



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* DE MIOPATIAS EM
PEITOS DE FRANGOS DE CORTE**

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* DE MIOPATIAS EM
PEITOS DE FRANGOS DE CORTE**

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO

Zootecnista

Orientador: Prof^a. Dr^a. Claudia Marie Komiyama

Co-orientadores: Prof^a. Dr^a. Fabiana Ribeiro Caldara

Prof^a. Dr^a. Maria Fernanda Castro
Burbarelli

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal.

Dourados – MS

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C352d Castilho, Vivian Aparecida Rios De

Diagnóstico e avaliação in vivo de miopatias em peito de frangos de corte. 2020. 63p. [recurso eletrônico] / Vivian Aparecida Rios De Castilho. -- 2020.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Claudia Marie Komiyama.

Coorientadoras: Fabiana Ribeiro Caldara, Maria Fernanda Castro Burbarelli.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. biópsia muscular. 2. histomorfometria das fibras musculares. 3. termografia infravermelha. 4. ultrassonografia. 5. wooden breast. I. Komiyama, Claudia Marie. II. Caldara, Fabiana Ribeiro. III. Burbarelli, Maria Fernanda Castro. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* DE MIOPATIAS EM PEITOS DE
FRANGOS DE CORTE**

por

VIVIAN APARECIDA RIOS DE CASTILHO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Aprovada em: 27/02/2020



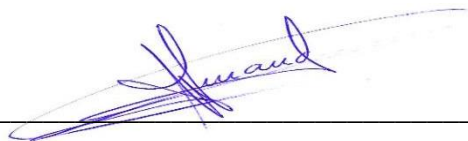
Prof^a. Dr^a. Claudia Marie Komiyama

Orientadora – UFGD/FCA



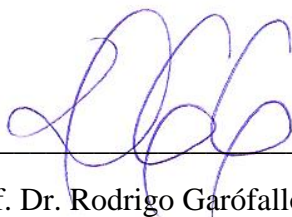
Prof^a. Dr^a. Érika Rosendo de Sena Gandra

IETU/UNIFESSPA



Prof Dr. Alexandre Rodrigo Mendes Fernandes

UFGD/FCA



Prof. Dr. Rodrigo Garófallo Garcia

UFGD/FCA

*A meus pais João e Cleide, meu irmão João Henrique e meu sobrinho Kaio,
amores da minha vida.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus que me deu o dom da vida.

À minha família, que sempre me apoiou, acreditou em mim e em meus sonhos, não medindo esforços para que tudo fosse possível, sobretudo à minha mãe, luz que ilumina meus caminhos! Amo vocês!

Ao meu para sempre namorado Roberto Heiss, por me amparar e muitas vezes me colocar à frente de suas próprias necessidades ao decorrer desse tempo.

À Deivid Kelly Barbosa por todo companheirismo, amizade, cumplicidade, madrugadas mal dormidas e de estudos. Com certeza sua companhia nesse trajeto foi de funda mental importância para manutenção da minha sanidade mental.

À minha orientadora Profa. Dra. Claudia Marie Komiyama, por todo ensinamento, paciência, aprendizado, amizade e pela atenção prestada no decorrer desse caminho, tornando-se além de uma orientadora formidável por todo seu esforço e dedicação admirável, uma amiga.

À minha co-orientadora e amiga Profa. Dra. Maria Fernanda de Castro Burbarelli pela amizade, orientação e apoio incondicional durante toda a pesquisa e trabalhos realizados. Obrigada por toda a paciência e dedicação para que o nosso trabalho fosse realizado com a mais alta qualidade.

À Profa. Dra. Fabiana Ribeiro Caldara, Prof. Dr. Rodrigo Garófallo Garcia e Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Mendes Fernandes por todo o ensinamento, colaboração na banca de qualificação e defesa, além do incentivo ao longo de toda minha graduação e pós-graduação;

Às minhas amigas e colegas, Bruna Barreto e Rita Pietramale pela amizade e pelo apoio durante toda a pós-graduação e anos de companheirismo.

Ao Núcleo de Pesquisa em Nutrição e Produção de Monogástricos, em particular ao Erique, Jacqueline, Jean Kaique, João Paulo, Wellington Santos, Letícia e Felipe Cardoso pelas reuniões de estudo e contribuição na condução dos experimentos. Sem a dedicação e compromisso de vocês não realizaríamos um experimento de qualidade.

Ao Sr. Alfredo, por ter prestado todo o manejo necessário às aves do experimento, garantindo o bem-estar das aves do início ao fim e pelas conversas e risadas divididas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida nesses dois anos.

À empresa Bello Alimentos por ter concedido os pintainhos e ração necessários para o experimento.

À UFGD e todos os professores por serem brilhantes exemplos de profissionais, pelos conhecimentos, respeito adquiridos e conquistados.

Ama-se mais o que se conquista com esforço.

Benjamin Disraeli

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract.....	2
Considerações Iniciais	3
CAPÍTULO 1	5
1 Miopatias peitorais em frangos de corte.....	6
1.1 <i>White striping</i>	7
1.2 <i>Wooden breast</i>	8
2 Etiologia	10
3 Ultrassonografia	13
4 Termografia infravermelha.....	14
5 Biópsia muscular	16
Referências	18
CAPÍTULO 2	24
Resumo	25
Introdução.....	26
Material e métodos	28
Resultados.....	37
Discussão	52
Agradecimentos	58
Referências	59
Considerações Finais	63

LISTA DE TABELAS

Tab 1. Ecogenicidade, profundidade do filé e temperatura superficial do peito de frangos de cortes em diferentes idades pelas técnicas de ultrassonografia e termografia infravermelho....	42
Tab 2. Frequência de <i>White Striping</i> e <i>Wooden breast</i> em peito de frangos de corte machos e fêmeas aos 49 dias de idade.....	43
Tab 3. Morfometria das fibras musculares de frangos de corte em diferentes idades.....	45
Tab 4. Coeficiente de Correlação entre as variáveis analisadas <i>in vivo</i> e morfometria das fibras musculares de frangos de corte fêmeas.....	52
Tab 5. Coeficiente de Correlação entre as variáveis analisadas <i>in vivo</i> e morfometria das fibras musculares de frangos de corte machos.....	54

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Fig 1.** Classificação de *White striping* no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte..... 7
- Fig 2.** Classificação de *Wooden breast* no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte..... 9
- Fig 3.** Representação sistemática das possíveis etiologias e mecanismos que levaram ao desenvolvimento das miopatias *White striping* e *Wooden breast* em frangos de corte..... 11

CAPÍTULO 2

- Fig 1.** Imagem termográfica e a distribuição da temperatura superficial do músculo peitoral dos frangos de corte..... 33
- Fig 2.** Representação do procedimento para registro de imagens de ultrassom em tempo real..... 34
- Fig 3.** Imagem de ultrassom do músculo *Pectoralis major* em frangos de corte aos 21 dias..... 35
- Fig 4.** Procedimento de biópsia no músculo *Pectoralis major* em frangos de corte..... 36
- Fig 5.** Frequência de lesões histológicas indicativas de miopatias na área de secção transversal da fibra muscular de frangos de corte..... 47
- Fig 6.** Lesões miopáticas em frangos de corte fêmeas e machos de acordo com a idade..... 49

Resumo

CASTILHO, V. A. R. **Diagnóstico e avaliação *in vivo* de miopatias em peito de frangos de corte**. 2020. 63p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inúmeras técnicas para avaliação das fibras musculares para estudo e entendimento do que é denominado *White striping* e *Wooden breast* são descritas na literatura, porém, o diagnóstico confiável dessas miopatias somente é realizado através da visualização dos filés *post mortem*. A aplicação de técnicas não destrutivas, como a ultrassonografia e termografia infravermelha, são utilizadas quando existe a necessidade de um estudo sequencial em um mesmo animal. Já a técnica de biópsia pode revelar informações imprescindíveis sobre progressão e estágio das miopatias em um mesmo animal. Deste modo, objetivou-se validar as técnicas de avaliação não invasivas, ultrassonografia e termografia infravermelha, como ferramentas de avaliação *in vivo* das miopatias *Wooden breast* e *White striping* que acometem frangos de corte utilizando a técnica de biópsia como ferramenta de apoio. Foram utilizadas 30 aves (15 machos e 15 fêmeas) da linhagem Cobb 500® e adotado o delineamento inteiramente casualizado constituído por dois sexos (machos e fêmeas) com 15 repetições por tratamento, sendo a ave considerada a repetição. Aos 14, 21, 35, 42 e 49 dias foram realizadas as mensurações da temperatura superficial do peito das aves pela técnica de termografia infravermelha e análises de profundidade do filé e ecogenicidade por imagens de ultrassom. As aves foram submetidas à técnica de biópsia aos 21, 35 e 42 dias para coleta de fragmento do músculo peitoral para as análises morfológicas descritivas das lesões histológicas e morfometria das fibras musculares. Aos 49 dias, as aves foram abatidas e realizadas as avaliações quanto aos escores macroscópicos para *Wooden breast* e *White striping* no músculo peitoral e a coleta de músculo do peito para as análises morfológicas e morfométricas. Houve interação entre sexo e idade das aves, sendo que os machos obtiveram maiores valores de ecogenicidade aos 14, 21 e 42 dias. Para a temperatura superficial observou-se interação significativa entre o sexo e a idade das aves, sendo que os machos apresentaram menores temperaturas quando comparados às fêmeas. Não foi observada influência do sexo das aves na ocorrência das miopatias *Wooden breast* e *White striping* aos 49 dias de idade e nas variáveis morfométricas das fibras musculares. Contudo, a idade influenciou em todas as variáveis morfométricas e lesões histológicas, em que é possível observar o aumento das lesões celulares de acordo com o avançar da idade das aves. Os resultados demonstram o decréscimo no valor de ecogenicidade com ponto de inflexão aos 28 dias e aumento dos valores a partir dos 35 aos 49 dias de idade das aves, além de fraca correlação negativa com a profundidade total do filé, peso vivo, diâmetro e área das fibras. Esse resultado pode ser atribuído à frequência do transdutor que pode não ter garantido penetração tecidual suficiente nas idades iniciais. Houve uma tendência geral de diminuição da temperatura superficial para ambos os sexos de acordo com o tempo, tendo forte correlação negativa com o diâmetro e área das fibras e forte correlação positiva com a área ocupada por fibras/campo e com o número de fibras com menores diâmetros. Conclui-se que a ultrassonografia com transdutor de 3,5MHz detectou alterações musculares a partir dos 28 dias de idade das aves condizentes com as lesões miopáticas estudadas. A termografia infravermelha é um método potencial e confiável e mostrou um indicativo das lesões miopáticas em machos. A técnica de biópsia pode ser utilizada como ferramenta auxiliar nos estudos das miopatias em peitos de frangos de corte.

Palavras chaves: biópsia muscular, histomorfometria das fibras musculares, termografia infravermelha, ultrassonografia, white striping, wooden breast.

Abstract

CASTILHO, V. A. R. **In vivo diagnosis and assessment of myopathies in broiler chickens.** 2020. 63 p. Dissertation (master's degree) - Faculty of Agrarian Sciences, Federal University of Grande Dourados.

Numerous techniques for evaluating muscle fibers for study and understanding of what is called White striping and Wooden breast are described in the literature, however, the reliable diagnosis of these myopathies is only accomplished through the visualization of post mortem fillets. The application of non-destructive techniques, such as ultrasound and infrared thermography, are used when there is a need for a sequential study on the same animal. The biopsy technique can reveal essential information about the progression and stage of myopathies in the same animal. The objective was to validate non-invasive assessment techniques, ultrasound and infrared thermography, as tools for in vivo assessment of Wooden breast and White striping myopathies that affect broilers using the biopsy technique as a support tool. Thirty birds (15 males and 15 females) of the Cobb 500® lineage were used and a completely randomized design consisting of two gender (males and females) with 15 repetitions per treatment was adopted, with the bird being considered the repetition. At 14, 21, 35, 42 and 49 days the measurements of the surface temperature of the birds' breast were performed using the infrared thermography technique and analysis of the fillet depth and echogenicity by ultrasound images. The birds were submitted to the biopsy technique at 21, 35 and 42 days to collect a fragment of the pectoral muscle for descriptive morphological analyzes of histological lesions and muscle fiber morphometry. At 49 days, the birds were slaughtered and an assessment was made regarding the macroscopic score for Wooden breast and White striping in the pectoral muscle and the collection of breast muscle for morphological and morphometric analyzes. There was an interaction between sex and age of the birds, and the males obtained higher echogenicity values at 14, 21 and 42 days. For surface temperature, significant interaction between sex and age of birds was observed, with males showing lower temperatures when compared to females. No influence of the sex of the birds was observed in the occurrence of myopathies Wooden breast and White striping at 49 days of age and in the morphometric variables of the muscle fibers. However, age influenced all morphometric variables and histological lesions, in which it is possible to observe the increase in cell lesions according to the advancing age of birds. The results demonstrate the decrease in echogenicity value with inflection point at 28 days and increase in values from 35 to 49 days of age of the birds, in addition to a weak negative correlation with the total fillet depth, live weight, diameter and area of the fibers. This result can be attributed to the frequency of the transducer, which may not have guaranteed sufficient tissue penetration in the early ages. There was a general trend of decreasing surface temperature for both sexes according to time, with a strong negative correlation with the diameter and area of the fibers and a strong positive correlation with the area occupied by fibers / field and with the number of fibers with smaller diameters. It was concluded that ultrasonography with a 3.5 MHz transducer detected muscle changes after 28 days of age of birds consistent with the studied myopathic lesions. Infrared thermography is a potential and reliable method and has shown an indication of myopathic lesions in males. The biopsy technique can be used as an auxiliary tool in the study of myopathies in broiler breast.

Keywords: infrared thermography, muscle fiber histomorphometry, muscle biopsy, ultrasound, white striping, wooden breast.

Considerações Iniciais

Nas duas últimas décadas, dentre os produtos de origem animal, o consumo de carne de frango teve um aumento notável devido ao seu baixo custo, facilidade de preparo (Wideman et al., 2016), adequado perfil nutricional (Petracci et al., 2015) e alegações de saúde por ser uma carne branca. Além disso, a produção e o consumo de carne de frango estão em conformidade com a maioria dos princípios religiosos e culturais existentes (Tallentire et al., 2018; Petracci et al., 2019).

Embora o desempenho das aves tenha sido notavelmente melhorado, esse progresso levou ao aumento na pressão sobre a taxa de desenvolvimento muscular e houve o aparecimento de um grupo de anormalidades relacionadas ao crescimento do músculo, conhecidas como *Wooden breast* (peito amadeirado) e *White striping* (estriação branca) que afetam em conjunto ou de forma individual o músculo peitoral maior de frangos de corte (Soglia et al., 2018; Baldi et al., 2019).

O aumento massivo na ocorrência das miopatias tem sido associado ao rápido crescimento muscular, vascularização insuficiente e estresse oxidativo que pode acarretar em degeneração tecidual (Kuttappan et al., 2012a; Soglia et al., 2016; Papah et al., 2018; Sihvo et al., 2018). Além disso, mesmo com os estudos e as pesquisas realizados nos últimos anos, a etiologia dessas anormalidades ainda permanecem obscuras (Petracci et al., 2019), existindo a necessidade de aprofundar estudos que visem identificar a causa e origem dessas miopatias que acometem frangos de corte.

Ainda que a etiologia dessas miopatias não seja considerada de causa específica, essas anormalidades são alvos de estudos que relacionam fatores ligados à genética e nutrição (Petracci et al., 2019). O momento em que as lesões começam a acometer o músculo também é considerada uma informação relevante quanto à sua etiologia. Pesquisas que tornem possível o acompanhamento da evolução dessas lesões no decorrer da vida do animal podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias e ferramentas para futuros estudos sobre o tema.

A velocidade do crescimento muscular e como o arranjo das fibras musculares se comporta durante o processo de desenvolvimento do músculo do peito pode estar relacionado à manifestação dessas lesões (Simões, 2018). Há relatos de que através do treinamento adequado pode-se realizar a inferência da presença de *Wooden breast* em frangos de corte *in vivo*, entretanto esse método é mais eficaz em elevados graus de miodegeneração (Abasht et al., 2016). Contudo, até o presente momento o diagnóstico confiável dessas miopatias só pode ser realizado através da visualização do filé do peito, ou seja, após o abate dos frangos. Compreende-se, então, a necessidade do desenvolvimento de novos protocolos, metodologias e ferramentas de diagnóstico das miopatias *in vivo* com o intuito de auxiliar as empresas de

genética avícola na seleção de aves com menor predisposição para o desenvolvimento de tais lesões.

A partir das ondas sonoras de alta frequência do equipamento de ultrassom, pressupõe-se que seja possível detectar mudanças na densidade dos feixes musculares, diferenças de ecogenicidade e identificar tecidos acometidos por essas miopatias. Já a termografia infravermelha pode ser extremamente útil nas avaliações de lesões musculares por exibir um aumento na radiação de calor sobre o tecido lesado indicando uma possível inflamação, enquanto em que as áreas hiporradiantes sugerem cicatrização tardia e baixo fluxo sanguíneo (Eddy et al., 2001; Brioschi et al., 2005). As aplicações de técnicas não invasivas são necessárias para testar animais com alto valor agregado ou quando existe a necessidade de um estudo precoce e sequencial em um mesmo animal (Bochno et al., 2015).

A técnica de biópsia foi considerada viável para analisar o desenvolvimento do músculo sem grande efeito sobre o desempenho das aves, visto que o procedimento permite a avaliação da integridade das fibras musculares, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos em tecidos acometidos por doenças e alterações no tecido muscular de frangos de corte (Quentin et al., 2003). Essa técnica pode ser utilizada como ferramenta de apoio para as tecnologias de avaliação *in vivo*.

Muitos filés são acometidos por essas degenerações e acarretam em um notável impacto negativo na qualidade do produto e, com isso, ser rejeitado pelo consumidor, consequentemente causando prejuízo econômico para a indústria. Diante desse cenário, existe o aumento no interesse da indústria e de pesquisadores em elucidar a causa dessa condição e, posteriormente, encontrar meios para evitá-la. Pressupõe-se que o desenvolvimento de novas ferramentas para o diagnóstico *in vivo* torna-se uma vertente que possibilita a identificação das miopatias em estágios iniciais e sua evolução, além de contribuir com futuros estudos sobre o desenvolvimento dessas miopatias e auxiliar na seleção de características desejáveis para a produção comercial.

A presente dissertação encontra-se dividida em dois capítulos, sendo o Capítulo 1 uma revisão de literatura que teve por objetivo compilar informações a respeito das características macroscópicas e microscópicas e possíveis causas das miopatias *White striping* e *Wooden breast*, e sobre as técnicas utilizadas para possível diagnóstico. O Capítulo 2, intitulado “Diagnóstico e avaliação *in vivo* de miopatias em peitos de frangos de corte” teve como objetivo validar as técnicas de avaliação não invasivas, ultrassonografia e termografia infravermelha, como ferramentas de avaliação *in vivo* das miopatias que acometem frangos de corte utilizando a técnica de biópsia como ferramenta de apoio. Ambos os capítulos foram redigidos de acordo com as normas da Revista Plos One (*online*).

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

1 Miopatias peitorais em frangos de corte

Assim como em outras espécies, as aves são afetadas por diferentes tipos de miopatias que podem variar tanto em sua prevalência quanto na importância clínica e econômica, sendo definida como qualquer alteração das fibras musculares, ou seja, sem o envolvimento de nervos periféricos (Sihvo, 2019).

Recentemente, estudos evidenciaram que a seleção genética em frangos de corte para o rápido crescimento resultou em hipertrofia muscular alterando suas características estruturais, funcionais e metabólicas (Velleman & Clark, 2015; Petracci et al., 2015). De fato, se comparadas às fibras musculares antes da seleção genética, o tecido muscular de aves com rápido crescimento exibe maior diâmetro e maior taxa de degradação muscular (Velleman & Clark, 2015). Desse modo, os aumentos notáveis no tamanho do músculo e na taxa de crescimento ocasionaram o surgimento de várias miopatias musculares (Petracci et al., 2015; Kuttappan et al., 2016).

Há alguns anos, a seleção genética para o crescimento muscular foi associada à miopatia peitoral profunda, distrofia muscular, fraqueza e edema nas pernas em perus e frangos de corte (Lien et al., 2012). Atualmente, o rápido crescimento e o alto rendimento de peito das linhagens comerciais híbridas mais conhecidas, têm sido associados à ocorrência de outras miopatias que afetam o músculo peitoral maior (*Pectoralis major*), como por exemplo, peito amadeirado (*Wooden breast*) e estriação branca (*White striping*) (Kuttappan et al., 2009; Sihvo et al., 2014).

De acordo com Petracci et al. (2015) e Kuttappan et al. (2016), tanto os casos de *Wooden breast* como os de *White striping* exibem lesões histológicas análogas, inclusive a miodegeneração, a fibrose e a lipídose, e ocorrem frequentemente em conjunto em um mesmo filé. Do mesmo modo, foi observado que *White striping* também está associada com a anormalidade *Spaghetti meat* que exibe uma alteração na integridade estrutural na superfície do músculo *Pectoralis major* (Bilgili, 2015; Sirri et al., 2016). Diante disso, supõe-se que um determinado mecanismo em comum pode ocasionar diversas miopatias.

O alto desenvolvimento do músculo do peito obtido através da hipertrofia das fibras, provavelmente resultou na redução do espaço que normalmente seria ocupado por tecido esquelético e vasos sanguíneos, acarretando em um limitado suprimento sanguíneo para o músculo e, conseqüentemente, a um estado de hipóxia grave (Boerboom et al., 2018) e danos celulares (Velleman, 2015). Boerboom et al. (2018) sugeriram que a hipóxia poderia ser considerada como o evento desencadeante de alterações musculares em frangos de corte.

1.1 *White striping*

A estriação branca, como também é conhecida, foi descrita a primeira vez em 2009 e caracteriza-se pela ocorrência de faixas brancas com alguns milímetros de largura que ocorrem paralelamente às fibras musculares, principalmente no músculo do peito, coxas e sobrecoxas de frangos de corte (Kuttappan et al., 2012a; Petracci et al., 2015; Kuttappan et al., 2016).

As características dessa condição são descritas em inúmeros estudos, dentre esses, alguns sugerem que a miopatia *White striping* é composta por tecido adiposo devido ao alto teor de gordura observado tanto na análise histológica quanto nas avaliações de composição química dos músculos acometidos (Kuttappan et al., 2013; Papah et al., 2017; Baldi et al., 2018).

A estriação pode ser facilmente identificada na superfície dos filés de peito de frango cru, com isso pode afetar a aparência visual do produto que possui alto valor agregado. Estudos observaram que essa anomalia está associada a aves mais pesadas (Kuttappan et al., 2009) e estimaram a ocorrência em diferentes tipos de linhagens indicando diferentes graus de severidade (Kuttappan et al., 2016). O estabelecimento dos graus de *White striping* (Figura 1) consiste na análise visual do filé do peito em que se considera grau zero ou normal, o filé que não apresenta nenhuma estriação; grau 1 ou moderado, que possuam estrias finas, geralmente com menos de 1 mm de espessura, mas aparentemente visíveis na superfície do filé; grau 2 ou grave, estrias largas com espessura entre 1 a 2 mm, muito visíveis na superfície do filé; grau 3 ou extremo, estrias grossas maiores que 2 mm de espessura, cobrindo quase toda a superfície do filé.

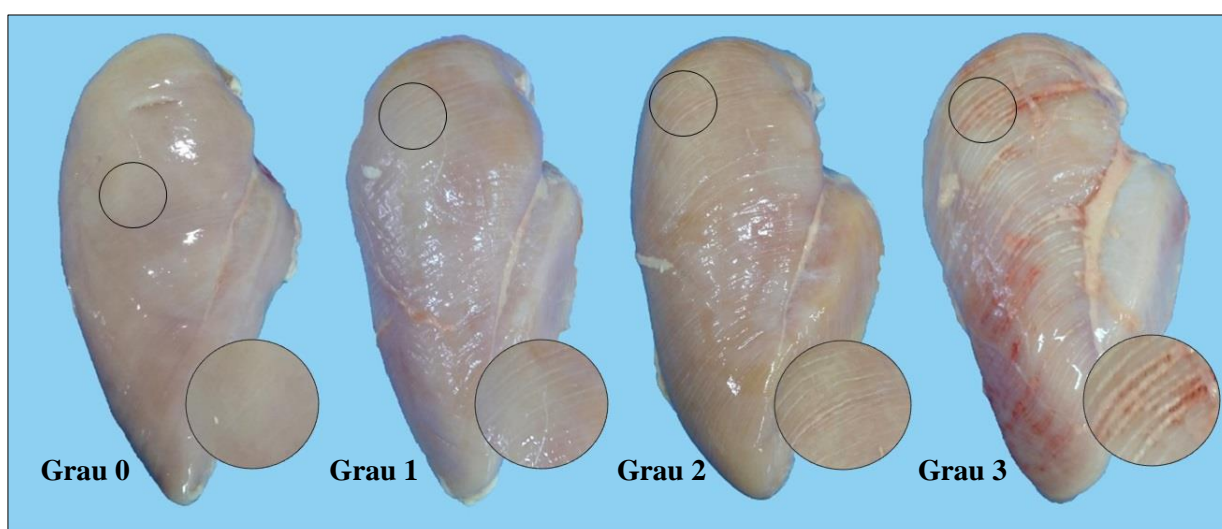


Fig 1. Classificação de *White striping* no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte.

Fonte: Arquivo pessoal.

Estudos realizados por Soglia et al. (2016) e Radaelli et al. (2017) não observaram diferenças histológicas entre *Wooden breast* e *White striping*. Contudo, pesquisas demonstram que a estriação tem seu início aos 16 dias de idade da ave e o peito amadeirado inicia-se aos 23 dias, com a apresentação de casos mais severos aos 30 dias de idade (Griffin et al., 2017). Além disso, Abasht et al. (2016) verificaram que amostras classificadas macroscopicamente como não afetadas possuíam perfil de expressão gênica para essas anormalidades, demonstrando que podem haver casos de falsos negativos na classificação visual dessas miopatias.

Essa alteração muscular afeta diretamente a qualidade da carne (Petracci et al., 2013; 2014) de maneira em que os filés acometidos por graus mais severos quando comparados com filés normais exibem menor conteúdo proteico, maiores porcentagem de gordura, proporção de colágeno, valor de pH e perdas por cozimento. Outro fator importante é o impacto negativo na aceitabilidade dos consumidores em relação a *White striping*. Estudos indicam que qualquer condição que afete as características sensoriais e visuais do produto pode influenciar negativamente na decisão de compra, prejudicando a demanda e, conseqüentemente, causando perdas econômicas significativas para o setor (Kuttappan et al., 2012b).

1.2 *Wooden breast*

A condição da miodegeneração *Wooden breast*, também conhecida como peito amadeirado, é uma anomalia emergente em frangos de corte que foi descrita pela primeira vez por Sihvo et al. (2014). Caracterizada macroscopicamente pelo aparecimento de áreas pálidas e endurecidas, bem como a presença de líquido viscoso ao longo da porção ventral do músculo *Pectoralis major* (Kuttappan et al. 2016). A lesão pode afetar completamente o músculo peitoral maior de forma difusa ou apenas em uma área focal, permanecendo envolta por tecido muscular normal.

A *Wooden breast* quando focal ocorre na parte cranial e/ou na parte caudal do músculo, enquanto a difusa estende-se através de todo o comprimento do músculo e encontra-se tanto no músculo peitoral direito quanto no esquerdo, simultaneamente (Sihvo, 2019). Em casos mais severos, os filés podem apresentar protuberâncias na extremidade caudal além de pequenas lesões e/ou petéquias hemorrágicas (Brot et al., 2016). Ao mesmo tempo, essas anomalias são frequentemente associadas ao aparecimento de estrias brancas (Soglia et al., 2017), além do músculo acometido apresentar maior peso e profundidade (Kuttappan et al., 2016).

As lesões de *Wooden breast* afetam tipicamente o músculo peitoral maior sem o envolvimento de outros músculos esqueléticos, músculo cardíaco ou liso (Papah et al., 2017).

No entanto, ocasionalmente, outros músculos podem ser envolvidos, como foi encontrado em um estudo realizado por Sihvo (2019), em que as aves acometidas exibiram lesões macroscópicas e histológicas semelhantes ao peito amadeirado no músculo *bíceps femoral*, localizado na sobrecoxa. A lesão focal encontrada foi descrita como ligeiramente pálida, pouco demarcada e de consistência ligeiramente endurecida, exibindo lesão difusa no músculo do peito. Alterações muito semelhantes também foram relatadas no músculo anterior *Latissimus dorsi* localizado na porção cranial do dorso em frangos de corte (Zimmermann et al., 2012).

A condição de *Wooden breast* nos filés de peito pode ser identificada após o abate das aves através da palpação manual (Tijare et al., 2016) e o grau de severidade (Figura 2) classificado conforme descrito por Sihvo et al. (2017). Consideram-se grau 0 ou normal, o filé que apresenta cor e consistência normais; grau 1 ou moderado, onde a consistência do filé apresenta-se endurecida e a coloração pálida na área cranial do filé; e, grau 2 ou severo, em que o músculo apresenta-se severamente endurecido e pálido com estrias brancas ao longo da superfície.

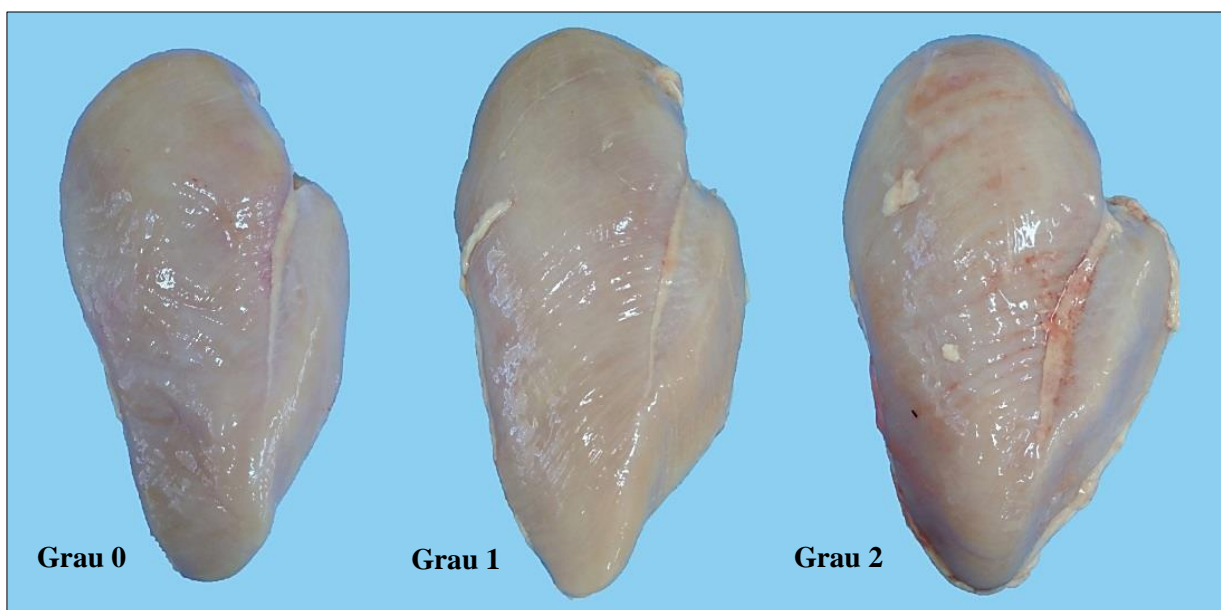


Fig 2. Classificação de *Wooden breast* no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte.

Fonte: Arquivo pessoal

A estrutura morfológica do músculo afetado exibe lesões histológicas graves, incluindo extensa necrose das fibras musculares existentes, acúmulo de células inflamatórias como os heterófilos e macrófagos ao redor da fibra em degeneração, e por fim, fibrose (Sihvo et al., 2014). Com a fibrose, o músculo esquelético é substituído por tecido conjuntivo e o colágeno é extensivamente reticulado, desta forma o tecido perde sua fluidez e torna-se mais rígido

(Velleman & Clark, 2015). Porém, essa consistência endurecida pode ocorrer mesmo sem o aparecimento de fibrose excessiva (Sihvo et al., 2017). Além disso, ocorre a degeneração e regeneração das fibras musculares, porém, como demonstrado por Velleman & Clark (2015), apesar da ativação dos mecanismos de reparo do músculo, a regeneração resulta em fibras que são significativamente menores em diâmetro do que as fibras não afetadas por essa condição, ou seja, a regeneração não resulta em uma fibra muscular morfológicamente semelhante.

Autores revelaram que músculos acometidos por *Wooden breast* possuem aspectos qualitativos inferiores quando comparados com filés normais, impactando negativamente na indústria avícola (Mudalal et al., 2015; Chatterje et al., 2016). Os filés com a miopatia *Wooden breast* apresentam maiores valores de pH quando comparados com filés normais. A esse respeito, um estudo mostrou claramente a presença de degeneração histológica maciça das fibras e conseqüentemente a redução do conteúdo de glicogênio ou alteração do início da acidificação durante o período *postmortem*, ocasionando esse aumento no pH final (Mudalal et al., 2015; Sihvo et al., 2014). Os filés acometidos por essas miopatias apresentam também maiores teores de L* (luminosidade), a* (teor de vermelho) e b* (teor de amarelo) sendo justificadas justamente pelos diferentes valores finais de pH. Além disso, apresentam maiores perdas por cozimento, e menor capacidade de absorção da solução de marinação. A alteração dessas propriedades pode ser devido às mudanças que ocorrem no tecido muscular após o processo de Miodegeneração (Mudalal et al., 2015).

Sihvo et al. (2014) relataram que a qualidade dos filés de peito de frango pode ser reduzida devido ao aparecimento de *Wooden breast*. Uma vez que a qualidade da carne é um fator crucial para a escolha de determinado produto, quaisquer mudanças que alterem suas características químicas, físicas e tecnológicas podem interferir no momento da compra, levando a rejeição pelo consumidor final (Kuttappan et al., 2013).

2 Etiologia

O excelente resultado de desempenho e composição corporal das aves alcançado pelos programas de seleção genética alteraram extraordinariamente a arquitetura e o metabolismo muscular (Petracci et al., 2019). Nesse contexto, estudos realizados em frangos de corte modernos revelaram o comprometimento geral da regeneração muscular em consequência da redução no número de células satélites e de sua capacidade de proliferação e diferenciação (Daughtry et al., 2018). Além disso, existe um forte determinismo genético na condição de *White striping* ($h^2 = 0,65$) de acordo com Alnahhas et al. (2016), e apontaram que essa miopatia está altamente relacionada ao desenvolvimento do músculo peitoral maior ($r_g = +0,73$)

do que o próprio desenvolvimento do corpo ($r_g = +0,33$). De acordo com isso, a seleção genética pode ser considerada como principal fator subjacente responsável pelo aparecimento dessas anormalidades.

Entretanto, estudos realizados para quantificar a expressão gênica e identificar os genes causadores, tanto de *White striping* (Pampouille et al., 2018) quanto de *Wooden breast* (Hubert et al., 2018; Papah et al., 2018) evidenciaram uma etiologia complexa e uma herança poligênica, em que vários metabólitos e genes foram expressos diferencialmente entre músculos acometidos pelas miopatias e os músculos não afetados, contudo, não foi capaz de identificar biomarcadores capazes de diferenciar *White striping* de *Wooden breast*.

Nos últimos anos, estudos foram realizados para identificar os mecanismos e as vias metabólicas envolvidas na ocorrência dessas anormalidades musculares (Hubert et al., 2018; Sihvo et al., 2018; Papah et al., 2018), mas a etiologia e cronologia exata dos eventos desencadeantes são parcialmente entendidas (Petracci et al., 2019). Um diagrama esquemático proposto por Petracci et al. (2019) demonstra os mecanismos subjacentes que levam ao aparecimento das alterações musculares já descritas nessa revisão de literatura (Figura 3).

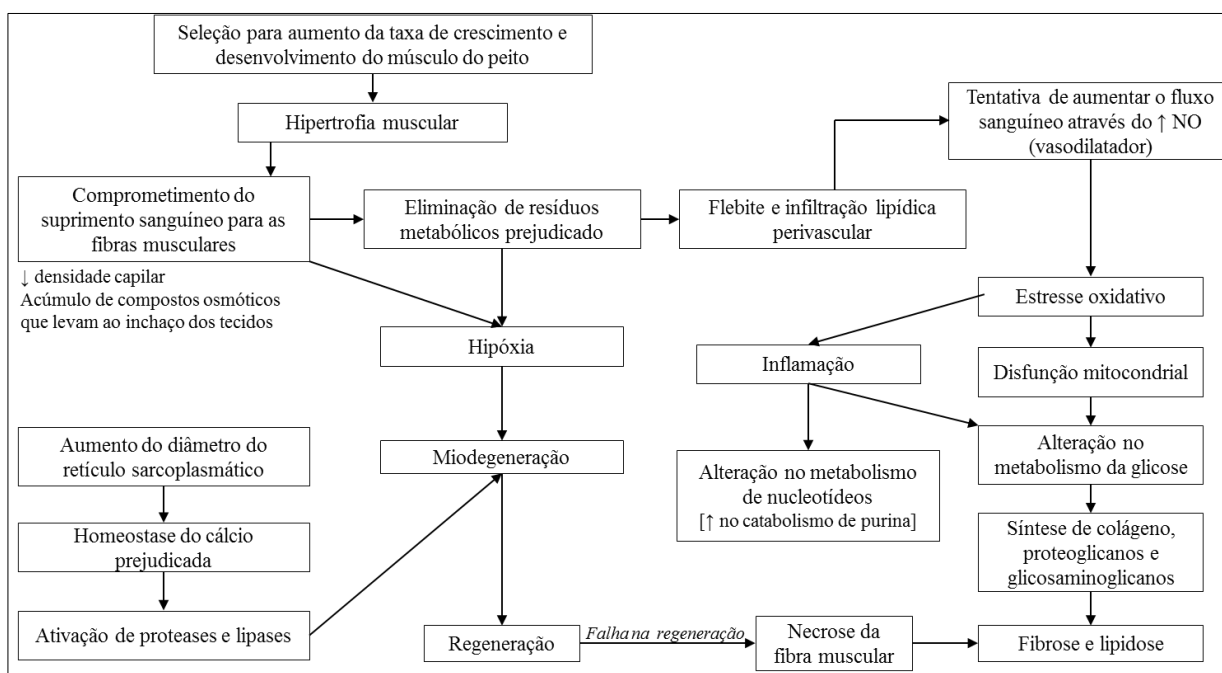


Fig 3. Representação sistemática das possíveis etiologias e mecanismos que levaram ao desenvolvimento das miopatias *White striping* e *Wooden breast* em frangos de corte.

Fonte: Adaptado de Petracci et al. (2019)

A seleção para rápido crescimento e alto desenvolvimento do músculo peitoral maior, provavelmente resultou em comprometimento do suprimento sanguíneo, o que resulta em uma

redução do fornecimento de oxigênio, nutrientes e a remoção mais branda do ácido lático, acarretando a danos musculares e ao aparecimento de lesões miopáticas características (Bilgili, 2013). Para Velleman & Clark (2015), a hipertrofia das fibras musculares está associada com a diminuição do número de capilares adjacentes, ocasionando estresse oxidativo e prejudicando a regeneração do músculo. De acordo com Petracci et al. (2019), a própria fisiologia do músculo peitoral maior deve ser levada em consideração, visto que seu desenvolvimento surpreendente pode comprimir a artéria peitoral, diminuindo mais ainda a oxigenação e transporte de nutrientes para o músculo. Essa hipótese pode ser apoiada pela evidência descrita por Kuttappan et al. (2013) onde observaram que o peso corporal está absolutamente ligado ao desenvolvimento dessas lesões e as ocorrências aumentam de acordo com o peso vivo e conseqüentemente com o avanço da idade das aves. Diante disso, é plausível que exista uma forte relação entre o peso das aves e a ocorrência e severidade das lesões miopáticas no músculo esquelético.

Ao mesmo tempo, verificou-se que a eliminação dos resíduos metabólicos pode estar prejudicada pela própria falta de suprimento sanguíneo contribuindo para o desenvolvimento de flebite (inflamação dos vasos sanguíneos) e infiltração por tecido adiposo (Sihvo et al., 2017; Papah et al., 2017). Boerboom et al. (2018) argumentam que o tecido muscular tenta superar o estado de hipóxia aumentando o fluxo sanguíneo, no entanto, esse mecanismo pode acelerar o desenvolvimento de estresse oxidativo pelo acúmulo de óxido nítrico, responsável pela dilatação dos vasos sanguíneos, contribuindo ainda com a inflamação dos tecidos e degeneração do tecido muscular.

Além disso, alterações ultra-estruturais precoces associadas à ocorrência das miopatias como dilatação do retículo sarcoplasmático, vacuolização e hiperplasia mitocondrial são induzidas por desequilíbrios osmóticos resultantes da hipóxia e miodegeneração (Sihvo et al., 2018; Petracci et al., 2019). A ativação de proteases e lipases ocasionadas pela homeostase do cálcio prejudicada podem contribuir com a degradação de proteínas e miodegeneração (Petracci et al., 2015; Zambonelli et al., 2016; Boerboom et al., 2018). Posteriormente, ocorrem reações biológicas complexas dos processos regenerativos com o intuito de aliviar a inflamação e limitar a apoptose celular e a necrose tecidual (Petracci et al., 2017). Quando a degeneração muscular ultrapassa a sua capacidade de regeneração ocorre a fibrose e lipidose (Petracci et al., 2019).

Além disso, há relatos de inúmeras causas de degenerações musculares nos animais, como por exemplo, a deficiência de selênio ou vitamina E pode resultar na perturbação da integridade celular que acarreta ao desenvolvimento de condições patológicas, como miopatia

nutricional em patos, frangos e perus, tendo como principal sinal clínico o aparecimento de estriações brancas no músculo esquelético, além de degradação, mineralização e miodegeneração (Mutryn et al., 2015), semelhantes às lesões observadas em *White Striping* e *Wooden breast* (Kuttappan et al., 2016). Outras possíveis causas, como a necrose, intoxicação por ionóforos, níveis aumentados de cálcio intracelular, hipóxia e distrofia muscular são relatadas na literatura (Sihvo et al., 2014).

O desenvolvimento de novas ferramentas para o diagnóstico *in vivo* torna-se uma vertente que possibilita a identificação das lesões em estágios iniciais e sua evolução, contribuindo com futuros estudos sobre o desenvolvimento dessas miopatias. Para tanto, pesquisas realizadas a fim de elucidar a causa dessas miopatias realizaram a coleta de um fragmento muscular, e para isso, é necessária a eutanásia das aves, o que não permite verificar em que momento da vida do animal essa desordem começa a se manifestar, qual o comportamento durante a sua evolução e, principalmente, traçar um perfil de desenvolvimento das lesões miopáticas em uma mesma ave, sendo necessária uma quantidade maior de animais para realização de abates seriados e obtenção de um único fragmento de tecido muscular por animal.

3 Ultrassonografia

A ultrassonografia em tempo real tem como princípio a emissão de ondas de altas frequências pela sonda ultrassônica situadas acima da faixa audível pelo ser humano (superior a 16 KHz), e o aparelho captura a reflexão da onda emitida pelas estruturas internas do corpo, produzindo imagens de diferentes tecidos. A propagação de ondas ocorre em tecidos biológicos, sólidos e líquidos, desta forma, a velocidade da propagação das ondas será influenciada pelas ondas ultrassônicas e o meio (Biscegli, 2006).

As ondas sonoras de alta frequência sofrem refração, que é a mudança de direção e velocidade ao passar de um meio para outro, ou reflexão, propriedade de uma onda em refletir ao encontrar-se com uma superfície de separação entre dois meios (Biscegli, 2006). Sendo assim, o aparelho de ultrassom mede a reflexão das ondas sonoras quando atravessam os tecidos, ou seja, convertem os impulsos elétricos em ondas de alta frequência que ao encontrar-se com os diferentes tecidos corporais promovem reflexão parcial (eco) em tecidos pouco densos como músculo e gordura, ou reflexão total dos tecidos com alta densidade como os ossos (Shung, 2006).

A utilização de ultrassonografia na ciência animal é identificada ao longo da história e está diretamente correlacionada com os avanços no campo da medicina e desde então, as

aplicações da técnica expandiram-se rapidamente (Silva et al., 2012). O método é considerado uma ferramenta valiosa que pode ser usada em programas de seleção que visem o aumento do ganho de peso, o conteúdo de carne magra e gordura na carcaça tanto em estudos sobre os efeitos dos fatores nutricionais e ambientais no desenvolvimento muscular (Bochno et al., 2015). O principal benefício dessa técnica é que nem o ser humano e nem o animal são expostos à radiação ionizante, tornando a técnica mais segura (Case et al., 2012).

As medidas mais simples relatadas na avicultura são o comprimento e largura do peito, e o mais complexo, a profundidade que geralmente é usada como um preditor de ganho de peso em combinação com a primeira medida (Melo et al., 2003). A partir de então, a técnica vem sendo utilizada em vários estudos para predição de inúmeras variáveis, como o peso da gordura abdominal, peso do músculo peitoral (Oviedo et al., 2006) e características de carcaça e carne (Boyle, 2006) em frangos de corte. Outros estudos tem realizado a seleção de patos através das medidas da profundidade do músculo (Farhat & Chavez, 2001) e predição *in vivo* da gordura da carcaça de patos (Lin et al., 2018).

Através das ondas sonoras de alta frequência do equipamento, pressupõe-se que seja possível detectar mudanças na densidade dos feixes musculares e que peitos acometidos pelas miopatias apresentem diferenças de ecogenicidade (escala de cinza) em relação aos peitos normais, uma vez que existem estudos que encontraram maior ecogenicidade nas imagens obtidas de músculos acometidos por miopatias congênitas e distrofia muscular (Sholten et al., 2003; Pillen et al., 2009).

As aplicações de técnicas não destrutivas são necessárias para testar animais com alto valor agregado ou quando existe a necessidade do estudo sequencial no mesmo animal (Bochno et al., 2015). Recentemente, um estudo avaliou a efetividade da ultrassonografia como método preditivo de *Wooden breast* e obteve correlação significativa entre a ecogenicidade e os escores da miopatia aos 42 e 49 dias com valores de 0,41 e 0,43, respectivamente (Simões, 2018).

4 Termografia infravermelha

As câmeras termográficas possuem a capacidade de detectar a radiação na faixa do infravermelho do espectro visível e converter a radiação em uma imagem. A intensidade da radiação emitida por determinado objeto aumenta de acordo com a temperatura, segundo a Lei de Planck sobre a radiação de corpos negros (Wilcox et al., 2009). Sendo assim, fornece a informação qualitativa e quantitativa sobre a temperatura da superfície dos tecidos alvo (Maldague et al., 2001).

Dentre as tecnologias para aferir as condições térmicas de diferentes superfícies, a termografia infravermelha é uma das mais utilizadas nos estudos para obtenção de respostas térmicas em diversas espécies (Ferreira et al., 2011). É aplicada em inúmeras técnicas não invasivas para diagnosticar instantaneamente e com alta confiabilidade e precisão, além de ter a facilidade em mensurar a temperatura de objetos móveis mesmo distantes e de difícil acesso. Ao mesmo tempo, não interfere no comportamento natural do animal a ser analisado por não ter a necessidade de contato prévio.

As imagens têm sido utilizadas em muitas espécies de animais para documentar os processos inflamatórios associados a mudanças de temperatura na superfície da pele e para determinar reações fisiológicas do sistema nervoso parassimpático (Purohit, 2006). Embora não seja possível diagnosticar patologias específicas, há relatos na literatura sobre a utilização da termografia infravermelho para detectar problemas de claudicação em bovinos leiteiros (Oikonomou et al., 2014), equinos (Douthit et al., 2014), suínos (Amezcuca et al., 2014), assim como já vem sendo utilizada em frangos de corte para mensurar a produção de calor metabólico das aves (Nääs et al., 2010), pododermatite (Wilcox et al., 2009; Jacob et al., 2016), avaliação do estresse (Moe et al., 2017) e problemas de claudicação causadas por infecções bacterianas (Weimer et al., 2018).

Na medicina humana existem trabalhos (Brioschi et al., 2005) que relatam que a imagem infravermelha pode ser extremamente útil nas avaliações de lesões musculares não complicadas, existindo um aumento na radiação sobre o tecido lesado, enquanto que as áreas hiporradiantes sugerem cicatrização tardia. Diante do pressuposto, a tecnologia nos permite detectar áreas localizadas de maior produção de calor devido a uma possível inflamação ou diminuição na produção de calor devido ao baixo fluxo sanguíneo e processos degenerativos (Eddy et al., 2001).

Estes achados (Eddy et al., 2001; Brioschi et al., 2005) confirmam os resultados de pesquisas que destacam que músculos acometidos por miopatias são caracterizados por um estado de hipóxia grave que acarretam em estresse oxidativo, posterior inflamação do tecido, e por fim, leva à miodegeneração (Boerboom et al., 2018; Petracci et al., 2019). Sendo assim, a validação de técnicas de avaliação *in vivo* das miopatias pode contribuir com as pesquisas no setor avícola e estabelecer ferramentas não invasivas como métodos de diagnóstico complementar através da inferência da presença de miopatias em frangos de corte.

5 Biópsia muscular

A técnica de biópsia muscular em medicina humana tem sido utilizada desde 1860, quando Duchenne (1868) realizou o procedimento em um paciente para identificar processos miodistróficos, permitindo os estudos nos diferentes estágios das doenças além de possibilitar o diagnóstico em vida. Atualmente, a técnica é necessária para diagnosticar inúmeras categorias de doenças musculares (Meola et al., 2012), além de possíveis infecções ou anomalias hereditárias no tecido muscular (Costa & Santana, 2016). Estudos realizados para verificar a estrutura muscular em microscopia eletrônica e histoenzimologia também são relatados (Azevedo-Marques et al., 2003).

Na medicina veterinária, a técnica é utilizada de forma rotineira nas mais diversas espécies de animais, como em bovinos para avaliar as características das fibras musculares (Arrigoni et al., 2004), equinos para avaliar a composição das fibras musculares esqueléticas (D'Angelis et al., 2006), para avaliar a morfometria das fibras musculares do músculo vasto lateral em cães com atrofia muscular induzida (Pelizzari et al., 2008). Porém, os primeiros relatos encontrados na literatura foram de estudos realizados em cavalos (Amorim et al., 2011).

Na avicultura, esse procedimento originado da prática humana (Levadoux et al., 2001) foi utilizado por Quentin et al. (2003) no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte. Neste estudo, os pesquisadores avaliaram a capacidade ribossômica como marcador metabólico do desenvolvimento muscular através de biópsia muscular e se era possível estabelecer o procedimento como um método de coleta do músculo peitoral maior. A partir de então, a técnica foi considerada viável para o teste de outras condições e estudos que visem analisar o desenvolvimento do músculo sem grandes efeitos no desempenho e bem-estar das aves.

A biópsia muscular é considerada um procedimento simples e de baixo risco que consiste em remover um pequeno fragmento de tecido para o teste laboratorial sob a administração de anestesia local. O método possibilita a avaliação da integridade da fibra muscular, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, junções neuromusculares e nervos intramusculares em tecidos acometidos por doenças e alterações musculares (Kaneko et al., 2008). A coleta do material deve ser realizada por cirurgia aberta, para permitir a visualização da orientação das fibras musculares (Shelton, 2010). Diferentemente de outras análises de tecido muscular em que a fixação em formalina para os quais a preservação simples é o procedimento de rotina, uma coleta de material muscular bem-sucedida requer o crioprocessamento da amostra fresca para a manutenção de macromoléculas viáveis (Nanette et al., 2012).

A técnica de biópsia como ferramenta de apoio para outras tecnologias de avaliação *in vivo* pode revelar informações originais e relevantes para o estudo das lesões miopáticas, e

consequentemente, sobre o estágio e progressão das miopatias que acometem frangos de corte. Justamente por ser considerado um procedimento simples e sem causar danos físicos exacerbados, pode definir o diagnóstico precoce e permitir as coletas seriadas para as pesquisas sobre a evolução das miopatias em um mesmo animal. Desta forma, um mesmo animal fornece dados sobre toda a sua vida produtiva em três a quatro amostras do tecido, além de estabelecer essas ferramentas como protocolos auxiliares nos mais diversos estudos e pesquisas.

Referências

- Abasht B, Mutryn MF, Michalek RD, Lee WR. Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens. *PloS one*. 2016; (11):1-7.
- Amorim RM, Rino AS, Dal-Pai-Silva M, Borges AS, Oliveira Filho JP, Freitas AL, et al. Aspectos morfológicos de biópsias musculares em equinos com miopatia sob forma de surto. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2011; (31): 579-585.
- Alnahhas N, Berri C, Chabault M, Chartrin P, Boulay M, Bourin M C, et al. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. *BMC Genetics*. 2016; (17): 61-67.
- Arrigoni MB, Junior AA, Dias PMA, Martins CL, Cervieri RC, et al. Desempenho, fibras musculares e carne de bovinos de três grupos genéticos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2004; (39): 1033 – 1039.
- Baldi G, Soglia F, Mazzoni M, Sirri F. Implications of White striping and spaghetti meat abnormalities on meat quality and histological features in broilers. *Animal*. 2018; (12): 164 – 173.
- Baldi G, Soglia F, Laghi L, Tappi S, Rocculi P, Tavaniello S, et al. Comparison of quality traits among breast meat affected by current muscle abnormalities. *Food Research International*. 2019. (115): 369–376.
- Bilgili SF. Broiler Chicken Myopathies: II. Woody Breast? Worthwhile Operational Guidelines and Suggestions, 2013. Disponível em: <http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2014/09/WOGSAPR13.pdf>.
- Bilgili SF. Broiler chicken myopathies: IV stringy/mushy breast. Worthwhile Operational Guidelines and Suggestion. 2015. Disponível em: <http://poul.auburn.edu/wp-content/uploads/sites/13/2015/11/WOGS-FEB15.pdf>.
- Biscegli CI. Conceitos da física do ultrassom. In. *Workshop de ultrassonografia para avaliação de carcaças bovinas*, Uberaba, 2006, 16p.
- Boerboom G, Van Kempen T, Navarro-Villa A, Pérez-Bonilla A. Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics. *Poultry Science*. 2018; (97): 3977–3986.
- Bochno R, Murawska D, Michalik D, Tomaszewska K, Brzozowski W, Zawacka M. Methods for predicting carcass lean content in live birds. *Polish Journal of Natural Sciences*. 2015; (30): 113–121.
- Brioschi ML, Abramavicus S, Corrêa CF. Valor da imagem infravermelha na avaliação da dor. *Revista Dor*. 2005; (6): 514 – 524.
- Brot S, Perez S, Shivaprasad HL, Baiker K, Polledo L, Clark M, et al. Wooden breast lesions in broiler chickens in the UK. *Veterinary Record*. 2016; (178): 141.

Case LA, Wood BJ, Miller SP. The investigation of ultrasound technology to measure breast muscle depth as a correlated trait to breast meat yield in turkey (*Meleagris gallapavo*). *Journal of Animal Science*. 2012; (90): 3410–3417.

Chatterjee D, Zhuang H, Bowker BC, Rincon AM, Sanchez-Brambila G. Instrumental texture characteristics of broiler pectoralis major with the wooden breast condition. *Poultry Science*. 2016; (10): 2449–2454.

Costa QCS, Santana TA. Biópsia muscular e histologia de doenças musculares. *Saúde e a química da célula humana*, 2016. Disponível em: http://saudecelulahumana.com/2016/08/biopsia-muscular-e-histologia-de_31.html.

D'Angelis D, Martins CB, Silva MAG, OliveiraJV, Boleli IC, Lacerda-Neto JC, et al. Composição de fibras musculares esqueléticas de equinos jovens da raça Brasileiro de Hipismo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2006; (58): 672-674.

Douthit TL, Bormann JM, Bello NM. Assessing the association between hoof thermography and hoof Doppler ultrasonography for the diagnosis of lameness in horses. *Journal of Equine Veterinary*. 2014; (34) : 275–280.

Duchenne GBA. Recherches sur la paralysie musculaire pseudohypertrophique ou paralysie myo-sclérosique. *Archives Générales de Médecine*. 1868; (11): 179-209.

Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR. The role of thermography in the management of equine lameness. *Veterinary Journal*. 2001; (162): 172–181.

Farhat A, Chavez ER. Metabolic studies on lean and fat Pekin ducks selected for breast muscle thickness measured by ultrasound scanning. *Poultry Science*. 2001; (80): 585–591.

Ferreira VMOS, Francisco NS, Belloni M, Aguirre GMZ, Caldara FR, Garcia RG, et al. Infrared thermography applied to the evaluation of metabolic heat loss of chicks fed with different energy densities. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola*. 2011; (13): 113–118.

Griffin JR, Moraes L, Wick M, Lilburn MS. Onset of white striping and progression into wooden breast as defined by myopathic changes underlying Pectoralis major growth. Estimation of growth parameters as predictors for stage of myopathy progression. *Avian pathology*. 2018; (1): 2-13.

Hubert SM, Williams TJ, Athrey G. Insights into the molecular basis of wooden breast based on comparative analysis of fast- and slow-growth broilers. *BioRxiv*. 2018; 1-45.

Jacob FG, Baracho MDS, Nääs IDA, Souza R, Salgado DDA. The use of infrared thermography in the identification of pododermatitis in broilers. *Engenharia Agrícola*. 2016; (36): 253–259.

Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press, San Diego. 2008. 916p.

Kuttappan VA, Brewer VB, Clark FD, Mckee SR, Emmert JL, Owens CM. Effect of white striping on the histological and meat quality characteristics of broiler fillets. *Poultry Science*. 2009; (88): 136–137.

- Kuttappan VA, Brewer VB, Apple JK, Waldroup PW, Owens CM. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science*. 2012a; (91): 2677–2685.
- Kuttappan VA, Lees YS, Meullenet JF, Mckee SR, Owens CM. Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping. *Poultry Science*. 2012b; (91): 1240–1247.
- Kuttappan VA, Brewer VB, Mauromoustakos A, Mckee SR, Emmert JL, Meullenet JF, et al. Estimation of factors associated with the occurrence of White striping in broiler breast fillets. *Poultry Science*. 2013; (92): 811–819
- Kuttappan VA, Hargis BM, Owens CM. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: A review. *Poultry Science*. 2016; (95): 2724–2733.
- Levadoux E, Morio B, Montaurier C, Puissant V, Boirie Y, Fellmann N, et al. Reduced whole-body fat oxydation in women and in the elderly. *International Journal of Obesity*. 2001; (25): 39–44.
- Lien RJ, Bilgili SF, Hess JB, Joiner KS. Induction of deep pectoral myopathy in broiler hickens via encouraged wing flapping. *The Journal of Applied Poultry Research*. 2012;(21): 556–562.
- Lin FB, Zhu F, Hao JP, Yang FX, Hou ZC. *In vivo* prediction of the carcass fatness using live body measurements in Pekin duscks. *Poultry Science*. 2018; (10): 1–7.
- Maldague XPV, Jones TS, Kaplan H, Marinetti S, Prystay M. Fundamentals of Infrared and Thermal Testing. *Nondestructive Handbook: Infrared and Thermal Testing*. ASNT Press, Columbus, OH. 2001; 15–34.
- Meola G, Bugiardini E, Cardani R. Muscle biopsy. *Journal of Neurology*. 2012; (259): 601–610.
- Melo JE, Motter MM, Morao LR, Huguet MJ, Canet Z, Miquel C. Use *in vivo* measurements to estimate breast and abdominal fat contente of a free-range broiler strain. *Animal Science*. 2003; (77): 23–31.
- Moe RO, Bohlin J, Vasdal G, Stubbsjøen SM. Hot chicks, cold feet. *Physiology Behavior*. 2017; (179): 42–48.
- Mudalal S, Lorenzi M, Soglia F, Cavani C, Petracci M. Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat. *Animal*. 2015; (9): 728–734.
- Mutryn MF, Brannick EM, Fu W, Lee WR, Abasht B. Characterization of a novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNA sequencing. *BMC Genomics*. 2015; (16): 399.

- Nääs IA, Romanini CEB, Neves DP, Nascimento GR, Vercellino RA. Broiler surface temperature distribution of 42 day old chickens. *Science of Agriculture*. 2010; (67): 497–502.
- Nanette CJ, Lee-Way J. Muscle Biopsy Evaluation in Neuromuscular Disorders. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*. 2012; (23): 609–631.
- Oikonomou G, Trojancanec P, Ganda EK, Bicalho MLS, Bicalho RC. Association of digital cushion thickness with sole temperature measured with the use of infrared thermography. *Journal of Dairy Science*. 2014; (97): 4208–4215.
- Oviedo EO, Parker J, Clemente-Hernandez S. Application of real time ultrasound technology to estimate in vivo breast muscle weight of broiler chickens. *British Poultry Science*. 2007; (48): 154–161.
- Pampouille E, Berri C, Boitard S, Hennequet-Antier C, Beauclercq SA, Godet E, et al. Mapping QTL for white striping in relation to breast muscle yield and meat quality traits in broiler chickens. *BMC genomics*. 2018; (1): 202.
- Papah MB, Brannick EM, Schmidt CJ, Abasht B. Evidence and role of phlebitis and lipid infiltration in the onset and pathogenesis of Wooden breast disease in modern broiler chickens. *Avian Pathology*. 2017; (46): 623–643.
- Papah MB, Brannick EM, Schmidt CJ, Abasht B. Gene expression profiling of the early pathogenesis of wooden breast disease in commercial broiler chickens using RNA-sequencing. *Plos One*. 2018; (13): 1–25.
- Petracci M, Mudalal S, Bonfiglio A, Cavani C. Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 92, p. 1670–1675, 2013.
- Petracci M, Mudalal S, Babini E, Cavani C. Effect of white striping on chemical composition and nutritional value of chicken breast meat. *Italian Journal of Animal Science*. 2014; (13): 179–183.
- Petracci M, Mudalal S, Soglia F, Cavani C. Meat quality in fast-growing broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*. 2015; (71): 363–374.
- Petracci M, Soglia F, Madruga M, Carvalho L, Ida E, Estevez M. Wooden-breast, White striping, and Spaghetti meat: Causes, Consequences and consumer perception of emerging broiler meat abnormalities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019 (18): 565–583.
- Pillen S, Tak RO, Zwarts MJ, Lammens MMY, Verrijp KN, Arts IMP, et al. Skeletal muscle ultrasound: Correlation between fibrous tissue and echo intensity. *Ultrasound in Medicine and Biology*. 2009; (35): 443–446.
- Pelizzari C, Mazzanti A, Raiser AG, Lopes STA, Graça DL, Salbego FZ, et al. Estimulação elétrica neuromuscular de média frequência (rusa) em cães com atrofia muscular induzida. *Ciência rural*. 2008; (38): 736 – 742.

Purohit RC. Use of Infrared Imaging in Veterinary Medicine. Biomedical Engineering Handbook. 3rd ed. J. D. Bronzino, ed. Taylor and Francis, London, UK 2006.

Quentin M, Bigot K, Tesseraud S, Boirie Y, Bouvarel I, Picard M. Is Ribosomal Capacity a Potential Metabolic Marker of Muscle Development? Measurement by Muscular Biopsy. *Poultry Science*. 2003; (82): 1530–1535.

Radaelli G, Piccirillo A, Birolo M, Bertotto D, Gratta F, Ballarin C, et al. Effect of age on the occurrence of muscle fiber degeneration associated with myopathies in broiler chickens submitted to feed restriction. *Poultry Science*. 2017; (96): 309–319.

Soglia F, Laghi L, Canonico L, Cavani C, Petracci M. Functional property issues in broiler breast meat related to emerging muscle abnormalities. *Food Research International*. 2016; (89): 1071–1076.

Soglia F, Gao J, Mazzoni M, Puolanne E, Cavani C, Petracci M, et al. Superficial and deep changes of histology, texture and particle size distribution in broiler wooden breast muscle during refrigerated storage. *Poultry Science*. 2017; (96): 3465–3472.

Soglia F, Zeng Z, Gao J, Puolanne E, Cavani C, Petracci M, Ertbjerg P. Evolution of proteolytic indicators during storage of broiler wooden breast meat. *Poultry Science*. 2018; (97): 1448–1455.

Silva SR, Cadavez VP. Real-time ultrasound (RTU) imaging methods for quality control of meats. *Computer vision in the food and Beverage Industries*, Woodhead Publishing, Cambridge, 2012; 277–329.

Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Veterinary Pathology*. 2014; (51): 619–623.

Sihvo HK, Lindén J, Airas N, Immonen K, Valaja J, Puolanne E. Wooden Breast Myodegeneration of Pectoralis Major Muscle Over the Growth Period in Broilers. *Veterinary Pathology*. 2017; (54): 119–128.

Sihvo HK, Airas N, Lindén J, Puolanne E. Pectoral vessel density and early ultrastructural changes in broiler chicken wooden breast myopathy. *Journal of Comparative Pathology*. 2018; (161): 1–10.

Sihvo HK. Pathology of Wooden breast myopathy in broiler chickens. Academic dissertation (Veterinary Pathology and Parasitology) – Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland, p. 75. 2019.

Simões CT. Utilização da ultrassonografia na avaliação in vivo de Wooden breast em frangos de corte submetidos à restrição alimentar. Dissertação (Produção animal) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 103. 2018.

Sirri F, Maiorano G, Tavaniello S, Chen J, Petracci M, Meulluzi A. Effect of different levels of dietary zinc, manganese, and copper from organic or inorganic sources on performance, bacterial chondronecrosis, intramuscular collagen characteristics, and occurrence of meat quality defects of broiler chickens. *Poultry Science*. 2016; (95): 1813–1824.

Shelton GD. Routine and specialized laboratory testing for the diagnosis of neuromuscular diseases in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*. 2010; (39): 278–295.

Sholten RS, Pillen S, Verrrips A, Zwarts MJ. Quantative ultrasonography os skeletal muscles in children: normal values. *Muscle Nerve*. 2003; (27): 693–698.

Shung KK. Fundamentals of Acoustic Propagation. In: *Diagnostic ultrasound: Imaging and blood flow measurements*. 1^a Ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group; 2006. pp. 5-36.

Tallentire CW, Leinonen I, Kyriazakis I. Artificial selection for improved energy efficiency is reaching its limits in broiler chickens. *Scientific Reports*. 2018; (8): 1168.

Tijare VV, Yang FL, Kuttappan VA, Alvarado CZ, Coon CAN, Owens CM. Meat quality of broiler breast fillets with white striping and woody breast muscle myopathies. *Poultry Science*. 2016; (9): 2167–2173.

Velleman SG, Clark DL. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. *Avian Diseases*. 2015; (59): 410 – 418.

Zamboneli P, Zapattera M, Soglia F, Petracci M, Sirri F, Cavani C, et al. Detection of differentially expressed genes in broiler pectoralis major muscle affected by White Striping – Wooden Breast myopathies. *Poultry Science*. 2016; (95): 2771–2785.

Zimmermann FC, Fallavena LCB, Salle CTP, Moraes HLS, Soncini RA, Barreta MK, et al. Downgrading of heavy broiler chicken carcasses due to myodegeneration of the Interior *latissimus dorsi*: Pathologic and epidemiologic studies. *Avian Diseases*. 2012; (56): 418-421.

Weimer SL, Wideman RF, Scanes CG, Mauromoustakos A, Christensen KD, Vizzier-Thaxton Y. The utility of infrared thermography for evaluating lameness attributable to bacterial chondronecrosis with osteomyelitis. *Poultry Science*. 2018; (0): 1–14.

Wideman N, O'Bryan CA, Crandall PG. Factors affecting poultry meat colour and consumer preferences: A review. *World's Poultry Science Journal*. 2016; (72): 353–366.

Wilcox CS, Patterson J, Cheng HW. Use of termography to screen for subclinical bumblefoot in poultry. *Poultry Science*. 2009; (88): 1176 – 1180.

CAPÍTULO 2

DIAGNÓSTICO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* DE MIOPATIAS EM PEITOS DE FRANGOS DE CORTE

Artigo redigido e formatado de acordo com as normas da Revista Plos One, ISSN: 1932-6203 (*online*)

Fator de impacto: 2,776, Percentil 90% (Scopus), Qualis CAPES A1

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais UFGD (Protocolo 12/2019)

Resumo

Objetivou-se validar as técnicas de avaliação não invasivas, ultrassonografia e termografia infravermelha, como ferramentas de avaliação *in vivo* das miopatias *Wooden breast* e *White striping* que acometem frangos de corte utilizando a técnica de biópsia como ferramenta de apoio. Foram utilizadas 30 aves (15 machos e 15 fêmeas) da linhagem Cobb 500® e adotado o delineamento inteiramente casualizado constituído por dois sexos (machos e fêmeas) com 15 repetições por tratamento, sendo a ave considerada a repetição. Aos 14, 21, 35, 42 e 49 dias foram realizadas as mensurações da temperatura superficial do peito das aves pela técnica de termografia infravermelha e análises de profundidade do filé e ecogenicidade por imagens de ultrassom. As aves foram submetidas à técnica de biópsia aos 21, 35 e 42 dias para coleta de fragmento do músculo peitoral para as análises morfológicas descritivas das lesões histológicas e morfometria das fibras musculares. Aos 49 dias, as aves foram abatidas e realizada a avaliação quanto ao escore macroscópico para *Wooden breast* e *White striping* no músculo peitoral e a coleta de músculo do peito para as análises morfológicas e morfométricas. Houve interação entre sexo e idade das aves, sendo que os machos obtiveram maiores valores de ecogenicidade aos 14, 21 e 42 dias. Para a temperatura superficial observou-se interação significativa entre o sexo e a idade das aves, sendo que os machos apresentaram menores temperaturas quando comparados às fêmeas. Não foi observada influência do sexo das aves na ocorrência das miopatias *Wooden breast* e *White striping* aos 49 dias de idade e nas variáveis morfométricas das fibras musculares. Contudo, a idade influenciou em todas as variáveis morfométricas e lesões histológicas, em que é possível observar o aumento das lesões celulares de acordo com o avançar da idade das aves. Os resultados demonstram o decréscimo no valor de ecogenicidade com ponto de inflexão aos 28 dias e aumento dos valores a partir dos 35 aos 49 dias de idade das aves, além de fraca correlação negativa com a profundidade total do filé, peso vivo, diâmetro e área das fibras. Esse resultado pode ser atribuído à frequência do transdutor que pode não ter garantido penetração tecidual suficiente nas idades iniciais. Houve uma tendência geral de diminuição da temperatura superficial para ambos os sexos de acordo com o tempo, tendo forte correlação negativa com o diâmetro e área das fibras e forte correlação positiva com a área ocupada por fibras/campo e com o número de fibras com menores diâmetros. Conclui-se que a ultrassonografia com transdutor de 3,5MHz detectou alterações musculares a partir dos 28 dias de idade das aves condizentes com as lesões miopáticas estudadas. A termografia infravermelha é um método potencial e confiável e mostrou um indicativo das lesões miopáticas em machos. A técnica de biópsia pode ser utilizada como ferramenta auxiliar nos estudos das miopatias em peitos de frangos de corte.

Palavras chaves: biópsia muscular, histomorfometria das fibras musculares, termografia infravermelha, ultrassonografia, *white striping*, *wooden breast*.

Introdução

Na última década, as miopatias que acometem o peito de frangos de corte atraíram grande atenção para a indústria avícola, tendo em vista que cientistas basearam seus estudos para o entendimento ou impedimento da ocorrência do que foi denominado *White striping* e *Wooden breast*. A miopatia *White striping* é descrita pela presença de estrias brancas paralelas às fibras musculares do peito de frangos de corte de crescimento rápido visualizadas com facilidade na carne crua (Kuttappan et al., 2012).

A miopatia *Wooden breast* ocorre na musculatura peitoral maior, possuindo como característica principal a forma enrijecida ao toque ao longo da porção ventral, áreas pálidas, material viscoso e até mesmo presença de petéqueas hemorrágicas de acordo com o grau da lesão (Sihvo et al., 2014; Brot et al., 2016). Além da caracterização macroscópica, existem estudos no aspecto microscópico dessas alterações musculares e como afetam a qualidade do produto. Histologicamente, ambas as miopatias são caracterizadas pelo aparecimento de lesões associadas à necrose, infiltração de linfócitos e macrófagos, fibrose e características miodegenerativas (Sihvo et al., 2014).

O aumento no rendimento causado pela hipertrofia das fibras musculares pode reduzir o espaço que seria normalmente ocupado por camadas de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (Velleman, 2015), ocasionando restrição de fluxo sanguíneo e acarretando a falta de oxigênio circulante (Kuttappan et al., 2012; Mudalal et al., 2014). Contudo, mesmo com os estudos e pesquisas realizados nos últimos anos, a etiologia dessas anormalidades ainda permanecem obscuras.

Inúmeras técnicas são encontradas na literatura para avaliar a estrutura das fibras musculares, para tanto, o diagnóstico confiável dessas miopatias só pode ser realizado através da visualização e coleta de amostras *post mortem*, o que não nos permite compreender o comportamento durante a sua evolução e, principalmente, traçar um perfil de

desenvolvimento das lesões em um mesmo animal. Compreende-se, então, a necessidade do desenvolvimento de novos protocolos e ferramentas de diagnóstico precoce *in vivo*, com o intuito de auxiliar as empresas de genética avícola na seleção de aves com menor predisposição para o desenvolvimento de tais lesões.

Aplicações de técnicas não destrutivas, como a ultrassonografia e a termografia infravermelha, são necessárias quando existe a necessidade de um estudo sequencial e precoce. A partir das imagens de ultrassom é possível calcular os valores de ecogenicidade, que por sua vez é uma medida calculada através de uma escala de cinza que varia de acordo com a densidade de feixes musculares e gordura intersticial (Pillen et al., 2009). Pressupõe-se que seja possível detectar mudanças de ecogenicidade em tecidos acometidos por essas miopatias, uma vez que estudos apresentaram alta correlação nos valores de ecogenicidade das imagens obtidas de músculos acometidos por miopatias congênitas e distrofia muscular (Sholten et al., 2003; Pillen et al., 2009).

Pesquisas demonstram que a termografia infravermelha pode ser extremamente útil nas avaliações de lesões musculares por permitir detectar áreas localizadas com maior produção de calor devido a uma possível inflamação ou diminuição de calor ocasionado pelo baixo fluxo sanguíneo ou tecido cicatrizado (Eddy et al., 2001). Para tanto, a técnica de biópsia, por ser considerada viável para analisar a integridade das fibras musculares sem grande efeito sobre o desempenho das aves, pode ser utilizada como ferramenta de apoio para as tecnologias de avaliação *in vivo* e revelar informações imprescindíveis sobre o estágio e progressão das miopatias em um mesmo animal.

A correlação dos resultados das técnicas não invasivas com os da técnica invasiva (biópsia) para o reconhecimento precoce e desenvolvimento dessas miopatias pode contribuir com as pesquisas que possuem o objetivo de elucidar sua etiologia, justamente por permitir o

diagnóstico *in vivo* e auxiliar no desenvolvimento de novas metodologias de estudo das lesões miopáticas.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo validar as técnicas de avaliação não invasivas, ultrassonografia e termografia infravermelha, como ferramentas de avaliação *in vivo* das miopatias *Wooden breast* e *White striping* que acometem frangos de corte utilizando a técnica de biópsia como ferramenta de apoio.

Material e métodos

Aves e alojamento

Todos os procedimentos deste estudo estão de acordo com os preceitos éticos para pesquisa científica e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA da Universidade Federal da Grande Dourados (protocolo CEUA/UFGD 12/2019). Todas as aves tiveram acompanhamento diário de manejo, bem como das condições clínicas durante todo o período experimental.

O experimento foi conduzido no aviário experimental na Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados. O aviário de pressão negativa dispõe de 56 boxes, com área de 4,5m² cada, com bebedouro pendular, comedouro tubular, cortinas e sobrecortinas, exaustores e placas evaporativas para o controle da temperatura interna, com painel de acionamento automático.

O aquecimento inicial foi feito através de lâmpada infravermelha de 250 W para cada boxe. O programa de luz adotado foi contínuo de 23 horas de luz na primeira semana e intermitente nas demais, sendo diminuído o fotoperíodo gradativamente até os 11 dias de vida, quando as aves foram submetidas a 18 horas de luz e intensidade luminosa de 22 lúmens por m².

Foram alojados 400 pintos de um dia machos e fêmeas, da linhagem Cobb 500®, após a pesagem inicial e uniformização dos pesos. As aves foram criadas com densidade de 14 aves/m² até 14 dias, idade em que foram selecionadas e identificadas 15 machos e 15 fêmeas com base no peso médio com variação de +10%, com o objetivo de padronizar o peso e ter aves mais homogêneas para serem submetidas à técnica de biópsia. Essas aves foram alocadas em quatro boxes, sendo dois boxes de machos e dois de fêmeas, com sete e oito aves por box devido ao seu comportamento social gregário.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado constituído por dois sexos (machos e fêmeas) com 15 repetições por tratamento, sendo a ave considerada a repetição. As rações experimentais foram fornecidas *ad libitum* e formuladas a base de milho e farelo de soja de acordo com a fase produtiva, fase pré-inicial, inicial, crescimento I, crescimento II e final, atendendo as exigências nutricionais de Rostagno et al. (2017). As demais práticas de manejo foram adotadas seguindo o manual da linhagem.

Durante o período experimental de 49 dias foram registradas imagens termográficas do peito das aves selecionadas e ultrassonografia do músculo do peito aos 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias de idade para a avaliação da temperatura superficial dos peitos e da ecogenicidade e profundidade do músculo do peito, respectivamente. Aos 21, 35 e 42 dias o procedimento de biópsia muscular foi realizado e, após o abate das aves aos 49 dias, analisou-se a incidência das miopatias *White striping* e *Wooden breast* e coleta dos fragmentos do músculo peitoral maior para as análises histomorfológicas. O desempenho das aves (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar) foi avaliado de 21 a 49 dias de idade para acompanhar o efeito da biópsia sobre o desenvolvimento das aves. As imagens de ultrassom e termografia infravermelha foram capturadas somente ao lado esquerdo do peito para que não houvesse possível interferência do tecido cicatrizado ocasionado pelas coletas de tecido muscular realizadas no lado direito.

Termografia infravermelha

A temperatura superficial do peito das aves foi registrada utilizando-se a câmera termográfica da marca Testo®, modelo 868. Foram obtidas imagens termográficas cobrindo toda a extensão do lado esquerdo do peito dos frangos de corte (Fig 1). As imagens foram submetidas ao processamento do software IRSoft da Testo®, a partir de 30 pontos selecionados aleatoriamente somente no lado esquerdo do peito. A emissividade adotada foi de 0,95 (Nääs et al., 2010).

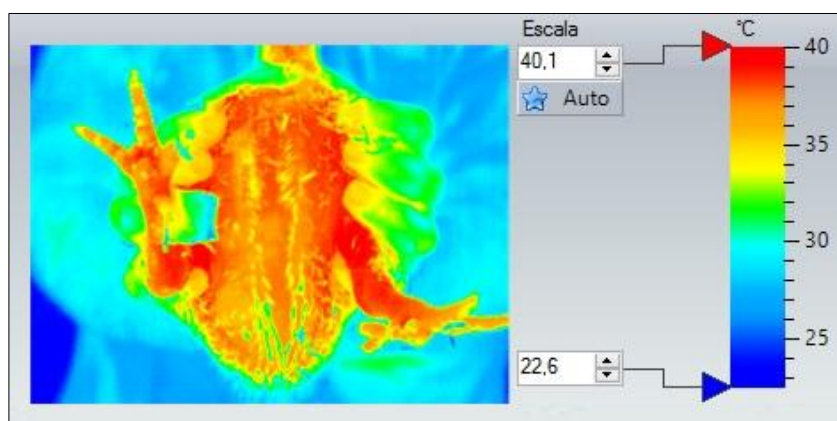


Fig 1. Imagem termográfica e a distribuição da temperatura superficial do músculo peitoral dos frangos de corte.

Fonte: Arquivo pessoal.

Ultrassonografia

As imagens de ultrassonografia foram obtidas por meio do equipamento de ultrassonografia Aloka, modelo SSDN500, equipado com sonda linear de 13 cm e frequência de 3,5 MHz e standoff. Para registrar as imagens, foi utilizada a metodologia descrita por Oviedo-Rondo'n et al. (2007) que realizaram imagens ultrassonográficas em frangos de corte. As aves foram posicionadas com o peito para cima. Foi necessária a utilização de óleo soja como acoplador acústico, e para separar as penas apenas para expor a pele do peito. A

sonda foi posicionada ao lado do osso da quilha em um ângulo de 90°, e as imagens feitas do lado esquerdo do peito das aves, sendo a sonda posicionada 2 cm lateral e 1 cm posterior ao ápice do osso da quilha (Fig 2).

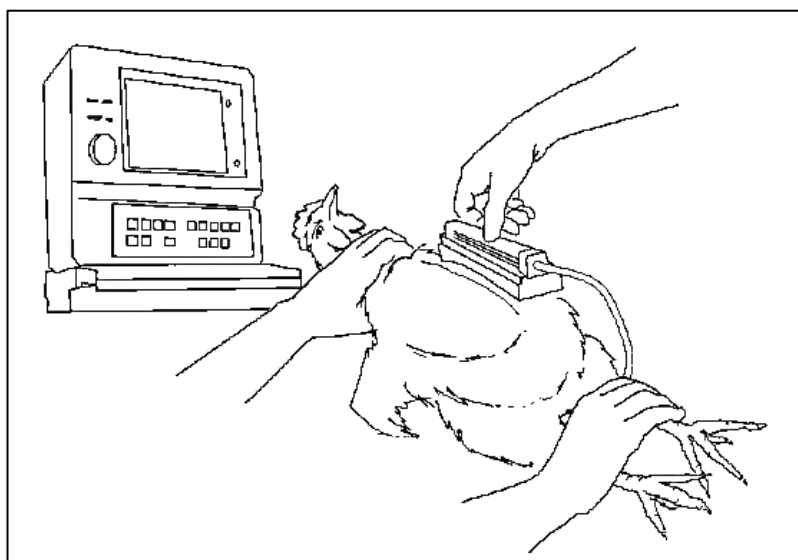


Fig 2. Representação do procedimento para registro de imagens de ultrassom em tempo real. Local de registro da imagem paralela ao osso da quilha.

Fonte: Oviedo-Rondo'n et al. (2007).

Posteriormente, as imagens foram analisadas pelo programa ImageJ para realização das medidas de profundidade do músculo conforme descrito por Case et al. (2012). Para mensurar a profundidade do filé utilizou-se a ferramenta “Set scale” sendo calibrado 32 pixels por centímetro e a ferramenta “Line width” obtendo-se os valores de profundidade em centímetros. Os valores de ecogenicidade foram determinados por meio de uma escala de cinza aplicados a região selecionada do músculo *Pectoralis major e minor* sem a fásia circundante (Fig 3). A intensidade média de ecogenicidade dessa região foi calculada com o histograma padrão do programa Adobe Photoshop CC 2018, e expressa em um valor entre 0 (preto) e 255 (branco), adaptado de Pillen et al. (2009).



Fig 3. Imagem de ultrassom do músculo *Pectoralis major* em frangos de corte aos 21 dias. Linha pontilhada representa o filé do peito esquerdo, região em que foram calculados os valores de ecogenicidade; A seta indica o traço de medida da profundidade do filé a partir da superfície da pele até a caixa torácica. Fonte: Arquivo pessoal.

Protocolo de biópsia muscular

As coletas das amostras do músculo *Pectoralis major* foram realizadas por técnica de biópsia originada da prática humana segundo Levadoux et al. (2001) e adaptada conforme descrito por Quentin et al (2003) para a realização em peito de frangos de corte. O protocolo de biópsia utilizado neste estudo envolveu a realização de três coletas de amostras em cada ave nas idades de 21, 35 e 42 dias. Dessa forma, todas as amostras de tecido muscular representavam o acompanhamento do crescimento típico e individual dos frangos de corte. As biópsias foram realizadas a partir dos 21 dias de idade pelo fato das aves serem pequenas aos 14 dias, podendo causar prejuízos no seu desempenho e recuperação pós-cirúrgica.

Para a seleção do local considerou-se que o desenvolvimento das lesões inicia-se de forma focal na área cranial do filé tornando-se difusas de acordo com o grau de severidade, sendo assim, a primeira biópsia foi realizada na parte cranial do músculo peitoral maior

direito, e as subsequentes feitas caudalmente às anteriores. As aves foram devidamente identificadas e uma hora antes da biópsia foi realizada a administração de cloridrato de tramadol (5 mg/kg) via oral, além da administração de dipirona monohidratada (25 mg/kg) no momento da cirurgia com o intuito de potencializar a ação do medicamento anterior.

O local de coleta foi devidamente higienizado, feito a remoção das penas, quando necessário, assepsiado localmente através da aplicação tópica de iodo degermante e sedadas com o uso de diazepam (2 mg/kg) via intranasal e aplicado lidocaína creme diretamente na pele no local da incisão cirúrgica. Foram coletadas amostras de aproximadamente 100 mg por ave em formato de paralelepípedo com dimensão de 1 x 1 x 2 cm (altura, largura e comprimento, respectivamente) com o auxílio de bisturi e pinça. Os fragmentos musculares foram extraídos no seu sentido maior com orientação paralela à orientação das fibras musculares, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e conservadas em freezer à temperatura de -80°C. Essa orientação facilitou a amostragem de várias fibras ao longo do comprimento do fragmento. As incisões muscular e cutânea foram fechadas com suturas com ponto contínuo e fio não absorvível (Fig 4).

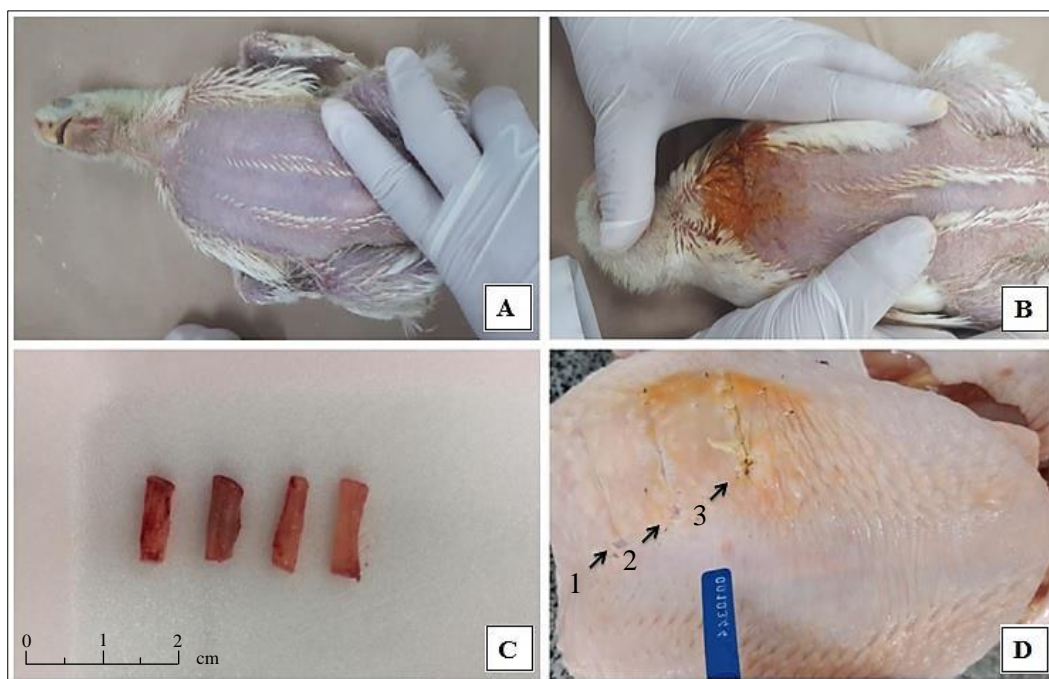


Fig 4. Procedimento de biópsia no músculo *Pectoralis major* em frangos de corte. (A) Preparo da ave para procedimento; (B) Sutura pós-coleta do tecido muscular; (C) Fragmento coletado; (D) Cicatrização do músculo. Setas indicam a cicatrização do procedimento cirúrgico: (1) 21 dias; (2) 35 dias e (3) 42 dias. Fonte: Arquivo pessoal.

No período pós-operatório, a incisão cirúrgica foi tratada com iodo degermante e Rifamicina spray (10 mg/ml) e as aves permaneceram em observação no pós-operatório por duas horas na sala de recuperação antes de retornarem aos boxes de origem. As aves foram tratadas com cloridrato de tramadol (5 mg/kg) via oral quatro horas após o procedimento e, com dipirona monohidratada (25 mg/kg) de oito em oito horas como protocolo analgésico. Após 24 horas, foi realizada a limpeza do local da cirurgia com água e sabão duas vezes ao dia e efetuada a assepsia com Rifamicina (10 mg/ml) uso tópico. Os procedimentos pós-cirúrgicos tiveram duração de cinco dias e as suturas retiradas após sete dias da biópsia.

Protocolo histológico

Os fragmentos congelados foram transferidos para a câmara de um micrótomo criostato Lupetec, modelo CM 2850 à temperatura de -20°C por 45 minutos e afixados no

suporte metálico do criostato utilizando resina especial. Foram obtidos os cortes histológicos, considerando-se duas lâminas por ave e 10 cortes por lâmina, com 10 μm de espessura e submetidos a técnica de coloração por Hematoxilina – Eosina (HE) para verificar possíveis alterações na morfologia e morfometria geral das fibras.

Posteriormente, foram realizadas 10 fotomicrografias digitais utilizando microscópio ótico modelo BEL Photonics Bio 2, e câmera digital modelo Moticam 2300, obtidas em cada lâmina histológica de acordo com as semanas de coleta e analisadas através do programa Motic Images Plus 2.0. Foram realizadas as análises morfológicas descritivas das lesões miopáticas de acordo com Clark & Velleman et al. (2017); Presença ou ausência de lesões histológicas classificadas em células inflamatórias (CI), fibras regenerativas (FR), fibras em fagocitose (FF), fibras hipertróficas (FH), hiperplasia miofibrilar (HM) e tecido adiposo (TA). Análises morfométricas do número de fibras/campo representa a quantidade de fibras contadas por área de secção transversal; diâmetro das fibras (μm) representa a mensuração média do maior diâmetro de cada fibra muscular/campo; área das fibras (μm^2) representa a média da área das fibras mensuradas de forma individual/campo; e área ocupada por fibras/campo (%) representa o percentual de área ocupada por fibras musculares por área de secção transversal, de acordo com a metodologia descrita por Kirchofer et al. (2002). Além disso, foi calculado um índice subdividindo o número de fibras musculares em seis faixas de tamanho de acordo com a área das fibras (μm^2): menor que 1000, entre 1000 a 2000, entre 2000 a 3000, entre 3000 a 4000, entre 4000 a 5000 e maior que 5000, adaptado de Petracci et al. (2013).

Caracterização das miopatias

Aos 49 dias, ocorreu o abate das aves para a coleta do fragmento de tecido muscular e avaliação dos peitos quanto à presença e severidade das miopatias. As aves foram submetidas

ao jejum alimentar de oito horas no aviário, acondicionadas em caixas plásticas com capacidade para oito aves e transportadas ao Laboratório de Carnes da FCA/UFMG.

As aves foram sacrificadas por deslocamento cervical seguida de secção das veias jugulares e artérias carótidas e sangradas por três minutos. A escaldagem das carcaças foi feita em tanque de água com temperatura a 58 °C e duração de dois minutos, seguida da depenagem automática das carcaças. A evisceração e retirada dos pés e cabeça após a depenagem procedeu-se de forma manual. Após a evisceração das carcaças, foi realizada a coleta de amostra do músculo *Pectoralis major*. O resfriamento das carcaças foi realizado via água e com duração de 12 minutos no *pré chiller* à temperatura de 10 a 18°C e *chiller* com duração de 18 minutos à temperatura de zero a 2°C.

Após o resfriamento, os peitos foram submetidos a desossa e separados apenas o lado esquerdo para caracterização das miopatias. Esse procedimento foi adotado para que não houvesse interferência da cicatrização na avaliação visual. Os peitos foram classificados entre um dos quatro scores de *White striping* estabelecidos em Grau zero ou normal o filé que não apresentou estrias; Grau 1 ou moderado, o filé que apresentou estrias menores que 1 mm de espessura; Grau 2 ou grave, estrias largas com espessura entre 1 e 2 mm; e, Grau 3 ou extremo, estrias maiores que 2 mm de espessura de acordo com Kuttappan et al. (2016). Os peitos também foram classificados em um dos três scores de *Wooden breast* em que considera-se Grau 0 ou normal, o filé que apresentou cor e consistências normais; Grau 1 ou moderado, em que a consistência do filé apresentou-se endurecida e a coloração pálida na área cranial do filé; e, Grau 2 ou severo, em que o músculo apresentou-se severamente endurecido e pálido com estrias brancas ao longo da superfície, conforme metodologia de Sihvo et al. (2016).

Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram verificados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância através do procedimento MIXED do SAS (SAS 9.3). A frequência das miopatias aos 49 dias de idade foram submetidas ao teste de Fisher e o nível de significância utilizado foi de 5%. As variáveis ultrassonográficas, termográficas e histológicas foram submetidas à análise de variância através do procedimento MIXED do SAS (SAS 9.3) com o uso do comando REPEATED na qual os dias de avaliação foram considerados medidas repetidas no tempo. Foram realizados os desdobramentos dos efeitos das interações entre os efeitos principais (tempo e sexo) sendo avaliados através de regressões utilizando polinômios ortogonais e comparações de médias pelo teste de Tukey. Os resultados de frequências das lesões histológicas foram submetidos à análise de Qui-quadrado ao nível de 5% de significância. Foram calculadas as correlações de Pearson entre todas as variáveis, considerando-se correlação fraca (0,00 a 0,50), média (0,50 a 0,70) e forte (0,70 a 1,00).

Resultados

Aves e desempenho

As aves deste estudo não apresentaram quadro clínico de infecções ou quaisquer sinais de complicações após os procedimentos cirúrgicos realizados. O aspecto macroscópico *post mortem* do músculo peitoral maior não apresentou quaisquer alterações em sua aparência do que já não fosse esperado, ou seja, observaram-se apenas as cicatrizações das coletas realizadas *in vivo* e lesões características das miopatias.

O ganho de peso no período de 21 a 49 dias de idade foi de 2,542 kg (Fêmeas) e 3,128 kg (Machos), demonstrando que os frangos de corte machos apresentaram melhor desempenho quando comparados às fêmeas ($p < 0,0001$). Os machos apresentaram maior

consumo de ração ($p < 0,0001$) comparado às fêmeas em todo o período avaliado, sendo que obtiveram consumo de 5,355 kg machos e 4,624 kg fêmeas de 21 a 49 dias. No entanto, não foi observada diferença estatística entre o sexo das aves para a variável conversão alimentar ($P = 0,0577$) no período de 21 a 49 dias, em que machos obtiveram 1,71 e fêmeas 1,83.

Dentre as aves selecionadas e submetidas à técnica de biópsia não houve mortalidade, indicando que o protocolo cirúrgico e pós-cirúrgico utilizado foi adequado e o desempenho das aves não foi prejudicado pelas práticas adotadas.

Ultrassonografia e Termografia Infravermelha

Houve interação significativa ($p < 0,0001$) entre sexo e idade das aves na avaliação da ecogenicidade (Tab 1). A variável ecogenicidade avaliada pela técnica de ultrassom apresentou comportamento de regressão quadrática de acordo com as equações. Desdobrando a interação entre sexo e idade, observamos que os machos obtiveram maiores valores de ecogenicidade aos 14, 21 e 42 dias quando comparados com as fêmeas.

Na avaliação da temperatura superficial do peito, houve interação significativa ($p < 0,0001$) entre o sexo e a idade das aves (Tab 1). Sendo que essa variável apresentou comportamento de regressão quadrática com o avançar da idade das aves. No desdobramento, é possível observar que aos 14 dias os frangos machos obtiveram menor temperatura superficial do que as fêmeas. No entanto, aos 21 dias de idade ocorreu o inverso, em que os machos alcançaram maior média.

Tab 1. Ecogenicidade, profundidade total do filé e temperatura superficial de machos e fêmeas em diferentes idades pelas técnicas de ultrassonografia e termografia infravermelho.

Variável	Sexo		EPM ¹	Probabilidades			
	Fêmeas	Machos		Sexo (S)	Idade (I)	S x I	
Ecogenicidade	108,77	123,76	1,931	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
Temperatura superficial (°C)	36,30	36,21	0,051	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
Profundidade total do filé (cm) ²	2,41	2,50	0,068	0,2718	<0,0001	0,9540	
Diferença das médias por dia de avaliação							
Variável	Sexo	Dias					
		14	21	28	35	42	49
Ecogenicidade	Fêmeas ³	114,2	121,3	82,0	105,5	109,5	111,63
	Machos ⁴	148,6	138,0	89,0	106,0	127,6	120,00
	Valor de P	<0,0001	<0,0001	0,2380	0,9257	0,0021	0,1508
Temperatura superficial (°C)	Fêmeas ⁵	37,37	36,76	36,92	37,27	37,07	36,30
	Machos ⁶	36,96	37,94	37,1	37,19	37,19	36,21
	Valor de P	0,0387	<0,0001	0,3656	0,7121	0,5460	0,6386

¹Erro padrão da média; ² $y(\text{Média})=0,0581x+0,3595$ $r^2=0,9495$ ($p=0,0344$); ³ $y(\text{F})=0,0425x^2-2,8641x+150,74$ $r^2=0,0849$ ($p=0,0065$); ⁴ $y(\text{M})=0,1378x^2-9,6551x+271,76$ $r^2=0,4102$ ($p>0,0001$); ⁵ $y(\text{F})=-0,0009x^2+0,0399x+36,75$ $r^2=0,1709$ ($p=0,0311$); e ⁶ $y(\text{M})=-0,0024x^2+0,1247x+35,853$ $r^2=0,3003$ ($p>0,0001$);

A profundidade total dos filés de peito realizada *in vivo* pela técnica da ultrassonografia não apresentou interação entre o sexo e a idade das aves (Tab 1). Não houve efeito significativo para o sexo das aves. Contudo, houve efeito isolado para a idade ($p<0,0001$), onde a variável apresentou efeito linear crescente. Sendo assim, quanto maior a idade das aves, maiores são as profundidades dos filés, ou seja, o aumento da profundidade do filé acompanhou o aumento do peso médio das aves, conforme já era esperado.

Ocorrência das miopatias

Não foi observada influência do sexo das aves na ocorrência das miopatias *Wooden breast* e *White striping* em frangos de corte avaliados aos 49 dias de idade (Tab 2). Observou-se ainda, um pequeno percentual das lesões de Grau 1 de *White striping* em ambos os sexos, visto que 20% das fêmeas apresentaram esse grau enquanto os machos apresentaram 13,32%. Além disso, ambos os sexos não apresentaram aves sem lesões características dessa miopatia, ou seja, grau 0.

Tab 2. Frequência de *White Striping* e *Wooden breast* em peito de frangos de corte machos e fêmeas aos 49 dias de idade.

	Escore	Sexo		P
		Fêmeas	Machos	
WS	0	0%	0%	0,0657
	1	20,00%	13,32%	
	2	46,66%	33,34%	
	3	33,34%	53,34%	
WB	0	6,66%	0%	0,1592
	1	26,66%	26,66%	
	2	66,68%	73,34%	

WS: *White striping*; WB: *Wooden breast*; Teste de Fisher ($p < 0,05$).

Para a condição de *Wooden breast*, observa-se maior incidência no percentual do grau 2 (66,66% e 73,34% fêmeas e machos, respectivamente) e apenas as fêmeas apresentaram ausência de lesões características dessa miopatia (Grau 0 – 6,66%), enquanto todos os machos apresentaram essa miopatia.

Morfometria e histomorfologia das fibras musculares

O sexo das aves não influenciou as variáveis morfométricas das fibras musculares, com exceção do número de fibras encontradas com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$ e entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ em que os machos obtiveram maiores valores, conforme apresentado na Tabela 3. A idade influenciou de forma significativa sobre todos os parâmetros analisados, de forma que o número de fibras/campo, diâmetro e número de fibras com área entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$ e maiores que $5000 \mu\text{m}^2$ apresentaram comportamento quadrático.

Considerando-se o comportamento apresentado pelo modelo de regressão quadrática o número de fibras/campo teve tendência decrescente durante toda a vida do animal, enquanto o diâmetro das fibras, o número de fibras com área entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$ e área maior que $5000 \mu\text{m}^2$ obtiveram comportamento crescente durante o período avaliado.

A área das fibras demonstrou comportamento linear crescente, ou seja, quanto maior a idade das aves, maiores são os tamanhos das fibras. As variáveis de área ocupada por fibras/campo e número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, e entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$ apresentaram comportamento linear decrescente com o avançar da idade. Sendo assim, quanto maior a idade das aves, menor é a quantidade de fibras por campo.

Houve interação entre o sexo e a idade das aves para o número de fibras encontradas nas faixas de área entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ e 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$. Desdobrando a interação entre sexo e idade observou-se que os machos obtiveram 49 fibras musculares com área entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ aos 21 dias, enquanto as fêmeas apresentaram 33 fibras por campo de secção transversal na mesma idade. Contudo, na mesma idade as fêmeas obtiveram maiores números de fibras entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$ (21 fibras) quando comparados aos machos (14 fibras por campo).

Tab 3. Morfometria das fibras musculares de frangos de corte em diferentes idades.

Variável	Sexo		EPM ¹	Probabilidades		
	Fêmeas	Machos		Sexo (S)	Idade (I)	S x I
Número de fibras/campo	65	67	0,6100	0,5656	<0,0001	0,1149
Diâmetro das fibras (µm)	93,8	94,1	0,1600	0,9089	<0,0001	0,6857
Área das fibras (µm ²)	4632	4467	0,8800	0,6696	<0,0001	0,6862
Área ocupada por fibras/campo (%)	64,9	63,5	0,7230	0,1083	<0,0001	0,4389
Número de fibras distribuídas de acordo com a área						
Área menor que 1000 (µm ²)	6	9	0,6980	0,0007	<0,0001	0,0931
Área entre 1000 a 2000 (µm ²)	13	17	1,6800	0,0156	<0,0001	0,0019
Área entre 2000 a 3000 (µm ²)	16	17	1,2560	0,8079	<0,0001	0,9525
Área entre 3000 a 4000 (µm ²)	10	8	0,6880	0,0723	<0,0001	0,0120
Área entre 4000 a 5000 (µm ²)	5	6	0,4140	0,3716	<0,0001	0,5865
Área maior que 5000 (µm ²)	16	15	0,8820	0,0878	<0,0001	0,1129
Regressões polinomiais (Idade)						
	p-Valor	r ²	Equações			
Número de fibras/campo	<0,0001	0,9014	y=0,0781x ² -8,918x+280,178			
Diâmetro das fibras (µm)	<0,0001	0,7435	y=-0,0081x ² +2,390x+17,010			
Área das fibras (µm ²)	<0,0001	0,7808	y=164786x-1515,278			
Área ocupada por fibras/campo (%)	<0,0001	0,5720	y=-0,584x+85,644			
Área menor que 1000 (µm ²)	<0,0001	0,4964	y=-0,518x+26,240			
Área entre 1000 a 2000 (µm ²) (F)	<0,0001	0,7592	y=-1,116x+53,613			
Área entre 1000 a 2000 (µm ²) (M)	<0,0001	0,6209	y=-1,680x+78466			
Área entre 2000 a 3000 (µm ²)	<0,0001	0,7920	y=-1,681x+77,880			
Área entre 3000 a 4000(µm ²) (F)	<0,0001	0,7489	y=-0699x+35,226			
Área entre 3000 a 4000 (µm ²) (M)	<0,0001	0,4629	y=-0,424+23,666			
Área entre 4000 a 5000 (µm ²)	<0,0001	0,4732	y=-0,0355x ² +2,420x-31,726			
Área maior que 5000 (µm ²)	<0,0001	0,8464	y=-0,0579x ² +4,702x-72,600			
Diferença das médias por dia de avaliação						
Variável	Sexo	Dias				
		21	35	42	49	
Área entre 1000 a 2000 µm ²	Fêmeas	33	8	6	3	
	Machos	49	9	5	4	
	Valor de P	<0,0001	0,8431	0,8122	0,7817	
Área entre 3000 a 4000 µm ²	Fêmeas	21	10	5	2	
	Machos	14	11	5	2	
	Valor de P	<0,0001	0,6854	0,6559	0,9677	

¹Erro padrão da média; (F): Fêmeas; (M): Machos

Aos 21 dias, a presença de fibras em fagocitose (FF) e fibras regenerativas (FR) foi influenciada pelo sexo das aves, na qual machos apresentaram maiores ocorrências dessas lesões (87% de FF e 93% FR) quando comparados às fêmeas (53% de FF e 47% de FH) conforme Fig 5. As fibras musculares das fêmeas não apresentaram hiperplasia miofibrilar (HM), enquanto 7% dos machos apresentaram tal lesão. Contudo, tanto machos quanto as fêmeas não apresentaram infiltração de tecido adiposo (TA), mas ambos tiveram alta incidência de células inflamatórias (CI), 80% das fêmeas e 100% dos machos.

Observa-se ainda, que as fêmeas exibiram fibras com diâmetros regulares, núcleos periféricos, espaço endomisial mínimo sem a presença de fibras necróticas, contudo, observou-se discreto nível de células inflamatórias ao redor das fibras indicando início de possíveis degenerações musculares e necrose (Fig 6A). Os machos, na mesma idade (Fig 6B) apresentaram variedade no tamanho das fibras, bem como fibras degeneradas, regeneradas e hipertróficas, além da infiltração por macrófagos (fagocitose) e aumento do espaço endomisial. É possível observar uma área de divisões múltiplas que se assemelham a um aglomerado de pequenas fibras.

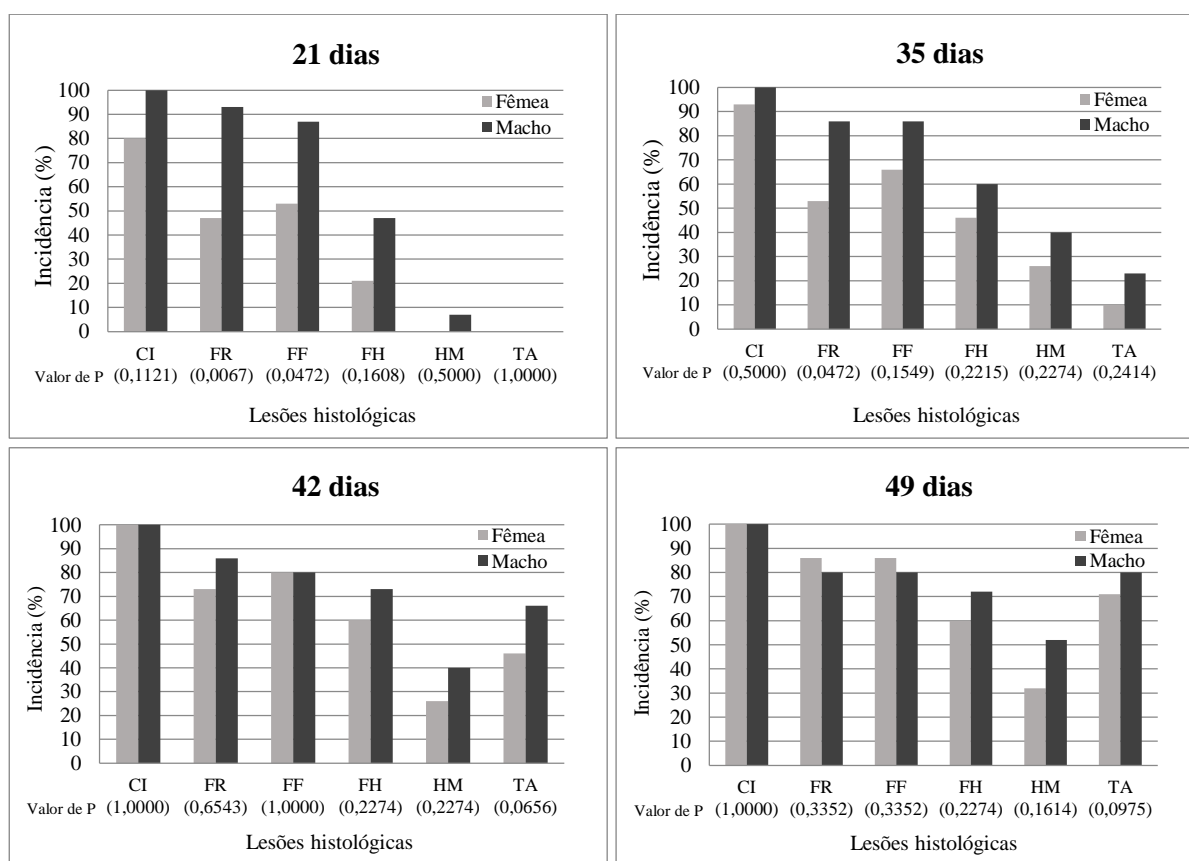


Fig 5. Frequência de lesões histológicas indicativas de miopatias na área de secção transversal da fibra muscular de frangos de corte. CI: Células inflamatórias; FR: Fibras regenerativas; FF: Fibras em fagocitose; FH: Fibras hipertróficas; HM: Hiperplasia miofibrilar; TA: Tecido adiposo. Qui-quadrado ($p < 0,05$).

Aos 35 dias observou-se uma evolução na presença das lesões histológicas principalmente nas fêmeas, uma vez que foi observado o surgimento de hiperplasia miofibrilar nas fêmeas, e infiltração de tecido adiposo em ambos os sexos (Fig 5). Contudo, o sexo influenciou apenas na presença de FR, sendo que machos apresentaram 86% de ocorrência enquanto as fêmeas apenas 53%. As principais alterações histopatológicas consistiram em necrose e degeneração e internalização dos núcleos das fibras, além do aparecimento excessivo de células inflamatórias, como macrófagos e considerável aumento da variabilidade do tamanho das fibras, bem como o aparecimento de fibras hipertróficas (Fig 6C e D). Os achados foram consistentes e semelhantes entre os sexos, todavia as lesões

das amostras musculares oriundas de machos apresentavam lesões mais acentuadas e macrófagos imersos em tecido conjuntivo e espaço endomisial maior.

Além disso, fagocitose dos restos miofibrilares podem ser observadas nas Fig 6E, F, G e H, além de mostrar algum grau de regeneração desses miócitos e presença de células de baixo calibre ao redor das células hipertróficas, indicando regeneração de algumas miofibras. Fibras hipertrofiadas mostram divisões lineares internas e núcleos ao redor das partições, também chamada de hiperplasia fibrilar.

Aos 42 dias, observou-se o contínuo agravamento das lesões de modo geral, especialmente na presença de infiltração de TA em ambos os sexos, 46% das fêmeas e 66% dos machos. Nas análises realizadas aos 49 dias de idade, as ocorrências das lesões histológicas foram similares às observadas aos 42 dias, ou seja, foi observada a presença de todas as lesões listadas nas amostras analisadas, não havendo ausência de alguma delas. Além disso, ocorreu um agravamento na frequência dessas lesões, evidenciado principalmente nas fêmeas que até então não tinham apresentado hiperplasia miofibrilar e infiltração de tecido adiposo avaliado aos 21 dias.

Nas imagens histológicas, observa-se aumento das lesões celulares citadas anteriormente, consistindo no aumento da internalização dos núcleos, degeneração e necrose das fibras e infiltração acentuada de macrófagos (Fig 6G e H), além da substituição de tecido muscular por tecido adiposo. Desta forma, essas lesões histomorfológicas corroboram com as classificações macroscópicas realizadas aos 49 dias, e os resultados mostram como a taxa de crescimento é correlacionada com a gravidade das miopatias e suas alterações em nível celular.

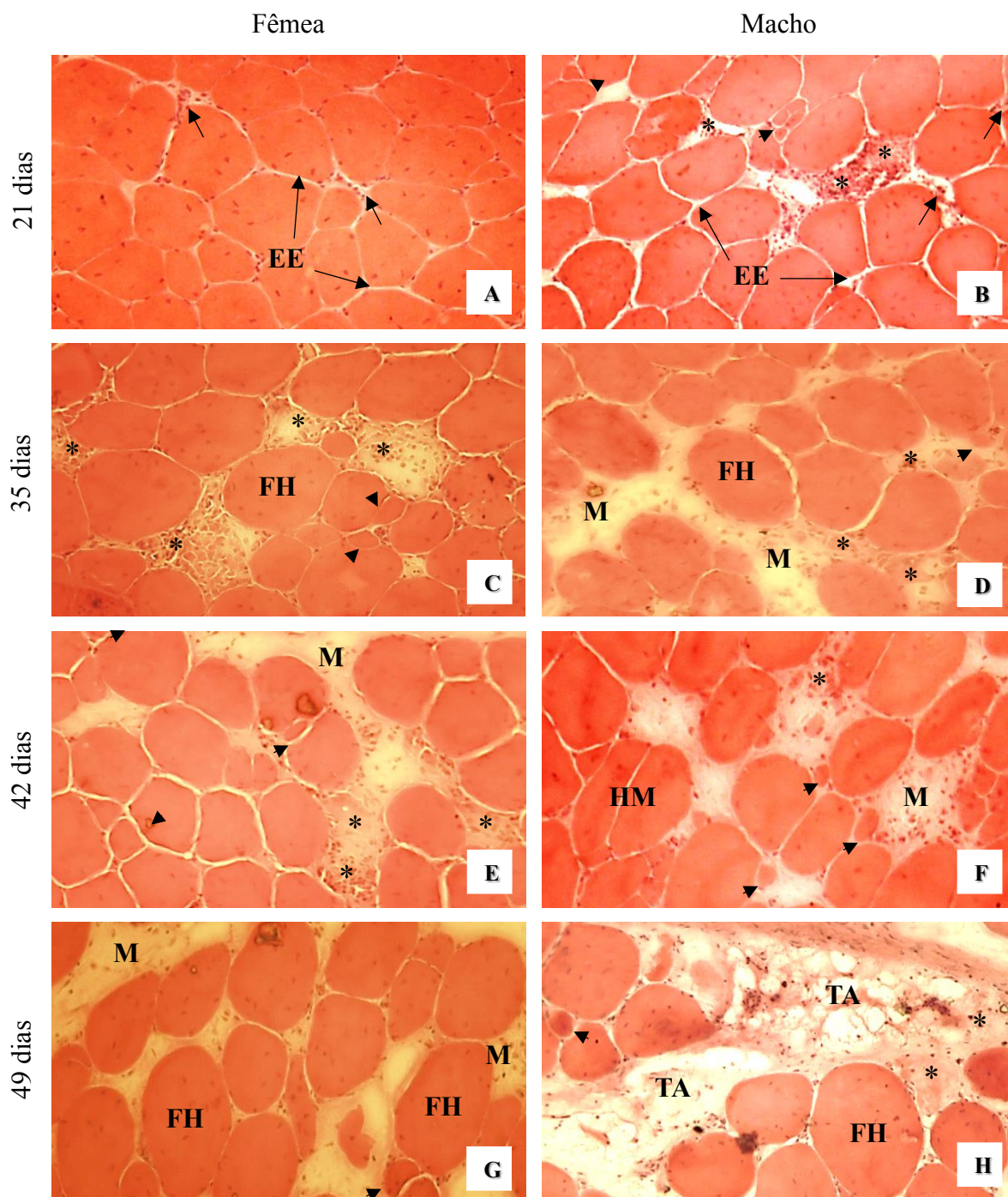


Fig 6. Lesões miopáticas em frangos de corte fêmeas e machos de acordo com a idade. Fêmeas: A, C, E, G; Machos: B, D, F, H; 21 dias (A, B), 35 dias (C, D), 42 dias (E, F) e 49 dias de idade (G, H). EE: Espaço endomisial; Seta: Presença de células inflamatórias; Cabeça da seta: Fibras pequenas com núcleos centrais; Asteriscos: Fibra fragmentada em fagocitose; FH: Fibras hipertróficas; M: Presença de macrófagos em tecido conjuntivo; HM: Hiperplasia miofibrilar; TA: Substituição de tecido muscular por tecido adiposo.

Correlação entre as técnicas não invasivas e as alterações histológicas

A temperatura superficial das fêmeas apresentou correlação negativa fraca com as variáveis de profundidade total do filé, peso vivo e área das fibras, ou seja, a temperatura superficial das aves tende a diminuir conforme o aumento das variáveis listadas (Tab 4). O comportamento inverso ocorreu com o número e área das fibras, em que obtiveram correlação fraca positiva. Contudo, obteve-se correlação moderada positiva com o número de fibras com área menor que 1000 μm^2 , entre 2000 a 3000 μm^2 e maiores que 5000 μm^2 .

A ecogenicidade teve fraca correlação negativa com as variáveis de profundidade total do filé, peso vivo, diâmetro e área das fibras e com o número de fibras com área entre 4000 a 5000 μm^2 e maior que 5000 μm^2 ; e, fraca correlação positiva com as variáveis de número de fibras por campo e o número de fibras com área menor que 1000 μm^2 , entre 1000 a 2000 μm^2 e entre 2000 a 3000 μm^2 . Já a profundidade total do filé apresentou forte correlação positiva com as variáveis de peso vivo, diâmetro, área e número de fibras maiores que 5000 μm^2 . Contudo, apresentou correlação forte e negativa com o número, área e número de fibras encontradas em todas as faixas de área, com exceção de fibras maiores que 5000 μm^2 .

O peso vivo demonstrou ter forte correlação positiva com a profundidade total do filé, diâmetro, área e número de fibras maiores que 5000 μm^2 . A variável peso vivo apresentou forte correlação negativa com o número de fibras por campo e número de fibras de todas as faixas de tamanho, exceto a quantidade de fibras maiores que 5000 μm^2 . Indicando que quanto maior o peso da ave, menor é a quantidade de fibras, contudo maiores são as fibras musculares existentes.

O número de fibras por campo obteve forte correlação negativa com o diâmetro, área e número de fibras com área maior que 5000 μm^2 e forte correlação positiva com todas as faixas de área das fibras, exceto com área maior que 5000 μm^2 . Já o diâmetro das fibras obteve forte correlação positiva com a área e número de fibras com área maior que 5000 μm^2

e forte correlação negativa com a área ocupada por fibra/campo e as fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$, entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$, entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$ e entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$. Sendo assim, quanto maior a área ocupada por fibras/ campo, menores são as fibras musculares existentes.

A área das fibras obteve forte correlação negativa com o número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$, entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$ e entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$; e forte correlação positiva com o número de fibras encontradas com área maior que $5000 \mu\text{m}^2$. A área ocupada por fibra/campo demonstrou média correlação positiva com todas as faixas de área das fibras, com exceção de fibras maiores que $5000 \mu\text{m}^2$, com a qual demonstrou fraca correlação negativa.

A correlação entre as variáveis analisadas nos machos obteve um comportamento semelhante ao ocorrido com as fêmeas (Tab 5). A temperatura superficial demonstrou estar correlacionada de forma moderada com todas as variáveis analisadas, com exceção do número de fibras com área entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$. Entretanto, obteve correlação negativa entre a maioria das variáveis, como a ecogenicidade, profundidade do filé, peso vivo, diâmetro e área das fibras, enquanto os parâmetros de área ocupada por fibras/campo e o número de fibras encontradas com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$, entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$ e entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$ foram correlacionadas de forma moderada e positiva.

Os valores de ecogenicidade foram correlacionados de forma moderada e negativa com a profundidade total do filé, peso vivo, diâmetro e área das fibras e com o número de fibras com área entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$ e maior que $5000 \mu\text{m}^2$. Contudo, correlacionou-se de forma moderada e positiva com o número de fibras por campo, área ocupada por fibras/campo e todas as faixas de área, com exceção do número de fibras com área maior que $5000 \mu\text{m}^2$.

Tab 4. Coeficiente de Correlação entre as variáveis analisadas *in vivo* e morfometria das fibras musculares de frangos de corte fêmeas.

	Temperatura Superficial (°C)	Ecogenicidade	Profundidade total do filé (cm)	Peso Vivo (kg)	Número de fibras por campo	Diâmetro das fibras (µm)	Área das fibras (µm ²)	Área ocupada por fibras/campo (%)
FÊMEAS								
Ecogenicidade	0,2012 ^{NS}							
Profundidade total do filé (cm)	-0,2944*	-0,2004*						
Peso Vivo (kg)	-0,2636*	-0,1837**	0,9742***					
Número de fibras/campo	0,1144*	0,3088**	-0,9017***	-0,9162***				
Diâmetro das fibras (µm)	-0,1751	-0,3002**	0,7999***	0,8211***	-0,9133***			
Área das fibras (µm ²)	-0,3074**	-0,2901*	0,8780***	0,8864***	-0,8844***	0,9008***		
Área ocupada por fibras/campo	0,3856**	0,0657 ^{NS}	-0,7724***	-0,7469***	0,6780***	-0,6666***	-0,7573***	
Área menor que 1000 µm ²	0,0596*	0,4462 ^{NS}	-0,7772***	-0,7912***	0,8859***	-0,7946***	-0,7795***	0,5170***
Área entre 1000 a 2000 µm ²	0,0574 ^{NS}	0,4327**	-0,8355***	-0,8493***	0,9510***	-0,8248***	-0,7960***	0,5704***
Área entre 2000 a 3000 µm ²	0,0726*	0,3794**	-0,8529***	-0,8655***	0,9459***	-0,8152***	-0,7898***	0,5766***
Área entre 3000 a 4000 µm ²	0,2206 ^{NS}	0,2096 ^{NS}	-0,8376***	-0,8584***	0,8582***	-0,8098***	-0,8375***	0,6309***
Área entre 4000 a 5000 µm ²	0,3536**	-0,2561*	-0,7101**	-0,1582 ^{NS}	0,7000 ^{NS}	-0,1337 ^{NS}	-0,2432 ^{NS}	0,3732 ^{NS}
Área maior que 5000 µm ²	0,6234*	-0,3879**	0,6849***	0,7072***	-0,8144***	0,6685***	0,6031***	-0,2751***

* $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$, ^{NS}Não Significativo.

Da mesma forma, os resultados encontrados neste estudo demonstram que a profundidade total do filé e o peso vivo obtiveram correlação com a maioria das variáveis, sendo que obteve forte correlação positiva com o peso vivo, diâmetro e área das fibras bem como o número de fibras com área maior que $5000 \mu\text{m}^2$. Já com o número de fibras por campo, área ocupada por fibras/campo e com o número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$, entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$ e entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$ obtivemos forte correlação negativa, ou seja, quanto mais espesso o filé menor o valor dos parâmetros.

Tratando-se das variáveis histológicas, o número de fibras por campo demonstrou-se correlacionado fortemente de maneira negativa com o diâmetro, área e número de fibras com área maior que $5000 \mu\text{m}^2$, e de forma positiva com a área das fibras e o número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ e entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$.

Tanto o diâmetro quanto a área das fibras apresentaram forte correlação negativa com a área ocupada por fibras/campo e o número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ e entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$. E ainda apresentou moderada correlação negativa com o número de fibras com área entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$. Além disso, o diâmetro das fibras foi correlacionado de forma forte e positiva com a área das fibras, ou seja, quanto maior o diâmetro, maior a área das fibras.

Já a área ocupada por fibras/campo obteve moderada correlação positiva com o número de fibras com área menor que $1000 \mu\text{m}^2$, entre 1000 a $2000 \mu\text{m}^2$ e entre 3000 a $4000 \mu\text{m}^2$; forte correlação positiva com o número de fibras com área entre 2000 a $3000 \mu\text{m}^2$; fraca correlação positiva com o número de fibras com área entre 4000 a $5000 \mu\text{m}^2$; e, moderada correlação negativa com o número de fibras com área maior que $5000 \mu\text{m}^2$. Sendo assim, quanto maior a área ocupada por fibras/campo menor será o número de fibras maiores que $5000 \mu\text{m}^2$. Demonstrando que quanto maior a área ocupada por fibras/campo, menores são o tamanho das fibras e maior o número de fibras existentes.

Tab 5. Coeficiente de Correlação entre as variáveis analisadas *in vivo* e morfometria das fibras musculares de frangos de corte machos.

	Temperatura Superficial (°C)	Ecogenicidade	Profundidade total do filé (cm)	Peso Vivo (kg)	Número de fibras por campo	Diâmetro das fibras (µm)	Área das fibras (µm ²)	Área ocupada por fibras/campo (%)
MACHOS								
Ecogenicidade	-0,3818**							
Profundidade total do filé (cm)	-0,6655***	-0,5593***						
Peso Vivo (kg)	-0,6868***	-0,5213***	0,9620***					
Número de fibras/campo	0,6150***	0,6144***	-0,8791***	-0,9220***				
Diâmetro das fibras (µm)	-0,5747***	-0,4928***	0,8009***	0,8626***	-0,9066***			
Área das fibras (µm ²)	-0,5969***	-0,3796**	0,8117***	0,8573***	-0,8608***	0,9299***		
Área ocupada por fibras/campo	0,5493***	0,3984**	-0,8080***	-0,8075***	0,7622***	-0,6888***	-0,7522***	
Área menor que 1000 µm ²	0,5002***	0,4677**	-0,6536***	-0,6960***	0,8375***	-0,7411***	-0,7193***	0,5305***
Área entre 1000 a 2000 µm ²	0,5309***	0,5688***	-0,7416***	-0,7747***	0,9266***	-0,7818***	-0,7190***	0,5888***
Área entre 2000 a 3000 µm ²	0,5773***	0,6752***	-0,8267***	-0,8781***	0,9243***	-0,8246***	-0,7691***	0,7023***
Área entre 3000 a 4000 µm ²	0,4078**	0,2631*	-0,6353***	-0,6753***	0,5157***	-0,5776***	-0,6199***	0,6018***
Área entre 4000 a 5000 µm ²	-0,3694 ^{NS}	-0,3861**	-0,0960 ^{NS}	-0,0645 ^{NS}	-0,1366 ^{NS}	-0,0029 ^{NS}	-0,1520 ^{NS}	0,2242 ^{NS}
Área maior que 5000 µm ²	-0,4578**	-0,6111***	0,7210***	0,7806***	-0,8458***	0,7364***	0,6431***	-0,4825***

* $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,01$, *** $P \leq 0,001$, ^{NS}Não Significativo.

Discussão

No presente estudo, analisamos a intensidade de ecogenicidade medida através das imagens de ultrassom e temperatura superficial do peito de frangos de corte pela termografia infravermelha como ferramentas de diagnóstico *in vivo* das miopatias peitorais *White striping* e *Wooden breast*, utilizando a técnica de biópsia como ferramenta de apoio para coletas de material para estudo histológico sequencial.

Através das ondas sonoras de alta frequência do equipamento de ultrassom, é possível realizar a captura dos reflexos do som nas estruturas dentro do corpo e produzir imagens de vários tecidos. Estudos anteriores já mostraram que existe uma forte correlação entre os achados da biópsia muscular e a intensidade da ecogenicidade, visto que a infiltração de gordura e tecido fibroso foram responsáveis por um aumento da reflexão das ondas, resultando em intensidades de ecogenicidade mais altas (Reimers et al., 1993; Piller et al., 2009).

Os resultados encontrados nesta pesquisa demonstram o decréscimo no valor de ecogenicidade com ponto de inflexão aos 28 dias, com um aumento dos valores a partir dos 35 aos 49 dias de idade das aves (Tab 1), além da moderada correlação negativa entre as variáveis de ecogenicidade, profundidade do filé e peso vivo de machos e baixa correlação em fêmeas, sugerindo que quanto menores as variáveis de peso e profundidade do filé, maiores são os valores de ecogenicidade (Tab 4 e 5). Esses resultados vão contra o esperado, visto que se esperava o aumento dos valores de ecogenicidade de acordo a evolução das lesões características das miopatias, como o aumento da fibrose e infiltração de gorduras, sobretudo *Wooden breast*, conforme as lesões histológicas descritas por Sihvo et al. (2014) e Clark & Velleman et al. (2017), fato que só ocorreu após 28 dias. Pesquisas relataram que a intensidade de ecogenicidade pode ser aumentada por doenças degenerativas, justificando que a arquitetura anatômica das células musculares é interrompida através da

substituição por tecido conjuntivo e tecido adiposo (Heckmatt et al., 1985; Sholten et al., 2003).

Segundo Sholten et al. (2003) o transdutor utilizado para a ultrassonografia muscular deve garantir boa penetração das ondas no tecido (baixa frequência), e boa resolução espacial (alta frequência). Neste estudo, o transdutor de 3,5 MHz pode não ter garantido penetração tecidual suficiente no músculo do peito dos frangos de corte aos 14 e 21 dias de idade devido ao seu tamanho reduzido, limitando a utilização a técnica nessas condições. Um transdutor com frequência de 7,5 MHz poderia ter sido mais eficaz para a mensuração dos valores de ecogenicidade nas idades iniciais por ser utilizado em músculos menores e promover a captura de imagem com melhor qualidade, como ocorre na medicina humana (Sholten et al., 2003).

Observando os valores de ecogenicidade apresentados aos 28, 35, 42 e 49 dias (Tab 1) verificamos o aumento exponencial dos valores, indicando que a partir dessa idade e profundidade do músculo a frequência de 3,5 MHz pode ter garantido boa penetração e reflexão das ondas. Esses resultados corroboram com as pesquisas de Reimerns et al. (1993) e Pillen et al. (2009) em que relataram maiores intensidades de ecogenicidade de acordo com o aumento de fibrose e infiltração de tecido adiposo. Outro ponto a ser considerado é que, com o avançar da idade das aves, ocorre o aumento de diâmetro e área da fibra muscular (Tab 3), isso faz com que a distância entre as superfícies refletivas aumente e o número de reflexos por centímetro quadrado diminui, consequentemente causa a diminuição da ecogenicidade em tecidos saudáveis, o inverso do encontrado nesta pesquisa (Sholten et al., 2003).

Ressalta-se que, aos 49 dias de idade, 100% das aves utilizadas neste estudo desenvolveram algum grau de *White Striping*, onde a maioria apresentou grau moderado e severo e 97% apresentaram graus de *Wooden breast*, em sua maioria grau severo. O aumento

dos graus das lesões histopatológicas de acordo com a idade das aves também pode ser observado nas análises histológicas realizadas a partir da coleta de material pela técnica de biópsia (Fig 1). Levando em consideração a anatomia e profundidade do músculo *Pectoralis major* nas diferentes idades avaliadas, fica claro que mais pesquisas necessitam ser realizadas com o intuito de identificar qual a frequência do transdutor é a ideal para a realização de imagens de ultrassom em frangos de corte.

A acelerada taxa de crescimento dos frangos pode justificar a diferença da intensidade de ecogenicidade medida em imagens de ultrassom, visto que os machos apresentaram maiores valores de ecogenicidade. De acordo com Kuttappan et al. (2012) a acelerada taxa de crescimento dos machos resulta em maior ocorrência das miopatias e conseqüentemente, maior quantidade de tecido fibroso e substituição de tecido muscular por tecido adiposo, o que segundo Pillen et al. (2009) acarreta em áreas com maiores intensidades de ecogenicidade.

As estimativas das correlações de Pearson entre as medidas de ultrassom e o peso vivo no presente estudo variam entre 0,96 e 0,97 e, além disso, as imagens podem ser registradas de forma rápida e não invasiva. A precisão e exatidão da ultrassonografia quantitativa do músculo, como a medida da profundidade do filé de peito, é um modelo confiável para a seleção de características benéficas em relação à conformação da ave (Farhat & Chavez, 2001; Lin et al., 2018). A utilização dessas medidas pode melhorar a acurácia de seleção para ganho peso (Case et al., 2012).

Na medida em que as aves cresceram, o gradiente de temperatura superficial do peito aumentou. Aos 14 dias, o gradiente máximo foi de 2 °C tanto para machos quanto para fêmeas, porém aos 49 dias atingiu 5 °C em toda a superfície dos filés. Este fato pode ser atribuído ao surgimento das miopatias, visto que o processo de desenvolvimento inicia-se de forma focal, na área cranial do músculo, e com o aumento da severidade as lesões tornam-se

difusas, espalhando-se por toda a superfície do filé (Kuttappan et al., 2016; Clark & Velleman, 2017). Avaliações sobre a distribuição da temperatura na área cranial, medial e caudal do músculo pode fornecer informações acerca da relação entre o gradiente de temperatura e a distribuição das lesões miopáticas. Quando apenas as temperaturas absolutas da superfície foram consideradas, a tendência geral foi uma diminuição da média para ambos os sexos de acordo com o tempo (Tab 1).

Observa-se no presente estudo que na medida em que o diâmetro e área das fibras musculares aumentam, ocorre a diminuição da temperatura superficial dos peitos de frangos de corte (Tab 4 e 5). Ainda nessa linha de raciocínio, quanto menor a área ocupada por fibras/campo, menor será a temperatura no local. Além disso, a menor área ocupada por fibras/campo pode ser dada pela degeneração muscular existente, visto que a diminuição da área ocupada por fibras está correlacionada de forma positiva com o número de fibras com menores diâmetros indicando processos regenerativos, além da substituição das fibras musculares por tecido conjuntivo. Outro ponto a ser considerado, é a seleção para aumento de ganho de peso, em que consistiu na indução da hipertrofia das fibras já existentes e, em menor grau, a hiperplasia miofibrilar como um mecanismo compensatório, visto que o número de fibras musculares existentes é fixado após a eclosão (Branciarri et al., 2009; Petracci et al., 2015). Esse aumento no tamanho das fibras está associado à menor densidade de capilares sanguíneos, além de pressionar os capilares sanguíneos, reduzindo a possibilidade de dilatação dos vasos levando ao inadequado suprimento de oxigênio (Boerboom et al., 2018), e a possível queda na temperatura superficial de acordo com o presente estudo.

O inadequado suprimento de oxigênio e nutrientes são considerados fatores intimamente ligados as miopatias *Wooden breast* e *White striping*. Além disso, os achados histológicos (Fig 1) e morfométricos (Tab 3) do presente estudo são consistentes quando

comparados com o padrão de desenvolvimento das miopatias musculares, que são caracterizadas pelo aparecimento de fibras pequenas indicativas de processos regenerativos ocasionados pela degeneração das fibras musculares de maior calibre, fibrose e infiltração de células inflamatórias (Sihvo et al., 2014; Velleman & Clark, 2015). Diante do exposto, a termografia infravermelha como método de avaliação *in vivo* das miopatias *White striping* e *Wooden breast* revelou-se uma ferramenta interessante e indicativa das lesões miopáticas em machos.

Esses resultados apresentados são consistentes com as lesões histológicas demonstradas nas figuras 1 e 2, onde é possível verificar a diminuição da quantidade de fibras musculares por área de corte transversal, aumento no diâmetro e área das fibras (fibras hipertróficas), além da visualização do aumento de tais lesões de acordo com o avançar da idade das aves, como hiperplasia miofibrilar, infiltração de tecido adiposo, fibras em fagocitose e fibras em regeneração que corroboram com o acometimento das miopatias *White striping* e *Wooden breast* já descritas na literatura (Ferreira et al., 2014; Sihvo et al., 2018).

No presente estudo, o aumento da área das fibras musculares foi amplamente associado ao aumento da presença de fibras musculares anormais. As fibras musculares de pequeno calibre indicam a existência de um processo de regeneração e também foram associadas com a presença de fibras anormais, ou seja, com algum tipo de lesão tecidual, como já foram descritas em frangos de corte e em perus com miopatias e até mesmo algum tipo de distrofia muscular (Pizzey & Barnardi, 1983; Polak et al., 2010). No mesmo contexto, a infiltração de tecido adiposo também está incluída como alternativa ao mecanismo falho de regeneração das fibras musculares (Kuttappan et al., 2013).

Alguns autores descreveram que a seleção para o aumento do tamanho das fibras musculares é uma das principais razões para o aparecimento de fibras hipertróficas, com área três a cinco vezes maiores que as fibras normais (Petracchi et al., 2013). De acordo com isso,

Miraglia et al. (2006) encontraram um aumento na porcentagem dessas fibras no músculo peitoral de aves de crescimento rápido em comparação com aves de crescimento lento. Em contrapartida, não houve aumento das fibras hiperplásicas em outros músculos oriundos dessas mesmas aves.

Além das anomalias citadas acima, existe uma mudança distinta do tecido conjuntivo perimisial e endomisial. Essas alterações frequentemente estão associadas com a infiltração de células inflamatórias e fibras em fagocitose (Petracci et al., 2013). As características histopatológicas como hipertrofia, modificação no perfil das fibras musculares, presenças de infiltrados inflamatórios são acompanhados de anormalidades ultra-estruturais e enzimáticas, e foram identificadas como lesões características de miopatias (Kuttappan et al., 2013; Petracci et al., 2013; Sihvo et al., 2014).

Todos os parâmetros analisados nos frangos de corte machos apresentaram correlações significativas maiores e melhores quando comparados às fêmeas, principalmente entre as variáveis relacionadas à morfometria das fibras musculares (Tab 5). Bauermeister et al. (2009) e Kuttappan et al. (2013) relataram que a incidência das miopatias aumentaram em até 50% devido às diferenças de peso vivo e sexo das aves. Pode-se dizer que as diferenças encontradas neste estudo, estão ligadas diretamente as diferenças de ganho de peso dos machos e fêmeas, visto que o exame histológico das fibras musculares mostrou um aumento do acometimento das lesões de acordo com o avançar da idade das aves independentemente do sexo (Tab 2 e 3). Os resultados encontrados confirmam que a gravidade das lesões histológicas miopáticas aumenta conforme o aumento do peso ao abate e diferenças na taxa de crescimento.

Os frangos de corte são afetados em grande parte por essas miopatias peitorais e as observações macroscópicas e microscópicas correspondem a um exame geral da estrutura das fibras musculares, desta forma, mais informações sobre o tempo e os mecanismos de

ocorrência nos permitiria modular os fatores de produção com o intuito de reduzir a presença e o grau dessas anormalidades.

Conclusão

A ultrassonografia com transdutor de 3,5 Mhz detectou alterações no músculo peitoral após 28 dias de idade condizente com as lesões miopáticas estudadas. A termografia infravermelha é um método confiável para detectar as alterações na faixa de temperatura superficial de acordo com os arranjos das fibras musculares e mostrou um indicativo para o acometimento das miopatias nos frangos de corte machos. A técnica de biópsia pode ser utilizada na avaliação diagnóstica em frangos de corte.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro e a empresa Bello alimentos Ltda – Frango Bello pelo fornecimento das aves e insumos necessários para a condução desta pesquisa.

Referências

Bauermeister LJ, Morey AU, Moran ET, Singh M, Owens CM, McKee SR. Occurrence of white striping in chicken breast fillets in relation to broiler size. *Poultry Science*. 2009; 88 (Suppl. 1):33. pmid:23687165

Boerboom G, Van Kempen T, Navarro-Villa A, Pérez-Bonilla A. Unraveling the cause of white striping in broilers using metabolomics. *Poultry Science*. 2018; (97): 3977–3986. pmid:29931266

Branciarri, R., Mugnai, C., Mammoli, R., Miraglia, D., Ranucci, D., Dal Bosco, et al. Effect of genotype and rearing system on chicken behavior and muscle fiber characteristics. *Journal of Animal Science* 2009; 87: 4109-4117. pmid:19684275

Brot S, Perez S, Shivaprasad HL, Baiker K, Polledo L, Clark M, Grau-Roma L. Wooden breast lesions in broiler chickens in the UK. *Veterinary Record* 2016; 178: 141. pmid:26755613

Case LA, Wood BJ, Miller SP. The investigation of ultrasound technology to measure breast muscle depth as a correlated trait to breast meat yield in turkey (*Meleagris gallapavo*). *Journal of Animal Science*. 2012; (90): 3410–3417. pmid:22665648

Clark DL, Velleman SG. Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers. *Poultry Science* 2017; 95:2930-2945. pmid:27444449

Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR. The role of thermography in the management of equine lameness. *Veterinary Journal*. 2001; (162): 172–181. pmid:11681868

Farhat A, Chavez ER. Metabolic Studies on Lean and Fat Pekin Ducks Selected for Breast Muscle Thickness Measured by Ultrasound Scanning. *Poultry Science* 2001; 80:585-591. pmid:11372707

Ferreira TZ, Casagrande RA, Vieira SL, Driemeier D, Kindlein L. An investigation of a reported case of White striping broilers. *Journal Applied of Poultry Research*. 2014; 23 :748–753.

Kirchofer KS, Calkins CR, Gwartney BL. Fiber-type composition of muscles of the beef chuck and round. *Journal of animal Science* 2002; 80:2872-2878. pmid:12462254

Kuttappan VA, Brewer VB, Apple JK, Waldroup PW, Owens CM. Influence of growth rate on the occurrence of white striping in broiler breast fillets. *Poultry Science* 2012; 91: 2677–2685. pmid:22991557

Kuttappan VA, Huff GR, Huff WE, Hargis BM, Apple JK, Coon C, Owens CM. Comparison of hematologic and serologic profiles of broiler birds with normal (NORM) and severe (SEV) degrees of WS in breast fillets. *Poultry Science* 2013; 92: 339–345. pmid:23300298

Kuttappan VA, Hargis BM, Owens CM. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: A review. *Poultry Science* 2016; 95: 2724– 2733. pmid: 27450434

Levadoux E, Morio B, Montaurier C, Puissant V, Boirie Y, Fellmann N, Picard B, Rousset P, Beaufreere B, Ritz P. Reduced whole-body fat oxydation in women and in the elderly. *International Journal of Obesity* 2001; 25: 39–44. pmid: 11244456

Lin BF, Zhu F, Hao JP, Yang FX, Hou ZC. In vivo prediction of the carcass fatness using live body measurements in Pekin ducks. *Poultry Science* 2018; 0:1-7. pmid: 29618042

Miraglia D, Mammoli R, Branciarri R, Ranucci D, Cenci Goga BT. Characterization of muscle fibre type and evaluation of the presence of giant fibers in two meat chicken hybrids. *Veterinary Research Communities*. 2006; 30:357–360.

Mudalal S, Babini E, Cavani C, Petracci M. Quantity and functionality of protein fractions in chicken breast fillets affected by white striping. *Poultry Science* 2014; 93: 2108–2116. pmid:24902697

Nääs IA, Romanini CEB, Neves DP, Nascimento GR, Vercelliino RA. Broiler surface temperature distribution of 42 day old chickens. *Scientia Agrícola* 2010, 67: 497-502.

Oviedo-Rondo'n EO, Parker J, Clemente-Hernandez S. Application of real time ultrasound technology to estimate in vivo breast muscle weight of broiler chickens. *British Poultry Science* 2007; 48: 154–161. pmid:17453806

Petracci M, Mudalal S, Bonfiglio A, Cavani C. Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, v. 92, p. 1670–1675, 2013. pmid:23687165

Petracci M, Mudalal S, Soglia F, Cavani C. Meat quality in fast-growing broiler chickens. *Worlds Poultry Science* 2015; 71: 363–374.

Pillen S, Tak RO, Zwarts MJ, Lammens MMY, Verrijp KN, Arts IMP, et al. Skeletal muscle ultrasound: Correlation between fibrous tissue and echo intensity. *Ultrasound in Medicine and Biology* 2009; 35: 443–446. pmid:19081667

Pizzey JA, EA Barnard. Structural changes in muscles of the dystrophic chicken. II. Progression of the histopathology in the pectoralis muscle. *Neuropathology Applied Neurobiology*. 1983; 9:149–164. pmid:6866210

Polak M, Przybylska-Gornowicz B, Faruga A. The effect of different rearing condition on muscle characteristic in broilers of two commercial lines. A light microscopic study. *Japanese Poultry Science*. 2010; 47:125–132.

Quentin M, Bigot K, Tesseraud S, Boirie Y, Bouvarel I, Picard M. Is Ribosomal Capacity a Potential Metabolic Marker of Muscle Development? Measurement by Muscular Biopsy. *Poultry Science* 2003; 82: 1530–1535. pmid:14601728

Rostagno HS, Albino LFT, Hannas MI, Donzele JL, Sakomura NK, Perazzo FG, et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos. 4ªedição, Viçosa, MG: UFV, 2017.

Reimers K, Reimers CD, Wagner S, Paetzke I, Pongratz DE. Skeletal muscle sonography: a correlative study of echogenicity and morphology. *J Ultrasound Med* 1993; 12:73–77. pmid:8468739

Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Veterinary Pathology* 2014; 51: 619–623. pmid:23892375

Sihvo HK, Lindén J, Airas N, Immonen K, Valaja J, Puolanne E. Wooden Breast Myodegeneration of Pectoralis Major Muscle Over the Growth Period in Broilers. *Veterinary Pathology* 2016, 54: 119–128. pmbi: 27511311

Sihvo HK, Airas N, Lindén J, Puolanne E. Pectoral vessel density and early ultrastructural changes in broiler chicken wooden breast myopathy. *Journal of Comparative Pathology*. 2018; (161): 1–10.

Scholten RR, Pillen S, Verrips A, Zwarts MJ. Quantitative ultrasonography of skeletal muscles in children: Normal values. *Muscle Nerve* 2003; 27:693– 698. pmid:12766980

Velleman SG. Relationship of skeletal muscle development and growth to breast muscle myopathies: a review. *Avian Diseases* 2015; 59: 525–531.

Velleman SG, Clark DL. Histopathologic and Myogenic Gene Expression Changes Associated with Wooden Breast in Broiler Breast Muscles. *Avian Diseases*. 2015; (59): 410 – 418.

Considerações Finais

O presente estudo envolve a validação de técnicas não-invasivas como ferramentas de avaliação *in vivo* das miopatias *White striping* e *Wooden breast*. Essa pesquisa contribui para o meio científico de forma a aumentar as alternativas de ferramentas e técnicas que possam ser adotadas com o propósito de avaliar a ocorrência das miopatias em frangos de corte, bem como auxiliar em seu entendimento e etiologia.

Com os resultados obtidos neste estudo verificamos que a ultrassonografia não foi capaz de identificar possíveis lesões ocasionadas por fibrose ou até mesmo infiltração por tecido adiposo como descrito na literatura. Desta forma, mais estudos são necessários para determinar a influência da localização e organização do tecido adiposo e fibroso sobre a medida de ecogenicidade em frangos de corte, além de estudos com transdutores com diferentes frequências de ondas.

A termografia infravermelha como método de avaliação *in vivo* das miopatias revelou-se uma ferramenta interessante e indicativa das lesões miopáticas em machos. Devem-se considerar estudos mais aprofundados relacionados ao gradiente de temperatura nas três regiões da musculatura peitoral, cranial, medial e caudal. Além disso, realizar as imagens tanto de ultrassonografia e termografia infravermelha e submeter as aves ao abate semanalmente para verificação dos graus de acometimento das miopatias pode revelar informações inéditas sobre o desenvolvimento e progressão das lesões.

É possível observar que a técnica de biópsia também pode ser considerada uma ferramenta de grande relevância nos estudos sobre a histologia do tecido muscular dos frangos de corte, visto que o desempenho e recuperação pós-cirúrgica das aves submetidas a essa técnica foram muito satisfatórios, de modo que as variáveis zootécnicas superaram os valores preconizados pela própria linhagem.

A busca por ferramentas que contribuam com estudos acerca das miopatias deve ser constante, investigando a etiologia, progressão e principalmente meios para evitá-las, tendo em vista que resultados consistentes com relação a esses tópicos são escassos e inconsistentes.