



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA
DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE VETERINARIE
XXXII ciclo

Coordinatore: Prof.ssa Adtiana Ferlazzo

*Validazione di metodi utili alla valutazione di idoneità degli asini
impiegati negli IAA nel pieno rispetto del benessere animale*

Tesi di Dottorato di Ricerca della
Dott.ssa Emanuela Tropia

Docente Tutor
Chiar.mo Prof. Michele Panzera

Triennio 2016-2019

Sommario

1	- Introduzione	3
2	- Filogenesi di <i>Equus asinus l.</i>	5
3.	Caratteristiche etologiche di <i>Equus asinus L.</i>	10
3.1	- Struttura Sociale.....	15
3.2	- <i>Diadi</i>	18
3.3	- <i>Comunicazione</i>	20
4	- Gli IAA con gli asini	21
5.	Sulla componente cardiaca delle ripercussioni neurovegetative dell'omeostasi emozionale ..	22
5.1	- Heart Rate Variability (HRV)	24
6.	L'espressione delle emozioni	31
7.	Scopo della tesi.....	43
8.	- Materiali e metodi	47
	FASE A:- Compilazione dell'etogramma diurno dei gruppi GC e GS.	47
	Fase B - Metodologia di acquisizione dei dati fisiologici	63
	FASE C – Analisi e codifica della facies asinina (<i>Facial Action Coding System – FACS</i>).....	65
8.1	Metodologia di acquisizione dei dati etologici.....	69
	Test di valutazione dell'idoneità comportamentale dell'asino da adibire agli IAA.....	81
	Test di evitamento –.....	81
	Test del temperamento.....	83
8.2	- INDICATORI ETOLOGICI	83
9.	Risultati.....	89
9.1	Etogramma diurno asini gruppi controllo GC1 e GC2	89
9.1.1	- Etogramma diurno dell'asino di razza Jeusalem	89
9.1.2	- Etogramma diurno dell'asino di razza Sarda	93
9.1.3	- Etogramma diurno dei gruppi sperimentali GS.....	99
9.2	DATI CARDIOFREQUENZIMETRICI	101
9.2.1	HR GRUPPI GC.	101
9.2.2	DATI HR e HRV GRUPPI GS	102
10.	Discussioni e conclusioni	109
11.	Bibliografia	114

1 - Introduzione

La relazione affettiva con gli animali nasce dal bisogno di relazioni di tipo emotivo e si evolve fino alle relazioni di cura secondo le metodologie degli Interventi Assistiti con gli Animali (IAA), già pet therapy.

Con gli IAA si afferma, sempre più, una nuova visione della relazione uomo-animale che pone quest'ultimo su un piano di assoluta parità nella relazione, non più considerato come oggetto, strumento o mezzo da utilizzare per raggiungere un obiettivo educativo o terapeutico, ma coinvolto nel processo di miglioramento della qualità della vita dell'utente/paziente non come animale in quanto tale ma per la relazione che è capace di innescare.

L'animale deve essere riconosciuto come individuo e, a fondamento del valore della relazione uomo-animale, deve essere valorizzata la comunicazione emozionale che ogni animale è capace di esprimere. L'asino – fra tutti gli animali adibiti agli IAA - mostra una particolare intelligenza di tipo emozionale, spesso confusa con la sfera della sensibilità e grazie alle sue caratteristiche etologiche di tipo sociale, trasferisce la “tendenza verso l'altro” (modernamente intesa come empatia) e la spinta innata alla comunicazione emozionale nella relazione di cura, facendo sì che diventi un interlocutore d'elezione nell'ambito terapeutico dei disturbi emozionali e mentali.

Un'altra caratteristica che contraddistingue l'asino, rispetto al cavallo, è la sua bassa reattività alle stimolazioni. A livello operativo ciò implica un minore potenziale di rischio, unitamente ad un maggior grado di prevedibilità, il che permette di effettuare il setting all'interno di un contesto sufficientemente protetto. Questa caratteristica dell'animale pone il coadiutore e l'utente/paziente in una condizione di tranquillità e favorisce l'espressione dei vissuti emozionali, la loro rielaborazione e un migliore equilibrio comunicativo. Possiamo immaginare che l'asino divenga nel trattamento un mediatore della relazione, ossia che faccia da ponte tra il terapeuta e l'utente. Si differenzia, inoltre, dal cane e dal cavallo per i tempi di reazione più dilatati, rendendo disponibile un tempo di mediazione che l'operatore umano può utilizzare per interpretare i comportamenti e dare significato a quanto accade.

La dimensione corporea dell'animale (solo in alcune razze asinine simile a quella di un cavallo) suscita in chi vi si relaziona l'istanza paterna e parallelamente del maternage nel prendersene cura. Le caratteristiche dell'asino che lo rendono, dunque, particolarmente predisposto alla relazione di cura sono: dimensioni, lentezza nelle reazioni, disponibilità alla relazione.

Partendo dalle caratteristiche etologiche di base dell'asino, posizione dialogica, bassa reattività, disponibilità alla relazione, curiosità, interesse, scarsa propensione al distacco e alla separazione, attraverso il management che rispetti gli stili di vita dell'animale, è possibile valorizzare e sfruttare la loro predisposizione all'attaccamento affinché l'animale riproduca le caratteristiche del legame intraspecifico in modo interspecifico.

Un asino con attaccamento sicuro non manifesta comportamenti reattivi ma si pone nella relazione dialogica con disponibilità e interesse fiducioso verso il partner della relazione.

Questa caratteristica è fondamentale a livello terapeutico in quanto, anche di fronte al paziente che manifesta comportamenti aggressivi, l'asino non reagisce e solo nel caso di episodi francamente aggressivi, adotta reazioni di evitamento o di allontanamento. Un aspetto che merita di essere sottolineato è la relazione che viene vissuto dal paziente con piacere e disponibilità grazie al fatto che l'asino crea fin da subito un atmosfera accogliente e non giudicante.

Dalla rassegna bibliografica sistematica degli effetti delle terapie assistite con il cavallo e l'asino (Bieber, 1998; Butt, 1998; Lechner et al., 2007; Silkwood-Sherer et al., 2007; Snider et al., 2007; Sterba, 2007; Hallberg, 2008; Murphy et al., 2008; Debuse et al., 2009; McGee a. Reese, 2009; Tseng et al., 2013; De Santi set al., 2017) emerge che negli IAA con l'ausilio del cavallo prevalgono quelli rivolti ai benefici fisici di tipo posturale e cinetici e, più in generale, di tipo chinesiologico, mentre negli IAA con l'ausilio dell'asino prevalgono quelli rivolti ai benefici riguardo alla salute mentale, agli approcci coterapeutici nei disturbi emozionali e delle funzioni comunicative e nel ritardo mentale.

I dati bibliografici citati dimostrano che le caratteristiche biomeccaniche e cinematiche della deambulazione del cavallo favoriscono il miglioramento dell'insieme dei parametri relativi alla chinesiologia ed alla psicomotricità, mentre se nei riguardi cinematici l'asino non consente particolari benefici, nei confronti invece della relazione di cura, la mediazione dell'asino consente di pervenire al miglioramento delle funzioni comunicative e della salute mentale, grazie alla sua maggiore sensibilità empatica.

Nel più ampio termine degli attuali Interventi Assistiti con gli Animali (IAA), ("Conferenza Stato-Regioni del 25 marzo 2015) è compresa l'onoterapia che rientra nelle Terapie Assistite con gli Animali (TAA). Per indicare l'attività che si svolge con l'ausilio dell'asino, esistono molte espressioni: *Onoterapia e Asinoterapia* (TAA), *Mediazione con l'asino* (EAA), *Ludonkey e onodidattica* (AAA). L'ausilio di un animale come l'asino è, tuttavia, strettamente connesso alla fruizione di spazi naturali. Adibire un asino agli IAA acquisisce valore terapeutico o educativo solo a condizione che l'ambiente della relazione o di cura sia idoneo alle sue caratteristiche comportamentali, al fine di svolgere un ruolo di aiuto e di recupero nei confronti di coloro che sono in una condizione di disagio.

2 - Filogenesi di *Equus asinus* L.

Equus asinus L. è un ungulato domestico diffuso in tutto il mondo. Appartiene alla Classe dei Mammiferi, Ordine dei Perissodattili, Famiglia degli Equidi, Genere *Equus* e alla Specie *asinus*. L'evoluzione delle specie del genere *Equus* è stata documentata da prove fossili e genetiche, invece per quanto riguarda la linea evolutiva dell'asino, non vi è ancora condivisione sulle modalità dei processi evolutivi (Oakenfull et al., 2000), per come verrà successivamente sostanziato.

La filogenesi tassonomica della Famiglia degli Equidi identifica diversi generi molto differenti dall'unico oggi vivente: *Equus*. Il primo centro di diversificazione è stato identificato in Nord America durante il Periodo Terziario della storia geologica (MacFadden, 1998). In quanto membro della famiglia degli Equidi, l'asino è posizionato insieme agli altri equidi di più recente differenziazione nel genere *Equus*. Il cavallo domestico, *Equus caballus* L., risulta essere la specie rappresentativa per il genere *Equus*, anche se essa costituisce solo una delle diverse specie viventi, fra le quali fanno parte anche il cavallo Przewalski (*Equus ferus Przewalski*), l'asino Africano (*Equus africanus*), l'asino Asiatico o emione (*Equus hemionus*), il khur (*Equus khur*), il kiang (*Equus kiang*), la zebra di pianura (*Equus qagga*) ed altre specie minori.

Nella comunità scientifica si ritiene che *Equus caballus* sia l'*Equus* più vicino agli Equini (per alcune caratteristiche comuni, tra cui la fossa dorsale preorbitale, la dentizione e le caratteristiche del dorso), mentre esistono diverse linee di pensiero riguardo l'esatta linea ancestrale dell'*Equus*. A causa del complesso di depressioni facciali nel *Pliohippus* (e l'assenza nell'*Equus*), MacFadden (1998) ha dedotto che la linea ancestrale dell'*Equus* non sia quella del *Pliohippus* ma del *Dinohippus*, con scarso sviluppo delle fosse facciali e le caratteristiche dentali. Le classi primitive degli equini erano tridattili mentre le forme avanzate di *Pliohippus*, *Astrohippus* e *Dinohippus* erano monodattili.

Nelle forme monodattili rimasero solo delle dita vestigiali, quali lunghe spine ossee da ciascun lato dello stinco (metacarpi e metatarsi accessori). Sulla base di analisi del DNA mitocondriale è stato possibile stabilire che l'antenato comune della specie *Equus* visse approssimativamente 3,9 milioni di anni fa (George a. Ryder, 1986). In circa 4 milioni di anni dalla loro prima comparsa, i membri del genere *Equus* migrarono verso mete differenti in momenti diversi.

Ciascuna di queste specie aveva forma distinta e abitudini proprie. I cavalli abitavano le terre dell'Eurasia a nord delle grandi montagne, gli emioni, i khur e i kiang occuparono le aride zone dell'Asia, dal deserto del Gobi alla Siria, fino al nord-est dell'India mentre *Equus asinus* si diffuse primariamente lungo la zona del nord dell'Africa.

Le tecniche di biologia molecolare hanno fornito importanti indicazioni riguardo le linee della speciazione del genere *Equus* rappresentate da zebre, asini e cavalli (George a. Ryder, 1986; Orlando et al., 2013).

I più recenti studi di genetica (Heintzman et al., 2017) indicano che la linea del cavallo si separò da quella dell'asino e della zebra da 2 a 4 milioni di anni fa (Heintzman et al. 2017). Dall'*Equus ferus*, la specie progenitrice di *Equus caballus*, in seguito ad addomesticamento e allevamento di diverse sottospecie in Eurasia, derivano le specie oggi note come cavallo domestico (*Equus caballus* L.) e il cavallo selvatico della Mongolia (*Equus ferus przewalskii*).

Per quanto riguarda la filogenesi dell'asino (*Equus asinus* spp.), *Equus asinus atlanticus*, ritrovato nel Terziario dell'isola di Pianosa e nel Quaternario recente algerino, viene sempre più avvalorata l'ipotesi secondo la quale questa specie è originaria dell'Africa dove era sicuramente conosciuta prima del cavallo.

La mancanza delle cosiddette "castagne", tipici rilievi cornei sulla superficie interna dell'avambraccio ed al lato interno del metatarso, aveva indotto alcuni Autori a pensare che l'asino fosse più lontano dalle forme ancestrali polidattili o, per lo meno, che ne costituisse un ramo parallelo evolutosi su di un'area geografica propria.

L'asino domestico discenderebbe dal selvatico africano, *Equus asinus africanus*, il cui mantello è di colore prevalentemente fulvo e grigio.

Dall'*Equus asinus africanus* deriverebbero due sottospecie, una sottospecie quasi estinta, di taglia minore e di altezza al garrese media di 1.16 m, con strisce scure in corrispondenza della linea dorso-lombare e alle spalle, formante con la prima, la cosiddetta linea crociata o croce di Sant'Andrea.

L'altra sottospecie *Equus asinus taeniopus*, di taglia maggiore e altezza al garrese intorno a 1.25 m, priva quasi sempre della linea crociata, si è originata lungo la zona costiera africana del Mar Rosso ed anche dell'Ogaden ed in Dancalia.

L'asino sarebbe stato addomesticato per la prima volta in Numidia, mentre in Europa la specie fu conosciuta più tardi, intorno al Neolitico.

Più in particolare (Beja-Pereira et al., 2004) nell'asino domestico sono presenti due linee materne o aplogruppi mitocondriali, chiamate Clade 1 e Clade 2.

Studi genetici (Forstén, 1992) hanno permesso di attribuire l'origine della Clade 1 all'asino selvatico della Nubia (*Equus africanus africanus*), sottospecie dell'asino africano che viveva, secondo le ultime documentazioni del XIX secolo, tra il nord del Sudan e l'Eritrea. Questa sottospecie è classificata dalla IUCN come "criticamente minacciata", anche se potrebbe essere ormai estinta dato che gli ultimi avvistamenti risalgono all'inizio degli anni '80.

La Clade 2, invece, non è stata riscontrata in asini selvatici attualmente presenti in natura. Si è escluso, quindi, il coinvolgimento dell'asino somalo, sottospecie dell'asino africano ora gravemente a rischio d'estinzione, quale antenato della forma domestica.

Si ipotizza quindi che questo aplogruppo derivi da un altro ramo di asino africano, ora estinto, di cui non si sono preservati campioni genetici. Ci sono prove archeologiche, infatti, di almeno 3 sottospecie di asino selvatico presenti in Africa fino ad almeno 2.000 anni fa: l'Asino somalo (*Equus africanus somaliensis*), presente tutt'ora, si ritiene con meno di 600 esemplari, in alcune aree della Somalia, dell'Etiopia e dell'Eritrea; l'Asino della Nubia (*Equus africanus africanus*), considerato ora estinto; e l'Asino atlantico (*Equus africanus atlanticus*), estinto durante l'epoca romana. Questi animali occupavano

un areale storico di distribuzione (con testimonianze risalenti fino ad almeno 20.000 anni fa) che comprendeva tutta l’Africa settentrionale spaziando dal Maghreb allo Yemen. (Kimura et al. 2010; 2013).

L’asino selvatico vive in località povere di vegetazione, desertiche e pietrose, grazie alla sua sobrietà e resistenza, che gli consentono anche periodiche migrazioni per le insufficienti disponibilità foraggere. Oltre che lungo le coste dell’Africa orientale-settentrionale, vive ed ha vissuto nella Siria, in Mesopotamia, nell’Afganistan, nella Persia, nella Russia asiatica meridionale, nel Tibet e nella Mongolia. L’asino sarebbe stato addomesticato per la prima volta in Numidia, mentre in Europa la specie fu conosciuta più tardi, intorno al Neolitico.

Class Mammalia

Order Perissodactyla

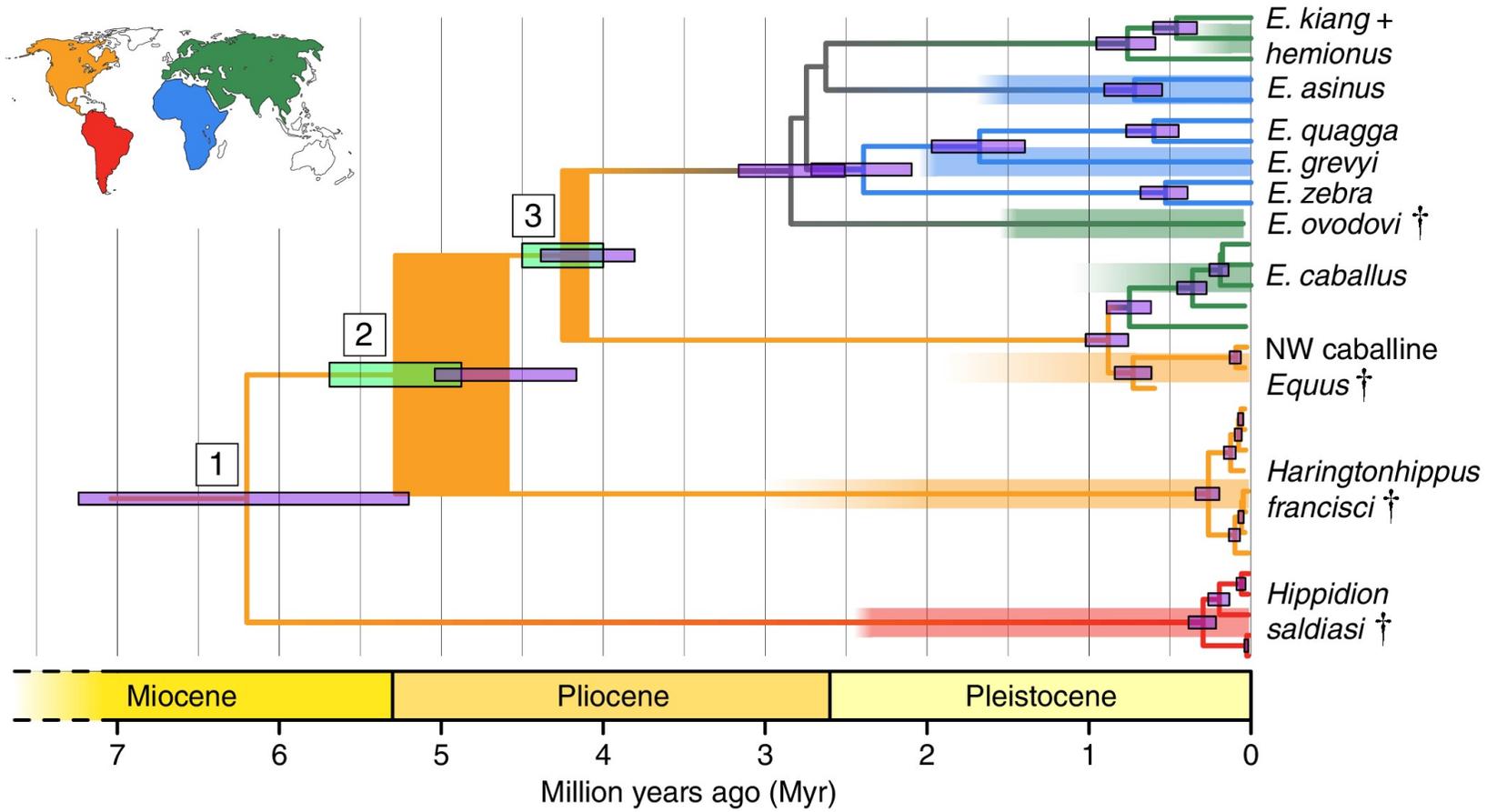
Family Equidae

Genus *Equus*

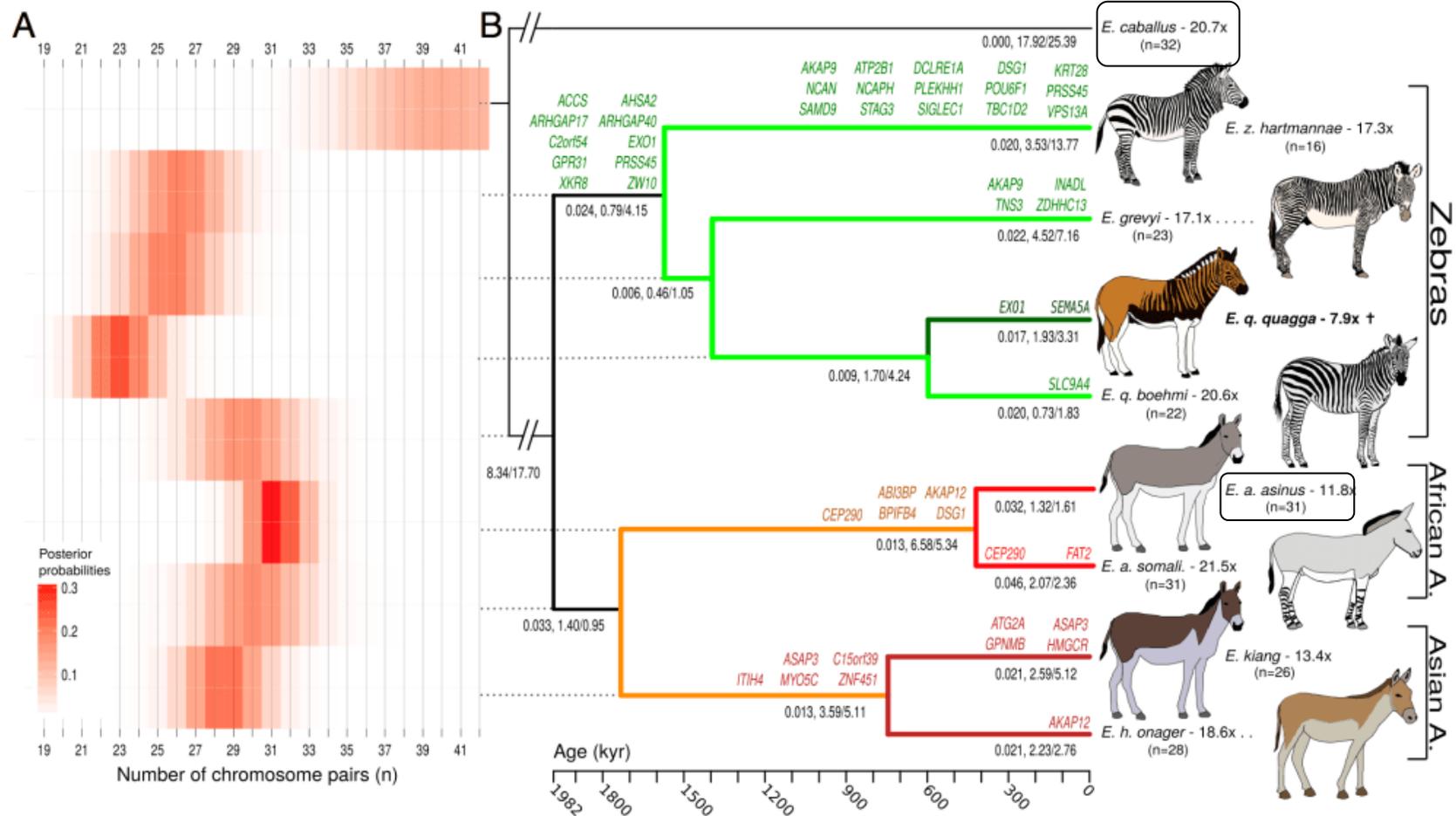
Species and extant subspecies

- (66) *Equus ferus przewalskii* (Przewalski’s horse, takh)
- (64) *Equus caballus* (domestic horse)
- (62–64) *Equus africanus* (African ass)
 - E. africanus africanus* (Nubian wild ass)
 - E. africanus somaliensis* (Somali wild ass)
- (62) *Equus asinus* (domestic ass, donkey, burro)
- (54–56) *Equus hemionus* (Asian ass, onager)
 - E. hemionus hemionus* (Mongolian wild ass, dzigettai)
 - E. hemionus kulan* (Turkmenian wild ass, kulan)
 - E. hemionus onager* (Persian wild ass, ghor-khar)
 - Equus khur* (Indian wild ass, khur)
- (50–52) *Equus kiang* (kiang)
 - E. kiang kiang* (Western kiang)
 - E. kiang holdereri* (Eastern kiang)
 - E. kiang polyodon* (Southern kiang)
- (46) *Equus grevyi* (Grevy’s zebra)
- (44) *Equus quagga* (plains zebra)
 - E. quagga burchelli* (Burchell’s, Chapman’s, or Damara zebra)
 - E. quagga boehmi* (Grant’s zebra)
 - E. quagga crawshayi* (Crawshay’s zebra)
 - E. quagga zambeziensis* (Upper Zambezi zebra)
 - Equus zebra* (Cape mountain zebra)
- (32) *Equus hartmannae* (Hartmann’s mountain zebra)

Tassonomia degli Equidi



da Heintzman et al., 2017



Filogenesi equina, scansione selettiva e variazioni dei cariotipi. (A) Ipotesi coppie cromosomiche per ciascun nodo ancestrale. (B) Cronogramma filogenetico della speciazione degli equidi basato sull'orologio molecolare. I nomi dei geni con selezione positiva sono riportati sopra i rami interessati. I numeri riportati sotto i rami si riferiscono ai tassi di perdita genica e dei guadagni e delle perdite del cromosoma, rispettivamente. I numeri delle coppie cromosomiche (forma dominante) sono indicati sotto i nomi delle specie. (da Jönsson et al., 2014, modificato)

3. Caratteristiche etologiche di *Equus asinus L.*

Tra le specie animali che l'uomo, attraverso il processo di addomesticamento (selezione genetica, attitudini produttive, ambiente di vita), ha plasmato e modificato facendoli nettamente differenziare dai consimili selvatici, la specie asinina – grazie al suo atavico ruolo di animale da lavoro – è rimasta pressoché inalterata nei riguardi degli aspetti morfologici e comportamentali..

Per come precedentemente detto l'asino, rispetto al cavallo, è filogeneticamente più antico, essendosi distaccato dal progenitore comune *Miohippus* nel periodo del Miocene ed ha conservato per lo più integre le caratteristiche di contattabilità, di aggregazione sociale e di mutualismo di specie equine affini quali l'Emione, l'Onagro ed il Quagga Murray et al., 2013; Regel et al., 2014).

Recenti indagini sulle caratteristiche comportamentali dell' asino domestico hanno evidenziato, infatti, che le conoscenze sull' etogramma di *Equus caballus L.* non trovano riscontro in quello di *Equus asinus L.*, caratterizzato da una distribuzione e organizzazione temporale degli stati comportamentali pressoché inalterata dall'addomesticamento.

Tra le specie predate, *Equus asinus L.* appartiene alle specie cosiddette “*precocial*”, cioè specie nelle quali al parto sono state adattivamente selezionate strategie di sopravvivenza consistenti nell'allontanamento della fattrice dal gruppo familiare per partorire, quanto più possibile, celandosi almeno visivamente ai predatori. Il redo ha tempi di alzata precoci, entro 30 minuti dal parto acquisisce la postura in stazione ed è in grado di seguire la madre essendo già adeguatamente sviluppata la reazione del seguire. Per questo motivo l'asino appartiene alle specie cosiddette “*follower*”, insieme al puledro, al vitello ed alle altre specie predate.

Già dalle prime ore di vita il redo è in grado di discernere gli stimoli tattili, olfattivi, visivi e sonori della madre; il riflesso della suzione è già presente alla nascita e può essere evocato stimolando meccanicamente le sue labbra, così come la complessa e coordinata sequenza motoria che sovrintende la ricerca del capezzolo e tra i primi comportamenti manifestati una volta acquisita la postura in stazione. Successivamente il redo, entro la seconda ora di vita, segue la madre ed entro la terza ora è già in grado di galoppare.

Tali precoci strategie neonatali hanno consentito agli equidi di affermarsi e di sopravvivere alla notevole pressione di innumerevoli specie predatorie.

La distanza che il piccolo mantiene dalla madre è proporzionale all'età, nel senso che il legame madre-puledro si allenta con la crescita.

Nella prima settimana di vita il redo trascorre la maggior parte del tempo nella postura in decubito laterale. Durante l'ontogenesi neonatale (dalla nascita allo svezzamento) diminuisce il tempo dedicato al sonno ed aumenta quello dedicato al gioco ed all'attività pascolativa.

La strategia di allattamento degli equidi è caratterizzata da suzioni brevi (della durata massima di un minuto) e frequenti (circa ogni 15-20 min.), il che oltre che confermare le

strategie antipredatorie della specie, evidenzia anche come la fisiologia della mammella si sia adeguatamente adattata.

Un aspetto significativo delle cure parentali nelle specie nidifughe è rappresentato dalle strategie di gestione del legame madre-figlio, soprattutto nei riguardi della protezione e difesa del puledro dagli altri componenti il gruppo.

La protezione del redo si realizza attraverso una rigida prossemica di prossimità. La prossimità è particolarmente intensa quando il redo si trova nella postura in decubito che rappresenta la condizione di potenziale rischio di aggressione.

Inizialmente i nuovi nati si dedicano all'attività pascolativa emulando la madre, dimostrando come anche nello sviluppo e maturazione dei moduli motori del comportamento alimentare, la facilitazione sociale svolge un ruolo importante; il tempo di pascolamento aumenta progressivamente con l'età, raggiungendo il 60-70% del tempo (come gli adulti) entro lo svezzamento naturale.

I giovani redi impegnano la maggior parte del loro tempo nell'attività ludica, essendone riconosciuta la sua importantissima funzione quale fondamentale esercizio fisico per le competizioni sociali che gli animali dovranno sostenere da adulti all'interno del gruppo.

Nelle prime due settimane di vita i redi giocano da soli galoppando intorno alla madre o mordendone le gambe e la criniera; quest'ultimo comportamento si consoliderà in seguito nell'allogrooming (toelettatura reciproca). Successivamente si consolida il gioco sociale, con differenze sessuali ben determinate: i maschi effettuano tentativi ludici di monta e combattimento, mentre le femmine, invece, effettuano gioco motorio ed allogrooming. Con l'avvento della pubertà diminuiscono le attività ludiche in generale e si stabilizza l'attività di pascolamento.

I redi di fattrici subordinate, subiscono un numero di aggressioni maggiori rispetto a quelle senza redo ed il continuo disturbo dei dominanti alle fasi di allattamento può provocare lo svezzamento precoce naturale.

Dopo il primo anno i redi, maschi e femmine, possono lasciare il branco della madre in qualsiasi momento. Solitamente lo svezzamento naturale precede le nuove nascite.

I maschi generalmente lasciano il gruppo natale tra i 2-3 anni d'età; la dispersione può essere volontaria o causata dalla femmina dominante negli asini e dallo stallone nei cavalli. Le giovani femmine, normalmente, restano nel gruppo natale e partecipano alle cure parentali dei nuovi nati, oppure possono seguire i giovani maschi o sono "rubate" da uno stallone per formare un nuovo gruppo familiare; la dispersione avviene di solito tra i 2-3 anni d'età durante il periodo estrale, mentre se restano nel gruppo natale il loro tasso di riproduzione sarà molto basso.

La facilitazione sociale garantita dalla vita nel gruppo deriva dai comportamenti emulativi della madre o dall'osservazione dei coetanei e degli altri membri del gruppo, solo così i giovani apprendono il comportamento più appropriato per ogni ruolo e contesto.

Come appartenenti a specie nidifughe, gli equidi hanno un sonno REM molto frammentato, caratterizzato da cicli di pochi minuti.

L'alternanza dei periodi di veglia vigile e rilassata e dei periodi di decubito sterno costale e laterale, sono rigidamente governati dalle regole sociali; i primi soggetti ad andare in

decubito sono i dominanti e si trovano sempre in posizione centrale rispetto a quelli in stazione o che pascolano, con un' alternanza periodica nel riposo o nella veglia.

E' interessante osservare come questi meccanismi si ritrovino anche in cattività, persino all' interno di una scuderia con box singoli, l'unica differenza sta nei tempi d'espressione, che dipenderanno dalle condizioni di stabulazione.

Com'è facile intuire, anche questo comportamento costituisce una strategia di sopravvivenza; l'animale durante le fasi di sonno NREM e REM, perde parzialmente e gradualmente il livello di vigilanza e l' organizzazione mutualistica del gruppo consente la realizzazione ed il soddisfacimento di tale fondamentale fase di ristoro.

L'asino, appartenendo alla Famiglia degli Equini vive, in condizioni naturali o in allevamenti semibradi in gruppi socialmente strutturati composti mediamente da 5-6/10-20 soggetti.

Il gruppo sociale asinino è prettamente matriarcale con, di norma, la femmina più anziana quale soggetto alfa e tali associazioni sociali sono chiamate gruppi familiari.

Il gruppo socialmente strutturato è il presupposto di base per l'espletamento delle principali categorie comportamentali dell'etogramma degli asini.

Il soggetto leader sarà diverso in base all' attività: ad esempio il soggetto che coordina gli spostamenti territoriali e di solito una femmina anziana; chi esplora il territorio alla ricerca delle fonti alimentari o idriche sono i soggetti "esploratori" che spesso si trovano nei punti periferici del gruppo e che non assumono, di solito, posizioni di dominanza; chi segnala i pericoli sono i soggetti "sentinella, i più vigili e reattivi; si possono, infine, osservare, i soggetti che regolano i tempi d'abbeverata e di pascolamento ed altri che danno inizio all'attività di gioco.

L'organizzazione gerarchica del gruppo si basa su due sistemi: quello della dominanza e quello dell' associazione.

La dominanza è stata definita come particolare forma di aggressività che comunica il rango, la priorità d'accesso alle risorse e consiste in un modello unidirezionale d'interazione agonistica.

In natura la strutturazione gerarchica del gruppo ne garantisce la compattezza, intesa quale efficace strumento anti-predatorio, in grado di minimizzare i conflitti e promuovere la stabilità.

Di conseguenza, l'ordine sociale dei gruppi si stabilisce rapidamente e le aggressioni manifeste sono relativamente rare; in pratica una volta che la gerarchia si è formata, espressioni d'aggressività ritualizzata saranno sufficienti a ristabilire l'ordine e rafforzano i legami, soprattutto in virtù del rispetto della fuga del contendente.

Generalmente il sistema di dominanza si approssima ad una gerarchia lineare: in teoria l'individuo alfa è dominante su tutti, mentre l'individuo omega è sottomesso a tutti, i soggetti intermedi sono a loro volta in posizione dominante su alcuni e sottomessi ad altri. Sono molti i fattori che intervengono nella determinazione della posizione di dominanza del singolo nel gruppo, come l'età, la dimensione corporea, il rango della madre.

Tale rappresentazione è sicuramente valida per i gruppi di piccole dimensioni, tuttavia nei gruppi di maggiori dimensioni è stato osservato che i rapporti gerarchici non sono sempre

lineari, anzi spesso sono osservati sistemi di dominanza circolare/triangolare, in cui il soggetto A può essere dominante su B, che è dominante su C, ma C può essere dominante su A.

L'ordine di dominanza è mantenuto da un complesso linguaggio posturale e mimicoespressivo, la stabilità sociale si basa sul riconoscimento del rango e sul rispetto degli spazi. Lo studio della prossemica degli equidi ha consentito di evidenziare come nello spazio gestito da un gruppo familiare, l'area centrale è utilizzata per il riparo ed il riposo (cosiddetto *home range*), mentre per ogni soggetto si possono distinguere:

- uno *spazio individuale*, necessario per i movimenti di base, che rappresenta lo spazio critico nel quale sono possibili reazioni difensive;
- uno *spazio di sicurezza*, che corrisponde alla via di fuga in caso di pericoli;
- uno *spazio sociale o personale*, rispetto agli altri membri del gruppo, in cui sarà ammesso esclusivamente il soggetto di pari rango.

L'associazione nel mondo equino, può essere riferita al *peer attachment* (attaccamento tra pari), definizione che indica la relazione tendenzialmente duratura che s'instaura fra individui e che negli equidi è facilmente osservabile sia in natura sia in cattività, delineandosi quindi come bisogno primario.

Per le giumente il *peer attachment* è una condizione che le accompagna per tutta la vita e nella maggior parte dei casi le associazioni si stabiliscono fra soggetti di rango ed età simile durante il pascolo, il riposo e il grooming.

Nell'asino, rispetto al cavallo, l'attività di grooming è maggiormente sviluppata e rappresenta il collante sociale per eccellenza. Non è raro osservare fra due soggetti, per parecchi minuti, il reciproco mordicchiamento del garrese. La presenza di tale atteggiamento di vincolo sociale è tipica delle specie socialmente più evolute e più esso è manifesto e maggiormente l'individuo risente dell'isolamento sociale a causa di sconfinamenti o separazioni dal gruppo di appartenenza.

Ritornando al *peer attachment*, le stesse associazioni possono non persistere in età adulta, anche se, tendenzialmente, quando i giovani lasciano il gruppo natale, lo fanno in coppia invece che da soli, per entrare a far parte di un altro gruppo sociale o, soprattutto se sono coppie miste, servire da nucleo per la formazione di un nuovo gruppo. I legami tra maschi in un gruppo di scapoli sono apparentemente deboli, dal momento che tali gruppi non sono di norma molto stabili.

Il linguaggio corporeo consente al soggetto dominante di far spostare il gruppo o singoli soggetti, senza contatto fisico, ma semplicemente usando modificazioni della propria posizione rispetto al campo visivo di chi deve essere guidato. Difatti negli spostamenti o nelle fughe esso si mantiene in retroguardia, di modo che gli sarà sufficiente una pressione, rappresentata dalla sua presenza, all'altezza dei posteriori, quindi in posizione periferica rispetto all'occhio; mentre per far cambiare direzione si pone in una posizione frontale

rispetto all'occhio, come un invito a non proseguire in quel senso di marcia; in ultimo, per fermarlo, si pone in una posizione leggermente anteriore all'occhio del soggetto che deve essere guidato.

L'aggressione fisica diretta o accompagnata da espressioni ritualizzate, si manifesta solo verso i soggetti di rango sociale più simile e può essere preceduta da vocalizzazioni indicatrici del rango di dominanza; è stato osservato, infatti, che soggetti subordinati emettono vocalizzazioni più brevi rispetto ai soggetti dominanti.

Le conoscenze acquisite relativamente alle strategie comportamentali di *Equus asinus L.* riguardano prevalentemente le popolazioni selvatiche o brade ed il loro etogramma è stato indagato riguardo ai comportamenti di mantenimento (alimentazione, abbeverata, stazione, decubito e deambulazione) ed a quelli sociali ed eliminativi (defecazione, urinazione, grooming, investigazione olfattiva, giuoco e vocalizzazioni) (Moehlman 1998a; 1998b; Rudman, 1998; Murray et al., 2013; Whitehead et al., 1991); risultano, invece, scarse le indagini etologiche, propriamente dette, nelle razze domestiche.

In letteratura risultano indagati i patterns comportamentali materni dell'asino di razza Martina Franca, in condizioni di management semiestensivo e conduzione dell'allevamento ai fini della produzione lattea, durante il periodo di allattamento dalla I settimana al VI° mese. La fattrice asinina di razza Martina Franca trascorre la maggior parte del tempo pascolando (30 - 47%), mentre quella selvatica può impegnare fino all'83.8%. Tale sensibile differenza è stata attribuita, fra l'altro, anche al livello nutritivo del pascolo (D'Alessandro et al., 2007).

In termini di comportamento sociale l'attività di grooming è risultata altamente rappresentata con un'aliquota percentuale compresa tra il 38,30% alla prima settimana di allattamento ed il 23,99% al I° mese di lattazione. Riguardo, invece, alle interazioni madre-figlio di tipo esse sono comprese tra il 7% ed il 14% dalla I settimana al III mese; si attestano intorno al 27% al IV mese e si mantengono pressoché invariate al V mese - 24% - ed al VI mese - 19,82%. I dati riferiti, tuttavia non riportano osservazioni comportamentali attinenti al redo di razza Martina Franca.

Da indagini condotte in merito alle componenti materne e filiali dell'etogramma diurno e notturno dell'asino di razza Pantasca, allevato in condizioni di semistabulazione ai fini della sua tutela, è emersa un'organizzazione temporale notturna degli stati comportamentale del redo e delle strategie parentali materne analoga a quelle delle specie selvatiche, evidenziandosi, ad esempio, che l'attività di vigilanza notturna della madre sul riposo del redo le impedisce, dalle 19.00 alle 07.00, di assumere la postura in decubito sterno costale (Malara et al., 2006; Innella et al., 2005).

Nostre indagini (risultati ancora non pubblicati) circa le eventuali ripercussioni della tipologia di management e di stabulazione ad indirizzo produttivo (latte) sugli aspetti più caratteristici del comportamento neonatale di *Equus asinus L.*, sono state effettuate attraverso lo studio dell'ontogenesi comportamentale del redo di razza Ragusana dalla nascita al 3° mese di vita. Limitatamente agli stati comportamentali di fondamentale importanza quali indicatori di adattamento o disadattamento alle condizioni di management, nell'etogramma diurno del redo di razza Ragusana, allevato in funzione della

produzione latte della madre, lo stato comportamentale percentualmente più rappresentato e quello della postura in decubito che presenta una omogenea evoluzione temporale positiva dal primo giorno di vita e fino al terzo mese, con valori percentuali più elevati in assoluto rispetto agli stati comportamentali di mantenimento e compresi nel range tra il 31% al 1° giorno ed il 43% al 90° giorno. Ciò appare in controtendenza rispetto alle naturali strategie adottate dalle specie nidifughe e predate che, grazie alla precocità di sviluppo e acquisizione di un' elevata reattività comportamentale, riescono a far fronte alle insidie naturali. Il confinamento in un ambiente monotono sembrerebbe aver indotto un abbassamento della soglia di reattività che conduce, fra l'altro, ad un rallentamento dello sviluppo e della maturazione di caratteristiche comportamentali, fondamentali per la sopravvivenza.

3.1 - Struttura Sociale

Nei mammiferi le variabili ambientali (quali il clima, la topografia e l'abbondanza e distribuzione di cibo, acqua, ripari e predatori) hanno un grande impatto sulla loro struttura sociale. La diffusione spaziale e temporale di risorse e conspecifici, che dipende direttamente dalle variabili ambientali, influisce non solo sulle dinamiche sociali, ma anche sulle strategie riproduttive delle specie (Rudman, 1998).

Klingel (1975), in uno studio che ha aperto il campo alla comprensione del comportamento sociale degli equidi selvatici, ha riconosciuto l'esistenza di due tipi diversi di struttura sociale e, di conseguenza, due diversi sistemi riproduttivi tra gli equidi.

- **Struttura sociale di tipo I** (cavallo, zebra comune e zebra di montagna): È caratterizzata da gruppi stabili (harem), non territoriali, formati da uno stallone adulto e una o più femmine con i loro puledri sulle quali lo stallone ha esclusivi diritti di accoppiamento. Gli altri stalloni vivono in gruppi di soli maschi chiamati *bachelor groups*. La componente femminile dell'harem rimane coesa nel tempo, mentre il maschio dominante può cambiare. I puledri, invece, rimangono all'interno del gruppo almeno fino ai 2 o 3 anni, poi molto spesso avviene la dispersione, con modalità e tempi diversi per maschi e femmine, ma molto spesso il giovane lascia il gruppo volontariamente.
- **Struttura sociale di tipo II** (asino selvatico, zebra di Grevy): In questo caso, l'unico gruppo stabile è formato da una femmina e il suo puledro, mentre non esistono legami permanenti tra individui adulti, solo gruppi temporanei che si formano a seconda della distribuzione delle risorse. Alcuni maschi all'interno della popolazione sono territoriali e detengono i diritti riproduttivi all'interno dell'area che controllano. Questa organizzazione si considera essere un buon adattamento in risposta alla bassa capacità portante del deserto, a differenza dell'organizzazione sociale di tipo I, possibile in ambienti più umidi che, in un'area non troppo grande, offrano risorse adatte a sostenere un gruppo di animali.

Per quanto riguarda le gerarchie sociali nell'asino selvatico in bibliografia non ne sono state evidenziate di evidenti come quelle che si instaurano nei gruppi di cavalli. Oltre agli stalloni territoriali, infatti, che all'interno del loro territorio si dimostrano dominanti verso tutti i conspecifici, non ci sono evidenze che indichino la presenza di un ordine di dominanza nei gruppi di asini adulti, tanto che, nei gruppi temporanei, qualunque individuo può iniziare una migrazione, senza scatenare risposte agonistiche di altri conspecifici. Tutti, quindi, sembrano di pari rango, ma comunque dominanti verso i puledri (Klingel, 1998).

Per quanto riguarda l'asino domestico, non sono presenti in bibliografia studi relativi alla loro gerarchia sociale, ma sono stati osservati, invece, alcuni branchi di asini ferali (cioè asini domestici tornati alla vita selvatica). Precisamente, una popolazione sita nella Death Valley, California (Moehlman, 1998a, 1998b), una nell'Isola di Ossabaw, Georgia (Moehlman, 1998a, 1998b) e una nell'isola di St. Johns, nel Mar dei Caraibi (Rudman, 1998).

Questi studi hanno evidenziato un'estrema flessibilità sociale propria di questa specie, che gli permette di adattarsi ad un ampio range di condizioni ambientali. Nei tre habitat, infatti, molto diversi tra loro, gli asini hanno adottato tre tipologie di organizzazione sociale e di sistema riproduttivo differenti.

Popolazione della Death Valley: La Death Valley è un deserto con bassa produzione primaria e risorse iperdisperse, ma con la presenza di alcune fonti d'acqua costanti durante l'anno. In queste condizioni ambientali, la struttura sociale e il sistema riproduttivo sono simili a quelli dell'asino selvatico. Sono riconoscibili, infatti, solo associazioni molto instabili e i gruppi temporanei, formati nell'81% dei casi da meno di 5 individui, hanno una durata che va da alcune ore a massimo una settimana. Come per l'asino somalo, l'unica associazione stabile è quella tra una femmina e il suo puledro, ed è anche l'associazione che registra la minore distanza interindividuale. Tra gli adulti, invece, le distanze sono maggiori e le femmine adulte, anche se associate in gruppi temporanei, mantengono una distanza interindividuale generalmente maggiore ai 10 m. I maschi sono prevalentemente solitari, alcuni stalloni sono territoriali con home range ampi, ma che si sovrappongono in corrispondenza delle fonti d'acqua (Moehlman, 1998b). La presenza di poche risorse permanenti e la sincronizzazione degli estri femminili in primavera, fa sì che i territori difesi dagli stalloni siano stagionali e condizionati (Rudman, 1998).

Popolazione dell'isola di Ossabaw: Quest'isola offre agli asini un habitat ben diverso da quelli desertici della Death Valley, sono infatti presenti molte fonti d'acqua e i pascoli coprono la metà dell'area dell'isola. In queste condizioni di abbondanti risorse, sono stati osservati gruppi coesi stabili composti da uno o due stalloni e da due a cinque femmine con i loro piccoli (harem) e gruppi di soli stalloni (*bachelor groups*), a definire un'organizzazione sociale molto vicina a quella del cavallo. Inoltre, soprattutto le femmine tra loro e in maniera minore le femmine con i maschi e i maschi tra loro, passano gran parte del loro tempo ad una distanza interindividuale inferiore ai 10 m (addirittura nel 45% delle osservazioni di Moehlman, (1998b), le femmine stavano ad una distanza inferiore al metro, quella che è stata nominata in questo studio prossimità). I soggetti che vivono in questo ambiente, inoltre, manifestano significativamente più interazioni sociali come il

mutual-grooming e il *greeting*. Lo stallone, in questo caso, difende il gruppo di femmine, sulle quali ha il diritto alla riproduzione, e solo raramente difende un territorio (Moehlman, 1998b). Si possono definire, così, gli home range di questi harem non condizionati e non stagionali (Rudman, 1998).

Popolazione dell'isola di St. John: La maggior parte dell'habitat in quest'isola è boschivo, con pochi pascoli nelle radure, sparse irregolarmente nel territorio, che costituiscono la principale fonte di cibo degli animali. Le femmine, quindi, si concentrano in corrispondenza di queste radure, punto in cui i loro home range si sovrappongono, formando spesso gruppi di femmine adulte con i loro piccoli. Questi gruppi, comunque, non sono permanenti perché le radure sono troppo piccole per sostenere a lungo un grande numero di animali e l'unica associazione duratura è quella formata da una giumenta e il suo piccolo. Anche qui i maschi dominanti difendono un territorio, che in questo caso è condizionato ma non stagionale, in quanto le femmine, a causa del clima tropicale, non sincronizzano gli estri in una determinata stagione, ma ciclano durante tutto l'anno. Gli stalloni, all'interno del proprio territorio, passano parte del loro tempo con le femmine, formando un prototipo di harem, ma la limitazione delle risorse fa sì che questi gruppi non diventino permanenti (Rudman, 1998).

Dagli studi di Rudman e Moehlman emerge, pertanto, che sia la distribuzione delle risorse che la topografia e la dimensione dell'habitat influiscono sulla distribuzione e sul grado di socialità delle femmine asinine che lo abitano. Di conseguenza, i maschi adotteranno una strategia riproduttiva basata sulla distribuzione delle femmine e sulla stagionalità o meno dei loro estri. La varietà di questi fattori, unita alla grande plasticità comportamentale dell'asino, porta allo sviluppo delle diverse strutture sociali descritte per le tre popolazioni di asino studiate (Rudman, 1998). Si può quindi ipotizzare che l'instabilità delle unità sociali riscontrata nell'asino selvatico sia un adattamento all'imprevedibile disponibilità di risorse tipica del territorio arido in cui questo animale si è evoluto (Woodward, 1979). Questa grande adattabilità ha reso possibile, per gli asini ferali, discendenti dall'asino selvatico, la colonizzazione senza problemi di habitat differenti modificando e adattando la propria struttura sociale a seconda delle variabili ambientali ed, in primis, la disponibilità di fonti trofiche.

Riguardo, invece, alla struttura sociale dell'asino domestico in condizione di semistabulazione, gli studi sono scarsi e parziali, l'indagine bibliografica da noi effettuata ci ha consentito di reperire osservazioni effettuate sui legami gerarchici di un gruppo misto formato da pony, muli e asini (Proopsa et al., 2012). Questo studio è da considerarsi parziale, in quanto, come molto spesso succede per gli animali domestici, il gruppo era formato solo da femmine e maschi castrati. Ma, nonostante lo scopo dello studio fosse quello di indagare i legami gerarchici nei gruppi equini misti e dimostrare l'importanza della componente genetica nello sviluppo del comportamento sociale, i risultati ottenuti offrono importanti osservazioni sulla struttura sociale degli asini domestici in condizione di semistabulazione. Se, infatti, all'interno del gruppo nel suo complesso si poteva riconoscere una gerarchia lineare, con al vertice i pony, analizzando i sub-gruppi si è

notato come la gerarchia praticamente scompaia tra gli asini, che nel gruppo occupavano il rango inferiore. Proopsa ipotizza che, essendosi evoluti in un ambiente arido che li obbligava ad una vita prevalentemente solitaria, gli asini non siano adattati a vivere all'interno di una stretta gerarchia lineare e di conseguenza, inseriti in gruppi misti, non riescano a raggiungere ranghi sociali elevati.

3.2- Diadi

Studi che descrivono associazioni di coppie a lungo termine in altre specie riguardano i primati (Berghänel et al., 2011; Mitani, 2009; Moscovice al., 2010), alcuni ungulati (Cameron et al., 2009; Wasilewski, 2003), cavalli (Heitor et al., 2006; Proops et al., 2012; VanDierendonck e Spruijt, 2012;) uccelli (Emery et al., 2007; Massen, 2010; Svec et al., 2009) e roditori (Wang a. Aragona, 2004; Williams et al., 1992; Young et al., 2011). Tuttavia gli studi citati hanno come fattore condizionante la formazione della coppia o la parentela o la motivazione sessuale mentre scarsamente documentato è il legame non parentale. La funzione evolutiva dei legami di coppia di tipo non familiare e non sessualmente motivati, rimane ancora poco chiara (Clutton-Brock, 2009; Silk, 2002; Wasilewski, 2003). Le poche ricerche sul legame di coppia negli asini domestici basate sulle osservazioni delle diadi riferiscono circa l'alta tolleranza reciproca, la stretta vicinanza durante le attività comportamentali e notevoli livelli di comportamenti affiliativi di mantimento (Whitehead et al., 1991 Wasilewski; 2003; Svendsen, 2008). La forza del legame è così forte che la loro separazione può causare estremo disagio a entrambi gli individui, risultando "*pining*" e inappetenza che possono potenzialmente portare a iperlipemia. Le modalità attraverso le quali è possibile individuare gli individui della diade all'interno di un gruppo di asini, sono state studiate da Murray et al. (2013) attraverso il test di discriminazione sociale "*Y-maze social discrimination test*" (figura successiva) che consente di riconoscere i segnali caratteristici del legame diadiaco. Sulla base dei dati di prossimità spaziali ("chi segue chi"), registrati durante osservazioni etologiche diurne, gli asini che avevano manifestato significative preferenze per un individuo (compagno) sono stati sottoposti al test di discriminazione sociale, che consiste nel presentare al soggetto in osservazione in un labirinto a Y, il loro prevedibile compagno, un asino familiare dello stesso gruppo e un asino sconosciuto di un gruppo diverso.

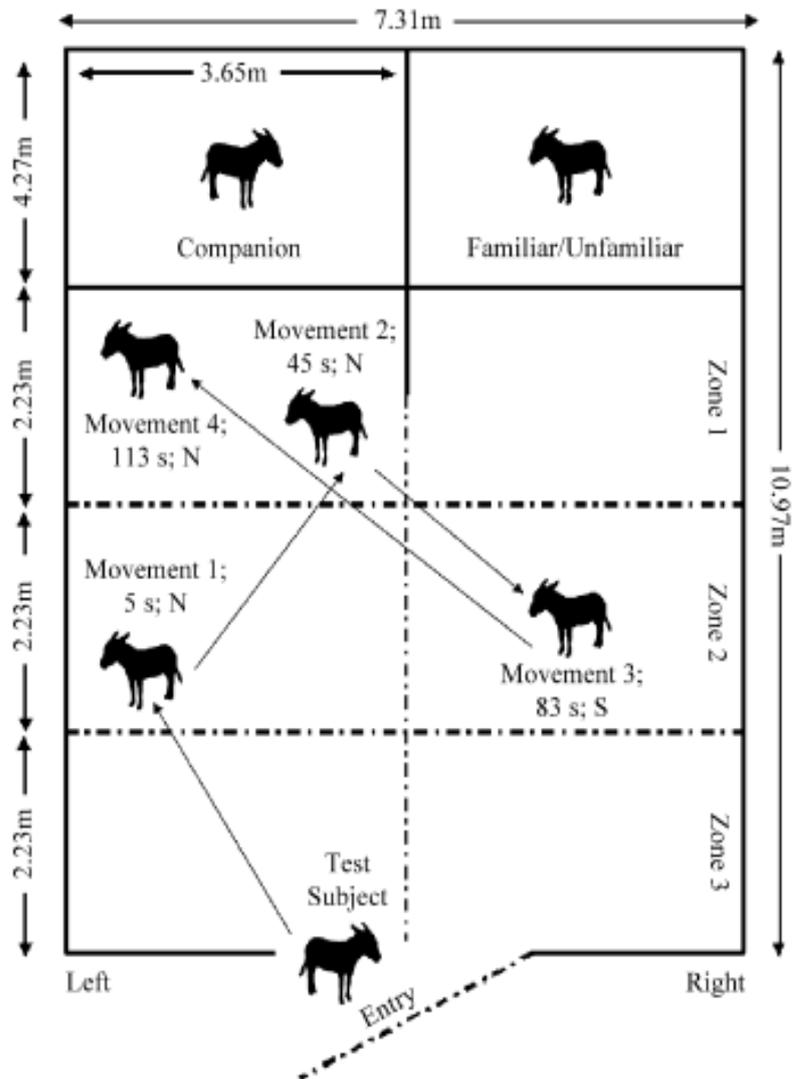


Diagramma dell'arena di prova del labirinto Y per il test di discriminazione sociale. Le posizioni dell'asino in osservazione (inclusi durata e orientamento) sono state registrate durante il test di riconoscimento. Il soggetto del test entra nell'arena e sosta nella zona 2 per 5 s (movimento 1), poi 45 s nella zona 2 (movimento 2), quindi 83 s di nuovo nella zona 2 e, infine, 113 s nella zona 1 (movimento 4). Da questo esempio vediamo che il soggetto del test ha scelto il suo compagno per 3 movimenti su 4, si è orientato verso nord verso il suo compagno ed è rimasto principalmente nelle zone 1 e 2, che sono più vicine al suo compagno. (da Murray et al., 2013)

3.3- Comunicazione

Si deve a Patricia D. Moehlman (1998) l'applicazione del disegno sperimentale etologico allo studio dei pattern comportamentali ed, in modo particolare, alle modalità di comunicazione acustica dell'asino. L'asino per comunicare utilizza sia segnali acustici vocali che non vocali. I primi sono prodotti dalla laringe e consistono in suoni atonali, suoni tonali puri a diversa intensità, mentre i suoni non vocali sono prodotti da un'espulsione di aria dalle narici sempre a diversa intensità.

Generalmente il suono è prodotto dalla vibrazione dei legamenti vocali e viene modificato dal movimento e dall'impostazione della cavità buccale. In questa specie sono stati evidenziati cinque tipi diversi di segnali acustici: il raglio, il grugnito, il ringhio, il whuffle (vocale) e lo sbuffo (non vocale).

Nell'ambito, invece, degli altri consueti canali comunicativi dei mammiferi (canale visivo, olfattivo, tattile), la comunicazione olfattiva si esplica principalmente attraverso le feci e l'urina.

La defecazione di un individuo viene spesso seguita da quella degli altri individui e si formano delle pile di sterco che oltre ad avere valenza comunicativa potrebbero anche essere utili come punti di riferimento per gli stalloni al fine di orientarsi nel proprio territorio (Klingel, 1998). L'urinazione di un maschio, al pari della sua defecazione, stimola l'urinazione stessa in sequenza degli altri maschi nelle vicinanze, mentre le femmine non sembrano avere nessuna risposta all'urinazione dei conspecifici. Anche nell'asino la comunicazione visiva di tipo gestuale e posturale-motorio riveste un ruolo importante nel contesto della socialità degli equidi, attraverso le posture del corpo, la posizione della testa, delle orecchie, del collo, della coda e delle gambe, nonché l'espressioni facciali.

Nell'ambito della comunicazione non verbale, segnali quali le orecchie in avanti, di lato o abbassate, bocca chiusa e denti coperti dalle labbra, bocca aperta e denti scoperti, testa molto bassa con orecchie indietro, sono utilizzati dagli equidi per fornire informazioni sulle proprie intenzioni e sul proprio stato emozionale.

4 – Gli IAA con gli asini

Negli ultimi 10 anni, l'interesse medico e scientifico per gli Interventi Assistiti con gli Equidi (cavallo e asino) è rivolto principalmente alle coterapie di riabilitazione fisica, prevalentemente con l'ausilio del cavallo ed, in modo più esiguo, alle coterapie psicologiche e psichiatriche con l'ausilio dell'asino.

La maggior parte degli studi finora pubblicati, si è concentrata principalmente sui vantaggi della coterapia equina (Riabilitazione Equestre- RE) in termini di miglioramento dell'equilibrio, della forza, della stabilità del tronco e della testa, della coordinazione motoria, della postura e di mitigazione della spasticità. I quadri nosografici più frequentemente trattati con la RE sono rappresentati dalla paralisi cerebrale, dalle disabilità fisiche, dalle lesioni midollari, ritardo mentale e sclerosi multipla (Lechner et al., 2007; Silkwood-Sherer a. Wambier, 2007). Invece, nessuna valutazione sistematica delle coterapie con l'ausilio dell'asino è stata trovata in letteratura se non esigui report preliminari (De Rose et al., 2011).

L'onoterapia viene considerato, prevalentemente, un ausilio terapeutico per la cura dei disturbi psichiatrici o della salute mentale in generale, con un'indicazione speciale per le persone con danni alle funzioni psichiche, emotive e comunicative. Entrambe le coterapie con equidi evocano fiducia, sensazione di piacere del paziente nel toccare, accarezzare e accudire e dando comandi verbali al cavallo/asino. La forza della relazione d'aiuto, caratterizzata da empatia, fiducia, accettazione ed elaborazione, è il più potente predittore di esito positivo (Schultz et al., 2007).

Dalla disamina della letteratura specifica emerge chiaramente l'esigenza di dotarsi di metodologie e strumenti validati per l'oggettiva valutazione delle modificazioni indotte dalla relazione di cura con l'equide. L'eterogenea terminologia di descrizione delle attività terapeutiche che coinvolgono gli equini e la mancanza di protocolli standardizzati di riabilitazione suggerisce l'ulteriore priorità rappresentata dall'uso di criteri di classificazione standard per valutare le alterazioni funzionali, come quelli riportati nella Classificazione internazionale delle disabilità funzionale e della salute (WHO – ICF, 2000). Recenti lavori sulle teorie della riabilitazione suggeriscono che l'ICF può essere considerato come un nuovo paradigma che ha integrato il modello individuale di disabilità con il modello sociale di disabilità (Cameron, 2011; Reinhardt, 2011).

5. Sulla componente cardiaca delle ripercussioni neurovegetative dell'omeostasi emozionale

Le attività cerebrali connesse a particolari situazioni emotive sono caratterizzate da risposte muscolari, neuromorali e viscerali associate a consistenti componenti cardiovascolari. Tali attività sono state attribuite a meccanismi nervosi centrali specializzati che integrano l'attività cardiovascolare con il comportamento adattivo, modellando l'azione simpatica e parasimpatica. L'effetto parasimpatico ha inizio dalla stimolazione delle aree ipotalamiche anteriore e media le cui risultanti funzionali viscerali e muscolari striate, dirette al mantenimento dell'omeostasi, sostengono il cosiddetto "sistema trofotropico" orientato verso la nutrizione (Gellhorn, 1968).

Schneirla (1959), storicamente, ha evidenziato che le attività comportamentali che rientrano in questo sistema, come la ricerca del cibo, di un riparo e l'accoppiamento, spesso comprendono l'avvicinamento a fonti di stimolazione di intensità relativamente bassa e sono distinguibili dalle attività comportamentali prodotte dall'attività simpatica. La stimolazione, infatti, dell'area reticolare posteriore dell'ipotalamo dà luogo ad un aumento dell'attività autonoma e muscolare striata sostenuta dall'increzione di catecolamine e corticosteroidi. Questa risposta ergotropica, che comprende un aumento del dispendio energetico, abolisce il dominio del sistema parasimpatico ed è collegata all'allontanamento dalla stimolazioni ad alta intensità. In base alla zona di sollecitazione ipotalamica si possono osservare tre differenti tipi di comportamento agonistico (attacco, fuga e difesa) con diverse attività di coping (Thompson, 1976). La risposta integrata simpatica alla stimolazione negativa, conosciuta come "riflesso di difesa" (RD) o "risposta di allarme o di emergenza", implica una mobilitazione generale delle risorse necessarie a far fronte a richieste ambientali imminenti e pressanti ed è resa possibile dall'estesa interfaccia neurale dell'ipotalamo che facilita l'integrazione centrale di modelli stereotipati di attività che comprendono componenti cardiovascolari, umorali e muscolari striate (comportamentali). Infatti, oltre alla dilatazione pupillare, all'erezione pilifera e all'aumento della sudorazione, l'attivazione simpatica diffusa provoca aumenti dell'attività cardiaca e vasomotoria.

La sequenza di eventi emodinamici associati con l'insorgenza del riflesso di difesa, che conduce all'aumento della portata cardiaca (PC), vede aumentare, inizialmente, la frequenza cardiaca (FC) e la contrattilità miocardica. Dato che il blocco beta-adrenergico riduce questa elevazione dell'attività cardiaca dal 50 al 60%, il forte contributo simpatico comporta l'aumento del tono vasocostrittore della pelle, dell'intestino e dei reni con un aumento generale delle resistenze periferiche compensato dalla vasodilatazione attiva del muscolo striato che conduce ad un significativo incremento della PC. Tali variazioni circolatorie sono correlate ad alterazioni delle caratteristiche della ventilazione polmonare che sostengono gli incrementi dell'attività muscolare striata.

In caso di ampia attivazione del muscolo striato la PC viene ad essere ulteriormente aumentata grazie all'effetto facilitante sul flusso sanguigno dell'azione della pompa muscolo-scheletrica. Se l'attività muscolare non ha luogo, il flusso sanguigno è diminuito dalla vasocostrizione che dà luogo a incrementi della pressione arteriosa (PA) con scarse variazioni della PC. La vasodilatazione attiva, che permette un aumento della PC, si verifica normalmente con l'attivazione muscolare, tant'è che essa è normalmente considerata la componente cardiovascolare dell'RD. Tuttavia in condizioni di stimolazione avversiva la vasodilatazione attiva può comparire prima di un movimento percepibile dell'arto, per come dimostrato da Sutherland e Zbrozyna (1974) nel cane. Questi ricercatori hanno osservato che la vasodilatazione colinergica può essere condizionata. Un suono associato con una scarica elettrica alla pianta della zampa provoca una risposta vasomotoria condizionata prima della risposta condizionata della flessione della zampa, dimostrando che l'attivazione dei centri troncoencefalici di regolazione e controllo dell'attività cardiovascolare riconosce componenti non solo vegetative. Il riflesso di difesa (RD), espressione della risposta integrata simpatica alla stimolazione negativa, deve essere distinto dal "riflesso di orientamento" (RO) basato sulla scoperta, da parte di Pavlov, di una "reazione di orientamento-esplorazione". Il riflesso di orientamento implica una ridistribuzione del sangue dalla periferia cutanea verso il cervello mentre altre risposte autonome, come la dilatazione pupillare, riflettono aumenti dell'attività simpatica e sono finalizzate a facilitare la ricezione e l'elaborazione dell'informazione proveniente dall'ambiente. La scarica adrenergica, alla base del riflesso di orientamento, liberata nella corrente ematica agisce sulla formazione reticolare e sull'ipotalamo aumentando, come ultima stazione, la reattività delle cellule corticali verso la ricezione degli stimoli. Ciò viene espresso dall'emergere di attività elettrica ad alta frequenza e bassa ampiezza nel tracciato elettroencefalografico quale tipico correlato cerebrale di una aumentata eccitabilità. Il riflesso di orientamento riflette, pertanto, l'iniziale reazione comportamentale dell'organismo ad uno stimolo che può essere annullato o sostituito da un riflesso di difesa in base alle peculiari caratteristiche della stimolazione potenzialmente avversiva.

Uno stimolo di intensità lieve o moderata evocherà, invece, un riflesso di orientamento e la sua stimolazione ripetitiva ha come risultato la sua estinzione associata ad una ridotta attivazione corticale. Diminuzione della frequenza cardiaca è stata osservata, infatti, durante l'attenzione passiva ad uno stimolo visivo o acustico (assimilazione dello stimolo), mentre si assiste ad un suo aumento durante il mantenimento di livelli elevati dell'attenzione (concentrazione), associata o con l'impegno in processi cognitivi o con la presentazione di stimoli anche potenzialmente dannosi (rigetto dello stimolo). I concetti dell'orientamento e dell'assimilazione dello stimolo da un lato e del riflesso di difesa e del rifiuto dello stimolo dall'altro, hanno costituito la base teorica per l'interpretazione del modello di risposta cardiaca associata alla componente emotiva delle sensazioni. Le diminuzioni fasiche della frequenza cardiaca sono state associate con l'assimilazione dello stimolo e la reazione di orientamento; gli aumenti della frequenza cardiaca con il rifiuto dello stimolo e la reazione di difesa (Chase e Graham, 1968). Questo semplice paradigma

è stato utilizzato per tentare di interpretare i modelli di frequenza cardiaca fasici a breve termine che sono stati osservati in risposta a varie richieste sperimentali. E' stato osservato che i modelli fasici di FC sono connessi al vago e variano parallelamente agli eventi somatici previsti o in corso (Obrist et al., 1974), mentre l'ampiezza degli aumenti anticipatori dell'FC è anch'essa direttamente collegata al successivo dispendio energetico (Cohen et al., 1980). In definitiva le risposte cardiovascolari sono sistematicamente collegate con gli adattamenti somatomotori che si accompagnano alle situazioni con un qualche coinvolgimento emotivo. Queste relazioni possono essere considerate come specifiche richieste circolatorie attraverso le quali si esprimono le componenti cardiovascolari delle risposte affettivo-emotive. Per tale motivo fra gli indicatori fisiologici della reattività animale o della loro stabilità emotiva, il monitoraggio dell'attività cardiaca attraverso la sua frequenza, costituisce un valido parametro di valutazione oggettiva del livello di coinvolgimento emotivo in situazioni sperimentalmente indotte.

5.1 – Heart Rate Variability (HRV)

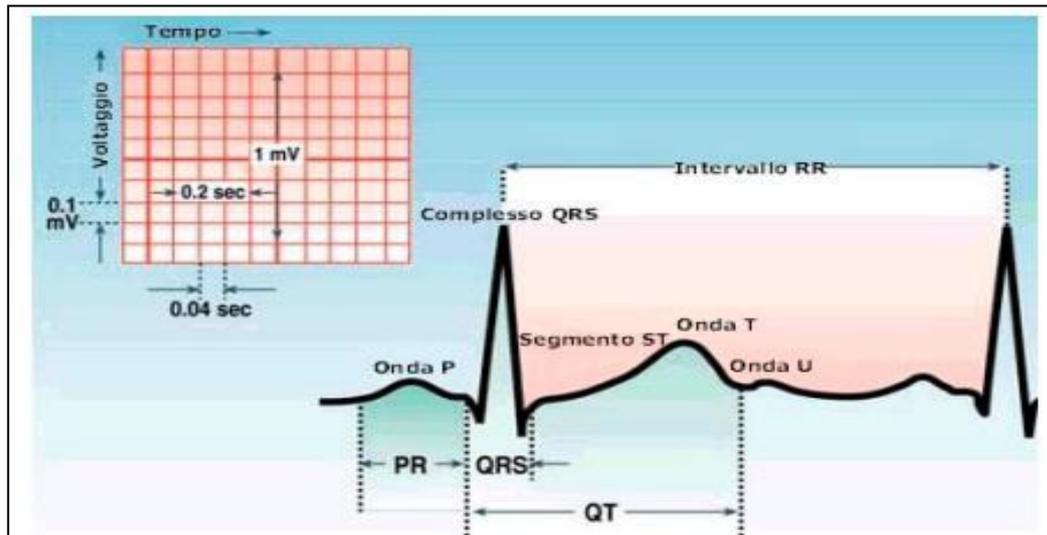
Negli organismi complessi per poter fronteggiare diversi stimoli fisiologici ed ambientali, che li sottopongono ad un perenne sforzo di adattamento, il Sistema Nervoso Autonomo (SNA) – componente del sistema nervoso della vita vegetativa - assume un ruolo fondamentale per affrancare il sistema nervoso della vita di relazione garantendogli le funzioni sue proprie, nell'accezione del termine “relazione”.

Il SNA - nelle sue componenti simpatica e parasimpatica - regola tutti i processi fisiologici, tanto in condizioni normali quanto patologiche, attraverso l'alternanza di azioni eccitatorie ed inibitorie, ed il livello dell'entità del suo coinvolgimento può essere valutato attraverso l'*Heart Rate Variability* (HRV). Un'alta variabilità del ritmo cardiaco è infatti un segnale indiretto del buon grado di adattamento agli stimoli interni ed esterni e caratterizza un individuo sano con efficienti meccanismi di regolazione del sistema nervoso autonomo. Al contrario, una bassa variabilità del ritmo cardiaco è spesso indice di anormale e insufficiente adattamento ai fattori esterni con conseguente ridotta funzionalità fisiologica.

L'analisi, pertanto, dell'HRV, consente di determinare la prevalenza dell'attività simpatica o parasimpatica e quanto, in una situazione di equilibrio, l'attività di uno di questi due sistemi nervosi prevalga sull'altra. Al fine di stabilire dei criteri univoci di lettura e interpretazione dei parametri ricavati da un'analisi di HRV, la Task Force della *European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing Electrophysiology* (1996) ha stabilito delle linee guida a tutt'oggi valide e seguite a livello internazionale.

Storicamente, l'interesse clinico dell'HRV emerse nel 1965 quando Hon e Lee rilevarono la presenza di alterazioni negli intervalli R-R del segnale elettrocardiografico registrato per monitorare la sofferenza fetale (Hon a. Lee, 1965). Successivamente Sayers et al (1973) hanno focalizzato l'attenzione sull'esistenza di ritmi fisiologici inseriti nel segnale della frequenza cardiaca, finché nel 1977 l'HRV prese piede in ambito cardiologico dimostrandosi un indice attendibile di rischio di mortalità in pazienti che avevano subito un infarto acuto del miocardio (Wolf et al. 1977). Negli anni, oltre ad assistere ad un aumento delle applicazioni di tale tecnica nel campo cardiologico, si è passati a dimostrare la sua

efficacia e attendibilità anche in altri ambiti applicativi, tra i quali *psicologia*, *psichiatria*, *psicoterapia* e, ultimo arrivato in ambito temporale, *medicina dello sport e benessere*, con la diffusione di tecniche di misurazione sempre più semplici e alla portata di tutti, fino ad arrivare agli attuali numerosi applicativi per gli smartphone. La tecnica di analisi della variabilità della frequenza cardiaca è basata sui parametri del segnale elettrocardiografico (ECG: fig. 5.1).



Rappresentazione schematica del tracciato ECG

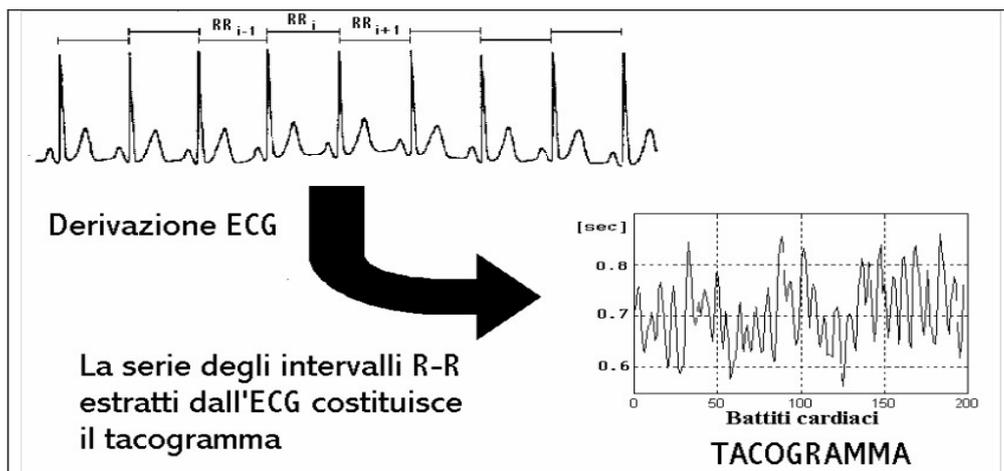
Il picco R corrisponde alla sistole, avvertita come il battito principale del cuore, che si manifesta anche nel battito del polso. La frequenza cardiaca (HR), cioè il numero di battiti cardiaci al minuto (bpm), corrisponde alla sequenza degli intervalli R-R. Ogni intervallo R-R corrisponde quindi al tempo intercorrente fra due battiti successivi. La variabilità dell'intervallo R-R è il parametro indagato nella tecnica di misurazione della HRV.

La HRV può essere valutata fondamentalmente utilizzando 2 diverse chiavi di lettura: nel *dominio del tempo*, calcolando un indice mediante operazioni statistiche sull'intervallo R-R o nel *dominio delle frequenze*, come analisi della densità spettrale di potenza (PSD). Entrambe le misure si ottengono a partire da registrazioni del segnale ECG della durata di circa 5 minuti.

Analisi nel dominio del tempo

La serie degli intervalli R-R estratti dall'ECG costituisce quello che viene comunemente definito tacogramma. Dall'analisi statistica del tacogramma è possibile ottenere gli indici più significativi di un'analisi di HRV, la *deviazione standard della sequenza R-R*, indicata con *SDNN* e, ancora più efficacemente la *rMSSD* – la *radice quadrata della media della somma dei quadrati delle differenze tra intervalli R-R adiacenti*. Il primo indice

rappresenta la quantità media di variabilità in una sequenza R-R ed è predittivo di importanti stati patologici come nel caso dell'infarto, sempre preceduto da una brusca riduzione della SDNN (Tsuji et al. 1996). L'rMSSD, invece, è strettamente correlato al livello di variabilità dell'intervallo R-R che dipende, a sua volta, dalla prevalenza del tono vagale o simpatico. Se prevale il tono vagale la variabilità è alta ed il soggetto non è sottoposto agli effetti complessi delle strategie di coping e si dice che lo stress è basso, viceversa se la variabilità è bassa, prevalendo il tono simpatico si dice che il soggetto è sotto stress.

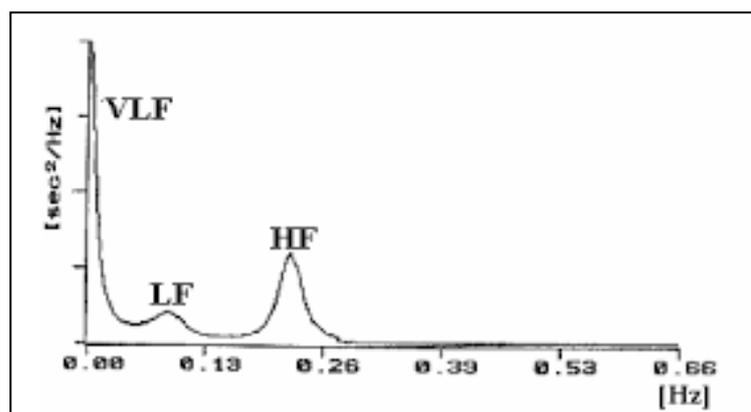


Rappresentazione schematica di una classica derivazione ECG con relativo tacogramma.

Analisi nel dominio delle frequenze

L'approccio nel dominio della frequenza si basa sull'identificazione e quantificazione (in termini di frequenza e potenza) dei principali ritmi oscillatori di origine fisiologica di cui si compone una sequenza di intervalli R-R. L'analisi spettrale implica la decomposizione delle sequenze degli intervalli R-R in una somma di *funzioni sinusoidali* di diverse ampiezze e frequenze attraverso l'algoritmo della trasformata di Fourier. I risultati possono essere visualizzati come ampiezza della variabilità in funzione della frequenza attraverso lo spettro di potenza. Gli studi e le ricerche degli ultimi anni, hanno permesso di distinguere tre sotto-bande di frequenze, chiamate rispettivamente:

- *VLF (Very Low Frequency)*: frequenze comprese fra 0.01 e 0.04 Hz. Sono correlate a vari meccanismi lenti del sistema simpatico, dai cambiamenti nella termoregolazione e, in ambito psicologico, dalle tensioni emotive e dai pensieri ossessivi.
- *LF (Low Frequency)*: frequenze comprese fra 0.04 e 0.15 Hz. La banda delle LF viene considerata principalmente correlata all'attività del sistema nervoso simpatico.
- *HF (High Frequency)* frequenze comprese fra 0.15 e 0.4 Hz. La banda delle HF viene considerata espressione dell'attività del sistema nervoso parasimpatico.



Densità spettrale di potenza del segnale di variabilità cardiaca.

Il rapporto tra basse ed alte frequenze (LF/HF) è un parametro di fondamentale importanza perché permette di quantificare l'equilibrio tra i due sistemi simpatico e parasimpatico: un valore alto indica la predominanza del sistema simpatico, mentre un rapporto < 1 corrisponde ad una prevalenza dell'attività vagale (parasimpatico). L'esperienza clinica ha permesso di definire dei range di normalità di tutti questi parametri. Benché la definizione dei range di riferimento non sia completamente uguale fra diversi autori e fra gli standard americani ed europei, si riportano gli intervalli medi di riferimento indicati dalla Task Force della *European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing Electrophysiology* (European Heart Journal, 1996):

- SDNN = 102 - 180 msec
- $\ln(\text{Power VLF}) = 5.5 - 6.3$
- $\ln(\text{Power LF}) = 3.9 - 4.1$
- $\ln(\text{Power HF}) = 3.2 - 3.5$
- Rapporto $LF/HF = 1.5 - 2.0$

I segnali di variabilità cardiaca possono anche essere visti come segnali con proprietà non lineari in quanto generati da meccanismi di regolazione complessi, pertanto possono essere valutati anche con metodi di analisi non lineare.

Analisi non lineare

Questi metodi hanno mostrato di poter rilevare e misurare aspetti peculiari delle dinamiche del ritmo cardiaco che non vengono presi in considerazione dalle tecniche lineari. Tra questi, il diagramma di Poincaré fornisce una caratterizzazione visiva e allo stesso tempo quantitativa della variabilità cardiaca. Consiste nel rappresentare su un grafico ogni

intervallo R-R in funzione di quello precedente, così che ogni punto corrisponda ad una coppia di intervalli R-R consecutivi; si ottiene in questo modo una nuvola di punti, disposti attorno alla linea di identità, che per un soggetto sano assume una forma ellittica o a cometa. Il diagramma di Poincaré mette quindi in evidenza, in maniera grafica, la correlazione esistente tra due R-R consecutivi. L'ispezione visiva della forma del grafico si è dimostrata essere un valido strumento sia al fine di valutare la qualità del segnale a disposizione, permettendo di individuare la presenza di battiti prematuri o ectopici e di artefatti di vario tipo ai fini clinici e diagnostici. Si è visto, ad esempio, come la forma della nuvola possa essere opportunamente classificata e si dimostri correlata con il grado di compromissione cardiaco di un soggetto.

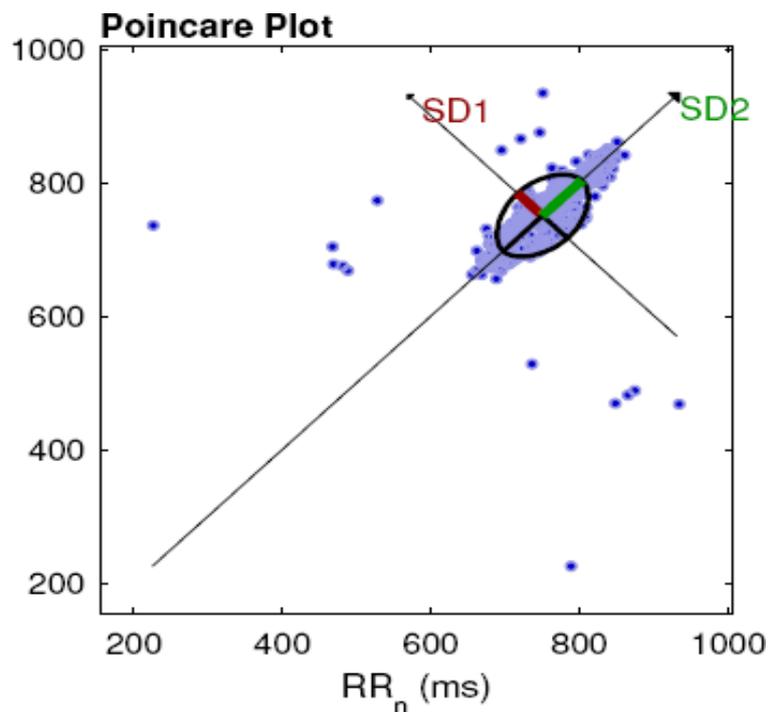


Diagramma di Poincaré

Da un punto di vista quantitativo la nuvola di punti ottenuta viene caratterizzata da due parametri: *SD1* e *SD2*, che si ritengono essere indicativi rispettivamente della variabilità cardiaca a breve e lungo termine. I punti posizionati al di sopra della linea di identità indicano, infatti, intervalli RR che risultano essere più lunghi rispetto al precedente, mentre i punti al di sotto di tale linea rappresentano gli intervalli RR minori rispetto al precedente. Di conseguenza la dispersione dei punti in direzione perpendicolare rispetto alla linea di identità (larghezza della nuvola) è relativa alla variabilità a breve termine. La lunghezza della nuvola lungo la linea di identità è indicativa, invece, della variabilità cardiaca a lungo termine ed è calcolata mediante il parametro *SD2*. In generale, una maggiore dispersione dei punti è associata ad un corretto equilibrio del sistema nervoso autonomo, mentre una minore dispersione è associata ad uno squilibrio con predominanza dell'attività simpatica.

Ambiti applicativi dell'HRV

Partendo dall'assunto che il cuore risulta copiosamente innervato dal sistema nervoso autonomo - in particolare le fibre nervose di tipo parasimpatico ricoprono i nodi, mentre le fibre di tipo simpatico sono particolarmente abbondanti nel miocardio ventricolare - la stimolazione delle fibre nervose parasimpatiche, a livello cardiaco, ha un effetto inibitorio: induce una riduzione della frequenza di scarica del nodo S-A e un rallentamento della trasmissione dello stimolo, determinando la diminuzione della frequenza del battito cardiaco. La stimolazione simpatica, al contrario, si traduce in un effetto eccitatorio che provoca un aumento della frequenza cardiaca. In particolare essa determina un aumento della velocità di conduzione degli impulsi ed un consistente incremento della forza di contrazione del miocardio (effetti dromotropo e inotropo positivo). Ciò consente di poter ritenere che tramite l'analisi dell'HRV è possibile leggere il tipo di equilibrio simpato-vagale e valutare, in condizioni di osservazioni sperimentali, i fattori che possono influenzarlo.

L'HRV in ambito psicologico e psichiatrico

In ambito psichiatrico la frequente associazione di psicopatologie con patologie cardiache ha portato a ritenere che malattie mentali e disturbi psicologici in genere possono alterare sia la produzione di determinati ormoni e neuromodulatori sia il controllo autonomo dell'attività cardiaca. Pertanto poiché la salute mentale impatta fortemente sull'equilibrio simpato-vagale, l'applicazione dell'analisi dell'HRV nel campo della neuro-psichiatria, ha consentito di fare chiarezza sulla psicobiologia dei disturbi psichiatrici. Un modello di integrazione neuro-viscerale ha permesso di rilevare l'associazione tra lo squilibrio del sistema nervoso autonomo, manifesto nel ridotto tono vagale, e la presenza di stati emozionali negativi che determinano lo sviluppo di condizioni psicopatologiche. Il sistema nervoso centrale è strettamente collegato alle reti neurali deputate alle funzioni psichiche fondamentali per la conservazione della specie, come la regolazione delle emozioni, il controllo dell'attenzione e dell'umore, e tutte quelle attività che determinano il comportamento dell'individuo (Anastasi et al 2007). I processi psicologici e le manifestazioni fisiologiche sono legati strutturalmente e funzionalmente da circuiti neurali corticali e subcorticali che funzionano per mezzo di meccanismi di attivazione ed inibizione (Faglioni 1996). Emozioni negative come rabbia, frustrazione o ansia determinano una variazione della frequenza cardiaca, indice immediato di squilibrio del sistema nervoso autonomo. Al contrario, le emozioni positive sono associate a pattern coerenti del ritmo cardiaco, dovuti alla sincronizzazione simpato-vagale.

HRV e stress

Per i motivi su esposti l'HRV si è dimostrato un valido indicatore del livello di stress. Infatti, l'accresciuta eccitazione fisiologica causata dallo stress, induce una sovra-attivazione cronica del sistema nervoso autonomo che, attraverso la valutazione dell'HRV, può essere riscontrata nell'aumento del valore della densità spettrale delle potenze delle basse frequenze. Durante alcuni studi, inoltre, è stato constatato un abbassamento della variabilità cardiaca in pazienti con alterazioni cardiovascolari causate da stress (Perini et al

2003, Maestri et al 2007). Bravi et al (2013), ad esempio, su due categorie di individui, affetti da stress fisiologico e patologico, hanno confrontato gli effetti sull'HRV. Il gruppo degli individui affetti da stress fisiologico era composto da soggetti sani valutati durante la pratica di attività fisica intensa, mentre l'altro gruppo era costituito da individui che avevano subito un trapianto del midollo osseo. In entrambi i casi è stato riscontrato una diminuzione della deviazione standard, parametro indice della variabilità cardiaca, dovuto alla ridotta regolazione cardio-polmonare; un diverso comportamento è stato invece notato nel valore della modulazione simpato-vagale (rapporto LF/HF): ridotto nel caso di stress fisiologico e non soggetto a cambiamento significativo in pazienti affetti da stress patologico. Molteplici sono gli studi sperimentali che hanno fatto uso di questa tecnica, non solo per dimostrarne l'efficacia, ormai appurata, ma proprio come indice di validazione di particolari protocolli di training antistress. E' stato possibile, ad esempio, valutare gli effetti prodotti dall'utilizzo della biofisica integrativa in individui stressati; sono stati cioè collegati i pazienti al potenziale di terra, attraverso specifici elettrodi, e si è registrato un aumento della variabilità cardiaca ed un miglioramento generale della regolazione simpato-vagale (Chevalier a. Sinatra, 2011). Altri studi hanno dimostrato, attraverso questa tecnica, la possibilità di prevenire lo stress tramite una stimolazione trans-craniale diretta in grado di modulare il sistema nervoso autonomo (Goncalves et al., 2012). Un'altra applicazione rilevante è quella che ha visto l'applicazione dell'HRV coadiuvata dalla tecnica del biofeedback, terapia di rilassamento nota per la riduzione dei livelli di stress. Attraverso l'applicazione di una clip auricolare con rilevazione computerizzata si può documentare la sincronizzazione/desincronizzazione tra frequenza cardiaca e ritmo respiratorio, che fornisce già utili informazioni sullo stato emozionale di un individuo. Si è notato, infatti, che in particolari stati emotivi, la frequenza cardiaca ed il ritmo respiratorio risultano perfettamente sincroni; questa coerenza viene meno in condizioni di stress negativo, rabbia, paura o agitazione. Dunque una misurazione semplice e non invasiva come l'HRV, permette non solo di individuare il livello di stress di un individuo, attraverso la lettura dei diversi parametri nel dominio del tempo e della frequenza, ma anche di valutare gli effetti prodotti da specifici trattamenti per gestire lo stress.

6. L'espressione delle emozioni

Nell'uomo le espressioni facciali sono comunemente usate per valutare il dolore e altri stati emotivi in coloro che non sono in grado di comunicare in modo coerente (deficit cognitivo e neonati (Grunan a. Crag, 1987; Jordan et al., 2011) e le espressioni facciali vengono regolarmente classificate sia manualmente (Jordani et al., 2011) che automaticamente (Ashraf et al., 2009) utilizzando il *Facial Action Coding System* (FACS), considerato un metodo accurato e affidabile che descrive le modifiche della facies nel suo insieme risultante dalle combinazioni di azioni muscolari, denominate "unità d'azione" (Ekman a. Friesen, 1978). Le unità di azione relative al dolore sono state identificate nei roditori e nei conigli e incorporate in “*grimace scale*” specifiche della specie (Longford et al., 2010; Sotocinal et al., 2011; Leach et al., 2012; Keating et al., 2012), soprattutto nella valutazione della gravità e del tipo di dolore inflitto durante la sperimentazione scientifica e per predeterminare i c.d. end point umanitari per le procedure di eutanasia.

Nel cavallo esistono già diverse valutazioni del dolore basate sia sulle conoscenze della semiotica clinica (atteggiamenti patognomonici o antalgici) o sulla comunicazione non verbale degli equidi (mimica facciale e gestuale motoria). Ricordiamo la scala di valutazione del dolore post-chirurgico addominale (PASPAS), scala multidimensionale che può essere utilizzata per quantificare il dolore dopo la laparotomia (Graubuer et al., 2011) e la *Composite Pain Scale* (CPS) basata sulla presenza di comportamenti correlati al dolore e sul cambiamento nella frequenza dei normali schemi comportamentali e dei parametri fisiologici (Bussieres et al., 2009). Di recente è stato proposto da Dalla Costa et al. (2014) l'*Horse Grimace Scale* (HGS), (vedi figure successive) per identificare le condizioni dolorose e l'efficacia dei metodi analgesici. L'HGS è stato creato seguendo i metodi sviluppati da Langford et al. (2010) e Sotocinal et al. (2011) per roditori e Keating et al. (2012) per conigli.

I cambiamenti nel comportamento del cavallo e nelle espressioni facciali sono stati identificati e descritti, secondo una scale del dolore del cavallo, consentendo l'estrazione di una serie di immagini standard. La HGS comprende sei unità di azione facciale (FAU):

- orecchie all'indietro rigide,
- rima orbitale serrata,
- tensione arcata sopraciliare,
- muscoli masticatori tesi,
- bocca tesa e mento pronunciato,
- tensione narici e appiattimento del profilo delle froge

Il punteggio HGS massimo possibile è pari a 12 (ovvero un punteggio di 2 per ciascuna delle 6 FAU). Inoltre, può essere applicato integrandolo con altri metodi basati sulle metodologie dell'osservazione comportamentale e sulle tecniche di compilazione dell'etogramma. L'HGS può rappresentare un valido ausilio nell'osservazione comportamentale, contesto-dipendente, delle espressioni delle emozioni.



Facial Coding Unit	Score
Ears stiffly backwards	1
Orbital tightening	0
Tension above eye area	0
Prominent strained chewing muscles	0
Mouth strained and pronounced chin	0
Strained nostrils and flattening of the profile	0
Total pain score	1

a.



Facial Coding Unit	Score
Ears stiffly backwards	2
Orbital tightening	2
Tension above eye area	0
Prominent strained chewing muscles	2
Mouth strained and pronounced chin	1
Strained nostrils and flattening of the profile	1
Total pain score	8

b.



Facial Coding Unit	Score
Ears stiffly backwards	0
Orbital tightening	0
Tension above eye area	1
Prominent strained chewing muscles	0
Mouth strained and pronounced chin	0
Strained nostrils and flattening of the profile	0
Total pain score	1

c.



Facial Coding Unit	Score
Ears stiffly backwards	0
Orbital tightening	0
Tension above eye area	1
Prominent strained chewing muscles	0
Mouth strained and pronounced chin	0
Strained nostrils and flattening of the profile	0
Total pain score	1

d.

da Dalla Costa et al., 2014.

Stiffly backwards ears

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

The ears are held stiffly and turned backwards. As a result, the space between the ears may appear wider relative to baseline.

Orbital tightening

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

The eyelid is partially or completely closed. Any eyelid closure that reduces the eye size by more than half should be coded as "obviously present" or "2".

Tension above the eye area

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

The contraction of the muscles in the area above the eye causes the increased visibility of the underlying bone surfaces. If temporal crest bone is clearly visible should be coded as "obviously present" or "2".

Prominent strained chewing muscles

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

Straining chewing muscles are clearly visible as an increase tension above the mouth. If chewing muscles are clearly prominent and recognizable the score should be coded as "obviously present" or "2".

Mouth strained and pronounced chin

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

Strained mouth is clearly visible when upper lip is drawn back and lower lip causes a pronounced "chin".

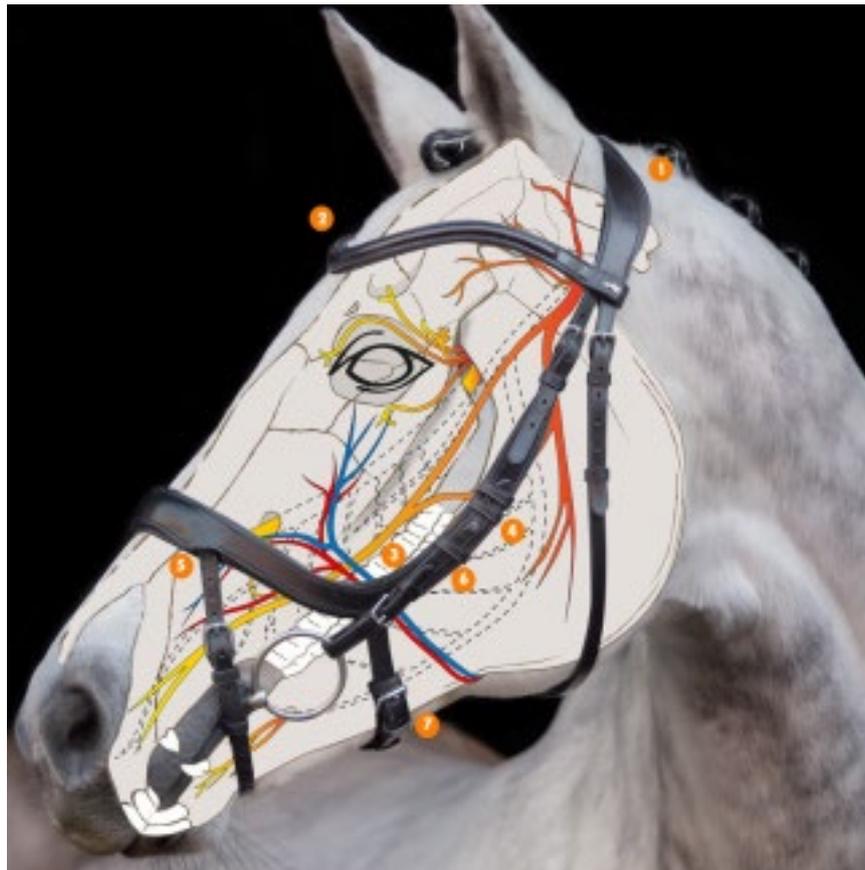
Strained nostrils and flattening of the profile

		
Not present (0)	Moderately present (1)	Obviously present (2)

Nostrils look strained and slightly dilated, the profile of the nose flattens and lips elongate.

da Dalla Costa et al., 2014.

Più in particolare il FACS - sviluppato da Wathan et al., (2015) per il cavallo che presenta le orbite oculari disposte lateralmente e l'asse longitudinale della testa è più lungo di quella trasversale- consiste in un sistema di codifica oggettivo per la descrizione del comportamento facciale. I muscoli facciali (a volte noti come muscoli mimetici) sono un sottogruppo di muscoli, innervati dal VII paio nervi cranici (nervo facciale), responsabili dei cambiamenti dell'espressione del viso (Diogo et al., 2009). I FACS sono quadri in cui codici designati (unità di azione o AUs) rappresentano la contrazione di un particolare muscolo facciale (o insieme di muscoli) e i movimenti facciali risultanti (Ekman et al., 2002). I descrittori di azione (AD), invece, sono usati per movimenti facciali più generali in cui la base muscolare non può essere identificata o è il risultato di un complesso coordinamento motorio di diversi muscoli. Il FACS è un sistema affidabile per descrivere le azioni facciali in modo standardizzato, evitando valutazioni soggettive dell'espressione. Ciò è particolarmente importante in quanto l'analisi delle espressioni facciali può essere influenzata dal contesto emotivo percepito dall'osservatore (Bruce a. Young, 2013; Hole a. Boume, 2010; Waller et l., 2007).



decorso del nervo facciale (in rosso-arancione-giallo)

Alla socialità degli equidi consegue, di necessità, che a livello comunicativo, sia intraspecifico che interspecifico, essi prediligano canali comunicativi in grado non solo di veicolare informazioni (segnali) con un chiaro contenuto semantico ma, anche, di manifestare, in qualità di mittente, o di interpretare, in qualità di ricevente, il contenuto emotivo del processo intenzionale comunicativo. A tal proposito i segnali del linguaggio chimico, acustico e tattile sono prevalentemente comunicativi nel senso dell'interazione mittente-ricevente, mentre i segnali del linguaggio mimico-espressivo e gestuale-motorio sono prevalentemente segnalatori di intenzioni e aspettative e riguardano, per definizione, più la componente comunicativa delle emozioni che non quella dichiarativa.

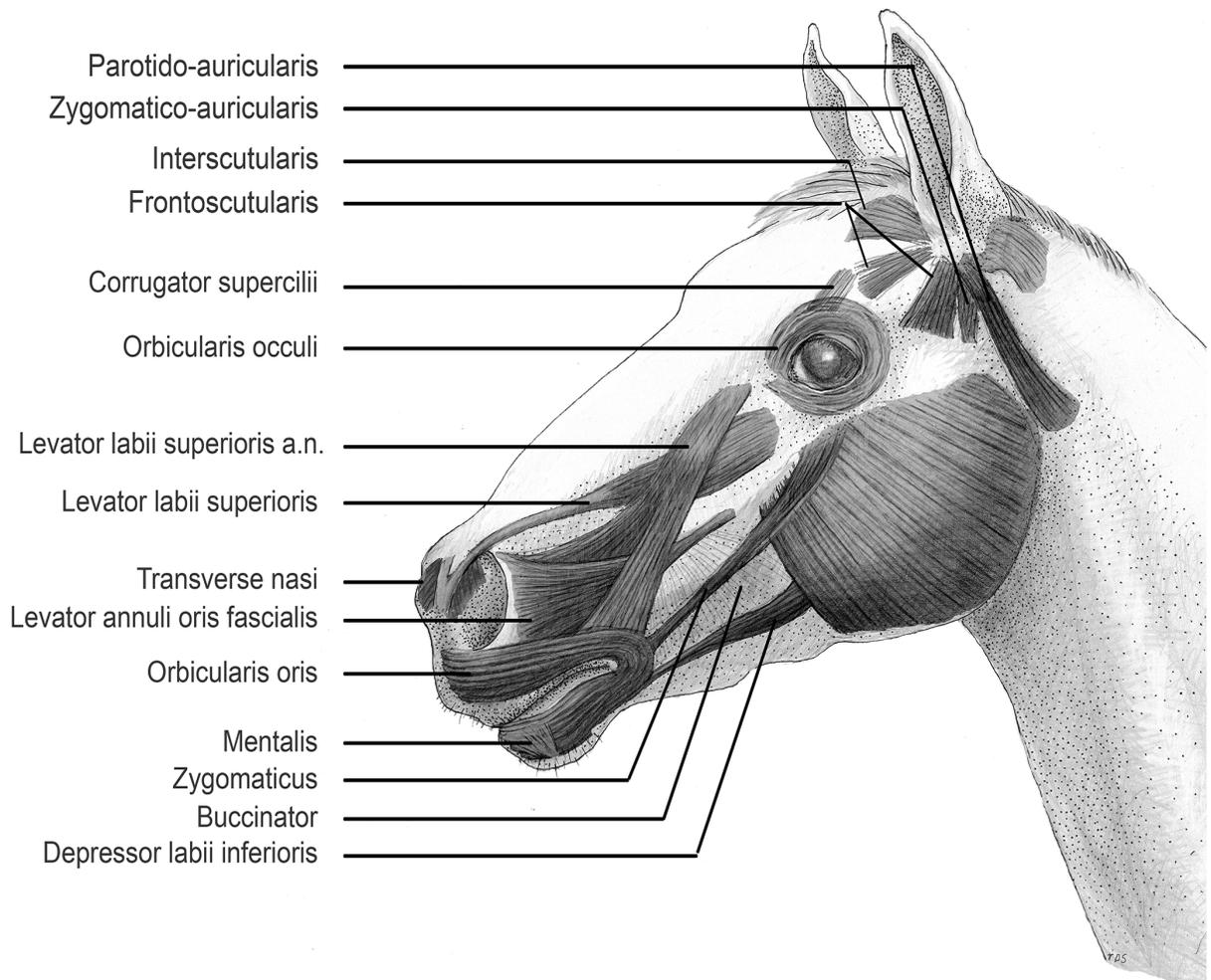
I diversi pattern espressivi non sono del tipo tutto o nulla ma variano in modo graduale da un estremo positivo all'altro negativo e coinvolgono quali "segnalatori" la mimica facciale (labbra, palpebre, narici, orecchie, muscoli facciali), l'atteggiamento della coda, il tipo di atteggiamento posturale delle zampe, le variazioni di appiombamento, i movimenti degli arti o della loro componente distale (dal ginocchio allo zoccolo), l'insieme del complesso testa-collo nelle sue multiformi angolature e, più in generale, l'atteggiamento complessivo del corpo derivante dal reclutamento e dall'attivazione dei numerosi muscoli antigravitari. Spesso la variazione della postura si accompagna a movimenti del collo, a diversi atteggiamenti dei padiglioni auricolari e delle labbra.

L'insieme di tali diversi segnalatori assume valore di segnale di particolari stati emotivi o di specifiche intenzioni e lo studio di tali atteggiamenti complessivi ha consentito agli etologi di definire specifici etogrammi comunicativi della sfera emozionale o, più generalmente, del livello del coinvolgimento emotivo dell'animale.

Il sistema di codifica della facies equina (EquiFACS)

Il *Facial Action Coding System* (FACS) è un sistema di codifica delle espressioni facciali dell'uomo, attraverso la codifica di unità d'azione (UA) e descrittori d'azione (AD) (Cohn et al., 2006). Le UA ed i AD sono il risultato della contrazione di un specifico muscolo ed il sistema FACS è stato adattato per l'uso in diverse specie animali, ad esempio oranghi (Caeiro et al., 2013), gatti (Caeiro et al., 2017) o cani (Waller et al., 2013).

Lo sviluppo di un adattamento del FACS, da utilizzare sui cavalli, è stato realizzato attraverso il riscontro alla dissezione della muscolatura responsabile delle espressioni facciali naturali del cavallo (Wathan et al., 2015) ed è stato chiamato EquiFACS. Il FACS equino può essere classificato come una sorta di etogramma della facies del cavallo interamente basato sull'anatomia muscolare. Wathan e coll. hanno definito il catalogo delle diverse Unità d'Azione (UA) e dei Descrittori d'Azione (AD), per come di seguito riportato.



I muscoli facciali del cavallo.

<i>AU101 Inner brow raiser</i>	<i>EAD104 Ear rotator</i>
<i>AU143 Eye closure</i>	<i>AD19 Tongue show</i>
<i>AU145 Blink</i>	<i>AD29 Jaw thrust</i>
<i>AU47 Half Blink</i>	<i>AD30 Jaw sideways</i>
<i>AU5 Upper lid raiser</i>	<i>AD133 Blow</i>
<i>AD1 Eye white increase</i>	<i>AD38 Nostril dilator</i>
<i>AU10 Upper lip raiser</i>	<i>AD50 Vocalization</i>
<i>AU12 Lip corner puller</i>	<i>AD76 Yawning</i>
<i>AU113 Sharp lip puller</i>	<i>AD80 Swallow</i>
<i>AUH13 Nostril lift</i>	<i>AD81 Chewing</i>
<i>AU16 Lower lip depressor</i>	<i>AD84 Head shake side to side</i>
<i>AD160 Lower lip relax</i>	<i>AD85 Head nod up and down</i>
<i>AU17 Chin raiser</i>	<i>AD86 Grooming</i>
<i>AU18 Lip pucker</i>	<i>AD87 Ear shake</i>
<i>AU122 Upper lip curl</i>	<i>AD51 Head turn left</i>
<i>AU24 Lip presser</i>	<i>AD52 Head turn right</i>
<i>AU25 Lips part</i>	<i>AD53 Head up</i>
<i>AU26 Jaw drop</i>	<i>AD54 Head down</i>
<i>AU27 Mouth stretch</i>	<i>AD55 Head tilt left</i>
<i>EAD101 Ears forward</i>	<i>AD56 Head tilt right</i>
<i>EAD102 Ear adductor</i>	<i>AD57 Nose forward</i>
<i>EAD103 Ear flattener</i>	<i>AD58 Nose back</i>

da Wathan et al., 2015.

Table 1. Summary of actions units in EquiFACS compared to Human FACS.

Action Unit	Muscles	In Human FACS
101 Inner brow raiser	Levator anguli oculi medialis	Resembles AU1, which is underpinned by the frontalis. The frontalis is present in horses (interscutularis) but does not seem to raise the brow region.
143 Eye closure and 145 Blink	Orbicularis oculi, Levator palpebrae superioris	Resembles AU43 and 45, but these are underpinned by the levator palpebrae superioris alone.
47 Half blink	Orbicularis oculi	Not described
5 Upper lid raiser	Levator palpebrae superioris	Same code and muscle
10 Upper lip raiser	Levator labii superioris, transverse nasi	Same code and muscles
12 Lip corner puller	Zygomatic major	Same code and muscle
113 Sharp lip puller	Levator labii superioris alaeque nasi	Not described, but similar visual properties to AU13.
H13 Nostril lift	Levator annuli oris fascialis	Same muscles as AU13, although different action and visual appearance
16 Lower lip depressor	Depressor labii inferioris	Same code and muscle
17 Chin raiser	Mentalis	Same code and muscle
18 Lip pucker	Orbicularis oris, incisivi labii	Same code and muscles, although more likely to occur in both lips in humans
122 Upper lip curl	Levator labii superioris; transverse nasi	Similar action to AU22, but more likely to occur in both lips in humans, and has a different muscular basis.
24 Lip presser	Orbicularis oris	Same code and muscle
25 Lips part	Depressor labii, or relaxation of the mentalis or orbicularis oris	Same code and muscles
26 Jaw drop	Maseter, temporal and internal pterygoid relaxed	Same code and muscles
27 Mouth Stretch	Pterygoids, digastric	Same code and muscles

doi:10.1371/journal.pone.0131738.t001

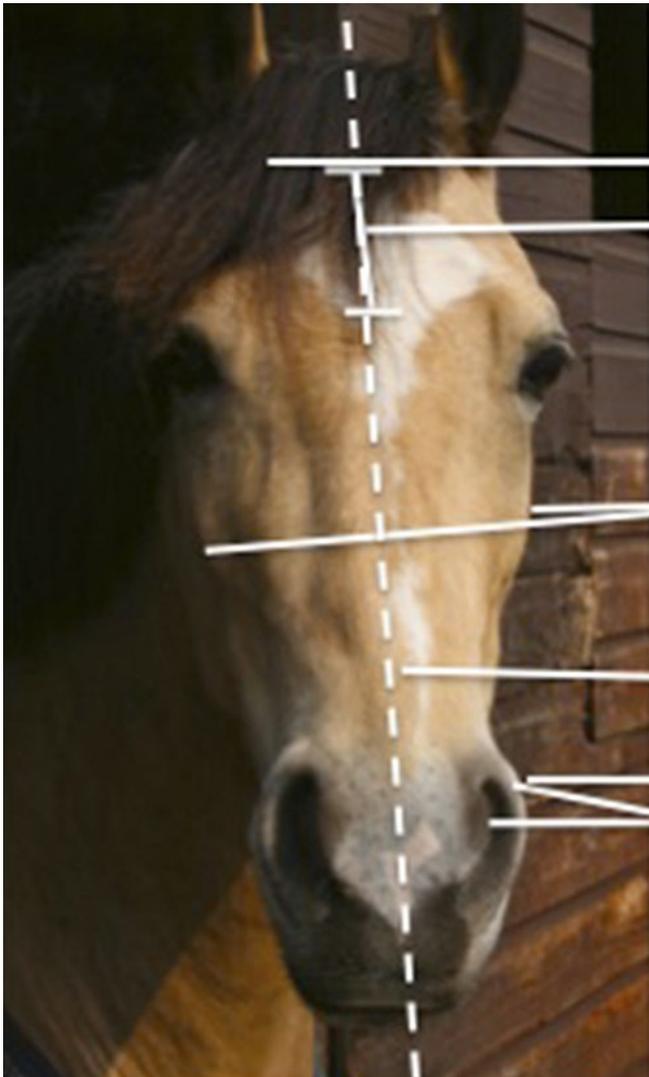
da Wathan et al., 2015.

Table 2. Summary of actions descriptors in EquiFACS compared to Human FACS.

Action Descriptor	In Human FACS
1 Eye white increase	Not described
101 Ears forward	Not described
102 Ear adductor	Not described
103 Ear flattener	Not described
104 Ear rotator	Not described
160 Lower lip relax	Not described
19 Tongue show	Same code
29 Jaw thrust	Same code
30 Jaw sideways	Same code
133 Blow	Similar to AD33, blow
38 Nostril dilator	Same code

doi:10.1371/journal.pone.0131738.t002

da Wathan et al., 2015.



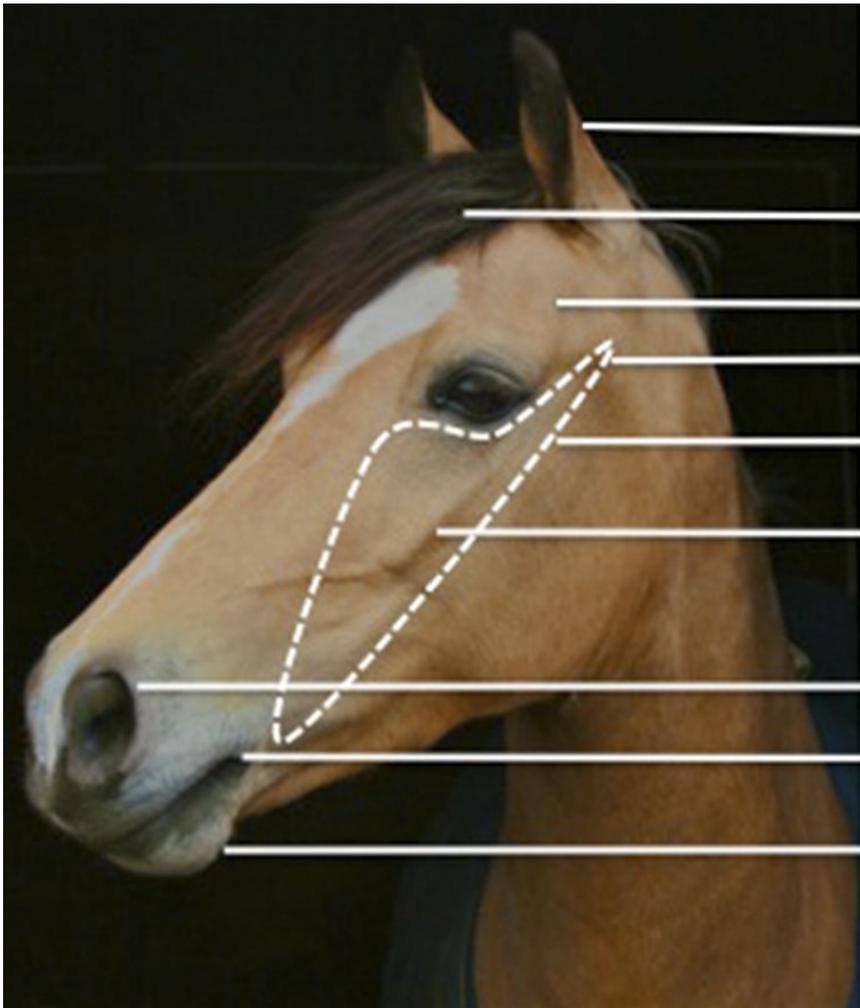
Nuca

Regione frontale

Creste facciali

Froge

Ali delle narici



Padiglioni auricolari

Nuca

Arcata zigomatica

Processo zigomatico

Regione infraorbitale

Cresta facciale

Froge

Angolo della
commessura labiale

Mento



Facies neutra



Azione dell'Unità AUH13:
Rilassamento del m. *elevator
annuli oris fascialis*

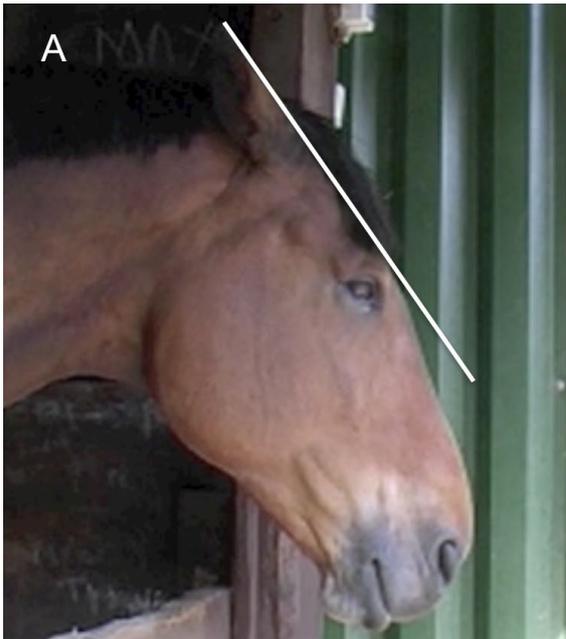


Azione dell'Unità AUH13:
Contrazione del m. *elevator
del labbro superiore*

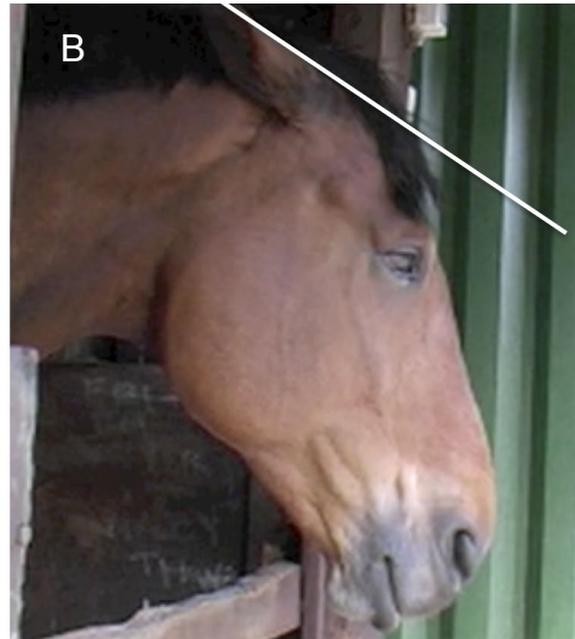
I cavalli hanno una serie estremamente complessa e robusta di muscoli auricolari che consentono un grande gamma di specificità di movimenti. Tuttavia, poiché i padiglioni auricolari dei cavalli manifestano poche variazioni nella forma della pinna (orecchio esterno), ciò rende relativamente facile la codifica dei loro movimenti. EquiFACS fornisce descrittori di azione piuttosto che unità di azione specifiche, a causa della complessità muscolare attorno al padiglione auricolare, ed è impossibile conoscere la base esatta dei movimenti dell'orecchio. Prima di codificare i movimenti dell'orecchio nei cavalli è necessario determinare una posizione neutra ed il momento ideale per ottenerla è quando il cavallo è a riposo.



Posizione neutra dei padiglioni auricolari del cavallo

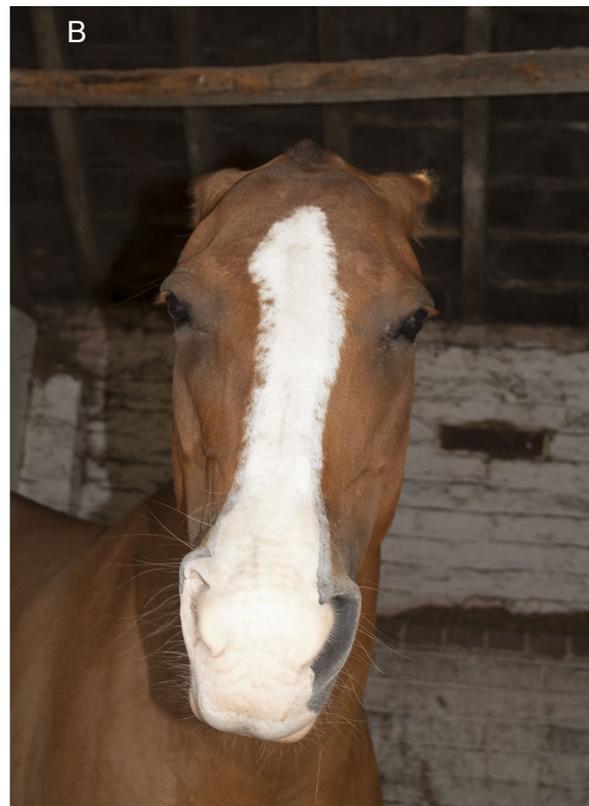


Posizione neutra



Unità d'azione del cavallo *AUH103*:

- Descrittori*: 101: orecchie indietro
 102: adduzione dei padiglioni
 103: appiattimento
 104: rotazione



Come sopra

7. Scopo della tesi

È noto come l'esistenza dell'uomo possa risultare arricchita dalla relazione con gli animali, i quali contribuiscono a renderla più piena e appagante. La ricerca sulla relazione uomo-animale ha fornito negli ultimi decenni un grande apporto su come si attui questo processo di valorizzazione e di come esso agisca positivamente sulla salute dell'individuo, concorrendo all'armonioso sviluppo della sua personalità. L'animale, con la sua capacità di comunicare e stabilire un legame con l'uomo, ha le potenzialità per essere un vero e proprio supporto emozionale. L'interazione con gli animali è sempre più utilizzata in contesti sia terapeutici, sia ludici che educativi. Difatti, è dimostrato che la relazione con l'animale riaccende o stimola l'interesse verso gli altri attraverso polimorfi stimoli sensoriali che tonificano la componente affettivo-emotiva della relazione. Nell'ambito degli interventi sociosanitari per il miglioramento delle condizioni di vita dei soggetti vulnerabili con vario grado di disabilità neurologiche e psichiche, l'approccio per la cura può avvalersi di modelli terapeutici ed educativi integrativi rappresentati dagli Interventi Assistiti con gli Animali (IAA), che hanno avuto negli ultimi anni una notevole diffusione in ambito nazionale ed internazionale, grazie al fatto di essere usciti dall'empirismo iniziale e di aver intrapreso l'approccio epistemologico (Hediger et al., 2019).

Il Ministero della Salute, al fine di promuovere la ricerca, standardizzare i protocolli operativi e potenziare le collaborazioni fra medicina umana e medicina veterinaria, ha sviluppato un intenso lavoro conclusosi con l'approvazione dell'accordo Stato-Regioni e Province Autonome recante il titolo di: "Linee guida nazionali per gli interventi assistiti con gli animali" del 25 marzo 2015 (Conferenza Stato Regioni, Seduta del 25 marzo 2015 Repertorio Atti n.:60/CSR del 25/03/2015). Tale accordo ha recepito il crescente interesse sociale verso attività sanitarie e sociopedagogiche volte a garantire il recupero del benessere globale dell'individuo malato o in difficoltà, uniformando i comportamenti degli operatori: figure sanitarie, pedagogiche e tecniche con diversi compiti e responsabilità.

Le Linee Guida nazionali sugli IAA sono state recepite da tutte le regioni e la Sicilia, grazie al D.A. n. 473 del 23.03.2016 e, successivamente, al D.A. n. 122 del 23 gennaio 2018, è ritenuta regione all'avanguardia negli strumenti normativi per portare a regime nuovi modelli di prevenzione, cura e lotta alla disabilità.

All'indomani della promulgazione delle Linee Guida Nazionali per gli Interventi Assistiti con gli animali è emersa in maniera dirompente l'esigenza di dotarsi anche in questo campo di metodologie e tecniche di monitoraggio degli animali adibiti agli IAA, che consentano di poter svolgere le attività terapeutiche con l'ausilio degli animali senza determinare situazioni di privazione etologica e di sofferenza animale, che determinerebbero significativi limiti all'efficacia terapeutica o educativa della relazione uomo-animale.

A livello scientifico è stato dimostrato, infatti, che l'animale impiegato nelle terapie, soprattutto nel campo neurologico e psicologico, è emotivamente coinvolto a tal punto che sarebbe opportuno prevedere dei veri e propri tempi di ristoro e degli accorgimenti infrastrutturali e di management atti a tutelarne l'equilibrio emozionale.

La tutela dell'integrità animale, difatti, risulta essere requisito fondamentale per ogni tipo di IAA, ed ha come momento propedeutico, il soddisfacimento dei bisogni etologici specie-specifici. Si tratta in buona sostanza di prevedere che l'ambiente di lavoro e/o di vita degli animali impiegati negli IAA sia effettivamente adeguato alle caratteristiche fisiologiche ed etologiche delle specie impiegate; ed in particolar modo nella specie asinina è requisito fondamentale, ai fini del soddisfacimento dei bisogni etologici, la presenza di uno spazio adeguato (sia nelle dimensioni che nella qualità del terreno) affinché l'animale possa effettuare il “*bagno di sabbia*”.

D'altra parte l'interesse scientifico verso gli IAA risiede, fra l'altro, nell'identificazione, quantificazione e validazione di indicatori soggettivi ed oggettivi del benessere animale (EFSA, 2012) che rappresentano la frontiera della ricerca etologica applicata al monitoraggio degli animali adibiti alle molteplici forme degli Interventi Assistiti dagli Animali: Attività Assistita dagli Animali (AAA), Educazione Assistita dagli Animali (EAA), Terapia Assistita dagli Animali (TAA) (Dalla Costa et al., 2015; Gonzales-De Cara et al., 2017; Panzera et al., 2018).

Gli IAA sono stati indagati al fine di dimostrare scientificamente i loro benèfici effetti su molteplici quadri nosografici umani (Murphy et al., 2008; Debuse et al., 2009; McGee a. Reese, 2009; Borioni et al., 2012; Tseng et al., 2013), per contro, analoghe indagini sugli effetti indotti sugli animali adibiti agli IAA, risultano disomogenee e, spesso, non sostenute da metodologie scientificamente validate (De Santis et al., 2017).

Gli studi sugli IAA con gli equidi hanno prevalentemente riguardato il cavallo e sono stati rivolti all'idoneità dei soggetti più che alle ripercussioni degli IAA sul loro benessere. Spink (1993), ad esempio, ha definito un modello di valutazione degli standard nella selezione, nell'addestramento e nel mantenimento di cavalli adibiti specificatamente alle terapie assistite dagli animali. E' stato dimostrato che l'idoneità della conformazione, la qualità dell'andatura e del temperamento sono importanti aspetti da esaminare nella selezione dei cavalli per i programmi di riabilitazione equestre (Engel, 1992; Moore, 1992; NARHA, 1992; Wiger, 1992), mentre alcune indagini sulle caratteristiche comportamentali dell'asino hanno evidenziato che il rispetto delle peculiari componenti etologiche (comportamenti di mantenimento, spazio sociale, contattabilità, distanza di fuga, gruppo familiare) risulta fondamentale nella sua gestione in condizioni di cattività e che l'applicazione delle conoscenze sull'etogramma di *Equus caballus* L. non sempre trovano riscontro in quello di *Equus asinus* L. (Canacoo a. Avorny, 1998; French, 1998; Houpt a. Antezack, 1998; Innella et al., 2005; Malara et al., 2006).

Le più generali conoscenze etologiche sull'influenza delle condizioni di management sulla qualità di vita degli animali consentono di ritenere che l'idoneità degli animali a specifici

IAA risiede maggiormente nella possibilità di poter estrinsecare il loro normale repertorio comportamentale in quanto sociali e gregari, consentendogli di poter manifestare le loro ricercate capacità empatiche nella relazione di cura (Edgar et al., 2012; Hall et al., 2018; Paul a. Mendl, 2018).

La valutazione delle adeguate capacità empatiche degli animali negli IAA si basa sulla misurazione delle loro risposte emotive in diversi contesti sperimentali e riguardano, principalmente, le modificazioni del livello di arousal - mediato attraverso il sistema nervoso autonomo (ANS) e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) – monitorabili attraverso le risposte fisiologiche adattive di: frequenza cardiaca (HR), pressione sanguigna (BP), frequenza respiratoria (BF), dimensione della pupilla, sudorazione, livelli di corticosteroidi e neurochimici (Fraser, 2008). Tali risposte neurovegetative sono simili a quelle osservate nell'uomo (Ekman et al., 1983; Levenson, 1992) e attraverso la relazione tra profili fisiologici ANS e gli indicatori etologici dell'esperienza emotiva è possibile pervenire alla valutazione qualitativa delle emozioni animali. Nell'uomo, la meta-analisi di 22 parametri ANS ha evidenziato che le modificazioni dei parametri cardiovascolari sembrerebbero differenziare tra componenti affettivo-emotive positive e negative delle emozioni (Cacioppo et al., 2000). Altre indagini hanno evidenziato che 11 parametri ANS (cardiovascolari, elettrodermici e respiratori) differiscono (con un precisione dell'85%) tra paura, tristezza e risposte emotive neutre (Kreibig et al., 2007).

Negli animali, a tutt'oggi, le ricerche di neuroetologia ed etologia cognitiva riguardano la possibilità di distinzione tra emozioni positive e negative (valenza), insieme a misure di intensità (eccitazione). Nel cavallo, ad esempio, la risposta comportamentale generica di "stress" ha costituito la base per misurare il modo in cui "sentono" le modalità di governo della mano e di addestramento (Yarnell et al, 2013; König von Borstel et al., 2017).

Ricordando che nell'ambito del setting degli IAA l'efficacia coterapeutica o educativa di un animale (asino, cavallo, cane, gatto, coniglio) è strettamente connessa alla necessità di non alterarne i processi omeostatici emozionali che garantiscono l'efficacia relazionale animale-paziente, risulta del tutto evidente che l'approccio euristico alle attività terapeutiche ed educative assistite dagli animali è garanzia sia dell'idoneità delle interazioni sociali interspecifiche, sia dell'integrità animale. Dalla bibliografia a nostra disposizione non risulta effettuate indagini sugli eventuali effetti indotti dalle sedute di IAA a livello dell'organizzazione comportamentale dell'asino né risultano sperimentati protocolli di studio che, avvalendosi delle metodologie etologiche, consentano la valutazione oggettiva ed il monitoraggio degli indicatori di benessere.

Sulla base di tali riflessioni il presente progetto di ricerca si propone l'obiettivo primario di ottenere risultati scientifici utili allo sviluppo di metodologie di rilevazione di indicatori fisiologici ed etologici target in materia di benessere degli animali adibiti agli IAA ed, in particolar modo, degli asini. Ci si è prefissi l'obiettivo di pervenire alla definizione di un protocollo standard con variabili di input note (parametri neurovegetativi ed etologici) ed un solo valore di output di tipo qualitativo (idoneo, idoneo in condizioni controllate, scarsamente idoneo, non idoneo), apportando nuove conoscenze sulle manifestazioni

comportamentali di disagio, privazione e sofferenza della specie asinina in ambito IAA e, più in generale, maggiori conoscenze sul suo etogramma.

Riguardo ai parametri neurovegetativi, l'oggetto di indagine sperimentale ha riguardato il monitoraggio della frequenza cardiaca (HR), della sua variabilità (HRV) in termini di distanza R-R e – attraverso opportuni software – dell'rMSSD, durante setting di IAA. Tali dati - ottenuti attraverso misurazioni non invasive, grazie all'utilizzo di strumentazione telemetrica che non interferiscono con la relazione uomo-animale durante il setting di IAA – consentono di ottenere dati utili alla costruzione di un modello sperimentale per la valutazione dell'integrità emozionale dell'asino adibito agli IAA.

Riguardo, invece, ai parametri etologici, successivamente alla compilazione degli etogrammi diurni di soggetti controllo non adibiti agli IAA e dei gruppi di animali adibiti agli IAA, attraverso check-list all'uopo definite, si applicherà il disegno sperimentale etologico alla valutazione delle modificazioni degli stati comportamentale eventualmente indotte dalle attività in ambito IAA. Il video database, ottenuto durante il setting IAA, sarà sottoposto ad analisi delle sequenze video in modalità frame to frame utilizzando il codificatore dell'espressione facciale EquiFACS (Wathan et al., 2015) integrato alla metodologia sperimentale di nostre precedenti indagini (Tropia et al., 2017), che consentono la valutazione delle modalità di interazione degli animali con i pazienti.

Inoltre, attraverso la compilazione di una check-list etologica e l'annotazione della presenza/assenza di elementi significativi del livello di compartecipazione e/o di coinvolgimento empatico dell'animale durante gli interventi assistiti dagli animali, unitamente alla rilevazione delle interazioni olfattive/investigative/tattili asino-paziente, degli atteggiamenti posturali dell'asino e delle tipologie di interazione sociale asino-asino, utilizzando il modello sperimentale di nostre precedenti indagini (Panzerà et al., 2018), si perverrà ad un giudizio qualitativo dell'idoneità e della valenza terapeutica e/o educativa della relazione del binomio uomo-asino.

I modelli di valutazione delle modalità di interazione asino-paziente, verranno integrati da ulteriori indicatori etologici, ritenuti espressione dell'integrità emozionale animale o più generalmente delle condizioni di welfare, quali: grooming, autogrooming da mordicchiamento, autogrooming da grattamento, autogrooming da "bagno di sabbia", che consentiranno, inoltre, la valutazione delle condizioni infrastrutturali e di management.

8. – Materiali e metodi

L'approccio metodologico al fine di pervenire alla raccolta dei dati previsti dal progetto di ricerca ha previsto tre distinte fasi:

FASE A:

A.1 - Compilazione dell'etogramma diurno degli asini dei gruppi controllo (GC₁ e GC₂);

A.2 - Compilazione dell'etogramma diurno di riferimento degli asini dei gruppi sperimentali (GS₁ e GS₂);

FASE B:

B.1 - Acquisizione dei dati cardiofrequenzimetrici telemetrici dei soggetti campione dei gruppi GC₁ e GC₂;

B.2 - Acquisizione dei dati cardiofrequenzimetrici telemetrici dei soggetti adibiti agli IAA GS₁ e GS₂ ai tempi T₀ (10 minuti prima del setting), T₁ (durante il setting), T₂ (10 minuti dopo il setting)

FASE C:

Il video database, ottenuto durante il setting IAA, è stato sottoposto ad analisi delle sequenze video in modalità frame to frame utilizzando il codificatore dell'espressione facciale EquiFACS (Wathan et al., 2015), limitatamente ai descrittori della motilità dei padiglioni auricolari, integrato alla metodologia sperimentale di nostre precedenti indagini (Tropia et al., 2017), che consentono la valutazione delle modalità di interazione degli animali con i pazienti.

FASE A:- Compilazione dell'etogramma diurno dei gruppi GC e GS.

- *Compilazione dell'etogramma diurno degli asini dei gruppi controllo (GC₁ e GC₂);*

Nella prima fase sono stati individuati due gruppi controllo (GC₁ e GC₂) di asini non adibiti agli IAA. Il **primo gruppo controllo (GC₁)** era costituito da dieci soggetti ospitati presso l' "Agricultural Research and Development Centre" del "Ministry for the Environment, Sustainable Development and Climate Change" – Government Farm , Ghammieri Malta. Nove femmine di età compresa tra i 6 e gli 8 anni ed un maschio di 3

mesi; tutti appartenenti alla razza Jerusalem. Gli asini di razza Jerusalem sono asini di piccole dimensioni originari del Nord Africa e del Medio Oriente dove venivano utilizzati principalmente per il trasporto. Sono successivamente stati introdotti nei paesi del mediterraneo per lo stesso fine. Ai giorni nostri sono comunemente tenuti come “Pets” in quanto molto docili e socievoli. Sul dorso presentano una croce nera, dalla quale ne scaturisce il nome “Jerusalem”. Il gruppo era stabulato in un paddock in terra battuta di circa 555 mq all’interno del quale era ubicata il box collettivo di circa 30 mq e due abbeveratoi, uno all’interno del box, dove era presente anche una mangiatoia lineare in muratura e uno all’esterno.



Government Farm (Ghammieri-Malta)



Recinto /Paddock asini - Government Farm (Ghammieri-Malta)



Box collettivo con mangiatoia lineare (lato ingresso)



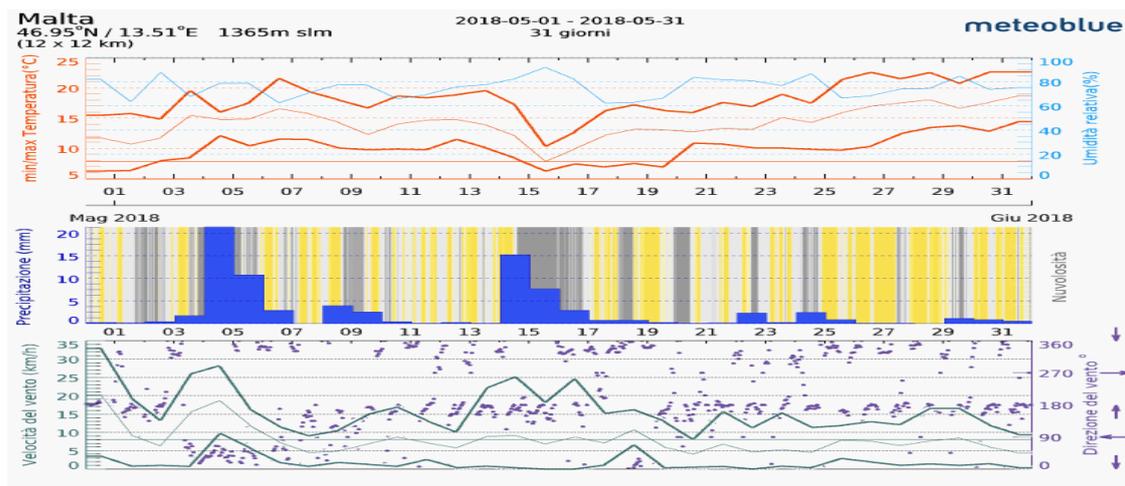
Box collettivo con mangiatoia lineare (lato opposto)



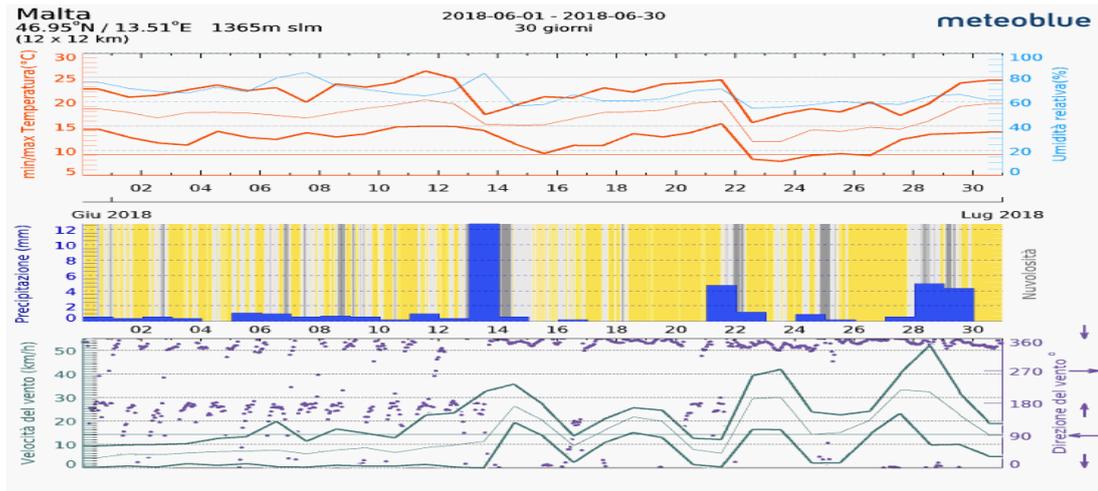
Beverino allocato all'interno del box collettivo

La razione giornaliera veniva somministrata la mattina in un arco di tempo variabile dalle ore 05:00 alle ore 10:00 e comprendeva mangime in pellet e fieno, senza alcun accesso al pascolo in quanto vietato dalla normativa vigente sul territorio maltese. Gli asini ospitati presso la Government farm erano soggetti totalmente disabituati al contatto con l'uomo ad eccezione della persona addetta al loro governo.

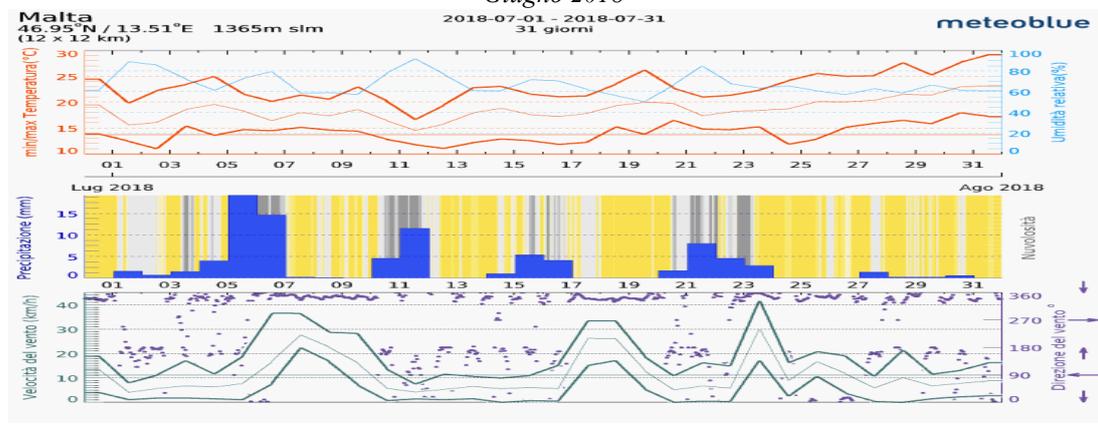
Lo studio è stato condotto in un arco temporale compreso dal maggio al novembre del 2018 al fine di poter acquisire informazioni in diverse stagioni e con differenti condizioni meteorologiche. Si riportano di seguito i grafici meteo del periodo dello studio:



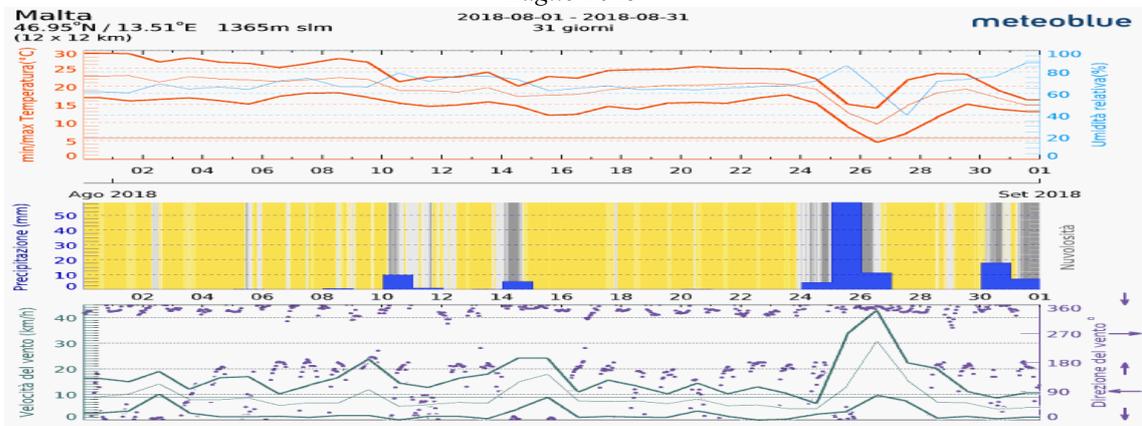
Maggio 2018



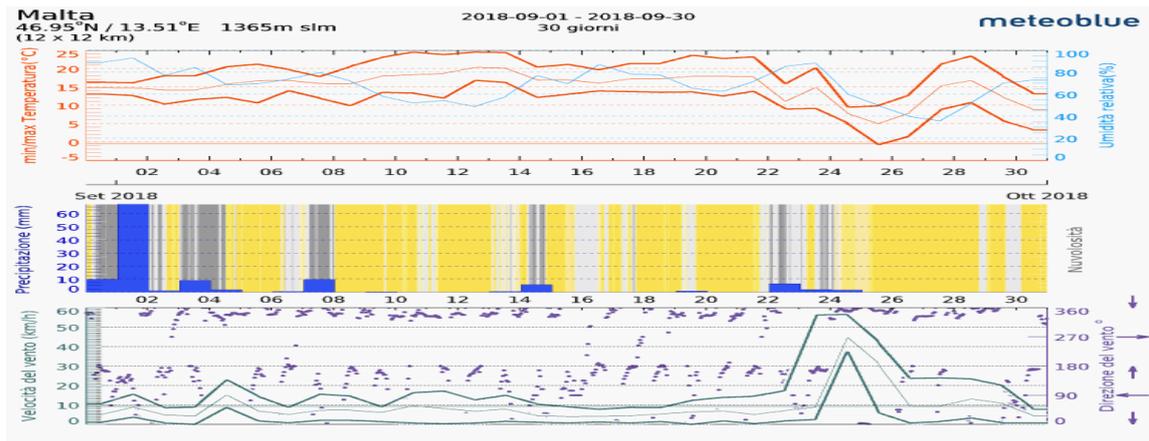
Giugno 2018



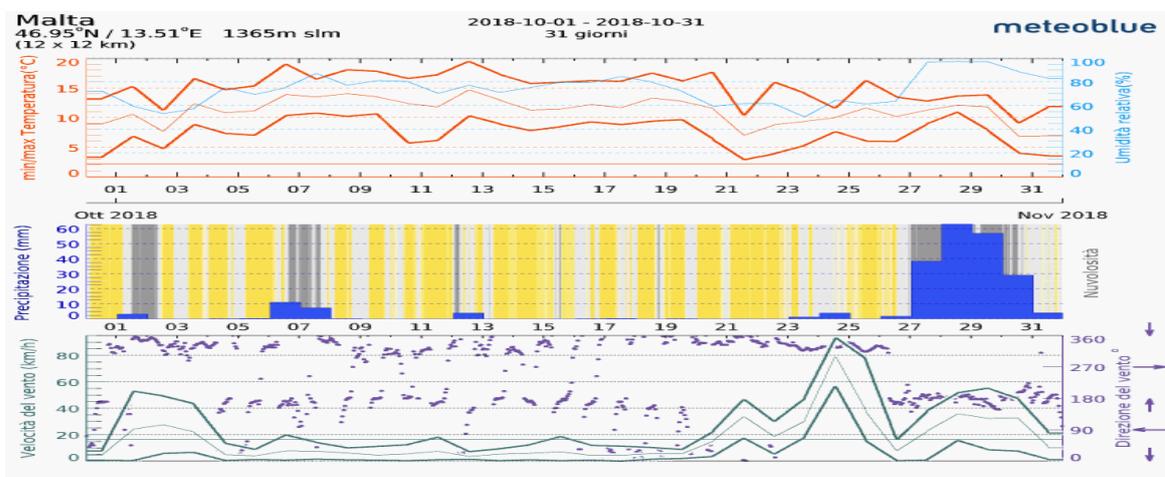
Luglio 2018



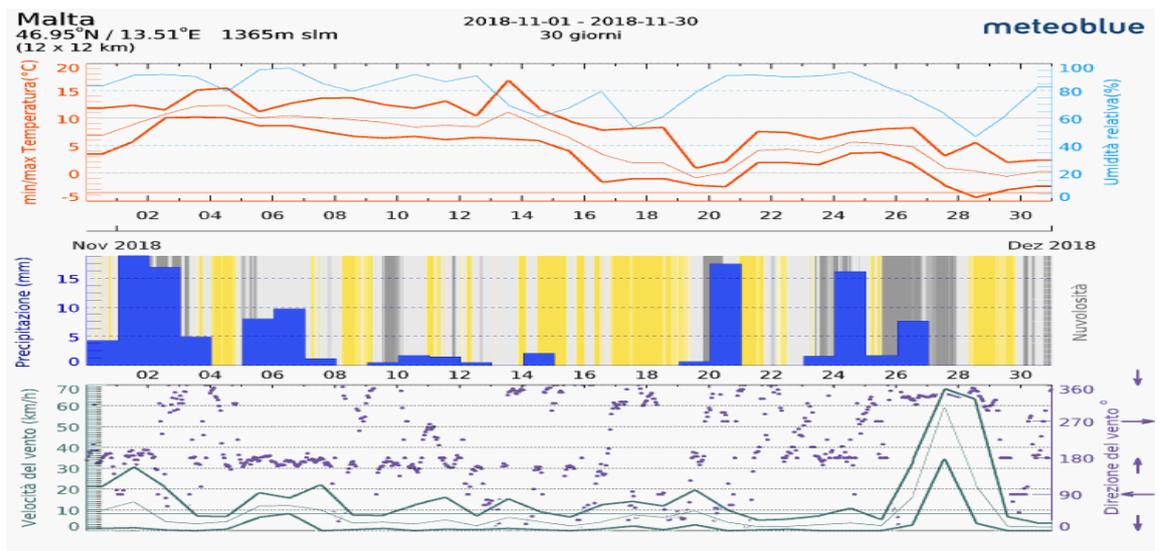
Agosto 2018



Settembre 2018



Ottobre 2018



Novembre 2018

Come si evince dalla disamina dei grafici meteo le temperature e le percentuali di umidità relativa sono state per lo più costanti con una temperatura minima di circa 15° C (ad esclusione dei mesi di ottobre e novembre nei quali è scesa intorno ai 5°C) e una temperatura massima di circa 25°C (con picchi fino ai 30°C nei mesi di Luglio e Agosto); ed un'umidità relativa compresa tra il 60 e l'80 %. Le precipitazioni sono state abbondanti solo nel mese di Novembre. Le condizioni meteo si possono, quindi, ritenere, idonee alla normale manifestazione degli stati ed eventi comportamentali dell'asino.

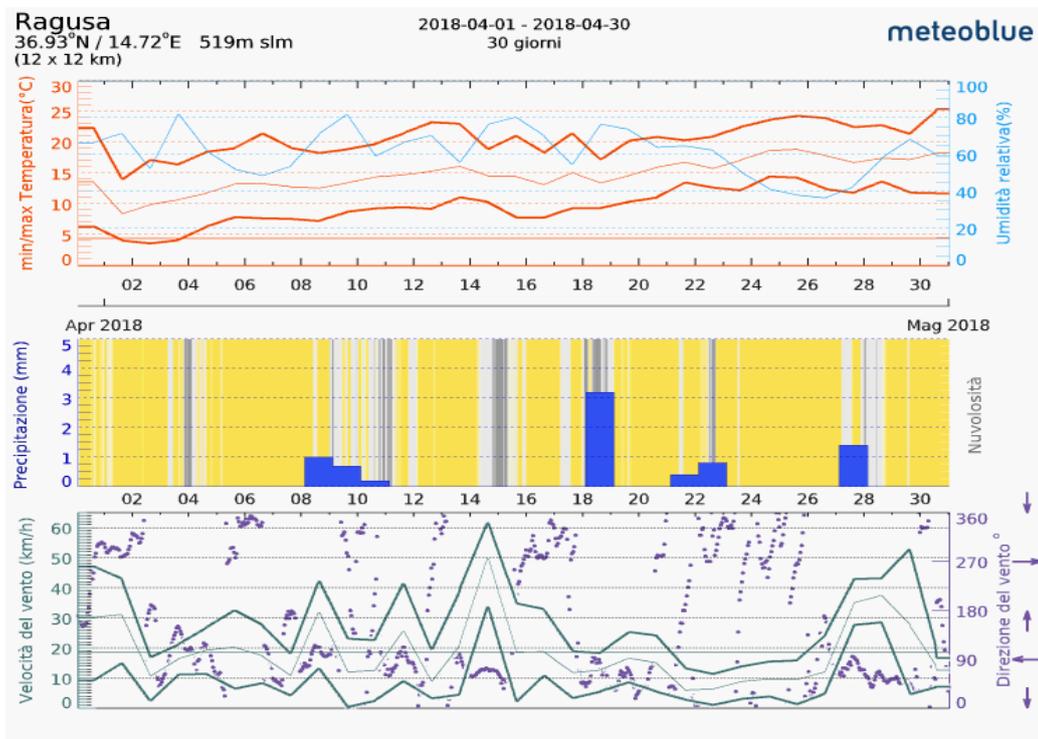
Il secondo gruppo controllo (GC₂) era formato da 8 soggetti appartenenti ad un'azienda zootecnica sita nella provincia di Ragusa. Il gruppo era composto da sei soggetti di sesso femminile e due di sesso maschile di età media pari a 6 anni; tutti di razza Sarda. Il gruppo era confinato in un paddock di circa 2000 mq durante il giorno, la notte invece veniva spostato in un paddock di circa 800 mq. La razione giornaliera prevedeva una singola somministrazione di fieno e concentrato e pascolamento *ad libitum*. Lo studio è stato condotto nel periodo aprile – settembre 2018 al fine di poter acquisire informazioni in diverse stagioni e con differenti condizioni meteorologiche. Si riportano di seguito i grafici meteo del periodo dello studio ad eccezione di quello relativo al mese di settembre, mancante per inconveniente tecnico.



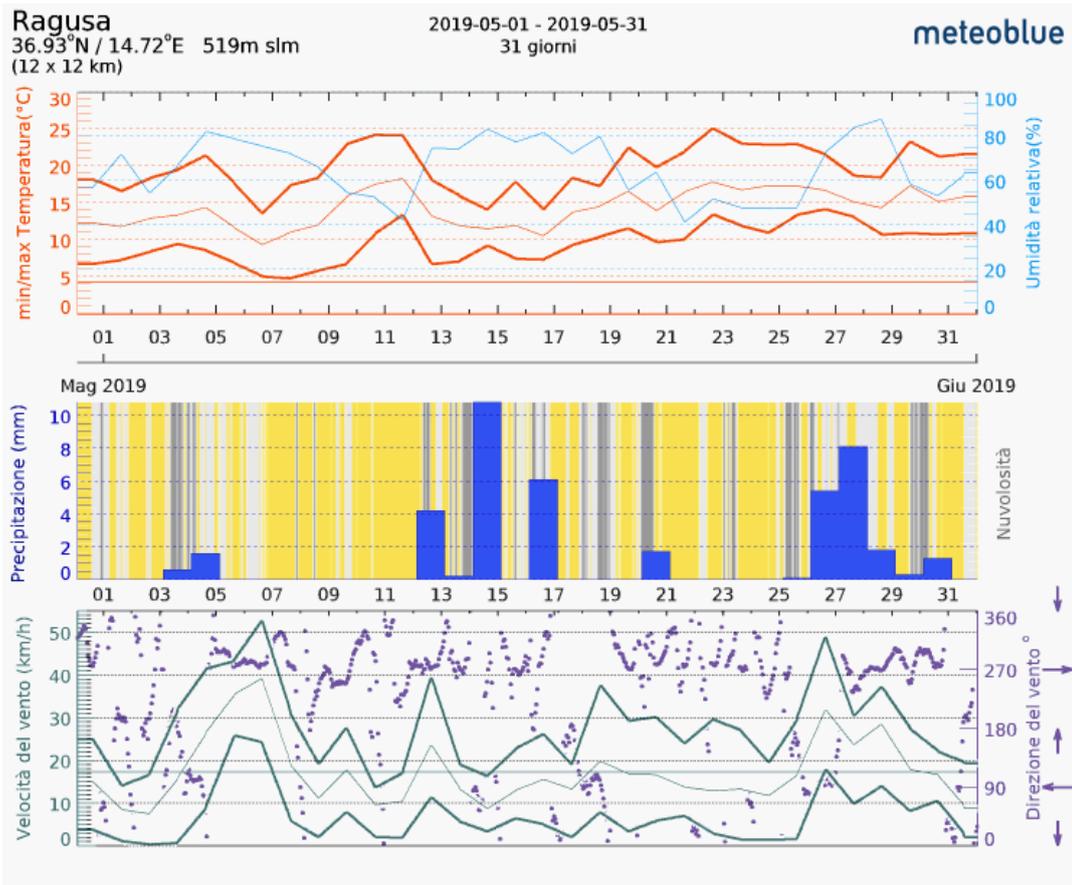
Terreno di pascolamento



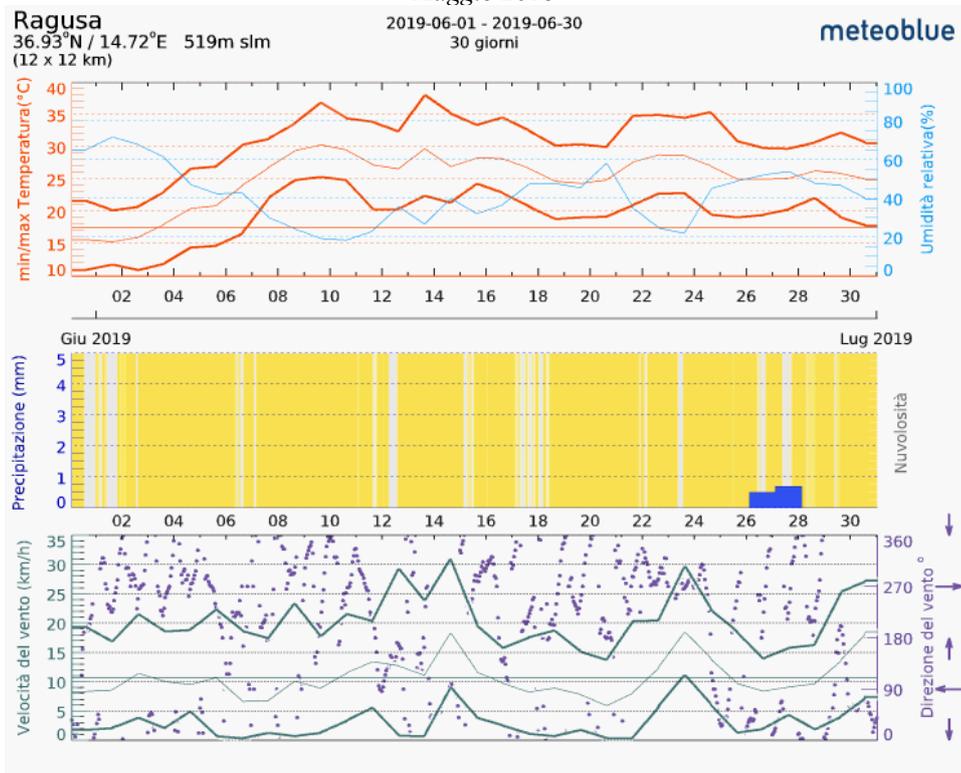
Attività di pascolamento



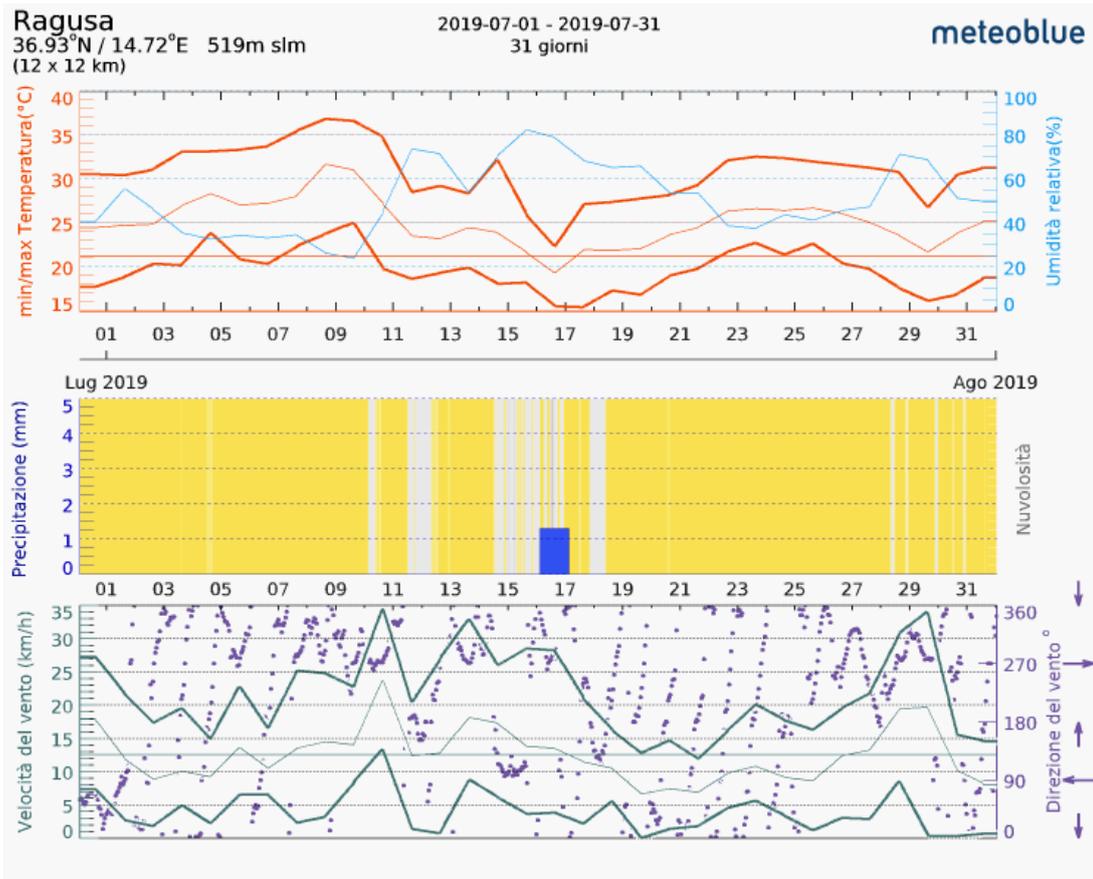
Aprile 2018



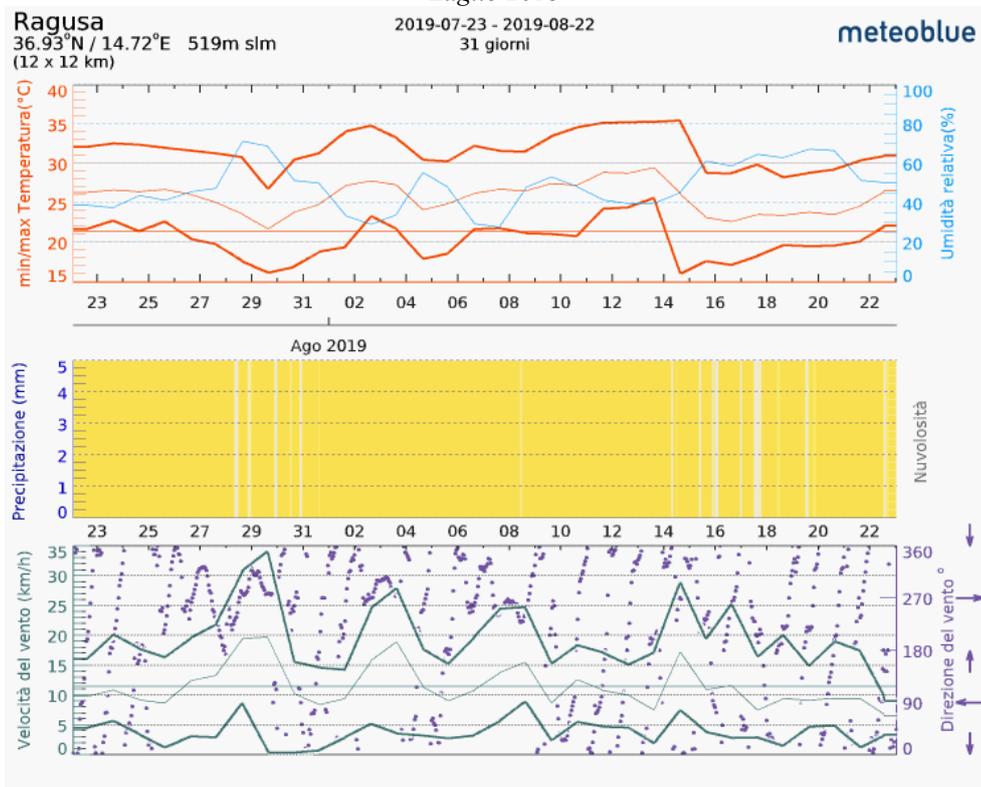
Maggio 2018



Giugno 2018



Luglio 2018



Agosto 2018

Come si evince dalla disamina dei grafici meteo le temperature e le percentuali di umidità relativa sono state per lo più comprese nella media stagionale con una temperatura minima di circa 5° C (tra aprile e maggio), una temperatura massima di circa 36°C (tra giugno e agosto) ed un'umidità relativa compresa tra il 20 e l'80 %. Le precipitazioni sono state abbondanti solo nel mese di maggio. Le condizioni meteo si possono, quindi, ritenere, idonee alla normale manifestazione degli stati ed eventi comportamentali dell'asino.

- *Compilazione dell'etogramma diurno di riferimento degli asini dei gruppi sperimentali (GS₁ – T0; GS₂ – T0);*

Il **primo gruppo sperimentale (GS₁)** era costituito da sei asine, clinicamente sane, di età compresa tra i 5 e i 17 anni, tutti di razza Sarda, facenti parte della stessa azienda zootecnica del gruppo GC₂. Il gruppo, analogamente al GC₂ era confinato in un paddock di circa 2000 mq durante il giorno, la notte invece veniva spostato in un paddock di circa 800 mq. I soggetti costituenti il gruppo GS₁ erano adibiti agli IAA. La razione giornaliera prevedeva una singola somministrazione di fieno e concentrato e pascolamento *ad libitum*. Lo studio è stato condotto nel periodo aprile – settembre 2018.

Il **secondo gruppo sperimentale (GS₂)** era costituito da sette asini, clinicamente sani, di età compresa tra i 5 mesi e i 12 anni, (5 femmine e 2 maschi interi), tutti di razza Amiatina, facenti parte della fattoria sociale di una comunità terapeutica sita in provincia di Reggio Calabria.

L'Amiata è una razza di asini originaria dell'Africa ma evolutasi in Toscana, in particolare sul monte Amiata da cui deriva il nome. Asini amiatini sono stati raffigurati anche da Giottonella cappella degli Scrovegni di Padova. Fisicamente, l'asino amiata si presenta con un'altezza al garrese media di 135 cm, e con un mantello grigio sorcino, che diventa più chiaro nelle zone del ventre e del muso. Le zampe presentano delle caratteristiche zebbrature. La testa è proporzionata, le orecchie sono dritte e ben portate, e con i bordi più scuri rispetto al resto. Ha una caratteristica molto particolare: una fascia scura che collega la criniera e la coda, che si interseca con un'altra fascia all'altezza delle scapole. A questa croce che si viene a creare si deve il soprannome di questa razza, 'sorcino crociato'. La groppa è spiovente e il petto aperto, gli arti sono corti e solidi, i piedi robusti e con unghie compatte.

Localizzazione	
Zona di origine	monte Amiata
Diffusione	provincia di Grosseto, saltuariamente in altre parti d'Italia
Aspetto	

Altezza	in media 135 – 138 cm
Mantello	prevalenza del sorcino grigio con riga dorsale scura; zebratura agli arti, orlo scuro delle orecchie; muso, contorno occhi, lato mediale degli arti e ventre grigio chiari.
Allevamento	
Utilizzo	soma, tiro, cavalcatura, onoterapia, onotrekking



Asino dell'Amiata

La razione giornaliera prevedeva una singola somministrazione di fieno e concentrato e pascolamento *ad libitum* a giorni alterni. Lo studio è stato condotto nel periodo aprile – agosto 2019. Si riportano di seguito i grafici meteo del periodo dello studio, ad eccezione del mese di agosto. La struttura che ospitava gli asini era costituita da un paddock recintato con soprassuolo in materiale inerte nel quale era stato ricavato il box collettivo, posto in un angolo del paddock. Gli asini potevano fruire di un ampio appezzamento (2 Ha) per le attività di pascolamento, al quale potevano accedere settimanalmente almeno 3 volte. Il loro governo era affidato stabilimenti ad alcuni ospiti lungodegenti della comunità terapeutica.

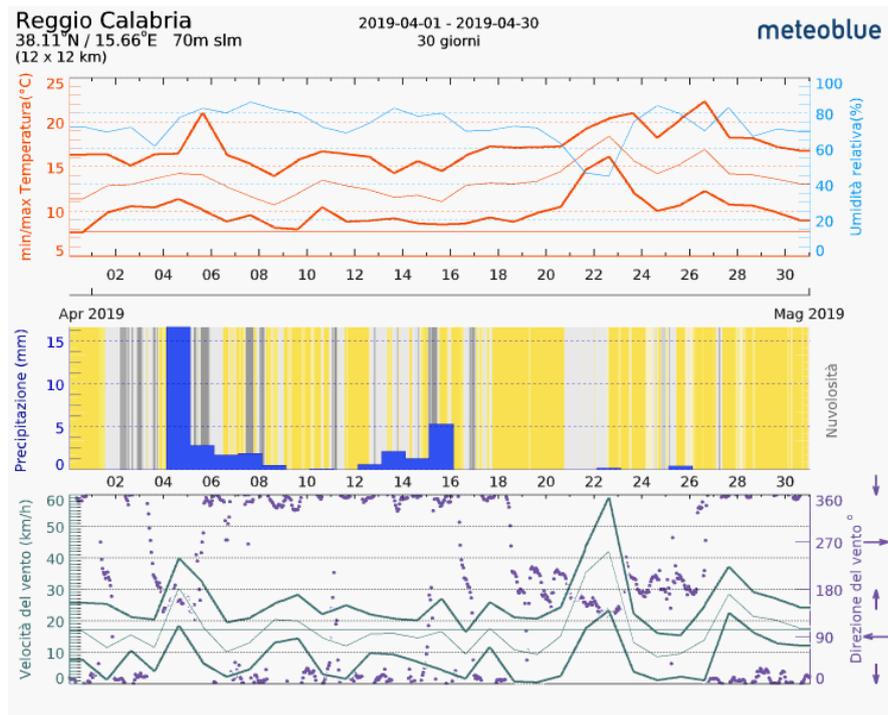


Box collettivo dei soggetti GS₂

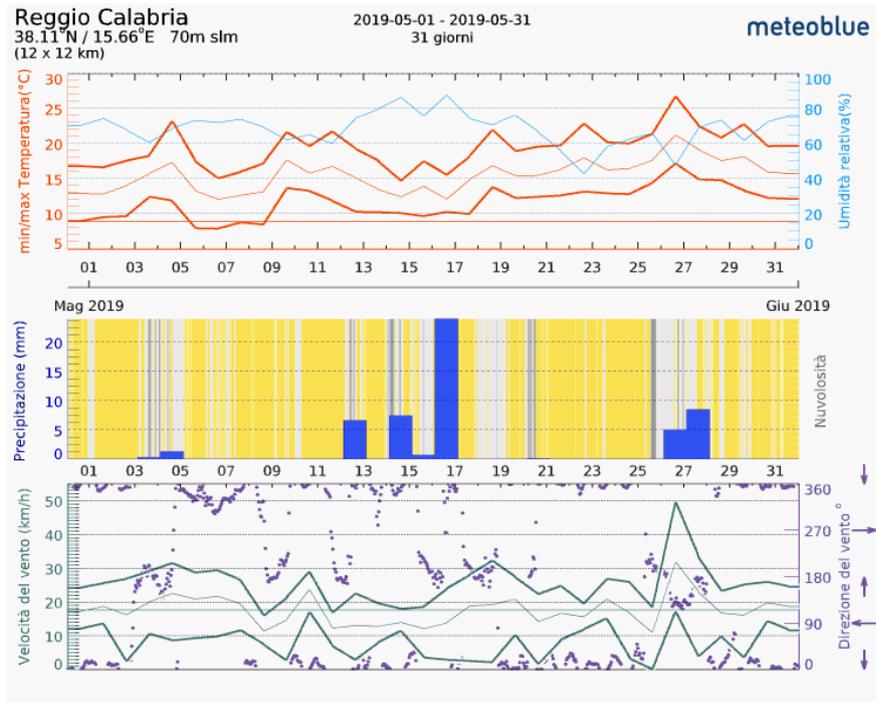




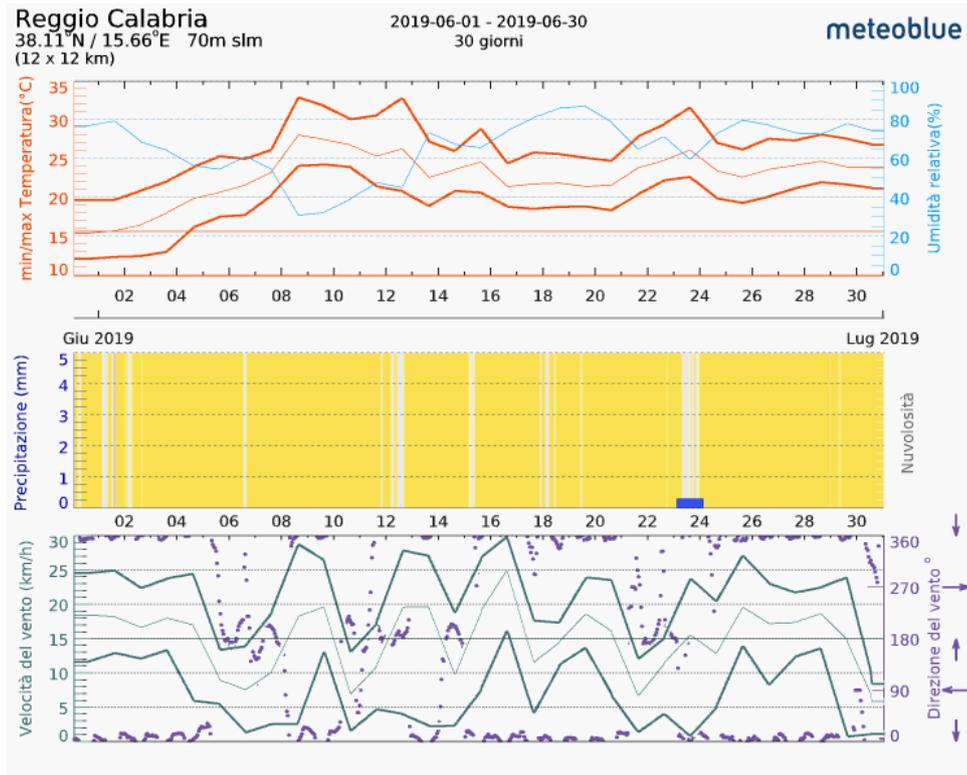
Paddock recintato con soprassuolo in inerti.



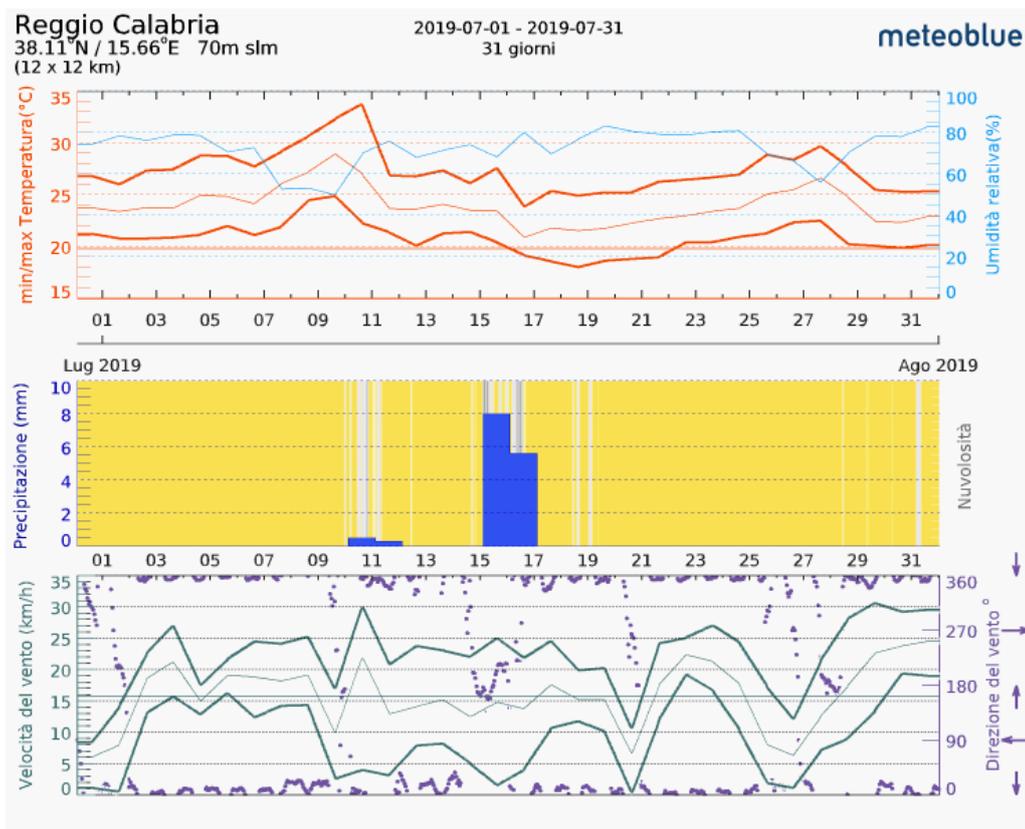
Aprile 2019



Maggio 2019



Giugno 2019



Luglio 2019

Come si evince dalla disamina dei grafici meteo le temperature e le percentuali di umidità relativa sono state per lo più comprese nella media stagionale con una temperatura minima di circa 7° C (tra aprile e maggio), una temperatura massima di circa 34°C (luglio) ed un'umidità relativa compresa tra il 40 e l'60 %. Le precipitazioni sono rientrate nella media stagionali sia in termini di distribuzione sia di dati pluviometrici. Le condizioni meteo si possono, quindi, ritenere, idonee alla normale manifestazione degli stati ed eventi comportamentali dell'asino.

Il campione utilizzato per la compilazione degli etogrammi diurni dei diversi gruppi allo studio è riportato nella tabella seguente.

Gruppo	maschi	femmine	totali
GC ₁	1	9	10
GC ₂	2	6	8
GS ₁	-	6	6
GS ₂	2	5	7
	5	26	31

Fase B - Metodologia di acquisizione dei dati fisiologici

Su alcuni soggetti, randomizzati, dei gruppi controllo GC₁ e GC₂, si è proceduto alla rilevazione dei valori della frequenza cardiaca (HR) utilizzando sia un cardiofrequenzimetro telemetrico Polar S610i sia Polar V800 - Polar® - per la registrazione in tempo reale, con scansione ogni 5 secondi, dell'attività cardiofrequenzimetrica (espressa in battiti per minuto, bpm). Il cardiofrequenzimetro Polar S610i è stato collocato – tramite una cinghia – nell'area di auscultazione dell'itmo cardiaco, mentre il Polar V800 – dotato di tecnologia bluetooth - veniva indossato dall'operatore e all'asino veniva posizionata la fascia toracica *polarbelt equine*. I dati di HR sono stati acquisiti durante un arco temporale compreso tra 10 e 20 minuti, con gli animali in condizioni di normale attività comportamentale. I dati così ottenuti venivano trasferiti, attraverso una porta a raggi infrarossi o bluetooth su un PC dotato di software Polar Horse SW 4.0 o Polar FlowSync ed editati graficamente secondo macro preimpostate. L'intera sessione temporale dei dati cardiofrequenzimetrici veniva trasferita ed editata su foglio elettronico per l'elaborazione delle statistiche descrittive (valori medi minimi e massimi di bpm di ogni soggetto e valori medi). Per la registrazione dell'intervallo R-R è stato utilizzato il Polar V800 (Polar®) collegato con un sensore bluetooth inserito nella fascia toracica *polarbelt equine* dotata di elettrodi e trasmittente. La durata della registrazione è stata in media di circa 40 minuti (10' + 20' + 10') per ogni animale dei gruppi GS. Per l'analisi del segnale di variabilità cardiaca è stata considerata la rMSSD. La rMSSD è una variabile statistica rappresentata dalla radice quadrata della media della somma di quadrati delle differenze tra intervalli R-R adiacenti. I dati relativi all'andamento delle dinamiche cardiache permettono di acquisire una serie di informazioni quantitative e qualitative dalle quali è possibile comprendere lo stato del Sistema Nervoso Autonomo. I diversi tipi di analisi nel dominio del tempo delle frequenze cardiache forniscono indicatori specifici a valenza multipla. Tramite i valori dell'rMSSD è possibile avere una stima dell'attività del sistema parasimpatico in uno specifico arco temporale. Un valore basso di rMSSD è indice di una scarsa attività parasimpatica come nel caso di situazione ad elevato stress emotivo e, per contro, di elevato tono simpatico.



fascia toracica polarbelt equine



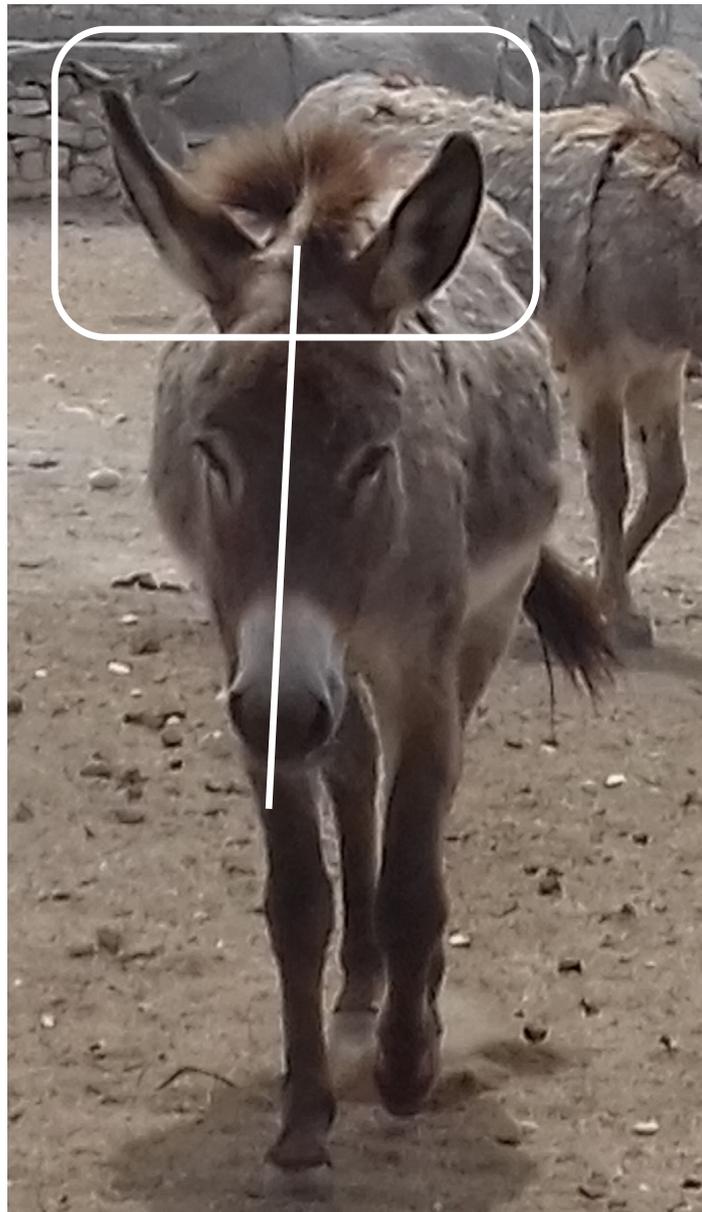
Elettrodi e trasmettente bluetooth



Cardifrequenzimetro telemetrico Polar V800 (Polar®)

FASE C – Analisi e codifica della facies asinina (*Facial Action Coding System – FACS*)

Unitamente alla valutazione degli indicatori etologici relativi al grado di socialità ed al livello di attività relazionale, abbiamo effettuato l'analisi e la relativa codifica della facies asinina, applicando il *Facial Action Coding System* (FACS) attraverso la descrizione di alcune unità d'azione (UA) e descrittori d'azione (AD) per come definite da Cohn et al., (2006) nell'uomo e da Wathan et al., (2015) nel cavallo, attraverso la metodologia EquiFACS, già descritta. La nostra attenzione è stata rivolta, in modo preliminare, alla codifica degli atteggiamenti dei padiglioni auricolari (Unità d'Azione Padiglioni Auricolari - UAPD), sinteticamente riportati nelle successive sequenze fotografiche.



Unità d'Azione Padiglioni Auricolari (UAPD) – 01



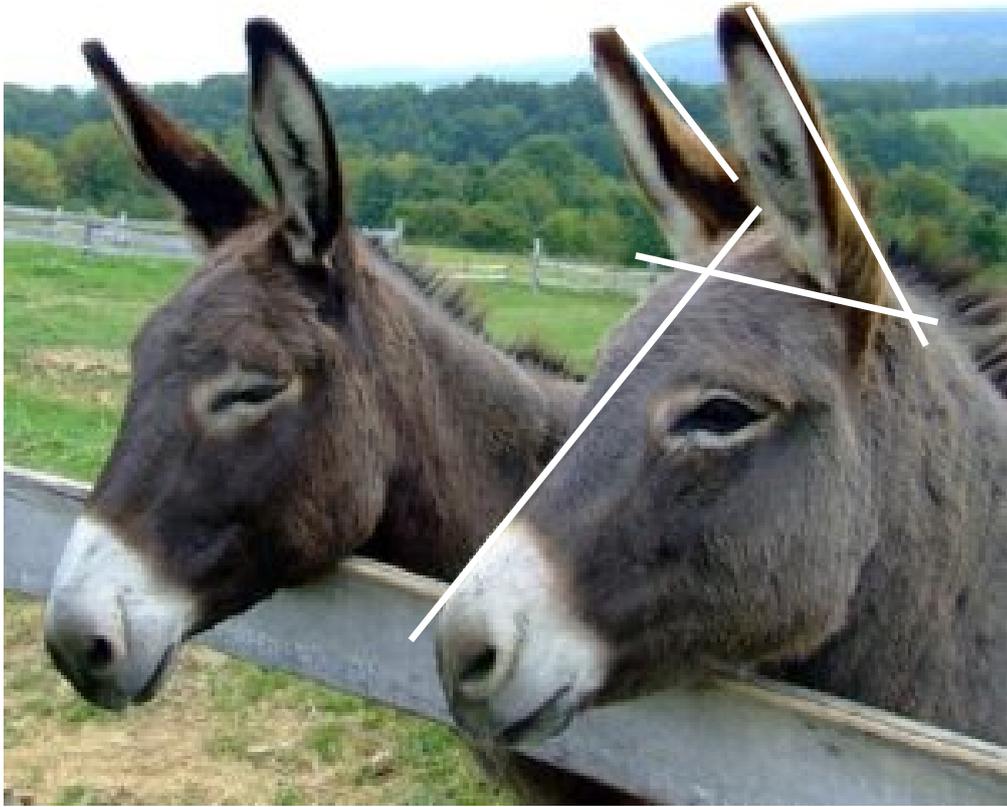
Quadranti sagittali di posizione dei padiglioni auricolari. Nei quadranti intermedi e nelle inquadrature frontali sono considerati anche i quadranti ortogonali.



Unità d'Azione Padiglioni Auricolari (UAPD) - 02



Unità d'Azione Padiglioni Auricolari (UAPD) – 03 – tangente all'apice e al corpo del padiglione



Unità d'Azione Padiglioni Auricolari (UAPD) - 04

8.1 Metodologia di acquisizione dei dati etologici

Preliminarmente all'acquisizione dei dati etologici dei soggetti appartenenti ai differenti gruppi oggetto di studio, le condizioni di management sono state valutate attraverso il protocollo “*AWIN welfare assessment protocol for donkeys*” (AWIN, 2015), al fine di standardizzare i criteri di selezione per il loro reclutamento. Il numero di animali sottoposti al protocollo AWIN per il primo livello di valutazione del benessere è stato così calcolato:

Dimensione allevamento (n. di capi)	Numero soggetti valutati con protocollo AWIN
1 - 14	Tutti
15 - 19	13
20 - 24	16
25 - 29	19
30 - 34	21
35 - 39	24
40 - 44	26
45 - 49	28
50 - 59	29
60 - 69	32

Poiché i nostri gruppi erano costituiti da un numerosità di soggetti compresa nel primo gruppo AWIN, tutti i soggetti sono stati sottoposti alle successive fasi del protocollo AWIN donkey. Successivamente all'esito del primo step di valutazione AWIN, si è proceduto alla verifica della sussistenza dei requisiti comprendenti i principi ed i criteri del secondo step del protocollo AWIN, attraverso i seguenti indicatori:

- *Body Condition Score* (tabella I e II)
- *Skin tent test*
- *Lesioni del tegumento*
- *Laminite*
- *Prolasso*
- *Assenza di malattie*

Tabella I - Assegnazioni punteggi Body Condition Score.

TABELLA PER IL BCS DELL'ASINO

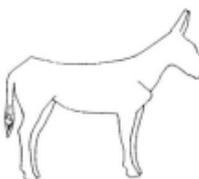
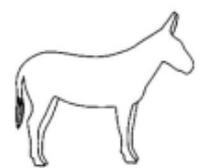
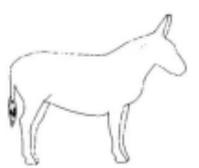
1. SCARSO		
2. MODERATO		
3. IDEALE		
4. GRASSO		
5. OBESO		

Tabella II – Legenda BCS

Condition Score	Collo e spalle	Garrese	Costole e pancia	Dorso e lombi	Quarti posteriori
1. SCARSO	Collo magro, tutte le ossa sono facilmente palpabili. Il collo si congiunge alle spalle con un angolo evidente. Le ossa delle spalle sono spigolose, facilmente palpabili.	Spina dorsale all'altezza del garrese pronunciata e facilmente palpabile.	Costole visibili a distanza e facilmente palpabili. Pancia rientrante.	Vertebre pronunciate, processi trasversi e dorsali facilmente palpabili.	Ossa dei fianchi visibili e facilmente palpabili (garretto e anche). Sottile copertura muscolare. Potrebbe essere presente una cavità al di sotto della coda.
2. MODERATO	Leggero sviluppo muscolare a coprire l'ossatura. Rilevabile piccolo incavo nel punto d'incontro tra spalle e collo.	Leggero rivestimento sulla parte dorsale, vertebre palpabili, ma non pronunciate.	Costole non visibili, ma facilmente palpabili.	Processi trasversi e dorsali palpabili con una leggera pressione. Scarso sviluppo muscolare su entrambi i lati della colonna.	Scarso strato muscolare sui quarti posteriori, ossa dei fianchi facilmente palpabili.
3. IDEALE	Buono sviluppo muscolare, ossa palpabili al di sotto di un leggero strato di muscoli/grasso. Il collo scende regolarmente verso le spalle che sono arrotondate.	Buono strato di grasso/ muscolo al di sopra delle costole dorsali. Il garrese scende regolarmente verso la schiena.	Costole coperte da un leggero strato di grasso/muscoli, palpabili con una leggera pressione. Pancia tonica con un buon tono muscolare e un profilo abbastanza piatto.	Non si riescono a palpare i singoli processi trasversi e spinali. Buono sviluppo muscolare su entrambi i lati della colonna.	Buona copertura muscolare sui quarti posteriori, ossa dei fianchi arrotondate nell'aspetto, palpabili con una leggera pressione.
4. GRASSO	Collo spesso, cresta dura, spalle coperte da uno spesso strato di grasso.	Garrese largo, ossa palpabili dietro decisa pressione.	Costole dorsali palpabili solo dietro decisa pressione. Costole ventrali più facili da percepire. Pancia sovrasviluppata.	Sono palpabili solo i processi trasversi e dorsali con una ferma pressione. Leggera piega lungo la colonna vertebrale.	Quarti posteriori arrotondati, ossa palpabili solo dietro forte pressione. Depositi di grasso distribuiti uniformemente.
5. OBESO	Collo spesso, cresta sporgente che può ricadere su un lato. Spalle arrotondate e sporgenti.	Garrese largo, ossa non palpabili	Considerevoli depositi di grasso, spesso non omogenei, che rivestono la parte dorsale e addominale delle costole, che non sono palpabili. Pancia cadente.	Schiena larga con processi trasversi e spinali non palpabili. Profonda piega al centro con sporgenze di grasso su entrambi i lati.	Fianchi non palpabili, sporgenze di massa grassa su entrambi i lati della coda. Grasso distribuito in modo irregolare.

Successivamente alla determinazione del BCS, sono stati rilevati gli altri indicatori del secondo step del protocollo AWIN ed i soggetti con esito positivo sono stati reclutati per la determinazione dei parametri neurovegetativi ed etologici oggetto della presente ricerca.

Più in particolare per quanto riguarda i parametri etologici, tra le diverse tipologie di allevamento quella sulla quale è stata rivolta la nostra attenzione è stata la tipologia di allevamento semistabulativo, in quanto rappresenta la condizione di management maggiormente idonea a garantire, a priori, l'integrità emozionale dei soggetti potenzialmente da adibire agli IAA. La check list relativa all'etogramma diurno di *Equus asinus L.* è stata compilata avvalendoci di analoghe nostre precedenti indagini e sulla base di alcuni riferimenti bibliografici sull'argomento (Canacoo, 1991; Moehlman, 1998; Innella et al., 2005; Malara et al., 2006). La check list (Tabella IIIa e IIIb), pertanto, è stata strutturata al fine di quantificare sia gli stati sia gli eventi comportamentali, come di seguito riportato:

Stati comportamentali:

- *Stazione in Veglia Vigile;*
- *Stazione in Veglia Rilassata;*
- *Decubito sterno costale con padiglioni auricolari tonici o rilassati;*
- *Decubito laterale con atteggiamento di autoauscultazione con padiglioni auricolari tonici o rilassati;*
- *Decubito laterale completo;*
- *Attività cinetica;*
- *Pascolamento o Alimentazione.*

Eventi:

- *grooming;*
- *autogrooming da grattamento;*
- *autogrooming da mordicchiamento;*
- *autogrooming da " bagno di sabbia;*
- *gioco motorio;*
- *competizione alimentare per il concentrato/fieno;*
- *vocalizzazioni;*
- *abbeverata.*

Tabella IIIa – Descrizione degli stati comportamentali di *Equus asinus L.*

Stazione (veglia vigile)	Postura in stazione quadrupedale o tripodale; angolo formato dalla retta tangente il margine superiore dell'incollatura > o uguale a 45°; padiglioni auricolari eretti ed in attivo orientamento.
Stazione (veglia rilassata)	Postura in stazione quadrupedale o tripodale; angolo formato dalla retta tangente il margine superiore dell'incollatura < o uguale a 0° (parallelismo fra l'incollatura e il suolo); padiglioni auricolari rilassati e rivolti caudalmente.
Decubito	L'animale giace al suolo con arti addotti e flessi, poggiando contemporaneamente sullo sterno e su un fianco (STERNOCOSTALE) oppure poggiando l'intera superficie laterale del corpo con arti estesi e spesso disaccoppiati (LATERALE).
Deambulazione	Progressione nello spazio mediante coordinamento degli arti, più o meno lungo e veloce.
Abbeverata	Testa estesa sul collo con incollatura protesa nell'atto di attingere dalla fonte idrica. N.B: L'avvento degli abbeveratoi automatici ha alterato l'atteggiamento più tipico di tale comportamento.
Pascolamento/Alimentazione	Testa estesa sul collo, incollatura protesa verso il suolo nell'atto di attingere dal substrato, sovente accompagnato da deambulazione lenta e molto discontinua. N.B: L'avvento delle mangiatoie a muro ha alterato l'atteggiamento più tipica di tale comportamento.
Allattamento	Posizione antiparallela rispetto alla madre con estensione della testa sul collo, ventroflexione di quest'ultimo; testa leggermente inclinata latero-medialmente insinuata nella regione inguinale materna.
Grooming	Coordinazione motoria che consente al soggetto di toelettare la superficie cutanea di un consimile, più frequentemente attraverso la bocca, delle regioni del collo, del garrese e della groppa.
Autogrooming	Coordinazione motoria che consente al soggetto di toelettare la propria superficie cutanea attraverso un arto o più frequentemente attraverso la bocca mordicchiamento con gli incisivi.
Giuoco	Coordinazioni motorie definibili in: sgroppate; impennate; mordicchiamenti; spintonamenti; incensamenti; incarceramenti con l'incollatura del consimile, brevi ma concitate galoppate in cerchio o in linea retta.
Interazioni olfattive/tattili, Investigazione	Testa estesa sul collo, incollatura protesa verso la fonte della stimolazione scatenante l'attività elevata tendenza a manipolare oggetti con la bocca o con il labbro superiore, sovente accompagnato da deambulazione lenta e discontinua.

Le categorie comportamentali dell'etogramma di *Equus asinus L.* sono state così definite:

Stazione (veglia vigile): Postura in stazione quadrupedale o tripodale; angolo formato dalla retta tangente il margine superiore dell'incollatura $>$ o uguale a 45° ; padiglioni auricolari eretti ed in attivo orientamento.



Stazione (veglia rilassata): Postura in stazione quadrupedale o tripodale; angolo formato dalla retta tangente il margine superiore dell'incollatura $<$ o uguale a 0° (parallelismo fra l'incollatura e il suolo); padiglioni auricolari rilassati e rivolti caudalmente.



Decubito: L'animale giace al suolo con arti addotti e flessi, poggiando contemporaneamente sullo sterno e su un fianco (STERNOCOSTALE) oppure poggiando l'intera superficie laterale del corpo con arti estesi e spesso disaccoppiati (LATERALE).



Deambulazione: Progressione nello spazio mediante coordinamento degli arti, più o meno lungo e veloce.



Abbeverata: Testa estesa sul collo con incollatura protesa nell'atto di attingere dalla fonte idrica.

N.B: L'avvento degli abbeveratoi automatici ha alterato l'atteggiamento più tipico di tale comportamento.

Pascolamento/Alimentazione: Testa estesa sul collo, incollatura protesa verso il suolo nell'atto di attingere dal substrato, sovente accompagnato da deambulazione lenta e molto discontinua.

N.B: L'avvento delle mangiatoie a muro ha alterato l'atteggiamento più tipica di tale comportamento.





Grooming: Coordinazione motoria che consente al soggetto di toelettare la superficie cutanea di un consimile, più frequentemente attraverso la bocca, delle regioni del collo, del garrese e della groppa



Autogrooming: Coordinazione motoria che consente al soggetto di toelettare la propria superficie cutanea attraverso un arto o più frequentemente attraverso la bocca e mordicchiamento con gli incisivi anche durante la postur in decubito sternocostale.



Bagno di sabbia: Caratteristico FAP dell'asino utilizzato per l'autogrooming. Il soggetto in decubito laterale completo, ruota sul suo asse longitudinale alternativamente verso destra e sinistra, dandosi la spinta con la contrazione delle reni ed estendendo la testa sul collo. Il bagno di sabbia ha una notevole valenza tra i comportamenti di mantenimento dell'omeostasi emozionale e la sua realizzazione ha valenza di relax o di scarica della tensione emotiva.





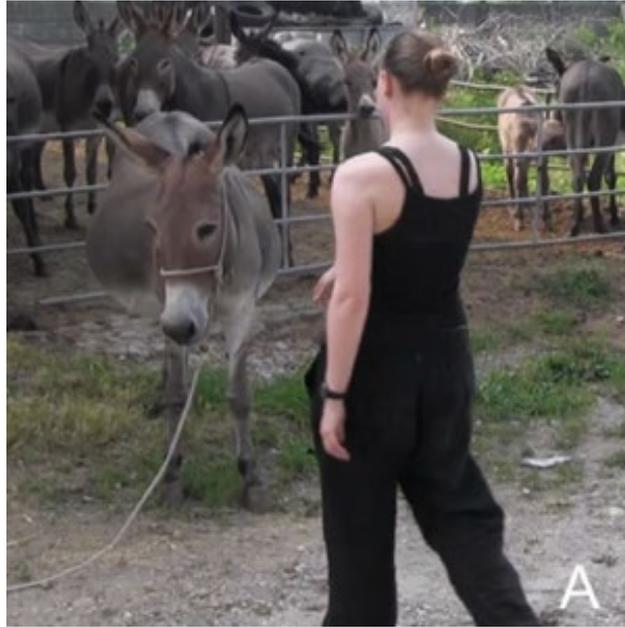
Ogni scheda della check list è stata strutturata per rilevare un periodo temporale di 30 minuti. Predisposto il foglio dati per la rilevazione etologica, abbiamo effettuato riprese video tramite sistemi di videocamere digitali HDD, dalle ore 08.00 alle ore 17.30, utilizzando la tecnica dell'animale focale (Altman, 1974). Successivamente è stato compilato l'etogramma diurno per la tipologia di allevamento semistabulativo.

Test di valutazione dell'idoneità comportamentale dell'asino da adibire agli IAA

Per la valutazione dell'idoneità comportamentale degli animali da adibire agli IAA è necessario poter esaminare il loro temperamento. Test di valutazione del temperamento sono stati ideati per il cavallo (Wolff et al., 1997; Momozawa et al., 2005) mentre le indagini scientifiche circa test comportamentali standardizzati sull'asino è scarsa (French, 1993; Gonzalez-De Cara et al.;2017) ed è stato dimostrato che l'estrapolazione di dati dai cavalli agli asini non è da considerare valida (Mendoza et al., 2011; 2013; 2015). La corretta selezione degli animali da adibire agli IAA è di fondamentale importanza sia per evitare qualsiasi pericolo per i pazienti umani sia per non provocare all'animale condizioni stressanti antitetiche rispetto alle finalità ed agli obiettivi generali degli IAA. Infine, quindi, di valutare e selezionare i soggetti idonei ad essere adibiti ai setting degli IAA programmati, è stato utilizzato il test multiplo sul temperamento dell'asino proposto da Gonzalez-De Cara et al. (2017), da noi modificato e integrato con i tests della procedura *AWIN welfare assessment protocol for donkey* (AWIN, 2015)

Test di evitamento -

Posizione di start – Il valutatore si pone a 3 metri dal soggetto da valutare, frontalmente ad esso, quindi si sposta lateralmente (dx o sx) di 45° e osserva l'animale senza muovere le braccia. Se l'asino si mantiene in posizione di attenzione, guardando l'osservatore con il campo visivo monoculare corrispondente al lato dell'osservatore, quest'ultimo effettua un passo verso l'asino, sosta 10-15" e ne effettua un altro con il braccio dx proteso verso l'asino. Se l'asino non assume la posizione di evitamento con la testa rivolta dal lato opposto all'osservatore o non si allontana il test è superato.



da AWIN donkey, 2015.

Approccio all'animale – Giunti a 1,5-2 metri dall'animale – sempre lateralmente – si approccia l'animale alla spalla e in prossimità dell'animale si poggia delicatamente il dorso della mano, quindi si gira la mano sul palmo e delicatamente ci si porta verso il garrese, osservando l'atteggiamento dei padiglioni auricolari e la posizione della testa e della coda. Se l'animale non manifesta risposte di evitamento, di fuga o di timore, si passa al test del temperamento.



da AWIN donkey, 2015.

Test del temperamento

Test di novità (*novel object test*) – Nel box collettivo di usuale dimora del gruppo di asini da testare si posiziona al centro un ombrello (noi abbiamo usato un treppiedi) e si invita il soggetto da testare ad entrare invitandolo con del concentrato; se il soggetto segue senza indugio e non arresta il suo movimento, il test è negativo.

Test persona sconosciuta – Un secondo valutatore sconosciuto al soggetto da testare entra nel box collettivo nel quale era stato precedentemente portato l'asino, restando immobile. Se l'asino si avvicina o distoglie l'attenzione dalla persona sconosciuta entro 3 minuti, il test è negativo. Il test di valutazione del temperamento effettuato sugli n. 11 soggetti femmine dei due gruppi sperimentali, ci ha consentito di selezionare n. 4 soggetti per il gruppo GS₁ e n. 4 soggetti per il gruppo GS₂ per la loro valutazione durante il setting degli IAA.

8.2 - INDICATORI ETOLOGICI

Sono state videoregistrate le sessioni di IAA consistenti in:

- corretto approccio all'animale,
- presentazione,
- contatto,
- attività di governo della mano (brusca e striglia),
- condotta alla mano
- corretto distacco.

impiegando individualmente i n. 4 soggetti risultati idonei dei gruppi GS₁ e GS₂.

L'analisi delle sequenze video ha consentito la valutazione delle modalità di interazione degli animali con i diversi utenti/pazienti attraverso la compilazione di una check-list etologica e l'annotazione della presenza/assenza di elementi significativi del livello di compartecipazione e/o di coinvolgimento empatico dell'animale durante gli interventi assistiti dagli animali.

Alcuni indicatori etologici sono stati desunti dalla ricerca bibliografica in tema di etologia applicata agli IAA (Knotts Abbott, 2001), mentre i restanti indicatori sono stati messi a punto presso il Laboratorio di Etologia veterinaria comparata del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Messina, utilizzando le Unità d'Azione Padiglioni Auricolari – UAPD, secondo la metodologia di Wathan et al., (2015), unitamente alla rilevazione delle interazioni olfattive/investigative/tattili asino-paziente, degli atteggiamenti posturali dell'asino e delle tipologie di interazione sociale asino-

asino. Il livello di espressione di ogni indicatore è stato dimensionato su una scala arbitraria, con range compreso tra un minimo di 0 (*very low*) ed un massimo di 4 (*very high*), secondo la scheda tipo di seguito riportata:

SCHEDA DI OSSERVAZIONE DEL COMPORTAMENTO DELL'ASINO ADIBITO AGLI I.A.A.

Asino:.....Numero seduta:.....Durata:.....

Durante l'attività l'asino manifesta interesse verso l'utente? (Interazioni olfattive)

4 = Sempre

3 = Frequentemente

2 = Spesso

1 = A volte

0 = Mai

Durante l'attività l'asino manifesta interesse verso l'utente? (Interazioni investigative)

4 = Sempre

3 = Frequentemente

2 = Spesso

1 = A volte

0 = Mai

Durante l'attività l'asino manifesta interesse verso l'utente? (Interazioni tattili)

4 = Sempre

3 = Frequentemente

2 = Spesso

1 = A volte

0 = Mai

ATTEGGIAMENTI POSTURALI e Unità d'Azione Padiglioni Auricolari – UAPD

Durante l'interazione l'asino assume prevalentemente:

0 = Postura della minaccia

1 = Postura dell'indifferenza

2 = Postura della sottomissione

3 = Postura dell'accondiscendenza

4 = Postura della curiosità

INTERAZIONI SOCIALI DI TIPO AGONISTICO

L'animale ha manifestato episodi di agonismo/competizione verso altri?

0 = Sempre

1 = Frequentemente

2 = Spesso

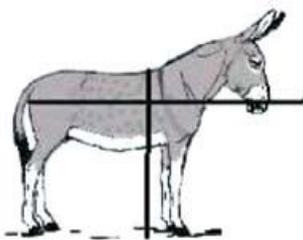
3 = A volte

4 = Mai

L'indicatore della scheda che fa riferimento agli atteggiamenti posturali dell'asino riferiti al linguaggio mimico-gestuale e posturale è il risultato della sintesi degli studi citati, integrati dalle UAPD, modificate per l'asino.

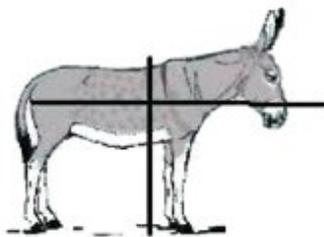
Di seguito vengono riportati i principali atteggiamenti posturali patognomonicici di diversi stati emozionali:

Postura della curiosità.



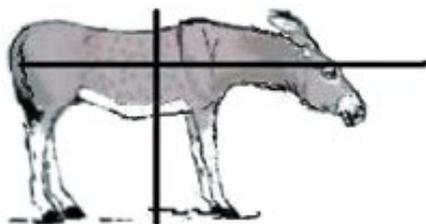
E' la prima postura che di solito osserviamo quando ci avviciniamo ad un asino. La sua testa è sollevata, tanto che i suoi occhi sono al di sopra del garrese, le orecchie sono diritte e puntate verso di noi .

Postura dell'accondiscendenza



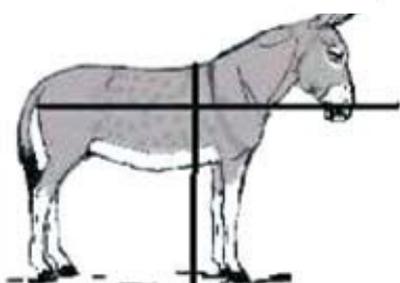
In questa postura la testa è sollevata, ma il collo è rilassato e gli occhi sono al di sotto del garrese; le orecchie sono diritte, ma non puntate in un'unica direzione: lui è in attesa, rilassato, fiducioso nei nostri confronti pronto a fare quello che gli abbiamo chiesto.

Postura della sottomissione



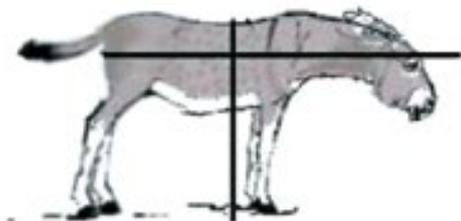
Simile alla precedente se ne discosta in quanto il peso del corpo è spostato sul posteriore, le orecchie sono rivolte indietro, la coda è attaccata al corpo o portata in mezzo alle gambe. In questa posizione l'animale è spaventato e immobile dalla paura. Prima di chiedergli di fare qualcosa è meglio tranquillizzarlo.

Postura dell'indifferenza



Questa postura è stata osservata frequentemente durante le sedute di IAA con conduzione alla mano. E' stata, in prima istanza, assegnata alla categoria dell'indifferenza e necessita di ulteriori verifiche sul campo.

Postura della minaccia



Normalmente è la postura meno frequentemente osservabile, in natura, di solito è prerogativa delle madri che difendono i puledri quando l'attacco è l'unica difesa possibile oppure è una postura di offesa, di solito per sottolineare gerarchie di branco. Per prima cosa l'asino tende a spostare tutto il peso corporeo sugli arti anteriori, quasi a voler sembrare più grande. La coda è sferzante, il collo è allungato in avanti, gli occhi

sono al di sotto del garrese, le orecchie sono schiacciate sul collo e rivolte indietro. Si ha quindi una posizione di attacco o di difesa e qualora sia indirizzata a noi è meglio non forzare la mano onde evitare di scatenare una reazione di attacco con morso.

In base alle chiavi di lettura delle molteplici posture, abbiamo assegnato un punteggio pari a 0 alla postura della minaccia, alla postura dell'indifferenza un punteggio pari a 1, alla postura della sottomissione un punteggio pari a 2, alla postura dell'accondiscendenza un punteggio pari a 3 ed, infine, alla postura della curiosità un punteggio pari a 4, per come definito in un nostro precedente lavoro (Tropia et al. 2017), La scheda di valutazione degli indicatori etologici è stata utilizzata per ogni soggetto durante le singole sedute.

Le chiavi di lettura dei risultati ottenuti - attribuendo il valore assegnato ai quadri comportamentali previsti - prevedevano la possibilità di un giudizio di sintesi espresso in termini di idoneità agli IAA secondo la seguente scala:

- ***Punteggio totale compreso tra 0 e 10 = non idoneo;***
- ***Punteggio totale compreso tra 11 e 15 = da utilizzare in condizioni controllate;***
- ***Punteggio totale compreso tra 16 e 20 = idoneo.***

Unitamente alla predisposizione di modelli sperimentali di valutazione delle modalità di interazione asino-paziente, ci è sembrato altrettanto importante monitorare ulteriori indicatori etologici ritenuti espressione dell'integrità emozionale animale o più generalmente di buone condizioni di welfare. All'uopo abbiamo predisposto una check list di valutazione e quantificazione delle frequenze degli eventi comportamentali ritenuti, per l'appunto, indicatori di welfare e rappresentati dalle seguenti attività:

- *grooming,*
- *autogrooming da mordicchiamento,*
- *autogrooming da grattamento,*
- *autogrooming da bagno di sabbia*

Evidenziamo che la valutazione delle frequenze degli eventi comportamentali sopra citati, hanno riguardato l'intero gruppo di animali, in quanto massima espressione della socialità di tipo peer attachment.

MONITORAGGIO DEGLI INDICATORI DI WELFARE E DI SOCIALITA' DI TIPO PEER ATTACHMENT				
	Grooming	Autogrooming da mordicchiamento	Autogrooming da bagno di sabbia	Autogrooming da grattamento
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
SOMME	0	0	0	0

9. Risultati

9.1 Etogramma diurno asini gruppi controllo GC1 e GC2

9.1.1 - Etogramma diurno dell'asino di razza Jeusalem

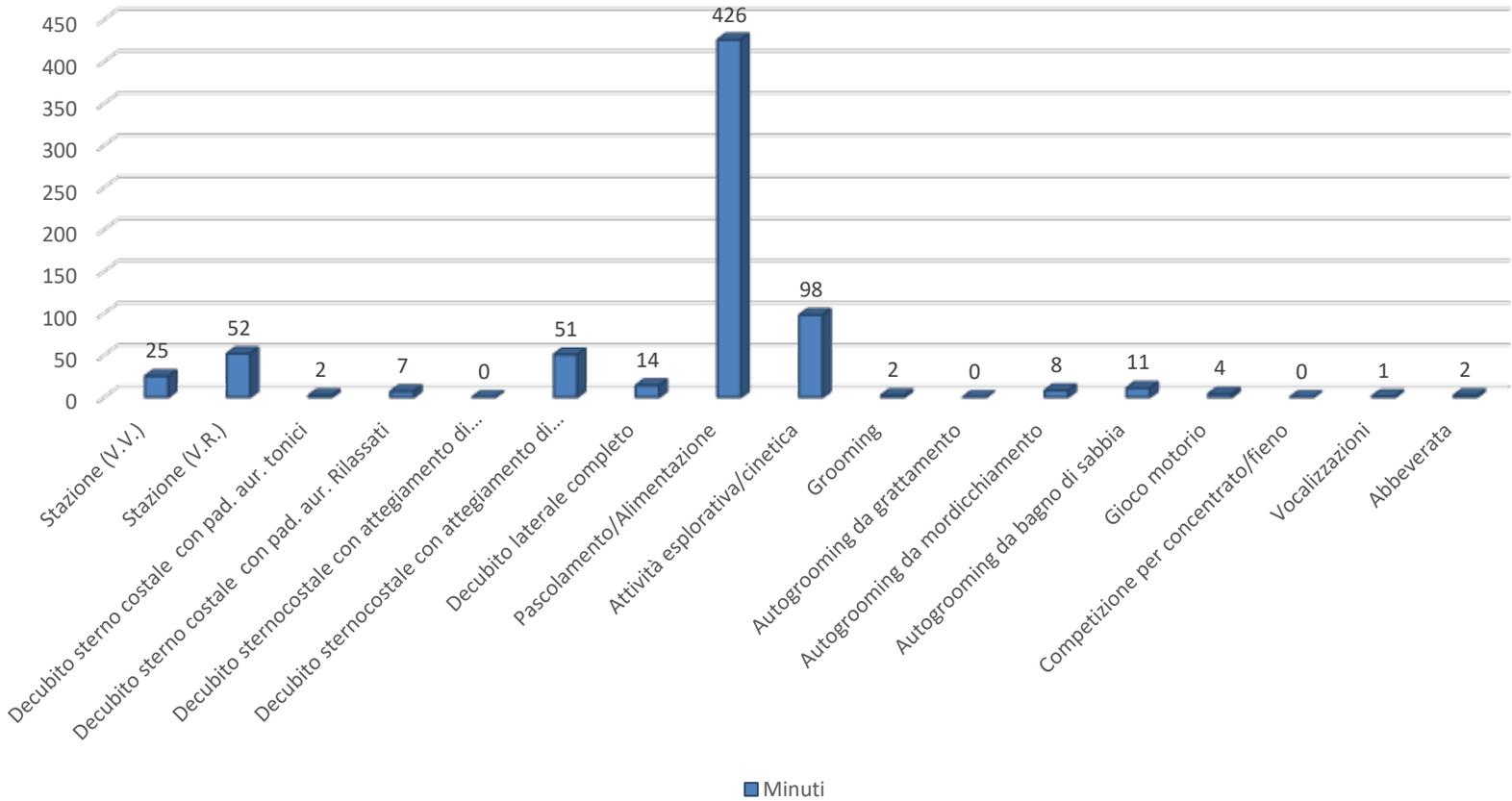
Preliminarmente, evidenziamo che la compilazione dell'etogramma diurno dell'asino di razza Jerusalem Donkey in condizione di semistabulazione con confinamento in paddock di circa 550 mq, rappresenta contributo originale alle conoscenze in merito all'organizzazione temporale e alla distribuzione delle categorie comportamentali di questa razza. Più partitamente, riguardo all'etogramma diurno dell'asino di razza Jerusalem Donkey, vengono di seguito discussi i risultati ottenuti nelle nostre condizioni di osservazione.

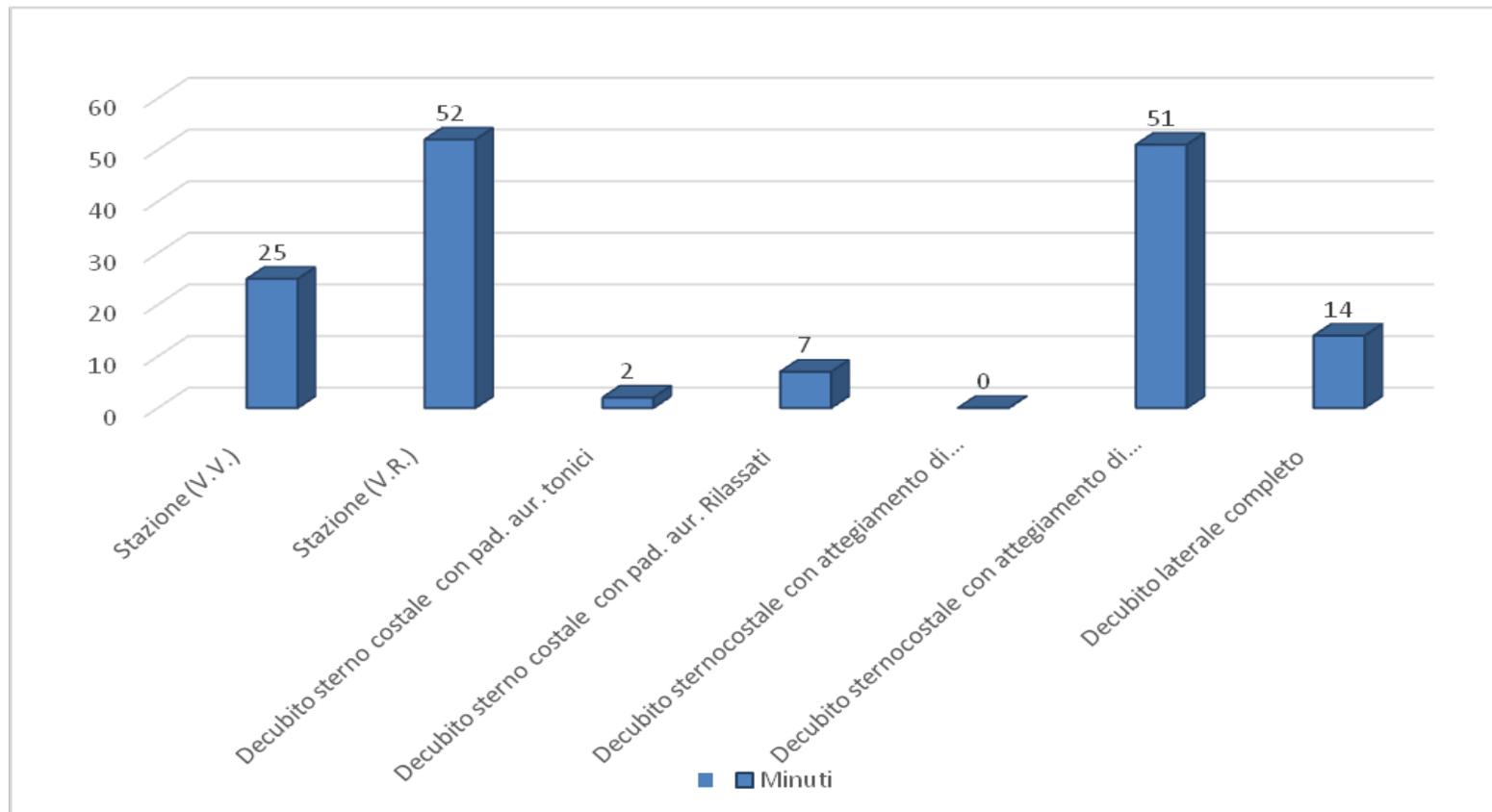
Nella successiva figura sono riportati graficamente gli stati comportamentali nell'intervallo temporale diurno considerato, espressi in minuti totali.

La disamina della figura evidenzia la netta prevalenza dell'attività di pascolamento (426 minuti) rispetto a tutte le altre categorie comportamentali. Tale evidenza pone alcune perplessità sull'adeguatezza del razionamento alimentare e ripropone l'esigenza dell'ottimale management per il ruolo nobile che si vuole assegnare a questo ritrovato atavico animale domestico.

Secondariamente è possibile rilevare la prevalenza dello stato comportamentale della postura in stazione in veglia rilassata (52 minuti) e del decubito sternocostale con atteggiamento di autoauscultazione e padiglioni auricolari rilassati (51 minuti) rispetto a quella in veglia vigile (25 minuti), a conferma del fatto che l'influenza dei processi di addomesticamento si è riverberata sui livelli di vigilanza antipredatoria tipici della specie.

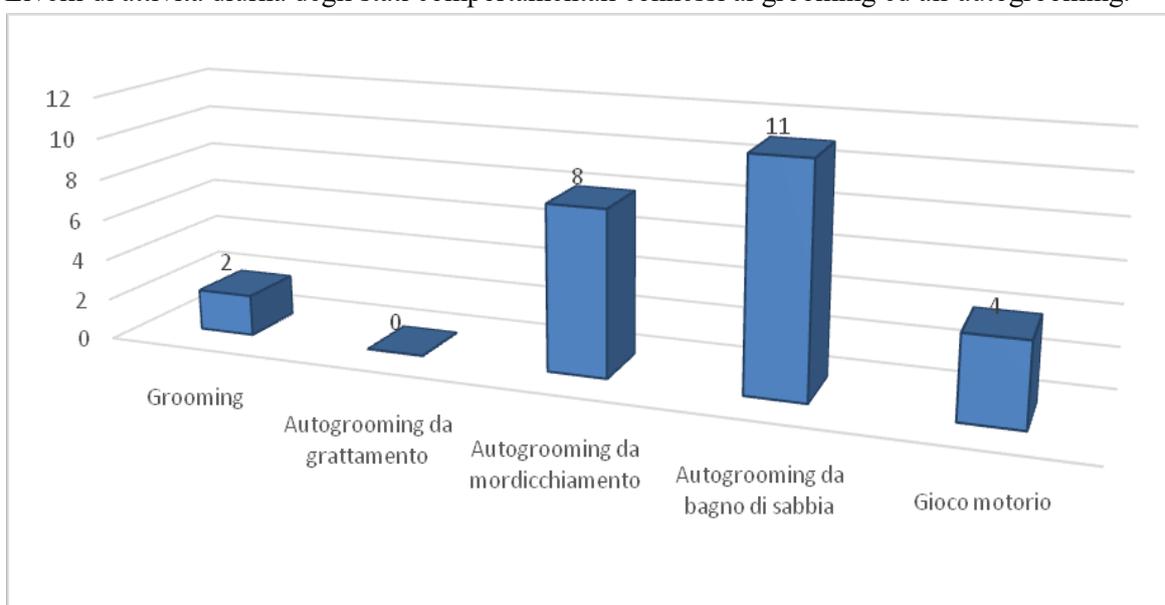
Etogramma diurno Jerusalem Donkey





Infine le componenti comportamentali che destano interesse sono rappresentate dalla breve durata delle attività di grooming (2 minuti) e di autogrooming nel suo complesso (25 minuti) che testimoniano la permanenza nella razza Jerusalem di tratti comportamentali del progenitore selvatico *Equus asinus africanus*. Evidenziamo, inoltre, la presenza della categoria di autogrooming del tipo *bagno di sabbia* che depone per l'integrità emozionale dei soggetti allo studio.

Livelli di attività diurna degli stati comportamentali connessi al grooming ed all'autogrooming.



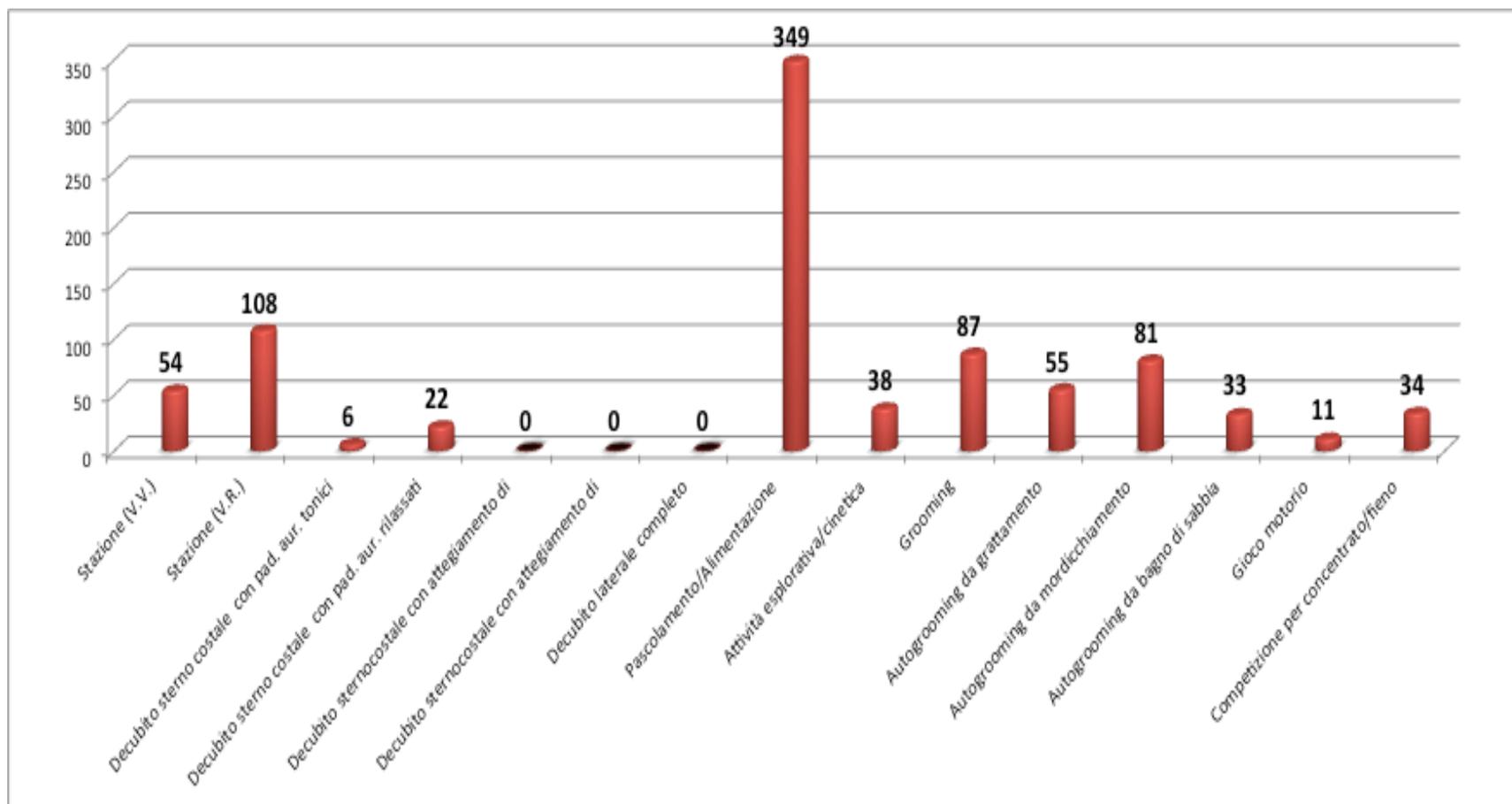
9.1.2 – Etogramma diurno dell'asino di razza Sarda

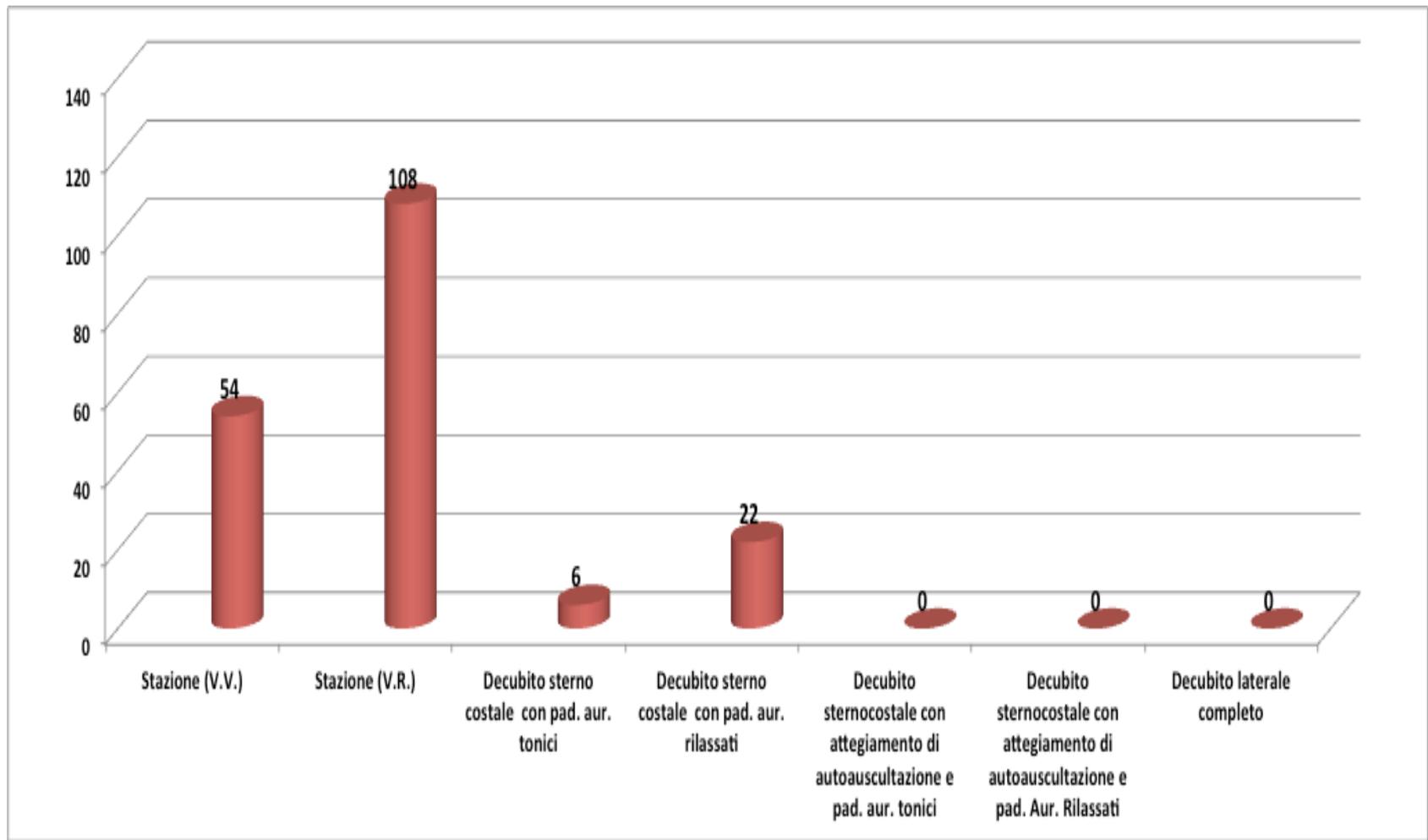
Di seguito è riportato l'etogramma diurno (08.00–17.30) dell'asino di razza Sarda in condizione di semistabulazione con confinamento in paddock di circa 2000 mq.

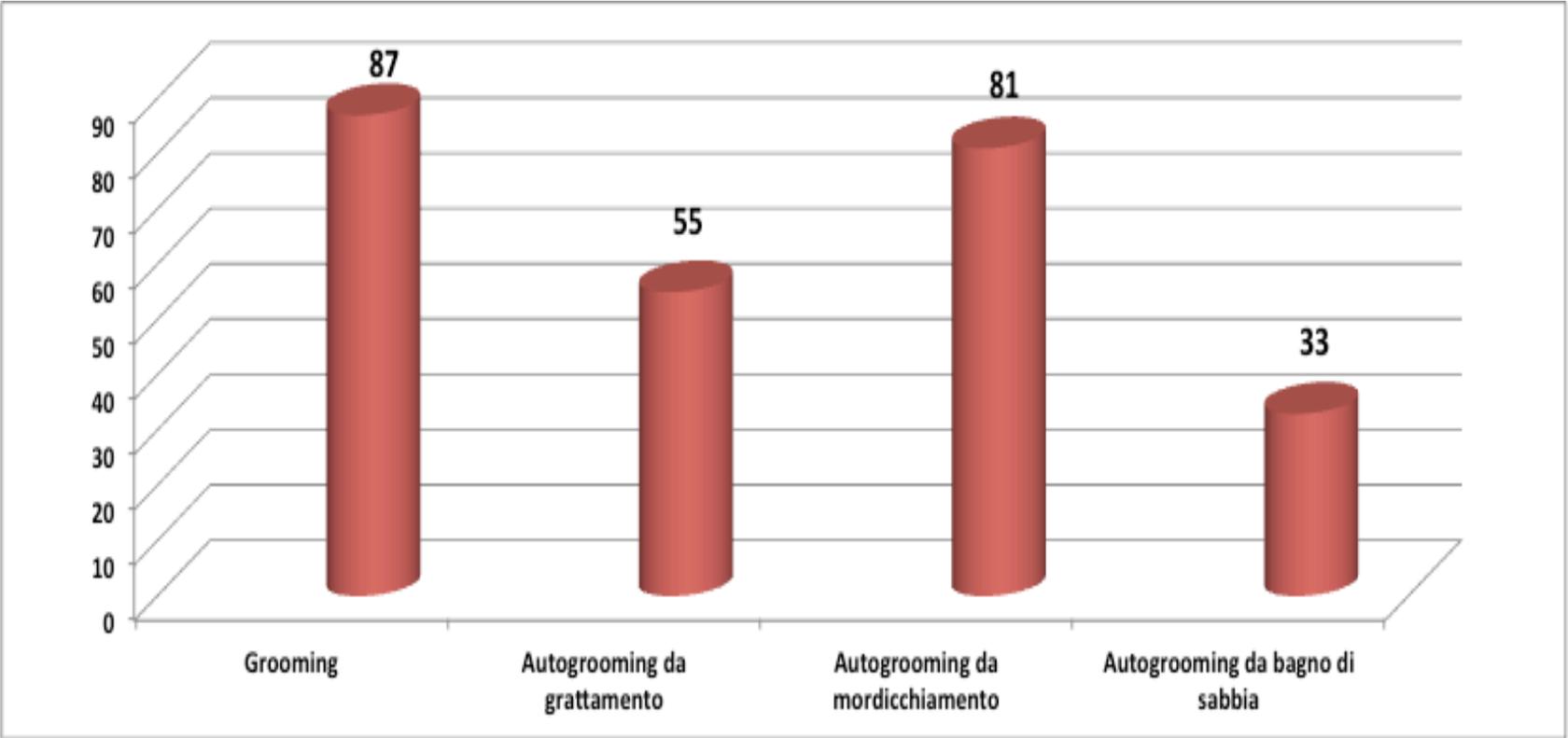
Dalla disamina della figura emerge – anche per il nostro campione di asini di razza Sarda - la netta prevalenza dell'attività di pascolamento rispetto a tutte le altre categorie comportamentali. Tale evidenza pone alcune perplessità sull'adeguatezza del razionamento alimentare e ripropone l'esigenza dell'ottimale management per il ruolo nobile che si vuole assegnare a questo ritrovato atavico animale domestico.

Successivamente, viene rappresentata graficamente la quantificazione diurna dei diversi stati comportamentali, dal quale è possibile rilevare la prevalenza dello stato comportamentale della postura in stazione in veglia rilassata (108 minuti) rispetto a quella in veglia vigile (54 minuti), a conferma, ancora, del fatto che l'influenza dei processi di addomesticamento si è riverberata sui livelli di vigilanza antipredatoria. È da sottolineare, tuttavia, che i pressoché irrilevanti periodi trascorsi nelle diverse forme di postura in decubito, denotano la presenza di valide strategie di sopravvivenza.

Le componenti comportamentali che destano interesse speculativo sono rappresentate dalla durata delle attività di grooming (87 minuti) e di autogrooming nel suo complesso (169 minuti) che testimoniano la persistente natura gregaria dell'asino domestico – rispetto all'asino Jerusalem - e la validità dei livelli di attività del bagno di sabbia (33 min) quale indicatore di omeostasi emozionale.





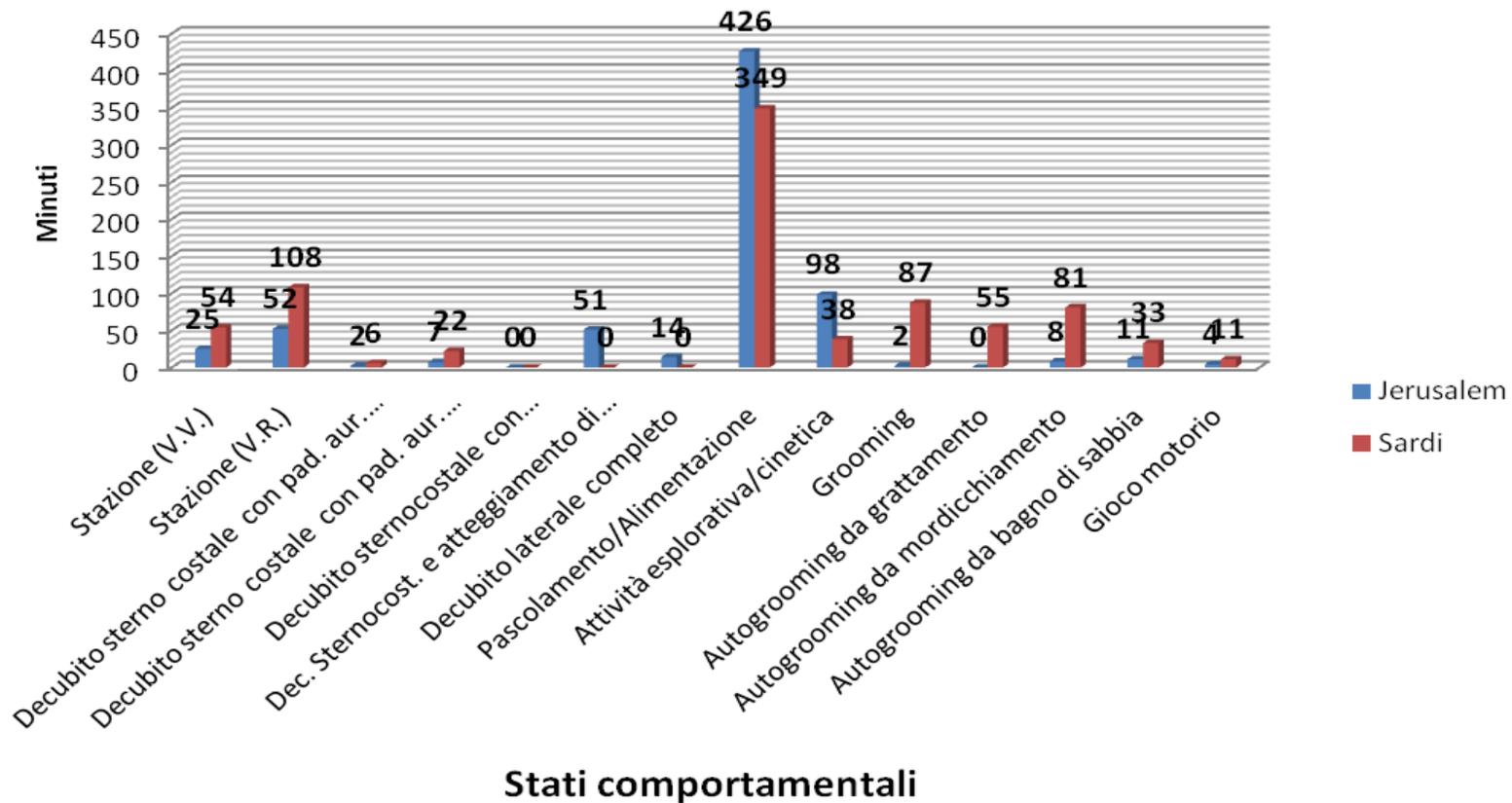


Definiti i quadri comportamentali di riferimento dei due gruppi controllo oggetto di studio (Jerusalem – GC₁- e Sardi – GC₂), si è proceduto alla loro comparazione al fine di poter evidenziare differenze circa i livelli di attività degli stati comportamentali.

Pertanto, oltre che confermare la netta prevalenza dell'attività di pascolamento/alimentazione su tutti gli altri stati comportamentali, appare interessante osservare come le attività di grooming e di autogrooming siano sensibilmente più elevate nell'asino di razza Sarda a dimostrazione della sua elevata socialità e della sua spiccata gregari età che lo predispone, se ben gestito, a rappresentare un soggetto idoneo agli IAA.

Tornando, invece, sugli elevati livelli delle attività di pascolamento è da evidenziare che gli asini Jerusalem non avevano a disposizione un paddock di tipo pascolativo ma semplicemente un arido recinto per cui, più che altro, l'attività può essere interpretata come attività a vuoto solo per il bisogno di consumare l'energia motivazionale specifica. Negli asini sardi, invece, riteniamo che tali elevati livelli di attività possano essere interpretati sia come eccessivo carico di pascolamento per unità di superficie con conseguente insufficiente apporto di unità foraggiere, sia come insufficiente integrazione alimentare di fibra grezza (paglia).

Distribuzione diurna degli stati comportamentali nell'asino Jerusalem e Sardo



9.1.3 – Etogramma diurno dei gruppi sperimentali GS

Definiti i quadri comportamentali di riferimento dei due gruppi controllo oggetto di studio (Jerusalem – GC₁- e Sardi – GC₂), si è proceduto alla definizione dei quadri comportamentali dei due gruppi sperimentali oggetto di studio (Sardi – GS₁ e Amiatini – GS₂) ed alla loro comparazione al fine di poter evidenziare differenze circa i livelli di attività degli stati comportamentali.

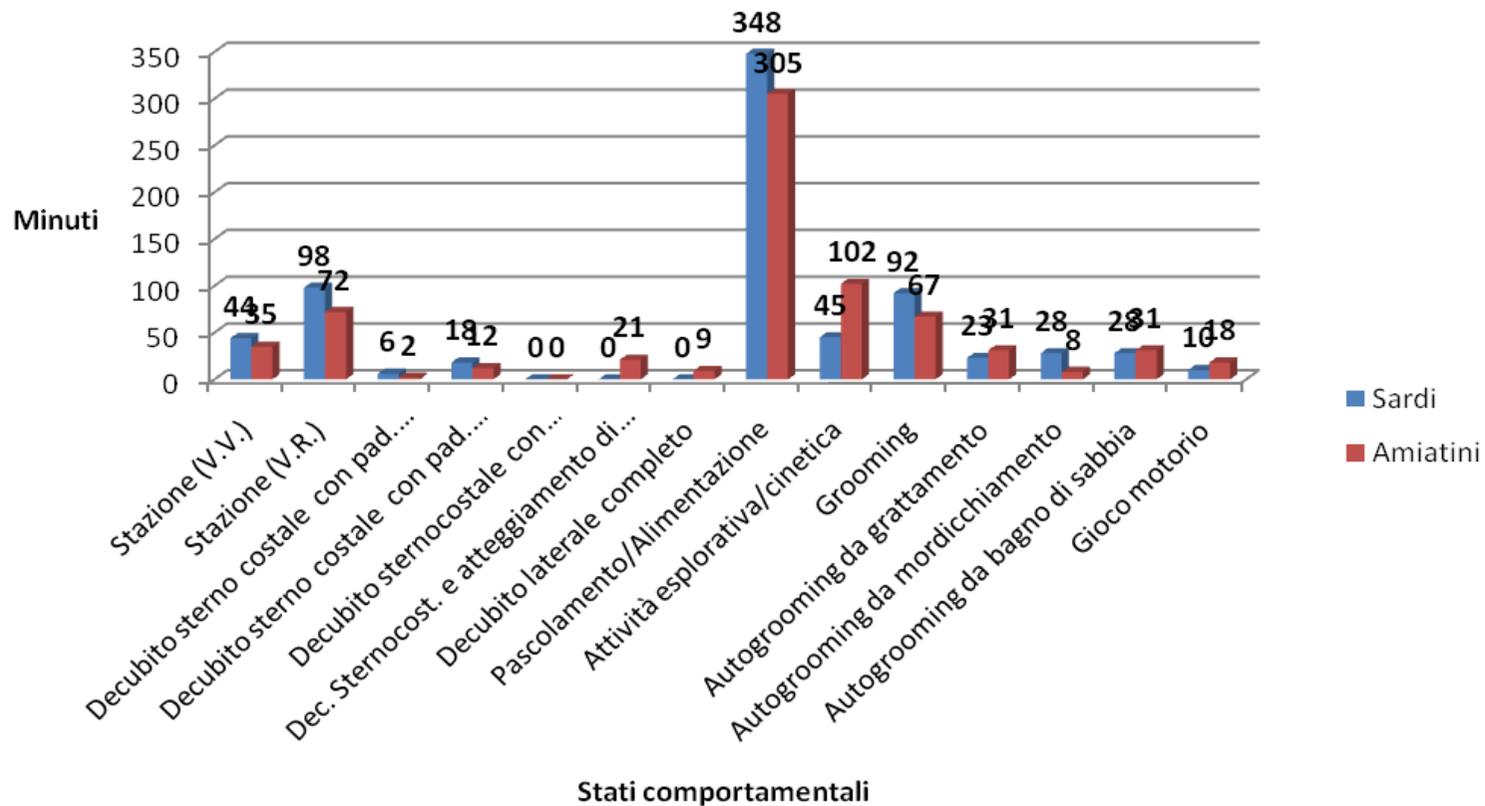
Di seguito è riportato l'etogramma diurno (08.00–17.30) sia dell'asino di razza Sarda in analoghe condizione di semistabulazione del gruppo controllo GC₂ sia dell'asino di razza dell'Amiata con confinamento in paddock di circa 800 mq

Dalla disamina della figura si conferma quanto già detto circa la netta prevalenza dell'attività di pascolamento nell'asino di razza Sarda, così come per l'asino dell'Amiata, rispetto a tutte le altre categorie comportamentali. Si conferma, altresì, la motivazione addotta circa tali elevati livelli di attività, rappresentata dalla perplessità circa l'adeguatezza del razionamento alimentare e si ripropone l'esigenza dell'ottimale management per il ruolo nobile che si vuole assegnare a questo ritrovato atavico animale domestico.

Comparando gli etogrammi diurni dei gruppi sperimentali è possibile evidenziare idonei livelli di attività delle manifestazioni comportamentali connesse con la socialità, la gregarietà ed il *peer attachment*.

Ciò evidenzia che anche l'asino amiatino risulta essere, nelle nostre condizioni sperimentali, idoneo, se ben gestito, agli usi previsti per gli IAA.

Distribuzione diurna degli stati comportamentali asino Sardo e Amiatino



9.2 DATI CARDIOFREQUENZIMETRICI

9.2.1 HR GRUPPI GC.

Si è proceduto alla rilevazione dei valori della frequenza cardiaca (HR) utilizzando un cardiofrequenzimetro telemetrico Polar S610i e Polar V800 - Polar® - per la registrazione in tempo reale, con scansione ogni 5 secondi, dell'attività cardiofrequenzimetrica (espressa in battiti per minuto, bpm). Il cardiofrequenzimetro Polar S610i è stato collocato – tramite una cinghia – nell'area di auscultazione dell'itto cardiaco, mentre il Polar V800 veniva indossato dall'operatore e all'asino veniva posizionata la fascia toracica *polarbelt equine*. I dati di HR sono stati acquisiti durante un arco temporale compreso tra 10 e 20 minuti, con gli animali in condizioni di normale attività comportamentale. I dati così ottenuti venivano trasferiti, attraverso una porta a raggi infrarossi o bluetooth su un PC dotato di software Polar Horse SW 4.0 o Polar FlowSync ed editati graficamente secondo macro preimpostate. L'intera sessione temporale dei dati cardiofrequenzimetrici veniva trasferita ed editata su foglio elettronico per l'elaborazione delle statistiche descrittive (valori medi minimi e massimi di bpm di ogni soggetto e valori medi). I dati così ottenuti sono riportati nella successiva tabella

Valori medi (M ± D.S.) della frequenza cardiaca - espressi in battiti per minuto (bpm) - di asini di razza Jerusalem (GC₁) e Sardi (GC₂).

MONITORAGGIO FREQUENZA CARDIACA GRUPPI CONTROLLO	
GRUPPI	Valore medio totale frequenza cardiaca (bpm) M ± D.S.
GC₁	61,54 ± 12,39
GC₂	51,17 ± 8,38

9.2.2 DATI HR e HRV GRUPPI GS

Gruppo GS₁

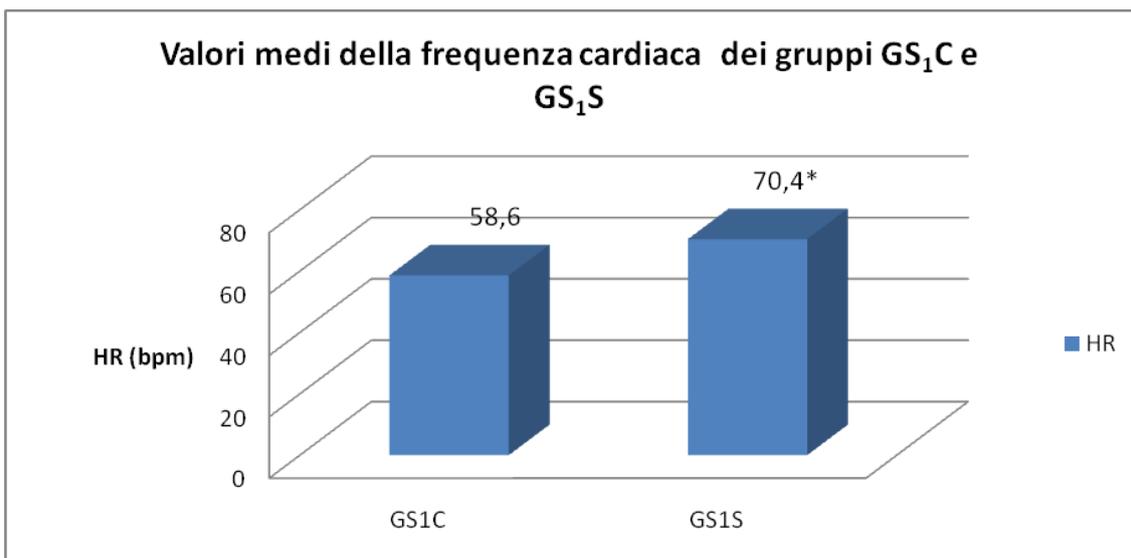
I dati sperimentali del gruppo GS₁ sono stati ottenuti sviluppando e integrando lo studio preliminare “*Monitoring changes in heart rate and behavioral observations in donkeys during onotherapy sessions: a preliminary study*” (Tropia et al.,2017), presentato al 51° congresso dell’ISAE – *International Society of Applied Ethology* (ISAE). Più precisamente i soggetti di razza Sarda selezionati per costituire il gruppo sperimentale GS₁ sono stati ottenuti sottoponendo tutti i soggetti femmine (n. 6) del gruppo controllo GC₂ ai test di valutazione del temperamento, per come precedente detto, e di queste n. 4 hanno costituito il gruppo sperimentale GS₁.I soggetti sono stati monitorati durante una sessione di lavoro di circa 40 minuti (comprendenti 10 minuti iniziali senza interazione, circa 20 minuti con interazione e 10 minuti finali senza interazione; senza, purtroppo, la possibilità tecnica di differenziare i previsti tempi T₀, T₁ e T₂), sia con un gruppo di utenti normodotati (n. 6 soggetti adulti maschi) ma senza alcuna esperienza pregressa di contatto con gli asini, acquisendo così i valori medi della frequenza cardiaca del gruppo controllo (GS₁C), sia con un gruppo di pazienti (Gruppo GS₁S) costituito da sei adulti maschi affetti da disturbi schizofrenici (codice ICD-9, codice diagnostico 295.8, secondo il classificatore ICF). Durante il lavoro di sessione, lo stesso terapeuta ha modulato l'interazione uomo-animale. La frequenza cardiaca è stata registrata durante le sessioni utilizzando un cardiofrequenzimetro Polar V800, ottenendo solo per il gruppo sperimentale degli asini amiatini (GS₂S) anche i dati di HRV.

Valori medi (M ± D.S.) della frequenza cardiaca - espressi in battiti per minuto (bpm) - di asini di razza Sarda, gruppo sperimentale (GS₁S).

MONITORAGGIO FREQUENZA CARDIACA GRUPPO GS ₁ ,	
GRUPPI	Valore medio totale frequenza cardiaca (bpm) M ± D.S.
GS ₁ C	58,60 ± 2,00
GS ₁ S	70,40 ± 7,60*

*P<0.05

Come illustrato nella figura successiva i valori medi della frequenza cardiaca (HR) nelle 4 asine durante la sessione terapeutica di circa 40 minuti con il gruppo GS₁S sono risultati significativamente più alti (70.40 ± 7.60) rispetto al gruppo GS₁C (58.60 ± 2.0).



*P<0.05

Le interazioni tra animale e paziente, i comportamenti posturali e l'interazione intraspecifica sono stati valutati su una scala arbitraria a 5 punti (0 = molto basso a 4 = molto alto), secondo quanto descritto nelle metodologie, al fine di pervenire al giudizio di idoneità dei singoli soggetti ad essere adibiti agli IAA. Ricordando che i punteggi totali forniscono una stima del grado di idoneità degli asini, secondo il seguente schema:

- ***Punteggio totale compreso tra 0 e 10 = non idoneo;***
- ***Punteggio totale compreso tra 11 e 15 = da utilizzare in condizioni controllate;***
- ***Punteggio totale compreso tra 16 e 20 = idoneo.***

Tutti i soggetti hanno ottenuto un punteggio compreso nel range 16 – 20 e quindi idonei alle attività di IAA, per come riportato nella tabella seguente.

Soggetti GS ₁	Atteggiamento posturale		Interazioni olfattive		Interazioni tattili		Interazioni esplorative		Interazioni sociali agonistiche		Punteggio totale	
	GS ₁ C	GS ₁ S	GS ₁ C	GS ₁ S	GS ₁ C	GS ₁ S	GS ₁ C	GS ₁ S	GS ₁ C	GS ₁ S	GS ₁ C	GS ₁ S
1	3	4	3	3	3	3	4	4	3	3	16	17
2	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	17	16
3	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	19	19
4	3	3	4	4	4	4	3	4	4	3	18	18
Totali	14	14	13	14	14	13	14	15	17	14	72	70

Punteggi comportamentali di ciascun asino del gruppo GS₁ dopo l'osservazione con soggetti normali (GS₁C) e pazienti codice ICD-9CG (GS₁S).

Gruppo GS₂

I dati sperimentali dei soggetti di razza Amiatina (GS₂) sono stati ottenuti sottoponendo tutti i soggetti (n.7) ai test di valutazione del temperamento, per come precedente detto, e di questi, n. 4 (tutte femmine) hanno costituito il gruppo sperimentale GS₂. I soggetti sono stati videomonitorati durante l'intero protocollo sperimentale che prevedeva l'acquisizione dei dati cardiofrequenzimetrici (HR) e della variabilità della frequenza cardiaca (HRV) come di seguito riportato:

- Tempo T₀ = per 10 minuti prima del setting;
- Tempo T₁ = durante il setting (dai 10 ai 20 minuti);
- Tempo T₂ = per 10 minuti dopo il setting.

L'HR e l'HRV sono state registrate utilizzando un cardiofrequenzimetro Polar V800.

I n. 4 soggetti hanno effettuato una sessione di lavoro (setting) con n. 4 soggetti adulti, di cui, n. 3 maschi, di età compresa tra i 16 ed i 24 anni, ospiti della comunità terapeutica per partecipare al programma di riabilitazione e di reinserimento lavorativo delle persone tossicodipendenti ed un soggetto, maschio, adulto, di 42 anni di età, lungodegente della comunità, affetto da disturbi della personalità (F60-F69) e forme schizoidi (F20), secondo la decima revisione della classificazione internazionale delle malattie (ICD-10) dell'OMS (2000), ex codice ICD-9, codice diagnostico 295.8, secondo il classificatore ICF.

Durante il setting lo stesso terapeuta ha modulato l'interazione uomo-animale con tutti i pazienti. Le interazioni tra animale e paziente, i comportamenti posturali e l'interazione intraspecifica sono stati valutati su una scala arbitraria a 5 punti (0 = molto basso a 4 = molto alto), secondo quanto descritto nelle metodologie.

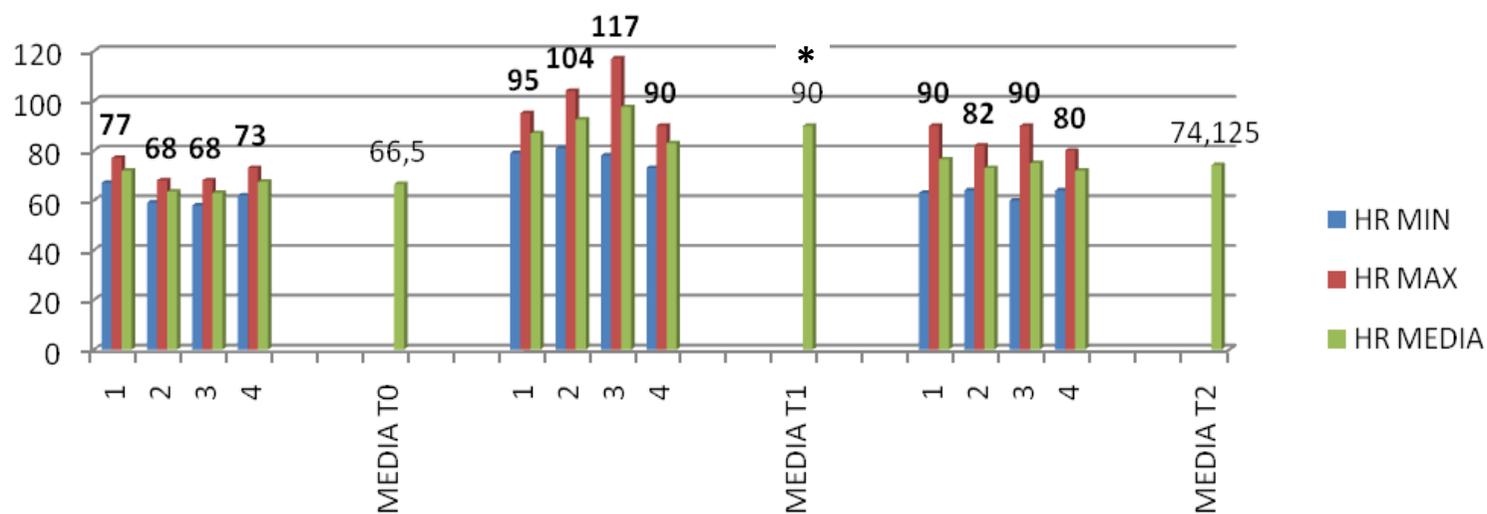
I dati cardiofrequenzimetrici (HR) sperimentali, così ottenuti, sono stati analizzati tramite test ANOVA per misure ripetute, risultandone una differenza statisticamente significativa per $P < 0.001$. Analogamente i dati di HRV nel dominio del tempo, utilizzando l'indice statistico rMSSD, sono stati analizzati tramite test ANOVA per misure ripetute, risultandone una differenza statisticamente significativa per $P < 0.05$.

Valori medi ($M \pm D.S.$) della frequenza cardiaca - espressi in battiti per minuto (bpm) - di asini di razza Amiatina (gruppo GS₂), basali (GS₂C) ed ai tempi T₀, T₁ e T₂ della sessione di IAA.

MONITORAGGIO FREQUENZA CARDIACA GRUPPO GS ₂	
GRUPPI (n. 4 soggetti)	Valori medi (bpm) M \pm D.S.
GS ₂ C (basale)	65,95 \pm 2,83
GS ₂ S-T ₀ (10 min)	66,50 \pm 4,18
GS ₂ S-T ₁ (15-20 min)	90,00 \pm 6,34*
GS ₂ S-T ₂ (10 min)	74,12 \pm 2,02

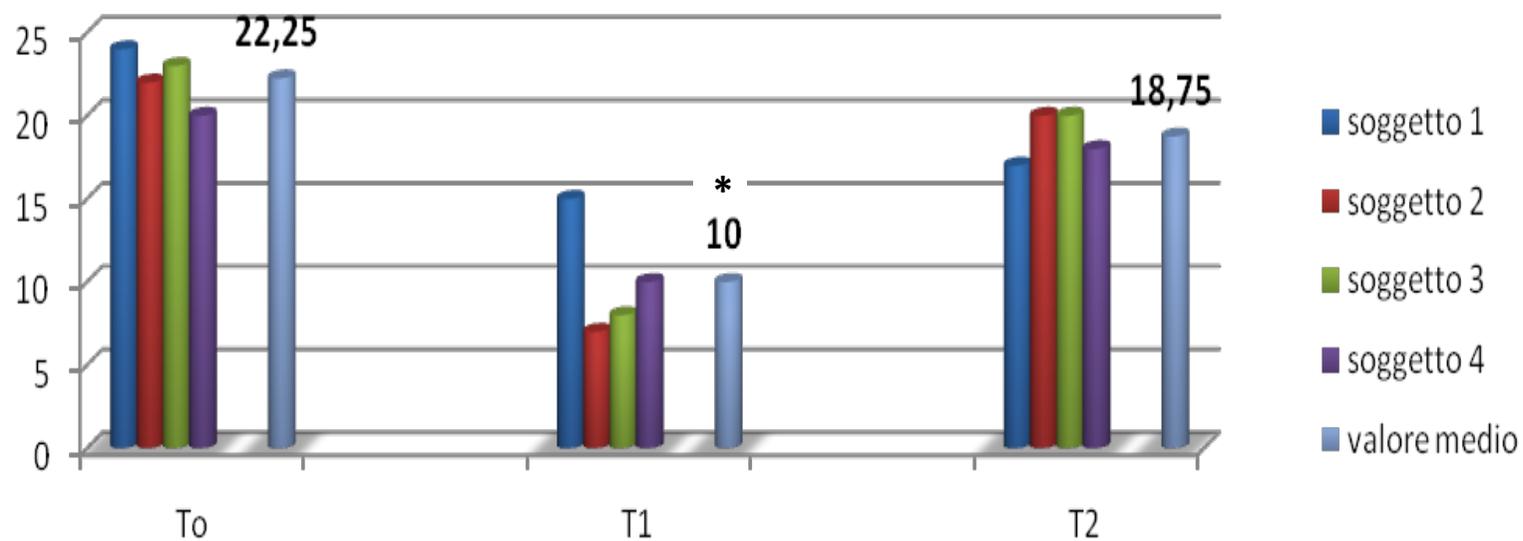
*Test ANOVA per misure ripetute: GS₂S-T₀ vs GS₂S-T₁: P<0.001

Valori cardiofrequenzimetrici (HR) min, medi e max - espressi in bpm - di asini di razza Amiatina prima (T₀), durante (T₁) e dopo (T₂) setting di IAA.



*Test ANOVA per misure ripetute: GS₂S-T₀ vs GS₂S-T₁: P<0.001

Valori individuali e medi di rMSSD di asini amiatini, prima (T_0), durante (T_1) e dopo (T_2) setting di IAA.



*Test ANOVA per misure ripetute: GS_2S-T_0 vs GS_2S-T_1 : $P < 0.05$

Le interazioni tra animale e paziente, i comportamenti posturali e l'interazione intraspecifica sono stati valutati su una scala arbitraria a 5 punti (0 = molto basso a 4 = molto alto), secondo quanto descritto nelle metodologie, al fine di pervenire al giudizio di idoneità dei singoli soggetti ad essere adibiti agli IAA.

Tutti i soggetti hanno ottenuto un punteggio compreso nel range 16 – 20 e quindi idonei alle attività di IAA, per come riportato nella tabella seguente. Più in particolare nel gruppo GS₂S i soggetti n. 1 e 3 si sono dimostrati particolarmente idonei ad essere adibiti agli IAA.

Soggetti GS ₂	Atteggiamento posturale	Interazioni olfattive	Interazioni tattili	Interazioni esplorative	Interazioni sociali agonistiche	Punteggio totale
	GS ₂ S	GS ₂ S	GS ₂ S	GS ₂ S	GS ₂ S	GS ₂ S
1	4	4	4	4	4	20
2	3	3	3	3	4	16
3	4	4	4	4	4	20
4	3	4	4	4	3	18
Totali	14	15	15	15	15	74

Punteggi comportamentali di ciascun asino del gruppo GS₂S dopo l'osservazione con n. 4 pazienti con tossicodipendenza, codice F10-F19 e n. 1 paziente con disturbi della personalità, codice (F60-F69) e forme schizoidi (F20), secondo ICD-10..

10. Discussioni e conclusioni

«Indubbiamente, gli animali hanno dei segreti; eppure la loro interiorità, le loro vite emotive e morali sono incredibilmente trasparenti. Basta guardarli, ascoltarli e osservarne le facce e i musi, le code, i corpi, le andature e soprattutto gli occhi. Ciò che si vede dal di fuori ci dice molte cose di ciò che sta accadendo all'interno della testa e del cuore di un animale.»

Bekoff e Pierce, *“La vita emozionale degli animali”*, (2007)

La citazione di Bekoff e Pierce non vuole essere un modo insolito e fuori dal pragmatismo scientifico di approccio alla discussione dei risultati ottenuti, ma dalla sua condivisione scaturisce il significato vero dell'esperienza vissuta in mezzo agli asini e “con” gli asini durante la raccolta dei dati sperimentali.

I filmati, le immagini, le tracce sonore raccolte testimoniano che l'asino – indipendentemente dal necessario distacco scientifico dello sperimentatore – comunica molto chiaramente il proprio stato emotivo tramite la mimica facciale (palpebre, occhi, narici, labbra, orecchie e muscoli facciali), la posizione delle zampe, i movimenti degli arti e della loro componente distale (dal ginocchio allo zoccolo), l'atteggiamento della coda, il posizionamento del collo ed, in generale, tutto il corpo complessivamente comunica in modo tale che, immediatamente e visivamente, due asini che si incontrano riescono a percepire reciprocamente il loro stato emozionale. Gli asini usano un *linguaggio del corpo* fatto da un variegato e complesso corredo di segnali impercettibili, segni espressivi, piccoli morsi e posture.

Darwin, nel libro *“L'espressione delle emozioni nell'uomo e negli animali”* (1872) afferma che: *«Quando vuole manifestare ostili intenzioni, il cavallo arrovescia completamente le orecchie all'indietro, avanza la testa e scopre in parte i denti incisivi, ond'essere pronto a mordere. Se è disposto a tirar calci, l'abitudine gli fa ancora rovesciare le orecchie, per giunta i suoi occhi si volgono indietro in modo particolare. Per esprimere il piacere, quando, ad esempio, nella scuderia gli si mette davanti un pasto desiderato, solleva la testa e la porta indietro, drizza le orecchie, segue con attento sguardo l'amico che viene a soddisfare il desiderio di lui, e spesso nitrisce. Egli esprime l'impazienza battendo il suolo col piede.»*. Da ciò si può dedurre che quando un animale, in questo caso un equino, vuole comunicare con un individuo appartenente o non alla propria specie, riesce ad interagire senza troppa difficoltà se l'interlocutore è in grado di “ascoltare”.

I n. 31 asini che hanno consentito la realizzazione del progetto di ricerca e tanti altri ancora ci hanno insegnato che nello studio e osservazione delle relazioni, “ascoltare”

significa essere capaci di sintonizzarsi sul canale comunicativo delle sensazioni emotive, per quanto queste siano più o meno ancora “misurabili”.

In tale cornice che delinea il contesto di fondo della discussione dei risultati ottenuti, è necessario, preliminarmente evidenziare che la compilazione dell’etogramma degli animali adibiti agli IAA, dovrebbe costituire momento propedeutico per ogni qualsivoglia tipo di valutazione degli effetti degli IAA sui molteplici indicatori del benessere animale. Infatti solo successivamente alla verifica che le condizioni di management non alterino, di per se stesse, la manifestazione ed il corretto espletamento dei comportamenti di mantenimento dell’omeostasi emozionale, è possibile monitorare le variabili etologiche connesse alle attività relative agli IAA.

Nella fattispecie dei gruppi di asini oggetto della presente tesi – ad eccezione dei soggetti dei gruppi GC₂ e GS₁ che avevano la possibilità di accedere ad ampie superfici di pascolo- la superficie a loro disposizione e la natura del soprassuolo, ha consentito di ritenere inadeguate le condizioni di stabulazione e, conseguentemente, sono risultate condizionate la distribuzione temporale delle diverse categorie comportamentali allo studio.

Ad oggi nella maggior parte delle strutture autorizzate che svolgono interventi assistiti con gli animali, l’organizzazione del management, dei tempi di ristoro, delle attività di sostegno alle loro esigenze etologiche sono spesso trascurate o delegate a figure di secondo piano senza una preventiva e opportuna valutazione della loro preparazione professionale. Di conseguenza, è possibile ritenere che la dimensione del welfare animale non sia tenuta in debita considerazione, inficiando la finalità dell’intervento relazionale e/o terapeutico. Si è costretti frequentemente ad assistere che ai benefici effetti che potrebbero derivare da un corretto “dialogo” asino-paziente, molto spesso non corrispondono necessarie competenze in ambito etologico e tecnico, correndo il rischio di tradire lo spirito dell’intervento terapeutico. Nello specifico dei risultati da noi ottenuti, la valutazione propedeutica della qualità dell’ambiente di vita degli asini rappresenta aspetto fondamentale del progetto terapeutico ed è molto importante, dove necessario, la preliminare compilazione dell’etogramma diurno degli asini da adibire agli I.A.A.

La quantificazione temporale degli stati e degli eventi comportamentali permette di comprendere le dinamiche del gruppo e di monitorare i comportamenti più significativi nella valutazione delle condizioni di welfare, ritenuti indicatori etologici di benessere. Tra questi il grooming ed i vari tipi di autogrooming, sono importanti indici di valutazione etologica della socialità e del *peer attachment*. Le tipologie di management e le condizioni di semistabulazione dei gruppi di asini da noi studiati, hanno consentito, inoltre, di evidenziare la tipica strutturazione sociale della specie e, spesso, inadegui spazi vitali per l’espressione delle diverse manifestazioni comportamentali collegate all’integrità emozionale animale.

Nel panorama normativo nazionale che disciplina le modalità di espletamento degli IAA, tutte le regioni si sono limitate a recepire, nell’accezione burocratica-normativa del termine, le Linee guida nazionali sugli IAA, con l’eccezione della Regione Siciliana, che con D.A. n. 122 del 2018 ha previsto che solo le strutture con determinati requisiti strutturali possano essere autorizzate a svolgere IAA. Il suddetto D.A. prevede che l’ambiente di lavoro e/o di vita degli animali impiegati negli IAA sia effettivamente adeguato alle caratteristiche fisiologiche ed etologiche delle specie impiegate; fornendo, sulla base di riferimenti scientifici, un insieme di parametri quali-quantitativi di dimensionamento infrastrutturale, corredato da note esplicative e da check list, secondo le consolidate procedure metodologiche del “Guidance on Risk Assessment for Animal Welfare; EFSA Panel on Animal Health and Welfare” (2012) e quelle dell’Animal Welfare Index for donkey (AWIN, 2015).

Il dimensionamento infrastrutturale inerente la specie asinina prevede che il loro impiego negli IAA deve prevedere, di norma, il loro confinamento permanente all’aperto con ricoveri; tuttavia, nel caso di contemporaneo utilizzo produttivo (latte), i box individuali devono soddisfare le seguenti misure minime:

Altezza al garrese	< 120 cm	120-148 cm	> 148-162 cm	162-175 cm
Superficie minima (in m²)	5,5	7	8	9
Larghezza minima del box (in m)	almeno una volta e mezza l’altezza al garrese			

Nella stabulazione di gruppo, la progettazione degli interventi di TAA e EAA deve prevedere tra una sessione e la successiva o, in ogni caso, al termine delle attività, un congruo tempo di ristoro degli animali. A livello scientifico è stato dimostrato, infatti, che l’animale impiegato nelle terapie, soprattutto nel campo neurologico e psicologico, è emotivamente coinvolto a tal punto che sarebbe opportuno prevedere dei veri e propri tempi di ristoro e degli accorgimenti infrastrutturali e di management atti a tutelarne l’equilibrio emozionale. Al fine di mitigare l’eventuale stress indotto dalle TAA/EAA è opportuno ricorrere ai benefici effetti del cosiddetto *social buffering*, cioè avvalersi della spiccata socialità e gregarietà degli asini, consentendogli di svolgere libero movimento in gruppo. E’ raccomandabile che gli asini vengano stabulati in ricoveri collettivi, avendo cura di verificare preliminarmente l’affinità sociale.

Altezza al garrese	<120 cm	120-134 cm	>134-148 cm	>148-162 cm	>162-175 cm	>175 cm
Superficie minima per equide (in m ²)	5,5	7	8	9	10,5	12

In un box di gruppo la superficie minima corrisponde alla superficie minima di un box per la stabulazione individuale

La stabulazione individuale e di gruppo deve prevedere un'area di uscita all'aperto per la fondamentale attività cinetica e attività ludica motoria di tipo sociale. Nella stabulazione individuale se l'area d'uscita all'aperto (paddock individuale) è costantemente accessibile, essa deve avere una superficie minima pari a 80 mq (20x4). Per le aree d'uscita non costantemente accessibili ogni animale deve avere superficie minima pari a 800 mq/capo (es. 40x20mt), da preferire lato lungo di almeno 2 volte superiore al lato corto e la possibilità di fruizione per almeno 2 ore/die, insieme ad almeno un altro soggetto.

In relazione alla seconda parte del nostro lavoro, la definizione di un modello etologico di valutazione e monitoraggio dell'idoneità del comportamento dell'asino durante le sedute di I.A.A. ha consentito di affrontare in modo euristico le difficoltà relative alla mancanza di un protocollo scientificamente condiviso di valutazione oggettiva delle complesse relazioni poste in essere durante gli I.A.A., come d'altra parte evidenziato dalle "Linee Guida Nazionali", nelle quali viene, altresì, rimarcata la necessità di una valutazione preliminare dell'idoneità comportamentale dei soggetti adibiti alle attività in questione e delle relative strutture ospitanti.

L'idoneità al servizio di cura, momento propedeutico per ogni tipo di TAA o EAA al quale si ritiene di adibire l'asino, è stata definita attraverso alcuni test validati scientificamente e dovrebbe, per l'appunto, precedere qualsiasi tipo di cosiddetta "prova sul campo".

I modelli di valutazione etologica da noi utilizzati appaiono, alla luce dei risultati ottenuti, idonei e colmano le lacune metodologiche attualmente presenti nel panorama degli I.A.A, fornendo uno strumento di indubbia efficacia a tutela del benessere animale e dell'auspicata efficacia terapeutica della relazione di cura.

In relazione alla terza parte del nostro progetto di ricerca, relativa agli indicatori neurovegetativi (HR e rMSSD) del coinvolgimento emotivo degli asini adibiti agli IAA, riteniamo, preliminarmente, che i risultati ottenuti rappresentino un punto di partenza per ulteriori ricerche, avendo rispettato la caratteristica principale dei modelli sperimentali applicati allo studio dei correlati fisiologici, rappresentata dalla standardizzazione dei protocolli.

Infine, relativamente alle differenze, statisticamente significative, dei valori medi della frequenza cardiaca (HR) nei soggetti dei gruppi GS, cioè a dire GS₁S vs GS₁C (P<0.05) e GS₂S-T₁ vs GS₂C e GS₂-T₁ (P<0.001), e dei valori medi di rMSSD nei soggetti del gruppo GS₂S, cioè a dire GS₂S-T₀ vs GS₂S-T₁ (P<0.05), particolare attenzione bisognerebbe porre alla durata delle sessioni di IAA e, soprattutto al numero di sedute con lo stesso soggetto, prevedendo un congruo tempo di ristoro tra una sessione e l'altra, rappresentato dal rientro nel gruppo sociale e idonei spazi per attività di autogrooming (bagno di sabbia). Tenendo in considerazione che i soggetti adibiti al setting IAA erano stati selezionati per temperamento e che la check list del grado di socialità ha esitato l'idoneità della relazione, si può solo immaginare, innanzitutto, il rischio per l'operatore ed il paziente di lavorare con soggetti non idonei e, non ultimo, il dimostrato stress che il setting di IAA provoca all'asino. Di particolare interesse, riteniamo siano i dati ottenuti riguardo ai valori di rMSSD nel gruppo GS₂S. E' noto che tale valore più è elevato più il tono parasimpatico prevale su quello simpatico, cioè a dire più l'rMSSD è elevato più lo stress è basso o assente. Nel gruppo GS₂S-T₁ – durante il setting IAA – non solo i valori di HR sono risultati statisticamente più elevati, ma quelli dell'rMSSD sono risultati statisticamente significativamente più bassi, cioè a dire, conferma delle condizioni di disagio o discomfort emotivo.

Si aggiunga, inoltre, che i valori medi di rMSSD nel post setting – pari a 18,75 ms – anche se non differenti in modo statisticamente significativo da quelli basali – pari a 22,25ms – dimostrano che i tempi di ristoro devono essere commisurati al quadri nosografici dei pazienti, devono essere individualizzati sul soggetto asinino e, non ultimo, non possono essere intesi solo come periodo temporale di non lavoro ma devono possedere connotati di ristoro emozionale che è possibile solo in ampi paddock e con i simili per un adeguato periodo di tempo.

Sulla base delle consolidate evidenze scientifiche, discusse in questa tesi, risulta, pertanto, possibile estrapolare gli elementi fondamentali per la definizione di un protocollo di valutazione dell'idoneità comportamentale dell'asino da adibire agli IAA, quale strumento di supporto al giudizio di merito sulla base dell'insieme di fattori-parametri: morfotipo, età, sesso, management, livello esperienziale, setting potenziali di impiego e tipo e livello di relazione con il paziente.

Proceduralmente gli elementi idonei e sufficienti a delineare l'attitudine di un asino a poter essere adibito agli IAA possono essere individuati nella valutazione del livello di neofobia e del livello di reattività/socievolezza, i quali, unitamente ai risultati della scheda per la valutazione del benessere dell'asino e delle condizioni di management, verificabili attraverso la presenza di specifici requisiti infrastrutturali e di gestione, per come precedentemente trattato, forniscono idonei elementi per poter responsabilmente adibire l'asino agli IAA.

11. Bibliografia

- Bekoff M., Pierce J.** 2007 – *La vita emozionale degli animali*. Haqihana srl Ed., Como, 2007.
- Bieber N.** - *Horseback riding for individuals with disabilities: A personal historical perspective*. In: Engel BT, (Ed.) *Therapeutic riding I: Strategies for instruction, Part 1*. Durango, CO: Barbara Engel Therapy Services 1998
- Bravi G., Herry, Wright, Longitin, Kenny, Seely.** - *Do physiological and pathological stresses produce different changes in heart rate variability?*. *Frontiers in physiology* 2013
- Bruce V – A. Young** - *Face Perception*. Taylor & Francis; 2013.
- Bussieres G, C. Jacques, O. Lainay , G. Beauchamp, A. Leblond, et al.** *Development of a composite orthopaedic pain scale in horses*. *Research in veterinary science* (2008) 85: 294–306.
- Butt E.G.** Narha–*Therapeutic riding in North America* in Engel BT (Ed.): *Therapeutic riding I: Strategies for instruction, Part 1*. Durango, CO: Barbara Engel Therapy Services; 1998.
- Caeiro C.C., B.M. Waller, E. Zimmermann, A.M. Burrows, M. Davila-Ross Orang** - *FACES: A Muscle-Based Facial Movement Coding System for Orangutans (Pongo spp.)*. *International Journal of Primatology*. 2012; 34(1):115–29. doi: 10.1007/s10764-012-9652-x
- Cameron, E.Z., T.H. Setsaas, W.L. Linklater,** - *Social bonds between unrelated females increase reproductive success in feral horses*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106 (33), 13850–13853
- Canacoo E. A., F.K. Avorny,** -. *Daytime activities of donkeys at range in the coastal savana of Ghana* .*Appl. Anim. Behav .Sci* .1998, 60:229-234.
- Chase W. G., F. K. Graham, D. T.** – *Components of heart rate response in anticipation of reaction time and exercise tasks*. – *J. exper. Psychol.*, 1968; 76, 642-648.
- Chevalier G. , a. S.T. Sinatra** - *Emotional Stress, Heart Rate Variability, Grounding, and Improved Autonomic Tone: Clinical Applications*. *Integrative Medicine*, 2011; 10(3), 16-21.
- Clutton-Brock, T.** - *Cooperation between non-kin in animal societies*. *Nature*, 2009, 462, 51–57.

- Cohen M. J., H. J. Johnson, D. L. McArthur** – *Interaction of a motor response and reaction time estimation tasks on heart rate and skin conductance.* – *Psychophysiology*, 1980, 17, 377.
- Conferenza Stato-Regioni** del 25 marzo 2015 n. 60Csr: “*Accordo tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento recante: Linee guida nazionali per gli Interventi Assistiti con gli Animali (IAA)*”, 2015.
- D’Alessandro A.G., G. Martemucci, D. Casamassima.** - *Behavioural profile during suckling period in Martina Franca breed jennies reared under semi-extensive conditions.* *Applied Animal Behaviour Science* 2007, 106: 107-124.
- Dalla Costa E., M. Minero, D. Lebelt, D. Stucke, E. Canali.** - *Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration.*- 2014 *PLoS ONE* 9(3): e92281. doi:10.1371/journal.pone.0092281
- De Rose P., E. Cannas, P. Reinger Cantiello** – *Donkey-assisted rehabilitation program for children: a pilot study.* *Ann. Ist. Super. Sanità*, 2011, 47(4), 391-396.
- De Santis M., L. Coltabrigo, M. Borgi, F. Cirulli, F. Luzi, V. Redaelli, A. Stefani, M. Toson, R. Odore, C. Vercelli, E. Valle, L. Farina.** - *Equine Assisted Interventions (EAIs): Methodological Considerations for Stress Assessment in Horses.* *Veterinary Sciences*, 2017, 4(3), 44-57.
- Debusse D, C. Gibb, C. Chandler.** - *Effects of hippotherapy on people with cerebral palsy from the users’ perspective: A qualitative study.* *Physiother Theory Pract*, 2009; 25:174–192.
- Diogo R, B.A. Wood, M.A. Aziz, A. Burrows.** - *On the origin, homologies and evolution of primate facial muscles, with a particular focus on hominoids and a suggested unifying nomenclature for the facial muscles of the Mammalia.* *Journal of Anatomy.* 2009; 215(3):300–19. Epub 2009/06/18. doi: 10.1111/j.1469- 7580.2009.01111.x PMID: 19531159;
- EFSA** - *Guidance on Risk Assessment for Animal Welfare*, *EFSA J.*, 2012, 10 (1):2513.
- EFSA** - *Statement on the use animal-based measures to assess the welfare of animals.* Panel on Animal Health on Welfare. *J.*, 2012, 10 (6), 2767
- Ekman P, W. Friesen** - *Facial action coding system: a technique for the measurement of facial action.* Consulting. Palo Alto (1978)
- Ekman P, W.V. Friesen, J.C. Hager.** - *Facial Action Coding System.* Salt Lake City: Research Nexus; 2002.

- Emery N.J., A.M. Seed, A.M.P- Von Bayern, N.S. Clayton.** - *Cognitive adaptations of social bonding in birds*. Phil. Trans. R. Soc. B, 2007, 362, 489–505.
- Engel B.T.** - *Traits of the therapeutic riding horse*. Engel B.T. (Ed.), *Therapeutic Riding Programs Instruction and Rehabilitation*, Barbara Engel Therapy Services, Durango, CO, pp 82. (1992).
- Faglioni P.** - *Il lobo frontale in Manuale di neuropsicologia* - a cura di Gianfranco Denes e Luigi Pizzamiglio Ed.Zanichelli Bologna, 1996;
- Feh C. and J. De Mazieres,** - *Grooming at a preferred site reduces heart rate in horses*. Animal Behaviour, 1993, 46(6):1191–1194.
- Forsten A.** - *Mitochondrial-DNA time-table and the evolution of Equus: comparison of molecular and paleontological evidence*. Annales Zoologici Fennici, 1992, 28: 301–309
- French J.M.,** *Assessment of donkey temperament and the influence of home environment*. Appl. Anim. Behav. Sci., 1993, 36, 249-257.
- Gellhorn E.** – *Biological foundations of emotion* – Scott, Foresman & Co., Glenview. 1968
- George M., Jr. and O. A. Ryder,** - *Mitochondrial DNA evolution in the genus Equus*. Molec. Biol. Evol., 1986, 3:535-546.
- Goncalves EM, Saul Neves de Jesus.** - *Stress prevention by modulation of autonomic nervous system (heart rate variability): A preliminary study using transcranial direct current stimulation.*- Open journal of Psychiatry, 2012, 2, 113-122
- Graham S, I. Cameron.** - *Towards a unifying theory of rehabilitation*. - J Rehabil Med 2011; 43: 76–77.
- Graubner C, V. Gerber, M. Doherr, C. Spadavecchia.** - *Clinical application and reliability of a post abdominal surgery pain assessment scale (PASPAS) in horses.*- Veterinary Journal, 2011; 188: 178–183.
- Grunau R, K. Craig.** - *Pain expression in neonates: facial action and cry.* – Pain, 1987; 28: 395–410.
- Hallberg L.** - *Walking the way of the horse: Exploring the power of the horse-human relationship*. New York, NY: Universe, Inc; 2008.
- Harman AM, S. Moore, R. Hoskins, P. Keller.** - *Horse vision and an explanation for the visual behaviour originally explained by the ‘ramp retina’* - Equine Veterinary Journal. 1999; 31(5):384–90. doi: 10.1111/j.2042-3306.1999.tb03837.x PMID: 10505953

- Heart Rate Variability** – *Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use: Task Force of The European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology*. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 1996; vol. 1(2), 151-181. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.1996.tb00275.x>
- Heintzman P.D., G. D. Zazula, R. DE. MacPhee, E. Scott, J. A. Cahill, B.K. McHorse, J. D Kapp, M. Stiller, M. J. Wooller, L. Orlando, J. Southon, D. G. Froese, B. Shapiro** - *A new genus of horse from Pleistocene North America* – *Genetics a. Genomics, eLife* 2017; 6:e29944 - DOI:10.7554/eLife.29944
- Heitor, F., M. Do Mar Oom, L. Vicente.** - *Social relationships in a herd of Sorraia horses Part II. Factors affecting affiliative relationships and sexual behaviours.*- *Behav. Proc.*2006; 73, 231–239.
- Hole G, V. Bourne.** - *Face Processing: Psychological, Neuropsychological, and Applied Perspectives:OUP* - Oxford; 2010.
- Hon E.H, S.T. Lee.** - *Electronic evaluations of the fetal heart rate patterns preceding fetal death, further investigations.* - *Am J Obstet Gynec.* 1965; 87:814–826.
- Houpt K.A.,** - *Domestic Animal Behaviour for Veterinarians and Animal Scientists*, Iowa State University press, Ames, 1998.
- Innella G., G. Luigiano,A. Di Rosa, M. Panzera.** - *Etogramma diurno neonatale e maternodell'asino Pantesco. Valutazione comparative della distribuzione degli stati comportamentali di Equus asinus L. e di Equus caballus L.* VI Convegno Nazionale SO. F. I. VET. – Stintino (SS). 2005.
- Jordan A, J. Hughes, M. Pakresi, S. Hepburn, J.T. O'Brien.** - *The utility of PAINAD in assessing pain in a UK population with severe dementia.* - *International journal of geriatric psychiatry*, 2011; 26: 118–126.
- Keating SCJ, A. Thomas, P. Flecknell, M.C. Leach.** - *Evaluation of EMLA cream for preventing pain during tattooing of rabbits: changes in physiological, behavioural and facial expression responses.* - *PloS one* 7: e44437. (2012) Available: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2F10.1371>
- Kimura B., F. Marshall, A. Beja-Pereira and C. Mulligan.** - *Donkey Domestication.* *African Archaeological Review*, 2013, 30:83–95. 72
- Kimura B., F. Marshall, S. Chen, S. Rosenbom, P.D. Moehlman, N. Tuross, R.C. Sabin, J. Peters, B. Barich, H. Yohannes, F. Kebede, R. Teclai, A. Beja-Pereira and C.J. Mulligan,** - *Ancient DNA from Nubian and*

Somali wild ass provides insights into donkey ancestry and domestication. Proceedings of the Royal Society B, 2010, 278:50–57.

Kimura R., - *Mutual grooming and preferred associate relationships in a band of free ranging horses.* Applied Animal Behaviour Science, 1998, 59:265–276.

Klingel H. - *Observations on social organization and behavior of African and Asiatic Wild Asses (Equus africanus and Equus hemionus).* Applied Animal Behaviour Science, 1998.

Klingel H., - *Social organization and reproduction in equids.* Journal of Reproduction and Fertility. Suppl., 1975, 23:7-11.

Langford DJ, A.L. Bailey, M.L. Chanda, S.E. Clarke, T.E. Drummond, et al. - *Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse.*- Nature methods, 2010; 7:447–449.

Leach MC, K. Klaus, A.L. Miller, M. Scotto Di Perrotolo, S.G. Sotocinal, et al. - *The assessment of post-vasectomy pain in mice using behaviour and the Mouse Grimace Scale.* - PloS one 7: e35656. (2012) Available: <http://www.plosone.org/>

Lechner HE, T.H. Kakebeeke, D. Hegemann, M. Baumberger. - *The effect of hippotherapy on spasticity and on mental well-being of persons with spinal cord injury.* Arch Phys Med Rehabil 2007; 88:1241–1248

Leach M. C. - *Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a Pain Assessment Tool in Horses Undergoing Routine Castration* PLOS ONE, 9 (3), e92281, 2014

MacFadden B.J., - *Equide*, pp.537-559, in C.M. Janis, K.M. Scott, and L.L. Jacobs, eds. Evolution of Tertiary mammals of North America. Cambridge University Press, Cambridge, 1998.

Maestri R, G.D. Pinna, A. Accardo, et al. - *Nonlinear indices of heart rate variability in chronic heart failure patients: redundancy and comparative clinical value-* J Cardiovasc Electrophysiol. 2007;

Malara L., G. Luigiano, A. Arcigli, G. Innella, A. Di Rosa, M. Panzera. - *Etogramma notturno neonatale e materno dell'asino Pantesco.* Atti II Convegno Nazionale sull' Asino. ISZS 21/24 Settembre 2006

Massen, J.J.M., - *'Friendship' in macaques: economics and emotions.* PhD Thesis. Utrecht University. <http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2010-0520-200216/UUindex.html>

- McGee M.C., N.B. Reese** - *Immediate effects of a hippotherapy session on gait parameters in children with spastic cerebral palsy*. *Pediatr Phys Ther* 2009; 21:212–218.
- Miller PE, C.J. Murphy.** - *Vision in dogs*. *J Am Vet Med Assoc*. 1995; 207(12):1623–34. Epub 1995/12/15. PMID: 7493905.
- Mitani, J.C.** - *Male chimpanzees form enduring and equitable social bonds*. *Anim. Behav.* 2009, 77, 633–640
- Moehlman P.D.** - *Behavioral patterns and communication in feral asses (*Equus africanus*)*. *Applied Animal Behaviour Science* 1998a; 60:125-169.
- Moehlman P.D.,** - *Feral asses (*Equus africanus*): intraspecific variation in social organization in arid and mesic habitats.*- *Applied Animal Behaviour Science* 1998b; 60:171-195.
- Moscovice, L.R., A. Di Fiore, C. Crockford, D.M. Kitchen, R. Wittig, R.M. Seyfarth, D.L. Cheney.** - *Hedging their bets? Male and female chacma baboons form friendships based on likelihood of paternity.* - *Anim. Behav* , 2010; 79, 1007–1015
- Murphy D, Kahn, L. D’Angelo, J. Gleason** - *The effect of hippotherapy on functional outcomes for children with disabilities: A pilot study*. *Pediatr Phys Ther* 2008; 20:264–270.
- Murray L.M.A., K. Byrnc and R.B. D’Eathb.** - *Pair-bonding and companion recognition in domestic donkeys, *Equus asinus**. - *Applied Animal Behaviour Science*, 2013; 143:67– 74.
- Oakenfull E.A. and J.B. Clegg.** - *Phylogenetic relationships within the genus *Equus* and the evolution of α and θ globin genes.* - *Journal of Molecular Evolution*, 1998; 47:772–783.
- Oakenfull E.A., H.N. Lim and O.A. Ryder.** - *A survey of equid mitochondrial DNA: Implications for the evolution, genetic diversity and conservation of *Equus**. - *Conservation Genetics*, 2000; 1: 341–355
- Obrist P. A., J. E. Lawler, J. E. Howard, K. W. Smithson, P. L. Martin, J. Manning** 1974 – *Sympathetic influences on cardiac rate and contractility during acute stress in humans.* - *Psychophysiology*, 1974; 11, 405-427.
- Orlando L., A. Ginolhac, G. Zhang, D. Froese, ed altri 53** - *Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse* – *Nature*, 2013, 499, 74-81.
- Panzer M., E. Tropia, D. Alberghina** - *“The aptitude assessment test for donkeys used in animal assisted interventions”*. - *Atti IAHAIO Symposium* 24-26 October 2018, Amsterdam

- Parr LA, B.M. Waller, A.M. Burrows, K.M. Gothard, S.J. Vick.**- *MaqFACS: A muscle-based facial movement coding system for the rhesus macaque.* - Am J Phys Anthropol. 2010; 143(4):625–30. [Epub 2010/09/28. doi: 10.1002/ajpa.21401](https://doi.org/10.1002/ajpa.21401)
- Perini R. and A. Veicsteinas.** - *Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions.* - Eur.J.Appl.Physiol. 2003;
- Proopsa L., F. Burdenb and B. Osthaus.** - *Social relations in a mixed group of mules, ponies and donkeys reflect differences in equid type.* - Behavioural Processes, 2012; 90:337– 342.
- Regan F.H., , Jo. Hockenull, J.C. Pritchard, A.E. Waterman-Pearson, H.R. Whay.** - *Behavioural Repertoire of Working Donkeys and Consistency of Behaviour over Time, as a Preliminary Step towards Identifying Pain-Related Behaviours.* - Plos One, 2014, 9(7), e101877
- Reinhardt J.D.** - *ICF, theories, paradigms and scientific revolution. Re: Towards a unifying theory of rehabilitation.* - J Rehabil Med., 2011;43:271–273.
- Ruckebusch Y.** - *Etude EEG et comportementale des alternances veille-sommeil chez le cheval.*- CR SocBiol.; 1963; 157:840–844.
- Rudman R.** - *The social organisation of feral donkeys (Equus asinus) on a small Caribbean island (St. John, US Virgin Islands).* – Applied Animal Behaviour Science, 1998; 60:211-228.
- Sayers B. M. A.** - *Analysis of heart rate variability.* - Ergonomics, 1973; 16, 17–32.
- Schilder M.B.H., J.A.R.A.M. Van Hooff., C.J. Van Geer-Plesman and J.B. Wensing.** - *A quantitative analysis of facial expression in the Plains Zebra.* – Zeitschrift für Tierpsychologie, 1984; 66:11-32. doi: 10.1111/j.1439-0310.1984.tb01352.x
- Schneirla T. C.** – *An evolutionary and developmental theory of biphasic processes underlying approach and withdrawal.* - Nebraska Symp. On motivation, pp. 1-41, Univ.Nebr., Press, Lincoln. 1959
- Schultz PN, G.A. Remick-Barlow, L. Robbins.** - *Equine-assisted psychotherapy: A mental health promotion/intervention modality for children who have experienced intra-family violence.* Health Soc Care Community 2007;15:265–271.
- Silk, J.B.,** - *Using the 'F'-word in primatology.* Behaviour, 2002; 139, 421–446.
- Silkwood-Sherer D, H. Warmbier.** - *Effects of hippotherapy on postural stability, in persons with multiple sclerosis: A pilot study.* - J Neurol Phys Ther 2007;31:77–84.

- Snider L, N. Korner-Bitensky, C. Kammann, S. Warner, M. Saleh.** - *Horseback riding as therapy for children with cerebral palsy: Is there evidence of its effectiveness?* Phys Occup Ther Pediatr, 2007;27:5–23.
- Sotocinal SG, R.E. Sorge, A. Zaloum, A.H. Tuttle, L.J. Martin, et al.** - *The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions.* Molecular Pain, 2011; 7:55. Available: <http://www.molecularpain.com/content/7/1/55>.
- Sterba J.A.** - *Does horseback riding therapy or therapist-directed hippotherapy rehabilitate children with cerebral palsy?* Dev Med Child Neurol 2007;49:68–73.
- Sutherland C. J., A.W. Zbrozyna.** – *Conditioned active muscle vasodilation and flexor reflex in dogs. In Central-Rhythmic and regulation.* - Umbach W., H.P. Koepchen, eds., Hippokrates-verdag, Stoccarda 1974
- Svec, L.A., K.M. Licht, J. Wade.** - *Pair bonding in the female zebra finch: a potential role for the nucleus taeniae.* Neuroscience, 2009, 160, 275–283.
- Thompson R. F.** – *Fondamenti di psicologia fisiologica.* Il Mulino, Bologna. 1976
- Timney B., K. Keil.** - *Visual acuity in the horse.* - Vision Res. 1992; 32(12):2289–93. Epub 1992/12/01. PMID: 1288005.
- Tropia E., D. Alberghina, M. Rizzo, G. Alesci, M. Panzera** - “*Monitoring changes in heart rate and behavioral observations in donkeys during onotherapy sessions: a preliminary study*” 51st Congress of the International Society for Applied Ethology 7-10th August 2017, Aarhus, Denmark - ISBN: 978-90-8686-311-2
- Tseng Sung-Tui, Chen Hung-Chou, Tam Ka-Wai** – *Systematic review and meta-analysis of the effect of equine assisted activities and terapie on gross motor out come in children with cerebral palsy.* - Disability & Rehabilitation, 2013, 35(2), 89-99.
- Vagni M.** - *L'asino: storia e letteratura sull'animale che da sempre ha affiancato l'uomo.* - Roma, EdUP, 1999
- Van Dierendonck, M.C., B.M. Spruijt.** - *Coping in groups of domestic horses – review from a social and neurobiological perspective.* - Appl. Anim. Behav. Sci., 2012; 138, 194–202.
- Vick SJ, B.M. Waller, L.A. Parr, M.C. Smith Pasqualini, K.A. Bard.** - *A Cross-species Comparison of Facial Morphology and Movement in Humans and Chimpanzees Using the Facial Action Coding System (FACS).* J Nonverbal Behav. 2007; 31(1):1–20. Epub 2007/03/01. doi: 10.1007/s10919-006-0017-z

- Virga A., D. Alberghina, E. Tropia, M. Panzera.** - “*Structural and management requirements for the infrastructure that host the human-animal interactions with equidae*” Atti IAHAIO Symposium 24-26 October 2018, Amsterdam
- Waller BM, M. Lembeck, P. Kuchenbuch, A.M. Burrows, K. Liebal.** - *Gibbon FACS: A Muscle-Based Facial Movement Coding System for Hylobatids.* - International Journal of Primatology. 2012; 33(4):809–21. doi: 10.1007/s10764-012-9611-6
- Waller BM, A. Misch, J. Whitehouse, E. Herrmann.** - *Children, but not chimpanzees, have facial correlates of determination.*- Biol Lett. 2014; 10(3):20130974. Epub 2014/03/07. doi: 10.1098/rsbl.2013.0974
- Waller BM, K. Peirce, CtC Caeiro, L. Scheider, A.M. Burrows, S. McCune, et al.** - *Paedomorphic Facial Expressions Give Dogs a Selective Advantage.* - PLoS one. 2013; 8(12):e82686. doi: 10.1371/journal.pone.0082686 PMID: 24386109
- Wang Z., B.J. Aragona.** - *Neurochemical regulation of pair-bonding in male prairie voles.* - Physiol. Behav. 2004; 83, 319–328
- Waring G.H.** - *Horse Behavior.* - Second Edition. Noyes Publications, William Andrew Publishing. 2003
- Wasilewski, A.** - ‘*Friendship*’ in ungulates? Sociopositive relationships between non-related herd members of the same species. - 2003 Home page address: <http://archive.ub.uni-marburg.de/diss/z2003/0639/> and <http://staff-www.uni-marburg.de/z-phylog/wisstaff/wasi-sum.htm>
- Wathan J., A. M. Burrows, B. M. Waller, K. McComb** - *EquiFACS: The Equine Facial Action Coding System* - PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0131738 August 5, 2015 1 / 35
- Whitehead G., J. French and P. Ikin.** - *Welfare and veterinary care of donkeys.* - In Practice, 1991; 13, 62–68.
- Williams, J.R., K.C. Catania, C.S. Carter.** - *Development of partner preferences in female prairie voles (Microtus ochrogaster): the role of social and sexual experience.* Horm. Behav. 1992, 26, 339–349.
- Wolf N., M. Santamore, W. Kreulen, T. H. Bove, A.A. Spann J.F.** - *A heart model for understanding three-dimensional cardiac anatomy.* - Catheterization and Cardiovascular Diagnosis, v. 3, n. 2, p. 183-186, 1977.
- Woodward S.L.** - *The Social System of Feral Asses (Equus asinus).* – Zeitschrift für Tierpsychologie 1979; 49:304–316.

World Health Organization (WHO), - *International Classification of Functioning, Disability and Health–ICF*. Geneva: WHO Press; 2000.

Young, K.A., K.L. Gobrogge, Y. Liu, Z. Wang. - *The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent*. *Front. Neuroendocrinol.*, 2011, 32, 53–69.