

UTILIZACIÓN DE LA TERMOGRAFÍA DE INFRARROJOS DURANTE EL ORDEÑO PARA LA DETECCIÓN DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS EN OVEJAS

Castro-Costa, A.¹, Caja, G.¹, Salama, A.A.K.¹, Rovai, M.¹, Flores, C.¹ y Aguiló J.²
¹Grup de Recerca en Remugants (G2R), Ciència Animal i dels Aliments; ² Grup de Aplicacions Biomèdiques (GAB), Microelectrònica i Sistemes Electrònics; Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona). gerardo.caja@uab.cat

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico precoz de las infecciones intramamarias (IMI) es un aspecto de interés en ovejas lecheras, debido a sus efectos en la producción y al coste de sus tratamientos (Bergonier et al., 2003; Gonzalo et al., 2006). Los animales responden a las IMI a nivel local (inflamación de la ubre, endurecimiento,...) y sistémico (producción de anticuerpos, fiebre, dolor...), siendo la respuesta variable según el agente infeccioso (Pyörälä, 2003).

La termografía de infrarrojos (IRT) es una técnica que permite medir, a distancia y sin contacto, la temperatura de una superficie. Mediante IRT se pueden generar imágenes de la cantidad de calor emitida por un objeto, que han sido utilizadas para detectar cambios en la temperatura de la ubre en vacas, según su estado sanitario (Barth, 2000; Scott et al., 2000; Hovinen et al., 2008), y en ovejas lecheras, según los parámetros de ordeño (Murgia et al., 2008). No existe información sobre la utilidad de la IRT para el diagnóstico de IMI en ovejas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de la IRT para detectar infecciones mamarias en condiciones prácticas, así como en el caso de una infección aguda simulada mediante la infusión de endotoxina de *E. coli*, en ovejas lecheras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 83 ovejas lecheras (Manchega, n = 48; Lacaune, n = 35) del rebaño experimental del SGCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB (Bellaterra, Barcelona) en dos experimentos realizados al inicio (Exp. 1) y final de lactación (Exp. 2).

Exp. 1: Las ovejas se ordeñaron a máquina 2 veces al día (0800 y 1700 h) a partir del destete de los corderos (35 d) y se tomaron imágenes IRT de las ubres de las ovejas, antes y después de cada ordeño diario (a.m y p.m), a los 46 y 56 d de lactación (producción de leche $1,57 \pm 0,05$ L/d). Las IRT se realizaron con una cámara portátil de infrarrojos (IRI 4010, Irisys, Northampton, UK), en un total de 10 sesiones, con las ovejas inmovilizadas en el cornadizo de la sala de ordeño, desde una vista caudal y a 0,5 m de la ubre. La temperatura superficial de la ubre (UST) se obtuvo a partir de las imágenes IRT, utilizando el software propio de la cámara (Series Imager v.1.0.0.17). La detección de IMI se realizó mediante cultivo bacteriano de muestras de leche a los 15, 34 y 64 d de lactación.

Exp. 2: Se utilizó una muestra de 9 ovejas, con ubres simétricas y sanas (confirmadas por cultivo bacteriano), al final de la lactación (155 ± 26 d) y ordeñadas 1 vez al día (08:00 h; producción de leche $0,58 \pm 0,03$ L/d), en las que se simuló una IMI para producir una respuesta inflamatoria aguda. Para ello se aplicó un desafío "IMI-challenge" (Hovinen et al., 2008) consistente en una infusión intramamaria de 1 mL de lipopolisacárido (5 µg/mL en solución salina fisiológica aséptica) de *Escherichia coli* O55:B5 (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EEUU) aplicada 30 min después del ordeño de la mañana (h 0). Las ovejas se dividieron en 3 grupos equilibrados de 3 ovejas a las que se aplicaron los tratamientos experimentales por media ubre. Los tratamientos consistieron en: 1) control (C00, sin tratar), 2) mitad de la ubre tratada (T10 y C01, media ubre tratada y la otra sin tratar, respectivamente) y 3) ambas mitades de la ubre tratadas (T11, tratadas). La respuesta inflamatoria al challenge se valoró mediante el seguimiento de: producción, composición, recuento de células somáticas (RCS) y test de California (CMT) de la leche ordeñada durante 3 d, así como de muestras adicionales tomadas manualmente (6, 24, 48 y 72 h), la temperatura vaginal (cada 2 h, de 2 a 12 h; cada 12 h, de 12 a 24 h; cada 24 h, de 24 a 72 h) y la de la ubre (UST: 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 25, 28, 32, 36, 48, 49, 72 y 73 h). La UST media se obtuvo como en el Exp. 1, por duplicado en cada media ubre.

Los datos fueron analizados mediante un ANOVA usando el PROC MIXED de SAS (v. 9.1; SAS Inst. Inc., Cary, NC, EEUU). La relación entre las variables estudiadas se determinó por medio de correlaciones de Pearson. Las diferencias entre medias se declararon a $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Exp. 1, se detectaron 22 ovejas con IMI subclínicas en al menos media ubre, siendo las 61 restantes sanas (14,5% y 85,5% medias ubres IMI y sanas, respectivamente). Un total de 3 ovejas mostraron mastitis clínica (2,4% medias ubres) y sus IRT fueron estudiadas separadamente. Tal como se indica en la Tabla 1, las únicas diferencias detectadas en la UST media lo fueron por efecto de la raza (Lacaune, $+0,35 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$, $P < 0,01$) y del ordeño (después del ordeño, $+0,13 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$; $P = 0,05$; p.m., $+0,79 \pm 0,07^{\circ}\text{C}$; $P < 0,001$). No se detectaron diferencias por efecto del estado sanitario, ni por el lado de la ubre ($P > 0,05$). Las diferencias tampoco fueron significativas en el caso de las mamicis clínicas. La falta de respuesta no pudo atribuirse a una escasa sensibilidad de la cámara, que resultó adecuada, tal como indican los ESM observados (0.05 a 0.16°C). Las diferencias en UST se atribuyeron a las características de la piel de las ovejas (mas fina y rosada en la Lacaune), a la irritación producida por el ordeño, de acuerdo con Murgia et al. (2003), y al aumento de la temperatura ambiente que se correlacionó linealmente con la UST ($r = 0,88$; $P < 0,001$).

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza de las temperaturas de la superficie de la ubre (UST, $^{\circ}\text{C}$) en ovejas lecheras.

Variables consideradas	Variable 1	Variable 2	$\pm\text{ESM}$	$P =$
Raza (1 = Manchega, 2 = Lacaune)	32,88	33,23	0,11	0,003
Lado de la ubre (1 = izquierda, 2 = derecha)	33,05	33,06	0,11	0,879
Turno de ordeño (1 = a.m., 2 = p.m.)	32,66	33,45	0,06	0,001
Momento del ordeño (1 = antes, 2 = después)	32,99	33,12	0,05	0,014
Estado sanitario de la ubre (1 = sana, 2 = IMI)	33,11	33,00	0,16	0,484

En el Exp. 2, la baja dosis de endotoxina utilizada ($0,083 \mu\text{g}/\text{kg BW}$) fue suficiente para producir síntomas de IMI en la leche (aparición de copos desde 2 h, aumento de RCS y CMT desde las 6 h) y reducir fuertemente la producción. En comparación, las dosis usadas por Hovinen et al. (2008) y Willard et al. (2007) en vacas lecheras fueron de 0,02 a $2,60 \mu\text{g}/\text{kg BW}$, respectivamente. La caída de producción de las tratadas (T11 y T10) vs. no tratadas (C01 y C00) fue $-33,1$ ($P < 0,05$), $-41,4$ ($P < 0,001$) y $-36,6\%$ ($P < 0,001$) a las 24, 48 y 72 h post-desafío, respectivamente. La temperatura vaginal sólo aumentó a las 6 h post-desafío en T10 ($P < 0,05$) pero no en el resto. No se detectaron diferencias entre tratamientos para UST ($P = 0,752$), con la excepción de T11 que mostró un máximo a las 6 h post-desafío ($P < 0,001$), tal como se observa en la Figura 1. Los efectos del desafío en UST, CMT y temperatura vaginal fueron desapareciendo a partir de la h 12, aunque se mantuvieron hasta las hasta 72 h en el contenido en lactosa y RCS de la leche (Tabla 2). La temperatura ambiente también se correlacionó linealmente con la UST ($r = 0,60$; $P < 0,001$). En conclusión, pese a la sensibilidad observada para detectar cambios en la temperatura de la ubre entre razas y momentos de ordeño, la IRT no resultó de utilidad para detectar la aparición de IMI clínicas o subclínicas en ovejas. Estos resultados contradicen lo indicado previamente en vacas lecheras (Scott et al., 2000; Willard et al., 2007; Hovinen et al., 2008).

Tabla 2. Efecto de la infusión de endotoxina de *E. coli* 55:B5 en la composición de leche por media ubre y tratamiento en ovejas lecheras.

Item	Tiempo, h ¹	Control ²		Tratado ²		$\pm\text{ESM}$	Efecto ($P =$)
		C00	C01	T10	T11		
Lactosa, %	6	4,46 ^c	4,51 ^c	2,73 ^a	3,47 ^b	0,12	0,001
	24	4,29 ^c	4,48 ^c	2,02 ^a	2,92 ^b	0,10	0,003
	48	4,13 ^c	4,42 ^c	2,90 ^a	3,11 ^a	0,13	0,003
	72	4,12 ^{ab}	4,23 ^{bc}	3,59 ^a	3,73 ^{ac}	0,13	0,002
Log ₁₀ RCS	6	5,66 ^a	5,88 ^a	7,22 ^b	7,27 ^b	0,06	0,001
	24	5,46 ^a	5,91 ^a	6,24 ^a	7,32 ^b	0,17	0,005
	48	5,32 ^a	5,49 ^a	7,28 ^b	7,13 ^b	0,05	0,001
	72	5,24 ^a	5,27 ^a	6,37 ^b	6,69 ^b	0,07	0,001

^{a-c}Letras distintas en la misma fila indican diferencias a $P < 0,05$. ¹Tiempo post-desafío. ²Tratamientos por media ubre: C00 (ambas ubres sin tratar), T10 y C01 (media ubre tratada y la otra mitad sin tratar, respectivamente), y T11 (ambas mitades de la ubre tratadas).

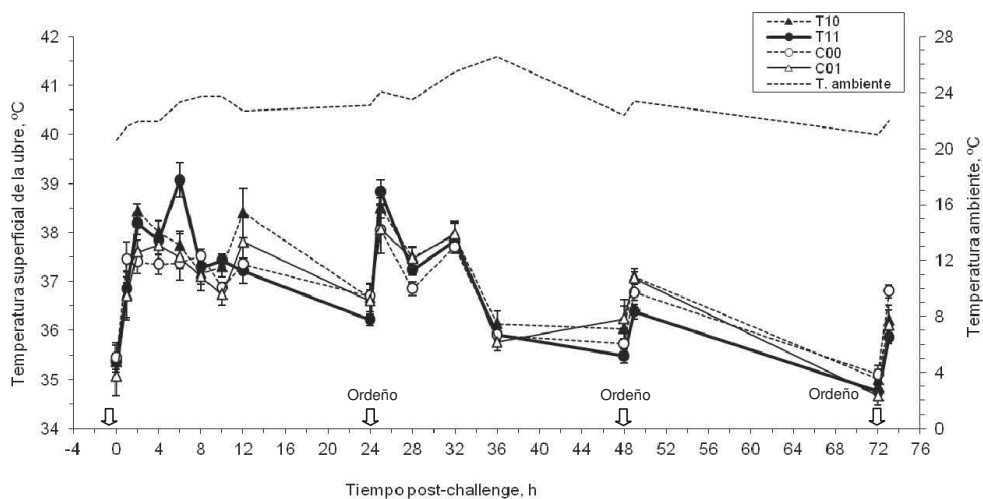


Figura 1. Variación de la temperatura superficial de la ubre de ovejas lecheras sometidas a un desafío de endotoxina de *E. coli* O55:B5.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Barth, K. 2000. Basic investigations to evaluate a highly sensitive infrared-thermograph technique to detect udder inflammation in cows. *Milk Sci. Int.* 55:607–609. • Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G. & Berthelot, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34:689–716. • Gonzalo, C., Carriedo, J. A., Beneitez, E., Juárez, M. T., De La Fuente, L. F. & San Primitivo, F. 2006. Bulk tank total bacterial count in dairy sheep: factors of variation and relationship with somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 89:549–552. • Hovinen, M., Siivonen, J., Taponen, S., Hanninen, L., Pastell, M., Aisla, A. M. & Pyörälä, S. 2008. Detection of clinical mastitis with the help of a thermal camera. *J. Dairy Sci.* 91:4592–4598. • Murgia, L., Stelletta, C., Caria, M., Giancesella, M., Gatto, M., Pazzona, A. & Morgante, M. 2008. Using infrared thermography to monitor the effect of different milking vacuum levels on teat tissue in dairy ewes. *Internat. Conf. Agric. Eng., Hersonissos, Greece, 23-25 June.* P-131. • Pyörälä, S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res.* 34:565–578. • Scott, S. L., Schaefer, A. L., Tong, A. K. W. & Lacasse, P. 2000. Use of infrared thermography for early detection of mastitis in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 80:764(Abstr.).

USING INFRARED THERMOGRAPHY DURING MILKING FOR DETECTING INTRAMAMMARY INFECTIONS IN DAIRY EWES

ABSTRACT: A total of 83 Manchega and Lacaune dairy ewes were used in 2 experiments for assessing the ability of infrared thermography (IRT) to detect intramammary infections (IMI) by mean of udder skin temperatures (UST). In Exp. 1, IRT pictures were taken immediately before and after milking at 46 and 56 d of lactation. No UST differences were detected by effect of IMI (healthy vs. IMI; $P = 0.484$). However, differences in UST were detected by breed ($P = 0.003$) and milking moment ($P = 0.014$) and turn ($P < 0.001$). In Exp. 2, 9 healthy ewes were used for studying the UST response to an *E. coli* O55:B5 endotoxin challenge during 3 d. Treatments were applied by udder half after milking. For all treatments, UST increased post-challenge, peaking at h 2 and decreasing thereafter without differences between treatments until h 4 ($P = 0.556$), but peaked at h 6 when both udder halves were treated ($P < 0.001$). Positive correlations between UST and ambient temperatures were detected ($r = 0.60$ to 0.88). In conclusion, despite the high sensitivity of the camera, the IRT was unable to discriminate between UST changes of the healthy and the IMI udders in dairy ewes.

Keywords: infrared thermography, mastitis, sheep, endotoxin.