

MAMMIFERI MARINI

# Agenti noti e presunti di zoonosi

ISABELLA PIZZIFERRI<sup>1</sup>, GIOVANNI DI GUARDO<sup>2</sup><sup>1</sup>Medico veterinario libero professionista<sup>2</sup>Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Medicina Veterinaria

**L**e zoonosi sono malattie che possono essere trasmesse dagli animali vertebrati all'uomo [286]. Quando si pensa ad animali in grado di veicolare agenti patogeni anche per l'uomo, probabilmente gli esempi più noti sono rappresentati dai roditori per la leptospirosi, i bovini per la tubercolosi, i gatti per la toxoplasmosi, le specie aviarie per il virus dell'influenza e così via. Tuttavia non si considera che le malattie sopracitate potrebbero essere trasmesse anche dai mammiferi marini: delfini, balene, foche, leoni marini, lamantini e lontre marine.

Per quanto il problema delle zoonosi trasmesse dai mammiferi marini possa sembrare lontano dalla nostra vita quotidiana, ci sono aspetti dell'eziopatogenesi, dell'epidemiologia e delle vie di trasmissione che vanno considerati e analizzati nell'ottica dell'interazione tra uomo, animali e ambiente in senso globale. Sicuramente il rischio di contrarre una zoonosi dai mammiferi marini è più alto per quelle categorie di persone che lavorano a diretto contatto con questi animali, come addestratori, biologi e medici veterinari, ma sono stati descritti casi di malattie connesse ai mammiferi marini in persone che non hanno mai riportato alcun tipo di contatto, come ad esempio la neurobrucellosi nell'uomo sostenuta da *Brucella ceti*. Altri casi sono rappresentati, ad esempio, dall'infezione sostenuta da *Influenza virus* nei pinnipedi, i quali probabilmente rivestono il ruolo di reservoir di virus aviari e umani, e dall'infezione da *Toxoplasma gondii* nelle lontre marine che condividono con l'uomo lo stesso ambiente e in parte lo stesso alimento, molluschi e crostacei. In questo contesto le lontre marine rappresentano un "animale sentinella" dell'inquinamento protozoario delle acque costiere.

## Il concetto di animale sentinella

Il concetto di animale sentinella inquadra il ruolo fondamentale che i mammiferi marini rivestono per la salute degli oceani. Gli animali sentinella sono considerati come un sistema in cui i dati su animali esposti ai contaminanti ambientali sono, regolarmente e sistematicamente, raccolti e analizzati per identificare potenziali rischi per la salute

dell'uomo o degli altri animali (The National Research Council, 1991). In quest'ottica i mammiferi marini rappresentano degli ottimi indicatori dei cambiamenti ambientali a lungo termine, in quanto molte specie sono longeve, vivono nelle aree costiere, sono al vertice della catena alimentare e possiedono una notevole quantità di grasso di deposito (*blubber*) in cui si accumulano sostanze chimiche e tossiche di origine antropogenica (Aguilar & Borrell, 1994).

Le conseguenze a lungo termine dei cambiamenti ambientali sull'ecosistema acquatico non sono perfettamente conosciute, ma probabilmente sono implicate nell'emergenza di malattie in piante e animali. D'altra parte, queste malattie emergenti possono avere un potenziale epidemico per gli animali e implicazioni zoonotiche non completamente valutate. Infatti, con l'aumento della popolazione umana e i cambi demografici globali, la demarcazione tra comunità urbane e habitat selvatico è diventata meno distinta. Questo ha aumentato la possibilità che si verifichi una diffusione di agenti patogeni tra diversi ecosistemi e specie, in quanto aumentano le possibilità di contatto e quindi di esposizione per uomo e animali.

La salute dell'oceano è legata in modo indissolubile con la salute dell'uomo su scala globale. Le connessioni esistenti tra uomo, animali e ambiente sono ormai ben conosciute, e vengono rappresentate dal paradigma "*one health, one medicine*", che deve essere considerato valido per tutte le specie animali, sia quelle che vivono nell'ambiente terrestre, urbano e selvatico, sia quelle che popolano fiumi, mari e oceani.

## I MAMMIFERI MARINI

Comunemente con il termine "mammiferi marini" si intendono balene, delfini, foche, leoni marini, lamantini e lontre marine, animali che respirano con i polmoni, ma vivono in ambiente acquatico.

I mammiferi marini condividono con i loro corrispettivi terrestri alcune caratteristiche tipiche della classe *Mammalia*,



quali ad esempio: omeotermia, sviluppo embrionale sostenuto dalla placenta (vivipari), allattamento dei neonati attraverso il latte prodotto all'interno delle ghiandole mammarie, circolazione sanguigna doppia completa e globuli rossi anucleati e presenza dei tre ossicini nell'orecchio medio (staffa, incudine e martello). Per quanto riguarda la copertura pilifera, questa risulta abbondante nelle specie che mantengono un legame con la terraferma, come i Pinnipedi, mentre è presente allo stadio embrionale nei Cetacei con un accenno di crescita, tuttavia regredisce con il procedere della gravidanza. Nei giovani Odontoceti si riscontra la presenza di pelo tattile a livello del rostro con funzione sensoriale. Nel corso dell'evoluzione i mammiferi marini si sono adattati alla vita acquatica sviluppando una forma del corpo idrodinamica, appendici adibite alla locomozione modificate in pinne e vari adattamenti per la termoregolazione e l'immersione. Si possono riconoscere tre ordini all'interno della classe Mammalia in cui rientrano i mammiferi marini: *Cetacea*; *Carnivora* - Sottordine *Pinnipedia* e Sottofamiglia *Lutrinae*; *Sirenia*.

### Quali sono le principali malattie dei mammiferi marini?

#### Le malattie batteriche

Le malattie a eziologia batterica che interessano i mammiferi marini sono numerose, tuttavia, delinearne il ruolo patogenetico (primario o secondario) in un contesto di malattia multifattoriale può risultare complicato. Molti fattori rendono difficile determinare in maniera precisa il ruolo rivestito dalle malattie batteriche nella mortalità dei mammiferi marini selvatici. Patologie batteriche debilitanti aumentano la probabilità per gli animali infetti di essere predati, il che potrebbe portare a una sottostima della mortalità dovuta a queste cause, basandosi solo sull'esame degli animali spiaggiati. D'altra parte, la colonizzazione *post mortem* degli organi di animali morti spiaggiati ad opera della microflora gastrointestinale, ambientale o cutanea potrebbe condurre a una diagnosi errata e conseguente sovrastima della mortalità associata a batteri (Howard *et al.*, 1983). Il fattore umano gioca un ruolo di primo piano nel determinare l'eziologia e la diffusione degli agenti batterici. In-

### Riquadro 1. Agenti microbici causa delle principali malattie batteriche dei mammiferi marini

- **Brucella ceti e Brucella pinnipedialis** determinano principalmente alterazioni riproduttive in cetacei e pinnipedi. L'infezione si sta diffondendo in molte popolazioni di mammiferi marini in tutto il mondo oltre a rivestire un interessante aspetto zoonotico (Van Bresse *et al.*, 2009a).
- **Erysipelothrix rhusiopathiae** sostiene un'infezione che può manifestarsi in una forma acuta setticemica o in una forma subacuta cutanea in cetacei sia in libertà sia in ambiente controllato, mentre ha meno rilevanza nei pinnipedi. Anche questo batterio è agente di zoonosi (Sweeney, 1978).
- **Leptospira interrogans serovar pomona** sostiene nei pinnipedi epidemie rilevanti con manifestazioni di insufficienza renale negli animali adulti e sindrome emorragica in feti e neonati (Gulland *et al.*, 1996). La leptospirosi è presente in tutto il mondo e interessa molte specie animali, compreso l'uomo (Smith *et al.*, 1978; Hunt *et al.*, 2008).
- **Mycobacterium marinum**, micobatterio ambientale, può causare infezioni cutanee nei cetacei, mentre si è visto che i pinnipedi possono sviluppare tubercolosi sostenuta da **M. pinnipedialis**, che a sua volta può infettare anche l'uomo (Cousins *et al.*, 1993; Dunn *et al.*, 2001).
- I batteri del genere **Mycoplasma** sono solitamente presenti come commensali sulle superfici mucosali dei mammiferi marini, ma possono determinare patologia respiratoria se in associazione con alcuni virus (Geraci *et al.*, 1982). Nell'uomo sono agenti del cosiddetto "seal finger" (Baker *et al.*, 1998).
- **Nocardia** sostiene reazioni infiammatorie acute o croniche, polmonari o extrapolmonari (cute, cervello e ossa) (Pier *et al.*, 1970). Interessano principalmente cetacei in ambiente controllato e le terapie antibiotiche spesso risultano inefficaci (Dunn *et al.*, 2001).
- **Pasteurella multocida** sostiene delle infezioni che si manifestano principalmente in una forma setticemica acuta o peracuta, ma dal punto di vista sintomatologico sono state riportate anche emorragie, enteriti e broncopolmoniti, sia in cetacei che in pinnipedi, soprattutto se detenuti in cattività (Sweeney, 1978; Dunn *et al.*, 2001).
- I batteri del genere **Vibrio** vengono frequentemente isolati come contaminanti delle ferite nei cetacei, ma sono stati riportati anche casi di morti dovute a forme setticemiche (Tangredi & Medway, 1980). La terapia antibiotica è sovente decisiva, tuttavia anche l'antibiotico-resistenza è in aumento (Greco *et al.*, 1986).

fatti, vengono riportate con maggiore frequenza alterazioni della risposta immunitaria e diminuzione delle resistenze naturali a infezioni batteriche e virali in mammiferi marini esposti ad alti livelli di sostanze antropogeniche come i composti organoalogenati (Thompson & Hall, 1993; De Guise *et al.*, 1995; Parsons & Jefferson, 2000). Inoltre, bisognerebbe considerare anche l'aspetto antroposico nella sempre più ampia diffusione degli agenti batterici: le attività umane infatti, contribuiscono ad aumentare la quantità di patogeni reperibili in ambiente acquatico soprattutto attraverso gli scarichi fognari, ma anche con rifiuti umani e animali (O'Shea & Field, 1992). *Aeromonas*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Legionella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, e *Vibrio* sono spesso rinvenuti nelle acque di estuari e oceani, sono in grado di persistere in uno stato inattivo, durante il quale risultano essere non coltivabili, ma ancora vitali [Grimes *et al.*, 1993]. Infine, l'accumulo di fitotossine algali legate all'inquinamento organico delle acque e al cambiamento climatico, svolge un ruolo centrale nello sviluppo delle malattie batteriche (Thompson & Hall, 1993; De Guise *et al.*, 1995; Parsons & Jefferson, 2000).

Riconoscere una malattia batterica nei mammiferi marini rappresenta in molti casi una sfida diagnostica, poiché

spesso questi animali non mostrano segni clinici finché le condizioni peggiorano a tal punto che l'assistenza veterinaria risulta inefficace. Ad esempio, in caso di setticemia la crisi si sviluppa così rapidamente che spesso si vedono morire animali che poche ore prima mangiavano e svolgevano attività normalmente. Bisogna anche considerare che non sempre è facile osservare e riconoscere segni clinici in animali che vivono in ambiente acquatico (Dunn *et al.*, 2001). Le infezioni batteriche più frequenti sono sostenute da patogeni Gram-negativi, i quali possono dar luogo a una condizione di endotossiemia. Sono tuttavia riportati numerosi casi di setticemia dovuti anche a infezioni sostenute da batteri Gram-positivi come *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Erysipelothrix* (Dunn *et al.*, 2001) (riquadro 1).

#### Le malattie virali

Negli ultimi decenni si è assistito a un notevole aumento dell'individuazione e caratterizzazione di virus nei mammiferi marini. Una delle ragioni alla base di ciò è attribuibile alla grande attenzione che hanno richiamato le ripetute epidemie di *Morbillivirus* emerse nei cetacei e pinnipedi delle acque di tutto il mondo (Kennedy-Stoskopf, 2001). Le segnalazioni relative a infezioni sostenute da *Morbillivirus*,

## Riquadro 2. Agenti microbici che sostengono le infezioni virali più ricorrenti e significative nei mammiferi marini

- Sono stati riportati alcuni casi di infezione da **Adenovirus** in pinnipedi con epatite acuta (Britt *et al.*, 1979; Dierauf *et al.*, 1981).
- Numerosi sierotipi di **Calicivirus** sono stati isolati da un'ampia varietà di mammiferi marini. L'infezione determina la formazione di vescicole cutanee soprattutto sulla superficie delle pinne. L'aspetto zoonotico non è stato confermato, ma la trasmissione all'uomo non è esclusa (Kennedy-Stoskopf, 2001).
- Infezioni sostenute da **Herpesvirus** sono state riportate in cetacei e pinnipedi di tutto il mondo. Si manifestano con encefalite, lesioni cutanee e sintomi respiratori (Kennedy-Stoskopf, 2001). Dopo l'infezione il virus va incontro a latenza e può successivamente essere escreto in maniera periodica durante tutta la vita dell'animale (Roizman *et al.*, 1995).
- Sono stati isolati ceppi sia di **Influenzavirus A** sia di **Influenzavirus B** da cetacei e pinnipedi in condizioni fisiche non ottimali e con sintomi respiratori, spesso in associazione con altri agenti patogeni, come ad esempio i micoplasmi (Geraci *et al.*, 1982; Hinshaw *et al.*, 1986; Osterhaus *et al.*, 2000). Sono stati riportati casi di trasmissione del virus all'uomo (Webster *et al.*, 1981).
- **Cetacean Morbillivirus** (CeMV) è endemico in numerose specie di cetacei in tutto il mondo (Van Bresseem *et al.*, 2001). In assenza di immunità di popolazione, il CeMV può causare epidemie mortali caratterizzate da polmonite, meningo-encefalite non purulenta e imponente deplezione linfocitaria (Duignan, 1999; Van Bresseem *et al.*, 2014). In diverse specie di pinnipedi è stato isolato il **Phocine Distemper Virus** (PDV), responsabile di numerose epidemie con mortalità elevata e segni clinici assimilabili a quelli provocati dal cimurro canino (Kennedy-Stoskopf, 2001; Duignan *et al.*, 2014).
- Sono state riportate lesioni da **Papillomavirus** a livello di cute, mucosa peniena, mucosa vaginale, mucosa gastrica e lingua in numerose specie sia di odontoceti, sia di mysticeti (Kennedy-Stoskopf, 2001). La frequente localizzazione a livello genitale è imputabile alla trasmissione venerea e la sua gravità può essere tale da impedire o perlomeno ostacolare la popolazione, esercitando un ruolo importante nelle dinamiche di conservazione delle popolazioni (Van Bresseem *et al.*, 1996; 1999).
- **Poxvirus** è stato associato a lesioni cutanee in numerose specie di odontoceti e pinnipedi, sia selvatici sia in cattività (Kennedy-Stoskopf, 2001). L'infezione si manifesta con lesioni circolari dette "tattoo lesions" che si possono sviluppare sulla cute di vari distretti anatomici. Solitamente le lesioni si risolvono spontaneamente, ma sono riportati casi di esemplari giovani morti con infezioni massive (Van Bresseem *et al.*, 1999). Il **Poxvirus** dei pinnipedi è in grado di determinare lesioni cutanee anche nell'uomo (Hicks & Worthy, 1987; Clark *et al.*, 2005).

*Papillomavirus* e *Poxvirus* hanno visto negli ultimi decenni un progressivo aumento, determinando così un ruolo significativo in termini di mortalità e conservazione delle popolazioni (Van Bresseem *et al.*, 2009a). Le malattie virali dal punto di vista clinico si presentano con eventi di elevata mortalità che coinvolgono un gran numero di individui ad andamento periodico, spesso in associazione ad agenti batterici, fungini e/o parassitari (Kennedy-Stoskopf, 2001) (riquadro 2).

### Le malattie micotiche

I miceti spesso vengono isolati da campioni prelevati da animali clinicamente sani, per cui non sempre è facile capire quando si rende necessario intraprendere una terapia antimicotica (Reidarson *et al.*, 2001). Infatti, alcuni miceti (riquadro 3) quali *Aspergillus fumigatus*, *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium* spp. e gli zigomiceti, sono patogeni opportunisti veri, mentre altri (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*) sono in grado di determinare l'instaurarsi di malattia in ospiti sani (Rippon, 1988). Le manifestazioni cliniche delle malattie micotiche sono spesso aspecifiche, variando da forme croniche ad acute fulminanti, proprio come per le

malattie batteriche o virali. Vari farmaci antimicotici vengono utilizzati nel trattamento delle infezioni fungine nei mammiferi marini. Fluconazolo, itraconazolo, ketoconazolo, amfotericina B microincapsulata, nistatina e flucitosina sono stati somministrati con risultati variabili (Reidarson *et al.*, 2001).

### Le malattie parassitarie

I parassiti sono riconosciuti come una delle cause maggiori di patologia nei mammiferi marini da quando veterinari e ricercatori hanno iniziato a studiare questi animali (Dailey, 2001). Tra questi, i **protozoi ciliati** sono stati identificati come opportunisti in varie sedi, come i fanoni dei mysticeti (esempio: *Haematophagus megapterae*) o lo sfiatatoio degli odontoceti (esempio: *Kyaroikeus cetarius*), ma non sono considerati patogeni (Woodcock & Lodge, 1921; Sniezek *et al.*, 1995). I **protozoi del phylum Apicomplexa**, come *Sarcocystis* spp. e *Toxoplasma gondii*, sono stati rinvenuti in una gran varietà di mammiferi marini e in corrispondenza di diversi tessuti. Quando risiedono all'interno del tessuto muscolare sembrano avere nessun o pochi effetti sull'ospite, mentre all'interno del sistema nervoso possono determinare gravi encefaliti (Dailey, 1985; Di Guardo *et al.*, 2010; 2011).

### Riquadro 3. Gli agenti micotici isolati più frequentemente nei mammiferi marini

- ***Aspergillus fumigatus*** sostiene l'aspergillosi polmonare che è l'infezione micotica più frequente nei mammiferi marini, soprattutto in concomitanza con agenti immunosoppressivi come *Morbillivirus* (Migaki & Jones, 1983; Reidarson *et al.*, 1998).
- ***Blastomyces dermatitidis*** causa blastomicosi che è stata riportata in cetacei e pinnipedi in cattività. Le lesioni si sviluppano primariamente in sede polmonare e successivamente si diffondono ad altri organi, come cute, linfonodi, fegato, milza e reni (Sweeney *et al.*, 1976; Williamson *et al.*, 1959).
- Le infezioni sostenute da ***Candida spp.*** sono comuni in cetacei e pinnipedi in cattività in seguito a uso prolungato di antibiotici e cortisonici e/o a eccessivi trattamenti per depurare l'acqua (Sweeney *et al.*, 1976; Reidarson *et al.*, 2001).
- ***Coccidioides immitis*** è causa di coccidiomicosi che è stata riportata in cetacei, pinnipedi e lontre marine in concomitanza a lesioni granulomatose disseminate (Fauquier *et al.*, 1996; Reidarson *et al.*, 1998; Reidarson *et al.*, 2001).
- La criptococcosi polmonare da ***Cryptococcus neoformans*** è stata descritta in cetacei in cattività ed è probabilmente correlata alla presenza di specie aviare (Migaki & Jones, 1983). È stata riportata anche nella lontra marina (*Enhydra lutris*) (Reidarson *et al.*, 2001).
- L'infezione nei mammiferi marini ***Cryptococcus gattii*** è stata evidenziata solo di recente (Miller *et al.*, 2002).
- **Dermatofiti** sono stati isolati da lesioni cutanee in pinnipedi e sirenidi (Dilbone, 1965; Vedros *et al.*, 1982).
- La dermatite micotica sostenuta da ***Fusarium spp.*** è stata riscontrata in cetacei in cattività sottoposti a stress intensi, mentre nei pinnipedi l'infezione si sviluppa con una grave dermatite proliferativa (Migaki & Jones, 1983; Frasca *et al.*, 1996).
- ***Histoplasma capsulatum*** causa istoplasmosi che è stata riportata in cetacei e pinnipedi con noduli disseminati. Probabilmente è correlata alla presenza di specie aviare (Migaki & Jones, 1983).
- La lobomicosi da ***Lacazia loboi*** è stata descritta in delfinidi e uomini del Sud America. Si manifesta con lesioni nodulari biancastre, elevate e crostose sulla cute, probabilmente in seguito alla penetrazione e infezione di soluzioni di continuo della cute [164].
- Dermatite sostenuta da ***Malassezia pachydermatis*** è stata riportata nei leoni marini californiani (*Zalophus californianus*) (Guillot *et al.*, 1998).
- La zigomicosi, sostenuta da **zigomiceti** è stata segnalata in cetacei e pinnipedi in cattività con lesioni granulomatose disseminate in vari organi e, in alcuni casi, è stata descritta una vera e propria invasione micotica dei vasi sanguigni (intestino, cuore, polmone e muscolo scheletrico) con conseguenti fenomeni trombotici, embolici e infartuali (Migaki & Jones, 1983).

L'infezione è stata riportata in cetacei, pinnipedi, sirenidi e lontre di mare (Dailey, 2001). *Giardia spp.* è stata riportata nei pinnipedi, i quali potrebbero svolgere il ruolo di ospiti *reservoir* dell'infezione (Measures & Olson, 1999; Deng *et al.*, 2000).

I **nematodi** della famiglia *Anisakidae-Anisakis*, *Contracaecum*, *Pseudoterranova* sono i più comuni parassiti gastrointestinali di cetacei e pinnipedi. Infezioni lievi raramente causano segni clinici, ma infestazioni massive possono provocare gastriti, ulcerazioni ed enteriti. Nelle feci si possono riscontrare le uova o i vermi adulti (Dailey, 2001).

Nei pinnipedi i nematodi ematofagi del genere *Uncinaria* sono causa di mortalità nei giovani individui, mentre negli adulti causano enterite emorragica e anemia (Olsen, 1958; Keys, 1965). I nematodi che infettano l'apparato respiratorio dei cetacei appartengono alle famiglie *Pseudaliidae* e *Crassicaudidae*; possono causare dispnea, tosse, letargia e potenzialmente morte, a seconda della specie del parassita e all'intensità di infezione (Moser & Rhinehart, 1993). Nei pinnipedi parassiti delle famiglie *Filaroididea*, *Crenosomatidae* e *Filariidae* infettano l'apparato cardio-polmonare,

concorrendo nel provocare polmoniti negli animali spiaggiati. *Dirofilaria immitis* è stato riportato in pinnipedi in cattività mantenuti in aree endemiche (Laukner, 1985). I nematodi del genere *Crassicauda* sono comunemente osservati in ghiandole mammarie, reni e genitali dei cetacei; si suppone che riducano il successo riproduttivo attraverso la riduzione della produzione di latte (Geraci *et al.*, 1978). I nematodi del genere *Trichinella* sono stati descritti nelle aree circumpolari artiche nel tricheco (*Odobenus rosmarus*), nella foca barbata (*Erignathus barbatus*) e nella foca dagli anelli (*Phoca hispida*). Probabilmente l'infezione avviene tramite l'ingestione di prede infette. Questo parassita riveste una certa importanza sanitaria per le popolazioni native di quelle zone, che consumano carne di mammiferi marini (Rausch, 1970).

I **trematodi** in grado di colonizzare l'apparato digerente di cetacei e pinnipedi possono causare irritazione, ma in genere non sono considerati patogeni (Dailey, 1985).

Tre generi di trematodi (*Campyla*, *Oschmarinella* e *Zalophotrema*) sono in grado di localizzarsi a livello di dotti pancreatici ed epatici degli odontoceti, mentre *Lecithode-*



*smus* infetta i misticeti. L'infezione può determinare perdita di peso, insufficienza epatica, predisposizione a malattie batteriche nei casi cronici, o lesioni epatiche dovute alla migrazione dei vermi, con conseguente sviluppo di epatiti, e portare a morte nei casi acuti (Zam *et al.*, 1971). Nei pinnipedi, fegato e dotti biliari possono essere infettati da trematodi delle famiglie *Campulidae* e *Opistorchiidae*. Il più comune è *Zalophotrema hepaticum*, la cui prevalenza aumenta con l'età dell'animale (Dailey, 2001). I trematodi del genere *Nasitrema* sono comunemente rinvenuti nel sistema nervoso centrale di numerose specie di odontoceti e si ritiene che possano essere una delle cause più significative di spiaggiamento in presenza di sintomatologia nervosa (Dailey, 2001). Nei sirenidi i trematodi sono i parassiti predominanti, e sono esclusivi per questi animali. Alcuni si localizzano nel tratto digerente producendo lesioni nello stomaco e cisti nello spessore della mucosa, mentre altri a livello di vie aeree, polmoni e labbro superiore (Dailey *et al.*, 1988). I cestodi delle famiglie *Tetrabothriidae* e *Diphyllobothriidae* possono infettare l'apparato digerente di cetacei e pinnipedi, ma solo *Strobilocephalus triangularis* è considerato pato-

geno per i cetacei, poiché è in grado di penetrare la parete del colon e forma ulcere necrotiche (Dailey, 1985). Nei pinnipedi sono stati riportati inoltre casi di ostruzioni intestinali in animali detenuti in cattività (Laukner, 1985). Larve di cestodi come *Phyllobothrium delphini* e *Monorygma grimaldii* sono comunemente rinvenute in peritoneo, *blubber* e tessuto connettivo di cetacei e pinnipedi, non associati ad alcuna patologia.

Due generi di **acantocefali** (*Corynosoma* e *Bolbosoma*) sono stati riportati a livello di tratto gastrointestinale dei mammiferi marini. I cetacei sono ospiti primari di *Bolbosoma spp.*, mentre i pinnipedi (e solo occasionalmente i cetacei) ospitano tipicamente parassiti del genere *Corynosoma spp.* (Dailey, 1985). Entrambi causano perlopiù una lieve irritazione locale ed occasionalmente ulcere nel sito di attacco (Geraci & Aubin, 1987).

Nelle lontre marine l'infezione da acantocefali riveste un ruolo significativo nella mortalità, in quanto determina perforazioni intestinali e peritoniti (Thomas & Cole, 1996).

I cetacei sono ospiti di numerose specie di **ectorapassiti** (cirripedi, copepodi e pidocchi), soprattutto i misticeti. Si tra-

smettono tramite il contatto tra individui e non sono associati a patologia. Gli ectoparassiti comuni nei pinnipedi sono gli acari (*Demodex e Sarcoptes* spp.) e i pidocchi (*Anoplura* spp.); è interessante notare che molte infezioni sono specie-specifiche (Laukner, 1985). Nei sirenidi sono stati osservati copepodi e cirripedi, non associati ad alcuna patologia (Laukner, 1985).

Molti antielmintici in uso da lungo tempo sono utilizzati per trattare i mammiferi marini, anche se pochi di questi sono stati testati rigorosamente per determinarne l'efficacia nella rimozione dei parassiti. Alcuni determinano gravi effetti collaterali negli animali trattati, causandone anche la morte. Generalmente, il praziquantel viene utilizzato per eliminare cestodi e trematodi, il febendazolo e l'ivermectina contro i nematodi, e l'ivermectina per contrastare gli ectoparassiti.

### Malattie emergenti e zoonosi

Ad oggi sono state individuate 1.415 specie di microrganismi patogeni per gli esseri umani, classificate come virus e prioni, batteri e rickettsie, funghi, protozoi ed elminti; di queste, 868 (61%) sono agenti zoonotici (Taylor *et al.*, 2001).

Le zoonosi sono state definite dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) come malattie e infezioni naturalmente trasmesse dagli animali vertebrati all'uomo (WHO, 1959). Tra tutti i patogeni dell'uomo, 175 specie sono state associate a malattie emergenti e riemergenti, e tra queste, il 75% sono zoonosi. Bengis *et al.* (2004) definiscono malattie emergenti e riemergenti quelle malattie: individuate di recente; che stanno evolvendo; che hanno mostrato di recente un aumento di incidenza o di espansione in nuove aree geografiche o vettori; che si sono spostate da una specie ospite ad altre; che hanno aumentato impatto e gravità; che hanno subito un cambio nella patogenicità.

L'aumento negli ultimi decenni di segnalazioni relative alle manifestazioni di malattie emergenti o riemergenti (tra cui figurano numerose malattie zoonotiche), originarie dell'ambiente selvatico, è imputabile ad alcuni fattori, quali ad esempio:

- la progressiva e rapida espansione della popolazione umana e il conseguente maggior contatto con animali selvatici o il loro habitat;
- i mutamenti nell'ecosistema, imputabili a cause naturali o antropogeniche (come ad esempio i cambiamenti climatici che portano a una diversa e nuova distribuzione geografica di patogeni e vettori);
- l'aumento dello spostamento *human-assisted* di animali e/o loro prodotti derivati;
- l'ingresso di patogeni associati all'ambiente selvatico all'interno di sistemi agricoli basati sull'allevamento;

- l'allevamento intensivo di specie precedentemente selvatiche;
- l'aumento della frequenza e della velocità di viaggi locali e internazionali;
- mutamento nei patogeni stessi e/o dello spettro d'ospite (superamento delle barriere di specie);
- sviluppo di tecniche diagnostiche sempre più accurate e sensibili, con conseguente individuazione di nuovi agenti patogeni (o di agenti noti ma mai diagnosticati in determinate condizioni) (Bengis *et al.*, 2004).

Nuove zoonosi sono probabilmente emerse molte volte dall'habitat selvatico nel corso della storia, ma la maggior parte non sembra essere riuscita a diffondersi geograficamente dal focolaio iniziale: le persone infette spesso morivano o venivano ricoverate prima di entrare in contatto con una popolazione all'epoca comunque meno vasta. Al giorno d'oggi, l'aumento esponenziale in termini di quantità e velocità degli scambi a livello nazionale e internazionale ha trasformato l'epidemiologia della malattie infettive emergenti, conferendo a questi eventi un'importanza globale piuttosto che locale (Cunningham, 2005).

Secondo Bengis le zoonosi si possono considerare come appartenenti a una di queste due categorie:

- a) malattie di origine animale per le quali attualmente la trasmissione all'uomo è un evento raro, ma, qualora si verifici, il ciclo dell'infezione viene sostenuto dalla trasmissione inter-umana per un certo periodo di tempo. Alcuni recenti esempi sono rappresentati dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV), alcuni ceppi di Influenza A, il virus dell'Ebola e la sindrome respiratoria acuta grave (SARS);
- b) malattie di origine animale in cui la trasmissione diretta o mediata da vettore dagli animali all'uomo è la fonte abituale dell'infezione umana. Le popolazioni animali sono il reservoir principale del patogeno e l'infezione orizzontale tra le persone è rara. Alcuni esempi in questa categoria includono le infezioni da *Lyssavirus*, la malattia di Lyme, la peste, la tularemia, la leptospirosi, l'erlichiosi, il *Nipah virus*, il *West Nile virus* (WNV) e le infezioni da *Hantavirus*.

Ci sono numerose malattie emergenti che interessano i mammiferi marini, provocando vasta mortalità, alterazioni riproduttive e patologie cutanee; alcune di queste sono anche zoonosi (tabella 1) (Van Bresse *et al.*, 2009a). Inoltre, alcuni agenti batterici e virali stanno interessando nuovi ospiti, portando così a un aumento della morbilità e mortalità all'interno delle popolazioni di mammiferi marini sia allo stato selvatico sia detenuti in cattività (Hernandez *et al.*, 1998; Harvell *et al.*, 1999).

Il contatto tra mammiferi marini e uomo è in aumento, in virtù anche dell'aumento del numero di animali gestiti negli acquari e nelle strutture di riabilitazione e ricerca. Inoltre, con l'espansione delle comunità costiere, aumentano le opportunità di contatto con gli animali marini, e ciò comporta alcuni rischi per l'uomo, come lesioni traumatiche e trasmissione di patogeni (Waltzek *et al.*, 2012). I mammiferi marini

**Tabella 1. Malattie infettive emergenti nei mammiferi marini [da 167, 254, modificato].**

Agente patogeno	Mammiferi marini coinvolti	Ruolo zoonotico
<i>Brucella</i> spp.	Cetacei, pinnipedi, lontra di mare	Zoonosi
<i>Cetacean Morbillivirus</i>	Cetacei	Non riportato
<i>Herpesvirus</i>	Cetacei, pinnipedi, lontra di mare	Non riportato
<i>Influenzavirus</i>	Cetacei, pinnipedi	Zoonosi
<i>Lacazia loboi</i>	Cetacei	Zoonosi
<i>Papillomavirus</i>	Cetacei, sirenidi	Non riportato
<i>Phocine Distemper virus</i>	Pinnipedi, lontra di mare	Non riportato
<i>Poxvirus</i>	Cetacei, pinnipedi	Zoonosi
<i>Sarcocystis</i> spp.	Lontra di mare	Non riportato
<i>Toxoplasma gondii</i>	Cetacei, pinnipedi, sirenidi, lontra di mare	Zoonosi

**Tabella 2. Agenti noti e presunti di zoonosi nei mammiferi marini [da 16, 122, 269 modificato].**

Batteri	Virus
<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Calicivirus</i>
<i>Bisgaardia hudsonensis</i>	<i>Influenza virus</i>
<i>Brucella</i> spp.	<i>Parapoxvirus</i>
<i>Burkholderia (Pseudomonas)</i> spp.	<i>Rabbia</i>
<i>Clostridium</i> spp.	<i>West Nile virus</i>
<i>Edwardsiella</i> spp.	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	
<i>Leptospira</i> spp.	
<i>Mycobacterium</i> spp.	
<i>Mycoplasma</i> spp.	
<i>Salmonella</i> spp.	
<i>Staphylococcus</i> spp.	
<i>Streptococcus</i> spp.	
<i>Vibrio</i> spp.	
Miceti	Protozoi
<i>Ajellomyces dermatitidis</i>	<i>Cryptosporidium</i> spp.
<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Giardia</i> spp.
<i>Candida</i> spp.	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Coccidioides</i> spp.	
<i>Histoplasma</i> spp.	
<i>Lacazia loboi</i>	
	Elminti
	<i>Trichinella</i> spp.

possono essere infetti da agenti zoonotici (tabella 2) e mostrarne segni clinici, oppure esserne portatori asintomatici (Hunt *et al.*, 2008). A tal proposito un esempio di malattia zoonotica trasmessa dai mammiferi marini è il “*seal finger*”, un’infezione cutanea comunemente riportata da cacciatori di balene e foche, causata da un micoplasma situato a livello

cutaneo ed orale di mammiferi marini portatori (Baker *et al.*, 1998; Hartley & Pitcher, 2002). Segnalazioni relative a manifestazioni morbose di origine alimentare, come salmonellosi, trichinellosi e toxoplasmosi, sono state riportate nelle popolazioni native delle regioni artiche e dell’Australasia, che consumano mammiferi marini come parte della loro dieta tradizionale (Cawthorn, 1997; Tryland, 2000). La maggior parte delle zoonosi dei mammiferi marini si manifesta nell’uomo con infezioni cutanee localizzate che si risolvono spontaneamente o attraverso terapia appropriata, mentre altre, se non trattate, conducono a malattie sistemiche mortali che talvolta possono essere rischiose per la salute pubblica (Waltzek *et al.*, 2012). Ad esempio, l’infezione da *Brucella ceti* nell’uomo può manifestarsi sotto forma di neurobrucellosi, accompagnata da una grave sintomatologia nervosa (Sohn *et al.*, 2003).

I veterinari, gli addestratori, i volontari dei centri di riabilitazione sono sottoposti a un notevole rischio di contrarre zoonosi da mammiferi marini, poiché entrano maggiormente in contatto con animali malati e feriti, come anche il personale degli acquari e i ricercatori che effettuano necroscopie (Hunt *et al.*, 2008).

## AGENTI BATTERICI DI ZONOSI NEI MAMMIFERI MARINI

### *Brucella* spp.

*Brucella* è un batterio Gram-, coccobacillare, intracellulare facoltativo, patogeno per molte specie di mammiferi, tra cui mammiferi marini e uomo (Corbel & Brinley-Morgan, 1984). Fino agli anni ‘90 erano riconosciute 6 specie appartenenti al genere *Brucella*: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*; *B. canis* e *B. neotomae*. Successivamente, sono stati riportati isolamenti di ceppi sconosciuti di brucella da pin-

nipedi e cetacei da America, Europa, Giappone, Nuova Zelanda, Isole Salomone e Antartide e in tursiopi (*Tursiops truncatus*) in cattività (Ewalt *et al.*, 1994, Ross *et al.*, 1994, Ohishi *et al.*, 2003a, Duignan *et al.*, 2005, Tachibana *et al.*, 2006, Hernández-Mora *et al.*, 2008). Questi ceppi identificati nei mammiferi marini sono attualmente conosciuti come due nuove specie: *B. ceti* e *B. pinnipedialis*, che infettano rispettivamente cetacei e pinnipedi. Gli isolati appartenenti alla specie *B. ceti* sono stati ulteriormente suddivisi in tre cluster in base all'ospite preferenziale, alle caratteristiche batteriche e ai tratti genetici distintivi: *B. ceti* tipo delfino, *B. ceti* tipo focena e *B. ceti* tipo umano. Sembra che *B. ceti* tipo focena sia maggiormente correlato geneticamente agli isolati di *B. ceti* tipo umano e a *B. pinnipedialis*, mentre *B. ceti* tipo delfino sembra essere più simile alla forma ancestrale (Guzmán-Verri *et al.*, 2012).

Il primo isolamento di una specie di *Brucella* differente da quelle conosciute è avvenuto nel 1994 da un feto abortito di tursiope (Ewalt *et al.*, 1994). Da quel momento in poi, *B. ceti* è stata isolata sia da specie appartenenti al sottordine degli odontoceti sia dei mysticeti. Il batterio è stato rinvenuto tramite isolamento diretto e PCR da quattro delle quattordici famiglie di cetacei. Tuttavia, gli anticorpi verso gli antigeni di *Brucella* (soprattutto verso LPS) sono stati rilevati in membri di sette di queste famiglie, indicando che l'infezione è molto più diffusa tra i cetacei di quanto i primi dati facessero pensare. Nonostante ciò, solo una piccola parte degli animali risultati sierologicamente positivi mostra effettivamente segni clinici o patologici associati a brucellosi. Questo sembrerebbe suggerire che una quota significativa degli animali infetti sia in grado di superare l'infezione, con la possibilità di rimanere portatori e quindi potenziali escretori di *Brucella* (Guzmán-Verri *et al.*, 2012).

Per diagnosticare l'infezione da *Brucella* si possono applicare metodiche che prevedono l'identificazione diretta del batterio oppure metodiche indirette per rilevare gli anticorpi. Per effettuare l'isolamento batterico i campioni di tessuto dovrebbero essere posti in terreni di coltura selettivi, come il *Brucella*-agar supplementato con il 5% di siero equino, e incubati in atmosfera modificata con 5-10% di CO<sub>2</sub>. La maggior parte degli isolati di *B. ceti* si sviluppa dopo 4 giorni di incubazione, ma considerando che alcune colture presentano una crescita molto lenta, i campioni dovrebbero essere incubati per almeno 14 giorni. Le colonie si presentano tipicamente con un aspetto liscio (*smooth*), ma alcune colture possono presentare un fenotipo rugoso (*rough*) (Foster *et al.*, 2011a). La tipizzazione definitiva dell'isolato viene effettuata attraverso tecniche biomolecolari come la PCR. Un'altra metodica consiste nell'individuazione degli antigeni di *Brucella* in organi e tessuti tramite l'immunofluorescenza indiretta (IFI) e l'immunoperossidasi (I-HRP). Le metodiche indirette prevedono l'individuazione degli anticorpi verso il batterio presenti all'interno del siero. Sebbene le tecniche sierologiche

non siano specifiche per l'infezione da *B. ceti*, esse risultano particolarmente utili ai fini degli studi epidemiologici. I test più utilizzati sono l'ELISA competitivo (cELISA), l'ELISA indiretto con proteina G (gELISA) e il test di agglutinazione (Guzmán-Verri *et al.*, 2012).

Sebbene la brucellosi nei mammiferi marini dovrebbe essere tenuta in grande considerazione in virtù del grande impatto che riveste per la conservazione di queste specie, a causa delle migrazioni anche piuttosto lunghe dei cetacei, questa infezione non è presa in esame nei programmi di controllo nazionale e non esistono stime complete derivanti da sorveglianza epidemiologica e controllo. Sarebbe auspicabile l'istituzione di un piano di sorveglianza a carico delle specie di delfini e balene che occupano acque neritiche. In queste zone, le attività umane quali ad esempio caccia e pesca eccessive, come anche la contaminazione con microrganismi e inquinanti, sono più intense, aumentando la probabilità di impattare sulle popolazioni di cetacei, facilitando la diffusione della brucellosi. Infatti, pratiche come quelle sopracitate compromettono le fonti di cibo di cui sono soliti nutrirsi i Cetacei. Queste attività inoltre possono favorire il raggruppamento di specie differenti in aree ristrette dove c'è maggiore disponibilità di cibo, aumentando esponenzialmente la competizione che porta per alcuni animali a uno stato di denutrizione, con conseguente aumento della suscettibilità a questa come ad altre infezioni e favorendo così la trasmissione della brucellosi tra cetacei della stessa specie o di specie differenti (Guzmán-Verri *et al.*, 2012).

In Italia, i primi isolamenti di *B. ceti* sono stati effettuati di recente in stenelle striate (*Stenella coeruleoalba*) spiaggiate (Alba *et al.*, 2013; Garofolo *et al.*, 2014). Inoltre, data la crescente attenzione che questa infezione sta richiamando, è stata svolta un'indagine epidemiologica sugli animali spiaggiati nell'ambito del progetto "Le sentinelle del mare" finanziato dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. La ricerca degli anticorpi è stata effettuata tramite l'uso di un antigene eterologo (*B. melitensis*) e i dato emersi non hanno evidenziato positività sierologiche nei confronti di *B. ceti* (Profeta, 2013, comunicazioni personali).

#### Segni clinici nei mammiferi marini

La via di trasmissione preferenziale di *B. ceti* è lo stretto contatto diretto tra gli ospiti, come via venerea e allattamento. Infatti il batterio è stato isolato dal sistema riproduttivo di cetacei infetti e dal latte (Hernández-Mora *et al.*, 2008; Maquart *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010). Una seconda via è la trasmissione verticale dalla madre al feto, che non è possibile escludere considerando che sono stati rinvenuti feti e placenti di animali infetti contenenti grandi quantità di *Brucella* (Hernández-Mora *et al.*, 2008; Maquart *et al.*, 2009a; González-Barrientos *et al.*, 2010). Un'altra possibile via di trasmissione potrebbe essere attraverso il contatto



ravvicinato con feti infetti abortiti e tessuti placentari: sono numerose infatti le specie di cetacei osservate mentre assistono attivamente alla nascita di giovani individui ed essere quindi in stretto contatto con neonati ed eventuali residui della placenta. Esiste inoltre l'ipotesi che l'infezione possa avvenire attraverso l'ingestione di pesci o nematodi infetti con *Brucella* (Dawson *et al.*, 2008).

In molti casi, *Brucella* è stata isolata da animali spiaggiati in condizioni di salute precarie o già morti (Davison *et al.*, 2011). Perciò, è difficile individuare con precisione quali sono le caratteristiche primariamente legate alla brucellosi e determinare i segni clinici e patologici relativi all'infezione da *Brucella* (González-Barrientos *et al.*, 2010).

*Brucella* determina alterazioni patologiche a livello di apparato riproduttore di cetacei sia maschi sia femmine (Van Bresse *et al.*, 2009a). Ohishi *et al.* (2003a, 2004, 2008) hanno descritto i primi casi di epididimite e orchite associati a *Brucella* nei cetacei. Nelle femmine sono stati documentati casi di aborto e placentite dovuti all'infezione da *Brucella*; inoltre il batterio è stato isolato dalle placente e da numerosi tessuti dei feti abortiti. Infine è stato isolato anche dalle

ghiandole mammarie di capodogli e delfini, suggerendo la localizzazione all'interno dei macrofagi in questi organi (Foster *et al.*, 2002; González-Barrientos *et al.*, 2010).

Nei cetacei, la localizzazione del batterio a livello di sistema nervoso centrale è associata a disorientamento e, di conseguenza, spiaggiamenti (González *et al.*, 2002; Hernández-Mora *et al.*, 2008; Davison *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010).

La maggior parte delle brucelle identificate come *B. ceti* sono state isolate dal cervello e dal liquido cerebrospinale di focene (*Phocoena phocoena*), lagenorinchi rostro bianco (*Lagenorhynchus albirostris*), lagenorinchi acuti (*Lagenorhynchus acutus*) e, soprattutto, stenelle striate (*Stenella coeruleoalba*) spiaggiate (Foster *et al.*, 2002; González *et al.*, 2002; Jepson, 2005; Muñoz *et al.*, 2006; Dagleish *et al.*, 2007, 2008; Hernández-Mora *et al.*, 2008; Davison *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010; Jauniaux *et al.*, 2010; Alba *et al.*, 2013; Garofolo *et al.*, 2014). Tra i segni clinici più rilevanti sono stati osservati opistotono, tremori, convulsioni, disorientamento e una incapacità generale a mantenere il galleggiamento.

*Brucella ceti* è stata isolata anche da sangue, fluidi pericardici e lesioni cardiache in alcune specie di Cetacei (Maquart *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010; Davison *et al.*, 2011).

Ci sono inoltre numerose segnalazioni di *B. ceti* isolata da lesioni ossee e articolari dei cetacei (Foster *et al.*, 2002; Dagleish *et al.*, 2007; Galatius *et al.*, 2009; Maquart *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010).

*Brucella* è stata isolata dai polmoni di varie specie di cetacei; ad ogni modo, non è stato stabilito un legame chiaro tra l'invasione del batterio e lo sviluppo di patologia in questi distretti (Tryland *et al.*, 1999; Foster *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2006; Dagleish *et al.*, 2008; Prenger-Berninghoff *et al.*, 2008; Davison *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010; Jauniaux *et al.*, 2010). Infatti, *Brucella* è stata isolata da polmoni clinicamente sani di cetacei con brucellosi (Foster *et al.*, 2002). In numerosi casi di neurobrucellosi in delfini vivi, i polmoni non mostravano patologia associata (González-Barrientos *et al.*, 2010). Una spiegazione a questo fenomeno può essere legata alla presenza/assenza di parassiti polmonari. Frequentemente infatti, l'infiammazione polmonare sembra essere associata alla presenza di nematodi che parassitano i polmoni di questi cetacei e dai quali è stata isolata *Brucella* (Perrett *et al.*, 2004; Dawson *et al.*, 2008; Jauniaux *et al.*, 2010; Davison *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011).

*Brucella* è stata isolata dai tessuti del sistema reticoloendoteliale quali linfonodi, milza, fegato, come anche da sangue, liquido peritoneale, reni, ulcere cutanee e ascessi sottocutanei dei cetacei (Foster *et al.*, 1996, 2002; Clavareau *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 2006; González-Barrientos *et al.*, 2010; Jauniaux *et al.*, 2010).

Per quanto riguarda i pinnipedi, *Brucella* è stata isolata da numerose specie di focidi: foca comune (*Phoca vitulina*), foca dal cappuccio (*Cystophora cristata*), foca grigia (*Halichoerus grypus*), la foca dagli anelli (*Phoca hispida*), foca della Groenlandia (*Pagophilus groenlandicus*). Inoltre, esistono evidenze sierologiche di esposizione al batterio nel tricheco (*Odobenus rosmarus*), nell'otaria orsina antartica (*Arctocephalus gazella*), nelle foche dal cappuccio, dagli anelli, della Groenlandia e di Weddell (*Leptonychotes weddellii*) (Foster *et al.*, 1996; Nielsen *et al.*, 1996; Ross *et al.*, 1996; Garner *et al.*, 1997; Jahans *et al.*, 1997; Jepson *et al.*, 1997; Forbes *et al.*, 2000; Nymo *et al.*, 2011).

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Nei cetacei con infezione da *Brucella* localizzata a livello di apparato riproduttore sono stati rinvenuti noduli granulomatosi nell'endometrio uterino (Ohishi *et al.*, 2003a), placentiti necrotizzanti, iperemia dei vasi sanguigni, necrosi del trofoblasto con perdita di mucosa placentare, intensi infiltrati infiammatori di neutrofili e moderata infiltrazione di macrofagi e linfociti, edema moderato della

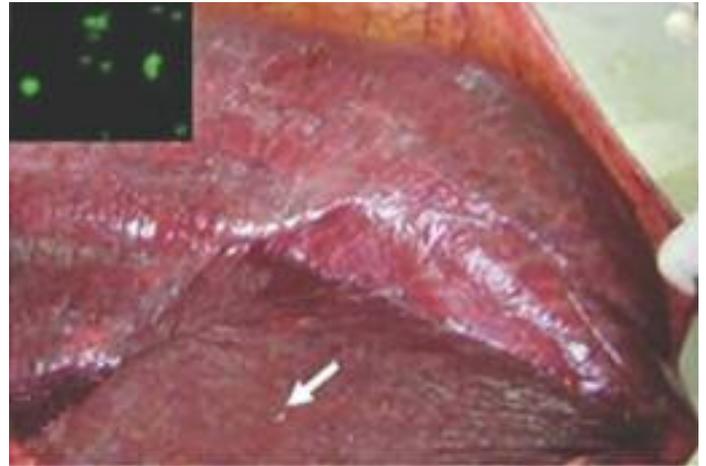


Foto 1. Placenta di stenella striata (*Stenella coeruleoalba*) con feto al suo interno. Si evidenziano foci necrotici multipli diffusi (la freccia indica una lesione prominente). L'inserto mostra la positività verso *B. ceti* all'immunofluorescenza. (Guzmán-Verri *et al.*, 2012).

sottomucosa e numerose colonie batteriche mescolate agli infiltrati sulla superficie dello stroma corion-allantoideo (foto 1) (Hernández-Mora *et al.*, 2008; González-Barrientos *et al.*, 2010; Miller *et al.*, 1999). Le lesioni testicolari sono caratterizzate principalmente da formazione di tessuto granulomatoso caratterizzato da fenomeni di necrosi caseosa e mineralizzazione, e in alcuni casi da ascessi. L'orchite è associata a proliferazione di cellule epitelioidi o giganti e infiltrazione mononucleare (Ohishi *et al.*, 2003a, 2004, 2008).

I reperti patologici a livello di sistema nervoso centrale comprendono macroscopicamente iperemia di meningi ed encefalo, torbidità del liquido cerebrospinale caratterizzato da aumento di volume e cellularità, composto soprattutto da cellule ependimali e leucociti mononucleati. Microscopicamente, le lesioni cerebrali hanno rivelato un quadro di meningoencefalomielite caratterizzata da meningite cronica non purulenta diffusa, particolarmente localizzato nel tronco cerebrale, midollo allungato, midollo spinale, e in minor misura nella corteccia cerebrale e cerebellare (Foster *et al.*, 2002; González *et al.*, 2002; Jepson, 2005; Muñoz *et al.*, 2006; Dagleish *et al.*, 2007, 2008; Hernández-Mora *et al.*, 2008; Davison *et al.*, 2009; González-Barrientos *et al.*, 2010; Jauniaux *et al.*, 2010).

Le lesioni cardiache indotte da *Brucella* consistono generalmente in un ispessimento della valvola mitrale con presenza di noduli/lesioni vegetanti, contenenti tessuto fibroso. All'interno di queste aree, l'infiltrato predominante è caratterizzato dalla presenza di linfociti e macrofagi, con numerose plasmacellule e cellule giganti. La superficie della valvola mitrale può anche mostrare aree necrotiche, con calcifica-

zione distrofica, e agglomerati batterici circondati a loro volta da cellule polimorfonucleate. Le lesioni sono accompagnate da degenerazione delle fibre miocardiche adiacenti a foci di cellule mononucleate e un infiltrato cellulare più scarso ed edema in alcune zone del miocardio, soprattutto intorno ai vasi sanguigni. È stata segnalata anche fibrosi del pericardio, infiltrato da linfociti e plasmacellule (González-Barrientos *et al.*, 2010).

Le lesioni polmonari principali osservate in delfini infetti da *Brucella* sono polmonite interstiziale e broncopolmonite, caratterizzate da microcalcificazioni bronchiolari, iperemia, e piccoli aggregati di leucociti nel tessuto connettivo peribronchiale. Il parenchima polmonare può mostrare iperplasia fibromuscolare dei setti alveolari e aree atelettasiche. In alcuni casi è stata documentata anche un'infiltrazione focale linfoplasmacellulare (González *et al.*, 2002; Muñoz *et al.*, 2006; González-Barrientos *et al.*, 2010).

Altri reperti patologici associati a brucellosi sono aumento di volume dei linfonodi, congestione dei reni, epatomegalia e splenomegalia con comparsa di foci necrotici. Microscopicamente viene riscontrata spesso un'infiltrazione infiammatoria a livello di milza, linfonodi e pancreas (Foster *et al.*, 1996, 2002; Clavareau *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 2006; González-Barrientos *et al.*, 2010; Jauniaux *et al.*, 2010).

#### Segni clinici nell'uomo

Brew *et al.* nel 1999 hanno riportato il caso di un ricercatore infettato da *Brucella* a seguito di un contatto durante l'attività lavorativa in laboratorio in presenza del batterio isolato da mammiferi marini. Tra i sintomi clinici riportati c'erano continui mal di testa, stanchezza e una grave sinusite. Le analisi del sangue per la ricerca di anticorpi verso *Brucella* evidenziarono titoli positivi per IgM e IgG. I sintomi si protrassero una sola settimana, e dopo il trattamento (rifampicina e doxiciclina per 6 settimane) non sorsero complicazioni.

Sohn *et al.* nel 2003 hanno riportato due casi clinici di neurobrucellosi umana con granulomi intracerebrali causati da *Brucella ceti*. La sintomatologia clinica comprendeva mal di testa, nausea e convulsioni tonico-cloniche periodiche. Entrambi i soggetti erano di nazionalità peruviana, consumatori regolari di formaggio non pastorizzato e occasionalmente frutti di mare crudi, ma non riferivano contatti pregressi con mammiferi marini.

McDonald *et al.* nel 2006 hanno descritto un caso di osteomielite spinale in un uomo in Nuova Zelanda, dovuto all'infezione da *B. ceti*. Il soggetto riferiva febbre, rigidità e dolore spinale a livello lombare. Anch'egli non aveva riportato contatti con mammiferi marini in sede anamnestica, ma figurava come consumatore regolare di frutti di mare crudi. Questi ultimi esempi testimoniano l'importanza di non considerare solo il contatto diretto con i mammiferi ma-

rini come unica via di trasmissione zoonotica, sarebbe interessante invece investigare l'ecologia di questo batterio per comprendere meglio le dinamiche con cui è presente nell'habitat marino e attraverso quali meccanismi riesce ad essere in grado di infettare l'uomo [254].

Rhyan *et al.* (2001) hanno condotto un esperimento inoculando delle vacche gravide con isolati di *Brucella* provenienti da foche comuni del Pacifico (*Phoca vitulina richardsi*). I risultati registrati hanno mostrato fenomeni di sierconversione, infezione e aborto (nelle vacche inoculate per via intravenosa), dimostrando che i bovini sono suscettibili agli isolati di *Brucella* provenienti dai mammiferi marini, ma i quali tuttavia in questa specie risultano essere meno patogeni rispetto a *B. abortus*.

#### *Erysipelothrix rhusiopathiae*

*E. rhusiopathiae* è un batterio Gram-positivo, non sporigeno, non acido-resistente, piccolo e di forma bacillare (Brooke & Riley, 1999). È un organismo ubiquitario, capace di resistere per un lungo periodo di tempo nell'ambiente, incluso l'habitat marino. È patogeno per un'ampia varietà di mammiferi selvatici e domestici, uccelli e pesci (Conklin & Steele, 1979). Inoltre, causa malattia anche nei Mammiferi marini, in particolare nei cetacei del sottordine degli odontoceti. La malattia indotta da *E. rhusiopathiae* è comunemente indicata con il termine di "mal rosso" o "mal rossino".

Il mal rosso nel suino è sicuramente una delle malattie più diffuse e con maggiore importanza economica (Wood, 1992). Le forme morbose sostenute da *E. rhusiopathiae* negli altri animali includono l'erisipela nei tacchini da allevamento, polli, anatre, e poliartrite in pecore e agnelli. Questo patogeno non causa patologie evidenti nei pesci, ma può sopravvivere per lunghi periodi di tempo nello strato mucoso sulla superficie del pesce (Wood, 1975).

La diagnosi si basa sull'osservazione dei segni clinici, sull'isolamento batterico e su test sierologici. L'isolamento di *E. rhusiopathiae* si può effettuare su terreni arricchiti e selettivi, come *Erysipelothrix selective broth* (ESB), *Modified blood azide medium* (MBA), *Packer's medium*, *Bohm's medium* e *Shimoji's selective broth*. L'incubazione va effettuata a 37°C per 48 ore (Wang *et al.*, 2010).

L'identificazione del batterio può essere ottenuta tramite l'uso del API *Coryne System* (Soto *et al.*, 1994). Inoltre, *E. rhusiopathiae* può essere ricercato tramite l'immunofluorescenza (IF) e tecniche molecolari come la PCR. La sierologia consiste nell'utilizzo di metodiche ELISA per individuare gli anticorpi verso il batterio (Dunn *et al.*, 2001). Recentemente è stato validato l'utilizzo della tecnica FMIA (*fluorescent microbead-based immunoassay*) per la ricerca degli anticorpi contro la proteina Spa di *E. rhusiopathiae* (Melero *et al.*, 2016).

### Segni clinici nei mammiferi marini

I cetacei odontoceti sono altamente suscettibili all'infezione da *E. rhusiopathiae*, e sono riportati casi d'infezione a partire dal 1950 (Seibold & Neal, 1956; Simpson *et al.*, 1958; Higgins, 2000). *E. rhusiopathiae* è stato descritto con minor frequenza nei pinnipedi (Suer & Vedros, 1988) e la sua importanza clinica è stata messa in discussione (Sweeney, 1974). Gli effetti di questo microrganismo sui mysticeti non si conoscono, dato che questi animali non vengono gestiti in ambiente controllato a causa delle loro dimensioni. Solo recentemente questo batterio è stato isolato da ferite inflitte da gabbiani (*Larus dominicanus*) a giovani di balena franca australe (*Eubalaena australis*). Questi individui mostravano delle lesioni cutanee di forma romboidale intorno alle ferite da beccamento da cui è stato poi isolato *E. rhusiopathiae* (Fiorito *et al.*, 2016).

L'infezione è stata descritta in cetacei di diverse specie: tursiope (*Tursiops truncatus*), stenella maculata (*Stenella plagiodon*), globicefalo (*Globicephala melas*), tursiope Indo-Pacifico (*Tursiops aduncus*), lagenorinco rostro bianco (*Lagenorhynchus albirostris*), lagenorinco dai denti obliqui (*Lagenorhynchus obliquidens*), beluga (*Delphinapterus leucas*), grampo (*Grampus griseus*), orca (*Orcinus orca*), focena comune (*Phocoena phocoena*) (Seibold & Neal, 1956; Chastel *et al.*, 1975; Thurman *et al.*, 1983; Buck & Spotte, 1986; Kinsel *et al.*, 1997; Young *et al.*, 1997, comunicazioni personali; Boseret *et al.*, 2002, comunicazioni personali).

Si ritiene che i mammiferi marini acquisiscano il patogeno dal pesce ingerito, il batterio infatti si localizza nello strato mucoso esterno del corpo di questi animali senza determinare l'insorgere di patologia (Higgins, 2000). Nei cetacei in ambiente controllato, si ritiene che la fonte principale di infezione sia il pesce somministrato per l'alimentazione, non adeguatamente conservato (Geraci *et al.*, 1966; Lauckner, 1985; Suer & Vedros, 1988; Higgins, 2000), ma altre probabili fonti sono rappresentate da persone con erisipeloide, locali di preparazione del cibo contaminati, colonizzazione opportunistica secondaria a ferite e insetti volanti che fungono da trasportatori tra le aree contaminate [283]. Per queste ragioni, negli animali in ambiente controllato si verificano molti casi di malattia (Seibold & Neal, 1956; Geraci *et al.*, 1966; Medway & Schryver, 1973; Thurman *et al.*, 1983; Buck & Spotte, 1986; Bossart & Eimstad, 1988; Kinsel *et al.*, 1997; Dunn *et al.* 2001). Sono stati descritti anche casi di erisipela in animali in libertà. Ad esempio, Chastel *et al.* (1975) hanno riportato il primo caso di erisipela in un Globicefalo (*Globicephala melas*) spiaggiato, Young *et al.* (1997) hanno riportato il primo caso di un'orca (*Orcinus orca*) selvatica, Boseret *et al.* (2002) hanno riportato il primo caso in una focena comune (*Phocoena phocoena*), Díaz-Delgado *et al.* (2015) hanno riportato due casi di setticemia in un tursiope (*Tursiops*

*truncatus*) e in una stenella maculata atlantica (*Stenella frontalis*), mentre Melero *et al.* (2011) hanno descritto il primo caso di setticemia da *E. rhusiopathiae* in un tursiope spiaggiato nel Mediterraneo. Lungo le coste italiane sono stati riportati 3 casi di mal rosso: un delfino comune (*Delphinus delphis*) nel 1994, uno steno (*Steno bredanensis*) nel 2002 e una stenella striata (*Stenella coeruleoalba*) nel 2008 (Di Bella *et al.*, 1995; Marà, 2002 *in litteris*; Di Nocera *et al.*, 2009).

Le forme cliniche descritte nei cetacei con infezione da *E. rhusiopathiae* sono due: acuta e subacuta.

La forma acuta setticemica comunemente conduce rapidamente alla morte dell'animale (Suer & Vedros, 1988). I segni clinici della forma setticemica sono normalmente aspecifici e non esclusivi dell'erisipela. Includono anoressia, debolezza, letargia e una iniziale leucocitosi che può essere seguita da una grave leucopenia appena prima della morte (Dunn *et al.*, 2001).

La forma subacuta cutanea è tipicamente accompagnata da anoressia e leucocitosi con il successivo sviluppo di lesioni cutanee, le quali appaiono comunemente sul tronco sotto forma di placche di colore grigio a forma romboidale (Medway, 1980; Sweeney & Ridgway, 1975). Il tempestivo inizio di un trattamento con principi antibiotici adatti è solitamente risolutivo. Tuttavia, se la patologia non viene riconosciuta e trattata in tempo, può condurre a morte l'animale (Dunn *et al.*, 2001). Gli antibiotici più utilizzati sono, in ordine decrescente di efficacia, penicilline, tetraciclina e streptomina (Suer & Vedros, 1988).

È stato riportato un caso di erisipela atipica in un'orca (*Orcinus orca*) in ambiente controllato precedentemente immunizzata con vaccino spento anti-*E. rhusiopathiae*. L'animale sviluppò in seguito una glossite vescicolare progressiva senza altri segni concomitanti, come anoressia e leucocitosi. La localizzazione e la morfologia della lesione erano atipici per l'erisipela nei cetacei, ma simili a quelle descritte nell'uomo. La risoluzione delle lesioni avvenne in alcune settimane in seguito alla terapia antibiotica. Alcuni autori ipotizzano che l'immunità protettiva conferita dalle vaccinazioni effettuate possa aver determinato un cambiamento nella patogenesi alterando così la manifestazione dell'infezione (Bossart & Eimstad, 1988).

Essendo ormai noto tra gli addetti ai lavori che la patologia indotta da *E. rhusiopathiae* è piuttosto frequente negli animali detenuti in ambiente controllato, è stato messo in atto un protocollo per l'immunizzazione mediante l'impiego di vaccini spenti, ormai disponibili anche in commercio. Tuttavia in alcuni centri questa pratica è stata sospesa in seguito al riscontro di reazioni avverse su alcuni individui, quali gonfiore nel punto di inoculo e shock anafilattico (Sweeney, 1978; Dunn *et al.*, 2001). Lacave *et al.* (2001) hanno dimostrato sperimentalmente con un modello animale la formazione di anticorpi protettivi verso ceppi di *E.*

*rhusiopathiae* isolati da mammiferi marini in seguito alla vaccinazione con sierotipo 2 inattivato, disponibile in commercio per la vaccinazione dei suini. Sitt *et al.* (2010) hanno provato l'efficacia dell'immunizzazione mediante l'utilizzo di un vaccino suino costituito dalla subunità 65 KDa, testando in vitro la risposta cellulare immunitaria (Th1, Th2 e Treg).

L'infezione da *Erysipelothrix* è riscontrata raramente nei pinnipedi, malgrado anch'essi siano considerati suscettibili al patogeno (Lauckner, 1985). Suer & Vedros (1988) hanno isolato *E. rhusiopathiae* da denti e/o gengive di due elefanti marini (*Mirounga angustirostris*) e di due otarie orsine dell'Alaska (*Callorhinus ursinus*). Inoltre hanno documentato la presenza di livelli significativi di anticorpi verso il batterio in molti adulti delle specie di pinnipedi campionati. È stato riportato un caso di setticemia in una giovane foca dagli anelli (*Phoca hispida*) che all'esame fisico si presentava con respirazione rapida e superficiale, cianosi, diarrea, disidratazione, e una marcata leucopenia. L'esame necroscopico evidenziò emorragia polmonare, deplezione linfocitaria, congestione diffusa e fibrosi, ed *E. rhusiopathiae* venne isolato da diversi organi (Dunn *et al.*, 2001). Sweeney (1974) tuttavia ha asserito che l'infezione da *E. rhusiopathiae* non rappresenta un problema clinico rilevante per i pinnipedi che vivono in ambiente controllato, e che quindi la vaccinazione non sembra necessaria.

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

I rilevamenti patologici in cetacei con la forma setticemica includono ascite con raccolta di fluido siero-ematico, petecchie multifocali intestinali ed ecchimosi emorragica diffusa, linfonodi megalici e splenomegalia (Kinsel *et al.*, 1997; Dunn *et al.*, 2001). L'esame istologico solitamente evidenzia necrosi multifocale aspecifica e quadri infiammatori estesi a vari organi, con infiltrati infiammatori misti (macrofagi, monociti e neutrofili) presentanti batteri Gram-positivi intra ed extracellulari (Kinsel *et al.*, 1997; Dunn *et al.*, 2001).

La forma subacuta è caratterizzata da infarti dermici che determinano il distacco dell'epidermide occasionalmente di forma romboidale, da cui il nome "diamond skin disease" (foto 2) (Simpson *et al.*, 1958; Higgins, 2000; Wang *et al.*, 2010).

#### Segni clinici nell'uomo

L'infezione da *E. rhusiopathiae* nell'uomo è considerata una malattia professionale. Si manifesta soprattutto in quelle persone aventi mansioni a stretto contatto con gli animali infetti, ai loro prodotti o residui, o al suolo. Le persone considerate ad alto rischio di esposizione sono macellai, lavoratori dei macelli, veterinari, allevatori, pescatori, persone che maneggiano pesci e casalinghe (Reboli & Farrar, 1992). La trasmissione dai mammiferi marini all'uomo è stata associata a contatto diretto, manualità durante necroscopie o



Foto 2. Tursiope (*Tursiops truncatus*). Lesioni cutanee romboidali, diamond skin lesion (Melero *et al.*, 2011).

lesioni fisiche (ad esempio ferite da morso) (Chastel *et al.*, 1975, Suer & Vedros, 1988; Hunt *et al.*, 2008).

Le manifestazioni cliniche nell'uomo somigliano a quelle viste per il suino. Possono esserci tre forme cliniche: una forma cutanea localizzata (erisipeloida), una forma cutanea diffusa e una forma setticemica spesso associata a endocardite (Grieco & Sheldon, 1970).

L'erisipeloida è la forma più comune con cui si presenta l'infezione nell'uomo. È un'infezione cutanea acuta localizzata che si sviluppa solitamente a livello di mani o dita, descritta come una cellulite locale. La lesione consiste in una zona violacea, ben definita e lievemente elevata, il cui margine si espande mentre il centro sbiadisce. Il dolore è spesso intenso e può essere descritto come una sensazione di bruciore e prurito. In alcuni casi possono manifestarsi sintomi sistemici: febbre, dolori articolari e linfadenite. Si può osservare artrite in un'articolazione adiacente alla lesione. L'assenza di suppurazione, la mancanza di edema e il dolore sproporzionato aiutano a distinguere l'erisipeloida da infezioni streptococciche o stafilococciche. La malattia è auto-limitante e si risolve normalmente in 3-4 settimane senza terapia (Reboli & Farrar, 1992). Suer & Vedros (1988) hanno effettuato l'isolamento di *E. rhusiopathiae* da ferite da morso e abrasioni di lavoratori a contatto con pinnipedi infetti.

La forma cutanea generalizzata determina lesioni che progrediscono da una localizzazione iniziale ad altre parti del corpo o che compaiono in aree remote. Le alterazioni cutanee osservabili sono simili a quelle della forma localizzata, ma possono svilupparsi anche lesioni di tipo bolloso. I sintomi sistemici come febbre e dolori articolari sono più frequenti rispetto alla forma localizzata. Il decorso clinico è prolungato e le ricadute sono frequenti (Klauder, 1938).

La setticemia è la manifestazione più grave dell'infezione da *E. rhusiopathiae*, quasi sempre associata ad endocardite. Raramente si sviluppa a partire da un'infezione localizzata (Gorby & Peacock, 1988). Altre lesioni, descritte nell'uomo, associate con *E. rhusiopathiae* sono: artrite cronica, encefalo-

lite, necrosi ossea del pollice ed ascessi intracranici (Wang, 2003).

Hunt *et al.* (2008) hanno riportato il caso di un individuo che, in seguito a una piccola lesione cutanea e la successiva esposizione a una carcassa di focena comune (*Phocoena phocoena*), sviluppò tossiemia accompagnata da encefalopatia in forma grave. Dalla lesione venne isolato *E. rhusiopathiae* e, dopo il fallimento della terapia antibiotica, il paziente subì l'amputazione del dito infetto.

### **Leptospira spp.**

I microrganismi ascrivibili al genere *Leptospira spp.* sono batteri Gram-negativi, mobili, di forma elicoidale della famiglia *Leptospiraceae* nel phylum *Spirochaete*. Proliferano in ambiente acquatico e sono state descritte circa 20 specie con più di 200 serovar conosciuti (Bharti *et al.*, 2003). La leptospirosi è una patologia a distribuzione mondiale che può colpire l'uomo insieme a un'ampia varietà di specie animali domestiche e selvatiche, inclusi i mammiferi marini, come leoni marini californiani (*Zalophus californianus*), otarie dell'Alaska (*Callorhinus ursinus*), elefanti marini settentrionali (*Mirounga angustirostris*) e foche comuni (*Phoca vitulina*) (Smith *et al.*, 1977; Gulland *et al.*, 1996; Stamper *et al.*, 1998; Colegrove *et al.*, 2005). La leptospirosi si può sviluppare sia sotto forma di infezione cronica, con una bassa mortalità, sia come infezione acuta, potenzialmente letale. I batteri si distribuiscono in vari distretti corporei attraverso una setticemia transitoria localizzandosi poi a livello di rene e fegato. Il rilascio di batteri vitali nell'ambiente circostante durante la minzione permette la trasmissione di questi a ospiti naïve (Faine *et al.*, 1999).

#### **Segni clinici nei mammiferi marini**

La principale causa di leptospirosi nei pinnipedi è *L. interrogans* serovar *Pomona*, responsabile di epidemie periodiche caratterizzate da spiaggiamenti e alta mortalità nei leoni marini californiani sulle coste del Pacifico in Nord America dal 1970 in poi (Gulland *et al.*, 1996; Cameron *et al.*, 2008; Norman *et al.*, 2008; Zuerner *et al.*, 2009).

La leptospirosi nei pinnipedi è caratterizzata da depressione, disidratazione, polidipsia, anoressia, febbre, vomito, ittero, aborto e riluttanza all'uso degli arti posteriori (Vedros *et al.*, 1971; Smith *et al.*, 1974a; Dierauf *et al.*, 1985; Gulland *et al.*, 1996; Dunn *et al.*, 2001).

La presenza di anticorpi rivolti contro *L. interrogans* serovar *Pomona* nel siero di femmine di leone marino californiano che avevano abortito ha fatto presumere che la malattia causasse insufficienza riproduttiva negli adulti e sindromi emorragiche in feti e neonati (Smith *et al.*, 1974b). È stato osservato che durante l'epidemia del 2004 in California, il 92% dei leoni marini californiani risultati infetti da *Leptospira* erano maschi. Infatti l'incidenza dei nuovi

casi di leptospirosi era coincisa con i movimenti stagionali dei maschi dalle colonie. La capacità dei leoni marini di percorrere lunghe distanze potrebbe influire pesantemente sulla diffusione geografica di numerose malattie, analogamente a ciò che avviene per la leptospirosi.

La leptospirosi ha un periodo di incubazione di 10-14 giorni che separa il contatto dallo sviluppo dei segni clinici di infezione, ed è probabile che gli animali riescano a viaggiare proprio in questo lasso di tempo. Inoltre gli animali malati, feriti oppure morti in mare spesso possono spiaggiarsi sulle coste; ciò rappresenta una ulteriore situazione che potrebbe contribuire alla trasmissione di questa malattia agli animali terrestri (Zuerner *et al.*, 2009).

Gli animali che non mostrano segni clinici di malattia presentano generalmente solo una lieve nefrite in sede necroscopica e spesso risultano successivamente positivi alla ricerca di *Leptospira* con la PCR. Ciò suggerisce che la PCR potrebbe rappresentare un utile supporto nell'individuazione di animali *carrier*, i quali sono escretori di *Leptospira* attraverso le urine e in questo modo fungono da *reservoir* per la sua trasmissione. Individuare gli animali *carrier* risulta perciò fondamentale per poter comprendere la leptospirosi enzootica ed epizootica nei mammiferi marini, in quanto è stato dimostrato che i serovar patogeni di *Leptospira* sopravvivono solo per brevi periodi nell'acqua marina (Khairani-Bejo *et al.*, 2004; Trueba *et al.*, 2004), per cui il reale meccanismo attraverso cui questo batterio è in grado di permanere in questo tipo di ecosistema non è ancora stato compreso (Cameron *et al.*, 2008). Recentemente la *Leptospira* è stata isolata per la prima volta da un cetaceo, una balena franca australe (*Eubalaena australis*) neonata.

La variante batterica rinvenuta in un campione di reni di questo individuo è stata testata *in vitro* per la crescita in acqua marina a varie concentrazioni, dimostrando un comportamento alofilo mai riscontrato in precedenza in una specie patogena di *Leptospira* (Loffer *et al.*, 2015). Oltre alla PCR, altre metodiche utilizzate per diagnosticare l'infezione da *Leptospira* sono: l'immufluorescenza diretta su urine od omogeneizzato di tessuto renale, l'immufluorescenza indiretta su tessuti, l'isolamento batterico tramite semina dei campioni su terreno EMJH con incubazione a 29°C per 6 mesi e controlli periodici. La metodica sierologica più utilizzata per rilevare gli anticorpi verso *Leptospira* è il test di microagglutinazione (MAT).

#### **Lesioni anatomo-isto-patologiche**

Alla necroscopia di pinnipedi infetti spesso si evidenziano reni aumentati di volume e fegato megalico e friabile. La corticale e la midollare del rene spesso appaiono pallide con perdita di differenziazione cortico-midollare e occasionalmente infarti (Gulland *et al.*, 1996; Colegrove *et al.*, 2005; Cameron *et al.*, 2008). Si possono osservare anche emorra-



gie sub-capsulari e in corrispondenza della giunzione cortico-midollare. Feti abortiti e giovani individui possono presentare emorragie sottocutanee e ifema (Smith *et al.*, 1974a).

Le lesioni microscopiche tipiche comprendono nefrite tubulo interstiziale linfoplasmacitica, accumuli intratubulari di proteine e abbondanti aggregati di spirochete tra l'epitelio tubulare e il lume (Gulland *et al.*, 1996; Colegrove *et al.*, 2005).

#### Segni clinici nell'uomo

Ci sono pochi casi di leptospirosi umana riconducibili direttamente al contatto con mammiferi marini. La trasmissione all'uomo è stata descritta in seguito al contatto con fluidi e con tessuti infetti durante necroscofie di leoni marini settentrionali morti per leptospirosi (Smith *et al.*, 1978; Hunt *et al.*, 2008).

Smith *et al.* (1978) hanno riportato il caso di tre ricercatori che contrassero l'infezione da *L. interrogans* serovar *pomona* in seguito al contatto con leoni marini infetti, sviluppando così insufficienza renale acuta e sieroconversione.

#### **Mycobacterium spp.**

I batteri del genere *Mycobacterium* sono bacilli aerobi, non mobili, acido-resistenti e spesso rinvenuti nell'ospite in posizione intracellulare. I micobatteri di interesse zoonotico rinvenuti nei mammiferi marini sono *M. pinnipedii* e *M. marinum*. *M. pinnipedii* appartiene al *Mycobacterium tuberculosis* complex e causa malattia nei pinnipedi e solo occasionalmente nell'uomo o in altri animali (Kiers *et al.*, 2008; Moser *et al.*, 2008; Kriz *et al.*, 2011).

*M. marinum* e altre specie ambientali sono ubiquitarie negli habitat marini e d'acqua dolce, e sono importanti patogeni di pesci, anfibi e occasionalmente di mammiferi marini (Lewis, 1987; Bowenkamp *et al.*, 2001; Moeller, 2002; Wuenschmann *et al.*, 2008).

#### Segni clinici nei mammiferi marini

La tubercolosi nei pinnipedi è stata diagnosticata per la prima volta nel 1986, in un parco marino in Australia. Le specie coinvolte erano il leone marino australiano (*Neophoca cinerea*) e l'otaria orsina meridionale (*Arctocephalus*).



*lus forsteri*) (Cousins, 1987). Dopo questo episodio, si è iniziato a isolare il batterio anche nelle popolazioni selvatiche delle stesse specie, sempre in Australia (Cousins *et al.*, 1993).

I pinnipedi infetti con *M. pinnipedii* spesso mostrano segni clinici aspecifici, quali: letargia, anoressia e perdita di peso (Forshaw & Phelps, 1991; Kiers *et al.*, 2008). La classica tosse cronica osservata nei casi di tubercolosi umana può non essere un segno predominante di infezione attiva nei mammiferi marini (Forshaw & Phelps, 1991).

I cetacei infetti con micobatteri ambientali mostrano tipicamente lesioni cutanee disseminate (Lewis, 1987; Bowenkamp *et al.*, 2001; Moeller, 2002; Wuenschmann *et al.*, 2008). Inoltre, Dunn *et al.* (2001) riportano il caso di una grave pannicolite profonda piogranulomatosa sostenuta da *M. marinum* in un beluga (*Delphinapterus leucas*) detenuto in cattività.

Anche pinnipedi e sirenidi in cattività possono sviluppare l'infezione da micobatteri atipici, sviluppando lesioni cutanee (Boever *et al.*, 1976; Morales *et al.*, 1985; Gutter *et al.*, 1987; Bernardelli *et al.*, 1990).

Thorel & Moutou (1994) sostengono che la condizione di cattività all'interno dei parchi aumenti il rischio di sviluppare infezioni sostenute da micobatteri, in quanto spesso specie differenti, che in natura difficilmente entrerebbero a contatto, vengono confinate in ambienti relativamente piccoli e che ne permettono il contatto.

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Alla necropsia, i pinnipedi con infezione sostenuta da *M. pinnipedii* presentano granulomi in alcuni o tutti i seguenti organi: polmoni, reni, milza, fegato e linfonodi (Forshaw & Phelps, 1991; Kiers *et al.*, 2008; Kriz *et al.*, 2011).

Le specie ambientali come *M. marinum* possono determinare lesioni croniche cutanee o sottocutanee (pannicolite) o lesioni interne poco definite a livello di polmoni o linfonodi (Lewis, 1987; Bowenkamp *et al.*, 2001; Moeller, 2002; Wuenschmann *et al.*, 2008).

Le lesioni microscopiche associate a *M. pinnipedii* comprendono granulomi ben definiti, con necrosi caseosa centrale circondata da macrofagi epitelioidi. Invece *M. marinum* è

spesso associato a lesioni granulomatosi poco definite. Bacilli acido-resistenti non sempre possono essere osservati nelle lesioni descritte (Lewis, 1987; Bowenkamp *et al.*, 2001; Kiers *et al.*, 2008; Wuenschmann *et al.*, 2008).

### Segni clinici nell'uomo

La trasmissione all'uomo può verificarsi attraverso l'inspirazione di aerosol emesso da animali infetti in seguito a contatto diretto, secrezioni mucosali, feci o urine contaminate da batteri (Quinn & Markey, 2003). È stata riportata anche la trasmissione indiretta all'uomo in seguito ad esposizione prolungata ad ambienti contaminati (Kiers *et al.*, 2008).

Il primo caso di trasmissione all'uomo riportato in letteratura risale al 1970 ed è stato documentato da Flowers: un addestratore di mammiferi marini in seguito al morso di un tursiope sviluppò delle lesioni rilevate e indolori due mesi e mezzo dopo l'evento. Da queste lesioni venne isolato *M. marinum*, il quale successivamente venne isolato anche dall'acqua della piscina in cui viveva il delfino, il quale tuttavia non mostrò mai segni clinici di malattia. Si ipotizza che il batterio rivestisse un ruolo di commensale più che patogeno per l'animale.

Nel 1993 Thompson *et al.* riportarono il caso di un addestratore australiano che sviluppò tubercolosi polmonare in seguito al contatto diretto con foche infette. La sintomatologia presentata includeva tosse, sudorazione notturna, dispnea in esercizio e una notevole perdita di peso. Il micobatterio che venne isolato dall'allenatore evidenziò un profilo biochimico simile a quello del batterio isolato dalle foche con cui entrò in contatto. L'agente riconosciuto responsabile era stato *M. bovis*, ma probabilmente si trattava di *M. pinnipedi*.

Kiers *et al.* (2008) riportarono il caso di 29 leoni marini sudamericani (*Otaria flavescens*) in uno zoo in Olanda che, in seguito alla morte di un esemplare per tubercolosi, furono testati con *tubercolin skin test*. L'indagine venne ampliata anche ai 25 lavoratori a contatto diretto con gli animali e ad altre 38 persone appartenenti al personale dello zoo, le quali avrebbero potuto avere pochi o nessun contatto diretto con gli animali e/o l'ambiente in cui questi ultimi vivevano. I leoni marini vennero testati con iniezione intradermica di *Purified Protein Derivate* (PPD) bovino e aviario simultaneamente, ripetuto negli animali negativi dopo 6 settimane e seguito da eutanasia dei soggetti positivi. Tutti gli animali morirono o furono sottoposti a eutanasia. Le persone furono sottoposte a *tubercolin skin test*, ripetuto dopo due mesi, radiografie e un Interferon gamma release assay (IGRA). 6 dei 25 lavoratori a stretto contatto con gli animali risultarono positivi, mentre il resto del personale risultò negativo. Il micobatterio responsabile della malattia sia nei leoni marini che nei lavoratori venne identificato come *M. pinnipedii*. Le persone positive furono

trattate con isoniazide per 6 mesi. Il maggior fattore di rischio per l'infezione nell'uomo venne collegato alle metodiche utilizzate per pulire l'ambiente adibito al riposo degli animali: l'utilizzazione infatti di un getto di acqua ad alta pressione determinò l'aerosolizzazione dei batteri presenti in urine e feci infette. Nessuna delle 38 persone appartenenti al personale dello zoo risultò positiva. Per loro il rischio di contrarre l'infezione dai leoni marini venne considerato più basso, in quanto non vi fu esposizione diretta. Questo dato suggerisce che anche il rischio per coloro i quali avevano visitato lo zoo era minimo, il che risulta importante nell'ottica della sicurezza sanitaria per il pubblico. Un recente lavoro di Bos *et al.* (2014), illustra l'ipotesi che i primi casi di tubercolosi sviluppati in America tra le civiltà pre-colombiane siano precedenti al contatto con le popolazioni europee. Studi genetici sugli scheletri umani peruviani hanno individuato un micobatterio appartenente al *M. tuberculosis complex* che presenta maggiori somiglianze con gli isolati adattati a foche e leoni marini. Questo rinvenimento supporta l'ipotesi che i mammiferi marini abbiano avuto un ruolo importante nella trasmissione della malattia oltre l'oceano a queste popolazioni.

### *Mycoplasma spp.*

I Micoplasmi sono i più piccoli procarioti capaci di vita autonoma e appartengono alla famiglia delle *Mycoplasmataceae*. Sono organismi pleomorfi (da sferici a filamentosi), aerobi facoltativi o anaerobi obbligati. Non presentano la parete cellulare e la membrana citoplasmatica ha una struttura lipoproteica trilaminare contenente steroli. Generalmente sono patogeni specie-specifici facilmente reperibili sulle superfici mucosali (Quinn & Markey, 2003).

Il rinvenimento di Micoplasmi è stato associato ad eventi di mortalità di massa spesso provocati da virus (come *Influenzavirus* e *Morbillivirus*) nei mammiferi marini (Madoff *et al.*, 1982; Giebel *et al.*, 1991; Ruhnke & Madoff, 1992). Nei pinnipedi vengono riconosciute cinque specie del genere *Mycoplasma*: *M. phocidae*, *M. phocicerebrale*, *M. phocirhinitis*, *M. zalophi* e *M. haemozalophi* (Madoff *et al.*, 1982; Kirchhoff *et al.*, 1989; Giebel *et al.*, 1991; Haulena *et al.*, 2006; Volokhov *et al.*, 2011). *M. phocidae* è stato isolato dal tratto respiratorio e dal cuore di foche comuni (*Phoca vitulina*) durante una epidemia con sintomatologia prevalentemente respiratoria lungo le coste del New England dal 1979 al 1980 (Madoff *et al.*, 1982). *M. phocicerebrale* e *M. phocirhinitis* sono stati isolati da foche durante un evento caratterizzato da mortalità di massa verificatosi nel Mar Baltico e nel Mar del Nord (Kirchhoff *et al.*, 1989; Giebel *et al.*, 1991). *M. zalophi* è stato ripetutamente isolato da leoni marini californiani (*Zalophus californianus*) in riabilitazione dal 1999 al 2001 (Haulena *et al.*, 2006). In un recente studio sono stati isolati *M. phocicerebrale* e due nuovi Mi-

coplasmi da carcasse di cetacei rinvenute sulle coste della Scozia all'interno di un periodo di dodici anni, il cui ruolo patogeno non fu tuttavia chiarito (Foster *et al.*, 2011a). *M. haemozalphi* è stato individuato tramite PCR nel 12,4% dei campioni di sangue da leoni marini californiani (Volkhov *et al.*, 2011).

La PCR è la metodica più rapida per identificare l'infezione da Micoplasmi, in quanto l'isolamento batterico prevede l'utilizzo di terreni quali Columbia agar o terreno di Farrell con incubazione di 14 giorni a 37°C in atmosfera contenente il 10% di O<sub>2</sub>.

#### Segni clinici nei mammiferi marini

Nei mammiferi marini i Micoplasmi sono spesso associati a sintomi respiratori (Giebel *et al.*, 1991; Ruhnke & Madoff, 1992) e spiaggiamenti in quantità significative (Giebel *et al.*, 1991; Ruhnke & Madoff, 1992; Foster *et al.*, 2011a). *Mycoplasma zalophi* è stato riscontrato associato a polmonite e poliartrite in leoni marini californiani in riabilitazione (Haulena *et al.*, 2006).

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Ci sono poche lesioni macroscopiche associate con l'infezione da *Mycoplasma* spp. nei mammiferi marini. I rilievi istologici tipicamente includono quadri di pleurite, polmonite interstiziale o broncopolmonite, linfadenite, ascessi sottocutanei e poliartrite settica (Haulena *et al.*, 2006; Foster *et al.*, 2011a).

#### Segni clinici nell'uomo

I Micoplasmi sono stati associati all'infezione cosiddetta "seal finger". È diffusa tra le persone che lavorano con le foche, come addestratori e operatori, ma anche chi maneggia questi animali morti, come i cacciatori (Hartley & Pitcher, 2002). L'infezione interessa solitamente le dita in seguito a traumi fisici (come morsi) o se una superficie cutanea compromessa entra in contatto con tessuti infetti di mammiferi marini. Si presenta con dolore intenso, edema ed eritema (Stadtlander & Madoff, 1994; Baker *et al.*, 1998). In alcuni casi ci può essere il coinvolgimento delle articolazioni vicine al sito d'entrata e/o dei tendini, con artrite e tenosinovite che possono condurre a immobilità del dito (Hartley & Pitcher, 2002).

Baker *et al.* (1998) hanno descritto un caso di "seal finger" che ha riguardato una addestratrice di un acquario in seguito al morso di una foca.

Gli esami colturali effettuati a partire dall'essudato della ferita della addestratrice e dal tampone dei denti della foca permisero di isolare *Mycoplasma phocicerebrale* da entrambe.

La lesione si risolse con il trattamento a base di tetracicline, che sembrano essere tuttora gli antibiotici più efficaci contro l'infezione da Micoplasmi (Hartley & Pitcher, 2002).

Lewin *et al.* (2004) hanno descritto il caso di una biologa che sviluppò il seal finger in seguito a un taglio procuratasi mentre poneva una piastrina di identificazione sulla pinna di un elefante marino (*Mirounga lionina*).

#### Altri agenti batterici

Si possono prendere in considerazione altri agenti batterici potenzialmente zoonotici, o che, solo in casi sporadici, sono stati riconosciuti come agenti eziologici di infezione nell'uomo in seguito a contatto con mammiferi marini.

Ad esempio, *Bisgaardia hudsonensis* è un batterio Gram-negativo della famiglia *Pasteurellaceae* recentemente identificato (Foster *et al.*, 2011b). È stato isolato da foci di livello di fegato, polmoni, linfonodi retro-mandibolari e tonsille. Sundeep & Cleve (2011) hanno riportato il caso di un pescatore morso su un dito da una foca, il quale sviluppò un'infezione cutanea localizzata da cui venne isolato *Bisgaardia hudsonensis*. L'aspetto della lesione venne riconosciuto come assimilabile a quello del seal finger sostenuto da micoplasmi. Gli autori sostengono che potrebbe esserne un ulteriore agente eziologico. L'infezione si risolse in seguito a terapia con amoxicillina e acido clavulanico.

Un altro batterio che l'uomo potrebbe contrarre in seguito al contatto con mammiferi marini è *Coxiella burnetii*. È un Gram-negativo conosciuto come agente eziologico della Febbre Q in ovini e caprini. L'uomo può contrarre l'infezione per via inalatoria, tramite l'aerosolizzazione dei batteri presenti soprattutto nei tessuti placentari dei ruminanti infetti. Inoltre, *C. burnetii* può infettare altre specie, quali rettili, uccelli, zecche e anche mammiferi marini (McQuiston & Childs, 2002). Questo agente è stato isolato da placente di foche comuni (*Phoca vitulina*), leoni marini di Steller (*Eumetopias jubatus*) e focene comuni (*Phocoena phocoena*) (Lapointe *et al.*, 1999; Kersh *et al.*, 2010; 2012). L'entità del rischio che i mammiferi marini possano trasmettere l'infezione all'uomo non è stata tuttora stimata. Tuttavia, bisognerebbe considerare che abitualmente i pinnipedi partoriscono in aree costiere, luoghi accessibili all'uomo e che quindi ne permetterebbero l'esposizione all'infezione.

È stato riportato un caso di endocardite sostenuta da *C. burnetii* in un abitante della Groenlandia. La fonte certa di infezione non è stata individuata, ma è noto che l'uomo entrò in contatto con cani e foche (Koch *et al.*, 2010).

Tra gli agenti batterici responsabili di zoonosi si può annoverare anche *Salmonella* spp. Questo batterio è stato isolato in varie specie di cetacei, quali: focene comuni (*Phocoena phocoena*), orche (*Orcinus orca*), tursiopi (*Tursiops truncatus*) e stenelle (*Stenella coeruleoalba*), nel ruolo di agente patogeno opportunista (Howard *et al.*, 1983; Foster *et al.*, 1999; Terracciano *et al.*, 2012). Nei pinnipedi sono state

isolate varie specie di *Salmonella*, ma in questi animali normalmente sembra non rivestire un ruolo patogeno.

Nell'uomo sono stati riportati casi di tossinfezioni da *Salmonella* associati al consumo di carne di mammiferi marini (Boggild, 1969; Bender *et al.*, 1972). Ad esempio, il batterio isolato da Terracciano *et al.* (2012) in una stenella striata con enterite catarrale era stato identificato come *S. Muenchen*, che rappresenta una tra le prime 10 sierovarianti di *Salmonella* non tifoidee che causano salmonellosi nell'uomo.

## AGENTI VIRALI DI ZONOSI NEI MAMMIFERI MARINI

### Influenza virus

I virus dell'Influenza sono virus a RNA polisegmentato a singolo filamento negativo che appartengono alla famiglia *Orthomyxoviridae*, la quale comprende tre generi: A, B e C. I virus appartenenti ai generi B e C infettano prevalentemente l'uomo, mentre i ceppi di *Influenza virus A* possono infettare uomo, equini, suini, cani, altri mammiferi e un'ampia varietà di specie aviarie, sia selvatiche sia domestiche (Webster *et al.*, 1992).

Le specie aviarie rappresentano il maggior reservoir del virus in natura e si ipotizza che i ceppi aviari di *Influenza virus* contribuiscano alla formazione di ceppi virali adattati ad ospiti mammiferi tramite il riassortimento genetico (Webster & Laver, 1975).

Fin dagli anni '70 i virus dell'Influenza A e B sono stati rilevati in popolazioni selvatiche di pinnipedi e cetacei attraverso isolamento virale, metodiche sierologiche e RT-PCR (Osterhaus *et al.*, 2000; Ohishi *et al.*, 2003b; Blanc *et al.*, 2009). Spiaggiamenti di massa attribuibili a Influenzavirus A sono stati riportati in pinnipedi e cetacei lungo le coste del New England, determinando perdite nella popolazione fino al 20% (Geraci *et al.*, 1982; Hinshaw *et al.*, 1984).

Hinshaw *et al.* (1984) hanno documentato l'isolamento del virus Influenza A H4N5 da foche comuni (*Phoca vitulina*) morte presentanti polmonite virale tra il 1982 e il 1983 nel New England. In precedenza, il sottotipo H4N5 era stato isolato solo da specie aviarie e mai dai mammiferi. L'identificazione di virus aviari come agenti eziologici di patologia nelle foche suggerisce che in natura possa verificarsi la trasmissione di tali virus dalle specie aviarie alle foche. Potenzialmente, questo potrebbe essere un esempio dell'adattamento dei virus aviari ai mammiferi, il che potrebbe rappresentare un passaggio intermedio nell'evoluzione di nuovi ceppi adattati ai mammiferi, e quindi anche all'uomo.

A supporto di questa ipotesi Anthony *et al.* (2012) hanno riportato l'isolamento dell'*Influenza virus A H3N8* da foche

comuni durante una epidemia di polmonite avvenuta nel 2011 nel New England. Le analisi svolte sul virus avevano evidenziato che il ceppo isolato nelle foche era geneticamente simile a quello in circolo già dal 2002 tra le specie aviarie acquatiche, ma presentava mutazioni tali da renderlo adatto a infettare ospiti mammiferi.

Successivamente, Boyce *et al.* (2013) hanno documentato l'isolamento del virus Influenza A (H1N1)pdm09 negli elefanti marini (*Mirounga angustirostris*) in California nel 2010. Le sequenze isolate dimostrarono essere molto simili agli isolati umani del Dicembre 2009 di San Diego, California, evidenziando l'avvenuta trasmissione del virus umano ai mammiferi marini.

Anche l'*Influenza virus B* è stato isolato nei mammiferi marini, in particolare in foche comuni e foche grigie (*Halichoerus grypus*) nei Paesi Bassi nel 1999. Il virus risultava essere geneticamente correlato al ceppo che già era circolato nell'uomo nei 4-5 anni precedenti. Un'analisi retrospettiva sul siero di 971 foche aveva evidenziato la presenza di anticorpi verso *Influenza virus B* attraverso l'utilizzo del test di inibizione dell'emoagglutinazione (HI). Le sieropositività erano state evidenziate solo a partire dagli anni successivi al 1995, sollevando l'ipotesi che questi animali possano svolgere il ruolo di reservoir di ceppi umani nel corso degli anni, rappresentando perciò un potenziale pericolo per la salute dell'uomo (Osterhaus *et al.*, 2000).

Questi risultati lasciano pensare che i mammiferi marini, e in particolare i pinnipedi, possano giocare un ruolo simile a quello del suino come reservoir e ospite riassortitore per *Influenza virus* aviari e dei mammiferi, rappresentando un'opportunità potenziale per il riassortimento e l'emergenza di nuovi ceppi virulenti (Boyce *et al.*, 2013).

### Segni clinici nei mammiferi marini

Le infezioni da *Influenza virus A* e *B* determinano alterazioni cliniche e patologiche a livello delle vie respiratorie superiori e inferiori nei mammiferi marini. I segni clinici riscontrati in foche comuni (*Phoca vitulina*) moribonde durante un'epidemia di *Influenza virus A* lungo le coste del Massachusetts includevano difficoltà respiratorie, letargia, gonfiore di collo e congiuntiva, incoordinazione e scolo nasale con schiuma bianca o con sangue (Geraci *et al.*, 1982).

L'*Influenza virus A* è stato associato a grave emaciazione e anomala esfoliazione della cute in due spiaggiamenti di massa di globicefali (*Globicephala melas*) lungo la costa di Cape Cod, USA, nel 1984 (Hinshaw *et al.*, 1986).

L'*Influenza virus B* è stato associato a difficoltà respiratorie in foche comuni spiaggiate lungo la costa olandese nel 1999 (Osterhaus *et al.*, 2000).

L'*Influenza virus A H3N8* venne isolato in concomitanza di lesioni quali polmonite e ulcerazioni di cute e mucosa orale

nelle foche comuni morte durante l'epidemia del 2011 nel New England (Anthony *et al.*, 2012)

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Le osservazioni macroscopiche relative alla malattia indotta da *Influenza virus A* nei cetacei sono limitate, ma possono includere aumento dei linfonodi ilari, polmoni emorragici e friabilità epatica (Hinshaw *et al.*, 1986). La necropsopia delle foche morte nel New England ha rivelato una polmonite caratterizzata da fenomeni infiammatori ed emorragici nei tratti superiori e inferiori dell'apparato respiratorio (Geraci *et al.*, 1982).

L'esame istopatologico dei polmoni di foche morte per infezione da *Influenza virus A* ha rivelato una broncopolmonite necrotizzante con estesa degenerazione, necrosi e desquamazione dell'epitelio bronchiale (Hinshaw *et al.*, 1984).

#### Segni clinici nell'uomo

Nel 1979 quattro biologi marini svilupparono una congiuntivite purulenta in seguito alla necropsopia effettuata su foche comuni infette da *Influenza virus A* H7N7 durante un focolaio nel New England. Le quattro persone coinvolte presentavano intenso gonfiore periorbitale e dolore circoscritto ai due giorni successivi all'infezione. La congiuntivite durò 4-5 giorni e il recupero avvenne senza ulteriori complicazioni. I test sierologici svolti sui biologi dai 3 ai 6 mesi successivi all'esposizione non rilevarono la presenza di anticorpi verso l'*Influenza virus A* isolato dalle foche, evidenziando la mancata sieroconversione e quindi il carattere locale dell'infezione (Webster *et al.*, 1981).

Successivamente, durante studi sperimentali sull'infezione di foche comuni con l'*Influenza virus A* H7N7, un animale infetto ed escretore del virus starnutì direttamente in faccia a un ricercatore. Nelle 40 ore successive la persona esposta sviluppò una grave congiuntivite a livello di occhio destro, e dopo 96 ore i linfonodi periauricolari risultarono aumentati di volume. La congiuntivite migliorò dal quarto giorno. Un tampone della mucosa congiuntivale effettuato 2 giorni dopo l'esposizione conteneva alti titoli di *Influenza virus A* H7N7. La ricerca degli anticorpi specifici verso tale virus nel siero della persona coinvolta risultò negativo (Webster *et al.*, 1981).

L'assenza di sieroconversione dopo l'infezione virale dell'occhio non è inusuale, in quanto l'occhio è un sito preferenziale di infezione, la quale può avvenire senza l'induzione di un risposta immunitaria sistemica (Hanson & Brandley, 1958).

#### Poxvirus

Il *Seal poxvirus* appartiene alla famiglia *Parapoxviridae* ed è un virus a DNA di grandi dimensioni. È stato isolato da

numerose specie di pinnipedi quali leoni marini californiani (*Zalophus californianus*), leoni marini sudamericani (*Otaria flavescens*), foche comuni (*Phoca vitulina*), foche grigie (*Halichoerus grypus*) e otarie orsine dell'Alaska (*Callorhinus ursinus*) sia in libertà che in ambiente controllato (Wilson *et al.*, 1969; Wilson & Poglayen-Neuwall, 1971; Wilson *et al.*, 1972; Hadlow *et al.*, 1980; Hicks & Worthy, 1987).

Nei cetacei viene frequentemente riportata l'infezione da *Cetacean Poxvirus* appartenente alla famiglia *Chordopoxviridae*. Tale virus determina la cosiddetta *Tattoo Skin Disease* (TSD), che è stata documentata in esemplari delle famiglie *Delphinidae*, *Phocoenidae*, *Ziphiidae* e *Balaenidae* sia in libertà che in ambiente controllato (Van Bresseem *et al.*, 1999, 2007, 2009a, 2009c; Bracht *et al.*, 2006). Quando la TSD risulta essere endemica all'interno della popolazione non induce mortalità, ma potrebbe essere letale in neonati e giovani esemplari senza immunità protettiva, e questo elemento può influire sulle dinamiche di popolazione (Van Bresseem *et al.*, 1999).

La diagnosi di infezione da *Poxvirus* consiste nell'evidenziare istologicamente la presenza di corpi inclusi eosinofili intracitoplasmatici nelle biopsie cutanee o nell'impiego di tecniche molecolari come la PCR.

#### Segni clinici nei mammiferi marini

Nei pinnipedi il *Seal pox virus* induce la formazione di lesioni nodulari o villonodulari a livello di cute di testa, collo e pinne, nelle giunzioni mucocutanee di congiuntiva e mucosa orale e nella lingua. Ad ogni modo, le lesioni possono comparire in maniera diffusa e, nei casi gravi, diventare abbastanza estese (Wilson & Poglayen-Neuwall, 1971; Moeller, 2002). Spesso le lesioni possono ulcerarsi nel giro di due settimane e successivamente guarire entro un mese (Hicks & Worthy, 1987). In seguito alla risoluzione delle lesioni possono persistere aree di alopecia e tessuto cicatriziale (Kennedy-Stoskopf, 2001). Gli animali giovani o debilitati possono non sopravvivere alla malattia (Sweeney & Ridgway, 1975; Geraci *et al.*, 1979; Van Bresseem *et al.*, 1993, 2009a; Nollens *et al.*, 2006).

Il *Cetacean Poxvirus* determina alterazioni cutanee che si presentano sotto forma di lesioni circolari depigmentate chiamate *tattoo lesions*. Queste lesioni si possono sviluppare in qualsiasi parte del corpo, ma solitamente vengono osservate a livello di cute di testa, pinne pettorali, pinna dorsale e coda (foto 3). Possono persistere per mesi o anni senza determinare gravi conseguenze sulla salute dell'animale (Kennedy-Stoskopf, 2001).

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Microscopicamente le lesioni cutanee sono caratterizzate da degenerazione palloniforme dello strato spinoso, con formazione di pustole. L'iperplasia dell'epidermide è caratte-



Foto 3. Delfino comune (*Delphinus delphi*), *tattoo lesions* sul torace (Barnett et al., 2015).

rizzata da ipercheratosi ortocheratotica e paracheratotica e acantolisi (Clark et al., 2005; Nollens et al., 2006). Le cellule maggiormente aumentate spesso contengono grandi inclusioni intracitoplasmatiche eosinofile (Moeller et al., 2002; Clark et al., 2005; Nollens et al., 2006).

#### Segni clinici nell'uomo

Il *Seal poxvirus* è stato trasmesso all'uomo in seguito a contatto con animali infetti (Hicks & Worty, 1987) o a traumi fisici (Clark et al., 2005).

Hicks & Worty (1987) hanno riportato il caso di due operatori spesso a contatto con foche grigie (*Halichoerus grypus*) in cattività presentanti lesioni cutanee riconducibili all'infezione da *Seal poxvirus*. Le due persone svilupparono una lesione nodulare su una mano simile ai "milker's nodules", tipici delle persone infette con *Parapoxvirus*. L'esame istologico effettuato sui campioni biotici prelevati dalle lesioni sia degli operatori che dalle foche evidenziò la presenza di corpi inclusi intracitoplasmatici, simili anche a quelli osservati nelle lesioni da *Poxvirus* in altre specie di foche. Le lesioni cutanee degli operatori si risolsero spontaneamente in alcune settimane senza trattamento. Poiché le foche mostravano lesioni dovute a un'infezione attiva quando entrarono in contatto con gli operatori sprovvisti di guanti, e poiché essi non avevano avuto contatti con ruminanti domestici (fonte principale di infezioni da *Parapoxvirus* nell'uomo), si ipotizzò che le foche fossero la fonte del virus che aveva infettato gli operatori.

Clark et al. (2005) hanno descritto il caso di un operatore che in seguito a un'abrasione causata dal morso di una foca grigia sviluppò una lesione nodulare sulla mano simile a un "milker's nodule". La foca mostrava lesioni *pox-like*

intorno al muso, che si risolsero successivamente. Dal campione biotico prelevato dall'operatore all'esame istologico e microscopico emerse un quadro compatibile con lesioni da *Parapoxvirus*. Ma fu grazie all'uso della PCR che si giunse all'identificazione del *Seal poxvirus* come responsabile dell'infezione. Questo è stato il primo caso di *Seal pox* umano in cui sia stato possibile identificare con certezza la trasmissione dell'infezione dalle foche all'uomo.

Per quanto riguarda il *Cetacean Poxvirus*, esso sembra essere specie-specifico e non è stato documentato alcun caso di acquisizione dell'infezione da parte dell'uomo. È comunque raccomandabile che le persone (soprattutto se immuno-compromesse) a contatto con cetacei vivi o carcasse presentanti *tattoo lesions* indossino guanti (Van Bresse et al., 2009a).

#### West Nile Virus

Il virus della *West Nile* (WNV) è un virus a RNA a singolo filamento della famiglia *Flaviviridae* e appartenente al gruppo antigenico delle encefaliti giapponesi. Il WNV è stato associato a un'ampia varietà di manifestazioni cliniche sia nell'uomo sia negli animali, che vanno da un'infezione asintomatica a morte improvvisa. Il virus può infettare circa 250 specie di animali (Wilkins & Del Piero, 2004), tra cui figurano i mammiferi marini. L'infezione si perpetua attraverso le zanzare, soprattutto del genere *Culex*, le quali fungono da vettore del virus amplificandone la carica virale.

#### Segni clinici nei mammiferi marini

Fino ad ora sono stati documentati solo due casi di infezione nei mammiferi marini.

Del Piero et al. (2006) hanno descritto il caso di una polioencefalomielite sostenuta da WNV in una foca comune (*Phoca vitulina*) detenuta in un acquario. L'animale presentava da 9 giorni una sintomatologia clinica caratterizzata da anoressia, diarrea e vomito intermittenti, dispnea, progressivi tremori della testa, rigidità muscolare, spasmi involontari, difficoltà di deglutizione, debolezza delle pinne posteriori, ammiccamento e movimenti involontari della bocca e spasmi clonici di testa e collo. L'animale morì e in seguito ai test sierologici si evidenziò la sieroconversione verso il WNV, quando quattro mesi prima dell'insorgenza dei segni clinici i test sierologici erano risultati negativi. Le foche, come anche i cavalli, i cani e l'uomo, possono quindi essere un ospite finale (*dead end host*) del virus. *West Nile Virus* può essere considerato un agente patogeno importante e sporadico per le foche, in grado di indurre manifestazioni neurologiche apprezzabili in regioni in cui il ciclo dell'infezione enzootica può svilupparsi ed essere mantenuto.

St. Leger *et al.* (2011) hanno descritto il caso di un'orca (*Orcinus orca*) morta improvvisamente in un acquario in Texas nel 2007. All'esame necroscopico fu evidenziata una encefalite non purulenta e tramite la PCR fu identificato il virus della *West Nile*. Inoltre l'esame immunostochimico sul tessuto cerebrale confermò la presenza di tale virus. Furono effettuati anche test sierologici per valutare l'esposizione al WNV in altri due gruppi di orche: il gruppo a cui apparteneva l'orca infetta e un gruppo presente in un altro acquario geograficamente distante. I test risultarono positivi nelle orche dello stesso acquario e negativi per le altre, dimostrando la possibilità dell'instaurarsi di un'infezione subclinica e che l'esposizione può essere variabile; infatti le differenze relative alla prevalenza del WNV nella zona oggetto dell'indagine e il numero di zanzare in essa presenti possono aver influito nei risultati sierologici. Il galleggiare sulla superficie dell'acqua è un comportamento che si accentua negli animali detenuti in cattività ed è ritenuto determinante per l'esposizione alle zanzare e quindi al virus.

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

All'esame necroscopico, a livello cerebrale sono stati descritti iperemia meningea ed emorragie petecchiali parenchimali (St. Leger *et al.*, 2011; Del Piero *et al.*, 2006). Istologicamente sono state evidenziate vasculite multifocale subacuta ed encefalite non purulenta (St. Leger *et al.*, 2011; Del Piero *et al.*, 2006).

#### Segni clinici nell'uomo

L'infezione da WNV nell'uomo può decorrere in maniera asintomatica o manifestarsi sotto forma di sindrome febbrile, fino ad arrivare a manifestazioni gravi quali encefalite, meningite e paralisi flaccida acuta, con esito anche fatale (Kramer *et al.*, 2007).

L'epidemiologia del WNV è cambiata notevolmente negli ultimi decenni, infatti attualmente il virus è presente in tutti i continenti, con un aumento continuo dei nuovi casi di infezione nell'uomo, tuttavia molti aspetti relativi all'infezione rimangono ancora da chiarire (Kramer *et al.*, 2007). Finché non si comprenderanno meglio le implicazioni di questa infezione nei mammiferi marini, i biologi e i veterinari che lavorano con cetacei e pinnipedi dovrebbero considerare la possibilità che possa avvenire la trasmissione dell'infezione.

Una potenziale escrezione virale potrebbe verificarsi attraverso la cavità orofaringea e le feci, come anche attraverso il sangue e gli organi durante le necroscopie (St. Leger *et al.*, 2011).

Ad ogni modo, nelle zone in cui l'infezione risulta essere endemica, l'uomo e i mammiferi marini che condividono uno stesso ambiente hanno la stessa possibilità di contrarre l'infezione attraverso la puntura delle zanzare.

#### Altri agenti virali

I *Calicivirus* (*San Miguel Sea Lion Virus*, SMSLV) sono stati isolati fin dal 1972 da una gran varietà di mammiferi marini (Smith & Boyt, 1990), nei quali determinano prevalentemente la formazione di vescicole cutanee. Nei delfini, le lesioni vescicolari sono state osservate in associazione a *tattoo lesions* e cicatrici (Smith *et al.*, 1983). Nei pinnipedi, le vescicole sono localizzate prevalentemente a livello di superficie dorsale delle pinne.

Le vescicole possono avere dimensioni tra 1 mm e 3 cm di diametro, ma possono confluire e formare bolle. In base alla gravità delle lesioni, la risoluzione può avvenire tra 1 e 9 settimane (Gage *et al.*, 1990).

Nei mammiferi marini sono stati isolati oltre 20 sierotipi differenti di *Calicivirus* (Smith & Boyt, 1990). Si è notato che il SMSLV è indistinguibile dal virus responsabile dell'esantema vescicolare del suino (SVE), patologia comparsa per la prima volta negli Stati Uniti nel 1932 (Smith & Madin, 1986). Per questo motivo i mammiferi marini sono considerati uno dei *reservoir* del virus nell'oceano (Smith *et al.*, 1998), ma sono probabilmente i pesci e i loro prodotti i responsabili della trasmissione del virus dal mare alla terra (Smith *et al.*, 1980).

Non sono stati accertati casi di trasmissione di *Calicivirus* marini all'uomo, ma considerando la capacità di questi virus di infettare un'ampia varietà di specie, è un'evenienza che non si può escludere.

A sostegno di questa ipotesi può essere citato il caso di un biologo che, a seguito del contatto con una foca presentante lesioni vescicolari sulle pinne, sviluppò vescicole a livello oculare (Smith *et al.*, 1978).

#### AGENTI MICOTICI DI ZOONOSI NEI MAMMIFERI MARINI

##### *Lacazia loboi*

*Lacazia loboi* è un fungo dimorfico non coltivabile, agente eziologico della lobomicosi, una micosi cronica cutanea riportata nei tursiopi (*Tursiops truncatus*), nei delfini di fiume (*Sotalia guianensis*) e nell'uomo (Caldwell *et al.*, 1975; Symmers, 1983; Paniz-Mondolfi *et al.*, 2007; Van Bresse *et al.*, 2007). La patologia è stata descritta per la prima volta nell'uomo nel 1931 dal dermatologo Jorge Lobo in Brasile (Lobo, 1930, 1931). In mancanza di una diagnosi istologica, ma in presenza di reperti anatomopatologici riconducibili a lobomicosi, si parla di "*Lobomycosis-like disease*" (LLD).

L'acqua, la terra e la vegetazione sono considerati gli habitat ecologici del fungo, che può penetrare la cute in seguito a traumi accidentali (Paniz-Mandolfi *et al.*, 2007). I regolari report pubblicati su casi di lobomicosi in delfinidi e persone che vivono in ambienti costieri, rendono evidente che anche

l'ambiente acquatico marino rappresenta un habitat ideale per il fungo e una possibile fonte di trasmissione (Paniz-Mandolfi *et al.*, 2012).

Le cellule di *L. loboi* rinvenute nei tessuti infetti dei tursiopi sono significativamente più piccole di quelle trovate nell'uomo; ciò suggerirebbe che questo patogeno può non essere identico nei due ospiti (Haubold *et al.*, 2000). Ad ogni modo, i dati sierologici indicano che delfini e umani vengono infettati da varianti simili di *L. loboi* (Mendoza *et al.*, 2008).

### Segni clinici nei mammiferi marini

Nei delfinidi le lesioni sono caratterizzate da lesioni verrucose con variazioni che vanno dal grigio, al bianco, al rosa chiaro, spesso in rilievo, che possono ulcerare e formare placche con un diametro anche di 30 cm (Bermudez *et al.*, 2009; Van Bresseem *et al.*, 2007).

Le lesioni si sviluppano soprattutto nelle zone più esposte e fredde del corpo: testa, dorso, pinna dorsale, fianchi, peduncolo caudale e coda (Murdoch *et al.*, 2008).

La patologia progredisce per anni anche sfigurando ampie aree del corpo. In natura non sono state osservate regressioni spontanee della malattia, ma, al contrario, si assiste a un progressivo peggioramento delle condizioni di salute degli animali, fino alla morte (Van Bresseem *et al.*, 2007, 2009b). È stato osservato che i delfinidi affetti da lobomicosi presentano una diminuzione della risposta immunitaria acquisita, probabilmente correlata all'esposizione cronica a fattori stressanti ambientali, quali inquinamento biologico e chimico delle acque, aumento delle temperature e variazioni di salinità, ma fattori specifici sono sconosciuti. (Reif *et al.*, 2006; 2008). Considerando che solo i delfinidi e l'uomo sono naturalmente suscettibili all'infezione da *L. loboi*, questi animali potrebbero rappresentare la specie-sentinella per l'emergenza di questa malattia infettiva (Reif *et al.*, 2006).

### Lesioni anatomo-isto-patologiche

Macroscopicamente, le lesioni cutanee osservate in delfini infetti da lobomicosi sono multiple, nodulari, dal bianco al rosa (Migaki e Jones, 1983; Moeller, 2002).

Istologicamente le lesioni sono riconducibili a una dermatite granulomatosa che coinvolge le papille dermiche. I granulomi sono costituiti da macrofagi e cellule giganti multinucleate che hanno fagocitato l'agente fungino. L'epidermide delle aree più affette è caratterizzata da acantosi (Migaki e Jones, 1983; Moeller, 2002). Le cellule fungine mostrano la tendenza a formare corte catene (Symmers, 1983).

### Segni clinici nell'uomo

La lobomicosi nell'uomo è stata inizialmente descritta negli abitanti nativi dell'Amazzonia, i quali presentavano lesioni cutanee multiple con aspetto nodulare (Lobo, 1930;

1931). Successivamente sono stati riportati numerosi casi in Sud e Centro America, dove sembra essere endemica (Paniz-Mandolfi, 2007). Inoltre la lobomicosi è stata recentemente descritta anche in Europa, Canada, Stati Uniti e Sud Africa, soprattutto in persone che hanno viaggiato in Sud e Centro America o che hanno avuto contatti con delfini infetti (Symmers, 1983; Burns *et al.*, 2000; Al-Daraji *et al.*, 2008).

Si ipotizza che i pazienti affetti da lobomicosi soffrano di disturbi immunoregolatori che potrebbero essere responsabili della mancata capacità di contenere il patogeno (Vilani-Moreno *et al.*, 2004).

La trasmissione si verifica attraverso il contatto diretto con animali infetti in seguito ad abrasioni o traumi cutanei (Migaki e Jones, 1983; Symmers, 1983).

Per quanto riguarda i casi documentati di acquisizione dell'infezione zoonotica, Symmers (1983) riporta il caso di un operatore di un acquario in Francia che a seguito del contatto con un tursiopo infetto da lobomicosi sviluppò dopo 3 mesi una lesione granulomatosa su una mano, accompagnato da linfadenite sopratrocleare. Nei campioni biotici prelevati sia dal delfino sia dall'uomo vennero individuati organismi fungini morfologicamente indistinguibili, identificati come *Lacazia Loboii*.

## AGENTI PARASSITARI DI ZONOSI NEI MAMMIFERI MARINI

### *Toxoplasma gondii*

*Toxoplasma gondii* è un protozoo intracellulare appartenente al phylum *Apicomplexa* che può infettare uomo e altri animali a sangue caldo, inclusi i mammiferi marini (Dubey *et al.*, 2003).

*T. gondii* è l'unica specie del genere *Toxoplasma* e, di questo, ne sono stati riconosciuti tre genotipi principali (più del 94% di tutti gli isolati) denominati Tipo I, II e III. Recentemente è stata individuata una nuova variante, identificata come Tipo X, isolata da lontre marine (*Enhydra lutris*), foche comuni del Pacifico (*Phoca vitulina richardsi*) e leoni marini californiani (*Zalophus californianus*) (Conrad *et al.*, 2005; Van Bresseem *et al.*, 2009a).

Classicamente il ciclo biologico di *T. gondii* (figura 1) prevede la presenza di felidi domestici e selvatici come unici ospiti definitivi per *T. gondii*, tuttavia molti mammiferi e uccelli possono rivestire il ruolo di ospiti intermedi (Miller *et al.*, 2008).

Durante il suo ciclo biologico *T. gondii* si presenta in vari stadi morfologici. In sede extraintestinale si possono sviluppare pseudocisti contenenti tachizoiti, la forma più attiva e proliferativa del parassita, e cisti contenenti bradizoiti, la forma resistente che caratterizza la fase cronica dell'infe-

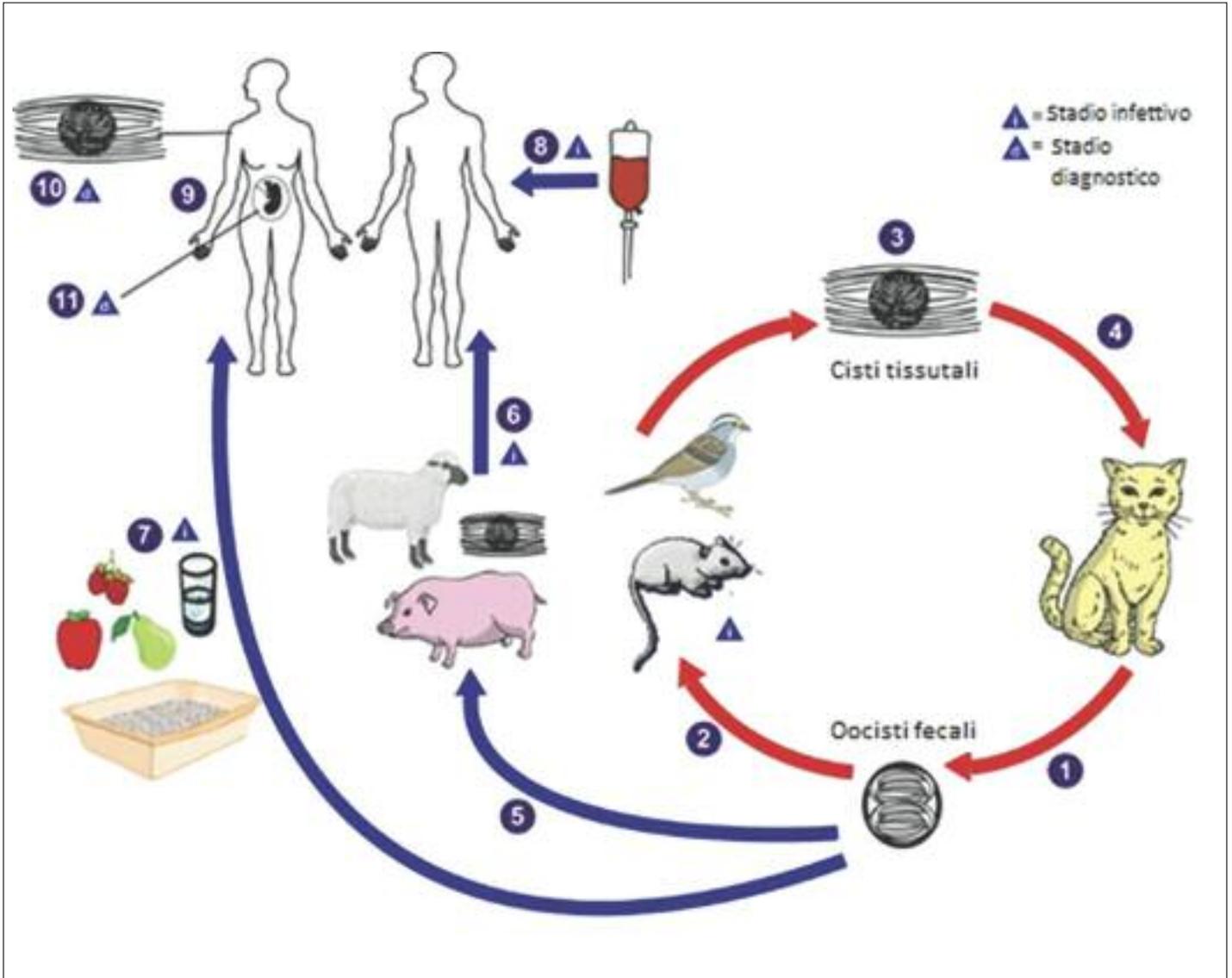


Figura 1. Ciclo biologico di *Toxoplasma gondii* (da CDC - Safer Healthier People - [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)).

zione, potendo persistere durante tutta la vita dell'ospite. In sede intestinale si possono formare schizonti, contenenti merozoiti, e gameti. Invece le oocisti costituiscono la forma di resistenza del parassita nell'ambiente e sono costituite da 2 sporocisti contenenti 4 sporozoiti ciascuna.

A livello di ospite definitivo avviene la riproduzione sessuata del parassita: in seguito all'ingestione di cisti o pseudocisti tissutali di ospiti intermedi o oocisti mature, avviene l'invasione degli enterociti dell'intestino tenue da parte del parassita, il quale si moltiplica fino a formare gli schizonti. I merozoiti in essi contenuti si differenziano in gamonti e in seguito alla fertilizzazione di questi si sviluppano le oocisti, le quali vengono rilasciate nell'ambiente con le feci in ma-

niera continua per 1-2 settimane e impiegano 1-5 giorni per sporulare e diventare infettanti.

All'interno degli ospiti intermedi si svolge invece la riproduzione asessuata del parassita: in seguito all'ingestione di acqua, piante e terreno contaminati da oocisti sporulate il parassita attraversa la barriera intestinale e per via ematogena invade vari tessuti. I tachizoiti si moltiplicano all'interno delle cellule dell'ospite e successivamente portano alla formazione di cisti tissutali contenenti bradizoiti. Le cisti tissutali si localizzano prevalentemente a livello di tessuto nervoso e muscolare, sebbene si possono rinvenire anche in organi viscerali quali polmoni, fegato e reni.



Anche l'uomo, in qualità di ospite intermedio, può contrarre l'infezione attraverso diverse vie:

- ingestione di carne cruda o poco cotta di ospiti intermedi contenente cisti tissutali;
- ingestione di acqua o cibo contaminati da feci di gatto o attraverso il contatto con ambienti contaminati (come terreno o cambiando la lettiera del gatto);
- trasfusioni di sangue o trapianto di organi;
- via trasplacentare dalla madre al feto.

Nell'uomo il parassita può formare cisti tissutali soprattutto in muscoli scheletrici, miocardio, cervello ed occhi. La diagnosi si effettua generalmente tramite la sierologia, oppure si possono osservare le cisti tissutali in campioni biotipici. La diagnosi di infezione congenita si può effettuare tramite la ricerca del DNA di *T. gondii* nel liquido amniotico per mezzo della PCR.

Anche nei mammiferi marini la diagnosi diretta si può effettuare tramite l'uso di tecniche molecolari come la PCR, ma anche per mezzo dell'immunostochimica (IHC) e dell'immunofluorescenza indiretta (IFI) su tessuti quali encefalo, polmoni, milza, ghiandole surrenali e linfonodi. La

sierologia si può effettuare tramite il test di agglutinazione modificato (MAT) o il test dell'immunofluorescenza indiretta (IFAT) per la ricerca degli anticorpi rivolti contro *T. gondii* (Dubey *et al.*, 2009; Di Guardo *et al.*, 2010).

#### Segni clinici nei mammiferi marini

Nei cetacei, la toxoplasmosi è stata segnalata per la prima volta in un esemplare di *Sotalia guianensis* dal Brasile (Bardoli & de Oliveira, 1977). Numerosi studi riportano l'infezione da *T. gondii* nei mammiferi marini, incluse foche, balene, delfini e lontre marine (Cole *et al.*, 2000; Lindsay *et al.*, 2001; Miller *et al.*, 2001b; Dubey *et al.*, 2003; Miller *et al.*, 2004; Thomas *et al.*, 2007). In queste specie *T. gondii* è stato associato ad aborto e a manifestazioni sistemiche letali, in maniera tale da essere considerato da molti un patogeno in grado di minacciare la conservazione delle popolazioni animali, come nel caso delle lontre marine (Conrad *et al.*, 2005; Van Bressemer *et al.*, 2009a). Nei cetacei l'infezione fetale trasplacentare è stata riportata in un grampo (*Grampus griseus*) e in un tursiopo (*Tursiops aduncus*) in cattività (Resendes *et al.*, 2002; Dubey *et al.*, 2003).



Nei pinnipedi, caratterizzati da una placenta di tipo endotelio-coriale, l'infezione può essere contratta attraverso il colostro o il latte, piuttosto che per via transplacentare (Measures *et al.*, 2004); il primo caso è stato documentato nel 1973 (Van Pelt & Dietrich, 1973) in un neonato di foca comune del Pacifico.

La toxoplasmosi nei cetacei in alcuni casi è stata associata a immunosoppressione conseguente a infezione da *Morbilivirus* *elo* ad alte concentrazioni di contaminanti ambientali, inclusi i policlorobifenili (PCB) (Di Guardo *et al.*, 1995; Mikaelian *et al.*, 2000). In aggiunta, l'infezione simultanea da parte di più parassiti, ad esempio *Toxoplasma gondii* in associazione a *Sarcocystis neurona*, può modulare la gravità della malattia. Questa associazione è comune ed è associata ad alta mortalità ed encefalite protozoaria grave (Gibson *et al.*, 2011).

L'encefalite è il reperto patologico più frequentemente riscontrato in corso di infezione da *T. gondii*, tuttavia oltre a disturbi neurologici quali atassia e incoordinazione nel nuoto, si possono osservare linfadenomegalia, debolezza, letargia, anoressia, splenomegalia, epatomegalia, miocardite,

dispnea e opacità corneale (Inskoop *et al.*, 1990; Resendes *et al.*, 2002; Bowater *et al.*, 2003; Dubey *et al.*, 2003).

Nelle lontre marine sono stati osservati gli stessi reperti patologici dei cetacei, e inoltre sono stati condotti test sierologici anche sugli animali vivi al fine di poter stimare la prevalenza dell'infezione, in quanto è considerata una delle maggiori cause di mortalità in questa specie (Dubey *et al.*, 2003; Conrad *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2009). Per di più, la lontra marina rappresenta una “specie sentinella” per ciò che riguarda l'inquinamento protozoario delle acque costiere. Questo concetto è molto importante, in quanto la lontra marina condivide con l'uomo lo stesso ambiente costiero e, in alcuni casi, gli stessi alimenti, come mitili e crostacei, perciò valutare la prevalenza di *T. gondii* in queste popolazioni permette di stimare un eventuale rischio di esposizione anche per l'uomo (Dubey *et al.*, 2003). L'esposizione a *T. gondii* delle lontre, come di tutti gli altri mammiferi marini, può avvenire in tre modi: ingestione di oocisti sporulate, ingestione di cisti tissutali in ospiti intermedi o trasmissione verticale (Conrad *et al.*, 2005).

È stato dimostrato sperimentalmente che le oocisti sporulano dopo 3 giorni in acqua marina artificiale a concentrazioni di 15 ppt e 32 ppt di NaCl, a 24°C; esse rimangono infettanti per almeno 6 mesi a temperature di 22-24°C (Lindsay *et al.*, 2003), mentre resistono anche 24 mesi a 4°C (Lindsay & Dubey, 2009).

Per spiegare la contaminazione dell'ambiente marino sono state formulate varie ipotesi, ma i meccanismi esatti di trasmissione devono ancora essere chiariti. Ad esempio, le acque reflue dalle attività umane contaminate da feci di gatto contenenti oocisti potrebbero inquinare le acque costiere, e inoltre i molluschi filtratori come i mitili potrebbero concentrare al loro interno le oocisti, rappresentando una fonte di infezione per tutte le specie che si alimentano di questi invertebrati marini, uomo compreso (Dubey, 2004; Fayer *et al.*, 2004). Un'altra ipotesi riguarda l'inquinamento delle acque costiere attraverso l'acqua proveniente dallo scioglimento delle nevi contaminate da feci di felidi selvatici (Simon *et al.*, 2013).

L'infezione di specie pelagiche di cetacei come *Grampus griseus* e *Stenella coeruleoalba* invece potrebbe essere dovuta all'acqua reflua da navi in presenza di scarse condizioni igieniche e di roditori, gatti o terreno contaminato a bordo (Van Bresse *et al.*, 2009a). I casi di toxoplasmosi nei cetacei riportati in Italia riguardano proprio alcuni esemplari di stenella sierologicamente positivi a *T. gondii* e presentanti meningoencefalite non purulenta con cisti parassitarie all'interno del parenchima cerebrale (Di Guardo *et al.*, 2010; 2011). Tuttavia il meccanismo attraverso cui i mammiferi marini sono in grado di infettarsi non è stato del tutto chiarito. Infatti non tutti i mammiferi marini, come ad esempio le lontre marine, si nutrono di animali a sangue caldo, i quali costituiscono una possibile fonte di cisti tissutali di *T. gondii*. Inoltre i delfini, nei quali l'infezione è stata descritta, traggono il proprio approvvigionamento idrico dall'alimentazione, composta da Cefalopodi, pesci e altri animali a sangue freddo, che non sembrano essere ospiti intermedi di *T. gondii* (Dubey *et al.*, 2003; Jones & Dubey, 2010).

#### Lesioni anatomo-isto-patologiche

I mammiferi marini infetti presentano in sede necroscopica meningoencefalite non purulenta, linfadenite, adrenalite necrotizzante, miocardite, polmonite interstiziale e lesioni sistemiche (Van Bresse *et al.*, 2009a).

All'esame istologico si possono evidenziare cisti tissutali contenenti numerosi bradizoiti all'interno del parenchima cerebrale. Alcune cisti possono essere circondate da noduli microgliali con necrosi evidente. Le meningi possono presentare infiltrazione di cellule mononucleate. Nella zona fascicolata della ghiandola surrenale possono essere presenti foci di necrosi diffusa, spesso confluenti. (Di Guardo *et al.*, 2011).

#### Segni clinici nell'uomo

La toxoplasmosi è una zoonosi presente in tutto il mondo; la sua prevalenza varia in base alle aree geografiche e aumenta con l'età. L'uomo si infetta con *Toxoplasma gondii* soprattutto tramite l'ingestione di carne cruda contenente cisti tissutali vitali o di acqua e cibo contaminati con oocisti provenienti da feci di felidi infetti (Jones & Dubey, 2010). Il consumo di carne di cetacei cruda o poco cotta, abitudine di alcune popolazioni (Cawthorn, 1997; Tryland, 2000; Muckle *et al.*, 2001; Clapham & Van Waerebeek, 2007), probabilmente rappresenta un rischio per la salute non completamente valutato (Van Bresse *et al.*, 2009a). Sarebbe necessario continuare a studiare le infezioni protozoarie nei mammiferi marini per poter comprendere meglio la relazione che sussiste tra la diffusione di un parassita terrestre e l'emergenza di questa malattia tra animali selvatici, animali domestici e uomo (Fayer *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2008).

La toxoplasmosi acquisita difficilmente si manifesta con sintomatologia clinica nelle persone immuno-competenti. La maggior parte delle infezioni decorre in forma asintomatica, ma occasionalmente si possono osservare sintomi lievi quali linfadenopatia, febbre, affaticamento, dolori muscolari, mal di testa e mal di gola (Dubey, 2004).

Manifestazioni cliniche più gravi, quali encefalite, miocardite, epatite e retinocorioidite, possono interessare persone immuno-compromesse, come i malati di AIDS (Ho-Yen, 1992; Dubey, 2008).

La toxoplasmosi congenita si sviluppa in seguito alla trasmissione materno-fetale del parassita e la gravità della malattia dipende dallo stadio di gravidanza durante cui avviene l'infezione. La manifestazione patologica più lieve nel bambino può essere una leggera diminuzione della vista, ma i bambini colpiti da alterazioni più gravi possono manifestare retinocorioidite, idrocefalo, convulsioni e calcificazioni intracerebrali (Dubey, 2004).

#### Conclusioni

Il rischio per l'uomo di contrarre una zoonosi dai mammiferi marini non è completamente stimato, anche in virtù del fatto che spesso i disturbi patologici che si sviluppano in seguito al contatto con questi animali non vengono adeguatamente presi in considerazione né dai diretti interessati, né dai medici umani. Infatti, la formazione del personale che lavora con i mammiferi marini è un punto fondamentale ai fini della prevenzione delle malattie a trasmissione zoonotica, nonché ai fini della loro corretta identificazione. In quest'ottica la collaborazione tra medici umani e medici veterinari è fondamentale per effettuare una corretta diagnosi e acquisire una conoscenza più ampia e completa della questione zoonosi. La difficoltà nella comprensione del problema si evince dalla paucità della casistica riportata in

letteratura in merito alle zoonosi contratte dall'uomo in seguito al contatto con i mammiferi marini. Inoltre per approfondire lo studio delle malattie a trasmissione zoonotica sarebbe auspicabile la realizzazione di programmi di screening su coloro che lavorano con i mammiferi marini e sugli animali stessi, effettuando ad esempio test sierologici per la ricerca di anticorpi o il test della tubercolina per individuare infezioni da micobatteri. In futuro si potrebbe effettuare un'indagine sul rischio di contrarre una zoonosi dai mammiferi marini, ad esempio con l'ausilio di un questionario da diffondere in tutte le strutture che ospitano questi animali. In questo modo si potrebbe effettuare una raccolta sistematica di dati da analizzare statisticamente, col fine di individuare potenziali fattori di rischio per i lavoratori a contatto con i mammiferi marini e comprendere come gli addetti ai lavori percepiscano il problema delle zoonosi.

Considerando che il contatto con animali, aerosol, feci e urine infetti è alla base della trasmissione delle infezioni zoonotiche, il corretto uso dei dispositivi di protezione individuale (DPI) rappresenta un requisito fondamentale ai fini della prevenzione. Guanti, mascherine, camici, occhiali sono necessari per limitare l'esposizione agli agenti patogeni durante necroscopie, manualità diagnostiche/terapeutiche, pulizia degli stabulari e interventi in caso di spiaggiamenti. A tal proposito, bisogna considerare che in Italia il flusso di intervento in caso di cetacei spiaggiati prevede l'intervento del personale della ASL e dell'IZS competenti per il territorio in cui avviene lo spiaggiamento, oltre al Gruppo Pronto Intervento (GPI) dell'Università di Padova. I medici veterinari dell'ASL sono tenuti ad occuparsi degli aspetti di sanità pubblica che comporta la presenza della carcassa di un cetaceo potenzialmente infetto da patologie a carattere zoonotico: implicazioni derivate dalla presenza/permanenza della carcassa in un luogo pubblico, problematiche legate al trasporto, individuazione di strutture/siti idonei per l'effettuazione della necroscopia, individuazione di strutture/siti idonei per il successivo smaltimento o recupero a fini scientifici. Inoltre il medico veterinario dell'ASL è coinvolto anche nella gestione dell'animale vivo, con la responsabilità di decidere se effettuare il rilascio, la riabilitazione o l'eutanasia di un cetaceo spiaggiato. Per tanto risulta evidente come la formazione di un medico veterinario che lavora nell'ambito della sanità pubblica debba comprendere la conoscenza delle malattie trasmissibili dai mammiferi marini all'uomo.

Un altro aspetto che andrebbe approfondito è la possibilità di trasmissione di agenti patogeni dai mammiferi marini ai

mammiferi terrestri e viceversa. Un esempio dell'importanza di indagare il flusso di patogeni tra mare e terra è rappresentato dalle infezioni sostenute da *Brucella ceti* contratte da persone che non avevano mai riportato contatti con mammiferi marini, ma consumavano abitualmente formaggi crudi. Sperimentalmente è stata dimostrata l'infezione di bovini con isolati di *Brucella* provenienti dai mammiferi marini, aprendo la strada all'ipotesi che l'infezione di specie terrestri con patogeni di origine marina sia una possibile via di trasmissione di tali agenti all'uomo. Al contrario, un esempio del flusso di agenti patogeni dai mammiferi terrestri ai mammiferi marini è rappresentato dall'infezione da *Toxoplasma gondii*, che rappresenta un'importante malattia emergente per molte specie di mammiferi marini a seguito del notevole impatto che comporta sulla conservazione delle popolazioni. Infine, sarebbe opportuno considerare la possibilità che avvenga la trasmissione delle infezioni in senso antropozoonotico, in quanto l'uomo può veicolare agenti patogeni per i mammiferi marini e contribuire alla diffusione di malattie sia nelle popolazioni selvatiche, sia tra gli animali detenuti in cattività.

L'analisi della tematica relativa agli agenti noti e presunti di zoonosi nei mammiferi marini mette in luce la necessità di continuare a studiare e analizzare vari aspetti di un quadro che risulta tuttavia molto complesso, in quanto comprende connessioni tra uomo, animali e ambiente in un'ottica globale, che non rispetta i confini tra terra e mare.

*Il presente lavoro è tratto dalla tesi di laurea della Dott.ssa Isabella Pizziferri, presentata e discussa presso il Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie dell'Università degli Studi di Parma nell'Anno Accademico 2013-2014; relatore prof. Gaetano Donofrio, correlatore Prof. Giovanni Di Guardo.*

#### **Ringraziamenti**

*Si ringrazia l'Istituto Universitario di Sanità Animale (IUSA) della Facoltà di Veterinaria di Las Palmas di Gran Canaria e in particolare il Professor Antonio Fernández e il Dottor Manuel Arbelo; il Professor Gaetano Donofrio dell'Università di Parma e il Dottor Vitantonio Perrone per la preziosa collaborazione.*

La bibliografia è disponibile  
presso la redazione:  
[argomenti@sivemp.it](mailto:argomenti@sivemp.it)