



LIGNES DIRECTRICES CONCERNANT LES MEILLEURES PRATIQUES ET
PROCEDURES POUR GERER LES EPISODES DE MORTALITE DES CETACES
DUS A LA POLLUTION CHIMIQUE, ACOUSTIQUE ET BIOLOGIQUE

**LIGNES DIRECTRICES CONCERNANT LES MEILLEURES PRATIQUES ET PROCEDURES POUR GERER LES
EPISODES DE MORTALITE DES CETACES DUS A LA POLLUTION CHIMIQUE, ACOUSTIQUE ET
BIOLOGIQUE¹**

**1. LIGNES DIRECTRICES CONCERNANT LES MEILLEURES PRATIQUES ET PROCEDURES POUR
GERER LES EPISODES DE MORTALITE DES CETACES DUS A LA POLLUTION CHIMIQUE,
ACOUSTIQUE ET BIOLOGIQUE**

**1.1 Rôle de la pollution chimique, biologique et acoustique dans les mortalités et les
maladies des cétacés**

1.1.1 Introduction

1.1.2 La pollution chimique

- 1.1.2.1 Les polychlorobiphényles
- 1.1.2.2 Les agents ignifuges bromés
- 1.1.2.3 Les hydrocarbures aromatiques polycycliques
- 1.1.2.4 Les composés perfluorés
- 1.1.2.5 Les métaux lourds

1.1.3 La pollution biologique

1.1.4 La pollution acoustique

- 1.1.4.1 Les signaux anthropogéniques des sonars
- 1.1.4.2 Les études sismiques

1.2 Phases préparatoires en cas d'épisodes de mortalité inhabituels et non-infectieux

***1.2.1 Infrastructures technique et administrative nécessaire à chaque Etat
Membre pour gérer au mieux les urgences dues morts de cétacés***

1.2.2 Liste de l'équipement

- 1.2.2.1 Matériel d'enregistrement
- 1.2.2.2 Nécropsie
- 1.2.2.3 Echantillonnage spécifique
- 1.2.2.4 Equipement minimum

1.3 Actions à engager lors d'épisodes de mortalité inhabituels et non-infectieux

***1.3.1 Protocoles pour la collecte, le transport et le stockage des spécimens et
des échantillons***

- 1.3.1.1 Protocoles pour la collecte d'échantillons
 - 1.3.1.1.1 Protocole pour les données de base
 - 1.3.1.1.2 Collecte d'échantillons spécifiques
 - 1.3.1.1.2.1 Appareil de reproduction
 - 1.3.1.1.2.2 Pollution biologique
 - 1.3.1.1.2.3 Pollution chimique
 - 1.3.1.1.2.4 Pollution acoustique

1.3.2 Protocol pour le transport et le stockage

¹ Document préparé par Dr Marie-Françoise Van Bresse, Cetacean Conservation Medicine Group, CMED/CEPEC, Cra 74,
139-33, Bogota, Colombia
E-mail: mfb.cmed@gmail.com

1.4 Actions à engager à la suite d'une épidémie

1.4.1 Débriefing

1.4.2 La communication

1.4.2.1 Le gouvernement local, les forces armées, le Ministère des Affaires Externes, le Ministère de l'Environnement, le Ministère de la Santé

1.4.2.2 Les scientifiques

1.4.2.3 La Presse

1.4.3 Le rapport préliminaire

1.4.4 Le suivi

2. EBAUCHE DU PLAN D'URGENCE

2.1 OSCB

2.1.1 L'équipe pour le support administratif

2.1.2 Les scientifiques

2.1.3 Les volontaires

2.2 Mémoire d'Entente entre les collaborateurs

3. GRANDES LIGNES D'UN PROGRAMME DE FORMATION

4. REMERCIEMENTS

5. LITTÉRATURE CITEE

1. LIGNES DIRECTRICES CONCERNANT LES MEILLEURES PRATIQUES ET PROCEDURES POUR GERER LES EPISODES DE MORTALITE DES CETACES DUS A LA POLLUTION CHIMIQUE, ACOUSTIQUE ET BIOLOGIQUE

1.1 Rôle de la pollution chimique, biologique et acoustique dans les mortalités et les maladies des cétacés

1.1.1 Introduction

Depuis la détection de mortalités massives chez les phoques (Osterhaus and Vedder, 1988) et chez les dauphins (Domingo *et al.*, 1990) depuis ces vingt dernières années, les maladies des mammifères marins ont attiré de plus en plus l'attention. Plusieurs micro- et macro-parasites qui peuvent influencer négativement la croissance de la population ont été identifiés (Van Bresseem *et al.*, 2009) et le rôle des polluants chimiques dans la facilitation de l'émergence d'épidémies de morbillivirus a été minutieusement étudié (Aguilar and Borrel, 1994; Ross, 2002). Il existe des preuves qui suggèrent que les polychlorobiphényles (PCB) et des composants associés ont pu être à l'origine de la sévérité des épidémies de morbillivirus chez les phoques et les cétacés de part leur toxicité pour le système immunitaire (Aguilar and Borrel, 1994; Ross, 2002). Plus récemment, les opérations de sonar à moyenne fréquence ont induit l'échouage en masse de cétacés en Europe, aux Etats-Unis et en Asie suite au syndrome de décompression et au syndrome d'embolie pulmonaire et de graisse (Jepson *et al.*, 2003; Fernandez *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2008). La pollution biologique devient également de plus en plus inquiétante à cause des agents terrestres pathogènes retrouvés chez les mammifères marins, à cause d'une augmentation significative des coliformes chez les phoques communs (*Phoca vitulina*) vivant près d'une zone urbaine et à cause des problèmes cutanés de causes diverses chez les odontocètes côtiers (Mos *et al.*, 2006; Van Bresseem *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2008). La pollution chimique et biologique augmentera probablement à cause du changement climatique (Boxall *et al.*, 2009).

Ci-dessous sont résumées des informations sur la pollution chimique, biologique et acoustique chez les cétacés et leur rôle dans la mortalité et les maladies des cétacés. Un aperçu particulier est donné aux effets de la pollution chez les mammifères marins vivant dans les eaux européennes, et spécialement dans la Méditerranée qui reçoit des contaminants organiques persistants des régions les plus contaminées dans le monde (Lelieveld *et al.*, 2002).

1.1.2 La pollution chimique

Pendant le 20^{ème} siècle, l'environnement en général a été contaminé par des contaminants organiques persistants, communément appelés « POP ». La contamination a eu lieu à cause de décharges volontaires et d'applications, mais aussi à cause de la formation insouciante de produits dérivés d'une combustion incomplète ou des déchets industriels. Les catégories de ces POP incluent les pesticides organochlorés (ex. DDT, le chlordane et le toxaphène), les biphényles polyhalogénés (PHB ; y compris les biphényles polychlorés PCB), les dibenzo-p-dioxines (PHDD ; y compris les dibenzo-p-dioxines polychlorées PCDD), les dibenzofuranes (PHDF ; y compris les dibenzofuranes polychlorés), les naphtalènes polychlorés (PCN), les hydrocarbures aromatiques polycycliques carcinogéniques (PAH) et certains agents ignifuges bromés. Plusieurs POP ont des propriétés semblables à celles des dioxines, i.e. elles s'attachent au récepteur « *Aryl hydrocarbon receptor* » (AhR) et engendrent des réponses toxiques. Les POP sont des produits chimiques liposolubles et sont résistants à la dégradation métabolique, facteurs qui résultent dans leur bioaccumulation dans les chaînes alimentaires aquatiques et dans leur persistance dans l'environnement (voir Ross, 2002; Tabuchi *et al.*, 2006).

Les proies provenant des environnements marins et d'eau douce, et la chaîne alimentaire terrestre sont les principales sources de ces contaminants pour les mammifères marins. Les POP peuvent s'accumuler en forte concentration, affecter les systèmes de reproduction, immunitaire et endocrinien et causer des cancers (Reijnders, 1986; De Swart *et al.*, 1994; Ross *et al.*, 1996). Les organismes appartenant au niveau trophique haut sont vulnérables à l'accumulation de POP en grande concentration, mais il existe une grande variabilité entre les espèces. Par exemple, les cétacés sont apparemment capables d'éliminer métaboliquement beaucoup de PCB, PCDD et PCDF semblables à des dioxines, mais ils sont sujets à l'accumulation de PCB non semblables aux dioxines (Tanabe *et al.*, 1988; Kannan *et al.*, 1989).

D'autres contaminants chimiques persistants et problématiques non inclus dans le groupe des POP incluent les composés organométalliques (composés chimiques utilisés dans les peintures antifouling) et le méthylmercure (une forme organique du mercure qui est très toxique) (revu dans Ross and Birnbaum, 2003). Les cétacés de Méditerranée sont exposés à un cocktail de composés toxiques, de temps en temps à de fortes concentrations, comme indiqué dans les données compilées ci-dessous.

1.1.2.1 Les polychlorobiphényles

Les PCB sont répandus dans l'environnement. Ils se bio-accumulent dans la faune et la flore sauvage occupant les hauts niveaux trophiques à cause de leurs caractéristiques chimiques et de leur persistance. Les pinnipèdes et les cétacés accumulent des niveaux élevés de PCB dans leur graisse car ils sont au sommet de la chaîne alimentaire, ont un large stock de lipides, ont une grande durée de vie et une capacité limitée pour la métabolisation et l'excrétion de composés tels que les *p,p*-DDT et les PCB (Aguilar *et al.*, 1999, 2002; Ross *et al.*, 2000). Les PCB sont immunotoxiques provoquant une atrophie du thymus et une réduction des fonctions des cellules T au travers d'un mécanisme commun d'action engendré par l'*AhR* (Silkworth and Antrim, 1985; Kerkvliet *et al.*, 1990) qui a été trouvé dans tous les mammifères étudiés, y compris dans plusieurs espèces de mammifères marins (Hahn, 1998).

Les études menées chez les phoques qui sont morts lors de l'épidémie de 1988 et en laboratoire ont démontré que : (1) les niveaux ambiants de contaminants dans l'environnement dans les harengs de la mer Baltique étaient immunotoxiques pour les phoques communs ; (2) le schéma des effets impliquait contaminants semblables aux dioxines ; (3) les PCB représentaient la principale classe de contaminants semblables aux dioxines ; (4) beaucoup de populations de pinnipèdes vivant en liberté avaient des niveaux de PCB qui excédaient ceux trouvés comme étant immunotoxiques dans l'étude des animaux en captivité ; et (5) les contaminants environnementaux ont probablement contribué à la sévérité de l'épisode de mortalité massive de 1988 (associée aux PDV) des phoques communs dans le nord de l'Europe (Ross, 2002). De façon similaire, les dauphins rayés (*Stenella coeruleoalba*) qui sont morts lors de l'épidémie de 1990-1992 avaient des charges significativement plus élevées de PCB que les individus qui ont survécu. Étant donné leur effet d'immunodépression bien connu, il a été suggéré que les PCB ont pu compromettre la réponse immunitaire du dauphin et fait accroître la sévérité de l'épidémie (Aguilar and Borrell, 1994). Bien que le rôle des contaminants environnementaux dans l'épidémie de morbillivirus de 2007 dans la Méditerranée reste peu concluant, des données récentes sur les polluants obtenues grâce à des analyses de biopsies provenant apparemment de dauphins rayés en bonne santé, en 1987-2002, ont suggéré que les concentrations en PCB et DDT ont graduellement diminuées (Aguilar and Borrell, 2005). Des études récentes ont montré une association significative entre les expositions chroniques aux PCB et les maladies infectieuses chez les phoques communs (*Phocoena phocoena*) des Îles Britanniques. Les individus qui sont morts en mauvaise santé avaient une somme des concentrations significativement plus élevée de 25 chlorobiphényles individuels ($\Sigma 25CB$) que ceux qui ont péri dans des morts traumatiques (Jepson *et al.*, 2005a, Hall *et al.*, 2006).

L'ensemble de ces données suggèrent que l'immunosuppression liée aux contaminants a contribué, en 1988, à la sévérité de l'épidémie du virus de la maladie de Carré chez les phoques communs et à l'épidémie de morbillivirus chez les dauphins en 1990-1992, et qu'elle a pu augmenter l'hypersensibilité des marsouins aux maladies infectieuses.

1.1.2.2 Les agents ignifuges bromés

Les agents ignifuges bromés (BFR) représentent un groupe de divers composés qui ont été largement utilisés pour traiter les matériaux combustibles, comme le plastique, le bois, le papier, et les textiles afin de satisfaire les mesures de sécurité par rapport au feu (Alaee *et al.*, 2003; de Wit, 2002). Les additifs des agents ignifuges, comme les polybromodiphényléther (PBDE) et les hexabromocyclododécane (HBCD), hexabromocyclododécane (HBCD), sont mélangés avec les polymères et peuvent s'échapper des produits (Alaee *et al.*, 2003). Etant des composés persistants dans l'environnement, résistants à la dégradation physique et biochimique et fabriqués en grandes quantités, les PBDE et les HBCD sont parmi les BFR les plus abondants détectés dans l'environnement (Alaee *et al.*, 2003). Initialement, les produits commerciaux majeurs, les formules de penta- et d'octabromodiphényléther, ont été interdits dans tous les traitements pour le Marché de l'Union Européenne en août 2004 (Union Européenne 2003). Le produit deca-mix a également été banni de l'Europe suite à une décision de la Cour de Justice Européenne en 2008. L'HBCD et le tetrabromobisphénol-A (TBBP-A) sont néanmoins largement utilisés. Les PBDE ont une structure similaire à la thyroxine (T4) et à la tri-iodothyronine (T3) (Hamers *et al.*, 2006). Les effets biologiques des PBDE chez les rongeurs sont à ceux des PCB, avec une augmentation des risques pour la reproduction, des problèmes endocriniens et des problèmes de développement neurologiques (Zhou *et al.*, 2002; Siddiqi *et al.*, 2006; Stoker *et al.*, 2004; Kuriyama *et al.*, 2005; Ellis-Hutchings *et al.*, 2006; Lilienthal *et al.*, 2006; Talsness, 2008). Les BFR affectent négativement la reproduction, le système immunitaire et le développement chez les mammifères exposés y compris chez les pinnipèdes et les cétacés (Law *et al.*, 2002, 2003, 2006a; Ross, 2005). Ils ont été détectés chez les cétacés en Europe, aux Etats-Unis et en Asie (Isobe *et al.*, 2007; Law *et al.*, 2008, Johnston-Restrepo *et al.*, 2008). La hausse des tendances dans les concentrations de HBCD dans la graisse a été observée chez les phoques communs échoués ou mourant d'un trauma physique le long des côtes des Iles Britanniques en 1994-2003 (Law *et al.*, 2008). Les PBDE ont également été détectés en Méditerranée chez les dauphins rayés, les grands dauphins, les dauphins de Risso, un globicéphale noir et un rorqual commun (Pettersson *et al.*, 2004). L'impact de ces contaminants sur les cétacés de Méditerranée est peu connu and devrait être étudié en profondeur (Fossi *et al.*, 2006).

1.1.2.3 Les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH) représentent une grande classe de molécules avec des anneaux de benzène condensé. Ils sont génotoxiques et peuvent provoquer des cancers chez les humains et les animaux (Mastrangelo *et al.*, 1996; Hakami *et al.*, 2008; Topinka *et al.*, 2008). Leur nature lipophile leur permet de traverser les membranes biologiques et de s'accumuler dans les organismes (Marsili *et al.*, 2001). Ils sont déversés dans l'environnement par des procédés naturels et humains y compris par la combustion du bois et des combustibles fossiles, par les huiles des plantes et les raffineries et les marées noires (Marsili *et al.*, 2001). Il a été estimé qu'un apport de 635000 tonnes de pétrole dérivé d'hydrocarbures contamine chaque année la Méditerranée (UNEP, 1988). Les PAH à faible poids moléculaires ont tendance à rester en solution et les organismes marins peuvent les ingérer et les respirer. Leur solubilité augmente avec la température. Les contaminants liposolubles s'accumulent dans la graisse et sont sollicités avec les réserves de gras pendant la maladie, la reproduction et la lactation, et le manque de nourriture (Marsili *et al.*, 2001).

La contamination de la rivière Saguenay et de la zone adjacente de l'estuaire du St Laurent par des PAH très toxiques tels que le puissant cancérigène benzo(a)pyrène (BaP) déversé massivement par

les fonderies locales d'aluminium pendant plus de la moitié d'un siècle et l'exposition des belugas (*Delphinapterus leucas*) à ces composés ont été suggérés comme étant la cause majeure de la prévalence importante de tumeurs malignes chez les belugas de l'estuaire (Ray *et al.*, 1991; Martineau *et al.*, 2002b). La totalité des PAH et les PAH carcinogéniques ont également été détectés dans la graisse sous-cutanée des rorquals communs (*Balaenoptera physalus*) et des dauphins rayés collectés le long de la côte italienne méditerranéenne en 1993 et 1996, avec le naphthalène pour composé omniprésent (Marsili *et al.*, 2001).

1.1.2.4 Les composés perfluorés

Les composés perfluorés (PFC) font référence à un groupe d'éléments chimiques fabriqué par les hommes et leurs précurseurs, fabriqués pour leurs propriétés de résistance à la chaleur, à l'huile, et aux tâches sur les produits. Appartenant à ce groupe sont les sous-groupes de PFC – les acides perfluorocarboxyliques (PFCA) qui incluent l'acide octanoïque perfluoré (PFOA) utilisé comme une aide de polymérisation dans la fabrication des polymères et des élastomères fluorés ; et les sulfonates alkyles perfluorés qui incluent perfluorooctane sulfonate (PFOS). Les alcools fluorotélomères sont les précurseurs des PFCA. Ils sont transformés dans le biota ou dans l'atmosphère pour produire des PFCA comme le très stable PFOA. Ce sont des polluants organiques persistants et ne sont pas connus pour se dégrader naturellement. Les PFC et les alcools fluorotélomères sont largement utilisés dans le traitement des produits des consommateurs y compris dans les lubrifiants, les détachants (pour les vêtements et les tapis), les préparations pour la nourriture (conditionnement anti-graisse et batterie de cuisine non-adhésive en téflon), les produits pharmaceutiques, les insecticides et les mousses anti-feu. Ils sont omniprésents et plusieurs d'entre eux ont des effets adverses sur le système neuroendocrinien et de reproduction, réduisent les chances de survie néonatale, sont carcinogéniques et immunotoxiques (DeWitt *et al.*, 2008, 2009a,b).

Une exposition au PFOS peut se produire par l'ingestion de poisson et d'eau contaminés, ou par un contact dermique avec des produits contenant du PFOS et par une exposition directement liée aux lieux de travail où il est fabriqué. Le PFOA est généralement trouvé dans le sang de la population humaine (Hansen *et al.*, 2001; Nakayama *et al.*, 2005). Les concentrations de PFOS chez les animaux des régions relativement plus peuplées et industrialisées, comme les Grands Lacs de l'Amérique du Nord, la mer Baltique et la Méditerranée, étaient plus importantes que celles trouvées chez des animaux vivant dans des régions marines plus isolées (Giesy and Kannan, 2001). Le PFOS et le PFOSA ont été trouvés chez des cétacés du monde entier y compris du Japon, de la Chine, du Brésil, des Etats-Unis et de la Méditerranée (Kannan *et al.*, 2001, 2002; Hart *et al.*, 2008; Yeung *et al.*, 2009). Le transfert transplacentaire s'est produit chez deux espèces au moins lorsqu'il y avait de très hauts niveaux (Dorneles *et al.*, 2008; Hart *et al.*, 2008). Le PFOS a été le composé chimique fluoré prédominant détecté dans les tissus analysés des odontocètes sauvages de Méditerranée (les dauphins communs à bec court *Delphinus delphis*, les grands dauphins communs *Tursiops truncatus*, les dauphins rayés et les globicéphales noirs *Globicephala melas*) et dans le sang des grands dauphins captifs nourris avec des maquereaux et des harengs pêchés en Méditerranée et avec des capelans pêchés dans la mer du Nord. La concentration la plus importante de PFOS a été observée dans le foie d'un dauphin commun (940 ng/g, poids mouillé) et était similaire à celles observées pour les dauphins de la côte de Floride (Kannan *et al.*, 2002).

Une étude récente des cultures de cellules épidermiques des grands dauphins suggère que l'exposition au PFOS altère significativement le schéma d'expression normale des gènes et cause une réponse cellulaire de stress, une diminution de la progression du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire et une traduction des protéines réduite (Mollenhauer *et al.*, 2009). Bien qu'aucun décès lié à ces composés n'ait été reporté, leur omniprésence, leur forte concentration dans plusieurs espèces, le transfert maternel et leur toxicité sont inquiétants.

Les mammifères marins accumulent d'importants taux de mercure (Hg) et de cadmium (Cd) (Wagemann and Muir, 1984; Aguilar *et al.*, 1999). La présence naturelle de ces éléments dans l'eau de mer a engendré des capacités de détoxification afin de supporter une exposition élevée aux métaux toxiques dans l'environnement (revu dans Das *et al.*, 2000). Le Cd peut être stocké pendant de longues périodes dans les reins des mammifères marins (Lahaye *et al.*, 2006). Chez les odontocètes, la déméthylation du Hg organique prend place dans le foie et conduit à la production de granules non toxiques de tiemannite qui ne sont pas excrétées (Martoja and Berry, 1980). Etant donné que ces granules ne sont pas excrétées, le Hg inorganique pourrait être stocké dans le foie pour la vie entière résultant dans des concentrations élevées de Hg dans cet organe (Nigro and Leonzio, 1996; Lahaye *et al.*, 2006). Le système immunitaire est sensible à l'exposition prolongée au mercure. La diminution de la viabilité, de l'activité métabolique et de la synthèse de l'ADN et de l'ARN a été observée *in vitro* dans des lymphocytes stimulés de phoques communs suite à une exposition supérieure à 1µM de méthylmercure (Das *et al.*, 2008). En plus de l'immunodépression, les polluants métalliques peuvent engendrer une augmentation de l'immunité conduisant à une hypersensibilité et à une réponse auto-immune (Kakuschke and Prange, 2007).

De fortes concentrations de Hg chez les phoques communs des eaux allemandes de la mer du Nord et de la mer Baltique ont été associées de manière significative avec la prévalence d'infections parasitaires et de pneumonies (Siebert *et al.*, 1999). Les concentrations moyennes du foie en Hg, Se, le ratio molaire Hg:Se et le Zn chez les phoques communs trouvés morts le long des côtes des Iles Britanniques étaient beaucoup plus élevées chez ceux qui étaient morts de maladies infectieuses que chez ceux qui étaient morts à cause d'un trauma physique (Bennett *et al.*, 2001). Du Hg et du Cd ont également été détectés dans le foie et les reins des grands dauphins de Méditerranée et des dauphins rayés, avec de fortes concentrations chez certains individus (Lahaye *et al.*, 2006).

1.1.3 La pollution biologique

Les écosystèmes côtiers sont perpétuellement envahis par des microorganismes provenant des eaux de ballast, des déchets de l'aquaculture, et de l'écoulement des eaux non traitées (Weber *et al.*, 1994; Rhodes *et al.*, 2000; Cabello, 2004, 2006; Drake *et al.*, 2007). La décharge d'eau, de sédiments et de biofilms provenant des eaux de ballast des containers de bateaux est un vecteur prééminent des espèces aquatiques invasives (Ruiz *et al.*, 2000; Drake *et al.*, 2007). L'utilisation en aquaculture d'une grande variété d'antibiotiques en grandes quantités, y compris les antibiotiques non-biodégradables utiles dans la médecine humaine, garantit que ceux-ci restent dans l'environnement aquatique en exerçant une pression sélective durant de longues périodes de temps. Ceci a résulté dans l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les environnements de l'aquaculture (y compris en Méditerranée), dans l'augmentation de la résistance aux antibiotiques des agents pathogènes chez les poissons et dans les altérations de la flore bactérienne aussi bien dans les sédiments que dans la colonne d'eau (Rigos *et al.*, 2004; Cabello, 2006). L'augmentation de la température de l'eau, une conséquence du réchauffement climatique, augmente probablement les chances de survie de quelques pathogènes bactériens marins comme les espèces de *Vibrio* et augmente le risque d'exposition (Pascual *et al.*, 2002). L'augmentation de l'exposition à des pathogènes dus à la pollution biologique a été détectée chez les phoques communs vivant à proximité de sites urbanisés le long des côtes de l'Etat de Washington et de la Colombie Britannique (Mos *et al.*, 2006). La contamination biologique est supposée avoir joué un rôle dans l'émergence de diverses maladies de peau observées chez les cétacés des Amériques et de l'Océan Indien (Van Bresse *et al.*, 2007; Flach *et al.*, 2008; Kiszka *et al.*, 2009).

1.1.4 La pollution acoustique

Les cétacés sont dépendants du son pour trouver de la nourriture, communiquer, détecter des prédateurs et naviguer. L'intensification de l'utilisation mécanisée de la mer, pour la navigation, les activités militaires, les explorations pour les hydrocarbures et le divertissement, augmente la quantité de bruit que les humains introduisent dans les océans, et parfois sur de très grandes distances. Le bruit anthropogénique sous-marin est un élément relativement nouveau dans l'environnement pour les cétacés et ils ne sont peut être pas capables de s'en accommoder (Simmonds *et al.*, 2004; Wright *et al.*, 2007).

Les sons sous-marins puissants causent des traumatismes sur les systèmes auditifs, et peuvent engendrer : (1) une désorientation, (2) une déconnexion du banc, du groupe ou de la communauté, (3) une hémorragie interne ; la rupture des tissus, la surdité et les échouages ainsi que des blessures physiologiques. Par exemple, l'exposition à un son inattendu et très fort peut effrayer une baleine habituée aux plongées profondes et la faire s'emballer vers la surface dans la panique – une ascension si rapide peut engendrer la formation de bulles dans les tissus (un état connu par les plongeurs comme étant un accident de décompression) puis conduire à un échouage (Weilgart, 2007).

Les sources anthropogéniques de bruit varient dans l'espace et le temps mais peuvent être regroupées en catégories généralisées : (1) les explosions, (2) les gros navires commerciaux, (3) les fusils à air comprimé et les autres dispositifs d'exploration sismique, (4) les sonars militaires, (5) les sonars de navigation et de découverte des fonds marins, (6) les sources de sonar de recherche, (7) les dispositifs de harcèlement acoustique (AHD) et les pingers, (8) les brise-glaces polaires, (9) les puits offshore et les autres activités industrielles, et (10) les petits navires, bateaux, et avions personnels (Hildbrand, 2005). Les paragraphes suivants résument les données sur les sonars militaires et les explorations sismiques.

1.1.4.1 Les signaux anthropogéniques de sonars

Le mot sonar est un acronyme de Sound Navigation and Ranging. Une grande variété de systèmes de sonar est utilisée pour des applications civiles et militaires. Ils créent intentionnellement une énergie acoustique pour sonder l'océan. Ils peuvent être catégorisés comme sonars à basse fréquence (<1kHz), à moyenne fréquence (1-20 kHz), et à haute fréquence (>20 kHz). Les sonars à basse fréquence active (LFA) sont utilisés pour une surveillance à grande échelle. Les sonars de moyenne fréquence de tactique pour la lutte anti-sous-marine (ASW) sont conçus pour détecter les sous-marins sur plusieurs dizaines de kilomètres. Ils sont incorporés dans les coques des navires pourchassant les sous-marins (Hildbrand, 2005). Tous les sonars actifs émettent des pulsations bruyantes ou « ping ». Ces sons rebondissent sur la surface de la cible (comme un sous-marin) and retournent sous forme d'échos qui sont détectés par les hydrophones.

Dans la dernière décennie, les multiples échouages en masse de baleines à bec ont été documentés à la suite d'une exposition acoustique à des sons anthropogéniques, surtout à des sonars à moyenne fréquence, en Europe, aux Etats-Unis et en Asie (voir Cox *et al.*, 2006 pour une revue). Ces échouages ont concerné les baleines à bec de Cuvier (*Ziphius cavirostris*), les Mésoplodons de Blainville (*Mesoplodon densirostris*), les Baleine à bec communes (*Hyperoodon ampullatus*) et les Mesoplodons de Gervais (*Mesoplodon europaeus*) (voir Cox *et al.*, 2006 et Simmonds *et al.*, 2004 pour les revues). Les baleines affectées avaient une condition appelée « gas and fat embolic syndrome » (GFES) caractérisé par une embolie gazeuse (bulles d'azote), un ensemble de lésions très similaires à l'accident de décompression (DCS) chez les plongeurs humains divers (Jepson *et al.*, 2003, 2005b; Fernandez *et al.*, 2005). La principale hypothèse est que le GFES est induit par une super-saturation du tissu N₂ couplée avec une réponse comportementale (augmentation ou diminution du temps de

surface, de la remontée, ou de la durée de plongée, conduisant à une augmentation de la supersaturation, et par conséquent augmentant les risques de DSC) en réponse à l'exposition acoustique (Jepson *et al.*, 2003; Cox *et al.*, 2006). D'autres suggestions incluent un signal acoustique qui pourrait (1) activer les noyaux de bulles stabilisées existantes leur permettant de grossir par diffusion passive, et/ou (2) conduire des bulles activées à se développer par une diffusion rectifiée (Cox *et al.*, 2006). Chacune de ces hypothèses assument que ces baleines à bec vivent avec une tension significativement élevée dans le sang et les tissus des niveaux de N₂, un fait supporté par un modèle mathématique récent (Hooker *et al.*, 2009). Dans la Méditerranée, des échouages liés à des tests acoustiques ont eu lieu en Grèce en mai 1996 (Frantzis, 1998).

1.1.4.2 Les études sismiques

Les fusils à air comprimé sismiques, utilisés par l'industrie du pétrole pour détecter les poches d'huile ou de gaz naturel à l'intérieur du sol océanique et par les chercheurs pour localiser les caractéristiques géologiques sous la surface de l'eau, résonnent comme une déflagration sous l'eau et par moment elle peut être entendue à travers tout le bassin océanique. De tels sons spontanés peuvent être excessivement nuisibles aux animaux qui en sont proches, mais peuvent également déranger les mammifères marins (effrayés à plusieurs reprises) au point d'abandonner leur habitat (Nieukirk *et al.*, 2004; Simmonds *et al.*, 2004). La possibilité que le bruit sismique conduise à des échouages et/ou à la mort de mammifères marins existe. En fait, deux baleines à bec de Cuvier se sont échouées dans le Golfe de Californie en septembre 2002 en même temps que des activités sismiques (Hildebrand, 2005). Pendant la période de reproduction de 2002, trois études sismiques menées dans la partie sud de l'Albrohols Bank, des Etats de Bahia et de Espírito Santo, Brésil, ont pu être responsables d'une augmentation du taux d'échouages des baleines à bosse adultes (*Megaptera novaeangliae*) (Engel *et al.*, 2004). Des dégâts auditifs peuvent avoir aussi indirectement causés la mort de baleines à bosse en compromettant leur navigation ou leur système sensoriel (Todd *et al.*, 1996).

1.2 Phases préparatoires en cas d'épisodes de mortalité inhabituels et non-infectieux

Les échouages de mammifères marins attirent beaucoup l'attention du public. Plusieurs dauphins peuvent s'échouer sur plusieurs semaines et le long de milliers de kilomètres de côte. Le degré de réponse de chaque pays dépendra de la présence de réseaux d'échouages actifs et de groupes de recherche sur les mammifères marins ainsi que de ses moyens économiques et logistiques. Certains pourraient être capables de procurer la plupart des infrastructures (scientifique, technique et administrative) nécessaires pour faire face à un échouage massif tandis que d'autres ne pourraient offrir qu'une aide réduite ou bien ne rien offrir du tout. La collaboration entre Etats Membres sera un plus pour pouvoir gérer efficacement ces événements. La création d'un Sous Comité expert dans les morts inhabituelles des cétacés (EMCI) à l'intérieur du Comité Scientifique d'ACCOBAMS permettrait d'optimiser la réponse aux morts subites dans la Zone de l'Accord. Le Sous Comité de l'EMCI devrait posséder, dans l'idéal, l'équipement décrit dans la section 1.2.2.1-1.2.2.3. Néanmoins, beaucoup de choses peuvent être réalisées avec un équipement et une infrastructure réduits (1.2.2.4).

1.2.1 Infrastructures technique et administrative nécessaires à chaque Etat Membre pour gérer au mieux les urgences causées par les épisodes de mortalité des cétacés

Chaque Etat Membre devrait avoir au moins un coordinateur sur place (CSP) qui contacterait le Sous Comité du EMCI et tout autre institution pertinente au cas où une mortalité de masse serait suspectée, enverrait les données à MEDACES (http://medaces.uv.es/home_eng.htm), s'occuperait du public et des médias, s'assurait que les échantillons nécessaires seraient prélevés, serait

responsable d'obtenir tous les permis nécessaires et s'occuperait des carcasses. Le CSP devrait dans l'idéal dépendre d'un atelier d'échouage existant, d'un musée de sciences naturelles, d'une université ou d'un ministère (Agriculture, Environnement, Pêche). Il devrait collaborer avec les organismes nationaux existants reliés à l'échouage des mammifères marins tels que les réseaux d'échouages actifs, les groupes de recherche sur les mammifères marins, les centres de secours et de préservation de la faune et de la flore, les aquariums, les gardes-côtes, les responsables de parcs, la marine et les autorités locales.

Il doit également être établi des Memoranda d'Accord (MOA) avec la Marine qui pourrait être directement impliquée dans les activités de sonar mais également avec les Compagnies d'Hydrocarbures impliqués dans les études sismiques. Idéalement, le MOA avec la Marine doit permettre la collaboration des Forces Navales et de l'EMCI lors d'échouages possiblement liés à des activités de sonar en autorisant l'utilisation de leurs avions, hélicoptères, bateaux et/ou camions pour le transport des personnes, des animaux ou une assistance dans les études aériennes afin de discerner l'étendue d'un tel événement. Le MOA avec les Compagnies d'Hydrocarbures doit faciliter l'accès aux observateurs de mammifères marins de l'EMCI sur leurs bateaux. L'EMCI doit également lancer un accord avec les universités ou les institutions médicales voulant offrir un examen tomographique gratuit de la tête du cétacé échoué lors d'opérations acoustiques et avec les universités ou les instituts de recherche intéressés pour collaborer sur la contamination chimique et biologique. L'EMCI doit avoir toutes les adresses et les numéros de téléphone nécessaires en cas d'urgence mais également un protocole précis de prélèvement d'échantillons pour la recherche.

L'infrastructure technique et administrative de base de l'EMCI devrait comporter :

- Une permanence téléphonique opérant 24/24 et sept jours sur sept et dédiée à enregistrer tout échouage survenant le long de la côte
- Un ordinateur avec un accès Internet
- Une imprimante
- Des téléphones portables
- Un GPS pour enregistrer les positions des échouages
- Des caméras digitales
- Un lecteur DVD
- Une bibliothèque spécialisée dans les mammifères marins
- Une centrifugeuse pour remuer les échantillons de sang
- Un grand frigo pour conserver les échantillons à 4°C
- Un congélateur à -80°C pour conserver les échantillons sur de plus grandes périodes
- Un site web décrivant les activités du OSBC ainsi que les noms des personnes responsables et à contacter dans le cas d'une épizootie
- Une base de données sur les différents cas de mortalité chez les cétacés
- Du matériel éducatif

1.2.2 Liste de l'équipement

1.2.2.1 Matériel pour enregistrer

- | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ○ Des crayons étanches | ○ Un appareil photo, des piles supplémentaires, un caméscope et des cartes de mémoire supplémentaires |
| ○ Des porte-papier métalliques, des étiquettes étanches | ○ Un mètre d'au moins 20m (en plastique et métallique) |
| ○ Des formulaires de données, des formulaires décrivant les protocoles de nécropsie et de collecte des échantillons | ○ Une grue/ un appareil de levage, une balance pour enregistrer le poids des organes (0,1-10kg) |

1.2.2.2 La Nécropsie

- Une corde d'au moins 20m de long, des couvertures, un brancard pour bouger les gros animaux, si nécessaire
- Des gants (non-poudrés, en vinyle)
- Les instruments standards de nécropsie. Plusieurs scalpels, plusieurs lames, des ciseaux, des pinces et des couteaux
- Un aiguiseur, si possible correctement emballé
- Des couteaux à dépecer et des crochets avec l'aiguiseur approprié, une tronçonneuse, une hache ou une disceuse pour couper le crâne, la cage thoracique et les vertèbres
- Des marteaux, des burins et des scies à main
- Des rétracteurs de forme et de taille différente
- Des instruments stériles pour la collecte des échantillons
- Des sachets étanches
- Des récipients et des tubes
- Des seaux
- Des torches avec des piles et des ampoules supplémentaires
- Des containers (du tube à la poubelle) pour la collecte des échantillons ainsi qu'une glacière, de la neige carbonique et si possible du nitrogène liquide
- Un générateur à essence et des lumières d'inondation avec des ampoules supplémentaires et de l'essence
- Des lumières
- Une scie portable ou électrique
- Une source d'eau accessible avec un tuyau
- Des sacs poubelle, du liquide vaisselle, et des serviettes en papier pour le nettoyage

1.2.2.3 Echantillonnage spécifique (pollution chimique, biologique et acoustique)

- Une solution tampon de formol à 10%
- Une solution tampon de glutaraldéhyde à 2.5% et/ou une solution de paraformaldéhyde à 4% (pour la transmission et le microscope scanner à électrons)
- Diméthylsulfoxyde (DMSO)
- Du chlorure de méthylène ou du méthanol
- De l'alcool isopropylique pour les échantillons contaminés
- Des containers propres et fermés pour les échantillons contaminés
- Des sacs en téflon pour les échantillons contaminés (préalablement nettoyés)
- Des aiguilles et des seringues
- Des seringues contenant de l'héparine
- De l'acide éthylène diamine tétra acétique et des tubes contenant de l'héparine
- Des tubes à essai de culture pour la microbiologie
- Un moyen de transport pour la microbiologie et la culture des cellules
- Des cotons stériles
- Des coupelles à urine stériles
- Des lames de verre
- Des tubes à sérum pour collecter le sang et l'urine et un réchaud pour cautériser la surface des organes et stériliser les lames de scalpel
- Des glacières pour la réfrigération des échantillons
- Du nitrogène liquide si possible

1.2.2.4 Equipement minimal

L'équipement minimum suivant permet aussi de document l'évènement et de prélever des échantillons de grande valeur provenant de dauphins morts récemment. Dans ce cas, tous les échantillons pour la toxicologie doivent être conséquents de façon à pouvoir réaliser d'autres analyses en utilisant des instruments inoxydables.

- L'équipement d'enregistrement (des crayons étanches, des porte-blocs métalliques, des étiquettes étanches, des formulaires pour les données et les formulaires des protocoles de prélèvement)
- Un appareil photo
- Un téléphone portable
- Des seaux
- Des couvertures
- Des vaporisateurs
- De l'oxyde de zinc, des pelles
- Des gants, des bottes en plastique et des masques
- De grandes housses de plastique
- Des couteaux de boucher
- Des scies de boucher
- Un scalpel et des lames de rechange
- Des récipients et containers
- Des sacs en plastique
- Des feuilles d'aluminium
- Des cordes

1.3 Actions à prendre lors d'une épizootie

Plusieurs situations peuvent prendre place lors d'une épizootie :

- Différentes plages peuvent avoir un seul dauphin échoué mort ou agonisant
- Plusieurs dauphins échoués sur le même rivage
- Des dauphins échoués morts et vivants sur la même plage

Dans tous les cas, une excellente coordination, entre le personnel du CSP, le Sous Comité de l'EMCI et les autres organisations spécialisées dans ces événements et les institutions militaires est la clé d'une réponse réussie. Les protocoles donnés ci-dessous sont largement basés sur Geraci & Lounsbury (2005). La deuxième édition de '*Marine Mammal Ashore : A Field Guide for Strandings*' donne des informations approfondies sur comment gérer des dauphins ou des baleines échoués morts ou vivants. Une ou plusieurs copies devraient être dans les bibliothèques de tous les organismes impliqués. Il serait sage d'en avoir une copie sur le terrain. Plusieurs articles cités dans le présent document sont disponibles en ligne ou sur demande aux auteurs et il serait utile de les avoir dans une bibliothèque pour des informations plus complètes.

1.3.1 Protocoles pour la collecte, le transport et le stockage des spécimens et des échantillons

1.3.1.1. Protocoles pour la collecte d'échantillons

Avant toute collecte d'échantillons, quelques données de base doivent être collectées de manière à connaître certains paramètres biologiques indispensables. Noter l'état général de la baleine ou du dauphin est important de façon à déterminer quels échantillons doivent être prélevés en priorité.

Seuls les échantillons prélevés sur des animaux morts récemment ou légèrement décomposés valent la peine pour la microbiologie. Ces échantillons doivent être prélevés de manière aussi stérile que possible. Dans l'idéal, la nécropsie sera pratiquée par un scientifique et un assistant prendra des notes.

Après la collecte des données de base, le corps peut être ouvert, préférablement sur une large bâche en plastique ou sur une table d'autopsie. Tous les instruments nécessaires, les sacs, les récipients et containers avec ou sans liquides doivent être propres, stériles et à portée de main avant de pratiquer la première incision. Un assistant devra étiqueter les containers, prendre des notes et des photos.

Les containers en verre ou les sacs en téflon sont recommandés aussi bien pour les analyses des composés organiques que des métaux lourds. Bien que les containers en verre aient un couvercle doublé de téflon, les couvercles doublés d'aluminium sont acceptables pour l'analyse des composés organiques. Les bouchons pour les échantillons doivent être nettoyés avec un détergent, rincés à l'eau du robinet, trempés dans l'acide 1:1, rincés avec une eau déminéralisée, puis encore rincés avec du chlorure de méthylène hautement pur ou du méthanol (PSEP 1989a,b). Les containers doivent être conservés couverts et scellés après le nettoyage et avant la collecte des échantillons. La manipulation des containers doit être réduite au minimum et l'intérieur du container ne doit pas être touché par autre chose que l'échantillon. La contamination croisée doit être évitée. Le scalpel et les forceps doivent être nettoyés après chaque prélèvement d'échantillons. Toutes les surfaces de tissus qui entrent en contact avec des instruments qui n'ont pas été nettoyés (ex. la graisse lorsque le corps a été ouvert) doivent être coupées avec des instruments propres. L'échantillon ne doit être en contact avec la partie externe du container ni avec le sol. Lorsque les conditions ne sont pas idéales et que la stérilité n'est pas garantie, prélever un gros morceau (300-400gr) du tissu requis aussi proprement que possible. Noter si le couteau est ferreux ou inoxydable ou en acier. Les gros échantillons peuvent être collectés dans des feuilles d'aluminium, des sacs en plastiques ou des seaux. Ils doivent être scellés, étiquetés à l'aide d'un stylo waterproof, placés dans une glacière avec de la glace et transportés rapidement au laboratoire.

Les échantillons de peau destinés à la culture de cellules doivent être collectés dans un milieu de culture avec des antibiotiques et des antifongiques et conservés dans la glace. Ils doivent être analysés dans les 24h. Ces échantillons de peau ne doivent être collectés que si un accord existe avec une université ou un institut de recherche.

De petits échantillons (1cm³) représentatifs de tous les organes et de tous les tissus de cétacés fraîchement morts doivent être rapidement fixés dans une solution tampon neutre de formol à 10% pour l'histopathologie. Le pancréas fixé le plus rapidement possible, étant donné l'hypersensibilité de cet organe et sa tendance à s'autolyser *post mortem*. Le fixatif contenant les échantillons de tissus ci-dessus doit être remplacé avec une nouvelle solution de formol après 24h.

S'il y a une suspicion d'échouages liés à l'utilisation de sonars, et s'il y a la possibilité de faire une tomographie et si les spécimens sont suffisamment récents, la tête entière doit être prélevée et maintenue dans la glace ou à une température de 4°C jusqu'à ce que l'examen ait lieu.

Les échantillons pour la microbiologie (lésions de la peau, sang, etc.) doivent être seulement prélevés de cétacés récemment morts, collectés dans un container scellé précédemment nettoyé et stérilisé contenant un milieu pour le transport, identifiés et gardés dans la glace ou à 4°C. Si les tests en laboratoire ne sont pas planifiés dans les jours qui suivent alors les congeler à -80°C.

1.3.1.1.1. Protocole pour les données de base

- Chercheur
 - nom,
 - téléphone
 - email
- Date :
- Lieu de l'échouage :
- Présence d'autres animaux marins morts :
 - Espèce:
 - Nombre (estimation):
- Indication d'une prolifération d'algues : OUI/NON
- Numéro du terrain :
- Espèce² :
- Sexe³ :
- Taille standard du corps⁴ :
- État général :
 - Vivant
 - Frais
 - Décomposition récente
 - Décomposition avancée
 - Momification
- Etat d'engraissement : gros, normal, maigre, émacié
- Indications de manœuvres pour des tests acoustiques⁵ :
 - Présence d'exercices de la marine OUI/NON
 - Nombre de bateaux :
 - Distance par rapport à la côte :
 - Extension de la zone :
 - Fréquence utilisée, date et heure des exercices :
 - Caractéristiques du navire (longueur, vitesse, cap) :
 - Identifier les caractéristiques clés des sons (ex. fréquence, amplitude, énergie, schéma directionnel de transmission, utilisation de plusieurs vs. Des sources seules, etc.)
 - Caractéristiques des paramètres environnementaux qui peuvent influencer la propagation du bruit
 - Comportement des cétacés avant l'échouage :
 - * *tournant en rond continuellement ou nageant au hasard dans un groupe très compact – avec ou sans un individu s'éloignant occasionnellement et nageant vers la plage : OUI/NON*
 - * *respiration anormale comprenant un rythme respiratoire croissant ou décroissant, contenu ou odeur anormaux : OUI/NON*
 - * *présence d'un individu ou d'un groupe d'une espèce qui n'a pas été historiquement vu dans un habitat particulier, par exemple une espèce pélagique dans une baie peu profonde lorsque les registres historiques indiquent que cela est un évènement très rare : OUI/NON*

² L'identification de l'espèce doit être faite par une personne qualifiée. Dans l'idéal une photo devrait être prise de chaque spécimen avec son numéro.

³ Une photo de la région génitale et son numéro aidera à la confirmation du sexe.

⁴ Préciser de quelle manière elle a été déterminée (les mesures doivent être prises parallèlement au corps du dauphin, e.g. longueur totale du rostre à la queue)

⁵ Cette liste de contrôle doit être remplie par un assistant ou un volontaire expérimenté pendant le principal chercheur continu à suivre le protocole.



**comportement anormal pour cette espèce, tel qu'une venue en surface anormale ou un schéma de nage anormal, et une apparence anormale : OUI/NON*

- Présence d'anormalités externes (surtout les saignements des yeux et des oreilles) : OUI/NON
 - Descriptions - photos
- Indication d'un bloom phytoplanctonique : OUI/NON
- Preuve d'interaction avec l'humain : OUI/NON
 - Marques de filets
 - Coupures
 - Blessures causées par un bateau
 - Description – photos
- Présence de lésions sur la peau et de blessures : OUI/NON
 - Description – photos
 - Collecte des échantillons dans le formol, DMSO et, si possible, geler à -80°C
- Lactation : OUI/NON

1.3.1.1.2. Collecte d'échantillons spécifiques⁶

1.3.1.1.2.1. L'appareil de reproduction

Les ovaires et les testicules doivent toujours être examinés, pesés, photographiés et collecter dans du formol à 10% (4% en fin de concentration) pour déterminer la maturité sexuelle. La présence ou l'absence de *corpora albicantia* et d'un *corpus luteum* doivent être notés. L'utérus doit être ouvert pour vérifier la présence d'un fœtus. S'il y en a un, il doit être mesuré, pesé et son sexe doit être déterminé. S'il est petit, il est à conserver dans le formol. La présence de sperme dans l'épididyme doit être recherchée. Un morceau d'au moins (1x1x1) cm de chaque testicule doit être prélevé et placé dans le formol. On peut répondre aux questions suivantes sur le terrain s'il y a suffisamment de temps sinon ce sera fait au laboratoire.

- Ovaires :
 - Présence de *corpora albicantia* : OUI/NON
 - Présence de *corpus luteum* : OUI/NON
- Fœtus dans l'utérus : OUI/NON
 - Sexe
 - Taille
 - Poids
- Testicules : OUI/NON
 - Droite:
Présence de fluide séminal
Taille
Poids
 - Gauche:
Présence de fluide séminal
Taille
Poids

⁶ Les protocoles pour les données de base et avancées sont aussi disponibles sur le site web de Medaces : http://medaces.uv.es/home_eng.htm

1.3.1.1.2.2. La pollution biologique

- Documenter, décrire et prendre des photos de tout changement dans la morphologie générale des organes.
- Prélever les lésions cutanées et les abcès sous-cutanés dans du formol à 10% (histologie) et dans des containers avec un milieu de culture (microbiologie).
- Prélevez des échantillons de 5 à 10 grammes des reins, testicules, de l'utérus, du placenta et du fœtus (si présent), des glandes mammaires, de la rate, des éventuels abcès sous-cutanés, gardez-les dans la glace et réfrigérez à 4°C ou congelez à -80°C si de longs délais sont inévitables (>24h) avant les analyses complémentaires. Lorsqu'il n'y a pas la possibilité de conserver dans le froid, de plus petits échantillons doivent être prélevés et conservés dans du DMSO. Conserver des échantillons de 1cm³ des mêmes organes dans du formol.
- Prélevez du fluide pleural et péritonéal, de l'urine et du pus provenant des abcès. Conservez-en la moitié dans containers aérobiques et l'autre moitié dans des containers anaérobiques. Gardez-les dans la glace et gelez-les à -80°C si un laboratoire n'est pas à portée de main.
- Prélever 5-10ml de sang directement dans le cœur après avoir désinfecter la surface avec de l'alcool et le mettre dans la glace. Vous pouvez essayer de centrifuger le sang et de prendre le supernatant avant de le congeler pour une prochaine hémolyse.
- Prélever de l'eau autour du site de l'échouage (de préférence avant que trop de monde arrive) dans un container stérile, sceller et mettre dans la glace avant de congeler.

1.3.1.1.2.3. La pollution chimique

Les organes suivants sont utiles pour évaluer l'amas de contaminants présents dans les cétacés :

- La graisse: prendre un gros échantillon (300-400 gr minimum) de graisse à peu près à 10 cm de l'évent en allant vers la queue ou directement sous la nageoire dorsale sur la ligne médiale, placer le dans une feuille d'aluminium, puis sceller le sac plastique avec le numéro du terrain et conserver dans la glace ;
- La peau : prendre un échantillon de peau propre de 10cm², la conserver dans un container avec un milieu de culture contenant des antibiotiques et des antifongiques, sceller, identifier et garder dans la glace ;
- Le foie : trancher 300 à 400gr en partant de la partie caudale du foie, placer le dans une feuille d'aluminium, puis dans un sac plastique scellé avec le numéro de terrain et garder dans la glace ;
- Le rein : prendre 500gr en partant de la partie caudale du rein gauche, placer le dans une feuille d'aluminium, puis dans un sac plastique scellé avec le numéro de terrain et garder dans la glace ;
- Le sang : prélever 50ml de sang dans un tube, sceller, identifier et garder dans la glace.

1.3.1.1.2.4. La pollution acoustique

Avec la suspicion d'échouages liés à l'utilisation de sonars, des arrangements doivent être pris pour faire une tomographie par ordinateur (CT) de la tête entière ou des oreilles et une évaluation détaillée du larynx doit être faite pour détecter une hémorragie submucosale. Des échantillons du tissu adipeux péribulbaire doivent être collectés pour des analyses histopathologiques. Les tissus de tous les organes doivent être prélevés, si c'est réalisable.

- Animal vivant
 - sang

- diagnostics tels que le potentiel auditif provoqué (AEP), la tomographie par ordinateur ou les ultrasons
- réhabilitation
- Animal mort
 - Lorsque c'est possible, prélever la tête pour un diagnostic en images y compris CT/MRI scans ou les ultrasons de la tête entière ;
 - Prélever des tissus (1cm³) de tous les organes et les conserver dans du formol à 10%, avec un accent sur le cerveau, le tissu périlbulbaire adipeux, l'hypophyse, les plexus choroïdes, la colonne vertébrale cervicale, le foie, les poumons, les reins, le cœur, les ganglions lymphatiques, le système digestif, le système de reproduction et les tissus périlaryngés, y compris la trachée, la thyroïde et les yeux. Tous les échantillons doivent être prélevés dans des sacs distincts et clairement identifiés.

1.3.2 Protocoles pour le transport et le stockage

Contacter le CITES local (http://www.cites.org/common/directy/e_directy.html) afin de connaître les conditions nécessaires à l'obtention des permis d'exportation des échantillons de cétacés. Contacter les laboratoires qui analyseront les échantillons et coordonner l'expédition des échantillons selon les procédures des lignes aériennes. S'assurer que quelqu'un réceptionnera les échantillons à leur arrivée et que la personne en charge n'est pas en vacance au moment où les échantillons sont expédiés. Garder un contact téléphonique et par email jusqu'à être sûr que les échantillons sont bien arrivés et ont été correctement stockés.

Microbiologie : Tous les échantillons récents doivent être conservés dans de la glace ou dans des packs de froid, à l'abri du soleil en attendant les analyses. Dès l'arrivée au laboratoire, ils doivent être maintenus à 4°C et immédiatement expédiés au laboratoire, si possible. S'il ya de longs délais, ils doivent être congelés à -20°C ou -80°C. Le stockage doit être organisé de manière à trouver facilement les échantillons lorsque le congélateur est plein. Un registre des lieux de conservation des échantillons doit être créé.

Toxicologie

L'analyse chimique : les échantillons en route pour le laboratoire d'analyse doivent être emballés dans de la neige carbonique. Néanmoins, si le délai de livraison est court (moins de 6 heures, e selon la température ambiante), les échantillons peuvent être livrés dans des glacières remplies de glace. Tous les échantillons pour la toxicologie doivent être conservés dans un congélateur à -20°C ou plus froid jusqu'à l'analyse. Le temps de conservation et les relevés de température doivent être enregistrés. Le temps de conservation maximal pour les tissus selon les lignes directrices du PSEP est d'un an pour les organiques (à l'exception des composés organiques volatiles, qui ont un temps de conservation maximal de 14 jours), 28 jours pour le mercure, et 2 ans pour tous les autres métaux.les échantillons conservés pour de plus longues périodes peuvent convenir à l'analyse de certains de contaminants, mais la convenance doit être évaluée en se basant sur les contaminants testés et ensuite décrite dans un rapport présentant les résultats pour ces échantillons.

Culture des échantillons de peau : les échantillons de peau qui seront utilisés pour la culture de cellules doivent être maintenus dans des packs de froid et envoyés dès que possible au laboratoire. Ils ne doivent jamais être congelés ni laissés sans glace.

La pollution acoustique

Avec la suspicion d'échouages liés à l'utilisation de sonars, des arrangements doivent être pris pour faire un CT de la tête entière ou des oreilles et une évaluation détaillée du larynx doit être faite pour

détecter une hémorragie submucosal. Des échantillons du tissu adipeux périfulbaire doivent être collectés pour des analyses histopathologiques.

1.4 Activités à mettre en œuvre après un échouage

1.4.1 Le débriefing

Organisez un débriefing avec toutes les personnes impliquées dans l'échouage et leur demander leur avis sur ce qui s'est passé, le nombre de dauphins qu'ils ont compté et secouru, la présence d'autres animaux marins sur la plage, si selon eux la réaction à l'échouage était adéquate, quel matériel manquait. Remerciez tous les volontaires pour leur aide et distribuez toute nouvelle documentation et tout nouveaux stickers. Parlez avec les pêcheurs, les militaires et les locaux et demandez s'ils ont observé la présence d'espèces inhabituelles durant les jours qui ont précédés l'échouage, si les cétacés connus pour vivre dans la région ont montré un comportement inhabituel, si les opérations militaires ont eu lieu récemment, ou si il y a eu des rapports d'études sismiques dans les eaux voisines.

1.4.2 La communication

1.4.2.1. Le Gouvernement local, les Forces Armées, le Ministère des Affaires Externes, le Ministère de l'Environnement et le Ministère de la Santé

Téléphoner ou écrire au Gouvernement local, aux Ministères de la Santé et de l'Environnement mais également à l'Armée Navale et aux Compagnies d'Hydrocarbures s'il y a de fortes indications que les échouages sont liés à une pollution acoustique.

1.4.2.2. Les scientifiques

Envoyer des emails ou téléphoner aux scientifiques qui ont signé un MOA. Demander leur opinion et leur aide. Envoyer les données à MEDACES (http://medaces.uv.es/home_eng.htm).

1.4.2.3. La presse

Écrire une note brève sur ce qui s'est passé pour les médias. Alerter les médias et le public sur la possibilité d'échouages supplémentaires sur n'importe quelle plage et encouragez-les à les reporter.

1.4.3 Le rapport préliminaire

Écrire un rapport préliminaire dès que possible. Les points à résumer dans le rapport doivent inclure ce qui suit (Geraci & Lounsbury, 2005) :

- Date et lieu de l'échouage
- Nature, temps et efficacité de la réponse initiale
- Récit de la scène décrite par l'équipe :
 - espèces impliquées et nombre de spécimens par espèce
 - schéma de l'échouage
 - présence d'autres animaux marins morts ou malades
 - présence dans les eaux adjacentes de cétacés vivants montrant un comportement inhabituel
 - preuve de l'utilisation d'un sonar à moyenne fréquence
 - état général des cétacés
 - indication d'une épidémie

- conditions environnementales
- Le rapport de nécropsie
- Les échantillons collectés, l'endroit où ils sont stockés, les conditions de stockage
- Les actions entreprises et les raisons des décisions prises :
 - Plan prévu
 - Obstacles à la mise en œuvre
 - Action éventuelle
- Informations supplémentaires
 - Photographies, cartes, dessins
 - Rapports des groupes indépendants (police, garde-côtes, réseaux d'échouages, structures de réhabilitation)
 - Choses à améliorer

1.4.4 Le suivi

Demandez le suivi de l'analyse et préparez un manuscrit sur les conclusions du rapport en incluant toutes les institutions impliquées.

2. ÉBAUCHE DU PLAN D'URGENCE

Les cétacés de la Méditerranée sont le foyer d'un cocktail de polluants chimiques et toxiques, dont certains ont probablement augmenté la sévérité des maladies épidémiques. Les opérations de sonar à moyenne fréquence ont causé l'échouage de zépius en Grèce (Frantzis, 1998). La contamination biologique est inquiétante à cause du rejet des eaux non traitées, de l'aquaculture, du trafic maritime et de la décharge des eaux contaminées dans la Méditerranée. De ce fait, les Etats Membres doivent se tenir prêts aux éventuels échouages, maladies et mortalité des cétacés causés par ces agents. Le développement et renforcement des réseaux d'échouages déjà existants au niveau national et régional permettront d'adresser au mieux ces événements. Il est très important que les données collectées lors d'échouages le long des côtes de la mer Noire, de la Méditerranée, et de la zone Atlantique adjacente soient envoyées à MEDACES (http://medaces.uv.es/home_eng.htm) qui fut créé en 2001 afin de coordonner les efforts nationaux et régionaux des pays riverains. La création d'un Sous Comité de EMCI au sein du Comité Scientifique d'ACCOBAMS améliorerait le temps de réponse aux échouages en facilitant la coordination entre chaque Etat Membre et en aidant avec les infrastructures et les formations. La création d'un Groupe de Travail ECMI qui communiquerait via email faciliterait grandement la diffusion des informations. Un Mémoire d'Accord avec les Forces Navales mais également avec les Compagnies d'Hydrocarbures améliorerait la réponse aux épisodes de mortalité des cétacés liés à la pollution acoustique.

2.1 CSP

Un plan d'urgence efficace doit être fondé sur un CSP national qui sera responsable des actions et des décisions en rapport avec les épisodes de mortalité inhabituels ainsi que de la transmission rapide des informations sur l'apparition des morts subites aux Etats Membres et au Sous Comité de l'ECMI proposé. Une communication facile et ouverte entre les CSP aidera à déterminer si un épisode de mortalité débute et assurera une réponse adéquate et rapide enfin cela permettra de découvrir la cause de l'épisode de mortalité et de rechercher les facteurs environnementaux qui pourraient avoir engendré cette situation. Le personnel minimum d'un OSBC devrait comprendre un scientifique, préférablement un chercheur spécialiste en mammifères marins et un vétérinaire avec de bonnes connaissances sur la biologie des cétacés et les différents facteurs impliqués dans les échouages de cétacés.

2.1.1 L'équipe de support administratif

Au moins une personne doit être en charge de l'administration du CSP. Ses responsabilités seront les suivantes:

- La coordination avec les autorités locales ;
- La coordination avec les Forces Navales et les Compagnies d'Hydrocarbures ;
- Contacter les autorités qui délivrent les permis de la CITES ;
- Contacter les compagnies aériennes qui transporteront les échantillons : demander s'il y a des demandes spécifiques au niveau de l'emballage et de la répartition du matériel biologique ;
- La communication avec les médias et le public ;
- Le développement d'activités et de matériel éducatifs ;
- La gestion des volontaires ;
- La construction d'un site web ;
- La gestion des finances ;

2.1.2 Les scientifiques

Un biologiste et un vétérinaire, tous deux dans l'idéal ayant de l'expérience avec les cétacés, devraient être désignés par le CSP. Leurs responsabilités incluent:

- Développer un réseau pour les échouages qui peut réagir rapidement aux morts subites des cétacés ;
- Développer des protocoles pour s'occuper des échouages et pour la collecte des tissus pour les pollutions de type chimique, acoustique et biologique ;
- Préparer le matériel nécessaire pour s'occuper d'épisode de mortalité (tout doit être prêt et à portée de main pour un départ immédiat) ;
- Fournir du personnel de terrain et assurer des formations ;
- Recruter et gérer les volontaires ;
- Coordonner contrôler rapidement l'intervention et l'incident : avoir une réponse appropriée à la situation (équipement et personnel) ;
- La coordination avec d'autres réseaux similaires au sein ou à l'extérieur des Etats Membres
- Prendre une décision adéquate en ce qui concerne le destin des cétacés échoués vivants (remise à l'eau, réhabilitation, euthanasie) ;
- Collecter les données biologiques et prendre les photos ;
- Réaliser la nécropsie des cétacés morts ;
- Collecter les échantillons ;
- Contacter les laboratoires qui procéderont aux analyses des échantillons ;
- Contacter les centres de recherche qui pourraient analyser gratuitement les CT ;
- Préparer un protocole pour emballer et répartir le matériel biologique ;
- Envoyer les échantillons ;
- Procéder à l'élimination de la carcasse en accord avec les autorités locales ;

2.1.3 Les volontaires

Les volontaires doivent être recrutés pour aider avec les échouages. Ils peuvent avoir des formations et des personnalités différentes et doivent recevoir des tâches en accord avec leurs capacités.

2.2 Mémoires d'entente avec les coopérateurs

Des mémorandums d'entente doivent être établis avec les Forces Navales, les Compagnies d'Hydrocarbures mais également avec les universités, les instituts de recherche/médicaux et les laboratoires souhaitant aider lors d'un épisode de mortalité. Il serait bien de demander aux laboratoires (de toxicologie, de microbiologie et de recherche acoustique) d'envoyer les protocoles spécifiques pour l'échantillonnage, la conservation et le transport d'échantillons. Dans l'idéal, ils devraient fournir les fioles, les solutions et tout autre matériel requis pour l'échantillonnage. Autrement, ils devraient spécifier le matériel nécessaire à l'échantillonnage et l'entreprise qui le vend.

3. GRANDES LIGNES D'UN PROGRAMME DE FORMATION

Une bonne formation est un pré requis pour explorer les facteurs qui ont causé un épisode de mortalité. Elle doit concerner le staff du CSP, les volontaires, les garde-côtes et les officiers de la marine, les pêcheurs et le public (s'il vous plaît reportez-vous au § 1.2.3). Le paragraphe suivant dresse les étapes à suivre pour atteindre cet objectif.

- Une organisation annuelle, d'ateliers de travail nationaux sur les épisodes de mortalité des cétacés pour le staff du CSP. Des experts nationaux et internationaux spécialisés dans les domaines de la toxicologie, la contamination acoustique et la microbiologie devraient être invités à y participer ;
- L'organisation de cours de pratique sur les échouages de cétacés, les contaminations acoustiques, chimiques et biologiques et la méthode d'échantillonnage pour le staff du CSP. Ces cours de pratique peuvent avoir lieu au CSP, dans les locaux de l'ECMI ou dans les laboratoires nationaux et internationaux des réseaux d'échouages ;
- L'organisation de réunions nationales avec tous les autres organismes concernés (universités, garde-côtes, aquariums, forces navales, pêcheurs, etc.) avec une présentation de documents sur les épisodes de mortalité chez les cétacés ;
- L'acquisition de matériel pour la formation (livres, papiers, rapports, CD, DVD, protocoles) provenant d'autres réseaux d'échouage, d'universités, de groupes de recherche, d'ONG et de scientifiques ;
- Le développement d'une bibliothèque dédiée aux échouages de mammifères marins, aux contaminations acoustique, chimique et biologique et aux épidémies ;
- Un réseau de communication avec les autres CSP
- La préparation de dépliants visant le public sur la biologie des cétacés et les raisons pour des échouages et des morts subites massives
- La préparation de livrets pour enfants et de posters sur les baleines, les dauphins, et les échouages.

4. REMERCIEMENTS

L'auteur remercie très sincèrement les scientifiques suivants pour les commentaires constructifs qu'ils ont apportés à ce document : Drs. Giuseppe Notarbartolo di Sciara, Juan Antonio Raga, Koen Van Waerebeek, Giovanni Di Guardo, Frank Dhermain, Sandro Mazzariol, Paul Jepson, Antonio Fernandez, Maria-Cristina Fossi and Alexei Birkun.

5. LITERATURE CITEE

- Aguilar A, Borrell A (1994) Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990-1992 Mediterranean epizootic. *Sc Tot Environm* 154: 237-247.
- Aguilar A, Borrell A (2005) DDT and PCB reduction in the western Mediterranean in 1987–2002, as shown by levels in dolphins. *Mar Environ Res* 59:391–340.
- Aguilar A, Borrell A, Pastor T (1999). Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. In: Reijnders P, Aguilar A, Donovan GP (eds.), *Chemical Pollutants and Cetaceans*, J Cet Res Manag, special issue 1, pp 82-116.
- Aguilar A, Borrell A, Reijnders PJ (2002) Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *Mar Environ Res* 53:425-452.
- Alaee M, Arias P, Sjodin A, Bergman A (2003) An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Internat* 29:683–689.
- Boxall AB, Hardy A, Beulke S, Boucard T, Burgin L, Falloon PD, Haygarth PM, Hutchinson T, Kovats RS, Leonardi G, Levy LS, Nichols G, Parsons SA, Potts L, Stone D, Topp E, Turley DB, Walsh K, Wellington EM, Williams RJ (2009) Impacts of climate change on indirect human exposure to pathogens and chemicals from agriculture. *Environ Health Perspect* 117: 508-514.
- Cabello FC (2004) Antibioticos y acuicultura en Chile: consecuencias para la salud humana y animal. *Rev Med Chile* 132: 1001-1006.
- Cabello FC (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environm Microb* 8: 1137-1144.
- Cox TM, Ragen TJ, Read AJ, Vos E, Baird RW, Balcomb K, Barlow J, Caldwell J, Cranford T, Crum L, D'Amico A, D'Spain GL, Fernandez A, Finneran J, Gentry RL, Gerth W, Gulland, F, Hildebrand J, Houser D, Hullar T, Jepson PD, Ketten DR, MacLeod CD, Miller P, Moore S, Mountain DC, Palka D, Ponganis P, Rommel S, Rowles T, Taylor B, Tyack P, Wartzok D, Gisiner R, Mead J, Benner L (2006) Understanding the impacts of anthropogenic sound on beaked whales. *J Cet Res Manag* 7: 177-187.
- Das K, Debacker V, Bouqueneau JM (2000) Metallothioneins in marine mammals *Cell Mol Biol* 46: 283-294.
- Das K, Siebert U, Gillet A, Dupont A, Di-Poi C, Fonfara S, Mazzucchelli G, De Pauw E, De Pauw-Gillet MC (2008) Mercury immune toxicity in harbour seals: links to in vitro toxicity. *Environ Health* 7:52.
- De Swart RL, Ross PS, Vedder LJ, Timmerman HH, Heisterkamp SH, Van Loveren H, Vos JG, Reijnders PJH, Osterhaus ADME (1994) Impairment of immune function in harbor seals (*Phoca vitulina*) feeding on fish from polluted waters. *Ambio*. 23:155-159.
- de Wit CA (2002) An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46: 583–623.
- DeWitt JC, Copeland CB, Strynar MJ, Luebke RW (2008) Perfluorooctanoic acid-induced immunomodulation in adult C57BL/6J or C57BL/6N female mice. *Environ Health Perspect* 116:644-650.
- DeWitt JC, Shnyra A, Badr MZ, Loveless SE, Hoban D, Frame SR, Cunard R, Anderson SE, Meade BJ, Peden-Adams MM, Luebke RW, Luster MI (2009a) Immunotoxicity of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and the role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Crit Rev Toxicol* 39:76-94.
- DeWitt JC, Copeland CB, Luebke RW (2009b) Suppression of humoral immunity by perfluorooctanoic acid is independent of elevated serum corticosterone concentration in mice. *Toxicol Sci* 109:106-112.
- Domingo M, Ferrer L, Pumarola M, Marco A, Plana J, Kennedy S, McAlisky M, Rima BK (1990) Morbillivirus in dolphins. *Nature* 348: 21-21
- Dorneles PR, Lailson-Brito J, Azevedo AE, Meyer J, Vidal LG, Fragoso AB, Torres JP, Malm O, Blust R, Das K (2008) High accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in marine tucuxi dolphins (*Sotalia guianensis*) from the Brazilian coast. *Environ Sci Technol* 42: 5368-5373.
- Drake L, Doblin MA, Dobbs FC (2007) Potential microbial bioinvasions via ships' ballast water, sediment, and biofilm. *Mar Poll Bull* 55: 333–341

- Ellis-Hutchings RG, Cherr GN, Hanna LA, Keen CL (2006) Polybrominated diphenyl ether (PBDE)-induced alterations in vitamin A and thyroid hormone concentrations in the rat during lactation and early postnatal development. *Toxicol Appl Pharmacol* 215: 135-145.
- Engel MH, Marcondes MCC, Martins CCA, Luna FO, Lima RP, Campos A (2004) Are seismic surveys responsible for cetacean strandings? An unusual mortality of adult humpback whales in Abrolhos Bank, northeastern coast of Brazil. Document SC/56/E28 presented to International Whaling Commission Scientific Committee Sorrento, Italy (unpublished). [Available from the Office of the Journal of Cetacean Research and Management.]
- European Union (2003) Directive 2003/11/EC of the European Parliament and of the Council of 6 February 2003. *Off J Eur Union* L42/45–46.
- Fernández A, Edwards JF, Rodriguez F, Espinosa de los Monteros A, Herraiz P, Castro P, Jaber JR, Martin V, Arbelo M (2005) 'Gas and fat embolic syndrome' involving a mass stranding of beaked whales (family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Vet Pathol* 42: 446-457.
- Flach L, Van Bresse M-F, Reyes JC, Echegaray M, Siciliano S, Santos M, Viddi F, Crespo E, Klaich J, Moreno I, Tavares M, Felix F, Van Waerebeek K (2008) Miscellaneous skin lesions of unknown aetiology in small cetaceans from South America. Paper SC/60/DW4 presented to the IWC Scientific Committee, May 2008 (unpublished) [Available from the Office of this Journal].
- Fossi MC, Marsili L, Casini S, Bucalossi D (2006) Development of new-tools to investigate toxicological hazard due to endocrine disruptor organochlorines and emerging contaminants in Mediterranean cetaceans. *Mar Environ Res* 62 Suppl:S200-204.
- Frantz A (1998) Does acoustic testing strand whales? *Nature* 392(6671):29.
- Geraci JR, Lounsbury VJ (1993) Marine Mammals Ashore – A Field Guide For Strandings. Texas A&M Sea Grant Publication, Galveston, Texas, USA. i-xi+305pp.
- Giesy JP, Kannan K (2001) Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environ Sci Technol* 35: 1339-1342.
- Hakami R, Mohtadinia J, Etemadi A, Kamangar F, Nemati M, Pourshams A, Islami F, Nasrollahzadeh D, Saberi-Firoozi M, Birkett N, Boffetta P, Malekzadeh R (2008) Dietary intake of benzo(a)pyrene and risk of esophageal cancer in north of Iran. *Nutr Cancer* 60:216-221.
- Hahn ME (1998) The Aryl hydrocarbon receptor: A comparative perspective. *Comp Biochem Physiol C* 121:23-53
- Hall A, Hugunin K, Deaville R, Law RJ, Allchin CR, Jepson P (2006) The risk of infection from polychlorinated biphenyl exposure in the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*): a case-control approach. *Environ Health Perspect* 114: 704-711
- Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MH, Andersson PL, Legler J, Brouwer A. (2006) In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol Sci* 92: 157-173.
- Hansen KJ, Clemen LA, Ellefson ME, Johnson HO (2001) Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environ Sci Technol* 35:766– 770.
- Hart K, Kannan K, Isobe T, Takahashi S, Yamada TK, Miyazaki N, Tanabe S (2008) Time trends and transplacental transfer of perfluorinated compounds in melon-headed whales stranded along the Japanese coast in 1982, 2001/2002, and 2006. *Environ Sci Technol* 42(19):7132-7137.
- Hildebrand JA (2005) Impacts of anthropogenic sound. In: Reynolds JE III, Perrin WF, Reeves RR, Montgomery S, Ragen TJ (eds.), *Marine Mammal Research: Conservation Beyond Crisis*, pp. 101-124, Baltimore, Johns Hopkins University Press.
- Hooker SK, Baird RW, Fahlman A (2009) Could beaked whales get the bends? Effect of diving behaviour and physiology on modelled gas exchange for three species: *Ziphius cavirostris*, *Mesoplodon densirostris* and *Hyperoodon ampullatus*. *Resp Phys Neurobiol* 167: 235–246.
- Isobe T, Ramu K, Kajiwaru N, Takahashi S, Lam PK, Jefferson TA, Zhou K, Tanabe S (2007) Isomer specific determination of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in small cetaceans from the South China Sea-- Levels and temporal variation. *Mar Pollut Bull* 54: 1139-1145.

- Jepson PD, Arbelo M, Deaville R, Patterson IA, Castro P, Baker JR, Degollada E, Ross HM, Herráez P, Pocknell AM, Rodríguez F, Howie FE, Espinosa A, Reid RJ, Jaber JR, Martin V, Cunningham AA, Fernández A (2003) Gas-bubble lesions in stranded cetaceans. *Nature* 435: 575–576.
- Jepson PD, Bennett PM, Deaville R, Allchin CR, Baker JR, Law RJ (2005a) Relationships between polychlorinated biphenyls and health status in harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded in the United Kingdom. *Environ Toxicol Chem* 24:238–248.
- Jepson PD, Deaville R, Patterson IAP, Pocknell AM, Ross HM, Baker JR, Howie FE, Reid RJ, Cunningham AA (2005b) Acute and chronic gas bubble lesions in cetaceans stranded in the United Kingdom. *Vet Pathol* 42: 291–305.
- Johnson-Restrepo B, Adams DH, Kannan K (2008) Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in tissues of humans, dolphins, and sharks from the United States. *Chemosphere* 70: 1935–1944.
- Kakuschke A, Prange A (2007) The influence of metal pollution on the immune system - a potential stressor for marine mammals in the North Sea. *Int J Comp Psychol* 20: 179–193.
- Kannan N, Tanabe S, Ono M, Tatsukawa R (1989) Critical evaluation of polychlorinated biphenyl toxicity in terrestrial and marine mammals: increasing impact of non-ortho and mono-ortho coplanar polychlorinated biphenyls from land to ocean. *Arch Environ Contam Toxicol* 18: 850–857.
- Kannan K, Koistinen J, Beckmen K, Evans T, Gorzelany JF, Hansen KJ, Jones PD, Helle E, Nyman M, Giesy JP (2001) Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals. *Environ Sci Technol* 35: 1593–1598.
- Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Oehme G, Focardi S, Giesy JP (2002) Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas. *Environ Sci Technol* 36: 3210–3216.
- Kerkvliet NI, Baecher-Steppan L, Smith BB, Youngberg JA, Henderson MC, Buhler DR (1990) Role of the Ah locus in suppression of cytotoxic T lymphocyte activity by halogenated aromatic hydrocarbons (PCBs and TCDD): Structure-activity relationships and effects in C57Bl/6 mice congenic at the Ah locus. *Fundam Appl Toxicol* 14: 532–541.
- Kiszka J, Van Bresse M-F, Pusineri C (2009) Lobomycosis-like disease and other skin conditions in Indo-Pacific bottlenose dolphins *Tursiops aduncus* from the Indian Ocean. *Dis Aquat Org* 84: 151–157.
- Kuriyama SN, Talsness CE, Grote K, Chahoud I (2005) Developmental exposure to low dose PBDE 99: effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring. *Environ Health Perspect* 113: 149–154.
- Lahaye V, Bustamante P, Dabin W, Van Canneyt O, Dhermain E, Cesarini C, Pierce GJ, Caurant F (2006) New insights from age determination on toxic element accumulation in striped and bottlenose dolphins from Atlantic and Mediterranean waters. *Mar Pollut Bull* 52: 1219–1230.
- Law RJ, Allchin CR, Bennett ME, Morris S, Rogan E (2002) Polybrominated diphenyl ethers in two species of marine top predators from England and Wales. *Chemosphere* 46: 673–681.
- Law RJ, Alaee M, Allchin CR, Boon JP, Lebeuf M, Lepom P, Stern GA (2003) Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife. *Environ Int* 29: 757–770.
- Law RJ, Allchin CR, de Boer J, Covaci A, Herzke D, Lepom P, Morris S, Tronczynski J, de Wit CA (2006a). Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere* 64: 187–208.
- Law RJ, Bersuder P, Allchin CR, Barry J (2006b) Levels of the flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A in the blubber of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded or bycaught in the U.K., with evidence for an increase in HBCD concentrations in recent years. *Environ Sci Technol* 40: 2177–2183.
- Law RJ, Herzke D, Harrad S, Morris S, Bersuder P, Allchin CR (2008) Levels and trends of HBCD and BDEs in the European and Asian environments, with some information for other BFRs. *Chemosphere* 73: 223–241.
- Lelieveld J, Berresheim H, Borrmann S, Crutzen PJ, Dentener FJ, Fischer H, Feichter J, Flatau PJ, Heland J, Holzinger R, Korrmann R, Lawrence MG, Levin Z, Markowicz KM, Mihalopoulos N, Minikin A, Ramanathan V, De Reus M, Roelofs GJ, Scheeren HA, Sciare J, Schlager H, Schultz M, Siegmund P, Steil

- B, Stephanou EG, Stier P, Traub M, Warneke C, Williams J, Ziereis H (2002) Global Air Pollution Crossroads over the Mediterranean. *Science* 298: 794-798.
- Lilienthal H, Hack A, Roth-Härer A, Grande SW, Talsness CE (2006) Effects of developmental exposure to 2,2,4,4,5-pentabromodiphenyl ether (PBDE-99) on sex steroids, sexual development, and sexually dimorphic behavior in rats. *Environ Health Perspect* 114: 194-201.
- Marsili L, Caruso A, Fossi MC, Zanardelli M, Politi E, Focardi S (2001) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PaHs) in subcutaneous biopsies of Mediterranean cetaceans. *Chemosphere* 44: 147-154.
- Martineau D, Lemberger K, Dallaire A, Labelle Ph, Lipscomb TP, Michel P, Mikaelian D (2002) Cancer in wildlife, a case study: beluga from the St. Lawrence Estuary, Québec, Canada. *Environ Health Perspect* 110: 285-292.
- Martoja R, Berry JP (1980) Identification of tiemannite as a probable product of demethylation of mercury by selenium in cetaceans. *Vie Milieu* 30, 7-10.
- Mastrangelo G, Fadda E, Marzia V (1996) Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environ Health Perspect* 104: 1166-1170.
- Miller MA, Miller WA, Conrad PA, James ER, Melli AC, Leutenegger CM, Dabritz HA, Packham AE, Paradies D, Harris M, Ames J, Jessup DA, Worcester K, Grigg ME (2008) Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. *Int J Parasitol* 38: 1319-1328.
- Mollenhauer MA, Carter BJ, Peden-Adams MM, Bossart GD, Fair PA (2009) Gene expression changes in bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, skin cells following exposure to methylmercury (MeHg) or perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Aquat Toxicol* 91:10-18.
- Mos L, Morsey B, Jeffries SJ, Yunker MB, Raverty S, De Guise S, Ross PSR (2006) Chemical and biological pollution contribute to the immunological profiles of free-ranging harbour seals. *Environm Toxicol Chem* 25: 310-317.
- Nakayama S, Harada K, Inoue K, Sasaki K, Seery B, Saito N, Koizumi A (2005) Distributions of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Japan and their toxicities. *Environ Sci* 12:293-313.
- Nieukirk SL, Stafford KM, Mellinger DK, Dziak RP, Fox CG (2004) Low-frequency whale and seismic airgun sounds recorded in the mid-Atlantic Ocean. *J Acoust Soc Am* 115: 1832-1843.
- Nigro M, Leonzio C (1996) Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 135: 137-143.
- Osterhaus AD, Vedder EJ (1988) Identification of virus causing recent seal deaths. *Nature* 335: 20.
- Pascual M, Bouma MJ, Dobson AP (2002) Cholera and climate: revisiting the quantitative evidence. *Microbes Infect* 4: 237-245.
- Pettersson A, van Bavel B, Engwall M, Jimenez B (2004) Polybrominated diphenylethers and methoxylated tetrabromodiphenylethers in cetaceans from the Mediterranean Sea. *Arch Environ Contam Toxicol* 47: 542-550.
- PSEP (1989a) Recommended guidelines for measuring organic compounds in Puget Sound sediment and tissue samples. Prepared for the Puget Sound Estuary Program for the U.S. Environmental Protection Agency, Region 10, Office of Puget Sound. PTI Environmental Services, Bellevue, WA.
- PSEP (1989b) Recommended protocols for measuring metals in Puget Sound water, sediment, and tissue samples. Prepared for the Puget Sound Estuary Program for the U.S. Environmental Protection Agency, Region 10, Office of Puget Sound. PTI Environmental Services, Bellevue, WA.
- Ray S, Dunn BP, Payne JF, Fancey L, Helbig R, Beland P (1991) Aromatic DNA-carcinogen adducts in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the Canadian arctic and the Gulf of St. Lawrence. *Mar Pollut Bull* 22: 392-396.
- Reijnders PJH (1986) Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. *Nature* 324: 456-457.
- Rhodes G, Huys G, Swings J, McGann P, Hiney M, Smith P, Pickup RW (2000) Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of

- Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant tet A. *Appl Environ Microbiol* 66: 3883-3890.
- Rigos G, Nengas I, Alexis M, Troisi GM (2004) Potential drug (oxytetracycline and oxolinic acid) pollution from Mediterranean sparid fish farms. *Aquat Toxicol* 69: 281-288.
- Ross PSR (2002) The role of immunotoxic environmental contaminants in facilitating the emergence of infectious diseases in marine mammals. *Hum Ecol Risk Assess* 8: 277-292.
- Ross PSR (2005) Fireproof killer whales: flame retardant chemicals and the conservation imperative in the charismatic icon of British Columbia. *Can J Fish Aquat Sci* 63: 224-234.
- Ross PSR, Birnbaum LS (2003) Integrated human and ecological risk assessment: a case study of persistent organic pollutants (POPs) in humans and wildlife. *Hum Ecol Risk Assess* 9: 303–324.
- Ross PSR, De Swart RL, Van Loveren H, Osterhaus ADME, Vos JG (1996). The immunotoxicity of environmental contaminants to marine wildlife: a review. *Ann Rev Fish Dis* 6: 151–165.
- Ruiz GM, Rawlings TK, Dobbs FC, Drake LA, Mullady T, Huq A, Colwell RR (2000) Global spread of microorganisms by ships. *Nature* 408: 49–50.
- Siddiqi MA, Laessig RH, Reed KD (2003) Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): new pollutants-old diseases. *Clin Med Res* 1: 281-290.
- Siebert U, Joiris C, Holsbeek L, Benke H, Failing K, Frese K, Petzinger E (1999) Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of the North and Baltic Seas. *Mar Poll Bull* 38: 285-295.
- Silkworth JB, Antrim L (1985) Relationship between Ah receptor-mediated polychlorinated biphenyl (PCB)-induced humoral immunosuppression and thymic atrophy. *J Pharmacol Exp Ther* 235: 606-611.
- Simmonds M, Dolman S, Weilgart L (eds) (2003) *Oceans of Noise* Whale and Dolphin Conservation Society, Chippenham. 165 pp.
- Stoker TE, Laws SC, Crofton KM, Hedge JM, Ferrell JM, Cooper RL (2004) Assessment of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture, in the EDSP male and female pubertal protocols. *Toxicol Sci* 78:144-155.
- Tabuchi M, Veldhoen N, Dangerfield N, Jeffries S, Helbing CC, Ross PS (2006) PCB-related alteration of thyroid hormones and thyroid hormone receptor gene expression in free-ranging harbor seals (*Phoca vitulina*). *Environ Health Perspect* 114:1024-1031.
- Talsness CE 2008. Overview of toxicological aspects of polybrominated diphenyl ethers: a flame-retardant additive in several consumer products. *Environ Res* 108:158-167.
- Tanabe S, Watanabe S, Kan H, Tatsukawa R (1988) Capacity and mode of PCB metabolism in small cetaceans. *Mar Mamm Sci* 4: 103–124.
- Todd S, Stevick P, Lien J, Marques F, Ketten DR (1996) Behavioral effects of exposure to underwater explosions in humpback whales (*Megaptera novaeangliae*). *Can J Zool* 74: 1661-1672.
- Topinka J, Marvanová S, Vondráček J, Sevastyanova O, Nováková Z, Krcmár P, Pencíková K, Machala M. 2008. DNA adducts formation and induction of apoptosis in rat liver epithelial 'stem-like' cells exposed to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat Res* 638: 122-132.
- UNEP (1988) Assessment of the State of Pollution of the Mediterranean Sea by Petroleum Hydrocarbons. MAP Technical Report Series 19.
- Van Bresse M-F (2009) Emergency task force: guidelines for a coordinated cetacean stranding response. Document prepared for the Permanent Secretariat of the Agreement on the Conservation of Cetaceans of the Black Sea, Mediterranean Sea and contiguous Atlantic area, concluded under the auspices of the Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals (CMS)-ACCOBAMS-MOP3/2009/Doc21.
- Van Bresse M-F, Van Waerebeek K, Reyes JC, Félix F, Echegaray M, Siciliano S, Di Benedetto AP, Flach L, Viddi F, Avila IC, Herrera JC, Tobón IC, Bolaños J, Moreno, IB, Ott PH, Sanino GP, Castineira E, Montes D, Crespo E, Flores PAC, Haase B, Mendonça de Souza SMF, Laeta M, Fragoso AB (2007) A preliminary overview of skin and skeletal diseases and traumata in small cetaceans from South American waters. *Lat Am J Aquat Mamm* 6: 7-42.

- Van Bresse M-F, Raga JA, Di Guardo G, Jepson PD, Duignan P, Siebert U, Barrett T, Santos MCO, Moreno IB, Siciliano S, Aguilar A and Van Waerebeek K (2009) Emerging infectious diseases in cetaceans worldwide and the role of environmental stressors. *Dis Aquat Org* (in press).
- Wagemann R, Muir DCG (1984) Concentrations of heavy metals in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. *Can Tech Rpt Fish & Aquat Sci* 1279
- Weber JT, Mintz ED, Canizares R, Semiglia A, Gomez I, Sempertegui R, *et al.* (1994) Epidemic cholera in Ecuador: multidrug-resistance and transmission by water and seafood. *Epidemiol Infect* 112: 1–11.
- Weilgart L (2007) A brief review of known effects of noise on marine mammals. *Int J Comp Psychol*, 20: 159-168.
- Wright AJ, Aguilar Soto N, Baldwin AL, Bateson M, Beale C, Clark C, Deak T, Edwards EF, Fernández A, Godinho A, Hatch L, Kakuschke A, Lusseau D, Martineau D, Romero LM, Weilgart L, Wintle B, Notarbartolo di Sciara G, Martin V (2007) Do marine mammals experience stress related to anthropogenic noise? *Int J Comp Psych* 20: 274-316.
- Yang WC, Chou LS, Jepson PD, Brownell RL Jr, Cowan D, Chang PH, Chiou HI, Yao CJ, Yamada TK, Chiu JT, Wang PJ, Fernández A (2008) Unusual cetacean mortality event in Taiwan, possibly linked to naval activities. *Vet Rec* 162: 184-186.
- Yeung LW, Yamashita N, Taniyasu S, Lam PK, Sinha RK, Borole DV, Kannan K (2009) A survey of perfluorinated compounds in surface water and biota including dolphins from the Ganges River and in other waterbodies in India. *Chemosphere* 76: 55-62.
- Zhou T, Taylor MM DeVito MJ, Crofton KM (2002) Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol Sci* 66: 105-116.