

Risposte comportamentali e fisiologiche al confinamento del cane lungodegente in canile

Paolo Dalla Villa¹, Shanis Barnard¹, Elisa Di Fede¹, Michele Podaliri¹, Luca Candeloro¹, Antonio Di Nardo¹, Carlo Siracusa², James A. Serpell²

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Campo Boario, 64100 Teramo, Italia
p.dallavilla@izs.it

² Dipartimento di Studi Clinici, Scuola di Medicina Veterinaria, Università della Pennsylvania, 3850 Spruce Street, Philadelphia, PA 19104-6010, USA

Parole chiave

Benessere animale,
Cane,
Canile,
Canis familiaris,
Comportamento,
Cortisolo,
Lungodegenza.

Riassunto

In Italia, la normativa riguardante gli animali di affezione e la prevenzione del randagismo (legge quadro n. 281 del 14 agosto 1991) impedisce la soppressione dei cani ospitati in canile se non gravemente malati o pericolosi. In quasi tutti i comuni italiani, il rapporto fra ingressi e adozioni nei canili è sbilanciato. Si generano pertanto, condizioni di sovraffollamento in cui un numero variabile di cani tende inevitabilmente a permanere nella struttura per periodi anche molto lunghi. La conoscenza degli effetti della lungodegenza sui cani di canile è ancora carente e necessita di studi mirati per permettere di fornire a questi animali il più alto grado possibile di benessere. Nel presente studio si valuta l'effetto di due differenti forme di confinamento (in gruppo o in coppia) su cani lungodegenti alloggiati in canile mediante lo studio di parametri comportamentali e fisiologici. Dati osservazionali e campioni di saliva per l'analisi quantitativa di cortisolo sono stati raccolti in entrambe le condizioni di confinamento per essere utilizzati come indicatori di benessere. Il confinamento di coppia ha offerto un minor numero di stimoli sociali e ambientali, infatti, i risultati comportamentali hanno permesso di mettere in evidenza come i cani trascorrono un tempo minore in attività locomotorie, esplorative e sociali. Le analisi delle concentrazioni di cortisolo hanno lasciato supporre che le differenze riscontrate a livello fisiologico non siano imputabili al tipo di confinamento. Nonostante in questo studio non siano emerse evidenze che permettano di affermare che una forma di confinamento abbia un maggior impatto negativo sul benessere animale (ad esempio: manifestazione di comportamenti aberranti, picchi di concentrazione di cortisolo), il differente tipo di confinamento ha avuto un effetto significativo sull'espressione di una varietà di comportamenti che, comunque, appartengono al normale repertorio della specie canina. Queste variazioni devono essere tenute in debito conto nel momento in cui si prendono decisioni sul tipo di confinamento da assegnare a cani di canile lungodegenti.

Veterinaria Italiana 2013, **49** (2), 219-230. doi: 10.12834/VetIt.2013.492.219.230

Introduzione

Le popolazioni canine sono in crescita in tutto il mondo. In molti Paesi il randagismo rappresenta un notevole problema di salute pubblica, potendo esitare in: episodi di attacco di cani a persone e bestiame, incidenti automobilistici, trasmissione di zoonosi. Per gestire le popolazioni randagie si possono mettere in atto diverse strategie, in alcune di queste il canile riveste un ruolo primario (8). Il confinamento per un animale implica, generalmente, restrizione fisica, ambienti scarni, isolamento sociale, scarso controllo degli eventi e capacità di predirli. In Italia, la legge quadro n. 281 del 14 agosto 1991, riguardante gli animali di affezione e la prevenzione del randagismo, proibisce l'eutanasia dei cani alloggiati in canile, se non gravemente malati o pericolosi.

Questa disposizione, inevitabilmente, ha determinato condizioni di sovraffollamento nelle strutture, dove il benessere degli animali diventa un problema fondamentale. È importante, pertanto, adottare un modello di gestione e alloggiamento dei cani basato su elevati standard di benessere.

Secoli di selezione artificiale hanno generato molteplici livelli di diversificazione genetica e morfologica nel cane domestico. La razza, il temperamento e le precedenti esperienze di confinamento hanno dimostrato di svolgere un ruolo importante nell'abilità dei cani a far fronte ad un successivo confinamento (6, 12, 13, 14). Tali variabili dovrebbero essere normalmente prese in considerazione quando si studia l'adattamento dei cani alla permanenza in canile. Tuttavia, quando si studiano i cani di canile,

gli animali sono in gran parte adulti di razza mista il cui background è sconosciuto. In questo contesto le misure di benessere dovrebbero essere in grado di individuare lo stato di ciascun animale nell'ambiente attribuito a prescindere dal loro passato o bagaglio genetico. Studi precedenti hanno individuato alcuni indicatori di benessere, applicabili ai cani confinati in diversi ambienti di canile, principalmente basati su parametri comportamentali e fisiologici (10, 15, 27, 28). I parametri comportamentali forniscono informazioni importanti sulle esigenze e le preferenze degli animali, non sono invasivi e sono facilmente osservabili. Beerda e colleghi (3) hanno identificato modelli comportamentali specifici in risposta a condizioni di stress indotte sperimentalmente. Risultati simili sono stati rilevati in ricerche successive (14, 23). Nello specifico, in questi studi è stato dimostrato che le conseguenze di un confinamento inappropriato e dell'isolamento sociale hanno come risultato: calo di attività, auto-pulizia (auto-grooming), vocalizzazioni eccessive, alterazioni del comportamento esplorativo e locomotorio, modifiche del ciclo di sonno-veglia. Altri studi, analizzando gli effetti del confinamento dei cani, hanno suggerito che le dimensioni di un canile non influiscono in modo significativo sulla quantità ma sulla qualità delle attività (7, 11). È ampiamente accettato che la qualità dell'ambiente in cui l'animale è alloggiato svolga un ruolo cruciale nel benessere degli animali (16). L'ambiente ideale dovrebbe offrire stimoli sufficienti a motivare l'espressione del naturale comportamento canino. I cani ospitati nei canili, tuttavia, trascorrono tipicamente la maggior parte del loro tempo in condizione di inattività (16, 21). Hughes e Campbell (18) hanno riportato come gli animali, a prescindere dalle dimensioni della gabbia (1 m² vs 7 m²) o dall'accesso ad un ampio recinto all'aperto, effettuino attività per un tempo medio pari a 30-90 minuti al giorno. La differenza osservata tra le condizioni di alloggiamento è stata la distanza percorsa ogni giorno, suggerendo che spazi più ampi potrebbero incoraggiare i cani a correre o a trotolare. L'attività risulta aumentata quando i cani sono stimolati dal contesto sociale e ambientale (17). L'alloggiamento di gruppo, per esempio, fornisce un ambiente relativamente complesso che incoraggia l'attività locomotoria, l'esplorazione olfattiva e l'interazione sociale.

Studi precedenti incentrati sugli effetti dell'alloggiamento di gruppo hanno dimostrato che l'isolamento ha effetti negativi sul benessere dei cani (4, 5, 15). Altri studi hanno evidenziato un maggior indice di benessere nel caso di cani alloggiati a coppie rispetto a quelli alloggiati individualmente (6, 11). L'alloggiamento di gruppo, quando possibile, viene evitato in quanto sembra accrescere il rischio di trasmissione delle malattie e del comportamento aggressivo tra conspecifici (29).

I glucocorticoidi, nella forma del cortisolo, sono comunemente marcatori fisiologici impiegati per la valutazione del benessere del soggetto (2) in quanto le loro concentrazioni riflettono in modo attendibile l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene reattivo allo stress (20). Concentrazioni più elevate di cortisolo sono state rilevate in cani confinati, rispetto a quelli da compagnia che vivono in casa, e nei cani socialmente isolati, rispetto a quelli alloggiati in gruppi (6, 13, 26). Il cortisolo urinario e quello salivare costituiscono un'alternativa di valutazione del benessere attendibile e meno invasiva del cortisolo plasmatico (2).

È stato dimostrato che il periodo di tempo in un canile rifugio influenzi il comportamento dei cani ospitati nel canile, tuttavia gli effetti di un confinamento a lungo termine sul benessere dei cani non sono tuttora chiari e necessitano di ulteriori indagini (12, 30). Il presente studio si sviluppa sulla base di lavori precedenti in tale ambito e cerca di fornire un'ulteriore comprensione su come l'alloggiamento influisca, nel lungo periodo, sul benessere dei cani di canile. In modo più specifico, sono stati analizzati gli effetti di due diverse forme di confinamento mediante la valutazione delle attività comportamentali e dei parametri fisiologici, scientificamente riconosciuti.

Materiali e metodi

Condizioni sperimentali

Diciassette cani (7 femmine, 10 maschi) sono stati scelti tra quelli ospitati nel canile dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (IZS A&M) a Teramo. Tutti i cani selezionati, adulti tra i 5 e i 9 anni di età, sono risultati presenti nel canile da almeno quattro anni dall'inizio dell'osservazione. I cani di taglia medio-grande, non ascrivibili ad alcuna razza specifica, sono risultati ascrivibili, in buon numero, a incroci di razze di cani da pastore. Tutti gli animali sono risultati sterilizzati o castrati e dichiarati sani dai veterinari del canile.

I gruppi di cani sono stati formati durante la fase pre-sperimentale durata 4 mesi. Sessioni giornaliere di socializzazione di gruppo sono state effettuate in modo da identificare i cani compatibili. Al termine della verifica, sono stati identificati, come da progetto, i quattro gruppi sperimentali ospitati nei rispettivi recinti. Per consentire l'adattamento nel nuovo ambiente, la raccolta dati è iniziata il mese successivo all'alloggiamento. La prima raccolta dati (Tempo 1, T1) è stata effettuata nel seguente contesto sperimentale: i cani sono stati alloggiati, alle stesse condizioni di confinamento, in gruppi di 4-5 animali di ambedue i sessi, in quattro recinzioni all'aperto con pavimentazione in terra battuta, adiacenti l'una all'altra, ciascuna di circa 35 m², delimitate da reti me-

talliche cementate in un muretto di 50 cm di altezza. Un tetto di 11 m² ha avuto la funzione di coprire una parte del recinto per proteggere cani e cucce in plastica da sole e intemperie. I cani sono stati alimentati una volta al giorno, durante le ore mattutine, con mangime secco e acqua fresca disponibile a tutte le ore. Al fine di prevenire un comportamento competitivo, i cani sono stati abituati durante l'alimentazione a essere legati al recinto con un guinzaglio lungo un metro. I cani nella prima fase sperimentale sono sempre rimasti nel recinto assegnato.

Al termine della prima raccolta dati, 8 cani (4 femmine e 4 maschi) ospitati in due delle quattro recinzioni sono stati trasferiti a coppie in box più piccoli (6 m²). Questi cani hanno costituito il gruppo sperimentale, i restanti 9 sono rimasti nelle due stesse recinzioni d'origine in qualità di gruppo di controllo. Al fine di prevenire problemi di gestione e comportamenti aggressivi indesiderati, che avrebbero potuto compromettere la sicurezza dei cani o l'esito dello studio, i compagni di recinto sono stati selezionati in base al rispettivo passato di positiva interazione nel corso dell'alloggiamento di gruppo. Le coppie sono state composte da un maschio e una femmina. I box di coppia sono stati completamente coperti da un tetto e dotati di recinzione a maglie nella parte anteriore. La recinzione laterale è stata realizzata con pareti solide, alte un metro, con presenza alla sommità di rete metallica. Tali box sono stati dotati di accesso ad un'area comune recintata (120 m²) dove è stato consentito ai cani di stare a coppie per 2 ore al giorno, solitamente la mattina durante le attività di pulizia. La procedura di alimentazione è stata la stessa descritta in precedenza. Ai cani è stato consentito di ambientarsi per un mese alle nuove condizioni di confinamento, prima dell'inizio della seconda raccolta dati (Tempo 2, T2).

Raccolta dati

La raccolta dati è stata standardizzata per tutti i gruppi di cani durante T1 e T2. I dati sul loro comportamento sono stati raccolti tramite registrazioni video delle attività in due sessioni giornaliere, per tre giorni consecutivi: 40 minuti al mattino prima dell'ora di alimentazione (06.15h-06.55h) e 40 minuti nel pomeriggio (17.15h-17.55h). Tutte le registrazioni sono state effettuate in assenza di attività da parte del personale. Sono state installate telecamere con accensione e spegnimento demandati a un operatore non presente, come previsto, durante le registrazioni. Dal momento che i cani avrebbero potuto reagire più intensamente all'arrivo di un addetto (18), sono stati scartati dalla valutazione i primi e gli ultimi 5 minuti di ciascuna sessione di registrazione. Le valutazioni dei video sono state effettuate impiegando un software di registrazione dati dedicato (The Observer XT 8.0, Noldus Information

Technology, Wageningen, The Netherlands) e sulla base di un etogramma esistente (15). Sono stati osservati 38 comportamenti e i relativi modelli comportamentali sono stati raggruppati in categorie distinte (Tabella I). Le frequenze di comportamento e la durata degli episodi sono state registrate in continuo nel corso di osservazioni di 30 minuti ciascuna, per un totale di circa 180 minuti di registrazione per ciascun periodo di tempo e per ciascuno dei 17 cani studiati.

Il cortisolo è stato analizzato da campioni di saliva prelevati da tutti i cani. Per il controllo della variabilità nel medesimo soggetto, il cortisolo è stato campionato da ciascun cane per tre giorni consecutivi, durante ambedue i periodi di osservazione dello studio (T1 e T2), immediatamente dopo le registrazioni video del mattino e nel momento in cui i cani sono stati legati prima dell'assunzione di cibo. Il valore medio dei tre giorni è stato considerato rappresentativo del livello di cortisolo in ciascun cane, durante ogni fase di osservazione. I campioni di saliva sono stati prelevati dal cavo orale degli animali per mezzo del kit Salivette® (Starstedt, Verona, Italia). Il prelievo è stato effettuato dagli stessi veterinari del canile agevolati dalla loro familiarità con i cani. Ogni prelievo è stato eseguito in maniera standardizzata acquisendo ogni campione entro 3 minuti, al fine di prevenire misurazioni distorte dei livelli di cortisolo indotte dal trattamento. I campioni sono stati stoccati a -25°C fino a ulteriori analisi. La determinazione del cortisolo è stata effettuata tramite immunodosaggio per mezzo del kit Salivary Cortisol (Salimetrics, State College, PA, USA) disponibile in commercio e seguendo le indicazioni del produttore.

Elaborazione dati e analisi statistica

Prima dell'effettuazione delle analisi statistiche sono state applicate correzioni ai dati sia per le misure comportamentali che per quelle del cortisolo.

I cani non risultando sempre visibili in tutti i momenti di osservazione (ad es. presenza in cuccia o dietro barriera visiva) è stato assunto che il loro comportamento fosse lo stesso sia dentro che fuori il campo di ripresa della telecamera. Pertanto i dati approssimati sul comportamento sono stati calcolati come percentuale di tempo in cui gli animali oggetto di studio sono risultati visibili. Ciascuna variabile è stata modificata moltiplicandola per un coefficiente di correzione (k) equivalente al tempo di osservazione totale ($T_t = 10.800 \text{ sec}$) diviso per il tempo visibile ($T_t - x$) dove x è il tempo in cui l'animale non è risultato visibile (cioè fuori dal campo visivo o nascosto nell'ombra). Alcuni dei comportamenti elencati nell'etogramma o non sono stati mai registrati (ovvero salto, accoppiamento, masticazione, inseguimento).

Tabella I. *Categorie comportamentali e variabili rilevate durante lo studio e misurate come frequenze (f) o durate (d) di insorgenza*

Categoria	Comportamento	Definizione	f/d
Comportamento attivo	Camminare	Andatura locomotoria	d
	Trottare	Andatura al trotto	d
	Saltare	Saltare sul tetto delle cucce	d
	Zampe posteriori	In piedi sulle zampe posteriori appoggiando gli arti anteriori contro un muro/recinto	d
Comportamento inattivo	Decubito	Posizione sdraiata sternale o laterale	d
	Seduto	Sedersi sulle zampe posteriori	d
	Postura quadrupedale	In piedi a quattro zampe	d
	Riposare ^a	Il soggetto dorme o è sdraiato con testa a terra	d
Comportamento attivo-ripetitivo	Girare in cerchio	Girare ripetutamente intorno al recinto	d
	Andatura rapida	Camminare ripetutamente con passo rapido solitamente lungo una recinzione	d
	Passo rapido sociale	Camminare ripetutamente con passo rapido lungo un recinto parallelamente ad un cane che si trova dall'altro lato	d
	Inseguimento coda	Inseguimento ripetuto della coda	d
	Rimbalzare contro un muro	Salti ripetuti contro un muro con rimbalzo	d
Interazione sociale ^b	Amichevole	Leccare e grattare con zampa un conspecifico o allo-grooming, spesso con scodinzolamento	d
	Giocosa	Chinarsi, brevi cariche con rimbalzi, espressione giocosa, fare la lotta, inseguimento giocoso	d
	Minacciosa	Pelo eretto, vocalizzazioni aggressive, scatto contro altro cane	d
	Postura rigida/alta	L'animale in piedi con postura rigida, testa e coda dritte in alto, bocca chiusa, scodinzolamento assente o molto limitato, posizione a T o parallela con altro cane	d
	Difensiva	Evitare gli altri cani, aumentare la distanza, o rannicchiarsi, rotolarsi	d
	Accoppiamento	Il cane monta/è montato un altro/da un altro cane	d
	Annusare ^a	L'animale in esame annusa un altro cane	d
	Sguardo sociale ^a	L'animale si orienta verso un altro cane e mantiene il contatto visivo, comportamento solitamente associato ad un cambiamento nel movimento della coda e/o nella posizione della stessa	d
Altri	Auto-grooming	Comportamento da parte del soggetto diretto verso il proprio corpo, come ad es. grattarsi, leccarsi o mordersi	d
	Scavare	Scavare a terra con zampe anteriori	d
	Fuori vista	Il soggetto non è visibile, solitamente in una cuccia o dietro una barriera	d
	Ombra ^a	Il soggetto si trova in area poco illuminata, non è possibile osservarne le espressioni facciali	d
	Abbaiare	Staccato, brevi vocalizzazioni	f
	Scrollarsi	Oscillamento vigoroso di testa e corpo lungo l'asse longitudinale	f
	Stirarsi	Stiramento del corpo e degli arti	f
	Vocalizzazioni prolungate ^a	Ululati e guaiti	d
	Coda	Scodinzolare	Scodinzolamento ripetuto
Coda bassa/arricciata ^a		La coda è arricciata tra gli arti posteriori, postura solitamente bassa	d
Esplorazione dell'ambiente	Esplorazione visiva ^a	Osservare l'ambiente o i compagni di recinto	d
	Esplorazione olfattiva ^a	Camminare con il naso raso al suolo o contro altri oggetti con chiari movimenti inalatori	d
Alimentare	Bere	Bere acqua	f
	Masticare	Masticare materiale non nutritivo	f
	Urinare	Urinare con arto sollevato o in posizione di squat	f
	Defecare	Espellere il contenuto dell'intestino	f
	Coprofagia	Mangiare le proprie feci o di altro cane	f

^a Comportamento non mutualmente esclusivo: può verificarsi contemporaneamente ad altri comportamenti.^b Durante il rilevamento di una interazione sociale, è stato registrato anche il destinatario del comportamento, identificandolo come: un compagno di recinto dello stesso sesso; un compagno di recinto di sesso opposto; un cane nel recinto adiacente.

mento coda, rimbalzo contro parete) oppure sono stati registrati una sola volta (coda bassa/tra gli arti posteriori, coprofagia). Tali comportamenti sono stati pertanto scartati da successive analisi. A causa della bassa percentuale di manifestazione, alcuni

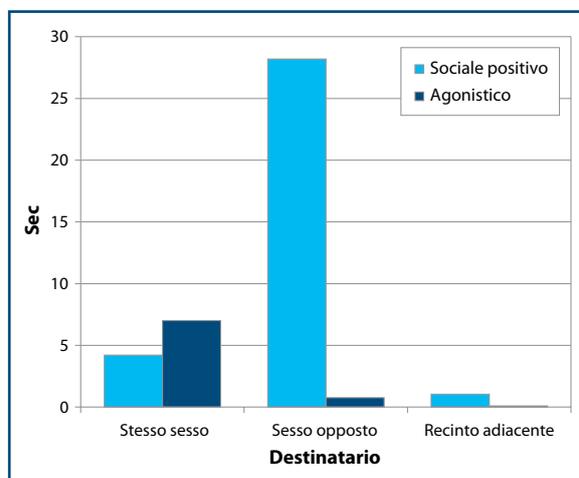


Figura 1. Comportamento sociale a Tempo 1. Destinatari del comportamento sociale positivo (giocoso, amichevole) e agonistico (postura rigida/alta, difensiva, minacciosa) a T1 durante l'alloggiamento di gruppo.

comportamenti sono stati raggruppati e considerati come singole variabili, ad esempio: girare in cerchio o andatura rapida sono stati analizzati come categoria di comportamenti attivi ripetitivi. Le posture amichevole, giocosa, minacciosa, rigida/alta e difensiva sono state analizzate come categoria d'interazione sociale. Annusare un conspecifico e lo sguardo sociale (comportamenti non mutualmente esclusivi) sono stati analizzati come categoria di segnali comunicativi. Per tutti i comportamenti inclusi nella categoria dell'etogramma interazione sociale, i dati sono stati ponderati secondo il numero dei soggetti presenti in ciascuna recinzione e il destinatario è stato registrato come compagno di recinto dello stesso sesso, del sesso opposto o come cane in un recinto adiacente.

Per valutare gli effetti principali (gruppo e tempo) e la loro interazione, è stata eseguita per tutte le variabili un ANOVA a due vie per misure ripetute su un fattore. Dato che lo stesso soggetto è stato osservato per due volte (T1 e T2), il fattore tempo è stato trattato come misura intra-gruppo e il fattore gruppo (sperimentale o di controllo) è stato considerato misura tra gruppi. Sebbene l'analisi statistica sia stata considerata sufficientemente solida (poiché è stata rispettata l'assunzione di campioni omogenei), la distribuzione dei dati è stata ispezionata visiva-

Tabella II. ANOVA a due vie con misure ripetute su un fattore (tempo).

Variable	Effetti tra gruppi		Effetti intra-gruppo			
	Gruppo		Tempo		Interazione	
	F-statistico	p-valore	F-statistico	p-valore	F-statistico	p-valore
Attivo ripetuto	1,82	0,197	1,66	0,217	2,42	0,141
Auto-grooming	4,20	0,058	6,15	0,025	1,36	0,261
Abbaire	0,24	0,635	2,14	0,164	2,72	0,120
Segnali comunicativi	1,77	0,203	4,82	0,044	11,35	0,004
Defecare	0,06	0,809	0,12	0,738	0,89	0,360
Scavare	2,83	0,113	2,40	0,142	5,43	0,034
Bere	0,38	0,545	0,08	0,778	12,55	0,003
Arti posteriori	1,84	0,195	3,17	0,095	0,91	0,355
Coricarsi	1,31	0,270	24,13	0,000	5,60	0,032
Esplorazione olfattiva	0,08	0,780	0,76	0,398	5,86	0,029
Vocalizzazioni prolungate	0,08	0,779	7,31	0,016	2,20	0,159
Riposare	6,16	0,025	35,36	0,000	3,64	0,076
Scrollarsi	1,65	0,218	0,13	0,720	2,44	0,139
Sedersi	2,13	0,165	0,06	0,810	0,06	0,813
Interazione sociale	1,27	0,278	1,84	0,195	1,61	0,224
Posizione quadrupedale	0,59	0,453	12,97	0,003	10,86	0,005
Decubito	0,33	0,573	1,86	0,193	0,00	0,992
Scodinzolare	0,12	0,739	0,34	0,568	4,75	0,046
Trottare	0,06	0,811	7,59	0,015	8,90	0,009
Urinare	0,83	0,378	0,14	0,718	13,49	0,002
Esplorazione visiva	0,38	0,549	16,07	0,001	12,17	0,003
Camminare	0,06	0,811	8,57	0,010	14,65	0,002

I valori p significativi (< 0,05) sono in grassetto.

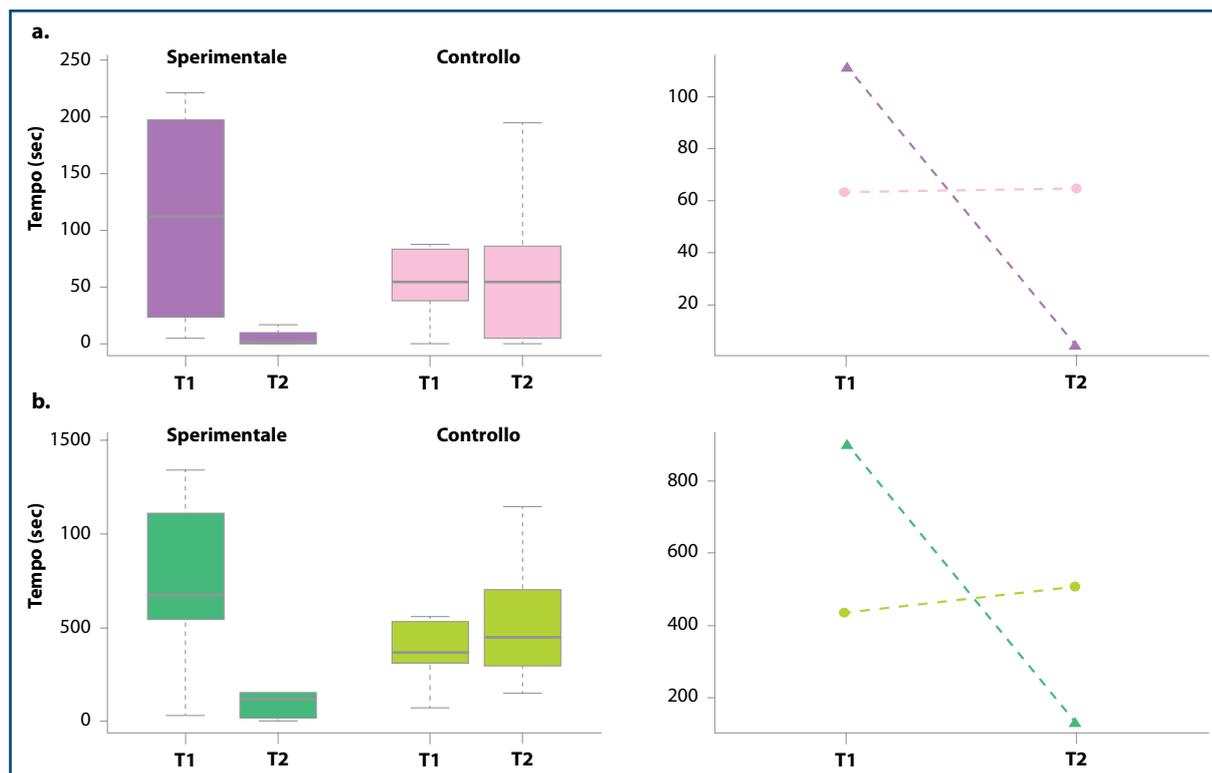


Figura 2. *Variazioni comportamentali.* Per le variabili comportamentali (a) trottare e (b) camminare, i box-plot rappresentano cambiamenti nella durata del comportamento tra le due fasi dello studio (T1 e T2) sia per i cani sperimentali che per quelli di controllo (confronti all'interno dello stesso gruppo). I grafici interattivi rappresentano la direzione del comportamento (linee tratteggiate crescenti o decrescenti) da T1 a T2 sia per il gruppo sperimentale (triangoli solidi) che per il gruppo di controllo (cerchi solidi).

Tabella III. *Tempo di osservazione medio e relativo errore standard registrato per ciascun comportamento.*

Variabile	Gruppo di controllo		Gruppo sperimentale	
	T1 (s)	T2 (s)	T1 (s)	T2 (s)
Attivo ripetuto	7,2±1,1	13,7±2,06	111,5±26,6	4,9±1,7
Auto-grooming	30,8±6,1	169,0±29,6	210,7±52,9	583,5±61,7
Abbaire	140,0±11,2	149,1±22,1	355,9±38,8	34,7±4,7
Segnali comunicativi	70,9±5,8	114,4±13,7	295,2±18,8	39,3±4,7
Defecare	0,4±0,1	0,8±0,2	0,6±0,1	0,4±0,1
Scavare	0	7,2±1,8	44,9±8,1	0
Bere	0,4±0,1	3,4±0,3	3,9±0,5	1,0±0,2
Arti posteriori	238,8±49,2	156,8±26,0	35,5±5,3	12,0±3,6
Posizione di decubito	6406,1±233,2	7470,4±185,0	6222,7±214,3	9168,9±145,2
Esplorazione olfattiva	299,7±14,4	487,1±53,7	654,7±37,2	198,0±16,3
Vocalizzazioni prolungate	9,6±1,0	21,9±4,3	0	40,3±6,4
Riposare	2110,9±215,4	4874,7±165,9	2565,2±221,1	7875,1±249,2
Scrollarsi	1,7±0,1	4,2±0,3	7,8±0,4	3,2±0,4
Sedersi	577,0±88,9	574,6±77,1	209,5±35,0	146,1±20,8
Interazione sociale	33,3±6,6	67,0±10,5	11,6±7,2	11,8±3,4
Posizione quadrupedale	1723,8±70,9	1605,9±95,1	2248,2±136,1	556,8±75,4
Stirarsi	2,1±0,4	3,7±0,2	2,9±0,3	4,5±0,7
Scondinzolare	436,6±45,6	734,6±73,7	803,0±106,0	216,0±49,3
Trottare	63,5±4,7	64,5±6,7	111,3±11,2	5,1±0,8
Urinare	0,4±0,1	4,1±0,3	6,1±0,9	1,0±0,1
Esplorazione visiva	4170,0±280,8	3798,0±199,5	5521,4±159,0	1539,3±138,2
Camminare	435,5±31,4	510,1±34,2	898,2±92,8	132,5±18,7

T1 rappresenta il primo periodo di osservazione in cui tutti i cani sono alloggiati in gruppo in recinti all'aperto.

T2 rappresenta il secondo periodo di osservazione in cui i cani del gruppo sperimentale sono alloggiati in box a coppie e il gruppo di controllo è rimasto negli stessi recinti all'aperto.

mente tramite grafici box-plot, al fine di individuare eventuali deviazioni dalla curva di normalità.

Per le differenze tra e intra-gruppi sono stati anche calcolati gli intervalli di confidenza (IC) al 95% per campioni appaiati, come mostrato in Tabella I. Dal momento che sono stati effettuati tre confronti (due confronti tra i tempi intra-gruppo e un confronto tra i gruppi a T1), per verificare il tasso di errore complessivo, gli intervalli di confidenza sono stati calcolati utilizzando la correzione di Bonferroni (quindi il tasso d'errore di tipo I è stato corretto a $0,05/3=0,0167$). Ogni volta che, sulla base dell'ispezione visiva, la distribuzione delle variabili è sembrata diversa da quella normale, sono stati effettuati test statistici non parametrici (il test per somme di ranghi di Wilcoxon per campioni appaiati e/o indipendenti applicando la correzione di Bonferroni).

A causa delle ridotte dimensioni dei campioni, non sono stati effettuati confronti statistici tra i sessi sugli effetti dell'alloggiamento in canile. Tutte le analisi dei dati sono state eseguite mediante il sistema R-2.13.0 per Windows.

Risultati

Per ottenere una visione d'insieme dell'attività generale dei cani alloggiati in gruppi, è stata effettua-

ta un'analisi descrittiva preliminare esaminando i dati dei 17 cani a T1. I cani alloggiati in gruppo hanno trascorso in media il 90% del proprio tempo inattivi, il 6,5% del tempo attivi e tutti gli altri comportamenti si sono manifestati per meno del 3% del tempo (ad es. interazioni sociali, comportamento alimentare). Sebbene la porzione maggiore di tempo sia trascorsa in modo inattivo, solo per il 42% di quel tempo i cani hanno, in realtà, riposato o dormito. Per il tempo rimanente, sono stati attenti, scrutando l'ambiente circostante. Le interazioni sociali si sono manifestate solo per lo 0,3% del tempo di osservazione totale. I cani hanno manifestato un comportamento giocoso per gran parte del tempo trascorso a interagire tra loro (77,33%), specie nei confronti dei compagni di recinto di sesso opposto (Figura 1). Le interazioni agonistiche (postura minacciosa, difensiva e rigida/alta) si sono manifestate con minore frequenza (17,84%), quasi sempre nei confronti di conspecifici dello stesso sesso (Figura 1).

Comportamenti a confronto

Tutti i valori statistici per ciascun fattore dell'ANOVA a due vie sono riportati in Tabella II. Il test tra i gruppi non ha rivelato nel complesso notevoli differenze a T1, ad eccezione del comportamento di

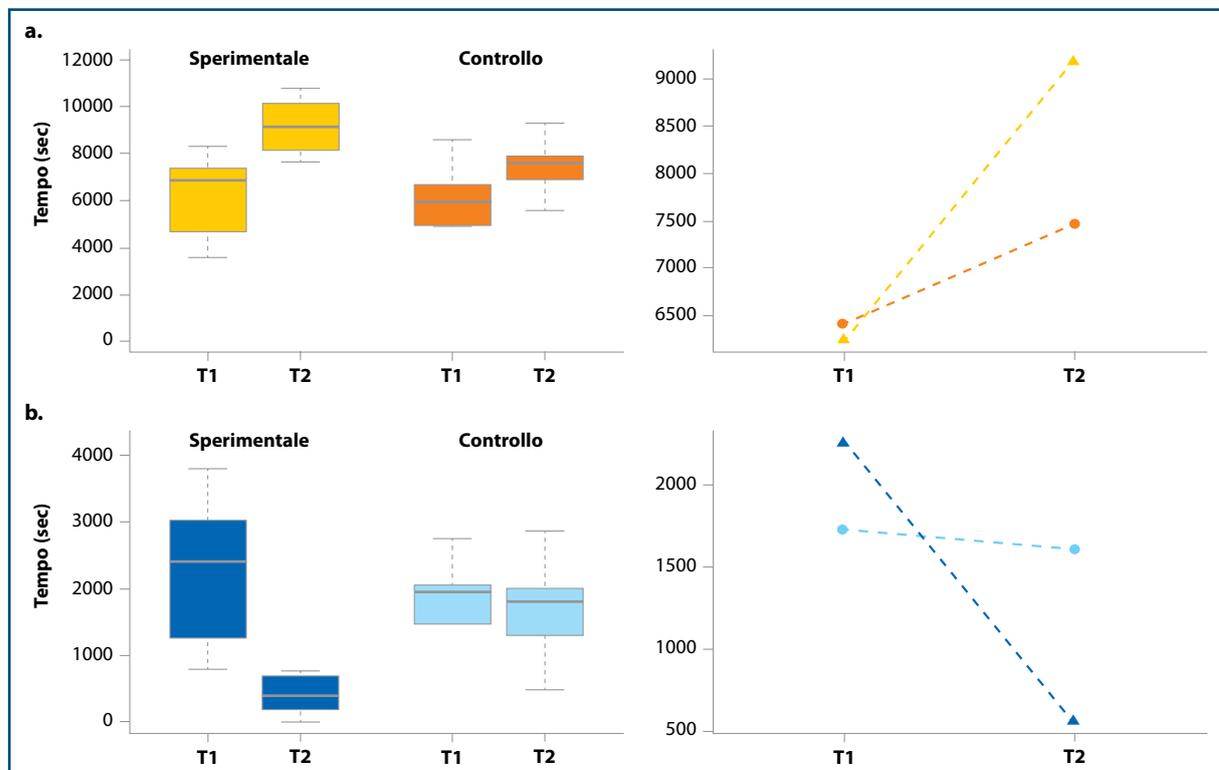


Figura 3. *Variazioni comportamentali.* Per le variabili comportamentali (a) decubito e (b) posizione quadrupedale, i box-plot rappresentano cambiamenti nella durata del comportamento tra le due fasi dello studio (T1 e T2) sia per i cani del gruppo sperimentale che per quelli del gruppo di controllo (confronti all'interno dello stesso gruppo). I grafici di interazione rappresentano la direzione del comportamento (linee tratteggiate crescenti o decrescenti) da T1 a T2 sia per il gruppo sperimentale (triangoli solidi) che per quello di controllo (cerchi solidi).

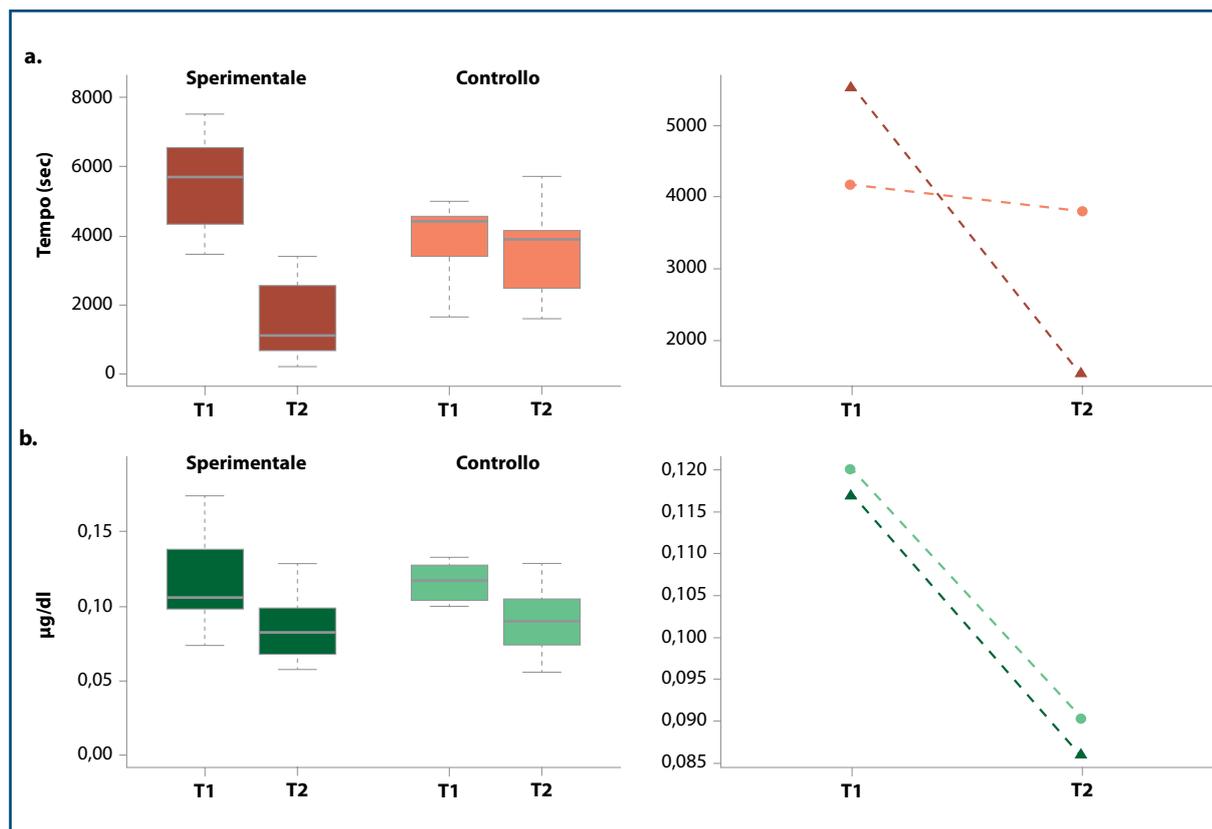


Figure 4. Variazioni comportamentali e dei livelli di cortisolo. Per la variabile comportamentale (a) esplorazione visiva e per la variabile (b) concentrazione dei livelli di cortisolo, i box-plot rappresentano i cambiamenti tra le due fasi dello studio (T1 e T2) sia per i cani del gruppo sperimentale che per quelli del gruppo di controllo (confronti all'interno dello stesso gruppo). I grafici di interazione rappresentano la direzione del comportamento o della concentrazione di cortisolo (linee tratteggiate crescenti o decrescenti) da T1 a T2 sia per il gruppo sperimentale (triangoli solidi) che per quello di controllo (cerchi solidi).

riposo. Tuttavia, la differenza non è stata confermata tramite analisi *Post-hoc*. Tale variabile è risultata anche altamente significativa per il fattore "tempo" dell'ANOVA. L'analisi *Post-hoc* ha mostrato un notevole incremento nella durata a T2 rispetto a T1 per entrambi i gruppi (IC controllo: $U=5230,3$; $L=297,3$; IC sperimentale: $U=7926,1$; $L=2693,8$).

Sei variabili (segnali comunicativi, decubito, posizione quadrupedale, trotto, esplorazione visiva e cammino) hanno mostrato un notevole effetto dei fattori "tempo" e "interazione tempo-gruppo". Quando i cani sperimentali sono stati trasferiti dal confinamento di gruppo all'alloggiamento a coppie, è emerso un notevole calo della durata di due comportamenti attivi, trotto e camminare (Figura 2). In media i cani hanno camminato l'86% in meno e hanno trotto il 95% in meno (Tabella III). L'espressione di altri tre comportamenti (decubito, posizione quadrupedale ed esplorazione visiva) è stata anche influenzata dal mutamento delle condizioni di confinamento (Figure 3 e 4). I cani sperimentali alloggiati nei box hanno trascorso notevolmente più tempo in posizione di decubito (IC T2-T1: $U=4504,9$; $L=1387,5$), notevolmente meno tempo in piedi (IC T2-T1: $U=-755,6$; $L=-2627,3$) ed esplo-

rando visivamente (IC T2-T1: $U=-1953,8$; $L=-6010,4$) rispetto all'alloggiamento di gruppo. Dopo il trasferimento nei box, la durata della manifestazione dei segnali comunicativi (annusare conspecifici e sguardo sociale) nei cani sperimentali è calata in media dell'86,7% (Tabella III). Ciononostante, secondo il test *Post-hoc* con applicazione della correzione di Bonferroni ($p=0,039$) la differenza non si è confermata significativa.

L'ANOVA ha evidenziato un significativo valore p per la variabile di esplorazione olfattiva (Tabella II). Il test per campioni appaiati di Wilcoxon ha individuato un notevole calo tra T1 e T2 rispetto al periodo di tempo trascorso dal gruppo sperimentale nel mostrare tale comportamento ($V=1$, $p=0,015$). Un incremento nel periodo di tempo medio trascorso per l'auto-grooming è stato osservato in entrambi i gruppi di cani (Tabella III). Tuttavia, i test *Post-hoc* hanno rivelato un incremento significativo soltanto per i cani di controllo ($V=44$, $p=0,008$).

Dall'analisi ANOVA sono emersi altri valori significativi come: scavare, scodinzolare, vocalizzi prolungati e comportamenti alimentari. Tuttavia, il confronto *Post-hoc* non ha confermato tali differenze.

Confronto delle concentrazioni di cortisolo

Da 102 campioni di saliva prelevati durante le due fasi dello studio, 5 sono stati scartati per insufficienza di materiale fisiologico. L'analisi è stata effettuata sui restanti 97 campioni. Il test ANOVA ha rivelato come i due gruppi di cani non differissero nei livelli di cortisolo a T1 ($F=0,15$, n.s.), ma che vi è stato un notevole effetto del fattore tempo ($F=18,47$, $p<0,001$). La Figura 4 mostra un calo nel livello di cortisolo da T1 a T2, tale mutamento è risultato consistente per ambedue i gruppi di cani (interazione: $F=0,01$, n.s.).

Discussione

I canili dovrebbero essere rifugi temporanei per i cani randagi e abbandonati in attesa di una nuova dimora. Sfortunatamente, i sistemi di adozione sono spesso inadeguati a far fronte al gran numero di cani che entrano nei canili, mentre le politiche di non soppressione aumentano le probabilità che un cane possa trascorrere il resto della vita in canile, qualora l'animale non riesca a trovare una sistemazione alternativa o una famiglia che lo adotti. In Italia vi sono attualmente circa 150.000 cani ospitati in canili, di cui il 41%, secondo le stime, sono cani adulti (di età superiore a 4 anni) con scarsa possibilità di essere adottati (dati non pubblicati). In tale situazione, le condizioni di alloggiamento (ossia lo spazio fornito, gli stimoli ambientali e sociali) potrebbero avere un considerevole impatto sul benessere dei cani. Nel presente lavoro sono stati esaminati i potenziali effetti di due diverse condizioni di alloggiamento sul benessere di cani lungodegenti in canile. I cani alloggiati in gruppi hanno trascorso inattivamente buona parte del tempo d'osservazione e i livelli di attività (6,5%), in generale, sono stati inferiori a quelli registrati negli studi precedenti. Per esempio, Hubrecht e colleghi (15) hanno rilevato che i cani di canile sistemati in ampie recinzioni all'aperto (744 m²) hanno trascorso il 23,5% del loro tempo attivi a differenza dei cani da laboratorio in gruppi, sistemati in recinti al chiuso meno ampi (6,7 m²), che ne hanno trascorso il 19,1%. L'età dei soggetti potrebbe aiutare a spiegare alcune di queste differenze: nel presente studio, dai 5 ai 9 anni di età; nello studio di Hubrecht (15), 1,7 anni di età media. Poiché l'età e il periodo di tempo trascorso nel canile sembrerebbero influire sui livelli di attività dei cani (30), questi aspetti dovrebbero essere presi in considerazione nella determinazione delle strategie di confinamento per i cani. Gli animali del presente studio hanno trascorso poco tempo in attività locomotorie, con il trotto quasi assente quando i cani hanno alloggiato nelle recinzioni più piccole. Tali risultati convergono con quelli dei precedenti studi, mostrando cali nell'attività e nella locomozione dovuti a limitazioni sociali

e di spazio (11, 15). Altri autori (6, 13) hanno rilevato un incremento nell'attività locomotoria in condizioni di alloggiamento più austere. Tale incremento è stato associato a elevati livelli di stress, sottolineando che l'attività di per sé non è necessariamente un buon indicatore di benessere.

La qualità dell'attività potrebbe essere rilevante a questo proposito. Le attività locomotorie stereotipate sono solitamente un segno di stress cronico e di scarse condizioni di benessere se associate all'alloggiamento a lungo termine (17). Le stereotipie sono state descritte nella categoria di comportamenti attivi ripetitivi dell'etogramma. Le attività ripetute non sono sempre un riflesso diretto di scarso benessere, ma potrebbero far parte di una strategia per far fronte a condizioni di stress (12, 13). Nel presente studio, i comportamenti attivi ripetuti (andatura rapida e girare in cerchio) si sono manifestati in modo sporadico (0,3% del tempo totale d'osservazione) in alcuni soggetti, specie in quelli alloggiati in gruppo, probabilmente in risposta a momenti di elevata eccitazione dovuta a stimoli esterni. Il comportamento inattivo ha presentato variazioni in relazione alle diverse condizioni di alloggiamento: i cani nei box hanno trascorso un tempo maggiore in posizione di decubito e i cani nei recinti di gruppo hanno trascorso più tempo in piedi. La postura quadrupedale si è rilevata più vantaggiosa nelle recinzioni all'aperto, in quanto il muro in cemento intorno al perimetro non ha consentito al cane di poter vedere l'ambiente esterno da una posizione sdraiata. Inoltre, i cani alloggiati in gruppi hanno trascorso un tempo maggiore attivi, camminando o trotando, aumentando il tempo trascorso in piedi anziché sdraiati. Sebbene non sia stato sempre possibile vedere se gli occhi del cane fossero aperti o chiusi, quando i cani si sono presentati sdraiati con la testa appoggiata a terra (comportamento di riposo), si è supposto che i soggetti stessero dormendo o riposando.

È dimostrato che un ritorno a modelli di sonno ordinari rappresenta, in diverse specie, un indicatore dell'adattamento dell'animale a una situazione ambientale nuova (24). Hetts e colleghi (11) hanno rilevato che i soggetti che dormono di meno sono quelli confinati in condizioni più austere (ad es. isolati socialmente). Nel presente studio non sono stati documentati i modelli di riposo dei cani, ma si è osservato che i soggetti alloggiati a coppie hanno trascorso un tempo maggiore riposando (in media il 38,1% in più) rispetto alla condizione di alloggiamento in gruppo. Un ambiente inadatto potrebbe inibire gran parte dell'attività dell'animale, portando a una compromissione del suo stato di benessere. Tuttavia, la medesima tendenza è emersa anche per i cani nel gruppo di controllo e nessun effetto della condizione di alloggiamento è stato rilevato dall'ANOVA. Pertanto, tale variazione non può essere considerata di per sé indicatore di uno stato di benesse-

re compromesso. In studi futuri, misure psicologiche accurate dei modelli di sonno potrebbero fornire uno strumento attendibile per la valutazione della velocità di adattamento dei cani a nuove o diverse condizioni di alloggiamento.

L'auto-grooming è un altro comportamento la cui frequenza aumenta come conseguenza delle restrizioni sociali e di spazio (4). Sebbene le attuali conoscenze abbiano individuato qualche variazione di tale comportamento, questo non risulta legato al cambio di alloggio. Precedenti studi hanno anche osservato come i cani intraprendessero maggiormente l'auto-grooming unitamente ad un comportamento legato a ridotti stati di stress, di allerta e alla ricerca di attenzioni, rispecchiando forse un miglior livello di benessere (13, 23). Nel presente studio è stato rilevato solo un significativo effetto del fattore tempo nel gruppo di controllo. Considerato l'incremento dei tempi di riposo osservato, si potrebbe suggerire che tali variazioni fossero legate all'abitudine e ad una minore eccitazione dei cani.

Quando si valuta il benessere animale, l'attenzione va solitamente sugli indicatori di stress e sugli stati emotivi negativi (32). Tuttavia, un buono stato di benessere è il risultato di stati emotivi positivi: comportamenti giocosi e affiliativi, per esempio, sono spesso considerati indicatori di benessere (9). Sebbene il comportamento sociale si sia manifestato per solo lo 0,3% del tempo di osservazione complessivo, la descrizione e il target del tipo di interazione sociale possono spiegare le dinamiche sociali nel confinamento dei cani alloggiati in gruppo. Quando i cani hanno interagito con i conspecifici, i soggetti alloggiati nei recinti di gruppo hanno trascorso giocando buona parte del loro tempo d'interazione sociale. Il gioco sociale si è manifestato principalmente nei confronti dei compagni di recinto di sesso opposto. I comportamenti agonistici (postura minacciosa, rigida/alta) sono stati rari, quando rilevati sono risultati principalmente diretti verso i compagni di recinto dello stesso sesso. Sebbene la scelta delle coppie da trasferire nei box non sia stata arbitraria, tali risultati tendono a supportare la scelta di abbinare animali di sesso opposto e compatibili per evitare problemi di gestione e aggressioni. Infatti, nella condizione di alloggiamento a coppie, le interazioni sociali sono state sempre positive (giocose e amichevoli), mentre il comportamento agonistico non si è mai presentato. Un compagno di recinto appropriato in condizione di confinamento potrebbe aiutare ambedue gli animali a far fronte al nuovo ambiente, tuttavia si richiedono ulteriori studi al fine di determinare il valore di tale ruolo.

Come evidenziato in lavori precedenti, la presenza di altri conspecifici e di un ambiente arricchito può suscitare la manifestazione di un comportamento naturale (22). Il confinamento di gruppo ha fornito

più stimoli sociali e ambientali (ad es. suolo, attrezzature, alberi) rispetto all'alloggiamento a coppie e, come previsto, i cani hanno manifestato comportamenti più esplorativi (visivi e olfattivi). Nel complesso, i confronti statistici e i valori medi hanno mostrato cani motivati a esprimere comportamenti quali: scavare nel terreno, dare segnali comunicativi e scodinzolare quando alloggiati nei recinti all'aperto rispetto all'alloggiamento a coppie. Tuttavia, tali differenze non sono state confermate dall'analisi *Post-hoc*. Una più ampia raccolta di dati potrebbe contribuire a chiarire tali risultati. Il cortisolo salivare è ritenuto una valida misura per la valutazione dello stress acuto e cronico nei cani (2, 5), sebbene elevate concentrazioni siano prodotte anche in risposta a momenti di eccitamento prolungato (13). Le attuali scoperte hanno individuato un notevole calo dei livelli di cortisolo, tra il primo e il secondo periodo della raccolta dati per ambedue i gruppi di cani, indipendente dal tipo di confinamento. Sebbene i livelli di cortisolo potrebbero essere stati influenzati dall'attesa di cibo, dall'arrivo del personale del canile o dalla manipolazione, è certo che il prelievo dei campioni di saliva è stato effettuato da veterinari del canile in maniera altamente standardizzata in entrambi gli intervalli di tempo, pertanto è improbabile che ciò sia stato l'origine di tale differenza.

Esaminando più in dettaglio i livelli basali di cortisolo salivare, riportati in altri studi, è stato rilevato che i dati sono piuttosto variabili. Beerda e collaboratori (5) hanno registrato un livello medio basale durante l'alloggiamento di gruppo all'aperto di $0,08 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ con notevoli variazioni tra le ore del mattino (prima delle ore 10,00) e il resto della giornata. In un altro studio (3) il livello basale rilevato è stato mediamente pari a $0,22$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ e il campionamento effettuato dopo le ore 10,00. Horvath e collaboratori (14) hanno registrato un livello base medio di $0,12 \pm 0,11$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ durante il campionamento effettuato al mattino e di $0,07 \pm 0,07$ $\mu\text{g}/\text{dl}$ durante il campionamento nel pomeriggio. Nel presente studio, il livello di cortisolo è stato in media di $0,12 \pm 0,002$ durante T1 e di $0,09 \pm 0,001$ durante T2. Di conseguenza è possibile asserire che fattori esterni (ad es.: variazioni di stagione, condizioni ambientali non documentate come parte dello studio) potrebbero aver influito su tale mutamento fisiologico, ma che i valori rilevati rimangano nel complesso entro i livelli basali della concentrazione di cortisolo salivare registrati per la specie. Un campionamento più frequente dei livelli di cortisolo (5) avrebbe potuto fornire una più chiara curva di adattamento dei soggetti alle condizioni di alloggio.

In termini di praticità, l'alloggiamento a coppie nei box risulta essere migliore: gli animali possono essere gestiti più facilmente, vi è un maggior grado di controllo sull'igiene e sullo stato sanitario e il rischio di interazioni agonistiche tra i compagni di recinto

è ridotto (25, 31). Tuttavia, una gestione e un monitoraggio attento delle strutture adibite all'alloggiamento di gruppo possono ridurre buona parte dei rischi associati a questo sistema. Nel presente studio non si sono verificati gravi attacchi tra i cani alloggiati in gruppi e i dati clinici non hanno rivelato alcun aumento nella prevalenza di problemi sanitari rispetto all'alloggiamento a coppie.

Un calo generale in molte attività (ad es.: locomotorie, sociali ed esplorative) è stato rilevato quando i cani sono stati trasferiti dalla condizione di alloggiamento di gruppo a quella di alloggiamento a coppia, confermando che le restrizioni di spazio e la parziale deprivazione sociale possono aumentare l'inattività dei cani adulti lungodegenti in canile. Ciononostante, andrebbe rilevato che i cani alloggiati a coppie nel presente studio hanno avuto accesso, tutti i giorni, a recinti all'aperto e che il comportamento manifestato durante questo arco di tempo non è stato registrato. È possibile che correre e giocare durante i periodi di esercizio all'aperto possa aver ridotto nei cani il desiderio di attività esplorative, sociali e locomotorie quando questi si sono trovati nei loro box abituali. Sebbene notevoli variazioni nel comportamento siano state associate alle diverse condizioni di confinamento, non sono stati rilevati altri segni evidenti che indicassero come una forma di confinamento avesse ridotto più dell'altra il benessere di questi animali.

Identificare una condizione di confinamento a vita per i cani degenti in canile, che sia economicamente

sostenibile e accettabile dal punto di vista etico, è una sfida notevole. Molti fattori concorrono ad aiutare un cane nel processo di adattamento quando si presenta un nuovo ambiente o una situazione impegnativa. I risultati del presente studio forniscono ulteriori spunti in merito agli effetti del confinamento sui cani lungodegenti in canile, concentrandosi sulle reazioni di animali adulti con esperienza in canile per 4 o più anni. Tali dati confermano anche che i parametri comportamentali sono indicatori sensibili delle reazioni del cane a nuovi ambienti di alloggio. Le attuali procedure di gestione e ulteriori indagini in questo ambito dovrebbero concentrarsi sulla variabilità individuale e sull'identificazione di misure standard relative all'animale (ad es.: salute, stato fisico, comportamento, ecc.) per fornire un chiaro sistema di valutazione del benessere per i cani ospitati in canile.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Loredana Annunziata e Giampiero Scortichini per il supporto professionale e Fabrizio Palucci per il lavoro di traduzione in lingua italiana.

Finanziamento

Questo progetto di ricerca è stato finanziato dal Ministero della Salute.

Bibliografia

1. Agresti A., & Finlay B. 2007. *Statistical Methods for the Social Sciences*, 2nd Ed. (Prentice Hall ed.), New Jersey, USA, 395-402.
2. Beerda B., Schilder M.B.H., Janssen N.S.C.R.M., & Mol J.A. 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol and catecholamine measurements for a non-invasive assessment of stress responses in dogs. *Horm Behav*, **30**, 272-279.
3. Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W. & Mol J.A. 1998. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Appl Anim Behav Sci*, **58**, 365-381.
4. Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W. & Mol J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioural responses. *Physiol Behav*, **66**, 233-242.
5. Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W. & Mol J.A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiol Behav*, **66**, 243-254.
6. Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W. & Mol J.A. 2000. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs. *Animal Welfare*, **9**, 49-62.
7. Clark J.D., Rager D.R., Crowell-Davis S. & Evans D.L. 1997. Housing and exercise of dogs: effects on behaviour, immune function, and cortisol concentration. *Lab Anim Sci*, **47**, 500-510.
8. Dalla Villa P., Kahn S., Stuardo L., Iannetti L., Di Nardo A. & Serpell J.A. 2010. Free-roaming dog control among OIE-member countries. *Prev Vet Med*, **97**, 58-63.
9. Fraser D. & Duncan I.J. 1998. 'Pleasures', 'pains' and animal welfare: toward a natural history of affect. *Animal Welfare*, **7**, 383-396.
10. Hennessy M.B., Davis H.N., Williams M.T., Mellott C. & Douglas C.W. 1997. Plasma cortisol levels of dogs at a county animal shelter. *Physiol Behav*, **62**, 485-490.
11. Hetts S., Clark J.D., Calpin J.P., Arnold C.E. & Mateo J.M. 1992. Influence of housing conditions on beagle behaviour. *Appl Anim Behav Sci*, **34**, 137-155.
12. Hewson C.J., Hiby E.F. & Bradshaw J.W.S. 2007. Assessing quality of life in companion and kennelled dogs: a critical review. *Animal Welfare*, **16**, 89-95.
13. Hiby E.F., Rooney N.J. & Bradshaw J.W.S. 2007. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels. *Physiol Behav*, **89**, 385-391.
14. Horvath Z., Igyarto B.-Z., Magyar A. & Miklosi A. 2007. Three different coping styles in police dogs exposed to a short-term challenge. *Horm Behav*, **52**, 621-630.
15. Hubrecht R.C., Serpell J.A. & Poole T.B. 1992. Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs. *Appl Anim Behav Sci*, **34**, 365-383.
16. Hubrecht R.C. 1993. A comparison of social and environmental enrichment methods for laboratory housed dogs. *Appl Anim Behav Sci*, **37**, 345-361.
17. Hubrecht R.C. 2002. Comfortable quarters for dogs in research institutions. In *Comfortable quarters for Laboratory Animals* 2nd Ed. (V. Reinhardt & A. Reinhardt, ed). Animal Welfare Institute, Washington DC, USA, 56-64.
18. Hughes H.C. & Campbell S.A. 1990. Effect of primary enclosure size and human contact. In *Canine Research Environment* (J.A. Mench & E. Krulisch, ed). Scientists Center for Animal Welfare, Bethesda MD, USA, 66-73.
19. Italian Law, 281/1991. Legge quadro in materia di animali d'affezione e prevenzione del randagismo. *Off J*, **203**, 30 August 1991.
20. Matteri R.L., Carroll J.A. & Dyer C.J. 2000. Neuroendocrine response to stress. In *The Biology Of Animal Stress* (G.P. Moberg & J.A. Mench, ed). CABI Publishing, Wallingford UK, 43-76.
21. Meers L., Normando S., Odberg F.O. & Bono G. 2004. Behavioural responses of adult beagles to interruption in a walking program. In *Proc. Companion Animal Behaviour Therapy Study Group Study Day*, 31st March 2004, (Heath S.E. ed.), Birmingham, 41-42.
22. Mertens P.A. & Unshelm J. 1996. Effects of group and individual housing on the behaviour of kennelled dogs in animal shelters. *Anthrozoos*, **9**, 40-51.
23. Rooney N.J., Gaines S.A. & Bradshaw J.W.S. 2007. Behavioural and glucocorticoid responses of dogs (*Canis familiaris*) to kennelling: investigating mitigation prior to habituation. *Physiol Behav*, **92**, 847-854.
24. Ruckebusch Y. 1975. The hypnogram as an index of adaptation of farm animals to changes in their environment. *Appl Anim Ethol*, **2**, 3-18.
25. Sonderegger S.M. & Turner D.C. 1996. Introducing dogs into kennels: prediction of social tendencies to facilitate integration. *Animal Welfare*, **5**, 391-404.
26. Stephen J.M. & Ledger R.A. 2006. A longitudinal evaluation of urinary cortisol in kennelled dogs, *Canis familiaris*. *Physiol Behav*, **30**, 911-916.
27. Tuber D.S., Hennessy M.B., Sanders S. & Miller J.A. 1996. Behavioural and glucocorticoid responses of adult domestic dogs (*Canis familiaris*) to companionship and social separation. *J Comp Psychol*, **110**, 103-108.
28. Tyson E.J. 2005. Behavioural and physiological measures of stress in dogs (*Canis familiaris*) in a rescue shelter. Thesis, Royal School of Veterinary Studies, University of Edinburgh UK.
29. Weipkema P.R. & Schouten W.P.G. 1990. Mechanisms of coping in social situations. In *Social stress in domestic animals* (R. Zayan & R. Dantzer, ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston and London, 8-24.
30. Wells D.L., Graham L. & Hepper P.G. 2002. The influence of length of time spent in a rescue shelter on the behaviour of kennelled dogs. *Animal Welfare*, **11**, 317-325.
31. Wells D.L. 2004. A review of environmental enrichment for kennel dogs, *Canis familiaris*. *Appl Anim Behav Sci*, **85**, 307-317.
32. Yeates J.W. & Main D.C.J. 2008. Assessment of positive welfare: a review. *Vet J*, **175**, 293-300.