

IZSTO

Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta

RILIEVI DIAGNOSTICI POST MORTEM NEI CETACEI SPIAGGIATI IN ITALIA



Report Anno 2016



Centro di Referenza Nazionale
per le Indagini Diagnostiche
sui Mammiferi Marini spiaggiati



www.facebook.com/izsto



www.vimeo.com/izsto



www.izsto.it

PREFAZIONE

Il Centro di Referenza Nazionale per le Indagini Diagnostiche sui Mammiferi marini spiaggiati (C.Re.Di.Ma.), istituito presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLVA) costituisce il punto di riferimento nazionale per l'intervento diagnostico post mortem sui cetacei spiaggiati. Coordina la rete dei Laboratori Diagnostici degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) che eseguono gli accertamenti post mortem sui cetacei spiaggiati a livello nazionale.

La presente relazione riassume i risultati delle indagini diagnostiche eseguite dagli IIZZSS sui cetacei spiaggiati lungo le coste italiane durante l'anno 2016, fornendo un quadro generale sul loro stato di salute nei nostri mari.

INDICE

SPIAGGIAMENTI IN ITALIA

INTERVENTO DEGLI ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI	3
RISULTATI DELLE INDAGINI DIAGNOSTICHE POST MORTEM	4
Stima dell'età e sesso	5
Stato di nutrizione e contenuto dello stomaco	5
Risultati esami di laboratorio	5
Ipotesi causa morte	6
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	7
APPENDICE	8
	11

SPIAGGIAMENTI IN ITALIA

Durante il 2016 sono stati segnalati 256 cetacei spiaggiati lungo le coste italiane.

In Tabella n. 1 il dettaglio delle specie coinvolte e delle Regioni interessate.

Nella maggior parte dei casi (46,8%) le segnalazioni di spiaggiamento hanno riguardato esemplari di stenella striata; numerosi sono risultati gli esemplari di tursiope (32,4%), mentre per grampi, balenottere, capodogli, zifi e delfini comuni gli eventi di spiaggiamento sono risultati sporadici. Per 38 soggetti non è stato possibile accertare la specie di appartenenza (14,8%).

Regioni	Stenella striata	Tursiope	Capodoglio	Grampo	Zifio	Balenottera acutorostrata	Delfino comune	ND	totale
Liguria	5	0	0	0	0	0	0	3	8
Toscana	12	4	1	0	0	0	0	5	22
Lazio	9	9	1	0	0	0	0	4	23
Campania	5	0	1	1	0	0	0	2	9
Calabria	35	1	0	2	2	0	0	1	41
Puglia	13	6	0	0	0	0	0	6	25
Molise	0	4	0	0	0	0	0	3	7
Abruzzo	1	11	0	0	0	0	0	0	12
Basilicata	1		0	0	0	0	0	0	1
Marche	0	13	0	0	0	0	0	2	15
Emilia-Romagna	0	18	0	0	0	0	0	0	18
Veneto	1	4	0	0	0	0	0	0	5
Sardegna	11	12	2	2	0	0	1	1	29
Sicilia	28	1	1	0	0	1	0	10	41
TOTALE	120	83	6	5	2	1	1	38	256

Tabella n. 1: Numero animali spiaggiati, con dettaglio delle specie coinvolte e Regioni interessate (Anno 2016)

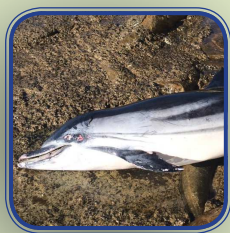
Lo stato di conservazione dei cetacei spiaggiati segnalati è riassunto nella Tabella n. 2

Regione	Codice di conservazione carcasse spiaggiate						TOTALE
	1	2	3	4	5	ND	
Liguria	0	2	1	5	0	0	8
Toscana	0	0	1	17	4	0	22
Lazio	1	2	5	9	1	5	23
Campania	0	1	1	7	0	0	9
Calabria	0	11	9	17	1	3	41
Puglia	0	3	7	13	2	0	25
Molise	0	0	1	3	0	3	7
Abruzzo	0	5	2	5	0	0	12
Basilicata	0	0	1	0	0	0	1
Marche	0	1	0	12	1	1	15
Emilia-Romagna	0	1	3	13	1	0	18
Veneto	0	0	0	1	4	0	5
Sardegna	0	10	4	11	3	1	29
Sicilia	0	9	11	18	0	3	41
TOTALE	1	45	46	131	17	16	256

Tabella 2: Numero animali spiaggiati in base allo stato di conservazione (Anno 2016)

- | | |
|--|---|
| 1 / animale vivo | 4 / carcassa in avanzata decomposizione |
| 2 / carcassa fresca | 5 / carcassa mummificata o resti dello scheletro |
| 3 / carcassa in moderata decomposizione | ND / non determinato |

INTERVENTO DEGLI ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI



Gli IIZZSS territorialmente competenti sono intervenuti complessivamente su un totale di 100 soggetti su 256 spiaggiati (39%), come dettagliato in Tabella n. 3 e Mappa n.1



Mappa 1: distribuzione geografica degli spiaggiamenti su cui sono intervenuti gli IIZZSS.

Legenda - Blu: stenella; Verde: tursiope; Giallo:capodoglio; Rosso: grampo; Viola: delfino comune



28 carcasse (28%) risultavano in stato di decomposizione già avanzata, ovvero non idonee all'esecuzione di indagini diagnostiche esaustive.



67 carcasse (67%) sono state classificate con codice di conservazione 2 e 3 e quindi idonee all'esecuzione di indagini diagnostiche esaustive.

Gli IIZZSS sono intervenuti su 5 carcasse in codice di conservazione 5 (resti di scheletro/ mummificazione).

Le carcasse su cui NON sono intervenuti gli IIZZSS risultavano nella maggior parte dei casi in stato di avanzata decomposizione (115 animali; 73,7%) e quindi non idonee per l'effettuazione di indagini esaustive per la determinazione di causa di morte.

Venticinque esemplari (15,9%), freschi o in moderata decomposizione (cod. 2 e 3) e quindi idonei all'esecuzione di indagini diagnostiche esaustive, non sono stati esaminati. Non è noto lo stato di conservazione di ulteriori 16 animali (10,2%), su cui gli IIZZSS non sono intervenuti.

IZS	STATO CONSERVAZIONE CARCASSE INTERVENTO IIZZSS						TOTALE	n. SPIAGGIATI (% intervento)
	1	2	3	4	5			
IZS PLVA	0	2	1	0	0	3	8 (37,5%)	
IZSLT (Toscana)	0	0	0	1	0	1	23 (4%)	
IZSLT (Lazio)	0	2	4	4	1	11	22 (50%)	
IZSME (Campania)	0	1	1	2	0	4	9 (44,4%)	
IZSME (Calabria)	0	6	4	1	0	11	41 (26,8%)	
IZSPB	0	2	3	1	0	6	26 (23,1%)	
IZSAM	0	4	2	4	0	10	19 (52,6%)	
IZSUM	0	1	0	0	0	1	15 (6,6%)	
IZSLER	0	1	3	3	0	7	18 (38,8%)	
IZSVE*	0	0	0	1	3	4	5 (80%)	
IZSSA	0	7	4	5	1	17	29 (58,6%)	
IZSSI	0	8	11	6	0	25	41 (61%)	
TOTALE	0	34	33	28	5	100	256	

Tabella 3: Numero degli animali sottoposti ad indagini post-mortem da parte degli IIZZSS, in base allo stato di conservazione delle carcasse (Anno 2016). *IZSVE: le indagini diagnostiche sono state effettuate in collaborazione con l'Università degli Studi di Padova – CERT

1 / animale vivo 2 / carcassa fresca 3 / carcassa in moderata decomposizione
4 / carcassa in avanzata decomposizione 5 / carcassa mummificata o resti dello scheletro

RISULTATI DELLE INDAGINI DIAGNOSTICHE POST MORTEM

In Tabella n.4 sono riassunti i casi esaminati, correlati alla formulazione di ipotesi di causa morte, distinti per ciascun IZS. La Tabella in appendice riassume i principali rilievi patologici riscontrati nei singoli casi.

IZS	N° carcasse esaminate	Ipotesi causa morte	
		(confermata/ sospetta)	Non determinata
IZS PLVA	3	3	0
IZSLT (Toscana)	1	0	1
IZSLT (Lazio)	11	7	4
IZSME (Campania)	4	0	4
IZSME (Calabria)	11	9	2
IZSPB	6	5	1
IZSAM	10	9	1
IZSUM	1	0	1
IZSLER	7	5	2
IZSVE	4	0	4
IZSSA	17	12	5
IZSSI	25	15	10
TOTALE	100	65	35

Tabella n. 4: Carcasse esaminate dagli IZZSS e definizione di causa di morte

Stima dell'età e sesso

È stata stimata l'età di 86 soggetti (86% degli esaminati).

La maggior parte è stato classificato come giovane o neonato (56 animali; 65,1% degli esaminati), soprattutto stenelle.

È stato valutato il sesso in 81 animali: 51 erano maschi e 30 erano femmine.

Stato di nutrizione e contenuto dello stomaco

È stato valutato lo stato di nutrizione in 81 soggetti (81%).

La maggior parte dei soggetti esaminati presentava uno stato di nutrizione moderato (31 animali; 39,5 % degli esaminati) o ridotto (31 animali; 38,3 % degli esaminati).

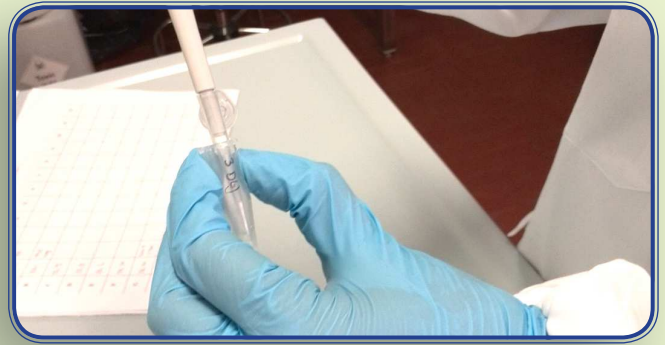
In 18 casi (22,2 % degli esaminati) lo stato di nutrizione era nella norma.

Durante gli interventi è stato possibile esaminare lo stomaco in 82 soggetti (82%). Nella maggior parte dei casi esaminati (68 animali; 82,9% degli esaminati) le concamerazioni gastriche erano vuote o presentavano scarso contenuto. In 5 soggetti è stata registrata la presenza di corpi estranei ostruttivi costituiti da reti da pesca, materiale oleoso o plastica.

È stato possibile osservare gastrite in 26 soggetti, spesso in presenza di ulcere e noduli parassitari da *Pholeter gastrophilus*.

Risultati esami di laboratorio

Sui cetacei spiaggiati è stato possibile eseguire esami virologici, microbiologici, parassitologici, istologici e sierologici per la ricerca dei principali patogeni conosciuti nei mammiferi marini.



LE INDAGINI VIROLOGICHE sono state eseguite in 70 soggetti (70% degli esaminati), e hanno permesso di rilevare:

Dolphin Morbillivirus (DMV) in 30 soggetti, su 70 esaminati (42,8 %).

In 11 soggetti (36,6%) sono state osservate negli organi target delle lesioni istopatologiche ascrivibili a infezione morbillivirale, quali broncopolmonite interstiziale, deplezione linfoide ed encefalite non suppurativa.

Sei esemplari presentavano co-infezione con altri agenti infettivi, quali *Herpesvirus*, *Photobacterium damsela*, *Poxvirus* e *Toxoplasma gondii*. Quattro animali presentavano inoltre segni di interazione con l'attività umana.

Herpesvirus (HV) in 4 soggetti, su 39 esaminati (10,2%).

Tre stenelle, rinvenute in Lazio e Liguria, presentavano concomitante infezione morbillivirale. Una stenella nel Mar Ligure presentava una co-infezione con *Aspergillus fumigatus*. In quest'ultimo caso gli approfondimenti diagnostici hanno permesso di identificare alpha-HV.

Poxvirus in una stenella spiaggiata in Lazio nel mese di gennaio, in presenza di tatroo lesion di piccole dimensioni in prossimità della bocca.

LE INDAGINI MICROBIOLOGICHE sono state eseguite su 69 soggetti (69%), ed hanno permesso di rilevare:

Leptospira pomona dal parenchima renale di un tursiope spiaggiatosi in Sardegna nel mese di giugno.

Photobacterium damsela in 20 esemplari, talvolta in presenza di altri agenti infettivi quali DMV, HV, *Toxoplasma gondii*. Non è stata identificata *Brucella spp.* in nessun soggetto esaminato.

LE INDAGINI PARASSITOLOGICHE con metodiche biomolecolari per l'identificazione di *Toxoplasma gondii* sono state eseguite in 58 soggetti (58% degli esaminati).

Il protozoo è stato rilevato in 5 esemplari, di cui soltanto uno, spiaggiato in Liguria a inizio anno, presentava lesioni neuropatologiche tipiche.

Infestazioni parassitarie sono state evidenziate in 50 animali (50 % degli esaminati), prevalentemente a livello di apparato respiratorio, gastro-enterico e sottocutaneo-muscolare, sia all'esame macroscopico sia istopatologico.

In 4 soggetti l'infestazione è stata considerata come causa di spiaggiamento degli animali che presentavano rispettivamente:

- un grave quadro di bronco-polmonite ostruttiva da nematodi polmonari (2 tursiopi in Abruzzo e Molise);
- un grave quadro di epatite parassitaria da trematodi (1 stenella striata in Liguria);
- una grave infestazione da Crassicauda con coinvolgimento del SNC e dei seni pterigoidei e nasali (encefalite e sinusite) (1 grampo in Calabria).

Ipotesi causa morte

È stato possibile avanzare un'ipotesi di causa morte in circa la metà dei soggetti esaminati (24/38) (63,1% degli esaminati).

Le cause di morte sono state categorizzate, seguendo lo schema riportato in letteratura (Arbelo et al. 2013), in:

- cause di origine antropogenica (sub-classificate per origine in interazione con la pesca-collisione con natanti)
- cause di origine infettiva (sub-classificate per origine virale-batterica-parassitaria-micotica)
- altre cause (comprehensive di disordini metabolici, degenerativi etc.)
- ND (non determinabile)

In 36 casi è stata accertata l'origine infettiva, come di seguito dettagliato :

- n° 29 casi – origine virale (*Morbillivirus* e/o *Herpesvirus* e/o *Poxvirus*);
- n° 1 caso – origine virale e micotica (*Aspergillus fumigatus* e *Herpesvirus*)
- n° 1 caso – origine virale e parassitaria (*Morbillivirus* e *Toxoplasma gondii*)
- n° 3 casi – origine parassitaria (1: trematodi e *Toxoplasma gondii*; 1: nematodi polmonari; 1: *Crassicauda*);
- n° 1 caso – origine parassitaria e batterica (nematodi polmonari e lesioni riferibili a eziologia batterica di origine sconosciuta)
- n° 1 caso – origine batterica (lesioni riferibili a eziologia batterica di origine sconosciuta)

In 23 casi è stata avanzata l'ipotesi di causa di origine antropogenica, di cui 12 certa e 11 sospetta. Tale circostanza, per la metà dei soggetti, è risultata legata all'impossibilità di ottenere risultati diagnostici esaustivi e significativi per cattiva conservazione delle carcasse, che avrebbero potuto evidenziare eventuali condizioni patologiche preesistenti.

In 6 casi è stata attribuita l'origine dello spiaggiamento ad altre cause, tra cui patologie perinatali, congenite o disturbi metabolici.

In 35 casi (35% degli esaminati) non è stato possibile determinare l'ipotesi di causa morte per indisponibilità di dati diagnostici completi o per il cattivo stato di conservazione della carcassa.



Discussione e conclusioni

Durante il 2016, 256 cetacei si sono spiaggiati in Italia.

A partire dal mese di luglio, si è verificato un evento di mortalità anomala (Unusual Mortality Event- UME) lungo il tratto ionico delle Regioni Puglia, Calabria e Sicilia. Si sono registrati 57 spiaggiamenti, valore quasi 5 volte superiore rispetto a quello osservato negli anni precedenti, nel medesimo tratto di costa e periodo dell'anno.

Durante il 2016, in Italia gli IZZSS sono intervenuti per effettuare indagini *post mortem* su 100 soggetti (39%), di cui 62 a partire da luglio in relazione all'UME verificatosi lungo le coste di Calabria, Sicilia, Puglia-Basilicata.

In generale è stato possibile avanzare un'ipotesi di causa morte in oltre metà dei soggetti esaminati (65%).



L'**origine infettiva**, riscontrata in 36 esemplari, ha confermato la persistente circolazione di agenti virali (*Morbillivirus*, *Herpesvirus*) e protozoari (*Toxoplasma gondii*). Interessante risulta inoltre, da un punto di vista diagnostico ed epidemiologico, la presenza sporadica di altri agenti virali (*Poxvirus*), micotici (*Aspergillus fumigatus*) e batterici (*Leptospira pomona*).

Morbillivirus (DMV)

Trenta animali (29 stenelle e 1 delfino comune) sono risultati infetti da Morbillivirus, identificato tramite indagini biomolecolari, immunoistochimiche e, in alcuni casi, in presenza di lesioni microscopiche tipicamente riconducibili ad un'infezione morbillivirale e compatibili con un'infezione acuta/subacuta sistemica.

Considerato il luogo di spiaggiamento dei soggetti risultati positivi, 8 sono riferibili alla Sicilia, 6 alla Calabria, 5 alla Sardegna, 5 alla Puglia e Basilicata, 5 al Lazio e 1 alla Liguria.

Interessante risulta il riscontro di uno scarso numero di soggetti positivi nel primo semestre (4 in Lazio e 1 in Sardegna), a fronte di un cospicuo incremento dei casi a partire da luglio fino a fine anno, in relazione all'UME.

Il quadro patologico osservato in numerosi animali infetti è risultato differente da quello evidenziato negli anni precedenti, facendo supporre un'infezione sostenuta da uno stipite virale "diverso o modificato". Indagini di approfondimento (isolamento virale, filogenesi) sono in corso presso il C.Re.Di.Ma. su alcuni campioni prelevati dall'IZSSI, IZSME, IZSSA, IZSPLVA, IZSLT e IZSPB. I primi risultati ottenuti, che si riferiscono all'analisi filogenetica effettuata su regioni parziali dei geni N, P e F dei DMV identificati in due animali siciliani, un pugliese e un ligure hanno evidenziato la presenza di un ceppo virale di nuova introduzione nel Mediterraneo, che forma un unico cluster con sequenze identificate in animali spiaggiati in anni precedenti in Galizia e Portogallo (Bento et al. 2016).

L'ultimo evento di mortalità anomala associato ad un'infezione da DMV verificatosi in Italia risale al 2013, registrato lungo le coste tirreniche nei primi 3 mesi dell'anno, in cui, anche in questo caso erano coinvolte numerose stenelle. Le caratteristiche osservate nel corso di quell'evento erano però diverse: gli animali infetti non presentavano infatti lesioni microscopiche caratteristiche, ma per lo più segni associati all'immunodepressione indotta dal virus e infezioni secondarie. Lo stipite in causa inoltre risultava molto simile a quello circolante nelle acque del Mediterraneo durante le epidemie precedenti.

Herpesvirus (HV)

È stato identificato tramite PCR in 4 animali.

È un agente infettivo ampiamente descritto in letteratura, ma poco è stato riferito riguardo alla sua distribuzione e al ruolo patogenetico nei cetacei (Bellière et al. 2010).

Tre stenelle spiaggiate in Lazio e Liguria sono risultate positive sia a DMV sia a HV (gamma-HV), confermando la documentata simultanea presenza in letteratura dei due patogeni. Sembra che questa co-infezione si verifichi frequentemente tra le stenelle del Mediterraneo: gli animali coinvolti presentano generalmente lesioni correlate a DMV, ma non a HV. Questi dati suggeriscono che *Herpesvirus* non rivesta un ruolo primario come causa di mortalità negli spiaggiamenti (Bellière et al. 2010).

In una stenella spiaggata in Liguria è stata segnalata per la prima volta lungo le coste italiane un'infezione causata da α -HV. Lo stesso soggetto presentava anche una grave tracheobronchite micotica ostruttiva sostenuta da *Aspergillus fumigatus*; questo micete viene considerato per lo più un agente di insorgenza secondaria, capace quindi di svolgere un ruolo patogeno in presenza di fattori immunodeprimenti, quali ad esempio infezioni virali o batteriche (Domingo et al. 1992).

Toxoplasma gondii

Cinque animali sono stati riscontrati positivi in PCR.

Il protozoo, riconosciuto ormai come patogeno primario nelle stenelle striate (Di Guardo et al. 2010), è stato considerato causa di morte solo in una stenella spiaggata in Liguria che presentava istologicamente una grave meningoencefalite granulomatosa con presenza di cisti protozoarie e la cui infezione è stata confermata anche tramite metodica immunohistochimica (IHC).

Photobacterium damsela sub. damsela

È stato rilevato in 20 soggetti, tramite esame colturale e/o biomolecolare, talvolta in co-infezione con altri agenti.

Nonostante sia riconosciuto altamente patogeno negli animali da laboratorio (Rivas et al. 2013), poco si conosce ancora riguardo ad un suo potenziale ruolo patogenetico nei mammiferi marini (Casalone et al. 2014).

Molto interessante, da un punto di vista epidemiologico, risulta la segnalazione di una positività per *Leptospira pomona*, evidenziata in un tursiope deceduto a seguito di interazione con la pesca, con tecniche diagnostiche non applicate in routine a livello nazionale. In letteratura è noto un unico altro caso di isolamento in un cetaceo, relativo ad un cucciolo di balena franca australe (*Eubalena australis*) spiaggato in Argentina (Loffler et al. 2015).

Degna di nota appare l'elevata percentuale di eventi di spiaggamento legati ad **interazione con l'attività umana**, in particolare lungo le coste adriatiche (Emilia Romagna-Abruzzo-Molise) e lungo i litorali di Calabria, Sicilia e Sardegna. La causa di morte di 23 animali è stata attribuita ad un'origine antropogenica: 19 casi per interazione con le attività della pesca e 4 per collisione con natanti. In 6 soggetti sono stati osservati inoltre segni di interazione con l'attività umana, ma vista la concomitante presenza di una patologia infettiva, la causa antropogenica è stata considerata secondaria.

Infine, la causa morte è rimasta **non determinata** nel 35% dei casi.

Tale riscontro potrebbe essere migliorato nel tempo se si riuscirà ad intervenire su carcasse in buono stato di conservazione e a seguire un approccio diagnostico più completo, garantendo inoltre l'inoltro regolare e dettagliato di tutte le informazioni reperibili, sia necroscopiche sia diagnostiche.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta

Via Bologna, 148

10154 Torino

www.izsto.it



C.Re.Di.Ma.

Centro di Referenza Nazionale per le Indagini Diagnostiche sui Mammiferi marini spiaggiati

E mail: credima@izsto.it

Tel: 011 2686296

Hanno partecipato alla realizzazione del report:

IZS Lazio e Toscana (IZSLT),

IZS del Mezzogiorno (IZSME),

IZS Puglia e Basilicata (IZSPB),

IZS Abruzzo e Molise (IZSAM),

IZS Umbria e Marche (IZSUM),

IZS Lombardia e Emilia Romagna (IZSLER),

IZS delle Venezie (IZSVE),

IZS della Sicilia (IZSSI),

IZS della Sardegna (IZSSA)

APPENDICE