_esp*; *d_t_mc_ts*; *d_t_mc_esp*. I risultati, riassunti in Tabella 5, evidenziano che quasi tutti i valori non hanno un livello di significatività statisticamente significativo. Gli unici valori che si evidenziano come significativi (*P-value* = <0,05) sono la temperatura media del corpo (*t_mc*) rapportata con il modello di tesi (*P* = 0,0499) ed il sesso dei soggetti (*P* = 0,0469).

	N° osservazioni	Livello di significatività	R-quadro
t_esp	72/94		0,067606
Modello		0,0894	
Gruppi		0,1001	
Sesso		0,1403	
t_mc	76/94		0,07884
Modello		0,0499	
Gruppi		0,1459	
Sesso		0,0469	
t_ts	73/94		0,070483
Modello		0,0774	
Gruppi		0,0902	
Sesso		0,1292	
range_mc	76/94		0,030774
Modello		0,3195	
Gruppi		0,1512	
Sesso		0,6452	
d_t_ts_esp	72/94		0,030296
Modello		0,3460	
Gruppi		0,6209	
Sesso		0,1562	
d_t_mc_ts	73/94		0,016275
Modello		0,5631	
Gruppi		0,2968	
Sesso		0,7511	
d_t_mc_esp	72/94		0,027325
Modello		0,3845	
Gruppi		0,4125	
Sesso		0,2275	

Tabella 5 Procedura *GLM*, rapporto tra il Modello, i Gruppi (NN; PP) ed il Sesso.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Lo studio vero e proprio è stato preceduto da uno studio preliminare per valutare se la termografia fosse uno strumento di interesse anche per i rettili come lo è stato in questi ultimi anni per la medicina umana e veterinaria. I risultati iniziali erano incoraggianti. Si è quindi organizzato lo studio vero e proprio. Visto il numero e la varietà degli esami effettuati, tutto ciò ha richiesto un'importante organizzazione di tempi, luoghi e persone, affinché questo lavoro potesse dare dei risultati. Hanno collaborato diversi docenti e tecnici facenti parte del Dipartimento Medicina Animale, Produzioni e Salute dell'Università degli Studi di Padova (MAPS) e privati che hanno messo a disposizione le proprie collezioni per effettuare i dovuti accertamenti. Durante questa fase, si è provveduto a raccogliere tutte le informazioni necessarie per poter svolgere nel migliore dei modi gli accertamenti diagnostici che si sarebbero andati ad eseguire.

Alcuni autori (Hernandez-Divers, 2005; Judah e Nuttall, 2008) consigliavano l'uso di una spatola di legno sterile, ad esempio quella usata come abbassa lingua in medicina umana, per mantenere aperta la bocca dei serpenti mentre si effettua il lavaggio broncoalveolare; nella nostra esperienza abbiamo però preferito utilizzare delle garze sterili, di più facile impiego e a nostro avviso meno traumatiche per la mucosa orale e la dentatura dei soggetti.

Va ricordato, che queste manualità necessitano di una tecnica più possibile asettica, per non rischiare eventuali contaminazioni con la flora microbica del cavo orale, vista la contiguità della glottide con la parte ventrale della bocca.

Si è scelto l'abbinamento del lavaggio broncoalveolare con l'esame colturale perché questa procedura era già stata consigliata da vari autori come metodo di elezione per la diagnostica di patologie respiratorie dei serpenti (Pees *et al.*, 2007), ulteriormente confermata da Schmidt *et al.*, quest'anno (2013).

Si è utilizzato il *Columbia Agar* con sangue di montone per effettuare gli esami colturali, esso era consigliato da Pees *et al.* (2007) come il migliore terreno di coltura per la diagnosi di patologie respiratorie su base batterica negli ofidi.

Per lo svolgimento degli esami parassitologici ci si è affidati alla consultazione di vari libri (Greiner e Mader, 2005; Urquhart *et al.*, 2006; Jacobson, 2007), tutti consigliavano i medesimi accertamenti per la ricerca di eventuali parassiti. Si è prestata particolare attenzione a valutare la presenza di ectoparassiti, questi potrebbero con la loro azione irritativa sulla cute, dare una reazione infiammatoria locale, alterando così gli esiti delle indagini termografiche. La stessa attenzione è ricaduta nella ricerca di endoparassiti, i quali potrebbero essere un ulteriore fonte di stress per l'animale, provocando la comparsa di patologie o aggravando già uno stato sanitario non ottimale (Greiner e Mader, 2005).

Lo studio ha presentato delle sostanziali difficoltà, visto che, al momento attuale, non vi sono ancora pubblicazioni che attestino il possibile utilizzo della termografia a fini diagnostici sui rettili ed in particolare per le patologie respiratorie negli ofidi.

In precedenza, altri studi hanno già utilizzato la termografia come mezzo per valutare la temperatura superficiale della cute nei rettili, ma mai con fini di diagnosi di patologie respiratorie:

- Blumberg *et al.* (2002) con un gruppo di giovani *Paroedura pictus*, per valutarne la loro termoregolazione dei giorni successivi alla nascita da uova incubate a temperature differenti; gli stessi autori utilizzarono per la prima volta il valore di emissività della cute umana anche sui rettili;
- Tattersall *et al.* (2004) con un gruppo di *Crotalus durissus*, per valutarne la termogenesi postprandiale in seguito a piccoli e grandi pasti;
- Borrell *et al.* (2005) con un gruppo di *Crotalus atrox*, per valutare la loro termoregolazione a temperature crescenti;
- Di Girolamo e Selleri (2013) prendono in considerazione le tartarughe mediterranee (*Testudo sp.*), per valutarne l'ambiente in cui vivono, il fenomeno del crogiolarsi, la loro termoregolazione e il conseguente benessere.

Altre pubblicazioni in altre specie hanno già dato esito positivo all'utilizzo della termografia a fini diagnostici:

- ✓ Loughmiller *et al.* (2001), post inoculazione sperimentale di *Actinobacillus pleuropneumoniae*, coccobacillo G-, responsabile di polmoniti nei suini; riuscirono a correlare positivamente le immagini termografiche ad una reazione acuta febbrile;
- ✓ Schaefer *et al.* (2004), post inoculazione sperimentale della malattia respiratoria bovina (BRD), individuarono con la termocamera alterazioni importanti di temperatura nella regione oculare da alcuni giorni fino ad una settimana prima della manifestazione di altri segni dell'infezione: clinici o sierici.

Nel nostro caso, gli esemplari esaminati erano in stadi patologici differenti (fase d'incubazione, acuta, cronica e in risoluzione), con temperature superficiali rilevate differenti, non sempre facilmente correlabili con lo stato fisio-patologico in atto.

Questo ci fa ben sperare, che uno studio condotto su un *pool* di soggetti più standardizzato (un'unica specie) e infettati da un patogeno noto, possa dare maggiori e più standardizzati risultati. Uno spunto potrebbe essere lo studio condotto Kanoe *et al.* (1995), che testarono la reazione infiammatoria locale tramite un'unica iniezione intradermica di *Fusobacterium necrophorum* ceppo lipopolisaccaride (LPS) su topi e porcellini d'India. Un test simile, abbinato all'utilizzo della termocamera, potrebbe darci sui serpenti maggiori informazioni su come questi rispondono all'infiammazione data dalla risposta immunitaria ad un patogeno noto.

Per quanto riguarda le patologie respiratorie negli ofidi, Schmidt *et al.* (2013), hanno effettuato un interessante studio in cui valutano la prevalenza di patogeni in boa e pitoni con e senza sintomatologia respiratoria. Nello studio hanno preso in considerazione la presenza di sintomatologia respiratoria e l'effettiva natura del patogeno coinvolto, grazie all'approfondimento diagnostico dato dal lavaggio broncoalveolare abbinato ad un esame colturale completo per batteri, virus, micoplasmi e funghi; ulteriormente supportato dall'esame anatomo-patologico successivo all'eutanasia alla quale sono stati sottoposti tutti i soggetti.

Nella nostra esperienza, non abbiamo potuto approfondire tutti questi accertamenti diagnostici, siano essi dati dall'esame anatomo-patologico, perché gli animali esaminati non potevano essere sottoposti ad eutanasia, o dalla ricerca tramite esame colturale, perché di quest'ultimo si è valuta la sola presenza di batteri potenzialmente patogeni e non altri patogeni quali: virus, funghi e micoplasmi.

Nello stesso studio (Schmidt *et al.*,2013) si è visto che non tutti gli animali positivi alla sintomatologia davano poi un riscontro all'esame colturale (PN). Ciò è legato al fatto che molti patogeni si presentano come forme granulomatose a livello di trachea e polmoni, che non vengono campionate dal lavaggio broncoalveolare; che verrebbero scoperte solo con ulteriori accertamenti diagnostici, quali l'endoscopia e/o l'esame autoptico.

In altri studi, Pees *et al.* in Germania, valutarono la prevalenza dei patogeni sul proprio territorio, avendo degli interessanti riscontri:

- nel 2007: il 24,3% dei serpenti visitati presso l'Università di Lipsia, avevano sintomatologia respiratoria, 52% dei quali è risultato positivo all'esame colturale ed il 31% a quello micologico. I patogeni principalmente ritrovati sono stati:
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Stenotrophomonas maltophilia*, per i batteri;
 - ✓ *Aspergillus* sp., come fungo.

Non hanno però escluso la presenza di virus o micoplasmi tra i soggetti esaminati.

- nel 2010: su 100 boidi apparentemente sani si è ricercata la presenza di *Paramyxovirus* tramite RT-PCR, il risultato sono stati 9 animali positivi ed inoltre altri 3 presentavano anticorpi contro quest'ultimo.

Per queste ragioni, molto probabilmente, le positività nel nostro studio ai patogeni sono state solo 13 su 19 soggetti che presentavano evidenti sintomi respiratori e su di un totale di 98 animali esaminati.

L'analisi statistica ha dato dei riscontri, seppur minimi alla nostra tesi.

Nella procedura *GLM* su tutti i gruppi solo un valore, la temperatura media del corpo (t_{mc}) rapportata con il sesso, è stato statisticamente significativo ($P\text{-value} < 0.05$). Però si è dimostrato avere il valore di R-quadro basso, indicativo del fatto che solo il 10% circa delle variabili è spiegato dal nostro modello, l'altro 90% è frutto di variabili, che non possono essere spiegate da quest'ultimo. Con la stessa procedura, ma tra i soli gruppi NN e PP, i valori statisticamente significativi sono stati quelli relativi alla temperatura media del corpo (t_{mc}) rapportata con il modello ed il sesso, ma anch'essi hanno un valore di R-quadro basso, che non permette un'adeguata determinazione.

Altri valori elaborati con la precedente procedura *GLM*, pur non risultando statisticamente significativi ($P\text{-value} > 0.05$), avevano una buona correlazione con la nostra tesi:

- su tutti i gruppi, il valore $range_{mc}$ rapportato con i gruppi ($P = 0,0829$);
- nei soli gruppi NN e PP, i valori di t_{esp} in rapporto con il modello ($P = 0,0894$) e t_{ts} in rapporto con i gruppi ($P = 0,0774$) ed il modello ($P = 0,0902$).

È opinione degli autori, che pur avendo analizzato un congruo numero di soggetti (98), i nostri risultati sono stati inferiori alle aspettative a causa di diversi fattori:

- ✓ la raccolta dati è avvenuta “in campo”, cioè presso due differenti allevamenti, che pur avendo condizioni di allevamento simili: strutture, temperatura e umidità; erano essi ubicati in realtà geografiche e di gestione differenti;
- ✓ non vi era una conoscenza a priori dello stato sanitario dei soggetti, né dei patogeni coinvolti nelle patologie respiratorie osservate, né da quanto tempo questi fossero affetti;
- ✓ il numero dei soggetti negativi all’esame colturale (NN e PN) ($76,53\% + 10,20\% = 86,73\%$) è stato proporzionalmente superiore a quello dei soggetti positivi a quest’ultimo (NP e PP) ($4,08\% + 9,18\% = 13,26\%$), ciò può aver falsato i risultati dell’analisi statistica, riducendo il valore di significatività delle misurazioni raccolte;
- ✓ non si sono potuti effettuare ulteriori accertamenti diagnostici, quali:
 - un esame colturale, che ricercasse ulteriori patogeni quali: virus, funghi e micoplasmi;
 - un esame anatomo-patologico completo, successivo all’eutanasia dei soggetti sintomatologici;

che avrebbero potuto rilevare la vera natura dei patogeni coinvolti.

L'analisi ci indica, che se volessimo migliorare i risultati, rendendo questo studio significativo, bisognerà in futuro avere un maggiore controllo del nostro campione sperimentale. Per effettuare tutto ciò, bisognerà ridurre le possibili variabili, attraverso:

- l'utilizzo di un'unica specie;
- la stabulazione di tutti soggetti in un unico luogo per un periodo relativamente lungo (almeno 6 mesi), in condizioni di temperatura e umidità standardizzate, come è stato fatto da Tattersall *et al.* (2004);
- il completo controllo dello stato sanitario dei soggetti;
- l'infezione sperimentale di un patogeno noto ed il controllo dei tempi d'infezione;
- l'effettuazione dei necessari accertamenti diagnostici (esami anatomico-patologici ed esami colturali completi).

Probabilmente uno studio così concepito, ci darebbe un quadro completo della risposta termica dell'infiammazione negli ofidi; permettendoci così, di porre le basi per una più completa conoscenza dell'utilizzo della termografia a fini diagnostici in questi animali.

BIBLIOGRAFIA

Adachi H, Becker LC, Ambrosio G, et al. Assessment of myocardial blood flow by real-time infrared imaging. *Journal of Surgical Research*. 1987 Jul;43(1):94-102.

Akerman S, Koop S. Intra-articular and skin surface temperature of the temporomandibular joint in patients with rheumatoid arthritis. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1988 Feb;46(1):41-8.

Amiel JP, Vignalou L, Tricoire J, et al. Thermography of the testicle. Preliminary study. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction (Paris)*. 1976;5(7):917-23.

Barducci I. *Trasmissione del calore*. Masson Milano, 1999;21-39.

Bartholomew GA. Physiological Control of Body Temperature. In: Gans C, Pough FH, eds. *Biology of the Reptilia*, Volume 12, Academic Press, 1982;197-202.

Beinder E, Huch A, Huch RJ. Peripheral skin temperature and microcirculatory reactivity during pregnancy. A study with thermography. *Journal of Perinatal Medicine*. 1990;18(5):383-90.

Bergqvist D, Efsing HO, Hallböök T. Thermography. A noninvasive method for diagnosis of deep venous thrombosis. *Archives of Surgery*. 1977 May;112(5):600-4.

Berry RJ, Kennedy AD, Scott SL, et al. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for mastitis detection. *Canadian Journal of Animal Science*, 2003, 83(4): 687-693.

Borrell BJ, Laduc TJ, Dudley R. Respiratory cooling in rattlesnakes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2005 Apr;140(4):471-6.

Bowers S, Gandy S, Anderson B, et al. Assessment of pregnancy in the late-gestation mare using digital infrared thermography. *Theriogenology*. 2009 Aug;72(3):372-7.

Blumberg MS, Lewis SJ, Sokoloff G. Incubation temperature modulates post-hatching thermoregulatory behavior in the Madagascar ground gecko, *Paroedura pictus*. *Journal of Experimental Biology*. 2002 Sep;205(Pt 18):2777-84.

Çengel YA. La trasmissione di calore per irraggiamento. In: Çengel YA. *Termodinamica e trasmissione del calore*. 3a ed. McGraw-Hill Companies, 2009;473-491.

Chiu WT, Lin PW, Chiou HY, Lee WS, et al. Infrared thermography to mass-screen suspected SARS patients with fever. *Asia-Pacific Journal of Public Health*. 2005;17(1):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.

Colak A, Polat B, Okumus Z, et al. Short communication: early detection of mastitis using infrared thermography in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2008 Nov;91(11):4244-8.

Coppola V, Verrengia D, Rossi R, et al. Telethermographic patterns in scrotal diseases. Analysis of the causes of hypothermia. *Radiologia Medica*. 1984 Nov;70(11):857-61.

Coulter GH, Senger PL, Bailey DR. Relationship of scrotal surface temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular temperature in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1988 Nov;84(2):417-23.

Di Girolamo N, Selleri P. Applications of thermography in reptile biology and medicine: Understanding thermoregulatory status and requirements using the model of Mediterranean tortoises (*Testudo* sp.). In: Luzi F, Malcolm M, Costa LN, Redaelli V, eds. Thermography: current status and advances in livestock animals and in veterinary medicine. Brescia: Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, 2013;191-202.

Driggers T. Respiratory diseases, diagnostics, and therapy in snakes. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 2000 May;3(2):519-30.

Eddie YK Ng, Sudharsan NM. Computer simulation in conjunction with medical thermography as an adjunct tool for early detection of breast cancer. *BMC Cancer*. 2004 Apr 28;4:17.

Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR. Review: The role of thermography in the management of equine lameness. *Veterinary Journal*. 2001 Nov;162(3):172-81.

FLIR Systems. Thermographic measurement techniques. In: *ThermaCAM™ Researcher Professional User's manual*. FLIR Systems, 28 Agosto 2009:105-109.

FLIR Systems. History of infrared technology. In: *ThermaCAM™ Researcher Professional User's manual*. FLIR Systems, 28 Agosto 2009:117-120.

FLIR Systems. Theory of thermography. In: *ThermaCAM™ Researcher Professional User's manual*. FLIR Systems, 28 Agosto 2009:121-127.

Funk RS. Snakes. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;48.

Gans C, Dawson WR. Reptilian Physiology: An Overview. In: Gans C, Dawson WR, eds. *Biology of reptilian*. Volume 5, Academic Press, 1976;1-13.

Gardani G, Bergonzi S, Viganotti G, et al. Role of telethermography in the diagnosis of primary tumours of soft tissues and bones. *Radiologia Medica*. 1983 Jun;69(6):433-8.

Gatto M, Giancesella M, Morgante M. Applicazione della termografia nella diagnosi di acidosi ruminale subacuta della vacca da latte. In: *Large Animal Review* Abbiategrosso (MI): Press Point srl,2010;16:7-12.

Gautherie M. Thermobiological assessment of benign and malignant breast diseases. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 1983 Dec 15;147(8):861-9.

Gillespie DS. Large collections: special considerations. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;1014-1015.

Gottlob R, Tielsch W, Czembirek H, et al. The basis of tumor verification using thermography. *Zeitschrift für experimentelle Chirurgie*. 1975;8(5):299-308.

Greiner EC, Mader DR. Parasitology. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;343-364.

Hernandez-Divers SJ. Diagnostic Techniques. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;518-520.

Hildebrand M, Goslow GE, Hildebrand V. *Analysis of vertebrate structure*. New York: Wiley, 2001;429.

Hurnik JF, Webster AB, 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*. 1985 Nov;61(5):1095-102.

Jacobson ER. Parasites and Parasitic Diseases of Reptiles. In: Jacobson ER. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text. 1 ed. CRC Press I Llc, 2007;592-597.

Judah V, Nuttall K. Reptiles. In: Judah V, Nuttall K. Exotic Animal Care & Management. 1 ed. Delmar Thomson Learning, 2008;170.

Kanoe M, Kiritani M, Inoue M. Local skin reaction in mice and guinea pigs induced by a single intradermal inoculation of *Fusobacterium necrophorum* lipopolysaccharide. *Microbios*. 1995;81(327):93-101.

Karmardin LN, Kuzmikev AS. Thermography in the differential diagnosis of nodular goiter and thyroid cancer. *Vestnik khirurgii imeni I. I. Grekova*. 1983 May;130(5):70-4.

Karpman HL, Kalb IM, Sheppard JJ. The use of thermography in a health care system for stroke. *Journal of the American Geriatrics Society*. 1972 Feb;27(2):96-105.

Kopsa H, Czech W, Schmidt P, et al. Use of thermographic in kidney transplantation: Two year follow up study in 75 cases. *Proceedings of the European Dialysis and Transplant Association*. 1979;16:383-7.

Kubiak M. Detection of Agamid Adenovirus-1 in clinically healthy bearded dragons (*Pogona vitticeps*) in the UK. *Veterinary Record*. 2013 May 4;172(18):475.

Loughmiller JA, Spire MF, Dritz SS, Fenwick BW, et al. 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*. 2001 May;62(5):676-81.

Louis K, Walter J, Gautherie M. Long term assessment of breast cancer risk by thermal imaging. In: Alan R. Biomedical Thermology. Liss Inc., 1982;279–301.

Ludwiget N. Infrared history and applications In: Luzi F, Malcolm M, Costa LN, Redaelli V, eds. Thermography: current status and advances in livestock animals and in veterinary medicine. Brescia: Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, 2013;30-32.

Lunstra DD, Coulter GH. Relationship between scrotal infrared temperature patterns and natural-mating fertility in beef bulls. Journal of Animal Science. 1997 Mar;75(3):767-74.

Mencuccini C, Silvestrini V. Fisica II: Elettromagnetismo e Ottica. 3a ed. Napoli: Liguori Editore, 1998;498-505.

Merla A, Di Donato L, Romani GL. Assistance to surgery by means of infrared functional imaging: preliminary results. In: Proceedings of the 23rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society 2001; vol.3:2852-2855.

Ming Z, Zaproudina N, Siivola J, et al. Sympathetic pathology evidenced by hand thermal anomalies in carpal tunnel syndrome. Pathophysiology. 2005 Sep;12(2):137-41.

Morgante M, Gianesella M, Cannizzo C, et al. C. Use of infrared thermography for evaluating health and welfare status in ruminants. In: 14th International congress Federacion Mediterranea de Sanidad y Produccion de Rumiantes. July 12-15, 2006;215-220.

Murray MJ. Cardiopulmonary anatomy and physiology. In: Mader DR. Reptile Medicine and Surgery. 2 ed. Saunders, 2005;130-132.

Murray MJ. Pneumonia and lower respiratory tract disease. In: Mader DR. Reptile Medicine and Surgery. 2 ed. Saunders, 2005;865-874.

Ng EY, Kaw GJ, Chang WM. Analysis of IR thermal imager for mass blind fever screening. *Microvascular Research*. 2004 Sep;68(2):104-9.

Nikkhah A, Plaizier JC, Einarson MS, et al. Short communication: Infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages of lactation. *Journal of Dairy Science*. 2005 Aug;88(8):2749-53.

Nyirjesy I. Breast thermography. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1982 Jun;25(2):401-8.

Origgi FC, Paré JA. Isolation of Pathogens. In: Jacobson ER. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text*. 1 ed. CRC Press I Llc, 2007;684-685.

Overgaard J, Busk M, Hicks JW, et al. Respiratory consequences of feeding in the snake *Python molorus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 1999 Nov;124(3):359-65.

Palmer SE. Use of the portable infrared thermometer as a means of measuring limb surface temperature in the horse. *American Journal of Veterinary Research*. 1981 Jan;42(1):105-8.

Pees M, Schmidt V, Schlomer J, et al. Significance of the sampling points and the aerobic microbiological culture for the diagnosis of respiratory infections in reptiles. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2007 Oct;114(10):388-393.

Pees M, Schmidt V, Marschang RE, et al. Prevalence of viral infections in captive collections of boid snakes in Germany. *Veterinary Record*. 2010 Apr 3;166(14):422-5.

Paterson J, Watson WS, Teasdale E, et al. Assessment of rheumatoid inflammation in the knee joint. A reprisal. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1978 Feb;37(1):48-52.

Pavlidis I, Levine J, Baukol P. Thermal imaging for anxiety detection, in *Proceedings IEEE Workshop on Honeywell Inc. Computer Vision Beyond the Visible Spectrum: Methods and Applications*. Minneapolis, MN, USA 2000;104-109.

Ricca R. Infrared History and Applications. In: Luzi F, Malcolm M, Costa LN, Redaelli V, eds. *Thermography: current status and advances in livestock animals and in veterinary medicine*. Brescia: Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, 2013;3-4.

Rich PB, Dulabon GR, Douillet CD, Liswa et al. Infrared thermography: a rapid, portable, and accurate technique to detect experimental pneumothorax. *Journal of Surgical Research*. 2004 Aug;120(2):163-70.

Robicsek F, Masters TN, Svenson RH, et al. The application of thermography in the study of coronary blood flow. *Surgery*. 1978 Dec;84(6):858-64.

Rossi JV. General husbandry and management. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;26-35.

Schaefer AL, Cook NJ, Tessaro SV, et al. Early detection and prediction of infection using infrared thermography. *Canadian Journal of Animal Science*, 2004, 84(1):73-80.

Schaefer AL, Perry BJ, Cook NJ, et al. Infrared detection and nitric oxide treatment of bovine respiratory disease. *Online Journal of Veterinary Research* Vol. 10, 2006:7-16.

Schmidt V, Marschang RE, Abbas MD, et al. Detection of pathogens in Boidae and Pythonidae with and without respiratory disease. *Veterinary Record*. 2013 Mar 2;172(9):236.

Schumacher J, Yellen T. Anesthesia and analgesia. In: Mader DR. *Reptile Medicine and Surgery*. 2 ed. Saunders, 2005;442-443, 447-449.

Schumacher J. Respiratory medicine of reptiles. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 2011 May;14(2):207-24.

Smith WM. Applications of thermography in veterinary medicine. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1964 Oct 9;121:248-54.

Spence VA, Walzer WF. The relationship between temperature isotherms and skin blood flow in the ischemic limb. *Journal of Surgical Research*. 1984 Mar;36(3):278-81.

Stacy BA, Pessier AP. Host response to infectious agents and identification of pathogens in tissue section. In: Jacobson ER. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text*. 1 ed. CRC Press LLC, 2007;260-263.

Tapernoux B, Hessler C. Thermography of malignant melanomas. *Journal of Dermatologic Surgery & Oncology*. 1977 May-Jun;3(3):299-302.

Tattersall GJ, Milsom WK, Abe AS, et al. The thermogenesis of digestion in rattlesnakes. *Journal of Experimental Biology*. 2004 Feb;207(Pt 4):579-85.

Tessier M, Du Tremblay D, Klopfenstein C, et al. Abdominal skin temperature variation in healthy broiler chickens as determined by thermography. *Poultry Science*. 2003 May;82(5):846-9.

Turner TA. Diagnostic thermography. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2001 Apr;17(1):95-113.

Tosi MV, Canali E, Mattiello S, et al. La valutazione del "benessere" dei suini in allevamento. In: *Il benessere dei suini e delle bovine da latte: punti critici e valutazione in allevamento*. Brescia: Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, 2003;23.

Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, et al. Diagnosi di laboratorio delle parassitosi. In: *Parassitologia veterinaria*. UTET, 2006;324, 332-333.

Wang T, Busk M, Overgaard J. The respiratory consequences of feeding in amphibians and reptiles. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2001 Mar;128(3):535-49.

Wang T, Zaar M, Arvedsen S, et al. Effects of temperature on the metabolic response to feeding in *Python molurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2002 Nov;133(3):519-27.

Wood SC, Lenfant CJM. Respiration: Mechanics, Control and Gas Exchange In: Gans C, Dawson WR, eds. *Biology of reptilian*. Volume 5, Academic Press, 1976;231-232, 238.

Yang WJ, Zhang N, Yang PT, et al. Determination of uterine activity during labor by means of infrared thermography. *Journal of Biomechanical Engineering*. 115(3), 1993 Aug 01:254-256.

WEBGRAFIA

1 FLIR Systems. Termocamere per la sorveglianza di confini. In: FLIR System website. www.flir.com/cs/emea/it/view/?id=42102.

Ultimo accesso il 5 Maggio, 2013.

2 Escobet J. Utilizzo pratico della termografia in allevamento. 3tre3 website. [http://www.3tre3.it/parola-agli-esperti/utilizzo-pratico-della-termografia-in-](http://www.3tre3.it/parola-agli-esperti/utilizzo-pratico-della-termografia-in-allevamento_408/)

[allevamento_408/](http://www.3tre3.it/parola-agli-esperti/utilizzo-pratico-della-termografia-in-allevamento_408/). 07-Mag-2012. Ultimo accesso il 7 Maggio, 2013.

3 Vainionpää M. Thermal imaging cameras help diagnose health issues in small animals. In: FLIR Systems website. www.flir.com/cs/emea/en/view/?id=41414.

Ultimo accesso il 7 Maggio, 2013.

4 FLIR Systems. Hot biology: investigating the thermal physiology of birds and mammals. In: FLIR System website. www.flir.com/cs/emea/en/view/?id=52243.

Ultimo accesso il 5 Maggio, 2013.

5 FLIR Systems. Stress levels of zoo animals are kept to a minimum with FLIR thermal imaging cameras. In: FLIR System website.

www.flir.com/cs/emea/en/view/?id=44726. Ultimo accesso il 5 Maggio, 2013.

6 ASSALCO website. Rapporto ASSALCO – Zoomark 2013 Alimentazione e Cura degli Animali da Compagnia. www.assalco.it/showattach.php?nid=4744.

Ultimo accesso il 10 Maggio 2013.

STRUMENTI D'INDAGINE

ThermaCAM P25; FLIR Systems (USA).

ThermaCAM™ Researcher; FLIR Systems (USA), 2009;

www.flir.com/cs/emea/it/view/?id=42404

Catetere vescicale per cane femmina: *Bear* 1,6 x 450 mm; *MED EUROPE®* S.r.l. – Bologna – Italia.

Columbia CNA Blood Agar(piastre pronte); Biolife Italiana S.r.l. – Milano – Italia.

GraphPad Prism, versione 4.00 per Windows. GraphPad Software, San Diego, California,USA; www.graphpad.com

Microsoft Office Excel 2007

APPENDICE

Scheda di rilevazione²:

CAMPIONAMENTO PER RICERCA
PARASSITI DEI SERPENTI

N° Campione: _____ Allevamento: _____ Data prelievo: ____/____/____

Razza: _____ Sesso M F

Età: _____ Id. esemplare: _____

Peso: _____

Provenienza: CB CBB Wild Farm Altro: _____

Data introduzione: ____/____/____ ____/____/____ ____/____/____

Provenienza geografica: Togo Ghana Gabon _____

Dove vive l'animale? Terrario Vasca Altro _____

Campionamenti effettuati: Ectoparassiti Feci

Utilizzo anti-parassitari esterni? No Sì
Nome Prodotto: _____
Modalità somministrazione: _____
Data/periodo ultimo trattamento: _____

Utilizzo anti-parassitari interni? No Sì
Nome Prodotto: _____
Modalità somministrazione: _____
Data/periodo ultimo trattamento: _____

E.O.G.: Stato di salute ottimo buono mediocre
Stato di nutrizione ottimo buono mediocre

Sintomi respiratori? No Sì
 Dispnea Emottisi Letargia Cianosi
 Altro _____

Altri sintomi? No Sì _____

Annotazioni _____

Scheda di laboratorio³:

SCHEDA DI LABORATORIO
PER RICERCA PARASSITI DEI SERPENTI

N° Campione: _____ Allevamento: _____ Data prelievo: ____/____/____

Razza: _____

Id. esemplare: _____

Campione di: Ectoparassiti Feci

Aliquote? ALIQUOTA CONGELATA

ALIQUOTA IN ECOFIX

Nessuna

Esame copro-
microscopico
qualitativo ?

Esito: Negativo Positivo

Amebiasi Flagellati Coccidiosi Criptosporid Protozoi emo

No Sì

Trematodi Digenei

Proteocefali Pseudofilli Mesocestodi

Pentastomi Ascaridi Rabditi Strongili Filaridi Capillarie

Esame
Ziehl-Nielsen?

Esito: Negativo Positivo

No Sì

Esame IFA?
(*Giardia* e/o
Cryptosporidium)

Esito: Negativo Positivo

No Sì

Esame PCR?
(*Giardia* e/o
Cryptosporidium)

Esito: Negativo Positivo

No Sì

Annotazioni

RINGRAZIAMENTI

I miei più sentiti ringraziamenti vanno innanzitutto al mio relatore,
il professor **Alessandro Zotti**;
che un giorno,
esternando il proprio dissenso alle perplessità di una sua collega, disse:

“Siamo qui a formare MENTI, non manovali!”.

Queste sue parole, mi motiveranno, in futuro,
a migliorare sempre di più tutto ciò che farò.

Al mio correlatore, il dott. **Tommaso Banzato**,
senza il quale questo progetto non sarebbe mai nato.

Al professor **Massimo Morgante**, senza il quale l'interesse per la termografia
non sarebbe mai arrivato nella nostra facoltà.

Al professor **Paolo Carnier**, per il suo contributo all'analisi statistica.

Ai ricercatori: **Antonio Frangipane di Regalbono** e **Daniela Pasotto** per il valido
aiuto nella preparazione e nell'esecuzione degli accertamenti diagnostici.

A **Cinzia Tessarin**,

che in questi anni mi ha sempre aiutato nelle analisi parassitologiche.

A **Chiara**, che è stata al mio fianco in questi ultimi anni,
motivandomi a modo suo a dare sempre il massimo.

Alla **mia famiglia**, che in questi miei lunghi anni di studio, mi ha supportato in tutti i
sensi, non facendomi mai mancare il loro amore anche nei momenti più bui.

Ultimo in ordine, ma non d'importanza, a **mio padre**,
che ha riletto *infinite* volte quest'elaborato sapendomi sempre dare validi consigli.

Padova, 26 Giugno 2013.