

EVOLUZIONE DELLE LESIONI MACROSCOPICHE E MICROSCOPICHE DA WHITE STRIPING NEL BROILER

Russo E.¹, Felice V.², Recordati C.³, Tasoniero G.⁴, Dalle Zotte A.⁴, Catelli E.², Lupini C.², Longoni C.¹, Cecchinato M.⁴

¹ MSD Animal Health s.r.l., Via F.lli Cervi snc, Centro Direzionale Milano Due - Palazzo Canova, 20090, Segrate (MI).

² Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano dell'Emilia (BO)

³ Mouse & Animal Pathology Laboratory, Fondazione Filarete, Viale Ortles 22/4, 20139, Milano

⁴ Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università degli Studi di Padova, Agripolis, viale dell'Università 16, 35020, Legnaro (PD)

Summary

White striping (WS) is an alteration of broiler muscle characterized by the presence of white striations parallel to the direction of muscle fibers. WS affects mainly heavier birds, and is increasing his economic impact on meat production.

To evaluate the evolution of lesions 240 broilers were breed under field condition and groups of 80 birds were sacrificed at 12, 25 and 51 days. Breast were scored for WS (0=absence, 1=mild, 2=severe) and sampled for histology.

Each histological lesion (cell degeneration, presence of adipocytes inside the fiber, presence of fibrosis inside the fiber, presence of diffused inflammation, presence of vasculitis) was scored and an overall score was create to summarize microscopic alterations. The scores of cells degeneration, presence of adipocytes and fibrosis inside the muscular fiber correlates very well, indicating the 3 lesions develops together. Inflammation (both diffused and vasculitis) develops independently from others lesions.

The average scores at 12, 25 and 51 days of all parameters, and of macroscopic scores were compared and there was a significant difference in all parameters evaluated at different ages, confirming the evolution of lesions along time.

INTRODUZIONE

Il *white striping* (WS) è un'alterazione del muscolo del pollo da carne caratterizzata macroscopicamente da striature bianche parallele alla direzione delle fibre muscolari, in particolare sulla superficie ventrale del muscolo del petto (1).

Ad oggi, la patogenesi di WS non è ancora chiara, ma la sua prevalenza è maggiore in genotipi selezionati per l'elevata resa in petto (2) per il rapido accrescimento e con peso maggiore alla macellazione (3). Le proprietà nutrizionali della carne sono alterate, infatti le lesioni più gravi di WS sono associate ad un aumento della quantità di grasso a discapito del contenuto proteico (4). Anche le proprietà tecnologiche della carne sono modificate come il pH e il potere di ritenzione idrica. Dopo la cottura sono inoltre evidenti perdite di peso (2), aumento della durezza e consistenza gommosa (5).

Il consumatore non gradisce la carne fresca affetta da WS, a causa delle striature biancastre macroscopicamente visibili associate alla presenza di depositi di grasso



(6). Poichè le caratteristiche qualitative della carne e la scelta del consumatore sono influenzate negativamente dalla miopatia WS, quest'ultima è responsabile di danno economico per l'industria (6).

Dal punto di vista macroscopico le lesioni di WS sono state classificate in base alla dimensione e alla distribuzione delle striature bianche in 3 gradi: normale, moderato e severo, secondo lo *score* definito da Kuttappan et al. (6). Dal punto di vista istologico la descrizione qualitativa delle lesioni è stata ampiamente discussa (7, 8) e la miopatia è stata definita una miopatia di tipo degenerativo con lesioni polifasiche. In particolare sono presenti: fibre ipereosinofile e di forma rotondeggiante, perdita della loro striatura trasversale e variabilità della dimensione, presenza di lesioni degenerative a carico delle fibre, lisi delle fibre e successiva sostituzione di quelle danneggiate con adipociti e fibrosi, lieve mineralizzazione, rari fenomeni rigenerativi, fenomeni di infiammazione (edema, linfociti e macrofagi), fagocitosi delle fibre danneggiate e fibrosi interstiziale (7). L'infiltrazione degli adipociti è anche evidente nell'interstizio (9).

Scopo del presente lavoro è stato quello di definire uno *score* istologico per la valutazione delle lesioni di WS in polli da carne, e di valutare l'evoluzione delle lesioni macroscopiche e microscopiche nel corso di un ciclo produttivo di broiler.

MATERIALI E METODI

Disegno sperimentale

I campioni utilizzati per questa prova sono stati prelevati da 240 broiler (ibridi commerciali).

Gli animali sono stati alimentati con mangime commerciale: 1-12 giorni mangime starter, 13-25 giorni II periodo, 26-42 giorni III periodo, 42-51 giorni finissaggio.

Ottanta animali sono stati sacrificati ad ogni tempo di prelievo: a 12, 25 e 51 giorni. Per ogni animale sono stati registrati: peso del petto e punteggio macroscopico di WS secondo la scala di punteggi proposta da Kuttappan *et al.* (6). Dalla porzione craniale di ogni petto è stato prelevato un cubo di tessuto muscolare del lato di 2 cm circa per indagini istologiche.

Indagine istologica

Campioni di tessuto muscolare della porzione craniale del petto sono stati prelevati e fissati immediatamente in formalina tamponata al 10% e secondariamente inclusi in paraffina. Le sezioni ottenute al microtomo, di circa 5 µm di spessore, dopo sparafinatura, sono state colorate con Ematossilina ed Eosina.

Tutte le sezioni sono state osservate al microscopio ottico ed è stata eseguita una valutazione della degenerazione delle fibre muscolari, dell'infiammazione diffusa, della vasculite, del grado di lipidosi e di fibrosi. Per ogni sezione sono stati analizzati 10 campi microscopici ad un ingrandimento di 10x e ad ogni sezione è stato assegnato un punteggio da 0 a 3/4 per lesione, come riportato in tabella 1. Tutte le sezioni sono state valutate da due operatori in doppio cieco.

Tabella 1. Schema dei punteggi per la valutazione delle lesioni istologiche da WS.

| Score | Degenerazione della fibra muscolare | Infiammazione diffusa | Vasculite | Aggregati lipidici interni alle fibre muscolari | Fibrosi interna alle fibre muscolari |
|-------|---|--|-----------------------------------|---|---|
| 0 | Assente | Assente | Assente | Assente | Assente |
| 1 | Fibre alterate (fibre rotondeggianti/rigonfie/in lisi) | Occasionale (un solo aggregato di cellule infiammatorie) | Occasionale | Presenza occasionale di adipociti all'interno delle fibre muscolari | Presenza occasionale di fibrosi all'interno delle fibre muscolari |
| 2 | Fibre alterate + almeno una fibra in degenerazione | Presente in metà dei campi microscopici | 50% dei vasi presenta vasculite | Il 50% delle fibre presentano adipociti al loro interno | Presenza di fibrosi all'interno del 50% delle fibre muscolari |
| 3 | Il 50% delle fibre sono alterate o degenerate | Presente in tutti i campi | Tutti i vasi presentano vasculite | Il 100% delle fibre presentano adipociti al loro interno | Presenza di fibrosi all'interno di più del 50% delle fibre muscolari con perdita del confine tra le fibre |
| 4 | Più del 50% delle fibre sono degenerate o sostituite da tessuto adiposo e/o fibroso | / | / | / | / |

Analisi statistica

Il software utilizzato per l'analisi statistica è PSPP. Per la valutazione della correlazione tra i diversi parametri istologici valutati (degenerazione delle fibre muscolari, infiammazione diffusa, vasculite, presenza di adipociti e fibrosi) e tra essi ed i parametri derivati è stato utilizzato l'indice di correlazione di Pearson (ρ). Per il confronto tra gruppi è stata eseguita una ANOVA.

RISULTATI

Tutti i campioni analizzati hanno mostrato almeno una alterazione a livello istologico.

I parametri “degenerazione della fibra muscolare”, “aggregati lipidici interni alle fibre muscolari” e “fibrosi interna alle fibre muscolari” sono risultati fortemente correlati tra loro. Per le successive analisi si è deciso di inserire anche un parametro derivato dalla somma dei tre precedenti e che correla molto bene con tutti e tre (indice di correlazione rispettivamente $\rho=0,90$; $\rho=0,89$; $\rho=0,91$).

L’infiammazione diffusa e la vasculite non sono risultate correlate a nessun altro parametro e nemmeno tra loro.

La media e la deviazione standard dei risultati ottenuti a 12, 25 e 51 giorni per i parametri macroscopici e microscopici valutati nello studio sono riportati nella tabella 2.

Tabella 2. Media e deviazione standard dei parametri valutati: punteggio macroscopico di WS, degenerazione cellulare, presenza di adipociti all’interno della fibra muscolare, presenza di fibrosi all’interno della fibra muscolare, punteggio complessivo, vasculite ed infiammazione diffusa.

| Età | 12 | 25 | 51 |
|--|-----------------|-----------------|------------------|
| punteggio macroscopico WS (media \pm DS) | 0 | 0,36 \pm 0,28 | 1,17 \pm 0,69 |
| degenerazione (media \pm DS) | 1,08 \pm 0,48 | 2,16 \pm 0,75 | 2,85 \pm 0,75 |
| presenza di adipociti (media \pm DS) | 0,27 \pm 0,35 | 0,84 \pm 0,59 | 1,86 \pm 0,90 |
| presenza di fibrosi (media \pm DS) | 0,29 \pm 0,34 | 0,42 \pm 0,57 | 1,32 \pm 1,06 |
| punteggio complessivo (media \pm DS) | 3,09 \pm 2,15 | 5,70 \pm 2,94 | 11,85 \pm 5,63 |
| Vasculite (media \pm DS) | 0,34 \pm 1,40 | 0,37 \pm 0,63 | 0,94 \pm 1,08 |
| Infiammazione diffusa (media \pm DS) | 0,47 \pm 0,49 | 0,81 \pm 0,83 | 1,64 \pm 1,06 |

Tutti i parametri considerati hanno dimostrato di avere un punteggio medio significativamente più alto man mano che l’età degli animali aumenta.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La presenza di anomalie a livello istologico a 12 giorni, sebbene in assenza di lesioni macroscopiche, fa presupporre che il danno muscolare che si sviluppa poi in WS inizi già durante la i primi 10 giorni del ciclo produttivo.

L’assenza di fenomeni infiammatori gravi a 12 giorni, quando il quadro istologico è caratterizzato prevalentemente da degenerazione di fibrocellule muscolari singole, fa supporre che la causa di tale degenerazione sia un fenomeno di natura apoptotica e non un fenomeno di natura immunitaria.

L’aggravarsi delle lesioni con l’età degli animali è tipica di una patologia a carattere cronico. Analizzando la sequenza delle lesioni presenti nei vetrini a differenti età si può osservare come la prima alterazione che compare è l’ingrossamento delle fibrocellule cellulari (*swollen cells*), seguito dalla loro degenerazione. A seguito della degenerazione le fibrocellule muscolari possono essere sostituite da adipociti o da depositi di tessuto fibroso.

Infiammazione diffusa e vasculite tendono ad aggravarsi man mano che l’animale cresce, ma non sono correlate alla gravità delle altre lesioni.

In conclusione le lesioni istologiche risultano evidenti già molto prima di quelle macroscopiche ed indicano un’insorgenza del WS già nella seconda settimana. Le lesioni istologiche si aggravano progressivamente nel corso del ciclo, come le lesioni macroscopiche. Ulteriori studi saranno necessari per individuare cause e fattori predisponenti di questo fenomeno.

BIBLIOGRAFIA

1. Kuttappan VA, Hargis BM, and CM Owens (2016). White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. *Poultry Science*. 95:2724–2733.
2. Petracci M, Mudalal S, Bonfiglio A, and Cavani C (2013). Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*. 92:1670–1675.
3. Kuttappan VA, Brewer VB, Mauromoustakos A, McKee SR, Emmert JL, Meullenet JF, and Owens CM (2013a). Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science*. 92:811–819.
4. Kuttappan VA, Brewer VB, Apple JK, Waldroup PW, and Owens CM (2012a). Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science*. 91:2677–2685.
5. Sanchez Brambila G, Bowker BC, and Zhuang H (2016). Comparison of sensory texture attributes of broiler breast fillets with different degrees of white striping. *Poultry Science*. 95:2472-6.
6. Kuttappan VA, Lee YS, Erf GF, Meullenet GFC, McKee SR, and Owens CM. (2012b). Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poultry Science*. 91:1240–1247.
7. Kuttappan VA, Shivaprasad HL, Shaw DP, Valentine BA, Hargis BM, Clark FD, McKee SR, and Owens CM (2013b). Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poultry Science*. 92:331–338.
8. Mazzoni M, Petracci M, Meluzzi A, Cavani C, Clavanzani P, and Sirri F. (2015). Relationship between pectoralis major muscle histology and quality traits of chicken meat. *Poultry Science* 94:123–130.
9. Baldi G, Soglia F, Mazzoni M, Sirri F, Canonico L, Babini E, Laghi L, Cavani C and Petracci M. (2016). Implications of white striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. *Animal*: 1 - 10.