

Nasilenie stresu u koni różnych ras w trakcie transportu jako zmienna syntetyczna w metodzie Krefft

ARTUR NIEDŹWIEDŹ, HENRYK FILIPOWSKI*,
MONIKA SŁUŻEWSKA-NIEDŹWIEDŹ**, JÓZEF NICPOŃ

Katedra Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

*Katedra Patofizjologii Wydziału Lekarskiego AM, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław

**Katedra Neurologii ASzK, ul. Borowska 213, 50-566 Wrocław

Niedźwiedz A., Filipowski H., Służewska-Niedźwiedz M., Nicpoń J.

Stress level in horses during transport as a variable in Krefft's function

Summary

The aim of this study was to determine the mathematical model used to assess the severity of stress in horses intended for slaughter. The tests involved 60 Polish cold-blooded horses earmarked for slaughter, aged 4-10, including 29 males and 32 mares. Blood for tests was collected three times: I – directly before transport to the horse abattoir (at a time when the animals were still in their stalls); II – directly after unloading the animals from the transport semi-trailer, after a journey lasting approximately 8 hours; and III – after a 24-hour rest at the stable of the horse abattoir. Each horse marked for the experiment was described using the diagnostic features X_1, X_2, \dots, X_{11} , which is assigned by the results of blood analysis. The level of stress was defined as a variable Z , using the Krefft function. The value of the function was, respectively, in three consecutive tests $Z1: 0.3548, Z2: 0.5591; Z3: 0.5940$. The Krefft diagnostic function enables determining the severity of stress in the studied group of animals objectively and observing its dynamics.

Keywords: stress, Krefft function, horses

Stres, pomimo że jest wszystkim dobrze znany, nie jest łatwy do zdefiniowania. Uważa się, że u zwierząt jest to efekt wpływu niekorzystnych warunków środowiska lub systemów utrzymania, które wymuszają powstanie fizjologicznej odpowiedzi na działający czynnik, pozwalając tym samym na adaptację w nowym środowisku. Pojawienie się stresu u zwierząt można wykryć poprzez obserwację zachowania, badanie niektórych parametrów biochemicznych oraz hematologicznych krwi. Największe zamiany obserwuje się w funkcjonowaniu układu podwzgórze–przysadka–kora nadnerczy, rdzenia nadnerczy i układu współczulnego oraz tarczycy. Wcześniejsze badania dotyczące zmian stężenia hormonów, takich jak: β -endorfina, ACTH, kortyzol, wolna i związana jodotyryna oraz hormonów płciowych zostały wykorzystane w celu określenia poziomu stresu u transportowanych zwierząt gospodarskich i koni (1, 4, 10). Istnieją również publikacje świadczące o zmianach poziomu niektórych parametrów biochemicznych krwi u zwierząt transportowanych na różne odległości (7, 11, 17).

Pomimo że warunki przewozu zwierząt określają odpowiednie przepisy mające na celu ich dobrostan (6), transport żywego inwentarza pociąga za sobą występowanie potencjalnych stresorów, takich jak: załadunek oraz rozładunek zwierząt, zamknięcie w nieznanym środowisku, immobilizacja, niedostateczna wentylacja, wibracje, hałas, brak dostępu do wody i pożywienia oraz gwałtowne zmiany temperatury i wilgotności otoczenia, czego skutkiem jest odpowiedź organizmu w postaci zmian w fizjologii oraz zachowaniu. Duże znaczenie ma temperament zwierzęcia oraz inne cechy osobnicze, które w znacznej mierze warunkują odpowiedź organizmu na czynniki o charakterze stresorów. Zauważono, że u zwierząt agresywnych występuje wyjściowo większe stężenie ACTH w porównaniu ze zwierzętami spokojnymi (2). Duże znaczenie w powstawaniu stresu u przewożonych zwierząt ma fakt łączenia zwierząt nieznanymi sobie, co niejednokrotnie powoduje walkę o dominację w stadzie. Kolejnym ważnym czynnikiem o charakterze stresora są dźwięki o wysokiej częstotliwości, generowa-

ne przez urządzenia mechaniczne, niesłyszalne dla ludzi, a powodujące zaniepokojenie wśród zwierząt. Na dobrostan zwierząt znaczący wpływ również ma wielkość dostępnej przestrzeni w przyczepie, jakość drogi, sposób prowadzenia auta oraz ustawienie zwierzęcia względem kierunku ruchu (8, 16).

Duże znaczenie na zachowanie się zwierząt ma obsługa transportu i sposób wprowadzania zwierząt do pojazdu. Pokrzykiwanie na zwierzęta, szarpanie za kantar oraz stosowanie mechanicznych poganiaczy przy załadunku i rozładunku znacząco zwiększają występowanie niekorzystnych zachowań zwierząt. Jednocześnie wiadomo, że występowanie negatywnych zachowań wśród obsługi w stosunku do zwierząt było skorelowane z niskim poziomem wiedzy dotyczącej behawioryzmu koni (3, 5, 16). Wydaje się, że rozwiązaniem problemu dotyczącego niekorzystnych zachowań w pracy ze zwierzętami rzeźnymi mogą być szkolenia pracowników obsługi dotyczące właściwego traktowania zwierząt. Pogląd ten jest zgodny z zaleceniami Komisji Europejskiej dotyczącymi dobrostanu zwierząt rzeźnych (8, 15).

Cel pracy

Z uwagi na brak możliwości dokładnego oszacowania poziomu stresu u badanych zwierząt podjęto próbę wyznaczenia matematycznego modelu służącego do oceny tego czynnika.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 60 koniach przeznaczonych do uboju, w wieku 4-10 lat, różnych ras, w tym 28 osobników męskich i 32 klaczy. Zwierzęta przewożone były z miejsca pobytu do ubojni zgodnie z przepisami zawartymi w wytycznych dotyczących transportu zwierząt, rekomendowanych przez Komisję Europejską (15). Warunki pogodowe obejmujące temperaturę na zewnątrz pojazdu oraz wilgotność powietrza były podobne w trakcie każdego z trzech badań, stanowiących kolejny etap badania. Materiał do badań stanowiła krew pobierana z jednego wkłucia z żyły szyjnej zewnętrznej.

Krew do badań pozyskiwano trzykrotnie: I – bezpośrednio przed transportem do ubojni koni (w momencie, gdy zwierzęta jeszcze przebywały w swoich boksach), II – bezpośrednio po rozładowaniu zwierząt z naczepy transportowej, po podróży trwającej ok. 8 godz., III – po 24 godz. odpoczynku w stajni ubojni koni.

Analiza statystyczna. Każdy koń przeznaczony do doświadczenia został opisany przy pomocy 11 cech diagnostycznych, którym przypisano następujące wyniki z analizy krwi, z poszczególnych trzech pobrań:

- X_1 – całkowity status antyoksydacyjny osocza; wyrażony w jednostkach $\mu\text{mol/L}$,
- X_2 – stężenie albumin w surowicy krwi; wyrażone w jednostkach g/L ,
- X_3 – stężenie bilirubiny całkowitej w surowicy krwi; wyrażone w jednostkach $\mu\text{mol/L}$,
- X_4 – stężenie kwasu moczowego w surowicy krwi; wyrażone w jednostkach mg/dL ,

- X_5 – stężenie białka całkowitego w surowicy krwi; wyrażone w jednostkach g/L ,
- X_6 – aktywność selenozależnej peroksydazy glutationowej; wyrażona w jednostkach U/g ,
- X_7 – stężenie hemoglobiny; wyrażone w jednostkach g/dL ,
- X_8 – aktywność transferazy S-glutationowej; wyrażona w jednostkach U/g ,
- X_9 – aktywność całkowitej peroksydazy glutationowej; wyrażona w jednostkach U/g ,
- X_{10} – aktywność reduktazy glutationu; wyrażona w jednostkach U/g ,
- X_{11} – aktywność kortyzolu w surowicy krwi; wyrażona w jednostkach ng/ml .

Dla 60 koni został w ten sposób zebrany materiał statystyczny w postaci macierzy \mathbf{X} . Macierz ta posiada 180 wierszy i 11 kolumn. Wiersze zawierają wartości poszczególnych cech diagnostycznych (wyniki analizy krwi) u tego samego zwierzęcia, a kolumny zawierają wartości poszczególnych cech u różnych zwierząt. Z uwagi na objętość macierzy \mathbf{X} , w tabeli 3 przedstawiono pomiary dla 11 cech diagnostycznych u 10 pierwszych koni (tab. 3).

Podjęto próbę wyznaczenia matematycznego wzoru, przy pomocy którego można określić poziom nasilenia stresu w populacji badanych zwierząt w aspekcie wybranych cech diagnostycznych.

W modelu tym poszczególne cechy zbioru cech diagnostycznych $\{X_i\}_{i=1,\dots,k}$, w aspekcie których zmienna syntetyczna Y opisuje poziom nasilenia stresu u koni, są w ogólności zmiennymi typu ciągłego. Na cechy te jednak jest narzucone ograniczenie. Mogą to być tylko takie cechy, którym w sposób jednoznaczny można przyporządkować kierunek wpływu tej cechy na zmienną syntetyczną Y . Kierunek ten może mieć albo charakter stymulujący – ze wzrostem wartości cechy diagnostycznej wzrastają wartości zmiennej syntetycznej Y , albo charakter destymulujący – ze wzrostem wartości cechy diagnostycznej maleją wartości zmiennej syntetycznej Y i oznaczamy je, odpowiednio, znakami „+” oraz „-”. Znajomość kierunków wpływu każdej z cech diagnostycznych na zmienną syntetyczną Y w modelu jest kluczowa – to one „kreują” rzeczywistość badanego zjawiska ze swej natury nieobserwowalnego. Doświadczenie uczy, że badane zjawisko zależne od wielu czynników zagregowanych ma rozkład Gaussa, stąd też zmienna syntetyczna Y z założenia taki rozkład posiada i jest funkcją liniową cech diagnostycznych postaci:

$$Y = \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \beta_3 \cdot X_3 + \dots + \beta_{k-1} \cdot X_{k-1} + \beta_k \cdot X_k + \xi \quad (1)$$

gdzie ξ jest czynnikiem losowym o średniej wartości oczekiwanej $E(\xi) = 0$.

O modelu mówimy, że jest on zidentyfikowany, jeśli współczynniki $\{\beta_i\}_{i=1,\dots,k}$ są wyznaczone; dokładniej, gdy dysponujemy estymatorami b_i współczynników β_i . Wówczas do obliczeń możemy posłużyć się wzorem:

$$\hat{Y} = b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2 + b_3 \cdot X_3 + \dots + b_{k-1} \cdot X_{k-1} + b_k \cdot X_k \quad (2).$$

Wygodniejsze jest mierzenie poziomu nasilenia stresu u koni w przedziale (0, 1) z interpretacją: im wartość tego stanu jest bliższa 1, tym poziom nasilenia stresu jest większy. Przekształcenia wartości zmiennej \hat{Y} z przedziału $(-\infty, +\infty)$ w przedział (0, 1) dokonujemy za pomocą wzoru:

$$Z = \frac{e^{\hat{Y}}}{1 + e^{\hat{Y}}} \quad (3)$$

gdzie:

Z – poziom nasilenia stresu, przyjmuje wartości w przedziale (0, 1),

e – funkcja eksponencjalna.

Do identyfikacji tego modelu statystycznego posłużono się metodą A. Krefft (12), w której autorka, korzystając z materiału statystycznego pomiarów zebranych w macierzy ustalonego zbioru k cech diagnostycznych $\{X_i\}_{i=1,\dots,k}$ dla próby losowej n koni badanej populacji oraz ciągu kierunków wpływu każdej z cech diagnostycznych na zmienną Y postaci [+ , - , ... +] rozpoznanego przez eksperta badanego zjawiska nieobserwowalnego, zaproponowała algorytm symulacji wartości brakującego wektora y^* o rozkładzie normalnym, aby móc metodą najmniejszych kwadratów wyestymować współczynniki $\{\beta_i\}_{i=1,\dots,k}$ równania (1) z ustaloną precyzją dopasowania modelu mierzoną współczynnikiem zbieżności ϕ^2 . Kierunek wpływu nie ma samodzielnej wartości diagnostycznej, jest natomiast niezbędny do właściwego obliczenia poziomu nasilenia stresu. Model uważa się za zidentyfikowany, jeśli z rodziny wysymulowanych m wektorów $\{y^*_j\}_{j=1,\dots,m}$ można wybrać ten zbiór estymatorów współczynników $\{\beta_i\}_{i=1,\dots,k}$, którym odpowiada minimum wartości współczynników zbieżności $\phi^2_{j,i=1,\dots,k}$.

Zidentyfikowany model (2) poziomu nasilenia stresu u koni umożliwia określenie „ważności” każdej z wybranych do modelu cech diagnostycznych X_i , $i = 1, \dots, k$ w tym poziomie. Wagi tych cech są mierzone współczynnikiem korelacji $r(X_i, \hat{Y})$.

Wartość poszczególnych wag jest poddana weryfikacji statystycznej na poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki

Dla zebranego materiału statystycznego pomiarów 11 cech diagnostycznych u 60 koni badanej populacji i ustalonych przez eksperta kierunków wpływu tych cech na poziom nasilenia stresu u koni postaci [+ , + , + , + , + , - , - , - , - , -] uzyskano model wg wzoru:

$$\begin{aligned} \hat{Y} = & -10,0211 + 3,6281 \cdot \ln(X_1 + 1) + \\ & + 1,1018 \cdot \ln(X_2 + 1) + 1,2032 \cdot \ln(X_3 + 1) + \\ & + 2,6842 \ln(X_4 + 1) + 1,0329 \ln(X_5 + 1) - \\ & - 0,513 \ln(X_6 + 1) + 1,3824 \ln(X_7 + 1) - \\ & - 1,8582 \ln(X_8 + 1) - 0,2700 \ln(X_9 + 1) - \\ & - 0,2568 \ln(X_{10} + 1) - 2,0979 \ln(X_{11} + 1) \end{aligned} \quad (4)$$

z błędem dopasowania metody wyznaczonym współczynnikiem zbieżności $\phi^2 = 0,010$.

Stosując uzyskany wzór (4) oraz przekształcenie (3) do pomiarów czynników diagnostycznych dla i-tego konia uzyskuje się przypisanie mu wartości z_i poziomu nasilenia stresu o wartości z przedziału (0, 1). Tak uzyskanie „pomiarów” zmiennej syntetycznej Z zestawiono w tabeli 3 u pierwszych 10 koni.

W tabeli 2 przedstawiono wyznaczone wagi tych cech. I tak w tym modelu aktywność tranferazy s-glutationowej oraz stężenie hemoglobiny mają największy wpływ na poziom nasilenia stresu, przyjmując wartości wag, odpowiednio, równe -0,5534 oraz 0,5327.

Tab. 1. Porównanie średnich wartości oczekiwanych \bar{x} poziomu nasilenia stresu Z w poszczególnych pobraniach z_1, z_2, z_3 obliczonych na podstawie wyników badań krwi

Kolejne pobrania krwi	Poziom nasilenia stresu Z		
	\bar{x}	n	SD
$t_1 = 0$ h	0,3548	60	0,1876
$t_2 = 8$ h	0,5591	60	0,1622
$t_3 = 24$ h	0,5940	60	0,1776

Najmniejszą wagę wykazała aktywność kortyzolu: -0,3081.

Analizując wyniki obliczeń wartości poziomu nasilenia stresu z dla trzech kolejnych pobrań, zaobserwowano istotne statystycznie różnice pomiędzy oczekiwanymi wartościami średnimi a wielkościami obliczonymi dla danych grup w podziale ze względu na przebieg czasu (tab. 1).

Porównując średnie wartości dla tych trzech różnych pobrań widać, że średnie wartości funkcji Z wzrastają wraz z upływem czasu. Jednocześnie wraz ze wzrostem wartości funkcji Z odchylenie standardowe początkowo maleje, a następnie w małym stopniu rośnie, co świadczy o stosunkowo wysokiej czułości i swoistości metody. Wartość funkcji Z_1 wynosiła 0,3548, po czym w pobraniu 2 wartość funkcji Z_2 wzrosła do poziomu 0,5591 i wynosiła 158% wartości pierwotnej. Natomiast w porównaniu do funkcji Z_2 zaobserwowano tylko niewielki wzrost wartości funkcji Z_3 do poziomu 0,5940, co stanowi wzrost o około 6%.

Z analizy wyników wynika, że pomiędzy średnią wartością z_1 i z_2 oraz pomiędzy z_1 i z_3 istnieją różnice istotnie statystycznie ($p < 0,001$), przy czym nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy średnimi wartościami z_2 i z_3 ($p = NS$).

Analizując ten model stresu wykazano, że wszystkie 11 badanych cech ma wpływ na poziom stresu u badanych zwierząt. Problem ten został zmierzony wagami tychże cech w modelu Krefft i jest przedstawiony w tabeli 2.

Tab. 2. Wartości estymatorów wag uporządkowane wg siły związku z poziomem nasilenia stresu Z

Oznaczone parametry krwi	Poziom wag
Transferaza S-glutationowa	-0,5534
Hemoglobina	0,5327
Bilirubina całkowita	0,5315
Całkowita peroksydaza glutationowa	-0,5223
Białko całkowite	0,4659
Peroksydaza glutationowa selenozależna	-0,4628
Całkowity status antyoks.	0,4423
Albuminy	0,4381
Reduktaza glutationu	-0,416
Kwas moczowy	0,4044
Kortyzol	-0,3081

Tab. 3. Pomiary 11 zmiennych diagnostycznych oraz syntetycznej zmiennej Z poziomu nasilenia stresu wraz z kierunkami wpływu tych cech na poziomie nasilenia stresu dla pierwszych 10 badanych koni

LP	LFR	ALB	BIL	KWM	BC	BHP	HEM	GST	CHP	RG	KOR	Z
Kierunki wpływów	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
1	5,1591	30	2,6946	0,48	55	48,87	1,16	3,6946	127,08	112,06	2,8070	0,1189
2	4,6444	36	2,2407	0,48	55	50,73	1,01	3,9162	147,62	117,42	2,7751	0,0744
3	5,3423	33	3,7013	0,74	63	55,27	1,06	3,8369	133,72	115,51	2,8291	0,2407
4	5,4889	32	3,4436	0,71	51	65,28	1,56	3,4959	117,11	56,03	2,9113	0,2888
5	4,9345	31	3,0301	0,38	56	61,43	1,34	3,6397	129,44	63,91	2,2279	0,1589
6	4,9836	22	3,0204	0,27	49	26,88	1,41	3,6011	96,87	61,88	1,8718	0,1735
7	4,7707	32	2,8094	0,35	71	50,53	1,39	3,6273	118,82	66,01	3,1897	0,1172
8	5,1358	32	2,4596	0,41	62	31,71	1,87	3,9449	92,81	46,79	2,8920	0,2203
9	5,1475	27	3,1781	0,55	43	48,48	1,28	3,7138	119,27	68,04	2,5408	0,1503
10	5,0999	34	2,8507	0,44	59	58,57	1,47	3,5181	121,64	78,93	2,3036	0,2153

Dyskusja

Jednym z celów prowadzonych badań była próba określenia poziomu stresu, jaki wystąpił u badanych zwierząt. Z oczywistych względów, biorąc pod uwagę fakt, że stres jest zjawiskiem trudnym do zmierzenia, starano się ocenić całkowitą reakcję adaptacyjną organizmu zwierzęcia na działające czynniki stresowe, a objawiającą się zmianami w wartościach badanych parametrów. Od dawna wiadomo, że stres nie tylko wpływa na psychikę ludzi i zwierząt, lecz również powoduje zauważalne zmiany w fizjologii organizmu. Reakcja organizmu na stres jest uzależniona od wielu czynników, a jednymi z najważniejszych są indywidualne uwarunkowania zwierzęcia. Ta sama sytuacja może stać się źródłem bardzo silnego stresu dla jednego zwierzęcia, nie wywierając jednocześnie zauważalnego wpływu na inne. Reakcja organizmu jest też uzależniona od jego przygotowania. Znacznie silniejszą reakcję wykazują zwierzęta, których organizmy są wyczerpane brakiem snu, złym traktowaniem, niewłaściwie przeprowadzonym transportem lub też ciągłym stresem pochodzącym z innych źródeł, jak choćby łączeniem w grupy transportowe obcych sobie zwierząt. Niezaspokojenie podstawowych potrzeb lub wyczerpanie organizmu chorobą, podobnie jak wycieńczenie z powodu choroby zmniejszają odporność na stres (2, 3, 5, 8).

Metoda analizy statystycznej Krefft (12-14) pozwoliła na przeanalizowanie wszystkich cech diagnostycznych opisujących badane zwierzęta w trakcie trzech kolejnych pobrań. Uzyskana w ten sposób wielkość, stanowiąca liczbę w zakresie od 0 do 1 pozwalała na określenie stopnia zmian w fizjologii danego organizmu, będąc wykładnikiem działającego na ten organizm stresu, przy czym u każdego zwierzęcia przybierała ona inną wartość. Z uwagi na to, że omawiany parametr przybiera wartość w zakresie od 0 do 1, przy czym wartości skrajne obrazują stres maksymalny [1]

i minimalny [0], można przyjąć, że wszystkie badane zwierzęta w początkowej fazie zareagują wartościami bliższymi 0, natomiast w trakcie badania wartości te będą rosły.

W badaniach własnych założenia te zostały potwierdzone, a średnia wartość syntetycznej funkcji Z w pobraniu 1 wynosiła 0,3548 i stopniowo rosła, uzyskując wartości w pobraniu drugim i trzecim, odpowiednio, 0,5591 i 0,5940. Wyniki te, łącznie z analizą poszczególnych parametrów, pozwalają dość precyzyjnie określić poziom stresu u badanych zwierząt, co wydaje się informacją cenną w aspekcie dobrostanu przewożonych zwierząt. Według autorów, funkcja ta może mieć zastosowanie tylko do określania dynamiki rozwoju stresu u tego samego zwierzęcia lub w danej grupie zwierząt. Wydaje się mało przydatne wyrzutowe określanie poziomu stresu na podstawie jednokrotnego badania, bowiem nie obrazuje to w pełni zmian zachodzących w organizmie na skutek jego działania.

Dotychczas nie znaleziono publikacji dotyczących poziomu stresu u transportowanych koni, wykorzystujących podobne metody statystyczne, opisujące zjawiska nieobserwowalne, czyli takie, do których pomiarów nie mamy dostępu, a wiemy, że zależą od wielu czynników zagregowanych. Przykładem takiego zjawiska jest badany przez nas poziom nasilenia stresu u koni. Wszystkie istniejące publikacje odnoszą się do określania dynamiki zmian poszczególnych parametrów krwi, z uwzględnieniem standartowych metod statystycznych (3, 5, 8, 15, 17). Warto nadmienić, że metoda statystyczna Krefft ma już zastosowanie w licznych przypadkach medycyny człowieka i innych dziedzinach wymagających syntezy wyników badań cech diagnostycznych (12-14). Metodę tę wykorzystano również w aspekcie prognostycznym w przebiegu terapii chłoniaka złośliwego psów, oceniając bardzo wysoko jej przydatność w tym aspekcie

(9). Można również zauważyć, że poprzez korelowanie poszczególnych cech diagnostycznych z nasileniem stresu uzyskuje się tzw. wagi diagnostyczne poszczególnych cech, które po poddaniu analizie statystycznej stanowią cenny naukowy materiał dotyczący istotności wag cech diagnostycznych.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że syntetyczna funkcja diagnostyczna Z pozwala obiektywnie ustalić stopień nasilenia stresu w badanej grupie zwierząt i obserwować jego dynamikę.

Piśmiennictwo

1. *Fazio E., Alberghina D., Medica P., Cavaleri S., Ferlazzo A.*: Total and free iodothyronine levels before and after short and long distance road transport in Limousine calves. *Biotechnology, Agronomy Society and Environment* 2001, 5, 76-77.
2. *Fazio E., Cavaleri S., Medica P., Ferlazzo A.*: Livelli sierici medi di ACTH e cortisolo in vitelli Limousine dopo trasporto di lunga durata: influenza del temperamento e del calo ponderale. *Atti Congresso Nazionale Società Italiana Buiatria* 2000, 32, 197-201.
3. *Fazio E., Ferlazzo A.*: Evaluation of stress during transport. *Vet. Res. Commun.* 2003, 27 Suppl. 519-524.
4. *Ferlazzo A., Fazio E., Murania C., Piccione G.*: Physiological responses of stallions to transport stress. *Proc. 3rd International Congress of the International Society for Applied Ethology*. 1993a, 544-546.
5. *Friend T. H.*: Dehydration, stress, and water consumption of horses during long-distance commercial transport. *J. Anim. Sci.* 2000, 78, 2568-2580.
6. *Gavinelli A., Simonin D.*: The transport of animals in European Union: the legislation, its enforcement and future evolutions. *Vet. Res. Commun.* 2003, 27 Suppl. 529-534.
7. *Gupta S., Earley B., Crowe M. A.*: Effect of 12-hour road transportation on physiological, immunological and haematological parameters in bulls housed at different space allowances. *Vet. J.* 2007, 3, 605-616.
8. *Hartung J.*: Effect of transport on health of farm animals. *Vet. Res. Commun.* 2003, 27 Suppl. 525-527.
9. *Hildebrand W.*: Czynniki prognostyczne i skuteczność terapii postaci wieloogniskowej chłoniaka złośliwego psów. *Praca dokt. AR, Wrocław* 2005.
10. *Knowles T. G., Warris P. D., Brown S. N., Edwards J. E.*: Effects on cattle of transportation by road for up to 31 hours. *Vet. Rec.* 1999, 145, 575-582.
11. *Krawczel P. D., Friend T. H., Caldwell D. J., Archer G., Ameiss K.*: Effects of continuous versus intermittent transport on plasma constituents and antibody response of lambs. *J. Anim. Sci.* 2007, 85, 468-476.
12. *Kreffl A.*: Funkcje diagnostyczne zjawisk nieobserwowalnych. *Wyd. Politechniki Wrocławskiej, Wrocław* 1999.
13. *Kreffl A.*: Ilościowy opis zjawisk medycznych. *Podręcznik dla medyka. Fundacja dla Wojskowego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu, Wrocław* 1993.
14. *Kreffl A.*: Szacowanie funkcji prognozującej dotyczącej zjawisk nieobserwowalnych. *Prace Naukowe Prognost.* 1983, 3, 40.
15. *Seng P. M., Laporte M.*: Animal welfare: the role and perspectives of the meat and livestock sektor. *Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.* 2005, 24, 613-623.
16. *Stull C. L.*: Responses of horses to trailer design, duration, and floor area during commercial transportation to slaughter. *J. Anim. Sci.* 1999, 77, 2925-2933.
17. *Stull C. L., Rodiek A. V.*: Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J. Anim. Sci.* 2000, 78, 1458-1466.

Adres autora: dr Artur Niedźwiedz, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław; e-mail: artur.niedzwiedz@up.wroc.pl