



SPIAGGIAMENTI

# Intervista al Prof. Giovanni Di Guardo

*Durante il primo trimestre del 2013 i numerosi spiaggiamenti, lungo le coste di diverse regioni tirreniche, hanno reso necessaria l'attivazione della rete di sorveglianza che vede il contributo operativo in sinergia tra i Ministeri della Salute e dell'Ambiente oltre all'impegno dei Servizi veterinari, delle Università e degli Istituti zooprofilattici sperimentali. Abbiamo approfondito l'argomento con il professor Giovanni Di Guardo docente di Patologia veterinaria presso l'Università di Teramo.*

**Prof. Di Guardo, recentemente sono stati segnalati numerosi animali vittime di spiaggiamenti in particolare sulle coste tirreniche e in un periodo relativamente concentrato: si può avanzare qualche ipotesi al riguardo?**

In effetti lungo le coste tirreniche nel trimestre da gennaio a marzo di quest'anno (tabella 1 e figure 1 e 2) si sono verificati oltre novanta spiaggiamenti di esemplari di stenella striata (*Stenella coeruleoalba*), decisamente anomali in quanto superiori per numerosità fino a otto-dieci volte rispetto ad analoghi periodi e nello stesso tratto costiero negli anni precedenti. Al 3 aprile si arriva peraltro sino a ben 125 cetacei spiaggiati se si tiene conto anche di 10 tursiopi, 3 grampi, di un globicefalo e di una balenottera comune, nonché di sedici animali in avanzato stato di autolisi post-mortale di cui non si è potuto in alcun modo accertare la specie di appartenenza. Per quanto riguarda le ipotesi, è difficile allo stato attuale formularne una "conclusiva", poiché sono in corso indagini che richiedono tempi lunghi di attesa vista la loro numerosità e complessità, cui va aggiunta la diversificazione delle specie da analizzare. Occorreranno pertanto molte settimane, se non verosimilmente alcuni mesi, per poter avere elementi sufficienti ad avanzare ipotesi conclusive riguardo alla/alle causa/cause di morte e del successivo spiaggiamento di così tanti animali. Sino a questo momento con i dati già a disposizione si hanno evidenze dirette (biomolecolari) della presenza in numerosi soggetti (in circa il 40% degli esemplari di *S. coeruleoalba* esaminati) di *Dolphin Morbillivirus* (DMV) nel cervello (foto 2) e in diversi altri tessuti (foto 3), che fanno ipotizzare un vero e proprio evento epidemico. Più di un terzo delle stenelle monitorate quindi ha mostrato la presenza di sequenze genomiche specifiche di questo virus, che va ricordato si è già reso responsabile di almeno due distinte epidemie nel bacino del Mediterraneo, la prima delle quali, occorsa tra il '90 e il '92, è risultata devastante per questa specie. Anche in uno dei dieci tursiopi (*Tursiops truncatus*), e più precisamente in un individuo spiaggiatosi sulle coste siciliane, le indagini biomolecolari svolte presso l'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (al quale il Ministero della Salute ha affidato il coordinamento dell'attività di sorve-



Foto 1. Il Prof. Giovanni di Guardo (a sinistra) e il Prof. Antonio Fernandez (a destra).

glianza sanitaria sui cetacei spiaggiati svolta dalla rete degli IZS in collaborazione con le Università di Padova, Pavia, Siena e Teramo) hanno evidenziato sequenze genomiche di questo virus. In un consistente numero di individui si è anche riscontrata, spesso concomitante con DMV, la presenza di un batterio Gram-negativo e più esattamente di *Photobacterium damsela* (subsp. *damsela*), che potrebbe avere presumibilmente svolto un ruolo opportunistico dato il forte potere immunosoppressivo di DMV. In ogni caso, considerata l'elevata frequenza di isolamenti di tale agente microbico dagli animali coinvolti negli episodi di mortalità in questione, ritengo sia opportuno studiare in maniera approfondita gli "isolati" batterici ottenuti dagli stessi, al fine di poterne caratterizzare eventuali fattori/determinanti di patogenicità, quali ad esempio la damselsina. Come già detto, il livello di decomposizione post-mortale in molti casi davvero avanzato, specie tra le stenelle rinvenute spiaggiate sulle coste toscane, starebbe a significare che questi cetacei pelagici siano deceduti in mare aperto e quindi, trasportati dalle correnti, si siano spiaggiati pa-





## argomenti

Numero 2 - Giugno 2013

recchi giorni dopo il decesso.

I dati sinora acquisiti consentono pertanto, come accennato, di ipotizzare la presenza di un'epidemia a eziologia morbillivirale, fattispecie quest'ultima supportata dal fatto che DMV circola nel Mediterraneo occidentale da almeno venti anni. Ciononostante, si resta necessariamente in attesa di ulteriori e più esaurienti dati di laboratorio.

Importante è comunque sottolineare che da tre anni a questa parte si è costituito un tavolo congiunto di lavoro tra i due Dicasteri coinvolti, il Ministero della Salute e il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, con il precipuo intento di riorganizzare la rete nazionale spiaggiamenti e, più nello specifico, quella di sorveglianza sanitaria sui cetacei spiaggiati.

### **Le ricerche che da subito si sono avviate dopo lo spiaggiamento di sette capodogli nel 2009 cosa hanno concluso su quell'episodio che, visto il rilievo mediatico, ha fatto conoscere a tanti questo fenomeno ?**

Lo spiaggiamento collettivo di sette capodogli (*Physeter macrocephalus*) - di cui tre ancora vivi - su un tratto di quasi quattro chilometri della costa garganica nel dicembre del 2009 ha senza dubbio dato un nuovo corso alla storia di questo tipo di interventi considerando anche, oltre quelle scientifiche, le implicazioni di gestione di animali di quelle dimensioni, unitamente alla logistica necessaria anche per affrontare i problemi di smaltimento delle loro spoglie. Bisogna andare indietro di ben 75 anni per avere testimonianza di un episodio simile sulle coste marchigiane e indubbiamente questo nuovo banco di prova ha dato sul campo un nuovo impulso alle ricerche e indagini su questo fenomeno. La necropsia degli animali spiaggiati durò dalle dieci alle dodici

ore per ciascuno dei tre capodogli sui quali venne effettuato un esame *post mortem* completo, senza interruzione nemmeno nelle ore notturne e anche sotto la pioggia battente vedendo l'impegno di una affiatatissima *equipe* multidisciplinare e multinazionale comprendente veterinari, biologi e naturalisti italiani, greci e spagnoli, che ha potuto fare affidamento anche sulla vasta esperienza del gruppo coordinato dal professor Fernández (foto 1) dell'Università di Las Palmas nelle Isole Canarie (vedere riquadro). Grazie a questo sforzo collettivo, dopo oltre un anno di ricerche

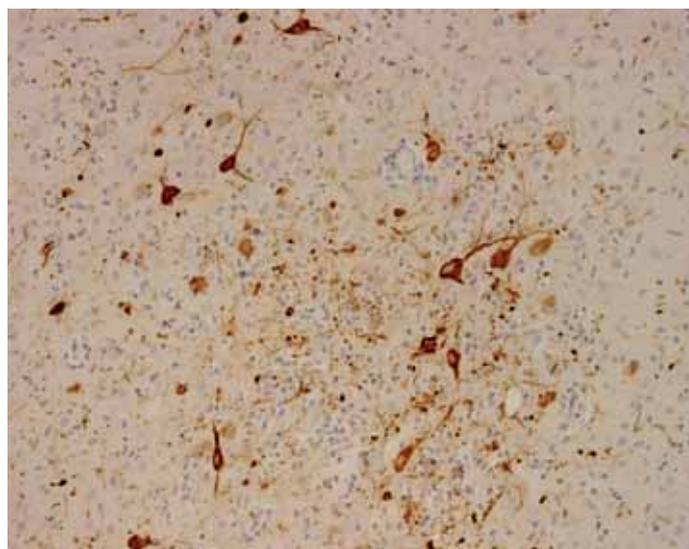


Foto 2. *Stenella striata* (*Stenella coeruleoalba*). Infezione da Dolphin Morbillivirus (DMV). Encefalo. Abbondante presenza di antigene morbillivirale all'interno dei neuroni e del circostante neuroparenchima in un giovane individuo. Immunoistochimica (IHC) per Morbillivirus. Colorazione di contrasto con ematossilina di Mayer (Ob. 20X).

**Tabella 1. Spiaggiamenti registrati in BDS dall'1-1-2013 al 16-4-2013 (fonte: Banca Dati Spiaggiamenti, Università di Pavia).**

Anno	N° Spiaggiamenti	N° Animali
Totale 2013	133	134
Basilicata	1	1
Calabria	19	20
Campania	14	14
Lazio	31	31
Marche	1	1
Molise	1	1
Puglia	2	2
Sardegna	14	14
Sicilia	21	21
Toscana	29	29
<hr/>		
Specie	N° Animali	
<i>Balaenoptera physalus</i>	1	
<i>Globicephala melas</i>	1	
<i>Grampus griseus</i>	3	
<i>Physeter macrocephalus</i>	1	
<i>Stenella coeruleoalba</i>	100	
<i>Tursiops truncatus</i>	10	
Undetermined	18	

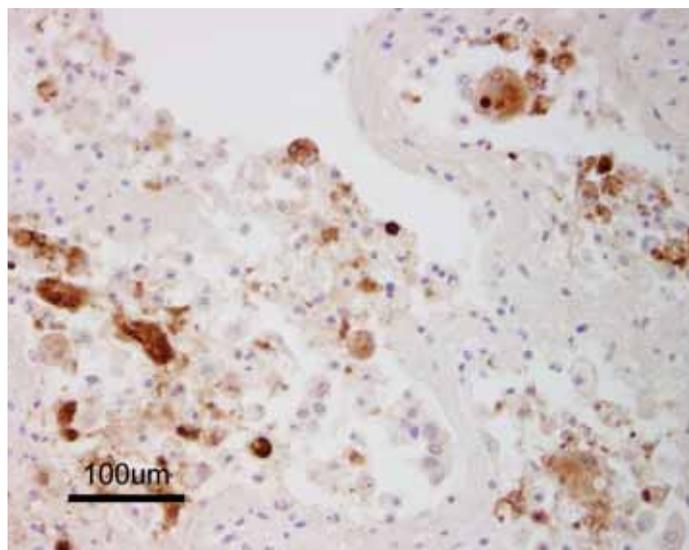


Foto 3. *Stenella striata* (*Stenella coeruleoalba*). Infezione da DMV. Polmone. Abbondante presenza di antigene morbillivirale all'interno di macrofagi e di sincizi endoalveolari in un individuo subadulto. IHC per Morbillivirus. Colorazione di contrasto con ematossilina di Mayer (Ob. 40X).



sui materiali raccolti sono stati pubblicati *on line* a maggio del 2011 da Sandro Mazzariol e collaboratori sulla prestigiosa Rivista *PLoS One* i risultati che caratterizzano questo episodio frutto di una multifattorialità causale che aveva spinto questo gruppo di capodogli subadulti ad avventurarsi in un mare dalle caratteristiche di profondità del tutto avverse ad animali padroni delle profondità marine: infatti il Mar Adriatico raggiunge la sua massima profondità, nell'area circostante la Penisola Garganica, attorno ai 120 metri, mentre per i capodogli è normale la possibilità di raggiungere abissi marini profondi anche tremila metri.

Le indagini autoptiche subito avviate hanno evidenziato per prima cosa che tutti i capodogli spiaggiati mostravano i segni di un prolungato periodo di mancata alimentazione che durava di sicuro da giorni e giorni oltre che una presenza assai significativa nei loro tessuti di sostanze organoclorurate e di metalli pesanti a cui si aggiungevano quadri di imponente deplezione linfocitaria e di lesioni neurologiche. In particolare, i tre soggetti spiaggiatisi ancora vivi presentavano elevate concentrazioni tissutali di metil-mercurio (metil-Hg) e tutti sappiamo bene come il mercurio è un metallo pesante che possiede sia caratteristiche di forte immunotossicità sia di neurotossicità. Difatti consistenti depositi di metil-Hg sono stati individuati grazie all'impiego di sofisticate tecniche istochimiche e di microanalisi a raggi x in particolare

nel fegato e nei reni. La prolungata mancata nutrizione aveva verosimilmente determinato, inoltre, la lipolisi dei grassi di deposito con l'inevitabile conseguenza di favorire col circolo ematico la diffusione nei tessuti dei contaminanti organoclorurati precedentemente accumulatisi a livello del tessuto adiposo.

Altro rilievo di notevole interesse è stato l'accertamento della presenza in due dei tre soggetti giunti moribondi di *Toxoplasma gondii*, un protozoo che riveste un chiaro ruolo opportunista e che con ogni probabilità ha potuto svolgere la sua azione patogena come sequela all'immunosoppressione instauratasi per gli anzidetti motivi.

### **Il fenomeno degli spiaggiamenti sollecita, come accennato, l'impegno multidisciplinare sia negli interventi immediati in campo che dopo nelle ricerche di laboratorio: qual è il suo punto di vista come veterinario ?**

La vicenda dei capodogli ha ampiamente dimostrato e confermato come l'approccio multidisciplinare sia stato indispensabile per raggiungere quei risultati di mirabile chiarezza e rilevanza scientifica. Anche adesso è in essere un grande lavoro di squadra tra i laboratori di analisi afferenti ai sopra citati Enti e Istituzioni pubbliche, un lavoro di squadra che è necessario per l'appunto per produrre i dati analitici, sebbene la multidisciplinarietà trovi forse la sua principale ragion d'essere nell'interpretazione dei dati generati, che spesso proprio per la loro numerosità ed eterogeneità necessitano di aggregazioni e disaggregazioni indispensabili per arrivare attraverso la loro interpretazione multidisciplinare a formulare delle ipotesi in grado di chiarire tali fenomeni. Un lavoro di squadra che deve iniziare nel momento stesso in cui è stato rinvenuto l'animale spiaggiato e che deve quindi proseguire sino alla refertazione dell'ultimo dato di laboratorio, e in tal senso devo sottolineare che l'episodio del 2009 ha sancito una nuova alleanza operativa tra i due Dicasteri dell'Ambiente e della Salute in cui si ritrovano a operare gran parte delle professionalità interessate alla gestione e comprensione del fenomeno.

Come veterinario, ma in particolare come patologo veterinario, mi sento di aggiungere che mai come in questi casi i corpi di ani-

### **Un caso di spiaggiamento atipico**

Un esempio di spiaggiamento atipico da ricordare è quello che si è verificato nel settembre del 2002 nelle Isole Canarie quando praticamente in contemporanea allo svolgimento di manovre militari navali furono rinvenuti spiaggiati ben quattordici Zifidi, cetacei odontoceti pelagici, deceduti a seguito dell'azione delle onde a media frequenza rilasciate dai sonar militari, che oltre a interferire col sistema di orientamento dei cetacei avevano indotto la comparsa di vere e proprie lesioni mai osservate prima e che, quasi certamente, ne avevano determinato il decesso. Infatti, in almeno dieci di essi fu ampiamente documentata dal professor Fernández e dal suo gruppo di lavoro quella che è stata definita "sindrome da embolia gassosa e lipidica", una condizione analoga alla "malattia da decompressione" (o "malattia dei cassoni") dei sommozzatori e che risultava appunto caratterizzata dalla presenza di numerose bolle gassose e di estese lesioni congestizio-emorragiche particolarmente evidenti in corrispondenza del grasso perimandibolare dell'apparato uditivo, con conseguente compromissione del complesso e sofisticato apparato di ecolocalizzazione di cui sono dotati questi animali, nonché del cervello e dei reni, dimostrando così il rapporto di causa-effetto con le onde a media frequenza emesse dalle apparecchiature sonar impiegate durante le esercitazioni navali. Da questa evidenza scientifica si prese spunto a livello comunitario per emanare una decisione volta a limitare sia l'uso sia le frequenze delle emissioni dei sonar durante tali esercitazioni, un provvedimento la cui efficacia risulterebbe comprovata dal mancato riscontro di ulteriori casi di malattia nella popolazione di Zifidi delle Canarie in epoca successiva all'adozione dello stesso.



Foto 4. Esemplare di grampo (*Grampus griseus*) rinvenuto spiaggiato sulle coste calabresi nel 2007.



## argomenti

Numero 2 - Giugno 2013



Figura 1. Mappa riportante gli spiaggiamenti di esemplari di stenella striata (*Stenella coeruleoalba*) lungo le coste tirreniche nel trimestre gennaio-marzo 2013 (fonte: Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare).

mali deceduti ci possono raccontare e insegnare sulla vita e sullo stato di salute dei conspecifici (ed eterospecifici) che vivono liberi nell'ambiente marino.

In realtà un cetaceo spiaggato (foto 4) è di fatto l'unico *testimonial* che possiamo interrogare e da cui possiamo acquisire tutta una serie di dati e di informazioni che diventano preziose e indispensabili per poter gestire anche la conservazione delle popolazioni che vivono in mare, con particolare riferimento alle specie maggiormente vulnerabili e minacciate soprattutto per mano dell'uomo. Al riguardo è significativo citare proprio quel motto che campeggia sui muri della Facoltà di Medicina veterinaria dell'Università di Perugia, oltre che dell'Ospedale degli Incurabili di Napoli e dell'Ospedale San Camillo di Roma, che così recita: «*Hic est locus ubi mors gaudet succurrere vitae*».

### Per ultimo cosa è possibile prevedere per il futuro ?

Per il futuro appare sempre più evidente la necessità di condurre ricerche approfondite su quello che sembra profilarsi in maniera via via più consistente come un "nuovo" *cluster* epidemico da *Morbillivirus* (DMV). Ritengo particolarmente auspicabile, in proposito, che le ricerche si concentrino sia sulla conoscenza del genoma di questo virus sia, al contempo, sullo studio dei determinanti biologici di suscettibilità/resistenza dell'ospite nei confronti dell'agente patogeno, traendo preziosi spunti da quanto è già stato documentato in corso d'infezione da virus del morbillo

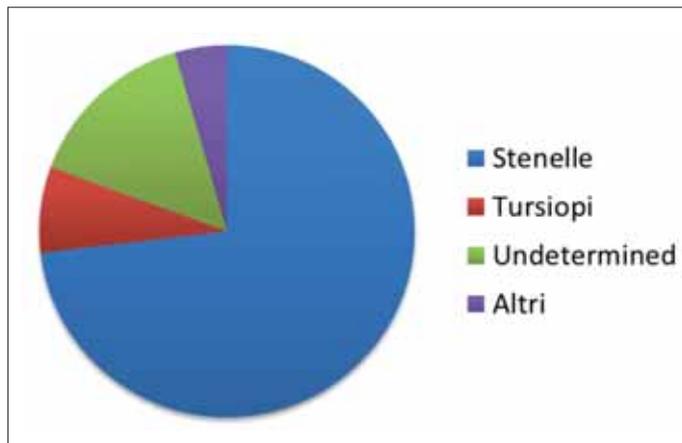


Figura 2. Distribuzione degli spiaggiamenti di cetacei lungo le coste tirreniche nel trimestre gennaio-marzo 2013 in relazione alle specie coinvolte. Come si può notare, una rilevantissima percentuale di spiaggiamenti ha interessato la specie *Stenella coeruleoalba* (fonte: Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare).

nell'uomo (*Measles Virus*, MeV) e da virus del cimurro nel cane (*Canine Distemper Virus*, CDV). Mi auguro pertanto che le complesse dinamiche d'interazione ospite-parassita (ospite-virus) vengano meglio conosciute e in questo senso è utile ricordare come proprio nel caso dell'infezione da DMV nelle stenelle striate prima i ricercatori spagnoli e subito dopo da parte nostra si sia rilevata la presenza del virus con un *pattern* caratteristico. In una serie di questi animali, infatti, l'agente virale è stato rilevato esclusivamente a livello cerebrale, con un quadro assimilabile a quello che si rileva in pazienti umani MeV-infetti con la "panencefalite subacuta sclerosante" e in cani CDV-infetti con la "encefalite del cane vecchio", facendo ipotizzare delle particolari modalità d'interazione ospite-virus che potrebbero essere a loro volta favorite da mutazioni del genoma virale, ma anche da fattori legati all'ospite che ne giustificerebbero la localizzazione e la successiva prolungata persistenza in ambito cerebrale.

Importanti in tal senso sono pure i dati recentemente pubblicati da Sandro Mazzariol e collaboratori riguardo alla presenza congiunta di DMV e di *Toxoplasma gondii* in esemplare di balenottera comune (*Balaenoptera physalus*) rinvenuto spiaggato all'inizio del 2011 lungo le coste toscane, così come quelli relativi a un inedito caso d'infezione da DMV in un esemplare di foca comune (*Phoca vitulina*) mantenuto in ambiente controllato, a testimonianza della notevole capacità di superare la "barriera di specie" posseduta da questo virus.

A fronte di quanto sopra è quantomai opportuno, tuttavia, che non venga trascurato in benché minima parte il potenziale ruolo esplicito da certi contaminanti ambientali immunotossici, che i cetacei odontoceti - "predatori apicali" - sono notoriamente in grado di accumulare e di "biomagnificare" nei loro tessuti, nel *cluster* di mortalità che da gennaio a marzo ha interessato le coste tirreniche con questo impressionante numero di spiaggiamenti di cetacei, con particolare riferimento alla popolazione di stenelle striate.

