

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA ANIMALE, PRODUZIONI E SALUTE

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in Medicina Veterinaria

INDAGINE MORFOLOGICA SULLE MIOPATIE DEL POLLO DA CARNE

Relatore

Prof. GIUSEPPE RADAELLI

Correlatore

Prof.ssa ANGELA TROCINO

Laureanda

ELISA DEL ZOTTO

Matricola n.1019348

ANNO ACCADEMICO 2015-2016

Indice

Riassunto	í ..	5
Abstract	í í	7
Introduzione	í .	9
<i>Il mercato del broiler</i>	í ..	9
Il prodotto	í .	9
Dati aggiornati su produzione, consumo e previsioni future su scala globale	í í í í í ..	10
Principali produttori e consumatori a livello mondiale ed europeo	í í í í í í í í í ..	12
Una panoramica italiana	í í	14
Sistema produttivo a integrazione verticale	í ..	14
<i>L'utilizzo dell'ibrido: vantaggi e svantaggi</i>	í .	16
<i>Allevamento intensivo: tecniche e problematiche annesse</i>	í í í í í í í í í í í í í í í í í .	19
L'alimentazione	í .	22
Normativa vigente sul Benessere	í ..	23
<i>La macellazione: influenza dei diversi passaggi sul prodotto finale (ante mortem e durante la macellazione)</i>	í ..	25
<i>Rigor mortis e frollatura: parametri che influenzano la qualità del prodotto (post mortem)</i>		27
<i>La composizione chimica della carne di pollame e del petto in particolare</i>	í í í í í í í	29
<i>Parametri tecnologici e di lavorazione influenzanti la qualità della carne</i>	í í í í í í í .	30
<i>La qualità e i difetti</i>	í .	32

Riassunto

La maggior parte della carne di pollame commercializzata ad oggi proviene da ibridi altamente selezionati per una migliore resa in carne e una elevata percentuale in petto.

La selezione genetica effettuata per tali caratteristiche, sommata alle condizioni intensive di allevamento, ha portato alla comparsa di miopatie, interessanti in particolare il muscolo *Pectoralis major*, quali il *white striping* e il *wooden breast*.

Macroscopicamente, queste anomalie si manifestano con la comparsa di striature biancastre o aree più pallide di consistenza aumentata. In alcuni casi sono state osservate differenze di pH, colore e luminosità e sono state riportate anche variazioni rispetto alla composizione chimica, in particolare modo un aumento del contenuto di lipidi e acqua e una diminuzione del contenuto di proteine e ceneri.

A livello istologico, queste lesioni sono descritte come un quadro infiammatorio cronico degenerativo-necrotico, con presenza di fibre a diverso diametro, ipereosinofilia e citoplasma ialino, perdita delle striature, internalizzazione dei nuclei, vacuolizzazione, *fiber splitting*, infiltrato mononucleato, in particolare da parte di linfociti CD3, fagocitosi in atto, fibrosi con abbondanza di tessuto connettivo lasso e collagene, lipidosi.

Sono stati svolti numerosi studi con l'obiettivo di caratterizzare e identificare queste lesioni e le cause sottostanti; i fattori più comunemente presi in considerazione sono il tipo genetico, il management e il sistema di alimentazione.

Nel presente esperimento si è voluto considerare il fattore relativo all'età, per meglio caratterizzare la comparsa di queste miopatie e l'influenza di altri fattori ambientali. Le osservazioni sono state svolte su un totale di 192 polli, macellati a 14, 21, 28, 35 e 46 giorni di età e sottoposti a analisi macroscopiche, istologiche e immunoistochimiche. Sono stati presi in considerazione due tipi genetici, due sistemi di alimentazione ed entrambi i sessi. Metà degli animali è stata sottoposta a razionamento alimentare dal 13° al 21° giorno, ha ricevuto cioè una quantità di mangime pari all'80% del consumo rilevato il giorno precedente negli animali alimentati *ad libitum*.

All'esame istologico la percentuale di polli con degenerazione delle fibre muscolari è risultata in media del 68,8% e non influenzata dal genotipo o dal sesso dell'animale, mentre sono stati riscontrati effetti del sistema di alimentazione e dell'età.

Il diverso sistema alimentare è risultato infatti uno dei fattori principalmente condizionanti l'insorgenza e la prevalenza di *white striping*, il quale è risultato maggiore negli animali alimentati *ad libitum*.

Con l'aumentare dell'età, è aumentata significativamente anche la percentuale di polli che mostrano alterazioni del *P. major* ($P < 0,001$), è stata quindi osservata un'interazione significativa tra il sistema di alimentazione e l'età del pollo.

Per ogni campione è stato assegnato un punteggio di degenerazione muscolare, di fibrosi e lipidosi e si è osservato che non vi erano effetti da parte del genotipo, genere o sistema di alimentazione, mentre tale punteggio aumentava significativamente con l'aumentare dell'età del pollo ed era maggiore negli animali alimentati *ad libitum* rispetto a quelli soggetti a alimentazione controllata a 21 e 28 giorni di età; successivamente (a 35 e 46 giorni) il punteggio risultava essere più elevato negli animali sottoposti a razionamento.

Il numero di nuclei apoptotici, indagato mediante analisi immunohistochimica, è aumentato solo con l'età del pollo (da 0,09 a 8,45 da 14 a 46 giorni di vita; $P < 0,001$) e la densità capillare è risultata diminuita passando dalla prima all'ultima macellazione.

Concludendo si può affermare che miopatie quali il *white striping* sono molto diffuse nei moderni ibridi commerciali, presentano uno specifico periodo di comparsa attorno ai 21 giorni di età e risultano essere influenzate *in primis* dal sistema alimentare adottato.

Abstract

A morphological investigation on broiler myopathies

Most of the poultry meat sold and bought nowadays originates from high selected hybrids characterized by an elevated meat yield and breast percentage.

Genetic selection, together with intensive rearing conditions, led to an increasing occurrence of myopathies like *white striping* and *wooden breast*, affecting primarily the *Pectoralis major* muscle.

At gross examination, lesions appear as white striations or pale areas with loss of texture. Differences regarding pH, colour and lightness were also observed. Moreover changes in the proximate and mineral composition, like an increase in fat and moisture and a decrease in protein and ashes have been reported.

Histologically lesions resemble a chronic degenerative-necrotic inflammatory pattern: muscle fibers appear hyper-eosinophilic with loss of cross striations and internalization of nuclei, variability in size, vacuolar degeneration, fiber splitting, phagocytosis, interstitial inflammation, especially CD3 lymphocytes, abundant collagen-rich connective tissue, lipidosis and fibrosis.

Several studies aimed to characterize these lesions: the most influencing factors are supposed to be genotype, management and feeding system.

The aim of the present trial is to investigate the effect of age in order of better understanding the occurrence of myopathies and its related environmental effects.

A total of 192 chickens were used to sample muscle at 14, 21, 28, 35 and 46 days of age and then samples were submitted to gross examination, histological and immunohistochemical analysis. Half of the chickens belonged to high-breast-yield genotype, the other half was standard-breast-yield. Half pens was fed *ad libitum*, the remaining half was restricted in the period 13-21 days of age, the restricted birds received the 80% of the quantity consumed by the chickens fed *ad libitum* on the previous day. Both sexes were also evaluated separately.

The percentage of chickens showing any degree of muscle fiber degeneration on histological examination averaged 68.8% and was not affected by the genotype or the sex of the animal, whereas a significant effect of the feeding system and the chicken age was measured.

Feeding system represented one of the most important effects: animals always fed *ad libitum* showed an higher occurrence and prevalence of *white striping*.

Besides, when age increased from 14 to 46 days of age, the percentage of chickens showing altered *P. major* significantly increased ($P < 0.001$); a significant interaction between the feeding system and the chicken age was measured.

By histological examination, an assessment of myopathic lesions, lipidosis and fibrosis was made using a score of muscle degeneration; no effect by genotype or sex was recorded, on the other hand the score increased with the chicken age and was higher in chickens fed *ad libitum* compared to those restricted at 21 and 28 days of age, but then (35 and 46 days of age) the score was higher in the animals previously restricted.

The number of apoptotic nuclei only increased with the chicken age (from 0.09 to 8.45 from 14 to 46 days of age; $P < 0.001$) and vascularization comparing first and last slaughtered birds resulted lower in density.

In conclusion, myopathies like *white striping* are widespread among modern commercial hybrids, they tend to appear around 21 days of age and are influenced above all by the feeding system adopted.

Introduzione

Il mercato del broiler

Il prodotto

Il pollo domestico (*Gallus gallus*), oltre a essere la maggiore risorsa di uova da consumo, rappresenta una fonte di carne importante sia nei paesi industrializzati che in quelli in via di sviluppo. È riconosciuta essere la specie più sfruttata a fini alimentari, infatti il suo ciclo biologico breve e la sua adattabilità a diversi ambienti ne facilitano l'allevamento (UNAVICOLTURA, 2015).

La carne di pollo risulta essere la seconda fonte di carne più prodotta e consumata e si prevede che i consumi aumenteranno, così che in breve risulterà essere la carne più consumata al mondo (FAO 2015).

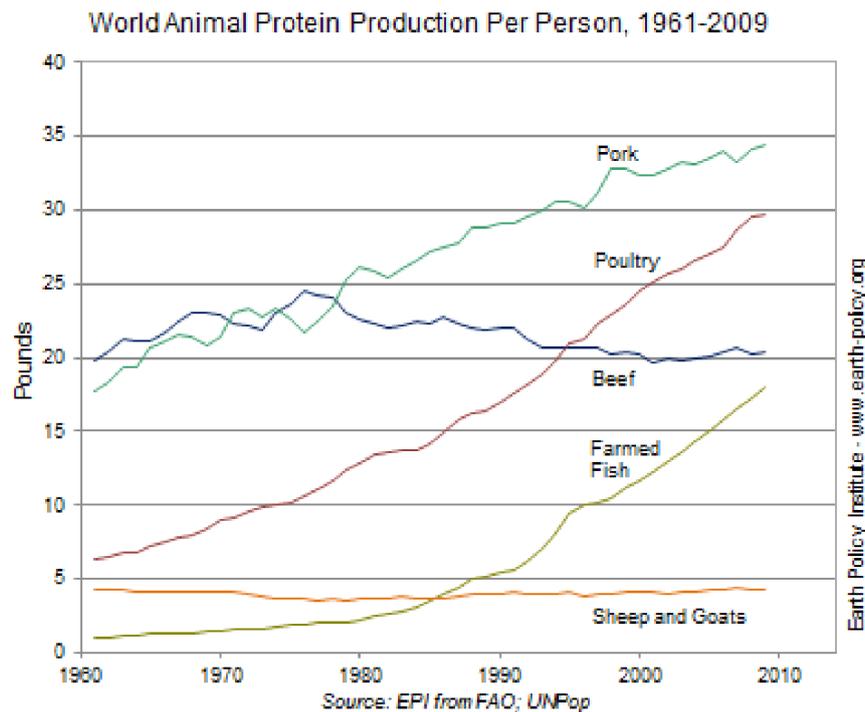


Figura 1. Produzione di carne su scala globale FAO (2010)

Guardando ai consumi degli ultimi anni, si è visto come la carne di pollo abbia mostrato una crescita quasi lineare, ma abbia conosciuto anche delle fasi di declino, legate agli "scandali alimentari" (Center for Disease Control and prevention, 2015) quali il òpollo alla diossinaö, in particolare ricordiamo l'episodio del 1999, e l'influenza aviaria, che ha interessato l'Europa in particolare tra il 2003 e il 2006.

L'aumento dei consumi è spiegato dai numerosi punti a favore della carne avicola: prezzo accessibile, assenza di ostacoli culturali o religiosi, a differenza per esempio delle carni suineo del bovino, elevata qualità dietetica e nutrizionale, varie possibilità di trasformazione, sapore delicato, tenerezza, buona versatilità gastronomica.

La produzione, inoltre, non necessita di grandi aree e può essere svolta in prossimità dei centri abitati. Il ciclo produttivo, molto breve, consente un rapido adattamento alle variazioni di mercato e l'ottimo indice di conversione permette di ridurre i costi di produzione (Valceschini, 2006).

Dal punto di vista nutrizionale, la carne di pollo costituisce un'importante fonte proteica con un buon tenore di acidi grassi essenziali, elevato contenuto di acido linoleico e arachidonico, basso contenuto in colesterolo (meno di 60 mg in 100 g di carne con asportazione del grasso sottocutaneo), buon contenuto in ferro, vitamine del complesso B, tra cui la B₁₂. Il contenuto lipidico è variabile a seconda della parte considerata (da 0,8 a 14%), ma è comunque molto inferiore rispetto ad altre carni, inoltre il grasso è separabile perché è in maggior parte sottocutaneo e addominale (INRAN, 2015).

Dagli studi effettuati (AVEC, 2014), il consumatore medio, viene attirato in primo luogo da come appare il prodotto (freschezza e presentazione) e in secondo luogo dal prezzo. Non viene fatta particolare attenzione al luogo d'origine del prodotto, alla tipologia di allevamento, e al rispetto delle normative europee sul benessere animale.

Dati aggiornati su produzione, consumo e previsioni future su scala globale

Secondo il report annuale dell'Avec, la produzione mondiale di carne è in crescita e si prevede che il reparto avicolo diventerà entro il 2020 il principale settore produttivo.

Sebbene questo prodotto sia in forte crescita su scala globale, nell'anno appena trascorso si è calcolato un aumento complessivo di appena 0,5%, e questo è il più basso tasso di crescita degli

ultimi 20 anni, probabilmente dovuto al recente periodo di crisi, in particolare del mercato cinese e agli ultimi episodi di influenza aviaria registrati nel sud-est asiatico. Nonostante questo, come si è visto in passato, il settore ha mostrato grandi capacità di ripresa e si ritiene che la produzione di carne avicola (pollo, tacchino e altri volatili) rappresenterà quasi il 50% delle carni consumate entro i prossimi dieci anni, anche se la crescita sarà più lenta rispetto agli ultimi decenni (AVEC, 2014).

Il mercato asiatico, in particolare, è attualmente in forte espansione, ma la crescita produttiva, per essere tale a livello globale, dovrà essere accompagnata da un maggior controllo sui rischi infettivi.

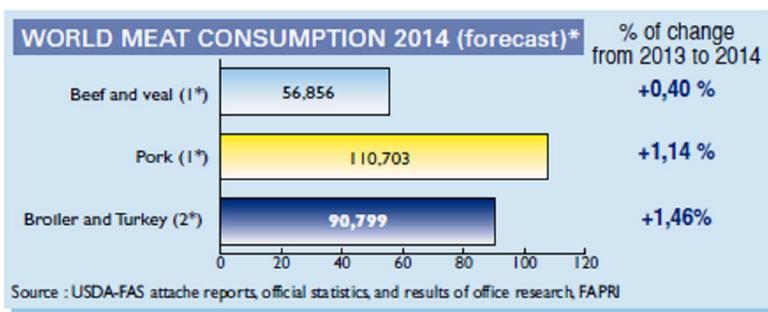
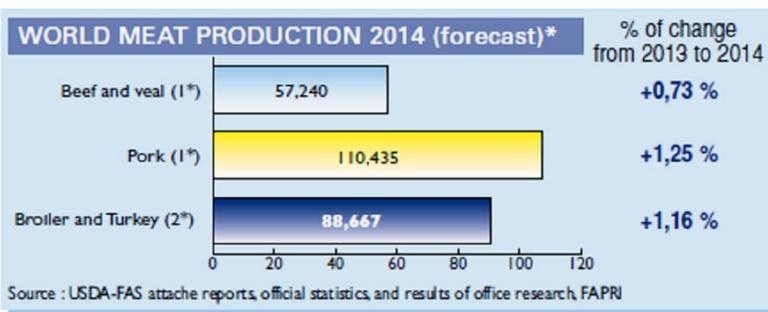


Figura 2. Consumo di carne nel mondo (AVEC 2014)



1* 1.000 metric tonnes (carcass weight equivalent)
 2* 2.000 metric tonnes (ready to cook equivalent)
 *2014 April estimates

Figura 3. Produzione di carne nel mondo (AVEC 2014)

Principali produttori e consumatori a livello mondiale e europeo

Per quanto riguarda la produzione di carne nel mondo, il comparto avicolo occupa il secondo posto dietro al comparto suino e, parallelamente, risulta essere la seconda fonte di carne più consumata: 12,3 kg/anno pro-capite in media, con ampie variazioni tra i singoli paesi (Tabella 1).

Attualmente si stima una produzione annuale (AVEC 2013) di carne di pollo di 91 milioni di tonnellate. I maggiori produttori sono gli Stati Uniti con 16,6 milioni di tonnellate, Cina con 12,8 milioni di tonnellate e Brasile con 12,5 milioni di tonnellate. Al quarto posto troviamo l'Unione Europea con 9,7 milioni di tonnellate.

Analogamente, i maggiori consumatori sono Stati Uniti, Cina, Brasile, Europa, Arabia Saudita.

Negli ultimi anni inoltre, per adattarsi alle esigenze del consumatore, sono diminuite le vendite dei polli interi a favore di quelli venduti già sezionati e disossati, insieme a prodotti *further processed*, di terza o quarta lavorazione come rotoli, wurstel, hamburger, spiedini, cotolette e polpette.

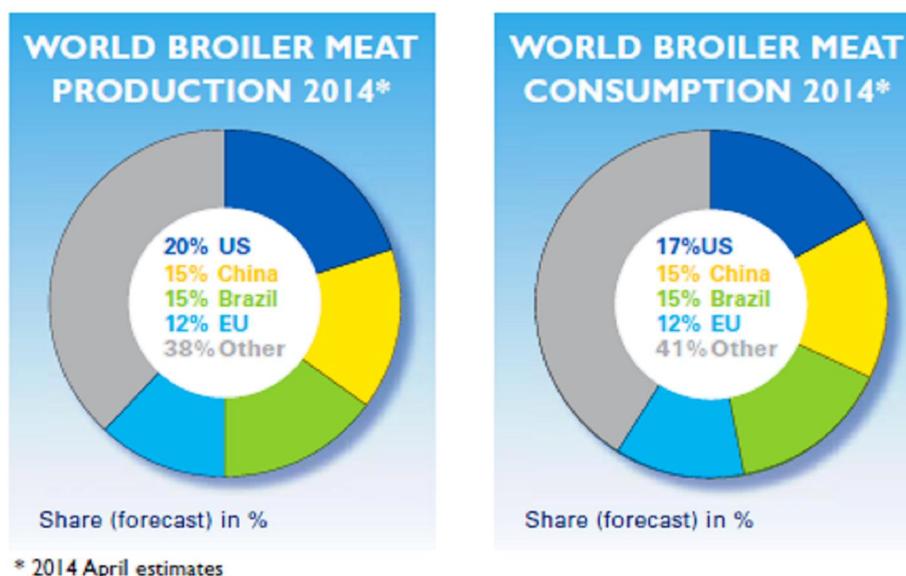


Figura 4. Principali paesi produttori e consumatori di carne Broiler

L'Unione Europea risulta autosufficiente nel settore della carne avicola. Tra i maggiori produttori troviamo: Francia, Germania, Italia, Olanda, Spagna e Regno Unito. Tuttavia nei prossimi anni si prevede che l'Europa diminuisca le sue esportazioni, indebolita dalle politiche monetarie e limitata dalle regolamentazioni sul benessere animale, mentre cresceranno il mercato asiatico, il Nord e il Sud America. Cresceranno come importatori l'Est Europa e il Nord Africa.

Europe's five largest poultry producers

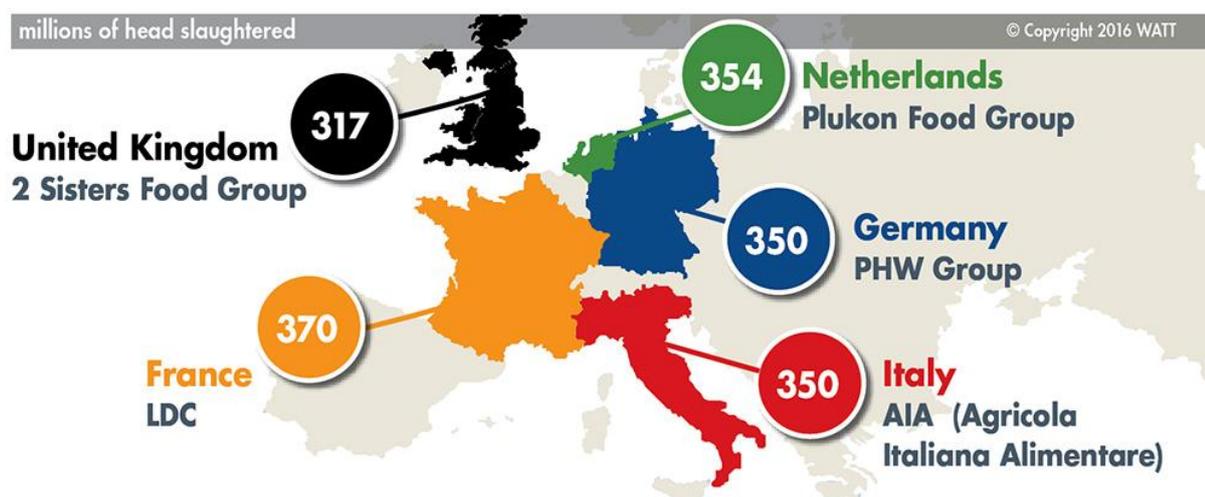


Figura 5: I maggiori produttori di carne broiler a livello europeo; da 317 a 370 milioni di polli macellati annualmente (WATTAGNET, 2016).

Tabella 1. Consumo pro-capite di carne broiler in Europa e nel mondo (AVEC, 2014)

Per capita consumption of turkey in selected EU and third countries (kg)						
	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Austria (1)*	6,2	6,4	6,3	6,1	6,2	6,3
France (3)	5,1	5,0	5,1	5,1	5,3	5,2
Germany (2)	6,3	6,3	6,2	6,1	6,1	5,7
Italy (5)	5,0	4,9	4,8	4,7	4,8	4,8
Netherlands (7)	1,2	1,1	1,0	1,0	1,0	1,1
Portugal (4)	5,0
United Kingdom (6)	3,9	4,0	4,0	4,1	4,2	4,2
EU-27	3,5	3,4	3,5	3,5	3,9	3,8
Third Countries						
Brazil	1,4	1,6	1,7	1,8	1,7	1,7
Canada	4,9	4,5	4,2	4,3	4,1	4,1
Mexico	1,8	1,3	1,4	1,4	1,4	1,4
Russia	0,7	0,5	0,7	0,8	0,8	0,8
USA	7,9	7,7	7,4	7,3	7,3	7,3

* ranking of the country for the variable considered for the year 2013

Una panoramica italiana

In Italia, l'allevamento avicolo è stato rivoluzionato a partire dagli anni trenta con l'istituzione dei Centri e Osservatori Avicoli, i cui compiti erano quelli di migliorare le tecniche di allevamento e operare una selezione genetica. Negli anni cinquanta si osserva una crescita esponenziale in molti settori zootecnici, sostenuta da un aumento dei consumi e della richiesta. Nel 1958 viene fondata l'Unione Nazionale dell'Avicoltura, a tutela dei nuovi imprenditori e della nuova tipologia produttiva che passa da un allevamento tradizionale e rurale a uno razionale e intensivo. Quello del pollo da carne, insieme alla produzione di uova, diventa l'unico comparto zootecnico nazionale autosufficiente (Cerolini, 1988).

La produzione annua di carne avicola aumenta dal 1958 al 2007 di ben dieci volte, da 100 mila a 1.123.000 tonnellate; in un anno in media un italiano mangiava 24 kg di carne, dei quali 2 erano di pollo. Oggi la produzione di carni avicole ha superato il milione e 260 mila tonnellate e nel 2014 ogni italiano ha mangiato in media 90 kg di carne, dei quali 20 dati da pollame (UNAITALIA Unione nazionale filiere agroalimentari carne e uova, 2015).

Con un aumento della produzione nel 2014 dello 0,2% circa, l'Italia si posiziona al sesto posto su scala europea.

Il settore avicolo viene considerato il secondo comparto zootecnico nazionale per importanza produttiva ed economica dopo quello bovino. Il patrimonio avicolo è concentrato soprattutto in Veneto, Lombardia e Emilia Romagna, l'allevamento è per oltre il 90% di tipo intensivo, mentre il restante è di tipo rurale e finalizzato all'autoconsumo.

Sistema produttivo a integrazione verticale

Dagli anni settanta l'organizzazione del sistema produttivo cambia: viene adottato un sistema a integrazione verticale che permette il coordinamento delle diverse fasi produttive, una maggiore adattabilità alle esigenze di mercato e un maggiore rispetto degli standard organolettici e igienico-sanitari. In quest'ottica si realizza una comunicazione diretta tra settore produttivo, trasformazione, distribuzione e il consumatore finale, quest'ultimo sempre più attento alle caratteristiche dei prodotti, alla qualità e alla sicurezza e quindi in grado potenzialmente di influenzare l'intera filiera produttiva.

Con l'aumento negli anni della quantità di carne prodotta, si sono ridotti notevolmente anche i costi di produzione per unità di carne prodotta, e quindi un calo del prezzo alla produzione e al consumo. Per mantenere un adeguato margine di profitto, per l'allevatore quindi sono stati stipulati contratti con i mangimifici e i produttori di pulcini: l'azienda fornisce i pulcini, il mangime e l'assistenza tecnica e sanitaria, l'allevatore fornisce il ricovero, le attrezzature, la manodopera e i costi di luce e gas e, al momento della macellazione, gli viene corrisposto un ammontare fisso in base all'indice di conversione alimentare realizzato nel ciclo di allevamento. Poiché si stima che l'alimento rappresenti circa i due terzi dei costi necessari a produrre la carne di pollame, la gestione dell'alimentazione diventa quindi uno dei fattori chiave del ciclo produttivo (IRER, 1985). Riducendo FCR (*Feed Conversion Rate*), la carne di pollo diventa una delle più economiche e quindi preferite dal consumatore medio.

L'utilizzo dell'ibrido: vantaggi e svantaggi

L'obiettivo primario di aumentare la quantità di carne prodotta ha guidato la selezione genetica e le modalità di allevamento e ha influenzato l'organizzazione del sistema produttivo arrivando oggi alla produzione di ibridi commerciali in allevamenti fortemente intensivizzati.

Selezionando gli animali per un più rapido accrescimento, la durata dei cicli di allevamento è diventata sempre più breve e ha permesso di ottenere animali più pesanti in meno tempo. Si pensi che nel 1945 un pollo da carne di 1,6 kg veniva prodotto in 98 giorni, mentre oggi per avere lo stesso risultato sono sufficienti 35 giorni. L'indice di conversione è passato da 3,75 a 1,88 (Havenstein e coll., 2003).

Il settore avicolo è stato il primo a fare ricorso all'utilizzo di ibridi commerciali (Marelli, 2008), seguito poi da quello suino. Per ottenere un ibrido commerciale è necessario incrociare tre o quattro linee pure ad alto grado di omozigosi esaltando le caratteristiche di interesse, quali l'andamento dell'accrescimento medio giornaliero, il consumo di mangime (giornaliero e cumulativo) e l'indice di conversione.

Le due linee genetiche di polli da carne più utilizzate sono i ROSS, prodotti da Aviagen e i COBB, prodotti dalla COBB Vantress Incorporated.

Le imprese detentrici la genetica sono pochissime e ciò ha portato, oltre che a una monopolizzazione del mercato, a un'elevata uniformità genetica, con conseguente aumento dei rischi sanitari e limite a ulteriori sviluppi genetici.

Parallelamente si sono evolute anche le ditte mangimistiche, cercando di soddisfare i fabbisogni alimentari degli ibridi ad alto tasso di accrescimento.

In uno studio sperimentale (Zuidhof, 2014) sono state valutate le differenze nell'accrescimento, efficienza alimentare e resa finale tra due linee di broiler controllo la cui selezione genetica è rimasta quella del 1957 e del 1978 e una linea di broiler commerciale Ross 308 del 2005. L'alimentazione seguita è stata quella raccomandata per la linea Ross 308 *ad libitum*. Il peso corporeo (BW) era significativamente differente già alla schiusa, mentre il peso finale risultava aumentato dal 1957 al 2005 di oltre il 400%, con una diminuzione del tasso di conversione alimentare del 50%.

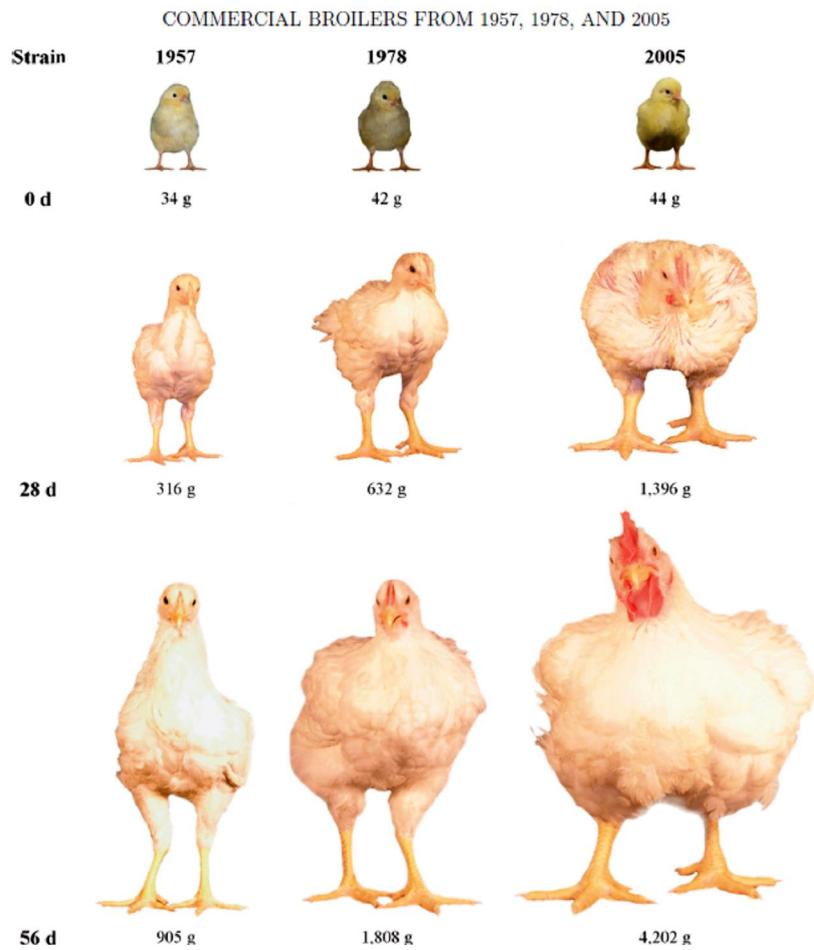


Figura 6. Evoluzione del broiler commerciale (Zuidhof, 2014)

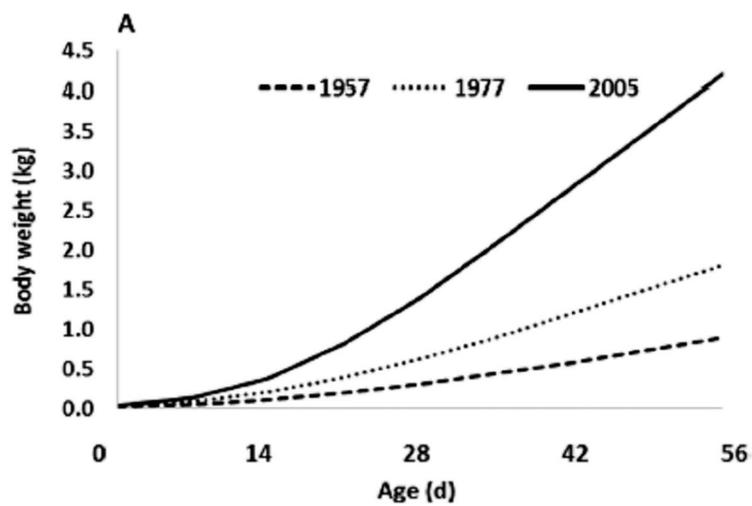


Figura 7. Differenze di peso e tasso di crescita (Zuithof, 2014)

In risposta alla crescente domanda da parte del consumatore, sono state riscontrate anche variazioni significative nella resa in petto e una diminuzione del grasso addominale. Si stima che dal 1957 al 2005 la resa del petto sia aumentata del 79% nei maschi e del 85% nelle femmine.

Le variazioni osservate sono ritenute per il 90% di origine genetica, mentre l'influenza ambientale è stata considerata minima (Sherwood, 1977; Havenstein e coll., 1994a,b; Havenstein e coll., 2003a,b).

Tuttavia, la ricerca di parametri economicamente favorevoli ha determinato la comparsa di effetti non voluti quali un aumento di miopatie (Lilburn, 1994; Rath e coll., 2000), disordini metabolici e scheletrici (Scheele, 1997; Olkowski, 2007) e alterazioni del sistema immunitario (Cheema e coll., 2003), oltre alle problematiche relative al benessere.

Allevamento intensivo: tecniche e problematiche annesse

La fase riproduttiva viene svolta dagli incubatoi artificiali, mentre la fase produttiva si realizza in allevamenti, in genere mantenuti al chiuso e dotati di sistemi di controllo automatico delle condizioni microclimatiche interne, in modo tale da fornire agli ibridi le condizioni migliori per poter esprimere pienamente il proprio potenziale genetico. Questi allevamenti sono caratterizzati da un'elevata numerosità e concentrazione di animali. Si stima che un allevamento medio abbia da 80 a 250 mila capi, con una densità media di 11-18 capi/m². Questo sistema di allevamento evidenzia aspetti critici legati alla salute e al benessere animale oltre che a problematiche di impatto ambientale.

Una volta trascorso il periodo in incubatoio, i pulcini vengono selezionati e eventualmente sessati e vengono fatte le opportune vaccinazioni per inoculazione e nebulizzazione. Vengono poi riposti in contenitori appositi e consegnati agli allevamenti.

Il capannone, dove verranno accasati, viene preventivamente sanificato e deve rispettare un periodo di "vuoto sanitario" di circa due settimane tale da evitare la propagazione di agenti patogeni fra cicli successivi.

Essendo il ciclo produttivo molto breve, di solito attorno alle 5-6 settimane, i polli vengono allevati a terra su lettiera permanente. Le attrezzature necessarie sono rappresentate dalle fonti di calore, dalle mangiatoie e dagli abbeveratoi, oltre che dal materiale della lettiera.

Fino alla seconda settimana di vita i pulcini non sono in grado di termoregolare, per cui il capannone deve essere riscaldato fino a temperature di 30-32°C utilizzando cappe che vengono progressivamente alzate e poi rimosse attorno alla quarta settimana.

Il mangime viene dapprima distribuito a terra, usando ad esempio dei fogli di cartone per facilitarne l'assunzione da parte dei pulcini per poi passare alle mangiatoie. Controllare l'alimentazione è un fattore fondamentale in questo tipo di allevamento, idealmente tutti i soggetti dovrebbero poter accedere all'alimento simultaneamente per evitare fenomeni di competizione. Infatti uno spazio mangiatoia insufficiente riduce il ritmo di crescita ed è causa di minore uniformità del gruppo di polli allevati (Aviagen, 2015). È importante che l'acqua sia sempre presente, se infatti la somministrazione di acqua non è adeguata, si riduce anche il consumo di alimento e quindi la crescita.

La lettiera ha la funzione di assorbire l'umidità, contenere e diluire le deiezioni e fornire una superficie d'appoggio ottimale. Il materiale migliore è dato dal truciolo di legno (Sirri, 2007). Una lettiera troppo compatta o umida predispone a infiammazione del piede e del tarso con conseguente riduzione del movimento e difficoltà del soggetto ad alimentarsi. Per lo stesso motivo, in fase di decubito gli animali possono sviluppare vesciche sternali che sono causa di scarto al macello. La lettiera deve mantenere comunque un'umidità del 30-35%, infatti se troppo asciutta si ha un aumento della polverosità con maggiori rischi di disturbi respiratori. Lo smaltimento della lettiera è uno dei problemi principali dell'allevamento avicolo e deve svolgersi con rispetto delle normative in vigore.

Il controllo del microclima, ovvero temperatura, umidità relativa, luce e qualità dell'aria è importante per l'accrescimento, la salute e il benessere degli animali allevati e rappresenta un punto fondamentale da considerare.

La temperatura in allevamento varia a seconda dell'età: all'accasamento e nelle successive 48 ore deve essere di 30-32°C a livello dei pulcini, per poi calare di circa un grado ogni tre giorni fino ad arrivare a 21°C a 27 giorni di età e poi restare costante. È importante evitare stress da eccessivo calore in quanto ciò compromette le funzioni metaboliche e riduce la crescita, infatti se la temperatura supera i 30°C il pollo manifesta polipnea, consuma meno alimento e riduce le sue performance di crescita. La sensibilità al calore aumenta con l'età, il peso, l'umidità relativa ed è maggiore nei maschi (Sirri, 2007).

L'umidità relativa (UR) deriva dall'attività respiratoria, dalle condizioni della lettiera e dal sistema di distribuzione dell'acqua. Essa regola lo sviluppo della livrea e influisce sulla capacità di termoregolazione dell'animale. I valori ottimali vanno dal 60 al 70% , soprattutto nei primi giorni di vita è importante che l'UR non scenda sotto il 50% perché ciò comporta disidratazione e calo delle performance di crescita.

La luce è un parametro importante in quanto favorisce l'assunzione dell'alimento. Il programma luminoso classico prevede 23 ore di luce e un'ora di buio al giorno, così che i polli possano alimentarsi durante l'intera giornata, mentre l'ora di buio è inserita per abituare gli animali in modo tale da non creare situazioni di panico in caso di guasti all'impianto elettrico, la sua finalità principale non è il riposo. Tuttavia si sono sviluppati dei programmi luminosi alternativi che prevedono moduli di luce e buio ripetuti, ad esempio 5 ore di luce e una di buio (5L:1B). Prove

sperimentali (Gordon, 1997) hanno dimostrato come i fotoperiodi intermittenti possano essere utili a stimolare l'alimentazione e l'attività, ridurre stress da calore e diminuire la mortalità.

L'intensità luminosa raccomandata è di 20 lux nella prima settimana di vita, in modo da favorire l'adattamento dei pulcini, mentre viene poi gradualmente diminuita tra la seconda e la terza settimana di vita a 5-10 lux e mantenuta costante. La riduzione dell'intensità luminosa ha l'obiettivo di mantenere gli animali tranquilli e poco reattivi in modo da evitare fenomeni di cannibalismo o comportamenti aggressivi.

La qualità dell'aria all'interno dei capannoni è controllata grazie agli impianti di ventilazione che devono allontanare gli eccessi di calore, vapore acqueo e gas nocivi come i composti ammoniacali, il biossido e il monossido di carbonio.

Valori di ammoniaca superiori a 20 ppm causano un aumento del rischio di malattie respiratorie e superiori a 50 ppm causano riduzione della crescita. Valori di biossido di carbonio superiori a 0,35% aumentano il rischio di ascite, mentre livelli elevati possono essere mortali, oltre che per gli animali, anche per gli operatori.

Il ciclo di allevamento del broiler viene suddiviso in tre fasi: svezzamento, crescita e finissaggio, ogni momento è caratterizzato da particolari esigenze e sia gli animali che le condizioni del ricovero devono essere attentamente monitorate per raggiungere valori ottimali di ICA e una buona uniformità del gruppo. Solitamente la ditta che fornisce i pulcini mette a disposizione degli allevatori tabelle di riferimento per il controllo delle performance di crescita.

Per quanto riguarda la densità di allevamento, essa è stabilita dalla direttiva europea 2007/43/CE, in vigore dal 30 giugno 2010, ed è di 33kg/m², con la possibilità di aumento a 39 e 42kg/m² nel caso in cui siano rispettate specifiche condizioni di allevamento. Sono stati fatti diversi studi riguardo l'impatto della densità di allevamento sulle performance di crescita. Sperimentalmente (Sirri, 2007), si osserva che considerando densità variabili da 10 kg/m² a 80 kg/m² c'è una riduzione costante del consumo di alimento e del ritmo di crescita oltre i 30 kg/m², dovuto prevalentemente a stress da calore.

Un altro punto chiave è l'igiene e la profilassi di allevamento. Il broiler infatti esprime il proprio potenziale genetico in modo ottimale solo se l'ambiente di allevamento corrisponde a una situazione di benessere e se è esente da malattie e infezioni. I pulcini devono avere già in partenza una protezione immunitaria adeguata e l'allevamento deve essere pulito e esente da patogeni. I

broiler sono sottoposti a un programma vaccinale adattato alla zona geografica e a quello previsto per i riproduttori. Solitamente si prevede la vaccinazione del pulcino in incubatoio dopo la schiusa per bronchite infettiva, malattia di Marek e malattia di Newcastle, nel periodo estivo si vaccina anche contro il difterovaiolo. In allevamento si vaccina per la malattia di Gumboro e si fanno dei richiami per la bronchite infettiva e la malattia di Newcastle. Vengono somministrati inoltre mangimi medicati (coccidiostatici) a scopo di prevenzione e controllo fino a alcuni giorni prima della macellazione prevista. La mortalità media registrata in allevamento varia dal 3% nelle femmine al 6-7% nei maschi.

L'alimentazione

L'alimentazione del broiler ha come obiettivi principali il raggiungimento di un peso ottimale di macellazione in tempi rapidi. Essa deve inoltre garantire una buona funzionalità dell'apparato digerente per il benessere e la salute dell'animale oltre che per la sicurezza delle carni. Alimentazione e selezione genetica si sono sviluppate di pari passo, in quanto la selezione di ibridi sempre più precoci ha imposto l'adeguamento dell'alimentazione alle loro esigenze.

Con la riduzione dell'età alla macellazione, un ulteriore obiettivo è stato trovare un equilibrio tra rapidità di crescita e riduzione della mortalità, principalmente dovuta a stress da caldo, ascite e alterazioni scheletriche, dal momento che il potenziale genetico degli attuali ibridi è in grado di garantire un elevato ritmo di incremento delle masse muscolari a cui non corrisponde un adeguato sviluppo di cuore, polmoni e tessuto osseo. Vengono quindi proposti programmi alimentari volti a contenere l'incremento ponderale nelle prime settimane, mediante razionamento alimentare; ciò non compromette il peso vivo finale, poiché i polli da carne manifestano il meccanismo della crescita compensativa. È stato osservato infatti che riducendo il potenziale di crescita tra la seconda e la terza settimana di vita del broiler, si favoriscono lo sviluppo del sistema cardiovascolare, scheletrico e immunitario e di conseguenza si riduce la mortalità (Fontana, 1992; Lilburn M.S., 1994). La mancata crescita che si verifica in questo periodo (riduzione del peso di circa il 7% a 21 giorni di vita rispetto al previsto) viene recuperata nel giro dei 10-14 giorni successivi alla ripresa dell'alimentazione *ad libitum* e gli animali raggiungono lo stesso peso finale che avrebbero raggiunto con un'alimentazione continua a volontà. Tale tecnica di alimentazione comporta oltretutto un ovvio risparmio economico, poiché si riduce il fabbisogno di mantenimento. Il razionamento alimentare può essere attuato attraverso il sollevamento delle mangiatoie, diminuendo

la quantità di mangime o modificando il programma luminoso a favore di un maggior numero di ore di buio.

L'alimentazione deve essere adattata all'età e al peso, ci sono quindi tre tipologie di mangime: *starter*, accrescimento e finissaggio. Per i fabbisogni relativi si fa riferimento alle pubblicazioni del National Research Council (1994). Tradizionalmente viene usato il sistema dell'energia metabolizzabile per descrivere il contenuto energetico di una razione. L'energia metabolizzabile (EM) descrive la quantità lorda di energia di un mangime assorbita meno la quantità di energia escreta.

I lipidi, che costituiscono una importante fonte energetica, possono rappresentare in una dieta una percentuale che va dal 2 al 10% , ma la loro quantità deve essere proporzionale al contenuto in proteina, per evitare un eccessivo deposito di grasso addominale che andrebbe poi scartato in fase di macellazione. Nella fase *starter* vanno preferiti grassi insaturi, maggiormente digeribili, mentre nelle ultime fasi si preferiscono i grassi saturi, così da rendere i depositi adiposi più compatti, evitare un aspetto untuoso e favorire la conservabilità.

Nei broiler la crescita è ottimale solo se viene soddisfatto il fabbisogno amminoacidico, per cui la formulazione della componente proteica deve tenere in considerazione gli amminoacidi limitanti e eventualmente sopperire con integrazioni. Integrando la dieta con livelli sopranutrizionali di metionina e lisina si ottiene inoltre una maggiore resa delle masse muscolari, soprattutto del petto.

Normativa vigente sul Benessere

Le problematiche principali relative al benessere del broiler derivano dall'intenso ritmo di crescita, causa di disordini metabolici e ridotta attività locomotoria (Bessei, 2006) e dalla elevata densità di allevamento.

L'attività motoria è sensibilmente ridotta fin dalla prima settimana di vita e si riduce ulteriormente. I soggetti trascorrono oltre l'80% del tempo accovacciati sulla lettiera e ciò predispone a patologie scheletriche e comparsa di vesciche sternali. Fattori predisponenti sono un aumento della densità di allevamento e programmi luminosi tradizionali tipo 23L 1B, ovvero 23 ore di luce intervallate da un'ora di buio. Attuando infatti cicli di buio prolungati, l'attività motoria aumenta nei periodi di luce con effetti positivi sullo stato di salute (Gordon, 1997). Anche l'adozione di programmi alimentari con razionamento nella prima fase di vita ha portato a una riduzione della mortalità (Fontana, 1992).

Nel 2000 il Comitato Scientifico per la Sanità Animale e il Benessere degli Animali aveva presentato un rapporto dove si stabiliva che l'elevato tasso di crescita dei broiler non era accompagnato da un livello soddisfacente di benessere e salute e che era necessario porre dei limiti alla densità animale. Nel giugno 2007 il Consiglio dell'Unione Europea approva la direttiva 2007/43/CE che stabilisce le norme minime per la protezione dei polli da carne, applicabili agli allevamenti intensivi con più di 500 capi.

In particolare, l'articolo 3 stabilisce la densità massima di allevamento in funzione delle caratteristiche del ricovero utilizzato:

- densità massima di 33kg/m² se il ricovero rispetta le condizioni indicate nell'allegato I, ovvero siano rispettate le comuni buone norme di allevamento per quanto riguarda la somministrazione di acqua e mangime, la lettiera, le norme igienico-sanitarie, intensità luminosa minima di 20 lux, e almeno 6 ore totali di buio, di cui 4 consecutive;
- densità massima di 39 kg/m² se il ricovero rispetta le condizioni indicate nell'allegato II. In questo caso l'allevatore deve comunicare all'autorità competente la densità di allevamento adottata almeno 15 giorni prima dell'accasamento e deve fornire una documentazione che descriva in dettaglio il sistema di produzione;
- densità massima di 42 kg/m² se il ricovero rispetta le condizioni indicate nell'allegato V. L'allevatore dovrà dimostrare che negli ultimi due anni ha rispettato i requisiti della direttiva ed effettua il monitoraggio previsto. Inoltre, nei sette cicli consecutivi precedenti ha riscontrato mortalità giornaliera cumulativa inferiore a 1% +0,06% moltiplicato per l'età alla macellazione espressa in giorni.

Mentre, ad esempio, per le ovaiole si stabilisce una superficie minima per soggetto, nei broiler il presupposto normativo è stato il numero di kg carne per metro quadro. La situazione dovrà essere quindi valutata di volta in volta a seconda della pezzatura (polli leggeri, medi, pesanti) e delle condizioni di allevamento presenti.

L'articolo 4 infine stabilisce che gli stati membri devono provvedere alla formazione del personale e devono rendere disponibili corsi di formazione incentrati sui problemi relativi al benessere.

La macellazione: influenza dei diversi passaggi sul prodotto finale (ante mortem e durante la macellazione)

Gli animali da macellare devono essere tenuti a digiuno almeno 4-8 ore prima del carico, ciò per ridurre al minimo la contaminazione, la colorazione verdastra della carne adiacente al gozzo e favorire una corretta acidificazione delle carni. All'arrivo al macello, il veterinario ASL controlla il certificato di sanità ed esegue una visita *ante mortem*. I polli vengono quindi scaricati e passano attraverso la fase di stordimento che può essere realizzata attraverso elettroanestesi, facendo passare la testa in una vaschetta contenente acqua, o per asfissia usando l'anidride carbonica.

Le differenze nella qualità della carcassa nei diversi metodi sono illustrate in Tabella 2, da cui si può vedere come il sistema di stordimento che usa una miscela di anidride carbonica e altri gas risulta il metodo meno traumatico e quindi a oggi il più utilizzato.

Tabella2: Tratta dal seminario "Ispezione e controllo delle carni avicole", Scuola di Specializzazione in Ispezione degli Alimenti, Università di Padova, lezione tenuta dal Dott. F. Foschi- gruppo Amadori.

N° animali (totale 100)	30%CO ₂ e 60% argon	Elettrico
Punte ali rosse	19	23
Emorragie ali	23	30
Emorragie spalla	12	5
Accumuli di sangue	1	17
Emorragie petto	5	77
Fratture coracoide	0	50
Fratture forcella	24	35
Frattura scapola	1	34

Si procede quindi al dissanguamento, scottatura, spennatura meccanica, taglio delle zampe a livello di metatarso, della testa, esofago e trachea, asportazione dei visceri. La legislazione italiana, in conformità alle norme UE, prevede la completa eviscerazione ad eccezione dei reni. I visceri vengono ispezionati a campione dal veterinario ASL. Si passa alla fase di refrigerazione (più rapida possibile), sezionatura ed eventuali lavorazioni successive, confezionamento, spedizione. Le

femmine e i polletti vengono macellati a pesi minori e commercializzati come pollo in busto, mentre i maschi vengono generalmente inviati alle prime, seconde e terze lavorazioni.

La carne di pollame è soggetta a un particolare tipo di alterazione, la frollatura acre-mefitica (Cerolini, 1998), per cui il raffreddamento deve essere rapido. La refrigerazione a secco (tunnel ad aria fredda) è quella più utilizzata in Italia, mentre in altri paesi viene adottata anche quella per immersione. Nel primo caso la guidovia si immette in una camera di refrigerazione a 4-0°C e le carcasse, dopo alcune ore di raffreddamento, vengono trasferite in sala lavorazione. Con il raffreddamento delle carcasse si ottiene, oltre a un controllo dell'attività microbiologica, anche una maggiore consistenza della carne e quindi una migliore possibilità di lavorazione. I visceri edibili (ventriglio, fegato senza cistifellea, cuore) possono essere confezionati separatamente; i restanti vengono disidratati, stoccati e utilizzati per la produzione di farine di carne.

Le norme relative al benessere animale, secondo il D.Lvo 333/98, devono essere applicate anche in fase di trasporto, scarico e macellazione. Una scarsa attenzione al benessere animale durante queste attività, infatti, oltre che dal punto di vista etico, ha ripercussioni negative sulla qualità del prodotto finale e comporta un aumento di scarti al macello.

In fase di carico, scarico e manipolazione gli operatori devono agire in modo da evitare agli animali stress inutili e prestare attenzione a non provocare ematomi o fratture, in particolare alle ali. La fase di trasporto deve essere più breve possibile, il mezzo deve essere autorizzato e garantire agli animali una ventilazione sufficiente (Regolamento CE n. 1/2005 del Consiglio del 22 dicembre 2004 sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate).

Per quanto riguarda gli effetti sulla carne, uno stress prolungato, come può essere un trasporto inadeguato, predispone a miopatie quali la DFD (*Dark, Firm and Dry*), ovvero carne scura, dura e asciutta. Uno stress improvviso invece, come quello che si ha nelle fasi immediatamente precedenti la macellazione, può esitare in PSE (*Pale, Soft and Essudative*), ovvero carne pallida, cedevole e essudatizia, similmente a quanto accade per la carne suina. Questo difetto può essere anche dovuto a errate metodiche di lavorazione, come a una refrigerazione troppo rapida (Barbut S., 1998, 2002; Van Laack R.L. J. M. e coll., 2000; Warriss P. D., 1999; Woelfel R. L., 2002).

Rigor mortis e frollatura: parametri che influenzano la qualità del prodotto (post mortem)

Dopo la macellazione le variazioni che si osservano in pH, temperatura, concentrazione di ossigeno e anidride carbonica caratterizzano i passaggi successivi di *rigor mortis* e sua risoluzione e quindi influenzano la qualità della carne (Zaniboni e Cerolini, 2008).

Il raggiungimento del *rigor mortis* è influenzato da fattori intrinseci, quali il tipo di fibra e il muscolo considerato, e fattori estrinseci, come l'attività fisica pre-macellazione, lo stress, le riserve di glicogeno e la temperatura della cella di raffreddamento.

Il pH del muscolo nell'animale vivo varia tra 7,0 e 7,2 ma, nella fase post mortem, venendo a mancare l'apporto di sangue, si ha un calo di ossigeno e un aumento di anidride carbonica con interruzione della sintesi di ATP e acidificazione. La riduzione del pH è più rapida negli uccelli rispetto ai mammiferi a causa della temperatura corporea più elevata, per cui il muscolo entra in *rigor mortis* dopo 30-60 minuti e il *rigor* si risolve mediamente dopo 5-8 ore.

Il pH cala in maniera diversa a seconda del tipo di fibre che compongono il muscolo: il petto, caratterizzato da muscoli a metabolismo prevalentemente glicolitico, già dopo 10-20 minuti presenta un pH tra 6,2 e 6,8, mentre la coscia, composta in prevalenza da fibre a metabolismo ossidativo, va da 6,5 a 6,9. Con l'aumentare dell'età si riscontra un abbassamento dei valori del pH, in quanto i processi metabolici di tipo ossidativo perdono di importanza a vantaggio di quelli glicolitici, a causa di un aumento della proporzione di fibre bianche rispetto a quelle rosse (Baeza E. et al, 2012).

La capacità di ritenzione idrica (CRI o WHC, *Water Holding Capacity*), a causa del calo del pH e delle modifiche della struttura muscolare, diminuisce progressivamente per poi aumentare in una seconda fase per azione degli enzimi lisosomiali che determinano una frammentazione delle catene peptiche e quindi l'intenerimento della carne. Dopo solo 8 ore dalla macellazione, la carne avicola raggiunge già l'80% della tenerezza. Il processo però varia a seconda del distretto muscolare interessato, ad esempio nel petto il processo è più rapido rispetto alla coscia.

La tenerezza è associata alla CRI e al pH; in generale a bassi valori di CRI e valori di pH prossimi a 5,5 corrisponde una carne più dura.

Anomalie nell'evoluzione del pH nel corso del *rigor mortis* possono essere indicative di miopatie quali DFD (*Dark, Firm and Dry*) e PSE (*Pale, Soft and Essudative*) che condizionano la qualità della carne, il colore e la sua lavorabilità. Esse si evidenziano nella fase postmortale, ma le cause sono molteplici e riguardano la selezione genetica, le condizioni di trasporto al macello, le fasi di macellazione e la successiva refrigerazione.

Nella DFD si ha un calo del glicogeno stoccato nel muscolo *intra vitam* e quindi nella fase postmortale una minore produzione di acido lattico che esita in una minore acidificazione (pH 6) comportando un aumento della CRI e quindi una maggior compattezza della carne.

All'opposto, nella PSE si ha una glicolisi molto veloce che determina una caduta molto rapida del pH quando la temperatura del muscolo è ancora elevata con denaturazione delle proteine. Le carni hanno un colore chiaro e scarsa CRI. La PSE si evidenzia soprattutto a livello del petto che appare molto pallido e presenta un eccesso di essudato.

La composizione chimica della carne di pollame e del petto in particolare

Sia la composizione chimica che il valore nutritivo della carne di pollo sono cambiati rispetto a venti o trenta anni fa, in particolare si è ridotto il contenuto di lipidi ed è aumentata la sua digeribilità (Leskanick, 1997).

Il petto, il taglio principale, circa il 20-23% dell'intera carcassa, si compone del 73,3% di acqua, 23,6% di proteine e 1,4% di lipidi (INRAN).

La capacità della carne di trattenere l'acqua è una caratteristica tecnologica importante. L'acqua libera è l'acqua che viene persa durante le fasi di lavorazione e cottura e rappresenta il 26-45% dell'acqua totale, rispetto alle altre carni, quella avicola presenta maggiori perdite alla cottura.

La componente proteica è elevata, in alcuni casi superiore alle carni bovine e suine ed è ricca in amminoacidi essenziali, rappresentando quindi una carne adatta ai soggetti in accrescimento.

I lipidi sono rappresentati soprattutto dal grasso cutaneo e sottocutaneo e sono facilmente separabili, il contenuto di grasso intermuscolare e intramuscolare è molto basso, perciò la carne risulta essere poco calorica anche se il sapore risulta essere meno intenso. Tra i lipidi predominano gli acidi grassi insaturi, come l'acido oleico, linoleico e linolenico e manca l'acido laurico, considerato uno degli acidi grassi saturi con maggiore effetto aterogeno e trombogeno. Anche il contenuto in colesterolo, rispetto alle altre specie, è inferiore (60mg/100g nel petto di pollo vs 75 mg/kg nel bovino adulto).

Un altro aspetto importante è il contenuto di vitamine, in particolare del gruppo B, a eccezione della B₁₂ che è più bassa. Anche la vitamina E è bassa, e a tal scopo sono stati fatti degli studi (Leskanick, 1997) volti a incrementare il contenuto degli antiossidanti agendo sulla dieta in modo da prevenire la perossidazione lipidica e garantire una maggiore *shelf life* al prodotto. La carne apporta inoltre ferro, zinco e potassio in buone quantità, mentre la quantità di sodio è bassa. Queste caratteristiche rendono la carne di pollo molto indicata per diete ipocaloriche e anti-ipertensive, oltre che nei bambini e negli adolescenti.

Parametri tecnologici e di lavorazione influenzanti la qualità della carne

Vengono riportati in seguito i principali parametri da tenere in considerazione nelle diverse fasi di lavorazione e nel prodotto finale, in quanto influenzanti le caratteristiche organolettiche, tecnologiche e microbiologiche della carne.

- pH: la misurazione del pH a 20 minuti e a 24 ore dalla macellazione è il metodo più utilizzato per valutare la velocità e le condizioni di trasformazione del muscolo in carne, esso dà delle buone indicazioni circa il possibile sviluppo di miopatie e sulle caratteristiche della carne quali il colore, la tenerezza, il potere di ritenzione idrica, l'aroma. Viene effettuata nel *Pectoralis major* perchè il petto è la parte muscolare più soggetta a problemi di qualità a causa dell'abbondanza in fibre bianche e metabolismo glicolitico.
- CRI, Capacità di Ritenzione Idrica: è un parametro predittivo per le successive fasi di lavorazione, influisce anche sull'aspetto della carne cruda, sul suo comportamento durante la cottura e sulla succosità durante la masticazione. Essa valuta le perdite idriche, la diminuzione di tale capacità infatti si manifesta con l'essudazione di fluido, e dà quindi un'indicazione indiretta sulla quantità di acqua che resta legata alle proteine muscolari, ciò è importante da valutare soprattutto nella preparazione di emulsioni quali i wurstel.
- Colore: il colore è uno dei fattori determinanti l'acquisto da parte del consumatore, viene determinato dal contenuto di pigmenti (mioglobina ed emoglobina), dal tempo trascorso dalla macellazione, dalle condizioni di lavorazione e conservazione, dal tratto muscolare considerato, dalla direzione di taglio, dall'infiltrazione di grasso e dallo stato di idratazione oltre che dalla specie, dal sesso e dall'età dell'animale. Per descrivere il colore viene utilizzato il sistema CIELab, secondo cui il colore è definito da tre indici: indice di luminosità (L), indice del rosso (a*) e indice del giallo (b*). Il colore del petto è influenzato soprattutto dal pH a 24 ore dalla macellazione: se il pH è molto basso, la carne sarà più pallida (L>53).
- Tessitura e tenerezza: sono parametri importanti sia dal punto di vista tecnologico e delle fasi di lavorazione che per la percezione da parte del consumatore. Comprendono varie proprietà meccaniche: viscosità, coesività, capacità di deformazione, elasticità, resistenza al taglio. La consistenza è determinata principalmente dalla struttura istologica della carne, e in particolare dalla quantità e natura di tessuto connettivale, ma anche dalla lunghezza dei sarcomeri, dimensioni delle fibre muscolari, consistenza delle aponeurosi, quantità di grasso, oltre che dalle condizioni di macellazione e dalla modalità di conservazione. La percezione della tenerezza è legata alla succosità e alla componente miofibrillare e connettivale. Le

tecniche di laboratorio consentono di valutare alcuni aspetti della tenerezza quali la resistenza alla compressione e al taglio (kg/cm^2) e la resistenza alla penetrazione.

- L'odore e il sapore vengono valutati mediante prove di assaggio. Con il termine di aroma si fa riferimento ad una sensazione complessa, valutata mediante il gusto e l'olfatto ma legata anche ad alcune aree sensibili della bocca e che interessano odore, sapore, tessitura temperatura e pH. L'odore ed il sapore della carne cotta derivano da precursori idro e liposolubili e dalla liberazione di sostanze volatili. I principali elementi che determinano il sapore derivano dalla carne cruda e sono principalmente legati a sostanze derivate da metaboliti dell'ATP e aminoacidi quali l'acido glutammico. L'aroma aumenta con la cottura e, pur essendo costituita da un numero elevato di sostanze, si riconoscono composti derivati dalla reazione di Maillard tra zuccheri riducenti e aminoacidi, derivati degli acidi grassi (aldeidi, chetoni) e dai gruppi sulfidrilici (degradazione della tiamina).

La qualità e i difetti

Da parte del consumatore, gli aspetti maggiormente condizionanti l'acquisto sono: la percentuale di parti edibili, la facilità e rapidità di preparazione, il valore calorico e il contenuto in grassi, l'assenza di residui e di microrganismi patogeni, tenerezza, succulenza, colore e costo.

La qualità è definita come l'insieme delle caratteristiche che ne determinano il grado di accettabilità da parte del consumatore e, come visto precedentemente, è data da un insieme di parametri che vengono valutati durante il processo produttivo.

La definizione di qualità porta a scartare dalla produzione le carcasse o i tagli che non corrispondono a tali requisiti. I principali motivi di scarto a livello di catena di macellazione sono dati da carcasse presentanti fratture, emorragie evidenti ed estese, carni mal dissanguate e difetti di PSE e DFD. Altri difetti che comportano un *curretage* sono la presenza della vescica pettorale, ovvero un'infiammazione della borsa sinoviale sottocutanea sternale con formazione di tessuto cicatriziale, le cui cause sono riconducibili a una lettiera troppo compatta, debolezza degli arti, scarso impiumamento e fattori genetici, la necrosi del pettorale profondo (*Deep Pectoral Disease*, DPM), causato da fattori genetici e da un eccessivo lavoro muscolare, come può essere in caso di panico, e miopatie pettorali quali *wooden breast*, petto di consistenza legnosa e *white striping*, striature biancastre (Aviagen, 2015).

I motivi di scarto sono in gran parte legati alla conservabilità e quindi alla salute del consumatore, ma influenzano anche i caratteri estetici e organolettici.

I principali difetti strettamente muscolari sono la PSE, DFD, la DPM, WS e WD e sono da ricondurre principalmente all'intensa selezione genetica, in particolare all'elevato tasso di crescita, e ai metodi di allevamento.

Carni PSE (pallide, cedevoli, con superficie acquosa) rispetto a carni sane hanno un rischio maggiore di sviluppare rancidità, una tessitura più soffice e meno lavorabile e un calo della resa nella lavorazione del prodotto (Church e Wood, 1991). L'incidenza a livello italiano è del 10%, mentre arriva al 20% su scala europea (Petracci e coll., 2004).

Come è stato detto in precedenza, fattori predisponenti sono uno stress improvviso, come avviene poco prima della macellazione o in caso di stress da calore. Ciò comporta un aumento della glicolisi con un rapido abbassamento del pH a valori inferiori al normale (Duclos et al, 2007).

La carne DFD invece ha un colore più scuro del normale, la superficie di taglio è asciutta e il pH è più alto. La comparsa di questa miopatia è legata a stress prolungati prima della macellazione,

principalmente da errate condizioni di trasporto. In questo modo si riducono le riserve di glicogeno e le carni non vanno incontro a normale acidificazione, il pH finale è più alto e favorisce la crescita microbica.

La malattia del pettorale profondo si presenta soprattutto nei polli a crescita rapida (Lien e coll., 2011) e nei maschi (Lien e coll., 2007); altri fattori predisponenti sono l'età e il peso degli animali (Kijowsky J., 2009). Il muscolo *pectoralis minor* presenta variazioni di colore, rosa pallido, rosso o verdastro a seconda dell'evoluzione della necrosi ischemica, e tessitura più compatta, apparendo fino a cinque volte più duro rispetto al normale e più fibroso.

Il *Wooden Breast*, descritto inizialmente da Sihvo e coll. (2014), è una miopatia muscolare che provoca la necrosi delle fibre muscolari con fibrosi e sostituzione delle proteine muscolari con collagene altamente reticolato che dà al muscolo un aspetto rigido e legnoso. Sono evidenti delle aree più pallide, rigide al tatto e con tessitura aumentata, spesso queste lesioni sono accompagnate da *white striping*. Tra le cause, si pensa a un ridotto apporto di sangue al muscolo e una ridotta eliminazione dei metaboliti quali l'acido lattico (Poultry site, 2015).

Infine il *white striping*, descritto per la prima volta da Bauermeister e coll. (2009), si caratterizza per la presenza di striature bianche, parallele alle fibre muscolari presenti soprattutto nella faccia ventrale del *pectoralis major*. Il WS è maggiormente presente nei polli pesanti, soprattutto maschi, con elevato tasso di crescita e resa in petto e alimentati con diete molto energetiche (Bauermeister e coll., 2009; Kuttapan e coll., 2012a, Petracchi e coll. 2013). In base alla gravità, i filetti di *Pectoralis major* vengono classificati come aventi un normale (NORM), moderato (MOD) o severo (SEV) grado di white striping. Si è visto (Kuttapan e coll., 2012c) come le carni aventi grado SEV presentino un maggior contenuto in lipidi e una tessitura aumentata soprattutto nella parte più ventrale e spessa. Inoltre, la presenza di striature biancastre in superficie condiziona negativamente la scelta del consumatore.

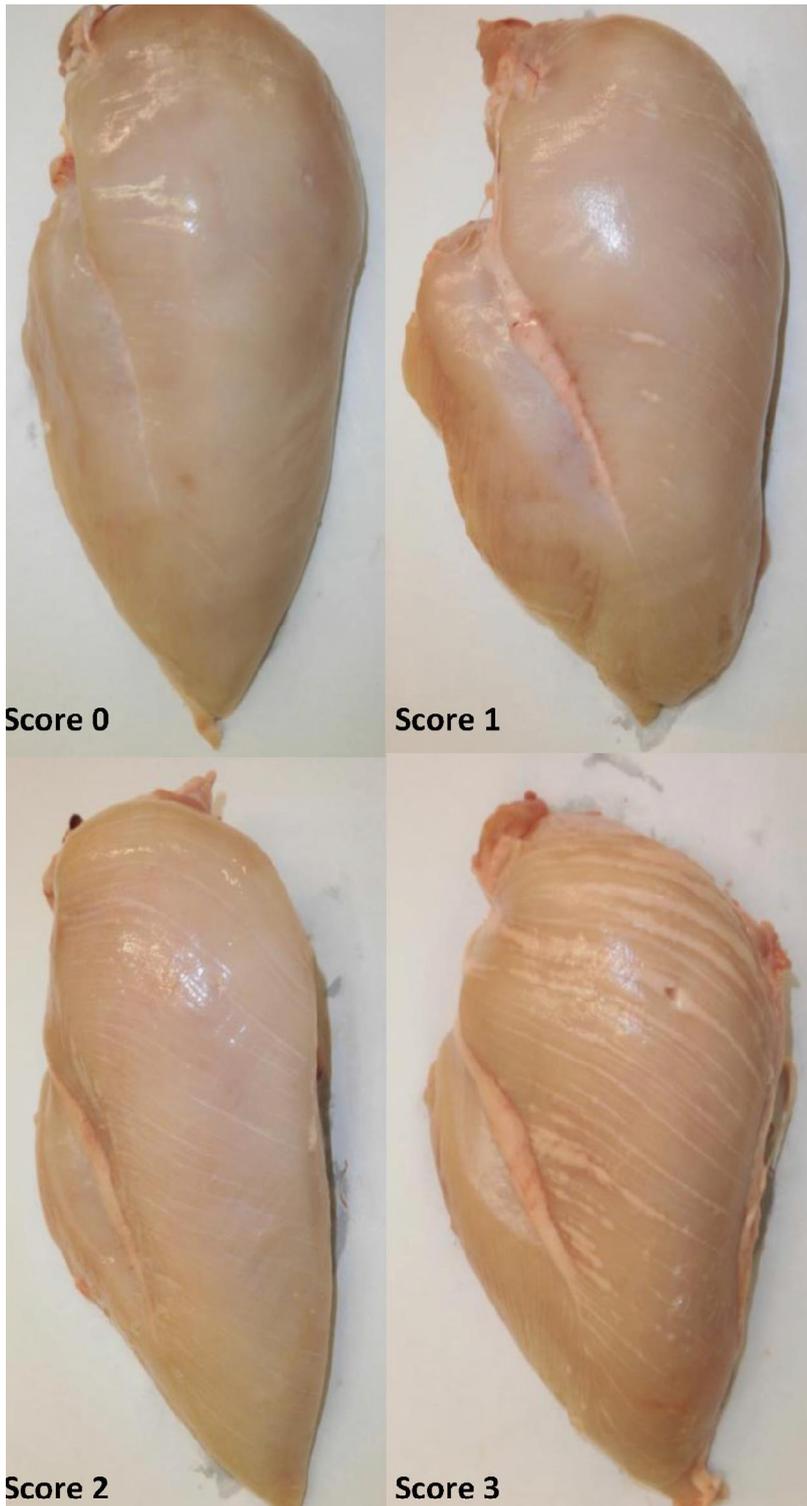


Figura 8: Petti di pollo con diversi gradi di *white striping*. Il punteggio 0 indica assenza di miopatia, il punteggio 3 indica *white striping* grave (Bailey, 2015)

Istologicamente si osserva una degenerazione polifasica con necrosi, perdita delle striature crociate, variazioni nel diametro delle fibre, degenerazione vacuolare, mineralizzazione, rigenerazione occasionale, presenza di cellule infiammatorie mononucleate, lipidosi e ridotta densità capillare (Kuttapan e coll., 2013). Il quadro macro e microscopico appare simile alla miopatia da carenza di vitamina E, ma si è visto che, pur supplementando la dieta con questa vitamina, l'incidenza del WS non cambia (Kuttapan e coll., 2012). Questa miopatia ha conseguenze anche sulla lavorabilità della carne, in quanto anche parametri come la capacità di ritenzione idrica e la tessitura risultano alterati, con aumento di perdite alla cottura e minore capacità di assorbire e trattenere la soluzione di marinatura (Petracci e coll. 2013).

Obiettivi

Stando alle previsioni, il mercato avicolo, già in forte espansione, nei prossimi anni potrebbe diventare il settore leader per quanto riguarda la produzione e il consumo di carne.

La carne di pollame viene largamente consumata in quanto molto versatile, economica, facile e rapida da cucinare, rappresenta inoltre una delle principali fonti di carne bianca e quindi nell'ottica del consumatore medio risulta essere una carne più dietetica e salutare.

Il crescente interesse da parte di produttori e consumatori verso la carne di pollame però deve procedere di pari passo con un'attenta valutazione dei problemi manageriali ed etici.

Queste carni infatti, sono ottenute da animali altamente selezionati, che negli ultimi 50 anni hanno visto le loro rese alla macellazione quadruplicare, così come è stato ottenuto un notevole abbassamento dell'indice di conversione alimentare. Ciò ha comportato inizialmente una ancora maggiore espansione del mercato, una sua riorganizzazione in filiere altamente integrate e ha determinato una maggiore spinta genetica alla selezione di animali sempre più prestanti.

Negli ultimi 20 anni tuttavia si è cominciato ad osservare come questi animali, spinti geneticamente e mantenuti in allevamenti altamente intensivizzati, tendevano a manifestare alcune patologie sistemiche e muscolo-scheletriche, in maggior parte riconducibili a fattori genetici.

Per quanto riguarda l'impatto diretto col consumatore, le patologie che maggiormente influenzano l'acquisto e il consumo della carne di pollame, e in particolare del taglio carneo del petto, sono le miopatie identificate come *white striping* e *wooden breast*. Queste si manifestano con un aspetto a striature biancastre, nel caso del *white striping*, che il consumatore percepisce come un aumento del tessuto adiposo e una minore tenerezza, e petto di consistenza legnosa, nel caso del *wooden breast*, il che pregiudica ancora una volta la tenerezza, oltre che a influenzarne in minima parte il colore, la luminosità e la tenuta alla cottura.

Queste miopatie provocano il rigetto da parte del consumatore o il declassamento della porzione a ulteriori lavorazioni che permettano di nascondere il difetto, comportando quindi una diminuita resa e un aumento dello scarto.

Indagare le cause predisponenti di queste e altre miopatie è lo scopo della presente tesi insieme a quello di fornire una caratterizzazione istologica e immunoistochimica che permetta di ipotizzare possibili cause sottostanti e ricondurre gli aspetti degenerativi a disordini già caratterizzati in modo da poter avanzare delle proposte atte a diminuire la prevalenza di queste patologie.

Si vuole quindi puntare l'attenzione oltre che sulle cause di origine genetica, anche sulle possibili cause manageriali, quindi fornire dei suggerimenti su come gestire al meglio gli animali per limitare la comparsa di miopatie.

Materiali e metodi

Animali e gruppi sperimentali

Sono stati prelevati campioni di muscolo per le analisi istologiche da 192 polli a diverse età su un totale di 896 pulcini usati per controllare le *performance* di crescita, la qualità della carcassa e della carne e la prevalenza di *white striping* e *wooden breast* (Trocino e coll., 2015).

I pulcini sono stati consegnati il giorno della schiusa da mezzi di trasporto autorizzati alle strutture sperimentali dell'Università di Padova. Sono state prese in considerazione due linee genetiche differenti, una con resa in petto standard e una con resa in petto elevata; tutti i pulcini sono stati inoltre sottoposti a sessaggio e vaccinati in incubatrice contro la malattia di Marek, la bronchite infettiva e la malattia di Newcastle.

I due genotipi, provenienti da due diversi incubatoi, sono stati accasati dopo 2,5 ore e 45 minuti di trasporto rispettivamente. Al loro arrivo, sono stati disposti 28 pulcini per recinto, per un totale di 32 recinti; gli 8 gruppi sperimentali sono stati allocati in modo casuale, per esempio 2 genotipi x 2 sessi x 2 piani alimentari (*ad libitum* vs. razione alimentare), e tenuti sotto osservazione dal giorno del loro arrivo fino alla macellazione a 46 giorni di età.

A 14, 21, 28 e 35 giorni di età, un animale per recinto (per un totale di 32 polli per ogni fascia di età) è stato sacrificato mediante dislocazione cervicale per prelevare muscoli da sottoporre ad analisi istologiche. A 46 giorni di età, tra i polli sottoposti a macellazione commerciale, altri 64 animali (2 polli per recinto), sono stati selezionati in modo da essere rappresentativi in termini di peso vivo medio e variabilità del recinto corrispondente e usati per prelevare dei campioni di muscolo per le analisi istologiche. Quindi un totale di 192 polli sono stati usati per questa prova.

Metà degli animali è stata alimentata *ad libitum* durante la prova sperimentale, l'altra metà è stata sottoposta a un'razione alimentare dal 13° al 21° giorno di vita, ricevendo l'80% della quantità consumata il giorno precedente dai polli alimentati *ad libitum*. Il programma di razione è stato calcolato separatamente nei 4 gruppi ottenuti dalla combinazione tra i 2 genotipi e i due sessi.

Campionamenti e analisi istologiche

Il petto è stato esaminato macroscopicamente per valutare la presenza e il grado di *white striping* (Kuttapan e coll., 2013b) e *wooden breast* (Sihvo e coll., 2014) e sono stati raccolti dei campioni di *Pectoralis major* e *Pectoralis minor* per le analisi istologiche. I campioni sono stati fissati in formalina al 10% a 4°C per una notte, lavati in PBS (phosphate-buffered saline 0,1 M, pH 7,4), disidratati attraverso una scala ascendente di etanolo e inclusi in paraffina. Mediante uso di un

microtomo sono state tagliate sezioni di 4 μm che sono state poi colorate con ematossilina e eosina per valutare la morfologia generale e con la tricromatica di Masson (Bancroft e Stevens, 1975) per evidenziare la presenza di collagene. Per valutare la presenza di tessuto adiposo nell'ambito del tessuto muscolare, campioni in precedenza congelati in isopentano e raffreddati in azoto liquido sono stati sezionati mediante uso di un criostato e sezioni seriate sono poi state colorate con tricromatica di Masson, Oil red e Nile blue.

Usando un microtomo (nel caso dei campioni congelati un criostato) sono state tagliate sezioni di 4 μm che sono state poi colorate con ematossilina e eosina, tricromatica di Masson, Oil red e Nile blue (Bancroft e Stevens, 1975). All'osservazione istologica (Olympus Vanox photomicroscope, Japan) è stata fatta una valutazione delle lesioni muscolari e del grado di lipidosi e fibrosi usando un punteggio da 0 a 3 (0, normale; 1, lieve; 2, moderato; 3, grave). Più nello specifico, il punteggio (0) era assegnato ai campioni che non presentavano fibre necrotiche, né infiltrazione di tessuto connettivo e i nuclei erano normali o centrali; il punteggio (1) veniva assegnato quando i campioni presentavano nuclei centrali, alcune fibre con citoplasma ialino, scarse fibre necrotiche, assenza di infiltrazione di tessuto connettivo; il punteggio (2) era assegnato a campioni che presentavano numerose fibre necrotiche, inspessimento del tessuto connettivo, presenza di cellule infiammatorie, aggregati di tessuto adiposo; infine, il punteggio massimo (3) era assegnato a campioni che mostravano abbondanza di tessuto connettivo interstiziale e cellule infiammatorie, fibre necrotiche e lobuli di tessuto adiposo.

È stata fatta inoltre una valutazione della densità capillare (Olympus Vanox photomicroscope, Japan), mediante conteggio del numero dei vasi effettuato da due operatori diversi, alla cieca su sezioni della prima (M1) e dell'ultima macellazione (M5). Complessivamente sono stati valutati 28 campioni per M1 e 30 campioni per M5. Per ogni campione, venivano considerati cinque campi microscopici (area $60000\mu\text{m}^2$). I vasi osservati sono stati divisi in tre categorie: piccoli ($<10\mu\text{m}$), medi (tra 10 e $40\mu\text{m}$) e grandi (oltre $40\mu\text{m}$).

Analisi immunoistochimica

L'immunoistochimica è stata realizzata sui campioni di muscolo dei 192 polli mediante un immunocoloratore automatico (BenchMark ultra, Roche), le sezioni sono state deparaffinate in xylene, reidratate in etanolo e sciacquate in acqua distillata. Il recupero degli antigeni mediante calore è stata effettuata usando il protocollo ULTRA Cell Conditionig Solution CC2 (pH=6,0) a 91°C per 44 minuti. Le sezioni sono state incubate con l'anticorpo primario policlonale antiLamin A (Signaling, cod. 2035) diluito 1:100, per 32 minuti a RT. Le sezioni sono state poi incubate con il

sistema di ricerca UltraView Universal DAB detection Kit (Roche). È stato fatta una valutazione quantitativa dei nuclei positivi all'antigeno Lamin A usando un sistema di analisi d'immagine computerizzato (Olympus CellB, Japan). Questa valutazione quantitativa è stata svolta come segue: ogni campione era rappresentato da 3 sezioni, sono stati analizzati tre campi per ogni sezione di muscolo ed è stato contato il numero di nuclei positivi entro ogni campo ($60000\mu\text{m}^2$).

Alcune sezioni seriali sono state immunocolorate manualmente con un antisiero di topo monoclonale anti-PCNA, diluito 1:500 (Cell Signaling Technology, USA) e incubato per una notte a $+4^\circ\text{C}$. Le sezioni sono state poi incubate con il sistema di rilevamento EnVision FLEX/HRP (Dako), mentre è stato usato come cromogeno EnVision FLEX Substrate Buffer EnVision FLEX DAB (Dako). Tutte le sezioni sono state poi ricolorate con EnVision FLEX Hematoxylin (Dako). È stata verificata la specificità dell'immunocolorazione incubando le sezioni con PBS invece che con l'anticorpo primario specifico.

Analisi statistiche

La frequenza dei polli con degenerazione delle fibre muscolari del *P. major* (di qualsiasi grado) è stata analizzata con il test χ^2 (SAS Institute Inc., 2011) in base a genotipo, genere, sistema di alimentazione ed età.

I punteggi per la degenerazione delle fibre muscolari e il numero di nuclei apoptotici e la densità capillare sono stati analizzati mediante PROC GLIMMIX con genotipo, genere, sistema di alimentazione ed età e le loro interazioni come effetti fissi. Le interazioni non significative non sono state riportate nelle figure o nelle tabelle.

Differenze fra le medie con $0,05 < P < 0,10$ sono state accettate come indicative di una tendenza.

Risultati

All'esame istologico la percentuale di polli che mostravano un qualsiasi grado di degenerazione delle fibre muscolari è risultata in media del 68,8% e non sembrava influenzata dal genotipo o dal sesso dell'animale, mentre sono stati riscontrati effetti da parte del sistema di alimentazione e dell'età.

La frequenza di animali con alterazioni del *P. major* è risultata superiore per gli animali alimentati sempre *ad libitum* rispetto ai polli soggetti a razione alimentare (75,0% vs. 62,5%; $P < 0,10$; Tabella 3). Inoltre, con l'aumentare dell'età da 14 a 46 giorni di vita, è aumentata significativamente la percentuale di polli con alterazioni del *P. major* ($P < 0,001$).

È stata misurata un'interazione significativa tra il sistema di alimentazione e l'età del pollo: la presenza di degenerazioni è risultata molto alta nei polli alimentati *ad libitum* rispetto ai polli soggetti a razione al 21° giorno di età (ultimo giorno di razione) (50,0% vs. 6,3%; $P < 0,001$) e, anche se minore, al 28° giorno di vita (87,5 vs. 62,5%, $P = 0,10$).

Il punteggio assegnato alla degenerazione muscolare (Tabella 4) non è stato influenzato da genotipo, genere o sistema di alimentazione, mentre è aumentato significativamente con l'aumentare dell'età del pollo. È stata riscontrata un'interazione significativa tra l'età e il sistema di alimentazione ($P < 0,001$): il punteggio era più alto nei polli alimentati *ad libitum* rispetto a quelli soggetti a alimentazione controllata a 21 e 28 giorni di età.

Diversamente, il numero di nuclei apoptotici è aumentato solo in relazione all'età del pollo (da 0,09 a 8,45 da 14 a 46 giorni di vita; $P < 0,001$).

Per quanto riguarda la densità capillare, la categoria di vasi più rappresentata in tutte le sezioni è risultata quella dei piccoli e, per questa, è stata osservata un'influenza significativa dell'età di macellazione (20,7 vs. 9,46; $P < 0,001$; Tabella 3).

Anche il numero di vasi di grandi dimensioni è risultato tendenzialmente influenzato dall'età, ma in maniera opposta rispetto ai piccoli, con un numero di vasi maggiore nell'ultima macellazione (0,33 vs. 0,61; $P < 0,07$). In quest'ultima categoria anche il sesso ha mostrato influenzare il numero dei vasi, risultato maggiore nei maschi (0,63) rispetto alle femmine (0,31; $P < 0,03$).

Tabella 3. Numero di vasi contati in cinque aree ($60000\mu\text{m}^2$) di ciascuna sezione del muscolo *P. major* di polli broiler appartenenti a diverso genotipo, sesso, sistema alimentare ed età.

	Resa in petto (B)		Sesso (G)		Sistema alimentare (F)		Età (A)		P-value				
	Standard	Elevata	Femmine	Maschi	<i>ad libitum</i>	Razionamento	14 d	46 d	B	G	F	A	F x A
Piccoli (n)	14,5±0,75	15,7±0,72	15,9±0,71	14,3±0,76	15,5±0,75	14,7±0,72	20,7±0,75	9,46±0,72	0,23	0,12	0,47	<0,001	0,18
Medi (n)	1,84±1,97	1,57±1,73	1,61±1,87	1,80±1,84	1,63±1,71	1,77±1,98	2,05±1,98	1,37±1,67	-	-	-	-	-
Grandi (n)	0,49±0,11	0,44±0,11	0,63±0,11	0,30±0,11	0,48±0,11	0,45±0,11	0,33±0,11	0,61±0,11	0,78	0,03	0,86	0,07	0,23

Tabella 4. Punteggi assegnati alla degenerazione muscolare e numero di nuclei apoptotici nel muscolo *P. major* di polli broiler raggruppati per genotipo, sesso, regime alimentare e età

	Genotipo (B)		Sesso (G)		Regime alimentare (F)		Età (A)					P-value				F x A
	Resa Standard	Resa Elevata	Femmine	Maschi	<i>ad libitum</i>	Razionamento	14 d	21 d	28 d	35 d	46 d	B	G	F	A	
Punteggio	1,16	1,19	1,15	1,21	1,24	1,12	0,19	0,38	1,31	2,09	1,92	0,81	0,67	0,38	<0,001	0,10
Nuclei apoptotici (n)	2,94	3,39	2,84	3,49	3,21	3,12	0,09	0,44	3,03	3,81	8,45	0,53	0,36	0,89	<0,001	0,97

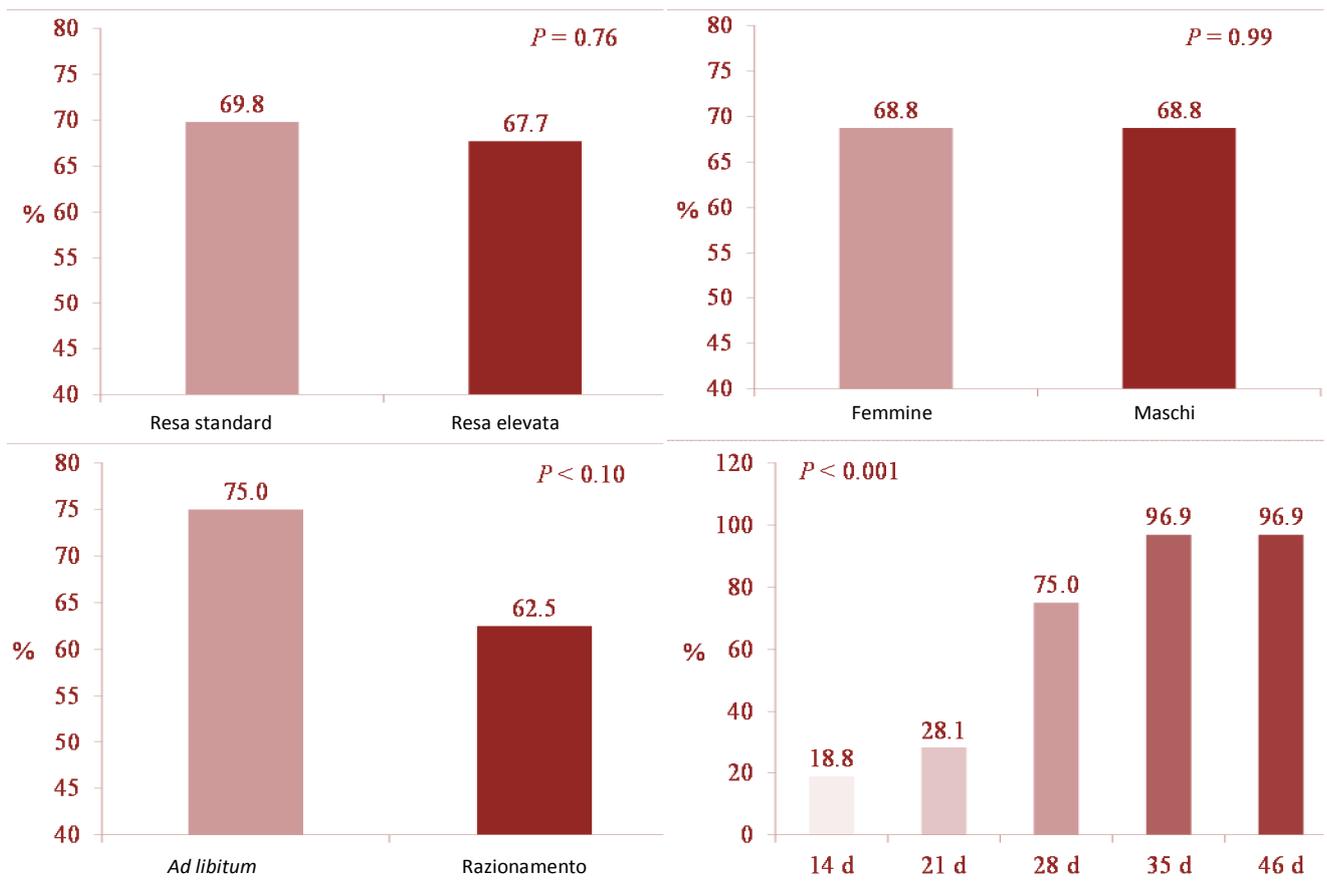


Figura 9. Percentuale (%) di broiler che mostrano degenerazione delle fibre muscolari all'esame istologico del *P. major* rispetto al genotipo (standard vs. alta resa), genere (femmine vs. maschi), regime alimentare (*ad libitum* vs. razionamento) e età (14, 21, 28, 35, 46 giorni di età) (P-value del test Chi Quadro).

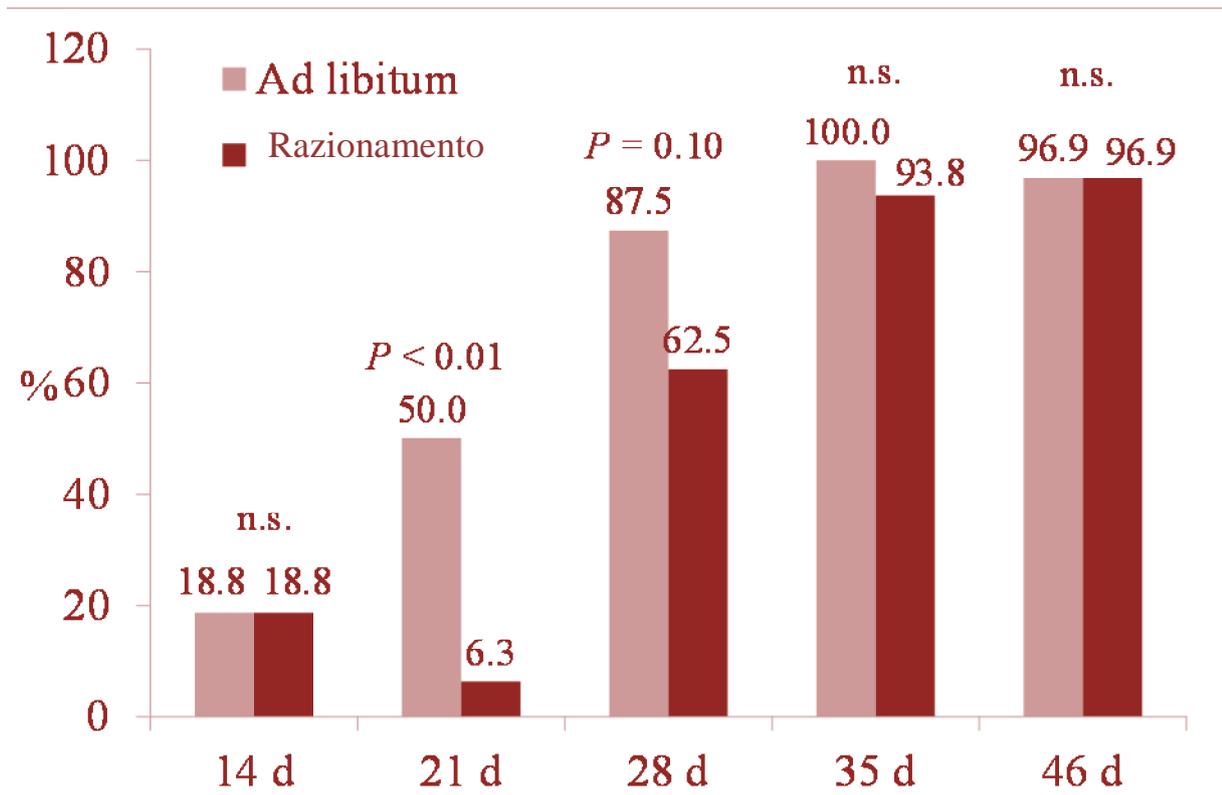


Figura 10. Percentuale (%) di broiler che mostrano degenerazione delle fibre muscolari all'esame istologico del muscolo *P. major* tra soggetti alimentati *ad libitum* e soggetti sottoposti a razione a diverse età (14, 21, 28, 35 e 46 giorni di età) (P-value del test Chi quadro rispetto all'età).

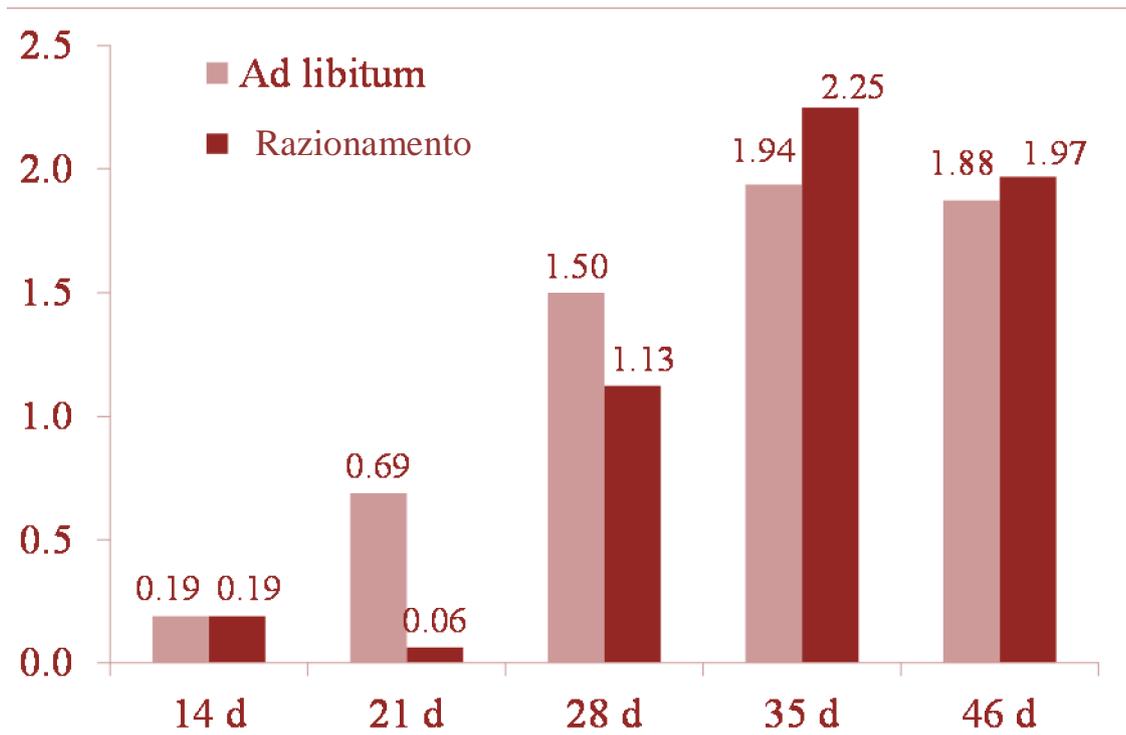


Figura 11. Puntaggio di degenerazione muscolare all'esame istologico del muscolo *P. major* in broiler alimentati *ad libitum* o sottoposti a razionamento alimentare a diverse età (14,21, 28, 35 e 46 giorni) (P-value dell'interazione sistema alimentare x età, $P < 0,10$).

Istologia

Gli animali campionati a 14 giorni di vita mostrano un muscolo scheletrico organizzato, composto da singole fibre muscolari coperte da tessuto fibroso connettivo, l'endomisio, che isola ciascuna fibra. All'interno di ciascuna fibra muscolare, sono visibili numerose miofibrille disposte longitudinalmente, mentre i nuclei sono disposti in periferia appena al di sotto del sarcolemma che è coperto dall'endomisio (figura 4, A).

Campioni provenienti da polli di 21 giorni presentano invece all'indagine isto-morfologica un aumento delle lesioni miodegenerative da 1(lieve) a 3(grave); gran parte del parenchima muscolare mostra una struttura normale, ma molte fibre appaiono iper-eosinofiliche, con perdita delle striature e internalizzazione dei nuclei. Alcune fibre iper-eosinofiliche mostrano una degenerazione vacuolare e altre appaiono frammentate, con segni di fagocitosi in atto e sono circondate da cellule infiammatorie (figura 4, B).

A 28 giorni (figura 4, C) è visibile nel parenchima muscolare una maggior percentuale di fibre muscolari in degenerazione, inoltre l'interstizio tra le fibre muscolari appare infiltrato da cellule infiammatorie. Le fibre muscolari sono immerse in abbondante tessuto connettivo ricco in collagene e mostrano una grande variabilità di forma (fibre in degenerazione e in rigenerazione). Il tessuto connettivo è ricco in fibre collagene e si possono evidenziare numerosi adipociti (lipidosi).

A 35 giorni di età (figura 4, D) aumenta il numero di fibre muscolari coinvolte in processi degenerativi, è presente infiltrato infiammatorio diffuso e abbondante tessuto connettivo.

All'età di macellazione, ovvero a 46 giorni (figura 5) si osserva un generale aumento di fibre in degenerazione e di fibre iper eosinofiliche, diametri trasversali molto diversi, aumento del tessuto connettivo ricco in collagene e infiltrato infiammatorio. Utilizzando la tricromatica di Masson (figura 6; A,B) si mettono in evidenza le fibre di collagene presenti nell'interstizio. Si evidenzia inoltre (figura 6; C, D, E) come le fibre degenerate vengano gradualmente sostituite da tessuto adiposo.

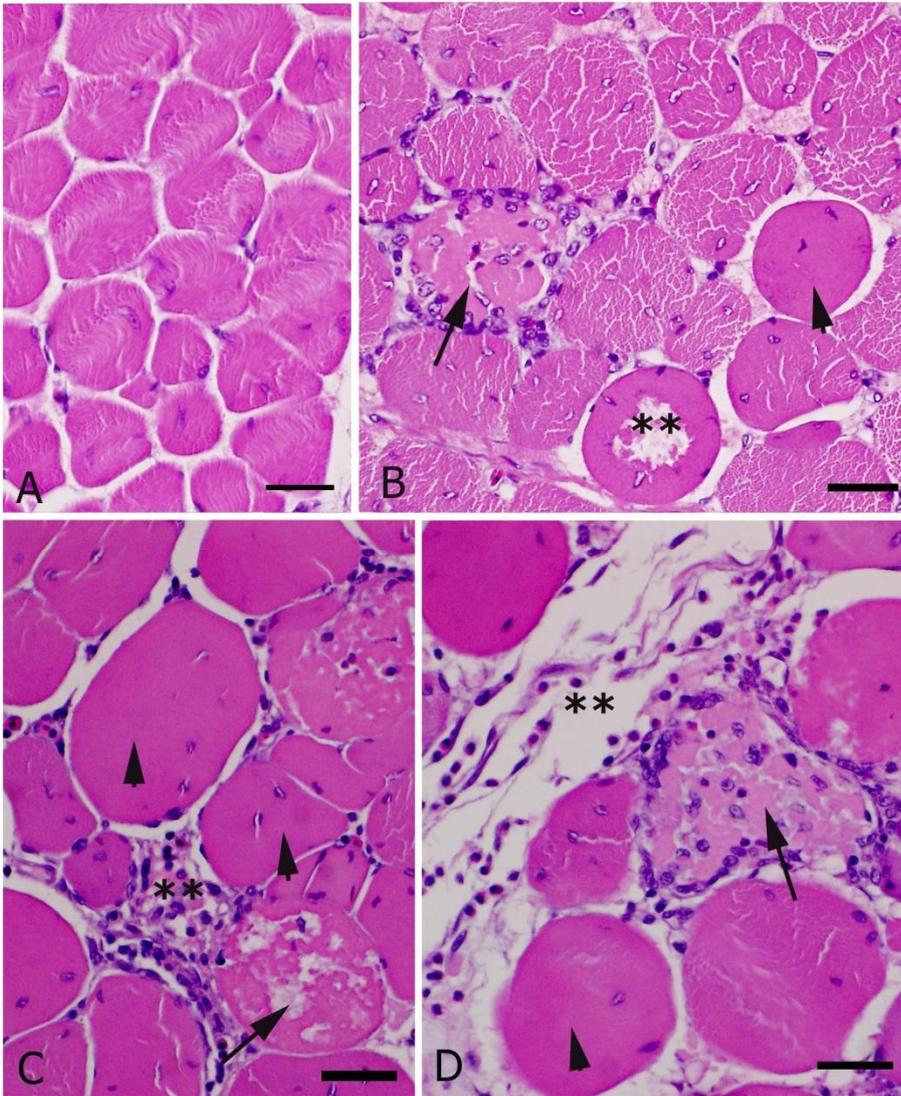


Figura 12. Valutazione istologica di fibre muscolari in broiler di 14 (A), 21 (B), 28 (C) e 35 (D) giorni di età. Tutti i riquadri sono stati ottenuti colorando i campioni con ematossilina e eosina.

- A) Nei broiler di 14 giorni si osserva il normale aspetto istologico delle fibre muscolari; in sezione trasversale si osserva come le fibre muscolari siano costituite da cellule multinucleate con aspetto striato e si evidenziano i nuclei disposti in periferia. Alcune rare fibre presentano internalizzazione dei nuclei.
- B) Nei broiler di 21 giorni, sebbene la maggior parte del parenchima mostri una normale architettura, numerose fibre muscolari appaiono iper eosinofile (*punta di freccia*), mentre altre mostrano una degenerazione vacuolare (*asterischi*). Inoltre alcune rare fibre vanno incontro a fagocitosi e appaiono frammentate (*freccia*).
- C) Nei broiler di 28 giorni si osservano abbondanti fibre iper eosinofile (punte di freccia) e l'interstizio appare infiltrato da linfociti e macrofagi (*asterischi*).
- D) Nei broiler di 35 giorni si osservano fibre in degenerazione (*freccia*) spesso circondate da infiltrato cellulare infiammatorio e abbondante tessuto connettivo ricco in collagene (*asterischi*); la *punta di freccia* indica una fibra iper eosinofila.

(scala: A, 20 μ m; B, C, D, 10 μ m).

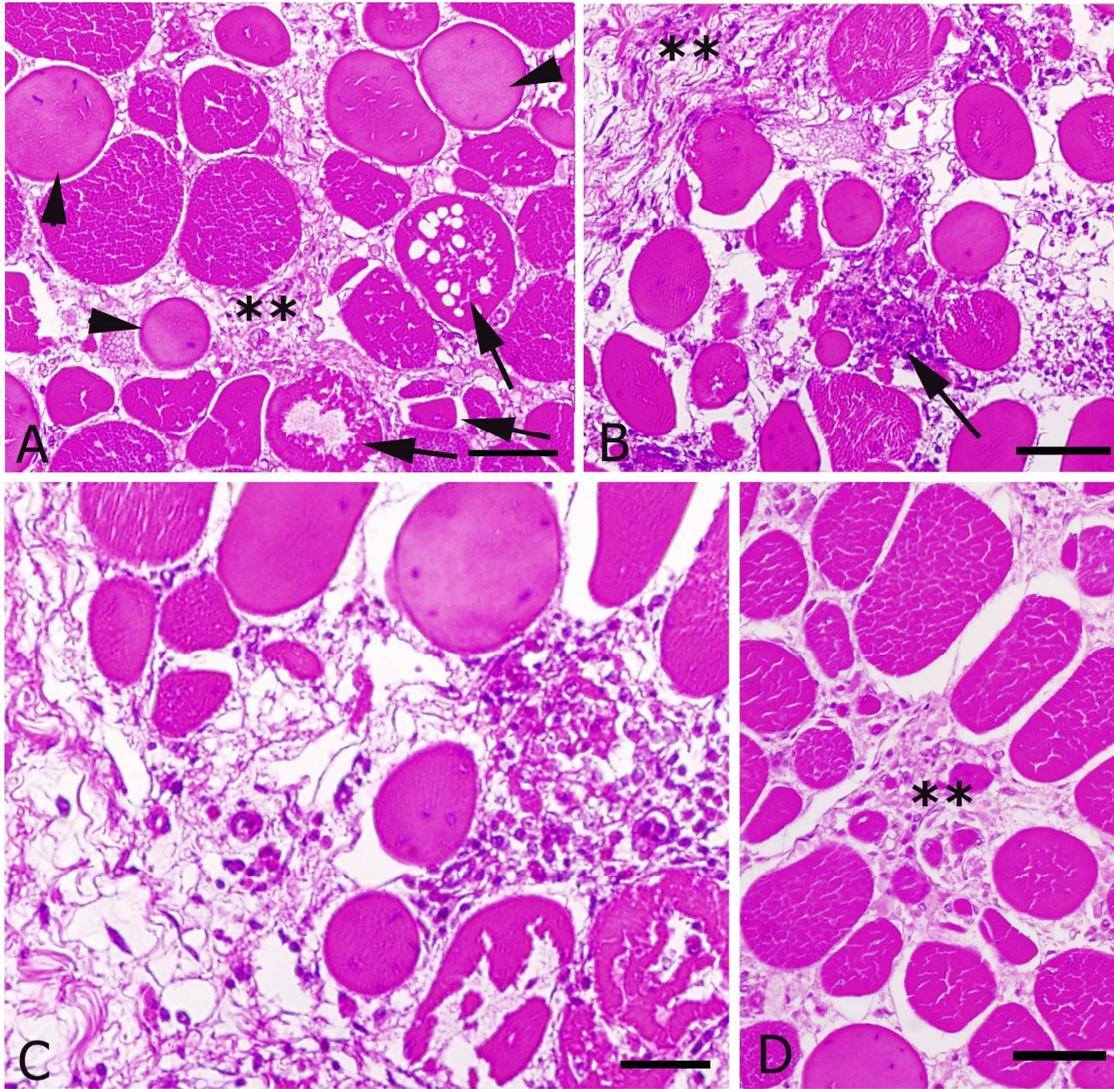


Figura 13. Valutazione istologica di fibre muscolari in broiler di 46 giorni di età. Tutti i riquadri sono stati ottenuti colorando i campioni con ematossilina ed eosina.

- A) Si osserva un aumento graduale di fibre in degenerazione (*freccie*) circondate da fibre iper eosinofile (punte di freccia). La presenza di tessuto connettivo ricco in collagene (*asterischi*) è maggiore rispetto a quanto osservato in precedenza.
- B) Le fibre muscolari sono di diametri diversi e ridotte di numero rispetto agli stadi precedenti. Le fibre sono sostituite da tessuto connettivo (*asterischi*). La freccia indica una fibra in degenerazione circondata da infiltrato infiammatorio.
- D) Le fibre muscolari sono di diametri diversi, a indicare fenomeni rigenerativi e appaiono circondate da abbondante tessuto connettivo (*asterischi*).

Scala: A, B, D, 20 μ m; C, 40 μ m.

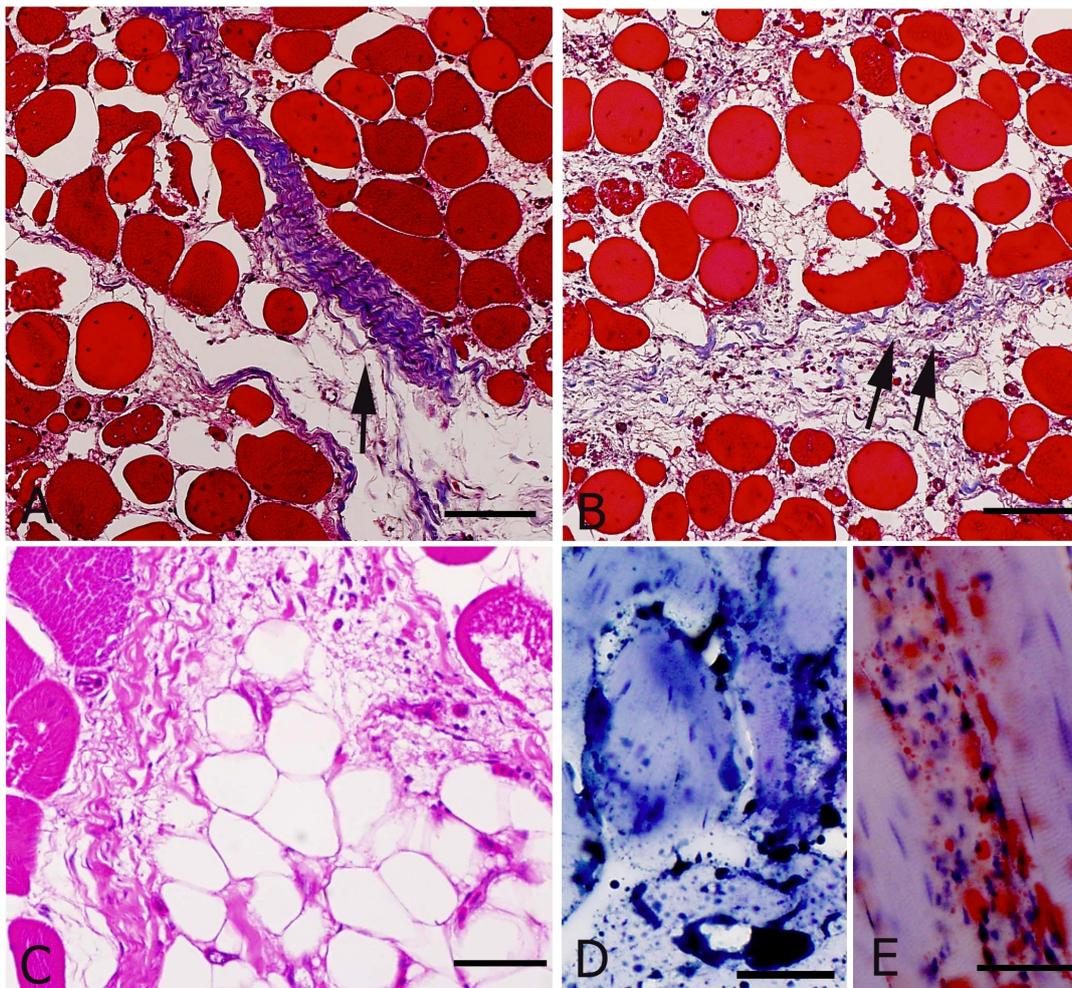


Figura 14. Valutazione istologica di fibre muscolari in broiler di 46 giorni di età. I riquadri A e B sono stati ottenuti colorando i campioni con la tricromatica di Masson, il riquadro C è stato colorato con ematossilina e eosina, il riquadro D con Nile Blue e il riquadro E con Oil red.

A, B) Si possono osservare, colorate in blu, le numerose fibre collagene (*frecce*) distribuite nell'interstizio tra le fibre muscolari.

C) Fibre muscolari in degenerazione sostituite da abbondante tessuto adiposo.

D, E) Cellule adipose colorate in blu e rosso rispettivamente con le colorazioni Nile blue e Oil red.

Scala: A, B, 40 μ m; C, D, E, 20 μ m.

Immunoistochimica

L'analisi immunoistochimica è stata effettuata utilizzando l'anticorpo anti Lamin A per dimostrare la presenza di processi apoptotici nelle fasi degenerative e l'anticorpo anti-PCNA per rilevare processi proliferativi nelle fibre in rigenerazione.

Nei campionamenti dal 14° al 46° giorno si è rilevato un aumento di nuclei positivi all'anticorpo anti Lamina A.

Negli animali campionati al 46° giorno le fibre necrotiche mostrano una elevata percentuale di nuclei apoptotici e le fibre in rigenerazione appaiono positive all'anticorpo anti-PCNA.

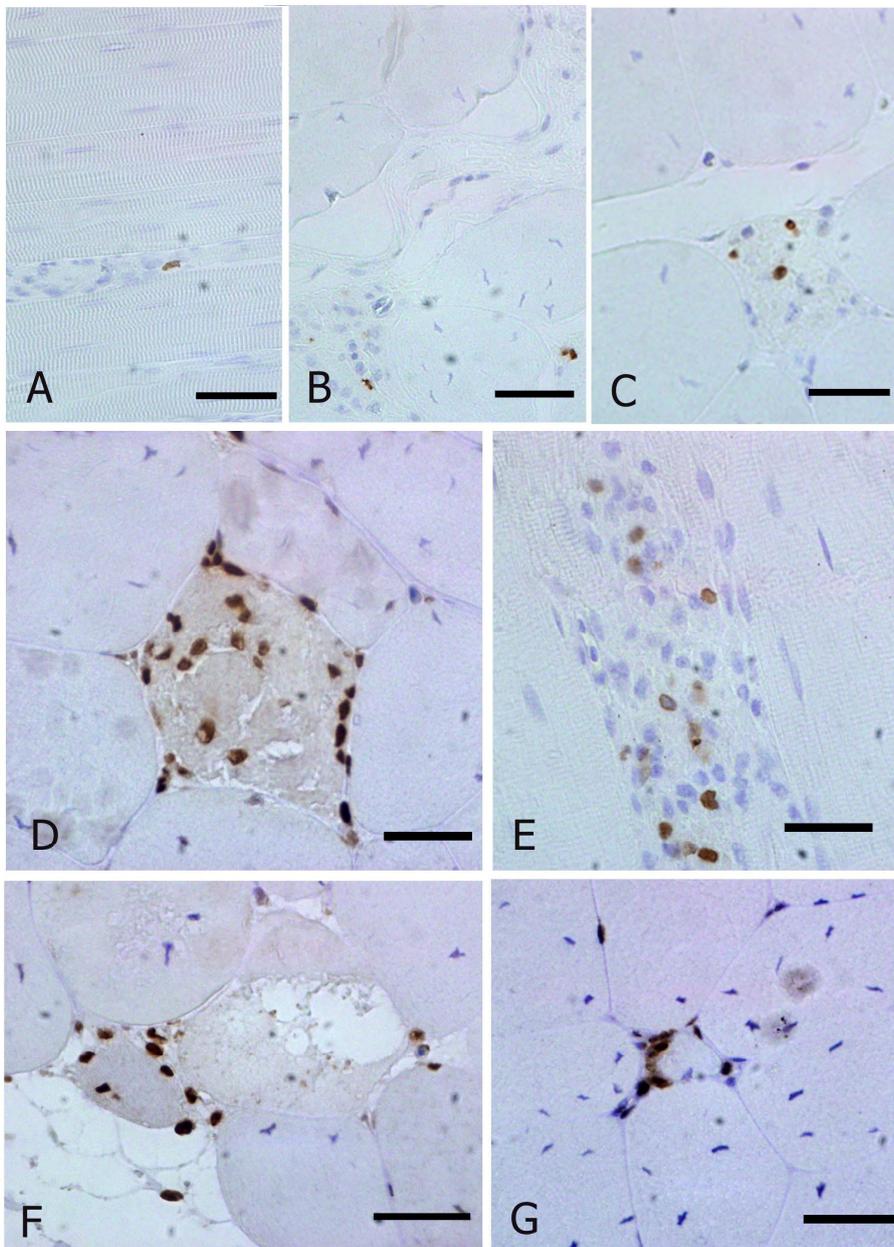


Figura 15. Localizzazione immunohistochimica con anticorpi anti Lamin A e anti-PCNA in fibre muscolari di broiler campionati a diverse età : A) 21 giorni, B) 28 giorni, C) 35 giorni, D) ed E), 46 giorni.

I riquadri A-E sono stati ottenuti da analisi immunohistochimica utilizzando l'anticorpo anti Lamin A, mentre i riquadri F e G sono stati ottenuti utilizzando l'anticorpo anti-PCNA.

A-D) Il numero di nuclei positivi all'anticorpo anti lamina A aumenta con l'aumentare dell'età del broiler, rispecchiando un aumento nel numero delle fibre in degenerazione. A 46 giorni, le fibre in degenerazione (D, E) mostrano una abbondanza di nuclei immuno-positivi all'anticorpo anti Lamin A, mentre le fibre muscolari in rigenerazione (F, G) vengono messe in evidenza dall'anticorpo anti-PCNA.

Scala: A, B, C, 20 μ m; D, E, F, G, 10 μ m

Discussione

Ad oggi, nell'industria avicola, diventa sempre più importante cercare di controllare e prevenire le principali miopatie che portano a un rigetto del prodotto, in particolare del petto, da parte del consumatore medio (Kuttapan et al 2012b) e influiscono negativamente sulle proprietà reologiche della carne (Mudalal e coll., 2014; Mazzoni e coll., 2015; Soglia e coll. 2015).

I tagli carnei con moderato grado di *white striping* vengono solitamente commercializzati tal quali, mentre quelli maggiormente affetti da *white striping* e *wooden breast* vengono declassati e utilizzati per prodotti trasformati.

Le carni con *white striping* mostrano un pH finale più alto, alcune differenze negli indici del colore e maggiori perdite alla cottura (Petracci e coll., 2013a; Mudalal e coll., 2014; Mazzoni e coll., 2015). Le carni con *wooden breast* invece non differiscono molto dalle carni normali in termini di pH e colore, ma perdono più acqua durante la cottura e presentano maggiore resistenza al taglio (Mudalal e coll., 2014).

L'incidenza di miopatie è alquanto elevata: Lorenzi e coll. (2014) hanno osservato una prevalenza del 43,1% di petti commercializzati normalmente mostrandoti *white striping* su un totale di circa 35.000 animali esaminati. Questa percentuale è aumentata nel caso di animali più pesanti e nei maschi da 3,8 a 4,2 kg fino ad arrivare al 60,3%. In condizioni sperimentali, analizzando quattro differenti linee commerciali, Kuttapan e coll. (2013a) hanno riscontrato, in broiler da 59 a 63 giorni di età, che il 55,8% di essi presentava *white striping* da moderato (47,5%) a grave (8,3%), mentre in animali più leggeri (peso medio 2,75) macellati a 45-54 giorni di età, Petracci e coll. (2013a) hanno osservato un'incidenza di *white striping* del 12%, di cui 8,9% di grado moderato e 3,1% di grado severo. Nello studio effettuato da Trocino e coll. (2015), ad una osservazione macroscopica il 74,5% degli uccelli presentava *white striping* e il 12,2% *wooden breast* e il 97% dei casi sottoposti poi a esame istologico effettivamente presentava danni alle fibre muscolari.

Le differenze osservate nell'incidenza delle miopatie fra i diversi studi possono essere spiegate con le differenze in termini di peso vivo degli animali (Kuttapan e coll., 2012a; 2013a).

La presenza di miopatie nei broiler è stata associata a un elevato tasso di crescita e resa in petto, ovvero gli obiettivi della selezione genetica degli ultimi decenni (Petracci e coll., 2014). L'aumento delle dimensioni delle fibre, l'ipertrofia e una diminuzione della capillarizzazione sono stati identificati come effetti negativi sul metabolismo muscolare e in grado quindi di provocare miopatie come *white striping* e *wooden breast* (Kuttapan e coll., 2013b; Petracci e coll., 2014; Sihvo e coll., 2014). Infatti alcuni autori (Hoving-Bolink e coll., 2000; Joiner e coll., 2014) hanno suggerito che queste miopatie potrebbero essere una conseguenza di un ridotto apporto di ossigeno ai muscoli a

causa di una minore capillarizzazione osservata nei genotipi a crescita rapida.

Un altro studio, effettuato da Bailey e colleghi (2015) tende a ridimensionare il ruolo della selezione genetica sull'incidenza di miopatie: analizzando infatti due linee genetiche con diversa resa in petto (29 e 21%) si è osservato come la correlazione genetica tra la comparsa di miopatie e caratteristiche produttive quali peso vivo, resa alla macellazione e resa in petto, risulti molto bassa ($\bar{r}=0,132$ nel genotipo ad alta resa in petto e $\bar{r}=0,248$ nel genotipo a bassa resa). L'ereditabilità del *white striping* è stata stimata essere bassa-moderata (0,19 e 0,34 nelle due linee genetiche). La presenza di miopatie nei broiler quindi subisce una forte influenza da parte di fattori ambientali/manageriali (alimentazione, temperatura ambientale e di incubatoio, ventilazione) e sembra avere una natura poligenica.

Nello studio svolto da Kuttapan e coll. (2013a) era stato dimostrato che i broiler più pesanti e aventi un petto più spesso erano più predisposti a sviluppare *white striping* rispetto a quelli leggeri, e che quando il regime alimentare, il sesso o la tipologia di ibrido influenzavano il ritmo di crescita e portavano ad un aumento del peso alla macellazione, aumentava anche l'incidenza di *white striping*. Nel presente studio tuttavia, non è stata riscontrata una correlazione significativa tra il peso finale e l'incidenza di *white striping*.

Riguardo all'incidenza di *wooden breast* si ritiene che fattori predisponenti siano l'elevato ritmo di crescita e l'elevata resa in petto (Sihvo e coll., 2014), ma ci sono ad ora meno informazioni al riguardo.

Nel presente esperimento si è registrata una prevalenza di *white striping* del 68,8%, in linea con quanto riportato in letteratura (Kuttapan e coll., 2013a), e si è osservato come la presenza di miopatie sia influenzata da fattori come l'età e il sistema di alimentazione; infatti l'incidenza di degenerazioni muscolari aumenta con l'aumentare dell'età ed è maggiore negli animali alimentati *ad libitum* (50,0 vs. 6,3,0% rispettivamente, broiler alimentati *ad libitum* vs broiler sottoposti a razione al 21° giorno di vita, i. e. appena dopo il periodo di razione). Non sono state osservate influenze significative da parte di genere e genotipo.

Riguardo all'incidenza delle miopatie, in particolare *white striping*, si osserva come già al 21° giorno, il 50,0% dei polli alimentati *ad libitum* mostrino segni di degenerazione muscolare, mentre negli animali sottoposti a razione questa percentuale è appena del 6,3%; al 28° giorno le differenze diventano meno evidenti (87,5 vs 62,5%), fino ad arrivare a valori alla macellazione di 75,0 % per gli animali alimentati *ad libitum* e 62,5% per quelli sottoposti a razione.

Riguardo al punteggio assegnato per le degenerazioni, è stato osservato che non sono presenti effetti da parte di genotipo, genere o alimentazione, ma solo da parte dell'età; si è osservato tuttavia che il punteggio più alto veniva in genere assegnato ad animali alimentati *ad libitum*, nei genotipi a resa elevata in petto e nei maschi. Il punteggio assegnato è basso nelle prime fasi, dai 14 ai 28 giorni (1,50), ma aumenta a 35 giorni (2,25); inizialmente è maggiore negli animali alimentati *ad libitum*, poi (a 35 e 46 giorni) in quelli sottoposti a razionamento.

Mediante l'analisi immunistochemica si è voluto ricercare segni di apoptosi e quindi di degenerazione utilizzando l'anticorpo anti Lamin A e segni di rigenerazione utilizzando l'anticorpo anti PCNA, e si è osservato come questi marker risultassero maggiormente presenti negli animali macellati più tardi.

Il numero di nuclei apoptotici quindi sembra aumentare solamente in base all'età, ma tende a essere maggiore anche nei maschi, nei soggetti alimentati *ad libitum* e nel genotipo ad alta resa in petto.

Rispetto al sistema di alimentazione, si osserva che la percentuale di degenerazioni muscolari analizzate per fascia di età è quasi sempre maggiore nei soggetti alimentati *ad libitum*, soprattutto nel periodo che va dal 21° al 28° giorno; più tardi invece le differenze tendono ad attenuarsi, lasciando ipotizzare che il razionamento alimentare limiti la prevalenza di *white striping* nel primo periodo, ma successivamente gli animali sottoposti a razionamento siano in grado di compensare, e così, come vengono ridotte eventuali differenze di peso corporeo, si osserva anche la comparsa di miopatie.

Negli studi precedenti non era mai stata valutata l'incidenza di miopatie quali *white striping* e *wooden breast* in relazione all'età, ma, sullo stesso gruppo di animali della presente prova, sono stati valutati gli effetti del sistema di alimentazione, del genotipo e del sesso sull'incidenza di miopatie (Trocino e coll., 2015). Tenendo in considerazione solo l'ultima macellazione, gli animali alimentati *ad libitum* mostravano una minore incidenza della miopatia rispetto a quelli sottoposti a razionamento, inoltre era stato osservato come la presenza della miopatia era maggiore nei genotipi ad alta resa, soprattutto considerando il grado severo (9.5 vs 19.5 %). Riguardo al sesso, non erano state osservate variazioni significative nel grado o nell'incidenza di *white striping*.

Ciò conferma in parte i risultati ottenuti dalla seconda sperimentazione, salvo per l'incidenza del sistema di alimentazione, ma nel precedente studio gli animali non erano stati valutati per fasce di età, quindi risulta compatibile che al momento della macellazione gli animali sottoposti a razionamento abbiano raggiunto e in parte superato quelli alimentati *ad libitum* in termini di peso vivo e quindi abbiano mostrato di conseguenza un livello di danno muscolare simile se non maggiore dovuto agli effetti del ritorno a una dieta *ad libitum*. Probabilmente il maggior tasso di

crescita relativo al periodo post-razionamento ha aumentato la sofferenza del muscolo pettorale e ha provocato un danno maggiore a livello delle fibre muscolari rispetto agli uccelli alimentati *sempre ad libitum* in cui la crescita si è mantenuta più costante. Infatti, se il razionamento viene applicato nelle prime due settimane dopo la schiusa si osservano effetti negativi sulla struttura del *P. major* (Velleman e coll., 2010), ovvero scarsa organizzazione, necrosi e depositi adiposi. Gli stessi autori hanno quindi indicato le prime due settimane di vita come critiche per il mantenimento della crescita e della struttura del muscolo, ma sono stati osservati (Trocino e coll., 2015) effetti negativi anche nel caso in cui il razionamento alimentare venga applicata più tardi (da 13 a 21 giorni dopo la schiusa). Sono quindi necessari ulteriori studi per chiarire se e come lo stadio di sviluppo della fibra muscolare o il tasso di crescita compensatoria o una loro interazione possano indurre danni a livello delle fibre muscolari e quindi influenzare l'incidenza di miopatie.

Dalle analisi istologiche si osserva come campioni raccolti a 14, 21, 28, 35 e 46 giorni mostrino una gravità crescente di degenerazioni muscolari. A 14 giorni le fibre appaiono normali, ma già a 21 giorni numerose fibre appaiono ipereosinofile e mostrano segni di degenerazione vacuolare e fagocitosi in atto. Più tardi (28 giorni) si osserva anche la presenza di linfociti e macrofagi a livello interstiziale e abbondanza di collagene (35 giorni). Al momento della macellazione (46 giorni) si rileva un aumento diffuso di fibre in degenerazione, talvolta rimpiazzate da adipociti, tessuto connettivo ricco in collagene e cellule infiammatorie attorno alle fibre danneggiate.

Kuttapan e coll. (2012b), al momento della macellazione commerciale, hanno descritto queste lesioni a livello istologico evidenziando una perdita delle striature, fibre di diverso diametro, degenerazione vacuolare, lisi, mineralizzazione, rigenerazione (nuclei allineati e cellule multinucleate), infiltrato mononucleato, lipidosi, cellule infiammatorie interstiziali e fibrosi. Il tutto riconducibile a uno stadio di infiammazione cronica.

Nei petti affetti da *wooden breast* Sihvo e coll. (2014) e Petracci e coll. (2013b) hanno osservato degenerazione muscolare multifocale da moderata a grave con rigenerazione e necrosi, accumulo di tessuto connettivo interstiziale e fibrosi. Il genotipo ad alta resa in petto aveva un'incidenza maggiore di fibre anomale, ma una prevalenza simile era stata osservata anche nel genotipo a resa standard (Petracci e coll.; 2013b). Anche Kuttapan e coll. (2013b), valutando quattro genotipi a resa differente non evidenziavano particolari differenze nella prevalenza di miopatie, suggerendo che la maggior parte degli ibridi moderni sottoposti ad allevamento intensivo presentino ad oggi un certo grado di degenerazione muscolare.

Nel recente studio svolto da Mazzoni e coll. (2015), i campioni classificati come mostranti gravi

danni muscolari presentavano miofibre di diverso diametro, assenza della tipica forma poligonale, nuclei in posizione centrale, *fiber splitting*, citoplasma ialino, aumento della fascia perimisiale contenente tessuto connettivo lasso e collagene (fibrosi), degenerazione multifocale e necrosi, infiltrato di cellule infiammatorie immunoreattive (linfociti T CD3) all'interno e attorno alle fibre muscolari e in prossimità dei capillari.

Si ipotizza che l'ipercontrazione delle fibre muscolari accompagnata da abbondante fibrosi sia dovuta al fatto che la crescita del tessuto connettivo nei muscoli degli ibridi selezionati per un'aumentata produzione di carne non tenga il passo con la crescita radiale delle fibre muscolari e che quindi le fibre muscolari crescano oltre il tessuto connettivo di supporto, portando a un danno muscolare (Swatland, 1990; Kranen e coll., 2000).

Nel presente studio i petti affetti da *white striping* e *wooden breast* presentavano lesioni macroscopiche quali striature biancastre di diverse dimensioni, parallele alle fibre muscolari, maggiore compattezza, presenza di fluido chiaro e petecchie.

A livello istologico si evidenziava perdita delle striature, internalizzazione dei nuclei, degenerazione vacuolare, necrosi delle fibre, presenza di linfociti e macrofagi, fibre di diverse dimensioni (degenerazione e rigenerazione), lipidosi e fibrosi. Le lesioni principali sono state osservate nel muscolo *Pectoralis major* e si presentavano più gravi negli animali affetti da *wooden breast*, similmente a quanto riportato da Kuttapan e coll. (2013b). Infatti nei campioni affetti da *wooden breast*, rispetto a quelli affetti solo da *white striping*, è stato osservato anche un maggior grado di fibrosi.

Per quanto riguarda la valutazione della densità capillare, nel presente esperimento, è stata osservata una riduzione del numero di vasi di piccole dimensioni in relazione all'età e contemporaneamente è stato osservato un aumento dell'incidenza di lesioni degenerative e necrotiche. L'aumento del numero di vasi di grandi dimensioni riscontrato nell'ultima macellazione, insieme alla diminuzione dei piccoli, che costituiscono la categoria predominante, potrebbe avvalorare l'ipotesi che le miopatie inibiscono la nuova vascolarizzazione mentre parte dei vasi già presenti aumentano le loro dimensioni con l'età e quindi con l'aumentare delle dimensioni degli animali. Questa ipotesi trova supporto nell'aumento del numero dei vasi grandi riscontrato nei maschi che, si è visto presentano un incremento ponderale maggiore rispetto alle femmine. In linea con queste osservazioni, anche altri studi riportano una tendenza alla diminuzione del numero di vasi in relazione all'aumento della resa percentuale in petto con conseguenti danni osservabili sul piano istologico dovuti al calo

dell'apporto di ossigeno ai muscoli in caso di ipertrofia muscolare (Hoving-Bolink e coll., 2000). Joiner e coll. (2014) hanno osservato che in caso di ipertrofia da reclutamento di cellule muscolari satellite, il diametro della miofibra aumenta e il supporto capillare viene a spostarsi alla periferia, limitando quindi l'apporto di ossigeno e nutrienti e provocando delle micro ischemie locali. Ciò è risultato evidente soprattutto nei broiler selezionati per un'alta resa in petto e sottoposti a situazioni di stress (esposizione a temperature elevate).

Rispetto all'età, Joiner e coll. (2014) hanno osservato che il diametro delle miofibre tende ad aumentare, mentre il numero assoluto di capillari visibili in cinque campi microscopici a 400X tende a diminuire, a causa dello spostamento alla periferia del supporto vascolare, soprattutto negli animali selezionati per un accrescimento più rapido. Oltre alla diminuita capillarizzazione, sono stati descritti diversi quadri di degenerazione muscolare, come perdita delle striature, vacuolizzazione e picnosi nucleare. Queste situazioni risultano maggiormente presenti nel gruppo di animali sottoposto a temperature ambientali più elevate (30-35°C).

È stato osservato inoltre che i broiler maggiormente predisposti ad ascite (Hoving-Bolink e coll., 2000), presentano un minor numero di capillari per fibra muscolare. Questa condizione ha delle influenze negative anche sulla qualità della carne, infatti, oltre ad esserci meno ossigeno disponibile per la crescita e il normale funzionamento dei muscoli, anche i metaboliti, come il lattato, vengono rimossi più lentamente, quindi il valore del pH nelle carni alla macellazione cala più rapidamente con conseguente aumento di pallore e di valori di CRI. I muscoli pettorali costituiscono circa il 25% del peso vivo del pollo, pertanto, se la vascolarizzazione risulta compromessa, viene meno anche la resa economica per il conseguente deprezzamento delle carni fresche (Joiner e coll., 2014).

La qualità della carne dipende dalle caratteristiche delle fibre muscolari (Berri e coll., 2005; Joo e coll., 2013), e in caso di *wooden breast* o *white striping*, ci si aspetta delle conseguenze anche sulle caratteristiche sensoriali e tecnologiche della carne (Mudalal e coll., 2014; Mazzoni e coll., 2015), come una ridotta capacità nel trattenere e assorbire liquidi durante le lavorazioni (Petracci e coll., 2013a), oltre che sull'aspetto (Kuttapan e coll., 2012a; Petracci e coll., 2014). Inoltre dallo studio di Petracci e coll. (2013b) si evidenzia come la presenza di degenerazioni muscolari sia anche associata a uno scadimento qualitativo, in particolare per quanto riguarda il contenuto proteico. Nello studio svolto da Mazzoni (2015) si evidenzia come soggetti gravemente affetti da degenerazione muscolare presentino maggiori perdite alla cottura, maggiore presenza di acqua rispetto al contenuto proteico (contenuto in proteine 21,1 vs. 22,6 %, $P < 0,001$), maggior contenuto in lipidi (2,94 vs. 2,36; $P < 0,05$) e una diminuzione del contenuto di ceneri.

A livello istologico infatti, si osserva un aumento di adipociti a livello di perimisio, il che spiega un

aumento del contenuto di lipidi intramuscolari, e un danno alle membrane muscolari a causa dei fenomeni degenerativi, che giustificherebbe la perdita di minerali. La riduzione del contenuto in proteine e l'aumento di acqua è dovuto alla parziale atrofia muscolare e all'aumento del tessuto connettivo. Anche Kuttapan e coll. (2012a) hanno riportato che i filetti gravemente affetti da *white striping* presentano un maggiore contenuto in grassi e un minore contenuto proteico, mentre Mudalal e coll. (2014) hanno riportato un aumento del contenuto in collagene e una riduzione del contenuto totale di proteine miofibrillari e sarcoplasmatiche nei broiler gravemente affetti.

Queste modifiche nella composizione della carne hanno ripercussioni anche sulle proprietà tecnologiche, oltre che alcuni effetti su pH e colore (Kuttapan e coll. 2012a; Petracci e coll., 2013a, Trocino e coll., 2015), soprattutto per quanto riguarda l'abilità di trattenere i propri liquidi durante la cottura, assorbire la soluzione di marinatura e trattenerla nelle fasi successive. Queste alterazioni possono essere ricondotte ai cambiamenti microstrutturali descritti precedentemente, in particolare al calo del contenuto proteico; le proteine miofibrillari infatti sono la componente più importante in grado di influenzare la capacità di trattenere l'acqua (Xiong, 2004).

Conclusioni

La maggior parte petti di pollo commercializzati provenienti da allevamenti intensivi presentano ad oggi miopatie da lievi a gravi, confermate da analisi istologiche e immunoistochimiche, che si ripercuotono sulla composizione chimica della carne e ne compromettono la capacità di trattenere e legare l'acqua e quindi le successive lavorazioni.

Queste alterazioni possono essere riconducibili a una base genetica, ovvero alla spinta selettiva attuata allo scopo di migliorare le *performance* di crescita e la resa alla macellazione, ma è importante considerare anche le attuali condizioni di allevamento.

La muscolatura degli ibridi commerciali risulta quindi affetta da lesioni di tipo degenerativo-necrotico con pattern istologici riconducibili a stati di infiammazione cronica ad eziologia non ancora ben definita.

I risultati ottenuti dal presente esperimento confermano quanto riportato in letteratura scientifica riportando come soprattutto il sistema di alimentazione sia uno dei fattori in grado di modificare la velocità di crescita e influenzare la prevalenza di *white striping*.

Avere più informazioni riguardo le tempistiche e il meccanismo che comporta la comparsa di miopatie permetterebbe di tenere sotto controllo i fattori produttivi con l'obiettivo di ridurre la presenza e il grado di anomalie. Questo studio sperimentale ha infatti voluto indagare la comparsa di tali anomalie a differenti stadi, potendo evidenziare che già in animali di 21 giorni, soprattutto in quelli alimentati *ad libitum*, la patologia cominciava a manifestarsi per poi aggravarsi con l'età, facendo di quest'ultima un fattore predisponente per quanto riguarda la comparsa delle degenerazioni muscolari.

Il genotipo non risulta essere un fattore particolarmente influenzante la prevalenza di miopatie, ciò può essere spiegato in quanto i moderni ibridi presentano *performance* di crescita molto simili e pertanto risulta necessario rivolgere maggiori attenzioni a fattori ambientali quali management e alimentazione.

In conclusione, miopatie quali il *white striping* risultano ampiamente diffuse nel settore avicolo a livello mondiale e interessano ad oggi la maggior parte degli ibridi commercializzati. I quadri infiammatori osservati sono stati classificati come di natura necrotico-degenerativa e sono stati ipotizzati alcuni fattori sottostanti quali una minore densità capillare, squilibri di crescita tra tessuto muscolare e tessuto connettivo di sostegno, anomalie nella regolazione del diametro delle fibre. Ulteriori studi sono necessari per verificare le cause sottostanti, i meccanismi e la natura della degenerazione, le cause genetiche sottostanti e la loro interazione con i fattori ambientali.

Fonti bibliografiche

AVEC <http://www.avec-poultry.eu/annual-reports-overview/annual-report-2014> (accesso agosto 2015)

AVIAGEN www.aviagen.com (ultimo accesso dicembre 2015)

BANCROFT, J. D., and A. Stevens. 1975. Histopathological stains and their diagnostic uses. 4th ed. Churchill & Livingstone Press, Edinburgh, London, New York.

BARBUT S. 1998. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. Journal of Muscle Foods, 9, 35-49.

BARBUT S. 2002. Meat color and flavor, Poultry products processing. An industry guide. CRC Press, New York, 429-463

BAEZA E., C. Arnould, M. Jlali, P. Chartrin, V. Gigaud, F. Mercierand, C. Durand, K. Méteau, E. Le Bihan-Duval, and C. Berri. 2012. Influence of increasing slaughter age of chickens on meat quality, welfare, and technical and economic results, J. Anim. Sci. 2012.90:200362013

BAILEY A. R., K. A. Watson, S. F. Bilgili, S. Avendano. 2015. The genetic basis of pectoralis major myopathies in modern broiler chicken lines. Poultry Science 94:287062879

BAUERMEISTER, L. J., A. U. Morey, E. T. Moran, M. Singh, C. M. Owens, and S. R. McKee. 2009. Occurrence of white striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. Poult. Sci. 88 (Suppl. 1): 33 (Abstr.)

BESSEI W. 2006. Welfare of broilers: a review. World's Poultry Science Journal, 62(3): 455-466

BOSCOLO C., 2013-2014, Effetto di tipo genetico, sesso e sistema di alimentazione su prestazioni produttive e qualità della carne nel broiler. Relatore Trocino A., Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, corso di laurea in Scienze e Tecnologie Animali, Università degli Studi di Padova, Legnaro

BUTZEN, F. M., A. M. L. Ribeiro, M. M. Vieira, A. M. Kessler, J. C. Dadalt, and M. P. Della. 2013. Early feed restriction in broilers. I-Performance, body fraction weights, and meat quality. J. Appl. Poult. Res. 22:2516259.

CAVANI,C.,M.Petracci,A.Trocino,andG.Xiccato.2009.Advances In research on poultry and rabbit meat quality.Ital.J.Anim.Sci. 8:7416750.

CDC www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/ (accesso agosto 2015)

CEROLINI S., Cavalchini L. G. 1998. Appendice 5 Avicoltura. In. Rognoni G., Caroli A., Bagnato A., Gandini G., Evoluzione del patrimonio zootecnico italiano nel corso del XX secolo. Annali Accademia Nazionale di Agricoltura, anno accademico 191^o-V serie, pp 258-265

CHEEMA, M., M. Qureshi, and G. Havenstein. 2003. A comparison of the immuno response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science 82: 1519-1529

CHURCH and Wood. 1991. The manual of manufacturing meat quality, Elsevier applied science, (3/161, 2941)

COBB-VANTRESS www.cobb-vantress.com (accesso agosto 2015)

DALLE ZOTTE A., Tasoniero G., Russo E., Longoni C., Cecchinato M. 2015. Impact of coccidiosis control program and feeding plan on white striping prevalence and severity degree on broiler breast fillets evaluated at three growing ages, Poultry Science 00: 1-10

DUCLOS M. J., Berri C., Le Bihan-Duval E. 2007. Muscle growth and meat quality. Journal applied Poultry Research 16: 107-112

ESTEVEZ M. 2015. Oxidative damage to poultry: from farm to fork, Poultry science 94: 1368-1378

EUR-LEX eur-lex.europa.eu (accesso agosto 2015)

FAO <http://faostat3.fao.org/download/Q/QA/E> (accesso agosto 2015)

FONTANA E. A., W. D. Weaver, JR., B. A. Watkins, D. M. Denbow. 1992. Effect of Early Feed Restriction on Growth, Feed Conversion, and Mortality in Broiler Chickens. Poultry Science 71:1296-1305

FOSCHI F., seminario õispezione e controllo delle carni avicoleö, scuola di specializzazione in ispezione degli alimenti, università di Padova, gruppo Amadori

GORDON S. H. 1997. Effect of light programmes on broiler mortality with reference to ascites. *World's Poultry Science Journal*, 53 (1): 68-70

HAVENSTEIN G. B., FERKET P. R., QURESHI M. A. 2003. Growth, livability and feed conversion on 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science* 82:1500-1508

HAVENSTEIN, G. B., P. R. Ferket, S. E. Scheideler, and D. V. Rives. 1994b. Carcass composition and yield of 1991 vs 1957 broilers when fed typical 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Science* 73: 1795-1804

HOVING-BOLINK, A. H., R. W. Kranen, R. E. Klont, C. L. M. Gerritsen, and K. H. de Greef. 2000. Fibre area and capillary supply in broiler breast muscle in relation to productivity and ascites. *Meat Sci.* 56:397-402.

JOINER, K. S., A. C. G. A. Hamlin, A. R. J. Lien, and S. F. B. Bilgili. 2014. Evaluation of Capillary and Myofiber Density in the Pectoralis Major Muscles of Rapidly Growing, High-Yield Broiler Chickens During Increased Heat Stress. *Avian Dis.* 58: 377-382. doi.org/10.1188/00141801130000000000 of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Sci.* 95: 828-836

JOO, S. T., G. D. Kim, Y. H. Hwang, and C. Ryu. 2013. *Contr*

INRAN nut.entecra.it/646/tabelle_di_composizione_degli_alimenti.html (accesso agosto 2015)

IRER 1985, L'integrazione verticale per contratto nel sistema agroalimentare. *Economia regionale-agricoltura, istituto regionale di ricerca della Lombardia.* pp 63-115

KIJOWSKI J. 2009. Konstanczak M., Deep pectoral myopathy in broiler chickens, *Bull Vet Inst Pulawy* 53, 487-491

KRANEN, R. W., E. Lambooy, C. H. Veerkamp, T. H. Kuppevelt, and J. H. Veerkamp. 2000. Histological characterization of hemorrhages in muscle of broiler chickens. *Poult. Sci* 79: 110-116

KUTTAPAN V. A. Goodgame S. D., Bradley C. D., Mauromoustakos A., Hargis B. M., Waldroup P. W. And Owens C. M. 2012. Effect of different levels of dietary vitamin E on the

occurrence of various degrees of white striping on broiler breast fillets, *Poultry Science*, 91:3230-3235

KUTTAPPAN, V. A., V. B. Brewer, J. K. Apple, P. W. Waldroup, and C. M. Owens. 2012a. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 91: 267762685.

KUTTAPPAN, V. A., Y. S. Lee, G. F. Erf, J. C. Meullenet, S. R. Mc- 585 Kee, and C. M. Owens. 2012b. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poult. Sci.* 91:124061247.

KUTTAPPAN, V. A., H. Shivaprasad, D. P. Shaw, B. A. Valentine, B. M. Hargis, F. D. Clark, S. R. McKee, and C. M. Owens. 2013b. Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles. *Poult. Sci.* 92:3316338.

KUTTAPPAN, V. A., V. B. Brewer, A. Mauromoustakos, S. R. McKee, J. L. Emmert, J. F. Meullenet, and C. M. Owens. 2013a. Estimation of factors associated with the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poult. Sci.* 92:8116819.

LESKANICK C. O., Noble R. C. 1997. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World's poultry science journal*, 53: 155-183

LILBURN, M. S. 1994. Skeletal growth of commercial poultry species. *Poultry Science* 73: 897-903

LORENZI, M., S. Mudalal, C. Cavani, and M. Petracci. 2014. Incidence of white striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy. *J. Appl. Poult. Res.* 23:7546758.

MAZZONI, M., M. Petracci, A. Meluzzi, C. Cavani, P. Clavenzani, and F. Sirri. 2015. Relationship between pectoralis major muscle histology and quality traits of chicken meat. *Poult. Sci.* 94:1236130.

MUDALAL, S., M. Lorenzi, F. Soglia, C. Cavani, and M. Petracci. 2014. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. *Animal* 9:7286734.

MARELLI S. 2008. Avicoltura, genetica e selezione. In: I Romboli, M. Marzoni, Fecia di Cossato, A. Schiavone, L. Zaniboni, S. Cerolini (eds.) Avicoltura e Conigliicoltura. Le point Veterinaire Italie, Milano, Italy. pp. 25-37

OLKOWSKI, A. A. 2007. Pathophysiology of heart failure in broiler chickens: structural, biochemical and molecular characteristics. Poultry Science 86:999-1005

OUALI A., Talmant A., (1990) Calpains and calpastatin distribution bovine, porcine and ovine skeletal muscles. Meat Science 28: 331-348

PETRACCI M. 2004. Bianchi M., Betti M., Cavani C., colour variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy, Poultry science, 83: 2086-2092

PETRACCI, M., and E. Baeza. 2011. Harmonization of methodologies for the assessment of poultry meat quality features. *Worlds Poult. Sci. J.* 67:137-151.

PETRACCI M., Mudalal S., Bonfiglio A., Cavani C. 2013a. Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens, Poultry science, 92: 1670-1675

PETRACCI, M., F. Sirri, M. Mazzoni, and A. Meluzzi. 2013b. Comparison of breast muscle traits and meat quality characteristics in 2 commercial chicken hybrids. *Poult. Sci.* 92:2438-2447.

PETRACCI, M., S. Mudalal, and C. Cavani. 2014. Meat quality in fastgrowing broiler chickens. Proc. XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Norway, 221-233.

POULTRYSITE www.thepoultrysite.com (accesso agosto 2015)

PONTE, P. I. P., J. a M. Prates, J. P. Crespo, D. G. Crespo, J. L. Mourão, S. P. Alves, R. J. B. Bessa, M. a Chaveiro-Soares, L. T. Gama, L. M. a Ferreira, and C. M. G. a Fontes. 2008. Restricting the intake of a cereal-based feed in free-range-pastured poultry: effects on performance and meat quality. *Poult. Sci.* 87: 2032-2042

RATH, N. C., G. R. Huff, W. E. Huff and J. M. Balog. 2000. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. Poultry Science 79: 1024-1032

SAHRAEI, M. 2012. Feed restriction in broiler chickens production: a review. *Glob. Vet.* 8:449-458.

SAS Institute. 2009. The SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Inst. Inc., Cary, NC

SCHEELE, C. W. 1997. Pathological changes in metabolism of poultry related to increasing production levels. *Vet. Q.* 19: 127-130

SHERWOOD, D. H. 1977. Modern broiler feeds and strains: what two decades of improvement have done. *Feedstuffs* 49:70

SIHVO, H. K., K. Immonen, and E. Puolanne. 2014. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Vet. Pathol.* 51:619-623.

SIRRI F., Minelli G., Folegatti E., Lolli S., Meluzzi A. 2007. Foot dermatitis and productive traits in broiler chickens kept with different stocking densities, litter types and light regimen. *Italian Journal of Animal Science*, 6: 734-736

SOGLIA F., S. Mudalal, E. Babini, M. Di Nunzio, Mazzoni M, F. Sirri, C. Cavani, M. Petracci. 2015. Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality. *Poultry Science* 00:1-9

SWATLAND, H. J. 1990. A fibre-optic probe for muscle composition in poultry. *Food. Sci. Technol. J.* 23:239-241

TROCINO A., A. Piccirillo, M. Birolo, G. Radaelli, D. Bertotto, I. Filiou, M. Petracci, and G. Xiccato. 2015. Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens. *Poultry Science* 00:169

VALCESCHINI E., 2006. Poultry meat trends and consumer attitudes. *World's Poultry Science Journal*, 62, supplement:81-82 abstract

UNAITALIA www.unaitalia.com (accesso agosto 2015)

UNAVICOLTURA www.unavicoltura.it (accesso agosto 2015)

URDANETA-RINCON, M., and S. Leeson. 2002. Quantitative and qualitative feed restriction on growth characteristics of male broiler chickens. *Poult. Sci.* 81:679-688.

USDA www.fas.usda.gov (accesso agosto 2015)

VENETO AGRICOLTURA www.venetoagricoltura.org (accesso agosto 2015)

VAN LAACK R. L. J. M., Liu C. H., Smith M. O., Loveday H. D. 2000. Characteristics of Pale, Soft, Exudative broiler breast meat. *Poultry Science*, 79, 1057-1061

VELLEMAN, S. G., K. E. Nestor, C. S. Coy, I. Harford, and N. B. Anthony. 2010. Effect of posthatch feed restriction on broiler breast muscle development and muscle transcriptional regulatory factor gene and heparan sulfate proteoglycan expression. *Int. J. Poult. Sci.* 9:4176425.

WARRISS P. D., Wilkins L. J., Knowles T. G. 1999. The influence of ante-mortem handling on poultry meat quality, 217-230. In: *Poultry Meat Science*. Ed. Richardson R.I. & Mead G. C., CABI Pub., UK.

WATTAGNET www.wattagnet.com(ultimo accesso gennaio 2016)

WOELFEL R. L., Owens C. M., Hirschler E. M., Martinez-Dawson R., Sams A. R. 2002. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. *Poultry Science*, 81, 579-584.

XIONG, Y. L. 2004. Protein functionality. Pages 218-225 in *Encyclopedia of Meat Sciences*. W. K. Jensen, ed. Elsevier, Oxford, UK

ZANIBONI L., Cerolini S. 2008. Avicoltura, Qualità, valore nutritivo e commercializzazione della carne avicola In: I Romboli, M. Marzoni Fecia di Cossato, A. Schiavone, L. Zaniboni, S. Cerolini (eds.) *Avicoltura e conigliicoltura*. Le Point Veterinaire Italie, Milano, Italy, pp. 356-367.

ZHAN, X. A., M. Wang, H. Ren, R. Q. Zhao, J. X. Li, and Z. L. Tan. 2007. Effect of early feed restriction on metabolic programming and compensatory growth in broiler chickens. *Poult.Sci.*86: 654660

ZUIDHOF M.J., Schneider B. L., Carney V. L., Korver D.R., Robinson F. E. 2014. Growth, efficiency, and yield of commercial broilers from 1957, 1978, and 2005. *Poultry Science* 93 :29706
2982

Ringraziamenti

Come conclusione di questo percorso universitario, desidero ringraziare il Prof. Radaelli, per avermi proposto l'argomento di questa tesi, la Prof.ssa Trocino e la Dott.ssa Bertotto per i loro suggerimenti e correzioni, Michele e Carlo per avermi aiutata nella parte relativa al laboratorio e con la statistica. Ringrazio tutti in particolare per la vostra pazienza e attenzione.

Voglio ringraziare inoltre chi mi ha permesso di iniziare, proseguire e arrivare al termine di questi studi, ovvero i miei famigliari, in particolare mamma, papà, nonna Antonietta, nonna Bertina e zia Angela.

Ringrazio poi chi mi ha dimostrato sempre sostegno morale e mi ha aiutato nei momenti difficili: Leonardo, zia Simona, Annalia, Cinzia e Gabriele in particolare, ma in generale tutte le persone che mi hanno augurato, lungo questi cinque anni, un'buona fortuna e un'in bocca al lupo. Sapervi vicini mi ha aiutato a non mollare mai.

Ringrazio chi mi è voluto stare vicino, accettandomi e facendomi sentire amata.

Ricorderò con affetto e nostalgia la ridente cittadina di Legnaro, che resterà sempre parte di me, insieme alle coinquiline, gli amici e le compagne di corso.

Auguro a me stessa di trovare sempre persone come voi.