

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHÈSE

Echouage de mammifères marins : guide d'intervention et procédures d'autopsie.

JAUNIAUX T.¹, GARCIA HARTMANN M.^{2 & 3}, HAELTERS J.⁴, TAVERNIER J.⁵, COIGNOUL F.¹

1. Service de Pathologie Générale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Sart Tilman B43, Université de Liège, 4000 Liège, Belgique
2. Naturalis, Musée national d'histoire naturel. P.O. Box 9517, NL-2300 RA Leiden, Pays-Bas
3. Zoo de Duisbourg, Muelheimer Str. 273, D-47058 Duisburg, Allemagne
4. Unité de Gestion du Modèle Mathématique de la Mer du Nord (UGMM), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, 3e and 23e Linieregimentsplein, 8400 Oostende, Belgique
5. Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Rue Vautier 29, Bruxelles, Belgique

Correspondance : Dr. T. JAUNIAUX T., Tél : 04/3664075 Fax : 04/3664565
Email : T.Jauniaux@ulg.ac.be

RESUME : Depuis toujours, de nombreux mammifères marins s'échouent sur les plages d'Europe. Néanmoins, l'intérêt croissant pour la protection et la conservation de ces espèces ainsi que leur rôle de bioindicateur de l'environnement marin justifient que des autopsies systématiques soient réalisées, et cela selon des protocoles standardisés. Le but de la procédure présentée ici est de décrire les modalités d'examen nécropsique et de collecte d'échantillons pour les principales espèces rencontrées sur le littoral de la Mer du Nord, de la Manche, de la façade atlantique française et de la Méditerranée. De plus, cette procédure précise également les modalités d'intervention et de gestion des échouages sur les plages, principalement pour les grands cétacés.

INTRODUCTION

Depuis toujours, les mammifères marins ont fasciné. Ainsi, la baleine est le premier animal cité par la Bible, dans la Genèse : « Et Dieu créa les baleines et toutes les créatures vivantes ». Fait remarquable, dans son *Histoire des Animaux*, Aristote (384-322 av. J.-C.) range les dauphins, les orques et les cachalots parmi les mammifères, faisant clairement une distinction entre les poissons et les cétacés. Auparavant, mais aussi par la suite, ils étaient considérés comme des « Léviathans » à côté des requins et des crocodiles (Brown, 1999). Pline l'Ancien (23-79), dans ses *Histoires Naturelles*, inspirées des travaux d'Aristote, agrémente d'observations originales autant que de notations fantaisistes, les informations concernant ces animaux marins. Il faudra néanmoins attendre la Renaissance pour que les connaissances s'épanouissent. Conrad Gessner à Zürich (*Historiae anima-*

lium, 1551-1587) et Ambroise Paré à Paris (*Des monstres tant terrestres que marins*, 1573) décrivent et distinguent les baleines et s'attardent sur les méthodes de chasse. Néanmoins, en 1753, Daubenton considérait encore les cétacés comme des poissons. Il faudra attendre la 10^e édition du *Systema Naturae* (1758) de Linné pour voir ces animaux définitivement classés parmi les mammifères. Dès le XIX^e siècle, l'observation et la classification des cétacés deviendront une réelle priorité. Ainsi, un des plus grands cétologues de la seconde moitié du XIX^e siècle fût le belge P.-J. Van Beneden qui a publié entre 1857 et 1889 plus de 40 articles et ouvrages sur les mammifères marins, dont le célèbre « *Histoire naturelle des Delphinidés des mers d'Europe* » en 1889.

Si la relation de l'Homme à ces espèces se perd dans la nuit des temps, la nature de cette relation a aussi évolué. Ainsi, ces animaux,

considérés comme mythiques par certains, ont depuis toujours inspiré les poètes et les artistes et ont été, depuis la Baleine de Jonas jusqu'à Flipper le Dauphin, à l'origine de légendes et d'histoires. Le mythe de Jonas, avalé et rejeté par une baleine, est assimilable à une descente aux Enfers, suivie d'une résurrection, ou un rite d'initiation (Cabard et Chauvet, 1998). Loin de ces interprétations allégoriques, ces animaux ont été estimés en fonction de leur valeur marchande, comme une source importante de revenus par l'intermédiaire de la chasse. En effet, dès l'âge de la pierre, les baleines furent chassées par les Basques, mais la chasse ne devint organisée qu'au neuvième siècle. Cette chasse s'intensifie au XIX^e siècle et apparaît la première cause sévère de mortalité de certaines espèces de baleines en 1868, avec l'invention du canon harpon par Sven Foyd. Néanmoins, la Commission Baleinière Internationale, fondée en 1946, a établi en 1982 un moratoire

interdisant la chasse commerciale de grands cétacés. Depuis, avec l'arrivée des concepts écologistes, ces animaux sont devenus pour certains, des symboles de liberté et de paix. Loin de ces considérations herméneutiques, ils sont progressivement devenus des bioindicateurs où la relation entre ces espèces et l'Homme prend l'aspect d'une surveillance de l'impact des activités humaines sur l'environnement. Ainsi, ces animaux en sommet de chaîne alimentaire et à longue durée de vie sont devenus des espèces sentinelles permettant d'estimer et de prévoir les altérations éventuelles engendrées par la pollution anthropique marine (Reddy *et al.*, 2001).

Echouage et autopsie des mammifères marins

Dans les années '80 et 90, l'émergence d'échouages de mammifères marins a été suspectée comme la conséquence de la dégradation de l'environnement marin (Geraci *et al.*, 1999). Cependant, ce phénomène n'est pas récent puisque dès le XVI^e siècle, des échouages de cachalots étaient rapportés en Mer du Nord (Figure 1) (De Smet, 1974; Smeenk, 1997). Qu'il s'agisse de petits cétacés, de phoques ou de grandes baleines, ces échouages ont toujours suscité la curiosité et l'intérêt du grand public, des médias et des scientifiques (Jacques, 1997; Noël, 1997). Des réseaux de surveillance des échouages (*Stranding network*) ont été développés ces dernières années à travers le monde afin

d'apporter une réponse coordonnée et scientifique à ces accidents (Gulland *et al.*, 2001). Ces réseaux, lors de l'échouage, sont confrontés à la gestion de la situation sur la plage (Geraci et Lounsbury, 1993), soit remettre l'animal en mer ou l'envoyer dans un centre spécialisé si l'animal est vivant ; soit l'autopsier sur place ou dans un laboratoire si l'animal est mort (Jacques, 1997). Encore faut-il qu'un scientifique puisse intervenir. En effet, lorsqu'un animal est mort sur la plage, surtout lorsqu'il s'agit d'un grand cétacé, les autorités municipales peuvent vouloir prendre en charge la destruction rapide de la carcasse (remorquage au large et lestage du cadavre, inhumation,...), sans laisser la possibilité aux scientifiques de faire une autopsie. La raison majeure est d'ordre sanitaire, les autorités ne voulant pas laisser un animal séjourner pendant plusieurs jours sur des plages qui, en Europe occidentale, ont une importance touristique majeure. Néanmoins, la destruction sur le site ou en mer n'est pas une solution car dans la plupart des cas, la carcasse réapparaîtra sous forme de morceaux dispersés qui représenteront à nouveau un risque sanitaire mais à plus grande échelle (Greer *et al.*, 2001). Pour éviter ces conflits d'intérêts entre autorités municipales et scientifiques, la meilleure solution est de présenter les raisons scientifiques et politiques de l'examen nécropsique bien avant qu'un échouage survienne (Greer *et al.*, 2001). En effet, dans une situation de crise, il sera toujours plus délicat et

difficile de justifier l'autopsie. Une contrainte majeure est le délai entre la mort de l'animal et le moment où l'autopsie commence, principalement dans le cas des grands cétacés. En effet, pour qu'une autopsie soit exploitable d'un point de vue scientifique, il faut qu'elle soit réalisée dans les plus brefs délais, accentuant l'effet de crise et la nécessité de collaborations étroites entre autorités locales et scientifiques en charge des investigations.

En plus des échouages, les mammifères marins sont fréquemment capturés accidentellement dans les engins de pêche, représentant une des premières causes de mortalité pour certaines espèces (Baker, 1992; anonymous, 1994; Kirkwood *et al.*, 1997; Northridge et Hofman, 1999). Ces animaux capturés peuvent être considérés comme étant des individus « témoins », servant de référence pour les analyses post-mortem réalisées.

Afin d'optimiser les informations potentielles de l'animal échoué ou capturé dans un engin de pêche (Coignoul et Jauniaux, 1997; García Hartmann, 1997; Geraci *et al.*, 1999), des protocoles standardisés ont été mis au point (Dierauf, 1990a, 1990b; Dierauf et Gage, 1990; Kuiken et García Hartmann, 1991; Geraci et Lounsbury, 1993; Dierauf, 1994; Jauniaux *et al.*, 1999). La procédure présentée ici est une méthodologie standardisée appliquée et applicable pour les pays limitrophes de la Mer du Nord, de la Manche, de la façade atlantique française et finalement de la Méditerranée et ce, pour les principales espèces rencontrées. Il ne s'agit pas uniquement d'une procédure d'autopsie. Elle décrit aussi les modalités d'intervention lorsqu'un animal s'échoue. Les techniques d'examen nécropsique et de collecte d'échantillons sur les mammifères marins échoués sont décrites, qu'il s'agisse de petits ou de grands cétacés, ou de pinnipèdes. La gestion d'un échouage varie également selon la taille et le nombre d'individus. Autant la procédure est simple lorsqu'il s'agit d'un marsouin (*Phocoena phocoena*), autant la gestion technique, administrative et scientifique se complique lorsque 4 cachalots (*Physeter macrocephalus*) s'échouent simultanément (Tavernier, 1997; Jauniaux *et al.*, 1999). Cet aspect logistique est également présenté. La première partie est une procédure générale, applicable

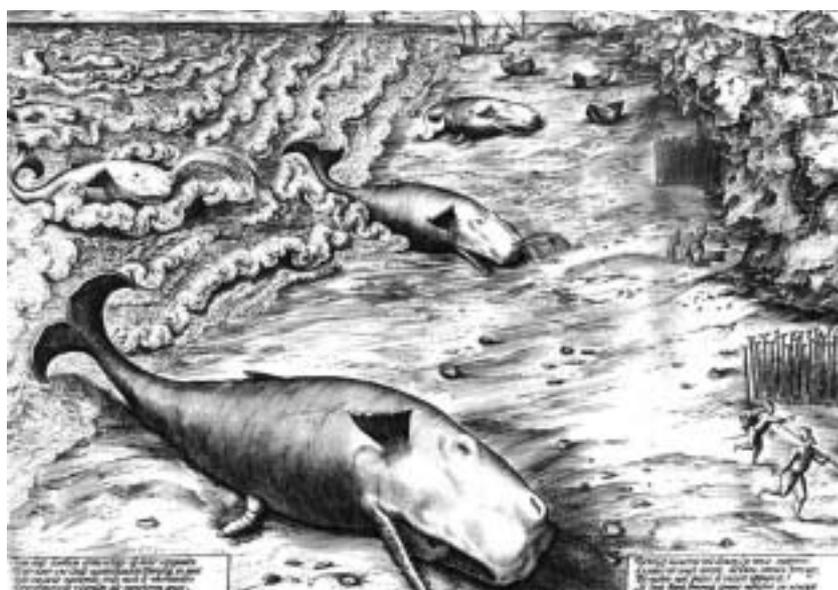


Figure 1 : Echouage massif de cachalots à proximité de Ter Heijde, Pays-Bas, en novembre 1577. Gravure de Johan Wierics, collection du Musée National d'Histoire Naturelle, Leiden.

dans la plupart des cas de figure. Les autres parties aborderont les particularités propres à l'autopsie des pinnipèdes, des grands cétacés ainsi que la gestion des échouages multiples. Ainsi, ce guide est aussi bien destiné aux scientifiques en charge de l'autopsie (vétérinaire, pathologiste,...) qu'aux personnes assurant la gestion technique et administrative de l'échouage.

Buts de l'autopsie

Peu d'informations sont disponibles sur les lésions des mammifères marins échoués, les quelques connaissances provenant principalement d'animaux captifs ou des animaux capturés durant les activités de chasse. Le but immédiat de l'autopsie et des analyses complémentaires est de combler cette lacune par une meilleure connaissance de leurs pathologies permettant ainsi d'identifier les principales causes de mortalité et les principales menaces qui pèsent sur eux (Appel, 1994; Coignoul et Jauniaux, 1997; Geraci *et al.*, 1999; Jauniaux *et al.*, 1999). De même, ces examens donnent l'occasion d'améliorer les informations relatives à leur biologie, anatomie, histologie,... (Jacques, 1997). Finalement, ces autopsies permettent d'évaluer les différents impacts des activités humaines (Jacques, 1997). En effet, situés, en sommet de chaîne alimentaire, ces mammifères accumulent durant toute leur vie des contaminants générés par les activités humaines comme les métaux lourds et les organochlorés (North Sea Task Force, 1993). Ils sont ainsi de précieux bioindicateurs révélant les altérations engendrées à long terme par ces substances (Lair *et al.*, 1997; Busbee *et al.*, 1999; Siebert *et al.*, 1999). Comme signalé précédemment, un autre danger pour ces espèces est l'activité halieutique qui représente une menace majeure pour la plupart des espèces dans quasiment toutes les mers du globe. Ainsi, l'autopsie et les analyses complémentaires (histopathologie, bactériologie, parasitologie, virologie, toxicologie, analyse des proies,...) permettent d'établir un bilan sanitaire individuel, qui à longue échéance apportera des informations à l'échelle de la population.

Cadres légal et politique

Plusieurs accords internationaux existent en matière de conservation et de protection des mammifères marins en Mer du Nord. La plupart des pays limitrophes de cette mer, y compris la Belgique, ont ratifié l'accord ASCOBANS (*Agreement on the Conservation of Small Cetaceans in the Baltic and North Seas*), établi sur base de la Convention de Bonn sur les espèces migratrices. De plus, les pays de la Communauté Européenne appliquent la directive «Habitat» sur la conservation des habitats naturels, de la flore et de la faune sauvage. Finalement, des engagements sont pris dans le cadre des conférences internationales de la Mer du Nord (Jacques, 1997; Haelters et Jacques, 1998) :

- La directive « Habitat » (21 mai 1992), dans son annexe IV, requiert une protection stricte et encourage les recherches scientifiques nécessaires afin d'assurer la conservation de tous les cétacés. De plus, le grand dauphin (*Tursiops truncatus*), le marsouin commun, le phoque gris (*Halichoerus grypus*) et le phoque commun (*Phoca vitulina*) sont placés dans l'annexe II prévoyant la création de réserves marines pour ces espèces ;

- Un « mémorandum d'entente sur les petits cétacés de la Mer du Nord » émane de la troisième conférence internationale sur la protection de la Mer du Nord (La Haye, 8 mars 1990). Une des bases de ce mémorandum postule que «... la pollution marine, les captures accidentelles et la détérioration de l'habitat peuvent menacer l'état de ces populations [de cétacés] ». En conséquence, les pays signataires doivent appliquer diverses mesures de gestion et de protection, ainsi que la coordination des recherches sur les causes de morbidité et de mortalité, ainsi que l'analyse des contaminants. De plus, l'annexe 5 de cette déclaration ministérielle précise que des études doivent être initiées dans le domaine des pathologies et des contaminants présents chez les phoques incluant le suivi de l'épizootie à morbillivirus. Il est également précisé qu'il faut créer un registre international collectant toutes les informations relatives aux échouages de mammifères marins comprenant les résultats nécropsiques, toxicologiques, etc. Néanmoins, nulle part ne figure une

obligation de moyens à mettre en oeuvre pour l'application de ces mesures. La 4^e conférence (Esbjerg, 1995) met l'accent sur l'impact des captures accidentelles de mammifères marins, préconisant la mise en place de méthodes de réduction de leur capture ;

- Les déclarations dans le cadre des conférences de la Mer du Nord ont conduit à l'accord ASCOBANS. Cet accord vise à la conservation des petits cétacés (baleines à dents, sauf le cachalot) en Mer du Nord et en Mer Baltique, en identifiant les principales menaces pesant sur ces espèces, recommandant l'autopsie de tous les individus échoués ainsi que la collecte d'échantillons à des fins scientifiques afin d'identifier les causes de mortalité. Dans ce cadre, l'accent est mis tout particulièrement sur les effets de la pollution ainsi que sur les interactions avec les pêcheries.

En ratifiant ces accords, les différents gouvernements se sont engagés à organiser une réponse scientifique à tout échouage et à assurer plus particulièrement une autopsie complète ainsi que les investigations pathologiques et toxicologiques nécessaires (Jacques, 1997).

Un autre accord, important à l'échelle européenne est ACCOBAMS (Accord sur la conservation des cétacés de la Mer Noire, de la Méditerranée et de la zone Atlantique adjacente), qui a pour objectif de réduire les menaces qui pèsent sur les cétacés dans les eaux de la Méditerranée et de la Mer Noire et d'en améliorer la connaissance.

Euthanasie

Lorsqu'un mammifère marin s'échoue vivant, plusieurs possibilités peuvent être envisagées en fonction de l'espèce et de l'état de santé de l'animal. Dès que possible et après les premiers soins, l'animal (espèce de petite taille) sera transmis vers un centre de réhabilitation (Geraci et Lounsbury, 1993; Needham, 1993). Dans certains cas, en fonction de paramètres médicaux et logistiques, la réhabilitation n'est pas possible et l'animal devra être euthanasié (Hue, 1998; Greer *et al.*, 2001). Il faut toujours prendre des mesures de discrétion ad hoc vis-à-vis du public lorsqu'une telle procédure est appliquée (Hyman, 1990; Greer *et al.*, 2001) et seul un vétérinaire est

habilité à la réaliser. L'euthanasie par injection est la solution la plus adéquate que ce soit par voie intraveineuse (difficile à réaliser) ou par voie intrabdominale ; les voies intracardiaque, intrathoracique, intrapulmonaire et sous-cutanée étant déconseillées (Greer *et al.*, 2001). Pour les petits cétacés et les phoques, le T-61® en voie intraveineuse uniquement (1ml/5kg) et le pentobarbital (Dolethal™) (10-30 mg/kg) sont les produits les plus adéquats (Hyman, 1990; Needham, 1993; Greer *et al.*, 2001). L'association étorphine-acépromazine (Immobilon LA®) a été recommandée à la dose de 0,5 ml/1,5 m chez les dauphins et 4 ml/1,5 m chez les baleines (Greer *et al.*, 2001). Ce produit est soumis à une réglementation stricte d'utilisation et n'est pas disponible dans tous les pays. Pour les grands cétacés, l'euthanasie est une procédure compliquée et dangereuse vu la taille des animaux. Si une telle procédure s'impose, une substance de choix peut être le chlorure de succinylcholine à 2 % (paralyse des muscles respiratoires) conjointement à du chlorure de potassium (arrêt cardiaque) (Hyman, 1990), cette combinaison étant injectée par voie intraveineuse ou intrapéritonéale. Une dose de 100 mg de chlorure de succinylcholine est suffisante dans la plupart des cas, mais une seconde injection sera nécessaire pour les individus dépassant 10 tonnes. Le chlorure de potassium (100 à 500 mEq) est injecté simultanément (Hyman, 1990) pour éviter la mort par suffocation provoquée par le chlorure de succinylcholine qui ne peut survenir qu'après 1 heure (cycle respiratoire) (Dierauf, 1990b). Néanmoins, cette procédure est actuellement déconseillée car elle ne provoque pas une perte immédiate de conscience (Greer *et al.*, 2001).

Des méthodes d'euthanasie physique existent telles que par balle ou par explosion. La méthode par balle est applicable pour les individus d'une taille inférieure à 8 m, en utilisant un calibre supérieur à 7 mm, à très haute vitesse. Cette méthode nécessite une personne expérimentée et la mise en place de mesure de précaution vis-à-vis du public. L'arme doit être orientée vers l'arrière, au niveau de l'évent (Needham, 1993; Hue, 1998). Néanmoins, cette méthode risque de ne pas provoquer une mort rapide avec perte de conscience immédiate

et ne devrait jamais être appliquée pour des cétacés de plus de neuf mètres et pour des cachalots (quelle que soit la taille) (Greer *et al.*, 2001). L'utilisation d'explosifs est possible pour les grands cétacés (Needham, 1993), mais n'est pas recommandée (Greer *et al.*, 2001).

Dans le cas particulier d'échouage de cachalots, aucune mesure rapide et efficace n'existe pour provoquer la mort. En effet, l'euthanasie d'un cachalot échoué peut être une procédure plus cruelle, à l'opposé de ce qui est attendu (Schmidt, 1999). Dans un tel cas, Schmidt (1999) conseille de laisser les cachalots mourir en « paix ». Néanmoins, dans un cas, l'euthanasie a été réalisée par explosion d'une charge placée à l'arrière de la langue et à la base du crâne (Needham, 1993).

Élimination de la carcasse

Idéalement, les carcasses de mammifères marins doivent être éliminées auprès d'un centre d'équarrissage. Cette procédure est relativement simple pour les petits mammifères marins, mais s'avère être nettement plus compliquée lorsqu'il s'agit de grands cétacés (Greer *et al.*, 2001), surtout sur les plages touristiques telles que celles du sud de la Mer du Nord ou de la Méditerranée (Hyman, 1990). Sur ces plages, il est impossible de laisser une baleine se décomposer et attendre que les marées et les charognards s'occupent de l'élimination progressive de la carcasse (Jauniaux *et al.*, 1999). De plus, l'incinération sur la plage n'est pas une solution (Dierauf, 1990b; Jauniaux *et al.*, 1999). Vu les problèmes techniques et la présence de polluants dans les tissus de certains individus, il a été suggéré d'inhumer les carcasses dans des décharges agréées (Tassyns, 1997). Une dernière solution peut être le remorquage de la carcasse au large, mais un tel objet flottant représente un danger pour la navigation (Hyman, 1990; Jauniaux *et al.*, 1999; Greer *et al.*, 2001). Lors d'une autopsie réalisée sur le terrain, le pathologiste en charge de l'examen, grâce à ses connaissances anatomiques, sera la personne la plus adéquate pour guider la découpe et l'élimination totale de la carcasse dans un centre d'équarrissage (Jauniaux *et al.*, 1999).

Infrastructure et personnel

Une contrainte majeure est la mise à disposition d'une salle d'autopsie (Clausen, 1999). Pour les petits cétacés et les pinnipèdes, cette solution sera préférée aux autopsies réalisées sur le terrain. La première raison est sanitaire, les liquides issus de l'examen nécropsique ne pouvant pas être dispersés dans la nature. De plus, la réalisation d'une autopsie est toujours plus confortable dans une salle chauffée, correctement illuminée et adéquatement équipée (table, matériel,...) plutôt que sur une plage. De telles salles d'autopsie ne sont pas fréquentes et des collaborations avec des laboratoires vétérinaires régionaux doivent être envisagées pour pallier à ce déficit. Si aucune salle d'autopsie n'est disponible, l'examen devra se faire dans une salle équipée de pédiluve, pouvant être aisément désinfectée, interdite au public et où les déchets issus de l'examen nécropsique seront facilement collectés.

La personne la plus compétente pour réaliser une autopsie complète est un pathologiste vétérinaire, ayant l'expérience des dissections de mammifères marins (García Hartmann, 1997 ; Clausen, 1999). De plus, ce travail ne sera correctement exécuté que si réalisé avec une équipe de plusieurs personnes. Dans la plupart des cas, cette situation n'existe pas (personne peu formée, pas d'assistance) et différents cas de figure peuvent être envisagés, nécessitant des procédures simplifiées (Clausen, 1999). La situation adéquate requiert un pathologiste formé à l'autopsie des mammifères marins (Clausen, 1999), assisté d'une personne en charge des échantillons (collection, étiquetage,...) et d'une autre, en charge des observations (notes, clichés photographiques,...), l'ensemble des investigations étant réalisées dans une salle d'autopsie. La solution la moins idéale sera celle où une personne peu qualifiée sera responsable de l'ensemble du travail. Dans ce cas, la procédure doit être simple avec une collecte minimale d'échantillons (Clausen, 1999). Ainsi, en tenant compte de la disponibilité en équipement, de la compétence de la personne en charge de l'autopsie, de la fraîcheur de la carcasse, plusieurs niveaux d'intervention seront possibles (Tableau I). Dans le niveau A, les animaux seront pesés et mesurés (longueur totale, épaisseur de graisse dorsale cranialement à la

Tableau I : Niveaux d'intervention selon l'équipement disponible, la compétence de la personne en charge de l'examen, le nombre et l'état des animaux et l'accès au site. D.C.C. : code de décomposition du cadavre.

Niveau		EXAMEN POST-MORTEM
A	Pas de pathologiste qualifié Equipement lourd non disponible Animaux nombreux ou en mauvais état de conservation (D.C.C.≥4) Site peu accessible	Longueur totale, épaisseur de lard dorsal, photographie des nageoires, examen externe, échantillon de peau, de graisse, de muscle, de sang, de fanons ou de dents
B	Situation intermédiaire	Niveau A + autopsie et collecte d'échantillons partielles en fonction de la conservation de la carcasse, de la disponibilité en matériel, en personnel,
C	Pathologiste qualifié Equipement lourd disponible Animaux peu nombreux et frais Accès aisé au site	Autopsie et collection complète d'échantillons

Tableau II : Prélèvements systématiques des organes en fonction de l'examen complémentaire. HP. : histopathologie ; Viro. : virologie ; Bact. : bactériologie ; Para. : parasitologie ; Toxic. : toxicologie ; Bioch. : biochimie ; S. B. : statut biologique.

	HP.	Viro.	Bact.	Para.	Toxic	Bioch	S.B.
Peau							
Orifices corporels							
Glande mammaire							
Conduit auditif							
Bouchon auriculaire							
Oeil							
Dents							
Graisse							
Muscle							
Foie							
Surrénale							
Ganglion mésentérique							
Rate							
Gonade							
Tractus reproducteur							
Estomac							
Restes alimentaires							
Intestin							
Rein							
Vessie				urine			
Pancreas							
Poumon							
Ganglion bronchique							
Coeur			sang				
Thymus							
Thyroïde							
Amygdale							
Système nerveux central							
Sang							
5 ^e côte							
Ceinture pelvienne + fémur							
Thyroïde							
Bulle tympanique							

Tableau III : Code de décomposition en fonction des observations nécropsiques

DCC 1	Extrêmement frais moins de 48h après la mort - Carcasse non gonflée - Rigidité cadavérique possible - Séparation du sérum - Membranes cutano-muqueuses intègres - Oeil non vitreux
DCC 2	Frais - Oeil vitreux - Pas de séparation du sérum - Viscères intacts, non distendues par les gaz de putréfaction - Absence de protusion de la langue et du pénis
DCC 3	Décomposition légère : - Carcasses gonflées - Détachement de la partie supérieure de la peau - Altérations légères des organes - Protusion de la langue et du pénis - Viscères distendus par les gaz de putréfaction (danger d'explosion spontanée chez le cachalot)
DCC 4	Décomposition avancée : - Ecoulement de liquide par les orifices corporels - Détachement de lambeaux cutanés sur de grandes surfaces corporelles - Altérations sévères des organes (modification de couleur, de consistance,...) - Certains viscères non identifiables.
DCC 5	Carcasse non identifiée ou fragmentaire : - Disparition des organes.

Tableau IV : Pertinence des échantillons selon l'indice de fraîcheur

Analyse	Indice de fraîcheur
Histopathologie et immunohistopathologie	1-2
Virologie	1-2
Bactériologie	1-2
Parasitologie	1-3
Toxicologie	1-2
Microscopie électronique	1
Biochimie	1-2
Biologie moléculaire	1-5
Analyse biologique (âge, proies,...)	1-5

nageoire dorsale. Les échantillons de dents, de peau, de sang, d'estomac (conservés à -20°C) et de gonade (formol) seront réalisés. Les niveaux B et C seront développés dans les chapitres suivants.

COLLECTE ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Pour chaque examen complémentaire à l'autopsie (histopathologie, bactériologie, parasitologie, virologie, toxicologie,...), des échantillons sont à réaliser de manière systématique (Tableau II). De plus, les lésions seront collectées pour analyse complémentaire en fonction de leur nature.

Code de décomposition

Le code de décomposition (D.C.C.) décrit l'état de conservation de l'individu (Tableau III). Par rapport aux précédentes tables d'évaluation (Kuiken et García Hartmann, 1991; Geraci et Lounsbury, 1993), il s'agit d'une nouvelle estimation de l'état de conservation du cadavre permettant une meilleure estimation de la fraîcheur de la carcasse dans les premiers jours qui suivent la mort de l'animal.

La collecte des échantillons sera fonction de cet indice de fraîcheur, certaines analyses ne pouvant être réalisées que dans des conditions précises de conservation. Le tableau IV rapporte le code de décomposition requis pour que l'échantillon soit utilisable.

Identification des échantillons

Une attention toute particulière doit être prêtée à l'identification des échantillons. Idéalement, deux étiquettes devraient être apposées sur l'échantillon, l'une à l'intérieur, l'autre à l'extérieur du contenant. En effet, l'effet de l'humidité ou de la congélation facilite la « disparition » des étiquettes externes. En pratique, cela signifie que sur chaque échantillon apparaissent :

- référence d'autopsie individuelle de l'animal ;
- identification du tissu ;
- destination de l'échantillon (histopathologie, virologie,...) ;

De plus, ces informations devront

être rédigées de manière lisible, en utilisant une terminologie adéquate et à l'encre indélébile. Finalement, les prélèvements doivent être contrôlés avant de clôturer l'autopsie.

Priorité et conflit de collecte

Dans certains cas, les mêmes organes peuvent être destinés à plusieurs laboratoires, pour réaliser des investigations différentes, générant des conflits dans la procédure d'examen et dans la priorité d'échantillonnage. Ainsi, pour l'examen morphologique, chaque compartiment gastrique doit être ouvert afin d'être examiné tandis que les lésions et parasites éventuels sont collectés. Mais, idéalement, pour l'analyse des proies, les compartiments gastriques devraient être ligaturés et transmis en entier au laboratoire en charge de ces investigations. De même, la collecte du système nerveux est essentielle pour les analyses histologiques, virologiques, toxicologiques,... mais entre en conflit avec l'intérêt de préserver le crâne à des fins de collection et d'analyses morphométriques. Lorsque, dans le cadre des collectes d'échantillons proposées ci-dessous, de tels conflits apparaissent, des solutions alternatives seront proposées pour préserver au mieux les intérêts de chaque laboratoire.

Les altérations et les proliférations bactériennes post-mortem peuvent modifier l'aspect des tissus et la composition en germes présents dans les organes. Pour éviter ces dérives, les prélèvements pour la microscopie électronique, la bactériologie et la virologie seront collectés en priorité.

Types d'analyse

Histopathologie

Collection : en plus des prélèvements systématiques, les lésions seront collectées sur une zone de juxtaposition de tissu normal et de tissu altéré. Il faut éviter les excès de manipulation de l'échantillon afin que l'image microscopique ne soit pas détériorée. Pour les organes de grande taille, il est préférable de collecter plusieurs échantillons de petit volume plutôt qu'un seul grand prélèvement.

Fixation et stockage : le meilleur fixateur est une solution tamponnée de formol à 10 %¹. Si une telle solution n'est pas disponible, une solution non tamponnée à 10 % pourra être utilisée². Cette dernière a l'avantage de pouvoir être préparée de manière extemporanée sur le terrain mais ne permet pas de fixer adéquatement les tissus pour les examens immunohistochimiques.

Comme la pénétration du fixateur est un processus lent, il est préférable :

- de réaliser des tranches fines, ne dépassant pas 1 cm d'épaisseur ;
- de trancher les grands échantillons à intervalle régulier ;
- d'injecter le formol à la seringue dans les organes creux (vessie, œil,...) et les lésions cavitaires (kystes, ...).

Le rapport entre le volume du formol et du prélèvement doit être de 10/1 et même de 20/1 pour l'encéphale. La fixation solidifiant le tissu, il est préférable d'utiliser des récipients à large ouverture.

Les prélèvements pour l'histopathologie ne doivent pas être congelés, que ce soit avant ou après fixation.

Immunohistochimie

Les prélèvements pour l'examen immunohistochimique doivent être fixés impérativement dans une solution tamponnée de formol à 10 %. De plus, la fixation doit être la plus courte possible, idéalement de 24h maximum.

Microscopie électronique

Les échantillons réservés à la microscopie électronique doivent être collectés le plus rapidement possible, découpés finement (1 mm³) et fixés dans une solution de glutaraldéhyde, placés dans des récipients en verre.

Biologie moléculaire

Des échantillons pour la biologie moléculaire (2x2x2 cm) doivent être congelés rapidement à -80 ou -20°C.

Bactériologie

Collection : la collecte de liquide (sang, pus, urine,...) doit se faire à la seringue ou à la pipette Pasteur stérile après désinfection (alcool, cautérisation) de la surface de l'organe (cœur,

vessie, ...). Une anse intestinale et le ganglion mésentérique associé doivent être collectés après ligature des 2 extrémités.

Fixation et stockage : les échantillons, en milieu de transport et en sachet plastique, seront conservés à 4°C, la congélation devant être évitée.

Virologie

Collection : les prélèvements de tous les parenchymes et des lésions suspectées être d'origine infectieuse, doivent être réalisés de manière aseptique, comme pour la bactériologie.

Fixation et stockage : les échantillons doivent être placés le plus rapidement possible à 4°C. S'ils ne peuvent être transmis endéans les 24h au laboratoire adéquat, ils seront congelés (idéalement à -80°C)

Parasitologie

Collection : les parasites seront collectés et fixés dans une solution d'éthanol à 70 % avec 5 % de glycérine. Si une telle solution n'est pas disponible, ils peuvent être placés dans une solution de formol à 10 %. Si tous les individus ne sont pas collectés, leur nombre total sera évalué. Les parasites seront plus particulièrement recherchés au niveau de l'oreille interne et des sinus péri-tympaniques, de la glande mammaire, des voies respiratoires et des vaisseaux sanguins, du péritoine, de la sphère génitale, du foie et des voies biliaires, du pancréas, des différents compartiments gastriques et de l'intestin. Lorsqu'une lésion est associée à une infestation parasitaire, l'ensemble sera fixé dans une solution de formol à 10 %. Des échantillons frais d'intestin ligaturé (partie distale), de poumon, de rein et d'urine seront collectionnés pour l'identification des larves et des œufs.

Fixation et stockage : les échantillons frais en sachet plastique seront conservés à 4°C. S'ils ne peuvent être transmis endéans les 24 h au laboratoire adéquat, ils seront congelés.

Toxicologie

Collection : la liste des échantillons à collecter dans tous les cas figure dans la **tableau II**. Bien que 10 g suffisent à

1 Le formol à 10 % tamponnée (pH : 7,2) est préparé de la manière suivante: dissoudre 85,45 g de Na₂HPO₄ et 25,45 g de KH₂PO₄ dans 9 l d'eau distillée. Après dissolution complète, ajouter 1 litre de formol concentré (solution de formaldéhyde de 37 à 40 %).

2 Le formol à 10 % non tamponnée est préparé de la manière suivante: mélanger 1 litre de formol concentré (solution de formaldéhyde de 37 à 40 %) dans 9 l d'eau.

faire les analyses, de grands échantillons d'environ 250 g seront collectés. Pour l'analyse des polluants organiques persistants (POPs), des prélèvements de graisse sous-cutanée, de muscle dorsal, de foie, de rein et d'encéphale seront emballés dans des feuilles de papier aluminium ou dans des récipients de verre rincés à l'hexane, puis placés dans un sachet plastique. Toute la hauteur de la graisse sous-cutanée et le muscle seront prélevés au niveau de l'insertion caudale de la nageoire dorsale. Pour l'analyse des métaux lourds, des prélèvements de graisse sous-cutanée, de muscle dorsal, d'os (5e côte), de foie, de rein et d'encéphale seront emballés dans deux sachets plastiques, ces échantillons ne pouvant pas entrer en contact avec un quelconque métal. Si possible, le foie et les reins seront pesés avant d'être échantillonnés.

Chez les femelles en lactation, du lait sera collecté dans des récipients de verre. Les fœtus seront échantillonnés de la même manière que les adultes.

Fixation et stockage : les échantillons seront conservés à -20°C si les analyses ne sont pas directement réalisées. Dans ce cas, l'échantillon sera pesé au préalable.

Biochimie

Pour les analyses biochimiques, du sang et du sérum seront collectés de manière stérile. Le lait dans les canaux excréteurs et le liquide de lésions kystiques (thymus, surrénales,...) seront prélevés de la même manière.

Fixation et stockage : les échantillons seront placés le plus rapidement possible à 4°C. S'ils ne peuvent être transmis endéans les 24 h au laboratoire adéquat, ils seront congelés (20°C).

Statut biologique

Détermination de l'âge : chez les odontocètes, 4 à 5 dents seront prélevées au milieu de la mâchoire inférieure. Le choix se portera sur les dents indemnes et les moins incurvées. Si la mâchoire ne doit pas être préservée pour la préparation du squelette, elle pourra être sciée afin d'extraire plus aisément les dents. Les dents peuvent être congelées à -20°C, placées dans de l'éthanol à 70 % ou dans une solution tamponnée de formol à 10 %. Il ne faut pas les mainte-

nir à température ordinaire car elles risquent de se fendre (interférence avec la détermination de l'âge). Pour les mysticètes, le bouchon auriculaire, présent dans le conduit auditif, sera collecté et fixé au formol. Chez les animaux dans un état avancé de décomposition, ce bouchon disparaît.

Analyse des proies : le contenu des différents compartiments gastriques sera collecté individuellement et congelé à -20°C. Le contenu peut également être conservé dans de l'éthanol à 70 % mais pas dans des solutions formolées qui peuvent dissoudre les petits os de poissons. Les différents compartiments peuvent être également prélevés dans leur intégralité après examen macroscopique et collecte des lésions et parasites éventuels. Idéalement, chaque compartiment sera ouvert, après avoir été préalablement placé dans un sac en plastique. L'examen se fera par une incision progressive au départ du cardia, du pylore ou des communications intragastriques afin de collectionner les lésions et les parasites tout en préservant le contenu alimentaire. Dans la mesure du possible, ces ouvertures seront ligaturées et les compartiments, restant dans leur sac individuel, seront congelés.

Analyse génétique : un fragment de peau et de rein (2 x 2 cm) seront congelés (-20°C) ou fixés dans de l'alcool à 70 % ou dans du diméthylsulfoxyde (DMSO).

Statut reproducteur : chez la femelle, les 2 ovaires seront prélevés et pesés en faisant la distinction entre le gauche et le droit. Chez le mâle, un seul testicule sera prélevé et pesé. Les gonades seront fixées dans une solution tamponnée de formol à 10 %.

Collection du squelette : il faut savoir, avant le début de l'examen nécropsique si le squelette doit être préservé pour collection. Si tel est le cas, la procédure d'autopsie sera compliquée par le respect des intégrités osseuses, nécessitant par exemple, la dissection individuelle de toutes les côtes au niveau des articulations costo-vertébrales et costo-sternales. Une attention toute particulière sera prêtée sur la préservation de la ceinture pelvienne, noyée dans la masse musculaire caudale à proximité de l'orifice génital et de l'anus, ainsi que des bulles tympaniques et de l'hyoïde. Ces différentes pièces seront individuellement emballées et adéquatement

répertoriées. Toutes les autres pièces osseuses seront rassemblées et conservées à 4°C ou à -20°C.

AUTOPSIE DE PETITS CETACES

Dans ce contexte, les petits cétacés rassemblent toutes les espèces qui peuvent être aisément déplacées et transportées par une ou plusieurs personnes, permettant ainsi de ramener facilement leur cadavre vers une salle d'autopsie pour réaliser l'examen nécropsique. Dans la plupart des pays, ce transport est soumis à autorisation. En Europe occidentale, il s'agit principalement du :

- marsouin commun (*Phocoena phocoena*) (Figure 2) ;
- dauphin bleu et blanc (*Stenella coeruleoalba*) ;
- lagénorhynque à bec blanc (*Lagenorhynchus albirostris*) ;
- lagénorhynque à flancs blancs (*L. acutus*) ;
- dauphin commun (*Delphinus delphis*) ;
- grand dauphin (*Tursiops truncatus*) ;
- dauphin de Risso (*Grampus griseus*) ;
- globicéphales sp. (*Globicephala melaena* et *G. macrohynchus*) de petite taille.

Examen externe

Le code de décomposition est estimé selon la tableau III. Lors de l'autopsie, chaque lésion doit être examinée et décrite en se référant au tissu normal et en rapportant sa taille, sa couleur, sa forme, son volume, son contenu,... De plus, elle sera photographiée avant et après incision, avec sur le champ de la photo un étalon de taille (latte, mètre ruban, pièce,...) et une indication de la référence de l'animal. De plus, des clichés photographiques doivent être pris de la carcasse dans son intégralité, des nageoires dorsale et caudale ainsi que des orifices naturels.

Les mesures corporelles seront prises en plaçant un mètre-ruban parallèlement à l'axe longitudinal du corps et non pas selon les courbes du corps. Les deux relevés les plus importants sont la longueur totale (extrémité du bec jusqu'à l'encoche médiane de la nageoire caudale) et les épaisseurs de

la graisse sous-cutanée (à l'insertion craniale et caudale de la nageoire dorsale).

L'état d'embonpoint est estimé selon l'épaisseur de graisse sous-cutanée et selon l'aspect des muscles dorsaux. Un bon état d'embonpoint se caractérise par une couche de graisse épaisse et un aspect rebondi des masses musculaires. L'état d'embonpoint est mauvais lorsque la couche de graisse est fine et que les masses musculaires dorsales sont creusées (amyotrophie généralisée). Dans ce cas, la carcasse présente une dépression derrière la tête ainsi que de part et d'autre de la nageoire dorsale, le long des muscles dorsaux.

La peau est examinée avec précaution pour relever les lésions et les parasites éventuels. La peau sera collectée pour le statut biologique et pour l'histopathologie.

Les orifices corporels (bouche, évent, fente génitale, anus,...) seront soigneusement examinés pour la présence d'écoulement, de lésions et de parasites. L'œil sera prélevé pour l'histopathologie. L'orifice auditif externe se trouve à environ mi-longueur entre l'angle externe de l'œil et l'insertion craniale de la nageoire pectorale. Le conduit auditif externe sera disséqué et prélevé pour l'histopathologie. En prolongeant le plan d'incision du conduit auditif en profondeur vers l'angle caudal de la mâchoire inférieure, l'oreille moyenne et interne est atteinte. Une attention particulière sera portée à l'examen de l'oreille interne et des sinus péri-tympaniques, les parasites éventuels étant collectés. Chez la femelle, la glande mammaire sera examinée et prélevée pour l'histopathologie. Si du lait est présent, il sera collecté pour l'analyse toxicologique et biochimique.

Examen interne

Le retrait de la peau et des plans musculaires ainsi que la dissection des côtes sont illustrés à la **figure 3**. L'animal sera placé de préférence en décubitus latéral droit. De la graisse sous-cutanée et du muscle dorsal seront collectés pour les examens toxicologiques. La peau sera incisée longitudinalement depuis le cou jusqu'à la hauteur de l'anus, d'une part, dans la partie supérieure du flanc, au niveau des apophyses transverses et d'autre part le long de la ligne médiane. Deux incisions verticales rejoindront les extrémités de ces incisions initiales. Ce plan cutané sera détaché en prenant garde au ganglion lymphatique préscapulaire. Cranialement, la peau sera retirée en prolongeant les incisions à la face inférieure du cou, jusqu'à l'extrémité antérieure de la mâchoire inférieure. La cavité abdominale sera ouverte par dissection de la paroi, en commençant dans la partie supérieure de la dernière côte. Le péritoine sera observé afin de détecter d'éventuels kystes parasitaires ou d'autres lésions. La disposition générale des viscères et la présence de liquides particuliers (transsudat ou exsudat cavitaires, sang,...) seront observées. Pour un examen aisé de la cavité abdominale, il est préconisé de retirer le plastron costal au préalable (**Figure 3**). Si le squelette ne doit pas être préservé, les côtes pourront être coupées au costostome ou sciées dans leurs parties supérieure et inférieure. Sinon, elles seront disséquées d'une part au niveau de l'articulation costo-vertébrale et d'autre part au niveau de l'articulation costo-sternale. Il est important de souligner que les premières côtes ont une double articulation costo-vertébrale, nécessitant une dissection

attentive. Le plastron costal est retiré en un seul bloc et réservé. Dans la mesure du possible, la 5e côte sera collectée pour la toxicologie.

Cavité abdominale

De manière générale, tous les organes doivent être examinés *in situ* et après extraction, avant et après incisions, ces dernières étant réalisées à intervalles réguliers (5 cm) aux travers des principaux parenchymes.

Le tractus digestif sera retiré en bloc, après ligature du cardia (l'estomac est composé de plusieurs compartiments distincts chez les cétacés (**Figure 4**)) et de l'extrémité caudale de l'intestin.

Les compartiments gastriques seront examinés comme précédemment décrits. La paroi gastrique ainsi que les lésions et parasites éventuels seront collectés pour l'histopathologie et la parasitologie. Les compartiments seront ligaturés avant d'être collectés pour les analyses de proies. Deux anses intestinales, d'environ 40 cm, seront ligaturées sans être ouvertes, et collectées pour la bactériologie et la parasitologie (segment intestinal distal). Ensuite, l'intestin sera ouvert sur de longs segments. En fonction de la disponibilité de la personne en charge de l'examen, l'intestin sera ouvert sur toute sa longueur. Un échantillon de paroi sera collecté pour l'histopathologie et une attention particulière sera prêtée à la présence de parasites. Si l'intestin présente des lésions et/ou un contenu anormal, les prélèvements seront effectués à proximité de ces zones. Les investigations réalisées sur le tube digestif peuvent être réalisées à la fin de l'autopsie.

Le foie sera examiné, pesé et collecté pour l'histopathologie, la virologie et la toxicologie. L'organe sera tranché à intervalles réguliers afin de détecter les kystes parasitaires éventuels et les voies biliaires seront particulièrement examinées pour la présence de parasites.

Les reins seront examinés, individuellement pesés et collectés pour l'histopathologie, la virologie, la toxicologie et la parasitologie. Une attention particulière sera attirée sur la présence de kystes dans le tissu rénal ainsi que de parasites, pouvant être présents dans les vaisseaux sanguins (veine rénale).

La vessie sera examinée et ponctionnée de manière aseptique dans sa partie déclive. Le contenu sera décrit et



Figure 2 : Marsouin commun échoué sur le littoral belge. Photo Unité de gestion du Modèle Mathématique de la Mer du Nord (UGMM), Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (IRSNB).

conservé pour un éventuel examen bactériologique, parasitologique ou biochimique. La paroi sera incisée et collectée pour l'histopathologie et la virologie.

Les glandes surrénales seront examinées avec précaution, plus particulièrement pour la présence de kystes et collectées pour l'histopathologie.

La rate et les ganglions mésentériques seront examinés et collectés pour l'histopathologie, la virologie et la bactériologie.

Le pancréas sera tranché à intervalles réguliers afin de détecter les kystes parasitaires éventuels. Un prélèvement sera collecté pour l'histopathologie.

Cavité thoracique, tête et cou

Les organes thoraciques seront observés in situ. Si un liquide cavitaires est présent (espace pleural, péricardique), il sera caractérisé et prélevé pour analyse complémentaire. Les organes étant en place, du sang sera prélevé de manière aseptique (bactériologie, biochimie) dans le ventricule gauche. Le thymus et la thyroïde seront examinés et collectés pour l'histopathologie. Une attention particulière sera prêté à la présence de kystes sur ces organes. Le bloc cardio-pulmonaire, l'œsophage, la trachée et la langue seront retirés ensemble après la dissection de la région ventrale intermandibulaire, de l'hyoïde et du cou. L'hyoïde sera congelé pour une éventuelle analyse morphologique. L'œsophage sera ouvert sur toute sa longueur et examiné pour rechercher d'éventuels parasites ou lésions (ulcères, nodules,...). Le cœur sera séparé de l'appareil respiratoire par dissection des vaisseaux sanguins. Durant cette phase, une attention particulière sera prêté à la présence de parasites dans les principaux troncs vasculaires. Les ventricules seront ouverts au niveau de l'apex et le cœur incisé longitudinalement vers l'oreillette droite puis la gauche. Une attention particulière sera attirée sur la présence de communication entre les chambres cardiaques et sur la présence du canal artériel. Les parasites seront collectés (parasitologie) ainsi que la paroi ventriculaire gauche (histopathologie). Le larynx, la trachée et les principales bronches seront ouverts sur leur longueur et examinés, plus particulièrement pour la présence de parasites, de

lésions ou de liquide. Les lésions et les parasites seront collectés. Certains parasites, présents dans les bronches profondes et les bronchioles sont solidement fixés au parenchyme pulmonaire. Le nombre de parasites sera estimé et quelques individus seront prélevés avec un fragment de tissu pulmonaire associé (histopathologie). Les poumons seront examinés et décrits avant et après avoir été tran-

chés dans les différents lobes. La surface de la tranche sera examinée afin de décrire la présence d'éventuelles suffusions liquidienne. Le parenchyme pulmonaire sera collecté pour l'histopathologie, la virologie, la parasitologie et la bactériologie. Les principaux vaisseaux sanguins pulmonaires seront ouverts sur leur longueur et les parasites seront collectés. Les ganglions bronchiques seront

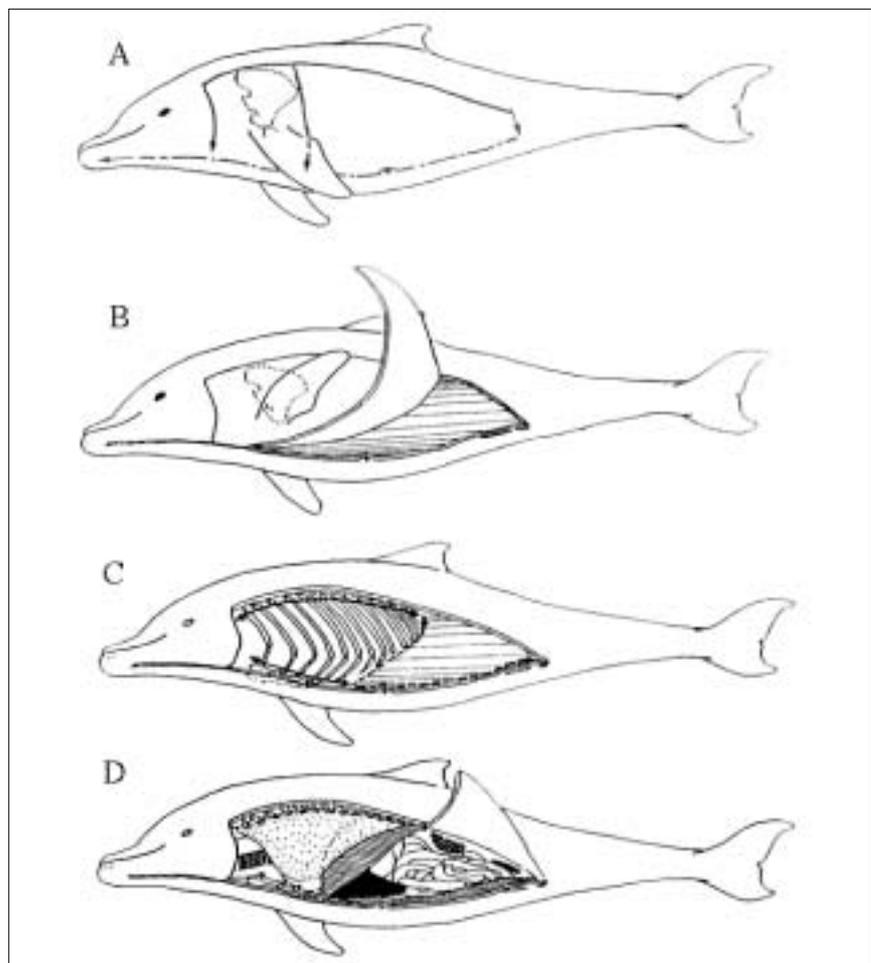


Figure 3 : Ouverture des cavités abdominale et thoracique chez les petits cétacés (d'après Hue, 1998). A : Incisions cutanées abdominales et thoraciques ; B : Retrait de la peau ; C : Dissection du plastron costal et de la paroi abdominale ; D : expositions des cavités corporelles

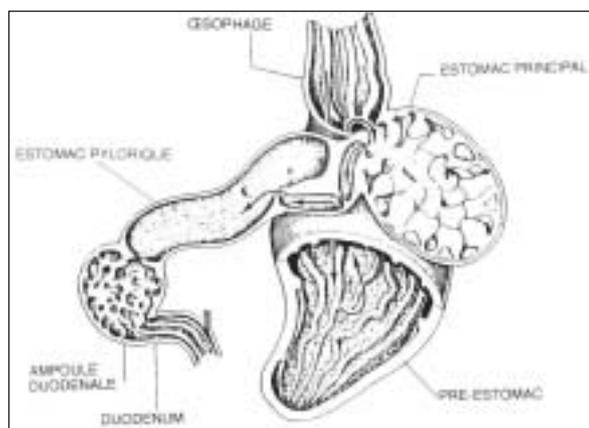


Figure 4 : Disposition des différents compartiments gastriques chez les petits cétacés (d'après Hue, 1998).



Figure 5 : Phoque commun échoué le long du littoral belge.
Photo UGMM, IRSNB.

examinés et prélevés pour l'histopathologie et la virologie. Certaines espèces ont des ganglions lymphatiques associés au poumon, présents le long du bord ventral de chaque poumon. Ce tissu sera également collecté pour l'histopathologie.

La cavité buccale (palais, gencives,...) et la langue seront examinées, décrites et les lésions éventuelles seront collectées.

Au moins 4 dents seront collectées à la mâchoire inférieure, à mi-longueur.

AUTOPSIE DE PINNIPÈDES

Dans les eaux d'Europe occidentale, tous les pinnipèdes sont d'une taille et d'un poids permettant un transport vers une infrastructure adéquatement équipée pour réaliser une autopsie. Les principales espèces rencontrées dans cette région sont:

- phoque commun (*Phoca vitulina*) (Figure 5) ;
- phoque gris (*Halichoerus grypus*).

Les espèces arctiques sont rares.

En Méditerranée, le phoque moine (*Monachus monachus*), devenu très rare, peut aussi s'échouer ou être pris dans un filet de pêche.

Particularité de l'autopsie

La même procédure que pour les petits cétacés est applicable pour les pinnipèdes. Pour l'ouverture de la carcasse, l'animal sera placé en décubitus dorsal. La peau sera incisée longitudinalement, de l'espace inter-mandibulaire à la symphyse pubienne, puis réséquée latéralement. Les côtes seront soit disséquées, soit sciées. La

procédure d'examen et de collecte d'échantillons est la même que pour les petits cétacés. Lorsque la peau doit être conservée (collection), l'incision sera limitée de l'appendice xyphoïde à la symphyse pubienne et le retrait du bloc cardio-respiratoire se fera après excision du diaphragme.

AUTOPSIE DES GRANDS CÉTACÉS ET ÉCHOUAGES MULTIPLES

Réaliser l'autopsie complète d'un ou de plusieurs grands cétacés représente un challenge logistique, technique et scientifique qui ne peut être envisagé que lorsqu'un maximum de conditions sont réunies. Mais, l'absence de données sur la biologie, la pathologie et les causes de mortalité de ces individus nécessitent de mettre tout en œuvre pour que soient réalisés ces examens.

Il n'y a pas de définition "métrique", de taille minimale pour cataloguer un mammifère marin de « grand cétacé ». Il s'agit d'individus qui, par leur mensuration et leur poids, ne peuvent pas être transportés jusqu'à une infrastructure d'autopsie. En Europe occidentale, il s'agit principalement de :

- globicéphales sp. (*Globicephala*



Figure 6 : Cachalot échoué en novembre 1994 à Coxyde. Mise en place des barrières délimitant le périmètre de sécurité. Photo UGMM.



Figure 7 : Rorqual commun échoué en novembre 1997 à Raversijde. Utilisation d'équipement lourd pour hisser le cadavre dans la zone supérieure de l'estran. Photo UGMM, IRSNB.

melaena et *G. macrohynchus*) adulte ;

- orque (*Orcinus orca*) ;
- cachalot (*Physeter macrocephalus*) (Figure 6) ;
- rorqual commun (*Balaenoptera physalus*) (Figure 7) ;
- rorqual de Rudolphi (*Balaenoptera borealis*)
- petit rorqual (*Balaenoptera acutorostrata*).

Comme les globicéphales et les cachalots s'échouent souvent simultanément en groupe de plusieurs individus (De Smet, 1974; Smeenk, 1997; Jauniaux *et al.*, 1998), nous considérons aussi la gestion de ces échouages massifs ou multiples. Un échouage est massif lorsqu'au moins deux mammifères marins s'échouent en même temps, au même endroit (Geraci et Lounsbury, 1993). Plus que

pour tout autre échouage, lorsque plusieurs grands cétacés s'échouent, une gestion à trois niveaux doit être envisagée, nécessitant idéalement un coordinateur technique (obtention de l'équipement lourd, gestion du site,...), un coordinateur administratif (relation avec les autorités communales, intervention auprès des médias,...) et un coordinateur scientifique (gestion de l'autopsie, de l'équarrissage,...).

Gestion d'un échouage de grands cétacés

Dans la plupart des cas, l'autopsie devra être réalisée à même la plage ou parfois, si l'animal a été remorqué, sur un dock de port. Dans la mesure du possible, cette dernière situation doit être favorisée car elle permet un équarrissage aisé de la carcasse et un nettoyage facilité du site. Mais ce cas de figure est rarement possible et l'animal est, le plus souvent, examiné sur les plages. Ces interventions nécessitent toujours une étroite collaboration entre les scientifiques et les autorités locales afin, d'une part d'obtenir toutes les autorisations nécessaires à l'intervention et, d'autre part, de pouvoir disposer du matériel lourd. En effet, de telles investigations ne peuvent être menées à bien que si les déchets issus de l'autopsie peuvent être évacués au fur et à mesure à l'aide de bulldozers et de camions. Comme signalé précédemment, les plages doivent être aussi propres après l'échouage qu'avant, même si aucune autopsie n'est pratiquée. Ainsi, équarrissage et autopsie devront se faire conjointement et en collaboration, le matériel lourd aidant le scientifique dans son intervention, le scientifique aidant l'équipe d'équarrissage par ses connaissances de l'anatomie (Jauniaux *et al.*, 1999). L'autopsie complète ne pouvant pas se réaliser sans l'aide de cet équipement, l'examen nécropsique sera différé, voire annulé lorsqu'il n'est pas disponible. En effet, la carcasse fermée est relativement étanche. Il n'en est pas de même lorsque la carcasse est ouverte. A partir de ce moment, l'intervention doit se faire dans les délais les plus brefs afin de limiter la dissémination de liquides biologiques dans l'environnement.

Impératif temporel

Le début de l'autopsie est souvent retardé pour des raisons soit natu-

relles soit humaines. La première contrainte est que la carcasse se trouve dans la zone de marée et comme une autopsie se prolonge souvent plus qu'un cycle intertidal, il est impératif de l'éloigner de cette zone. Il est possible grâce à un bulldozer, de hisser la carcasse dans la zone supérieure de l'estran au moment de la marée haute (Figure 7) ou de la remorquer dans un port pour être placée sur un dock. Il est possible de « retarder » momentanément la marée en érigeant, avec l'aide de bulldozers, des digues de sable. De nombreux avantages apparaissent à travailler hors de la zone de marée. Il permet un travail continu des équipes de scientifique et d'équarrissage, réduisant d'autant le coût financier de l'intervention. Les raisons humaines sont le plus souvent relatives à la justification de l'autopsie et à l'obtention de matériels lourds. Or, il est primordial d'intervenir le plus vite possible et de manière continue. En effet, dès après la mort, les phénomènes d'histolyse et de prolifération bactérienne sont très rapides chez les grands cétacés et dégradent d'autant plus vite les tissus. Ainsi, pour que l'examen nécropsique et les autres investigations post-mortem soient concluants, il faut débiter l'intervention le plus rapidement possible. En plus de cette raison, l'équarrissage devrait démarrer directement car la putréfaction augmente le risque de pollution biologique représentant un danger sanitaire supplémentaire. Un dernier élément justifiant une intervention rapide est que les grands cétacés et les cachalots en particulier peuvent littéralement exploser sous la pression interne des gaz de putréfaction (Jauniaux *et al.*, 1999) compliquant et retardant l'équarrissage. Cette éviscération spontanée peut survenir dès le stade de décomposition légère.

Public et média

De tous les échouages de mammifères marins, celui d'un grand cétacé suscite le plus vif intérêt de la part du grand public et des médias, qui doivent être informés sur le terrain sans pour autant interférer dans le travail des scientifiques et des machines. Dès lors, cette foule doit également être « gérée ». Ces raisons renforcent la nécessité de collaborations entre les différents acteurs d'un tel accident.

Equipement et organisation du site

Il est primordial de pouvoir disposer sur le site d'examen de tout le matériel nécessaire pour l'autopsie et les prélèvements (Tableau V), équipement qui doit pouvoir résister aux conditions externes parfois rudes (pluie, sable,...). Seules les personnes autorisées (les coordinateurs technique, administratif, scientifique, les volontaires associés et les autorités ou leurs représentants) peuvent avoir un accès direct à proximité de la carcasse. Pour limiter l'accès, des barrières ou des banderoles de sécurité devraient être placées sur le site afin de créer un périmètre de sécurité (Figure 6). Les raisons principales de cette limitation d'accès sont doubles, d'une part, il faut laisser champ libre au travail des bulldozers, des camions, ... et d'autre part, il faut réduire la dissémination des liquides biologiques issus de l'autopsie. De plus, comme signalé précédemment, les cachalots peuvent exploser sous la pression interne des gaz de putréfaction, projetant à plusieurs mètres des morceaux de carcasse. A cette fin de limitation d'accès, il est très utile de pouvoir rapidement et facilement identifier les personnes autorisées par la distribution de badges ou de tout autre moyen d'identification. Le travail étant le plus souvent réalisé dans de mauvaises conditions de luminosité, chaque personne autorisée devrait également disposer de vestes à bandes réfléchissantes ou fluorescentes. Pour les raisons déjà évoquées précédemment, dès que possible, il faut pouvoir disposer de l'équipement lourd nécessaire à la réalisation simultanée de l'autopsie et de l'équarrissage. Celui-ci pourra être obtenu auprès du service des travaux publics de la commune, de la Protection Civile ou être d'origine privée. Vu le coût élevé d'utilisation de ce matériel, dès qu'il sera disponible, l'autopsie devra débiter en fonction de la marée. Pour préparer l'ensemble de ces opérations, il faut disposer d'un centre opérationnel (bâtiment public, hôtel,...) dans lequel des réunions de concertation pourront se tenir ainsi que les conférences de presse.

Organisation de l'autopsie

Avant l'autopsie, une réunion préliminaire doit définir le rôle de chacun et toutes les parties impliquées doivent être présentes (coordinateur scienti-

Tableau V : Equipement nécessaire pour réaliser une autopsie et les prélèvements associés lors d'un examen nécropsique sur le site de l'échouage.

Autopsie	Couteaux de bonne qualité et fusil pour aiguiser Crochet de boucher Scalpels et lames Gants en latex et en kevlar Cordes et chaînes Bâches plastiques solides de grande taille Décamètre Appareil photo et film
Echantillonnage	Récipients en plastique étanche (250 ml et 1 l) Sachets plastiques (1 l et 5l) Récipients en verre de 5 ml pour la microscopie électronique Seringues et aiguilles Alcool 70% Tubes pour collecter le sang Marqueurs indélébiles Etiquettes pré-imprimées Frigo-box Microbiologie Ecouillons stériles avec milieu de transport Histopathologie Réservoir de 25 l de formol à 10% tamponné Réservoir de 25 l de formol à 37-40% Réservoir de 25 l d'eau distillée Réservoir de 100 ml de solution de glutaraldéhyde Parasitologie: Réservoir de 1 l d'éthanol à 70% avec 5 % de glycérine
Equipement de terrain	Equipement lourd capable de travailler sur la plage Bulldozers Camion d'équarrissage Equipement pour travail nocturne Groupe électrogène Eclairage
Divers	Système d'identification du personnel autorisé à intervenir (badges, vestes) Ravitaillement Trousse de premier soin Tenue d'autopsie (bottes, cirés,...)

fique, technique et administratif, autorité communale,...). Si plusieurs animaux sont échoués, il faudra, lors de cette réunion, définir un ordre prioritaire des individus à examiner (voir ci-dessous) et donner à chacun une référence individuelle pour l'autopsie et tous les échantillons.

De même, à la fin de l'autopsie, une réunion doit permettre de collecter toutes les informations relatives à l'intervention afin de donner les premières conclusions.

Si plusieurs animaux s'échouent en même temps, il peut être nécessaire d'établir un ordre de priorité d'intervention en fonction de la disponibilité en personnel, en équipement ainsi que

selon l'état de conservation de la carcasse (Jauniaux *et al.*, 1999). Au niveau A (**Tableau I**), la carcasse ne sera pas ouverte tandis qu'au niveau C, un examen nécropsique avec une collecte complète d'échantillons seront envisagés. Dès lors, les autopsies commenceront toujours par les animaux les plus frais (D.C.C < 4), facilement accessibles.

Particularité de l'autopsie

D'une manière générale, l'autopsie et la collecte des échantillons sont réalisées selon la même procédure que celle présentée pour les petits cétacés. Dans la mesure du possible, la carcasse sera déplacée dans la partie supérieure de l'estran, en décubitus

latéral. Si la carcasse est en état de décomposition avancé, il est dangereux de l'ouvrir directement. Pour pallier à cet inconvénient, la pression interne peut être diminuée soit en pratiquant des longues incisions cutanées, soit en insérant des tubes rigides au travers de la paroi abdominale qui permettront l'évacuation des gaz de putréfaction. Dans le cas d'échouages multiples, ces animaux ne seront considérés qu'en dernier lieu.

L'ouverture de la cavité abdominale est réalisée par la découpe d'une fenêtre dans la paroi abdominale. La peau et les muscles sont relativement faciles à découper, mais le tissu sous-cutané et le lard associé (blubber) sont très durs, particulièrement chez

les cachalots. Cette étape étant relativement longue et pénible, le recours à l'équipement lourd est utile selon la procédure présentée ci-dessous (Figure 8). Une incision horizontale au travers de la peau et du lard sous-cutané est pratiquée à mi-hauteur de la cavité abdominale et thoracique, à hauteur de l'anus jusqu'à la nageoire pectorale. Deux incisions verticales sont pratiquées, une cranialement et l'autre caudalement à cette première incision. Au niveau du bord libre supérieur de l'incision horizontale, des filins solides sont fixés au travers de la peau et du lard sous-cutané et reliés à une pelle mécanique (bulldozer, grue,...). Par traction progressive de la pelle mécanique, un pan de tissu est retiré par dissection le long des plans d'incisions horizontaux et verticaux. La même procédure est réalisée pour retirer les muscles de la paroi abdominale. Très souvent, poussés par la pression des gaz de putréfaction, l'estomac et les intestins font protusion au travers de cette incision et devront être ponctionnés. La masse viscérale étant trop volumineuse pour pratiquer l'examen in situ, les organes seront tour à tour sortis de la cavité. Pour limiter la contamination du site et pour faciliter l'examen nécropsique, une bâche plastique sera disposée le long de la carcasse avant d'y étendre les viscères et de pratiquer l'examen nécropsique ainsi que la collecte des échantillons. Au fur et à mesure, les organes doivent être évacués pour l'équarrissage.

La cavité thoracique peut être ouverte selon le même principe. Un filin, solidement attaché au niveau de la dernière côte, est mis en tension progressive par une pelle mécanique. Les côtes seront successivement disséquées au niveau des articulations vertébrales et sternales.

Dans la mesure du possible, la tête sera détachée du reste du corps permettant l'accès aux bulles tympaniques ainsi qu'au système nerveux, un prélèvement de l'encéphale pouvant être réalisé au travers du foramen occipital. En plus des échantillons classiquement collectés chez les cétacés, il faut collecter chez les baleines, un fanon ainsi que le conduit auditif.

Estimation du poids

Le poids total de l'animal peut être estimé en pesant les déchets de l'autopsie au centre d'équarrissage. Un

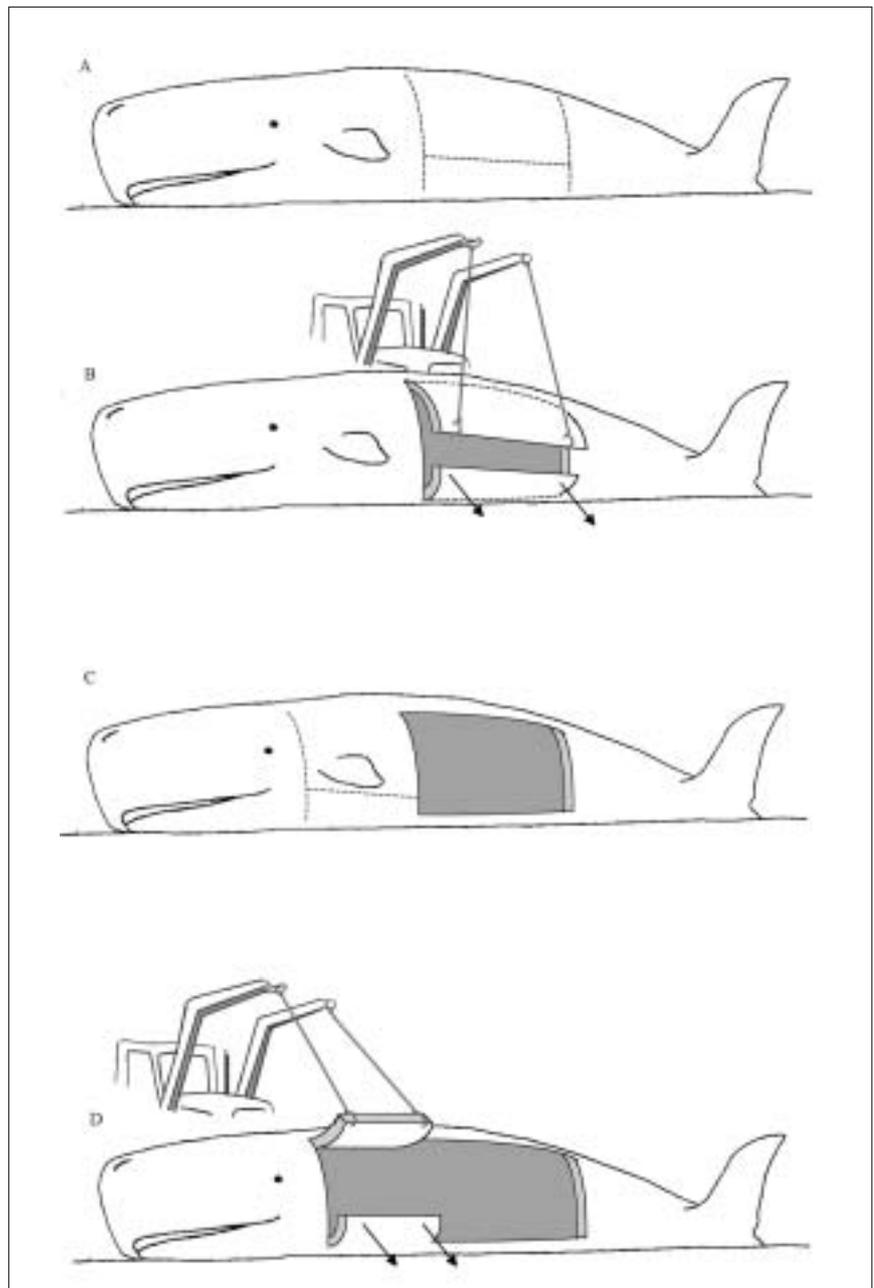


Figure 8 : Différentes étapes d'ouverture d'un grand cétacé avec l'aide d'équipements lourds (Modèle du cachalot). A et B : incision et retrait de la peau et de la graisse sous-cutanée abdominale ; C et D : incision et retrait de la peau et de la graisse sous-cutanée thoracique.

facteur de correction doit être introduit pour les pertes liquidiennes propres à la dissection. Pour le cachalot, ce facteur est de 1,14 (Lockyer, 1991).

Pour le cachalot, le poids (P en kg) peut être aussi estimé en fonction de la taille (L: longueur en mètres) selon la formule suivante: $P = 0,00218 \times L^{2,74}$ (Lockyer, 1991). Cette estimation prédictive est valable pour les animaux en bon état de santé et permet la comparaison avec les animaux échoués (Jauniaux et al., 1998).

CONCLUSIONS

Qu'il s'agisse de phoques, de petits ou de grands cétacés, l'autopsie systématique des mammifères marins échoués représente une étape indispensable pour la compréhension des causes de mortalité de ces espèces. Les examens complémentaires réalisés à partir de cette autopsie complètent tout autant nos connaissances de ces animaux. De plus, ces mammifères sont de précieux bioindicateurs qui nous renseignent sur le niveau de contamination de l'environnement marin par les toxiques stables et sur les altérations que ces produits peu-

vent engendrer chez les espèces situées en sommet de chaîne alimentaire, position également occupée par l'homme. Ainsi, l'intérêt de ces animaux au travers des autopsies dépasse l'identification des lésions, des causes de mortalité et de leur origine mais s'inscrit dans un cadre global de surveillance et d'évaluation de l'écosystème marin. La mise en place de réseaux multidisciplinaires intégrés et reconnus est la base de ce principe. L'étape la plus délicate est la sensibilisation et la collaboration des autorités publiques afin d'obtenir les autorisations d'intervention et de gestion des échouages, y compris celles de pouvoir réaliser des autopsies sur les plages. Le système appliqué au tra-

vers du groupe MARIN (*Marine Animals Research & Intervention Network*) pour la côte belge et les régions avoisinantes a ainsi permis l'autopsie et les examens complémentaires sur plus de 160 individus, dont 16 grands cétacés, entre 1990 et 2001, l'ensemble représentant une base de données originale pour les côtes continentales de la baie sud de la Mer du Nord.

SUMMARY

For ever, marine mammals strandings have occurred on the coasts of Europe. Nevertheless, the increased interest for the protection and the conservation of those

species, as well as their role as bioindicators of the marine environment justify systematic necropsies that are performed following standard procedures. The aim of this paper is to describe techniques for necropsies and tissue sampling for the most commonly stranded species on the coastlines of the North Sea, the Channel, the French coast of the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea. In addition, the procedure provides techniques of field operations and stranding management, more specifically with regard to large cetaceans.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYMOUS Gillnets and cetaceans. International Whaling Commission: Cambridge, 1994, 629 p.
- APPEL M. Canine distemper epizootic in lions, tigers and leopards in North America. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1994, **6**, 277-288.
- BAKER J.R. Causes of mortality and parasites and incidental lesions in dolphins and whales from British waters. *Vet. Rec.*, 1992, **130**, 569-572.
- BROWN S. Ethical consideration in marine mammal management. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 1999, **214**, 1175-1177.
- BUSBEE D., TIZARD I., STOTT J., FERRICK D., OTT-REEVES E. Environmental pollutants and marine mammal health: the potential impact of hydrocarbons and halogenated hydrocarbons on immune system dysfunction. In : Reijnders, P.J.H., Aguilar, A., Donovan, G.P., *J. Cetaceans Res. Manag.*, Special issue: Chemical pollutants and cetaceans. International Whaling Commission : Cambridge, 1999, 223-248.
- CABARD P., CHAUVET B. L'étymologie des noms des mammifères. *Eveil Nature*: Saint Yrieix sur Charente, 1998, 240 p.
- CLAUSEN B. Practical guidelines for postmortem examination and tissue sampling of cetaceans for ecotoxicological purposes. In : Reijnders, P.J.H., Aguilar, A., Donovan, G.P., *J. Cetaceans Res. Manag.*, Special issue: Chemical pollutants and cetaceans. International Whaling Commission : Cambridge, 1999, 43-45.
- COIGNOUL F., JAUNIAUX T. Basic concepts of veterinary pathology. In : Jauniaux, T., Bouquegneau, J.-M., Coignoul, F., *Marine mammals, seabirds and pollution of marine systems*. Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire : Liège, 1997, 109-115.
- DE SMET W.M.A. Inventaris van de walvisachtigen (Cetacea) van de Vlaamse kust en de Schelde. *Bull. Inst. Roy. Sc. Nat. Belgique*, 1974, **50**, 156.
- DIERAUF L.A. Marine mammal necropsy specimen collection. In : Dierauf L.A. (Ed.), *Handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation*. CRC Press : Boca Raton, 1990a, p. 291-294.
- DIERAUF L.A. Disposition of marine mammals. In : Dierauf L.A. (Ed.), *Handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation*. CRC Press : Boca Raton, 1990b, p. 267-286.
- DIERAUF L.A., GAGE L.J. Gross necropsy of cetaceans and pinnipeds. In : Dierauf L.A. (Ed.), *Handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation*. CRC Press : Boca Raton, 1990, p. 285-286.
- DIERAUF L.A. Pinniped forensic, necropsy and tissue collection guide. National oceanic and atmospheric administration National marine fisheries service: 1994, 80 p.
- GARCÍA HARTMANN M. Pathology of marine mammals. In : Jauniaux T., Coignoul F., Bouquegneau J.-M. (Eds.), *Marine Mammals, Seabirds, and Pollution of Marine Systems*. Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire : Liège, 1997, p. 117-149.
- GERACI J.R., LOUNSBURY V.J. Marine mammals ashore : a field guide for strandings. Texas A&M sea grant publication: Galveston, 1993, 304 p.
- GERACI J.R., HARWOOD J., LOUNSBURY V.J. Marine mammal die-offs: causes, investigations, and issues. In : Twiss J.R., Randall R.R. (Eds.), *Conservation and management of marine mammals*. Smithsonian institution press : Washington, 1999, p. 367-395.
- GREER L.L., WHALEY J., ROWLES T. Euthanasia. In : Dierauf, L.A., Gulland, M.D. (Eds.), *Handbook of marine mammal medicine*. CRC Press : Boca Raton, 2001, p. 729-738.
- GULLAND F.M.D., DIERAUF L.A., ROWLES T. Marine mammal stranding network. In : Dierauf, L.A., Gulland, M.D. (Eds.), *Handbook of marine mammal medicine*.

- CRC Press : Boca Raton, 2001, p. 45-67.
- HAELTERS J. , JACQUES T. The North Sea. In : Van Goethem J., Baute P. , Peeters M. (Eds.), First national report of Belgium to the convention on biological diversity. Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen : Brussel, 1998, p. 49-56.
- HUE C. Conduite à tenir par le vétérinaire lors de l'échouage d'un mammifère marin. Thèse pour le doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort: Paris, 1998, 203 p.
- HYMAN J. Euthanasia in marine mammals. In : Dierauf L.A. (Ed.), Handbook of marine mammal medicine: health, disease, and rehabilitation. CRC Press : Boca Raton, 1990, p. 265-266.
- JACQUES T. Science and conservation in whale strandings: the role of the public authorities. *Bull Inst Roy Sc Nat de Belgique*, 1997, **67-suppl.**, 127-133.
- JAUNIAUX T., BROSENS L., JACQUINET E., LAMBRIGTS D., ADDINK M.J., SMEENK C., COIGNOUL F. Postmortem investigations on winter stranded sperm whales from the coasts of Belgium and the Netherlands. *J Wild Dis*, 1998, **34**, 99-109.
- JAUNIAUX T., GARCÍA HARTMANN M. , COIGNOUL F. Postmortem examination and tissues sampling of sperm whales *Physeter macrocephalus*. In : Tougaard S. , Kinze C.C. (Eds.), Sperm whale strandings in the North Sea : the event-the action-the aftermath. Fisheries and Maritime Museum : Esbjerg, 1999,
- KIRKWOOD J.K., BENNETT P.M., JEPSON P.D., KUIKEN T., SIMPSON V.R., BAKER J.R. Entanglement in fishing gear and other causes of death in cetaceans stranded on the coasts of England and Wales. *Vet. Rec.*, 1997, **141**, 94-98.
- KUIKEN T., GARCÍA HARTMANN M. Proceedings of the first European Cetacean Society workshop on cetacean pathology: dissection techniques and tissue sampling. ECS Newsletter #17 special issue: 1991, 39 p.
- LAIR S., BÉLAND P., DE GUISE S., MARTINEAU D. Adrenal hyperplastic and degenerative changes in beluga whales. *J Wild Dis*, 1997, **33**, 430-437.
- LOCKYER C. Body composition of the sperm whales *Physeter macrocephalus*, with special reference to the possible functions of fat depots. *Rit Fiskideilar Journal of the Marine Research Institute Reykjavik*, 1991, **12**, 1-24.
- NEEDHAM D.J. Cetacean strandings. In : Fowler M.E. (Ed.), Zoo and wild animal medicine current therapy. W.B. Saunders Company : Philadelphia, 1993, p. 415-425.
- NORTH SEA TASK FORCE North Sea Quality Status Report 1993. Oslo and Paris Commissions : London, 1993, 345 p.
- NORTHRIDGE S.P. , HOFMAN R.J. Marine mammal interactions with fisheries. In : Twiss J.R. Randall R.R. (Eds), Conservation and management of marine mammals. Smithsonian institution press : Washington, 1999, p. 99-119.
- NOEL L. The work of media in whale strandings. *Bull Inst Roy Sc Nat de Belgique*, 1997, **67-suppl.**, 123-126.
- REDDY M., DIERAUF L.A. , GULLAND F.M.D. Marine mammals as sentinels of ocean health. In : Dierauf L.A. , Gulland M.D. (Eds.), Handbook of marine mammal medicine. CRC Press : Boca Raton, 2001, p. 3-13.
- SCHMIDT D. Is euthanasia possible. In : Tougaard, S. , Kinze, C.C., Sperm whale strandings in the North Sea : the event-the action-the aftermath. Fisheries and Maritime Museum : Esbjerg, 1999, p. 12.
- SIEBERT U., JOIRIS C., HOLSBECK L., BENKE H., FAILING K., FREZE K., PETZINGER E. Potential relation between mercury concentrations and necropsy findings in cetaceans from German waters of the North and Baltic Seas. *Mar.Pollut.Bull.*, 1999, **38**, 285-295.
- SMEENK C. Strandings of sperm whales *Physeter macrocephalus* in the North Sea: history and patterns. *Bull. Inst. Roy. Sc. Nat. Belgique*, 1997, **67-suppl.**, 15-28.
- TASSYNS J. The collection and processing of animal waste in the Flemish region. *Bull. Inst. Roy. Sc. Nat. Belgique*, 1997, **67-suppl.**, 63-67.
- TAVERNIER J. Marine mammal strandings: technical control on site. *Bull. Inst. Roy. Sc. Nat. Belgique*, 1997, **67-suppl.**, 115-118.