

Université de Montréal

**Rôle d'un ajout de vitamine E alimentaire dans la
prévention de la myopathie du poulet de chair**

par

Boniface Guetchom

Département de biomédecine vétérinaire

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option biomédecine

Décembre, 2010

© Boniface Guetchom, 2010

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé :

**Rôle d'un ajout de vitamine E alimentaire dans la
prévention de la myopathie du poulet de chair**

Présenté par :
Boniface Guetchom

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Yvon Couture, président-rapporteur
Younès Chorfi, directeur de recherche
Daniel Venne, co-directeur
Sonia Chénier, membre du jury

Résumé

Des études précédentes ont montré qu'une carence en vitamine E prédispose à la myopathie du poulet de chair. L'effet d'un ajout de vitamine E dans la diète commerciale sur la dégénérescence des fibres musculaires de la poitrine et de la cuisse a été étudié chez les poulets de chair. Des poulets mâles ROSS 308 (n = 1100) ont été assignés de façon aléatoire à deux traitements alimentaires (aliment commercial + 25 à 50 mg de vitamine E surajouté par kg vs aliment commercial + 0 mg de vitamine E supplémentaire). Les poulets ont été répartis sur 10 parquets (cinq répétitions par traitement). Le poids corporel et la consommation d'aliment ont été mesurés hebdomadairement. Aux jours j28, j35, j42 et j49, du sang a été prélevé pour mesurer le niveau de vitamine E et l'activité de la créatine kinase (CK). Les muscles *Pectoralis superficialis* et *Adductor magnus* ont été prélevés pour des analyses histologiques aux jours j28, j42 et j49; les fibres dégénérées ont été dénombrées sur chaque muscle prélevé. La concentration plasmatique de vitamine E était plus élevée dans le groupe supplémenté ($P = 0.001$). L'activité de la CK n'était pas différente dans les deux groupes ($P = 0.20$) mais très élevée, et n'était pas toujours en relation avec les dommages musculaires, à cause de grandes fluctuations de la CK entre les individus du même groupe. Le nombre de fibres endommagées était plus élevé dans le muscle *Pectoralis superficialis* (poitrine) que dans le muscle *Adductor magnus* (cuisse) dans les deux groupes; il y avait aussi moins de fibres dégénérées à j28 dans la poitrine des poulets qui ont reçus la diète supplémentée. Ces résultats suggèrent que l'ajout de vitamine E à la diète conventionnelle augmente le niveau de vitamine E dans le plasma et dans les tissus, diminue le nombre de fibres dégénérées dans la poitrine des jeunes poulets sans pour autant modifier la conversion alimentaire. La mesure de l'activité plasmatique de la CK ne saurait suffire à elle seule pour détecter précocement la myopathie nutritionnelle dans les élevages de poulets de chair.

Mots-clés : Myopathie nutritionnelle, dystrophie musculaire, vitamine E, poulet de chair, créatine kinase

Abstract

Previous studies have shown that vitamin E deficiency could lead to nutritional myopathy in broiler chickens. Vitamin E was added to a conventional commercial diet to evaluate its effect on breast and thigh muscle fibers degeneration in broiler chickens. Male chickens ROSS 308 (n = 1100) were randomly assigned to two dietary treatments (a commercial diet with 25 to 50 mg of extra vitamin E per kg of commercial diet and a commercial diet without extra vitamin E). Chickens were randomly divided into 10 pens (five replicates per treatment). Body weight and feed intake were monitored weekly. At d28, d35, d42 and d49 blood from chickens were sampled and assayed for level of vitamin E and creatine kinase (CK) activity. Both *Pectoralis superficialis* and *Adductor magnus* muscles from chickens were sampled for histological examination at d28, d42 and d49, and degenerated fibers were numbered. Plasma levels of vitamin E were higher in the supplemented group ($P = 0.001$), whereas activity of CK was high in both groups, but not significantly different ($P = 0.20$) due to strong fluctuations in CK activities within groups of these fast growing chickens. *Pectoralis superficialis* muscle had more damaged fibers than *adductor's* in both groups. There were less degenerated fibers in pectoral muscle from d28 chickens receiving the supplemented diet. These results suggested that adding vitamin E into conventional diet increases plasma vitamin E and decreases the number of degenerated muscle fibers within pectoral muscle of young chickens. Measuring the CK activity in plasma is not sufficient for early detection of nutritional myopathy in broiler chicken's farms.

Keywords : nutritional myopathy, muscular dystrophy, vitamin E, broiler chicken, creatine kinase

Table des matières

Résumé	i
Abstract	ii
Table des matières	iii
Liste des tableaux	vi
Liste des figures	vii
Liste des abréviations et sigles	viii
Introduction	1
Recension de la littérature	3
1. La myopathie du poulet de chair	3
1.1. Myopathie nutritionnelle et dystrophie musculaire	3
1.2. Étiopathogénie	4
1.3. Facteurs essentiels dans la myopathie	5
1.3.1. Carence alimentaire en sélénium et en vitamine E	5
1.3.2. La génétique	7
1.3.3. Le type de muscle squelettique	7
1.3.4. L'âge	10
1.3.5. Le stress thermique	10
1.3.6. L'influence des électrolytes et des ionophores	11
1.3.7. Le rôle du tissu conjonctif	12
1.4. Manifestations cliniques et lésionnelles	13
1.4.1. Sur le plan clinique	13
1.4.2. À l'autopsie	13
1.4.3. Sur le plan histologique	14
1.4.4. La régénérescence des fibres musculaires	14
1.5. Analyses sanguines	14
1.6. Autres myopathies du poulet de chair	16
1.6.1. Myopathie du muscle pectoral profond	16

1.6.2.	Dystrophie musculaire héréditaire (Hereditary muscular dystrophy, Genetic muscular dystrophy GMD).....	16
1.6.3.	Myopathie de capture ou d'exercice (Exertional/Capture myopathy).....	17
1.6.4.	Myopathie toxique	17
1.6.5.	Myopathie d'étiologie incertaine.....	18
1.7.	Conséquences de la myopathie du poulet de chair.....	18
1.7.1.	Croissance et bien-être.....	18
1.7.2.	Qualité de la viande	18
1.7.3.	Conséquences économiques.....	19
2.	Rôle de l'alimentation	20
2.1.	Alimentation des poulets de chair	20
2.2.	Rôle des graisses dans la ration des poulets.....	20
2.2.1.	Les acides gras saturés	20
2.2.2.	Les acides gras insaturés	21
2.3.	Métabolisme glycolytique ou oxydatif dans le muscle	22
2.4.	Alimentation végétale.....	23
2.5.	Rôle de la vitamine E alimentaire chez les poulets de chair.....	24
2.5.1.	Aperçu général.....	24
2.5.2.	Biochimie	24
2.6.	Causes de Carence en vitamine E	25
2.7.	Autres conséquences d'une carence en vitamine E dans la diète du poulet de chair	25
2.7.1.	Encéphalomalacie	25
2.7.2.	Diathèse exsudative	26
2.7.3.	Cardiomyopathie nutritionnelle.....	26
2.8.	Effets d'une supplémentation alimentaire en vitamine E.....	26
2.8.1.	Absorption des radicaux libres et intégrité de la cellule	26
2.8.2.	Système immunitaire	27
2.9.	La vitamine C et la vitamine E.....	27

Hypothèses de l'étude	29
Méthodologie.....	30
Article.....	30
Discussion générale	53
Conclusion.....	57
Bibliographie	58

Liste des tableaux

Tableau 1: Recommandation du NRC de la quantité de vitamine E et de sélénium à ajouter dans l'aliment du poulet de chair (NRC, 1994).....	2
Tableau 2: Caractéristiques des trois principaux types de fibres musculaires chez les oiseaux.....	9
Tableau 3: Besoin supplémentaire de vit E relatif à la source d'AGPi utilisée (Leeson et Summers, 2001)	22

Liste des figures

Figure 1: Synergie des systèmes antioxydants d'après Foucras et al. (1996) rapporté par Demangeon (2007) et par Callejas (2009).....	5
Figure 2: Structure générale des muscles squelettiques (Kingston, 2005)	8

Liste des abréviations et sigles

\$	dollar(s)
%	pour cent / percent
&	et
+	plus
<	inférieur
=	égal
AAARD	Alberta agricultural and rural development
ACIA	Agence canadienne d'inspection des aliments
Afssa	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
AG	acide gras
AGI	acide gras insaturé
AGPi	acide gras polyinsaturé
AGS	acide gras saturé
AST	aspartate-amino-transférase
ca ²⁺	ion calcium
CAT	catalase
d21	day 21
d28	day 28
d35	day 35
d42	day 42
d49	day 49
EOA	espèces oxygénées activées
É-U	États-Unis d'Amérique
g	gramme
GMD	dystrophie musculaire héréditaire
GSH	glutathion

GSH-Px	glutathion peroxydase
GSSG	disulfure de glutathion
H ₂ O	eau
H ₂ O ₂	hydroxyde d'oxygène
HCO ³⁻	bicarbonate
j21	jour 21
j28	jour 28
j35	jour 35
j42	jour 42
j49	jour 49
K ⁺	potassium
Kg	kilogramme
L	litre
LDH	lactate déshydrogénase
LDH-H	lactate déshydrogénase sous unité heart (cœur)
LDH-M	lactate déshydrogénase sous unité muscle
meq/kg	milliéquivalent par kilogramme
mg	milligramme
Mg ²⁺	magnésium
MMPP	myopathie du muscle pectoral profond
n-3	oméga-3 (acide gras polyinsaturé)
n-6	oméga-6 (acide gras polyinsaturé)
Na ⁺	sodium
NRC	Nutrient Requirements of Poultry (National research council)
O ₂	oxygène
°C	degré Celsius
OCDE	organisation de coopération et de développement économiques
OH	ion peroxyde/ HO- radical hydroxyde
pO ₂	pression partielle de l'oxygène

ppm	partie par million
PUFA	polyunsaturated fatty acid
ROH	radical hydroxyde
ROOH	peroxyde organique
ROO ⁻	radical peroxyde
S ₂ O ₂	ion thiosulfate
Se	sélénium
SOD	superoxyde dismutase
UI	unité internationale
UI/L	unité internationale par litre
UK	United Kingdom
µm	micromètre
USA	United States of America
vit E	vitamine E
vs	versus
Zn	zinc

À ma famille

Remerciements

Je voudrais exprimer toute ma gratitude à :

Dre Sonia Chénier pour les analyses histopathologiques, la documentation et ses conseils,

Mme Marie Claude Gendron pour son appui lors du dosage de la vitamine E,

M. Guy Beauchamp pour les analyses statistiques,

M. Pierre Genest de l'ITA de La Pocatière pour son appui technique et logistique,

Dr Jean Pierre Vaillancourt pour sa documentation et ses conseils,

Drs Younès Chorfi et Daniel Venne, respectivement directeur et co-directeur de ce programme pour leur encadrement pendant toutes les étapes dans la réalisation de ce travail, leurs conseils, leur appui logistique et leur soutien psychologique,

Le Couvoir Scott Ltée. pour son soutien financier.

Je n'oublie pas celles et ceux qui n'ont pas été nommés ici et dont la contribution a abouti à ce travail.

Introduction

La consommation de la viande de poulet croît au Canada depuis 20 ans. Elle a atteint 31,7 kg par habitant par an, contre 30,6 kg pour la viande de bœuf et 24,7 kg pour le porc en 2006 (ACIA, 2007). La situation n'est guère différente dans les pays de l'OCDE et la tendance est à la hausse dans le futur. Ceci est favorisé par un cycle d'élevage court chez les poulets, et par des consommateurs dans les pays développés très concernés par ce qu'ils mangent (Petracci et al., 2009).

Selon Cavani et al. (2009) la viande de poulet peut être considérée comme « aliment fonctionnel »; elle contient des substances bioactives telles que les vitamines, les antioxydants et des acides gras polyinsaturés n-6 et n-3 qui ont des effets bénéfiques sur la santé des humains. Cet engouement vers le poulet a favorisé une intense sélection génétique et une vitesse de croissance accrue au détriment du bien-être de l'animal (Arnould et Leterrier, 2007). Les poulets de chair ont désormais un fort développement musculaire de la poitrine et un gain de poids pouvant atteindre 100 g en une journée; les changements métaboliques et histochimiques qui ont suivis ont provoqué une fragilisation de la fibre musculaire (Branciarri et al., 2009; Polack et al., 2010). Les besoins nutritionnels des poulets ont subséquemment augmenté. Les éleveurs recourent à une alimentation riche en acides gras polyinsaturés (AGPi) pour maximiser leur profit, augmenter la teneur en AGPi de la viande et satisfaire le consommateur. Ces AGPi augmentent les risques d'oxydation cellulaire dans le muscle et les besoins en antioxydants pour empêcher ce processus (Lederer, 1986; Horwitt, 2001).

Le NRC (1994) recommande une supplémentation de 10 UI de vitamine E et 0,15 mg de sélénium par kg d'aliment chez le poulet de chair (Tableau 1). Cette dose n'a pas été mise à jour depuis lors et pourtant la croissance s'est améliorée (Leeson, 2007b) et les éleveurs ont tendance à minimiser l'apport en vitamine E. La myopathie nutritionnelle est due à un déficit en antioxydants et entraîne une atrophie musculaire et une diminution du gain de poids (Shane, 2006; Fisher et al., 2008).

La présente étude explore les effets d'une supplémentation d'une diète conventionnelle en vitamine E et son influence sur les dommages musculaires dans la poitrine et la cuisse des poulets de chair. Elle voit aussi des moyens de dépistage précoce de la myopathie nutritionnelle dans les élevages de poulets de chair au Québec afin de réajuster les apports en vitamine E. On s'attend à une amélioration du bien-être des animaux parce que la dystrophie des muscles de la cuisse entraîne des difficultés de locomotion. Sur un plan économique, on s'attend à une amélioration de la qualité du produit et à une diminution des condamnations de la viande de poulet.

Tableau 1: Recommandation du NRC de la quantité de vitamine E et de sélénium à ajouter dans l'aliment du poulet de chair (NRC, 1994).

Vitamine E	Sélénium
10 UI/kg d'aliment	0.15 mg/kg d'aliment

Recension de la littérature

1. La myopathie du poulet de chair

1.1. Myopathie nutritionnelle et dystrophie musculaire

La myopathie nutritionnelle du poulet de chair est une affection dégénérative des fibres musculaires de la poitrine et de la cuisse qui fait suite à une déficience en vitamine E (vit E) et en sélénium (Se) (Leeson et Summers, 2005; Shane 2006). Dans la littérature, on retrouve aussi les expressions: «*nutritional muscular dystrophy*» (dystrophie musculaire nutritionnelle) (Shih et al., 1977; Wilson, 1990), et «*white muscle disease*» (maladie du muscle blanc) (Bains et Watson, 1978; Gill et al., 1980) pour désigner la myopathie nutritionnelle chez le poulet de chair. Ces termes ramènent aux signes et aux lésions qu'on observe chez les poulets qui font la maladie.

En médecine vétérinaire, la myopathie est une affection non inflammatoire du muscle squelettique. Elle englobe la rhabdomyolyse survenant après un exercice, les myopathies nutritionnelles, congénitales, toxiques et métaboliques (Blood et al., 2007). Chez le poulet, la limite entre ces expressions n'est pas fort claire : la myopathie fait référence à la dégénérescence des fibres musculaires (Sandercock et al., 2003; 2004) et se rapporte aussi bien à la myopathie nutritionnelle (Bains et al., 1975; Bains et Watson 1978), qu'aux myopathies survenant après un exercice (Kijowski et al., 2009) ou suite aux intoxications alimentaires et médicamenteuses (Bains et Watson 1978; Umemura et al., 1984). Dans un article de synthèse, Wilson (1990) a mentionné que la dystrophie musculaire, la myopathie du muscle pectoral profond, la myopathie focale de la dinde peuvent être développées par le poulet de chair en présence de certains facteurs favorisant tels qu'une croissance rapide, une forte densité dans les poulaillers limitant les déplacements, des stress de capture, une perte de glycogène musculaire et une augmentation de l'activité des protéases. Ces conditions favorisent l'altération du tissu

conjonctif et la digestion des fibres musculaires par les protéases. Macrae et al. (2006) soulignent que les myopathies du poulet sont liées à la sélection génétique. Parmi celles-ci ils mentionnent : (a) la myopathie profonde du muscle pectoral, (b) la myopathie focale, (c) la myopathie de capture et (d) la myopathie induite par le stress thermique.

Très peu de travaux ont été menés sur la myopathie due à une carence en vit E quoi qu'elle soit fréquemment rapportée dans la littérature. Les mécanismes par lesquels le Se et la vit E préviennent les dommages musculaires restent à élucider (Wilson, 1990).

1.2. Étiopathogénie

La myopathie nutritionnelle du poulet fait suite à une déficience en vit E et/ou en Se, combinée à un déficit en acides aminés soufrés (Williams, 2007) et une diète riche en AGPi (Shivaprasad et al., 2002) ou à un stress oxydatif (Avanzo et al., 2001).

En effet, l'oxygène est indispensable dans la chaîne respiratoire pour la synthèse de l'ATP; une partie de cet oxygène (1% à 2%), est normalement transformée en espèces oxygénées activées (EOA), qui sont soit utilisées par l'organisme pour lutter contre les infections (Mujahid et al., 2007), ou bien sont dégradées au niveau de la cellule par des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GSH-Px) (Lederer, 1986; Horwitt, 2001). D'autres mécanismes font intervenir la cytochrome-oxydase pour limiter les contacts entre la cellule et l'oxygène (Figure 1) (Testai et Gorelick, 2010). Parallèlement à cela, un excès d'AGPi dans la ration ou dans l'organisme entraîne une forte production de radicaux libres (Horwitt, 2001). Il existe dans la cellule des récupérateurs de radicaux libres : les vitamines A, C, et E et le glutathion (Cuvelier et al., 2003; Mahmoud et Hijazi, 2007). L'accumulation des radicaux libres conduit à une altération de la perméabilité des membranes des cellules et des vaisseaux sanguins (Kranen et al., 2000; Mujahid et al., 2007). Il en résulte un passage anarchique d'ions à travers la membrane puis une dégénérescence suivie d'une nécrose des fibres

musculaires qui entraînent une atrophie du muscle, de la faiblesse (Sandercock et al., 2009) et de la douleur musculaire chez les sujets atteints (Arnould et Leterrier, 2007).

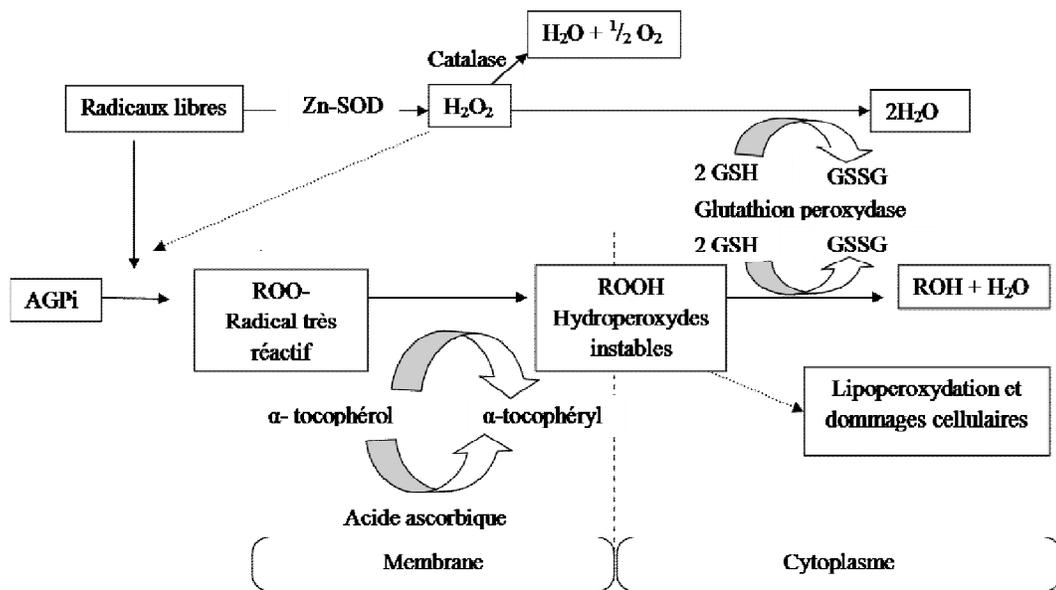


Figure 1: Synergie des systèmes antioxydants d'après Foucras et al. (1996) rapporté par Demangeon (2007) et par Callejas (2009).

1.3. Facteurs essentiels dans la myopathie

1.3.1.1. Carence alimentaire en sélénium et en vitamine E

Les antioxydants jouent un rôle majeur dans la protection de la cellule contre les oxydations cellulaires et les effets délétères des radicaux libres. La vit E et le Se agissent en synergie par leur pouvoir réducteur comme détoxifiants de la cellule vis-à-vis des radicaux libres (Diplock, 1974; Lederer, 1986; Murray et al., 2003). Leur concentration dans les

tissus est inversement proportionnelle aux peroxydations cellulaires (Avanzo et al., 2002; Fisher et al., 2008). Une alimentation déficiente en vit E et/ou en Se entraîne un mauvais fonctionnement du système antioxydant chez les poulets de chair (Leeson et Summers, 2005). Les deux nutriments ont des rôles convergents, la vit E agit comme antioxydant dans les membranes cellulaires pendant que le Se, par l'intermédiaire de la GSH-Px, détruit les peroxydes avant qu'ils n'aient atteint la membrane. La présence d'AGPi augmente les besoins en vit E et en Se comme l'ont démontré Cortinas et al. (2005). Dans une étude précédente, Bieri (1960) a démontré que des poussins nourris avec une diète sans graisse et sans vit E n'ont pas manifesté d'encéphalomalacie; il a aussi suggéré que les poules pondeuses pourraient pondre toute leur vie sans vit E apportée dans la diète. Un apport insuffisant en vit E et/ou en Se dans une ration riche en AGPi augmente la destruction des membranes des cellules et des mitochondries et provoque des myopathies chez les poulets de chair (Shivaprasad et al., 2002; Testai et al., 2010). Des dindons nourris avec une ration contenant 27.1 mg de vit E par kg d'aliment au démarrage et 24 mg par kg pendant la croissance, présentaient des signes de myopathie nutritionnelle (dystrophies du gésier, du cœur et des muscles squelettiques) quand ils recevaient une ration contenant moins de 0.10 mg de Se par kg d'aliment (Fisher et al., 2008). Les auteurs concluent que le Se et la vit E sont liés et qu'une déficience en Se conduirait à des désordres musculaires et à une perturbation du système de défense antioxydant chez les dindons. Le Se ne peut cependant pas remplacer la vit E (Harrison et Mc Donald, 2006). La vit E agit en maintenant un état redox favorable aux acides aminés soufrés dans les protéines et la carence en vit E provoque une altération des protéines chez des poulets atteints de dystrophie nutritionnelle (Shih et al., 1977). Ces auteurs ont suggéré que l'action de la vit E dans la prévention de la myopathie est régulée par son effet antioxydant sur des sites spéciaux qui empêcheraient l'oxydation des ponts sulfhydriles des protéines. L'étude de Gill et al. (1980) renforce cette idée, les auteurs ont observé une dépendance entre la quantité de protéines et le taux de vit E dans le muscle pectoral des poulets.

1.3.2. La génétique

Les améliorations par la génétique de l'indice de croissance, du gain de poids et de l'efficacité de conversion alimentaire ont été faites au détriment de la résistance des muscles squelettiques (Leeson, 2007a; Macrae et al., 2007). Scheuermann et al. (2004) ont rapporté dans une étude que le muscle pectoral des poulets de chair contient un nombre plus élevé de fibres musculaires à croissance rapide que celui des poules pondeuses. Les poules pondeuses avaient pourtant un nombre plus élevé de fibres musculaires au millimètre carré que les poulets de chair à 7, 21 et 35 jours d'âge. Dans une autre étude, Macrae et al. (2006) ont rapporté que le diamètre des fibres a atteint 65,9 μm dans le muscle *Pectoralis major* (pectoral superficiel) chez les poulets Broilers (chair), contre 59,8 μm chez les Leghorn (ponte) et 38,1 μm chez les parentaux à 25 semaines d'âge. Les poulets étaient soumis à un régime pour poulets de chair ou pour poulets ponte et à 14 h de lumière par jour. Les auteurs ont aussi mesuré le diamètre des fibres du muscle *Biceps femoris* (biceps fémoral) chez ces trois lignées de poulets. Ils ont trouvé que la croissance de fibres était pareille dans le muscle biceps fémoral et dans le muscle pectoral superficiel chez les Leghorn, mais moindre dans le biceps fémoral que dans le pectoral superficiel chez les Broilers et les parentaux. Ils ont par ailleurs rapporté une prédominance de lésions (dégénérescence) dans le muscle pectoral superficiel des Broilers qu'ils ont attribué à la génétique. Ces auteurs soutiennent que la sélection génétique a poussé la fibre musculaire à ses potentialités maximales, et que la myopathie survient parce que les fibres musculaires sont incapables de répondre aux sollicitations de croissance.

1.3.3. Le type de muscle squelettique

Le muscle squelettique des oiseaux tout comme celui des mammifères est composé de plusieurs faisceaux de fibres parallèles pouvant atteindre 10 à 100 μm de diamètre, et d'une longueur pouvant parcourir tout le muscle. Chaque fibre musculaire est entourée d'une fine couche de tissu conjonctif, l'endomysium. Les faisceaux de fibres sont entourés

par une autre couche de tissu conjonctif, le péricymysium. Le tout est enveloppé par l'épimysium (figure 2) (Berri et Duclos, 2003). Le muscle comprend aussi des vaisseaux sanguins, des vaisseaux lymphatiques et des fibres nerveuses. Les gros vaisseaux sont concentrés dans le péricymysium et les capillaires sont localisés dans l'endomysium autour des fibres (Kranen et al., 2000).

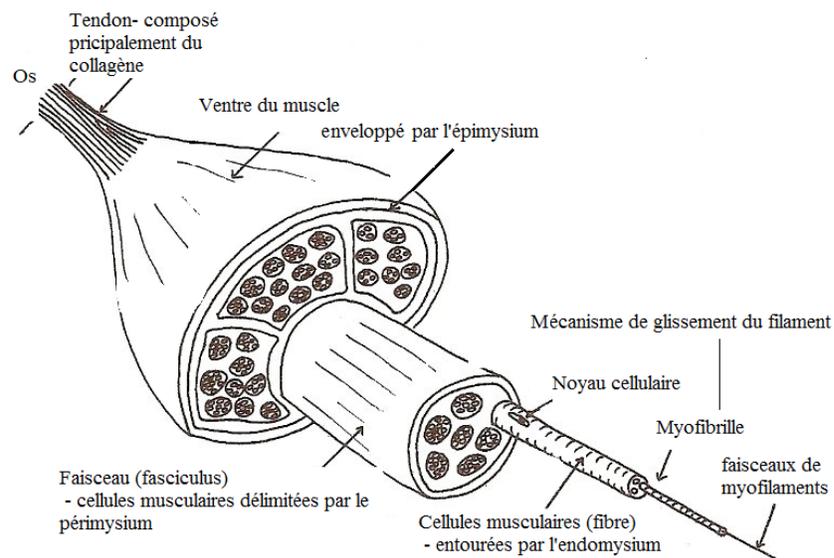


Figure 2: Structure générale des muscles squelettiques (Kingston, 2005)

Les fibres musculaires des volailles peuvent être classées selon leurs propriétés métaboliques et structurelles en trois principaux types: (a) les fibres βR «*red slow fibers*» (fibres de type I) qui sont de couleur rouge et riches en myoglobine, (b) les fibres αR «*red fast twitched fibers*» (fibres de type IIa) qui sont rouges, rapides et oxydo-glycolytiques et (c) les fibres αW «*white fast twitched fibers*» (fibres de type IIb), qui sont de couleur blanche, sont pauvres en mitochondries et en myoglobine, actives en anaérobiose et sont glycolytiques (Tableau 2) (Ashmore et Doerr, 1971; Barnard et al., 1982; Berri et Duclos, 2003). Les muscles pectoraux (*Pectoralis superficialis* et *Pectoralis profundus*) sont

constitués essentiellement de fibres α W. Les muscles adducteurs de la cuisse (*Adductor magnus*, *Adductor brevis*) sont constitués de fibres de β R ou type I et de fibres α R (Barnard et al., 1982; Kranen et al., 2000).

Tableau 2: Caractéristiques des trois principaux types de fibres musculaires chez les oiseaux

Type de fibres	Lentes =I	Rapides	
		IIA	IIB
Ashmore et Doerr, (1971)	β R	α R	α W
Barnard et al. (1982)	I	Ila	Ilb
Activité ATPasique	Faible	Forte	Forte
Métabolisme	Oxydatif	Oxydo-glycolytique	Glycolytique
Mitochondrie	+++	++	+
Noyaux	Périphériques	Périphériques	Centraux
Particules de gras	Non	Oui	Non

Adapté de : Berri et Duclos (2003)

Les muscles dont la composition est faite principalement de fibres de type IIb (α W) seraient plus sensibles aux myopathies de carence à cause de leur système d'oxygénation défaillant (Branciarri et al., 2009; Kijowski et Konstanczack, 2009; Polack et al., 2010). Cette observation est soutenue par l'étude de Macrae et al. (2006) qui montre une forte prévalence de la myopathie dans le muscle pectoral (fibres de types IIb) que le biceps fémoral (en majorité fibres de type I). Les déficiences en vit E auraient un impact sur la survie des fibres de type II parce que leurs capillaires seraient plus fragiles que ceux des fibres de type I (Kranen et al., 2000; Le Bars, 2004; Kijowski et Konstanczack, 2009).

Branciarri et al. (2009) ont rapporté que la souche de poulet et leur condition d'élevage peuvent modifier la répartition en fibres des muscles. Par exemple, dans leur étude, le muscle *Pectoralis major* était constitué de 100% de fibres α W chez les poulets de souches Ross et Kabir recevant une ration conventionnelle (moulée) ou nourris sur à l'herbe sur parcours. Le même muscle chez les poulets de souche Leghorn était constitué de 99.5% de fibres α W et 0.5% de fibres α R avec la diète conventionnelle; contre 96.2% de fibres α W et 3.8% de fibres α R avec le parcours (herbe).

1.3.4. L'âge

Les signes d'une déficience en vit E et en Se évoluent avec l'âge des poussins. Des poulets soumis dès leur premier jour d'âge à une ration déficiente en Se et en vit E ont montré des signes de diathèse exsudative à 17 jours. À 21 jours ces poulets présentaient une coloration bleu-vert et un œdème au niveau de la poitrine et sous les ailes et une réticence à la marche (Avanzo et al., 2001). La myopathie survient à la quatrième semaine d'âge, lorsque les poulets sont carencés en vit E, en Se et en acides aminés soufrés (méthionine et l'homocystéine) (Leeson et Summers, 2001; Williams, 2007).

1.3.5. Le stress thermique

Les conditions environnementales (chaleur, froid), les manipulations brusques des animaux lors des captures entraînent une forte activité au sein du muscle et augmentent les besoins en oxygène (Avanzo et al., 2002). Toute condition qui élève la température au niveau du muscle entraîne une surproduction d'EOA (Azad et al., 2010). Mujahid et al. (2007) ont rapporté qu'un exercice musculaire brusque et intense comme on observe lors de la capture, induit un réchauffement musculaire et provoque des myopathies. La chaleur augmente aussi les risques d'hémorragies dans les muscles de la poitrine et de la cuisse des poulets de chair (Kranen et al., 2000). Une étude sur 48 coqs de la lignée Leghorn (souche pour ponte) (Ranmanth et al., 2008) a montré qu'à une température ambiante de $40 \pm 1^\circ\text{C}$, le taux des enzymes SOD et CAT au niveau des érythrocytes est fortement abaissé; ceci

pourrait signifier que le système de défense contre les radicaux libres est diminué. De même, une exposition prolongée au froid entraînerait chez les pigeons, un métabolisme oxydatif dans leurs fibres musculaires, une diminution du diamètre des fibres oxydolytiques et une élévation de la teneur en lipides des mitochondries (Berri et Duclos, 2003).

Polak et al. (2010) ont rapporté que les poulets hautement sélectionnés pour la chair tels que ceux de la lignée «Isa 215» ont des muscles qui s'adaptent difficilement aux fluctuations de température. Ces poulets, élevés à température variable pendant la journée, en liberté totale à l'ombre (12.7°C – 33.6°C) ou en semi-liberté (14.2°C – 32.4°C) ont présenté plus de dommages sur le muscle *Pectoralis superficialis*, que ceux confinés dans un bâtiment à température contrôlée (17.0 °C – 26.0°C). Outre le stress thermique qui augmente l'incidence de la myopathie, la chaleur favorise le rancissement des graisses dans l'aliment et augmente les besoins en antioxydants (Gao et al., 2010; Ranmanth et al., 2008).

1.3.6. L'influence des électrolytes et des ionophores

Dans une étude, Sandercock et al. (2009) ont rapporté que les concentrations plasmatique et musculaire des ions Na⁺, Ca²⁺, K⁺ et Mg²⁺ sont plus élevées chez les poulets Broilers (de diverses souches) que chez les poulets de souches traditionnelles (Auracana, Barnevelder, Buff Opington, White Sussex, etc..) de même âge. Ils ont trouvé dans la même étude, que l'activité plasmatique de la CK est plus élevée chez les poulets Broilers que chez les souches traditionnelles. Ces résultats suggèrent qu'une modification de l'équilibre cationique dans la fibre musculaire et notamment des ions Ca²⁺ et Na⁺ crée un afflux intracellulaire d'ions Ca²⁺ qui augmente la contractilité de la fibre et engendre un déficit énergétique dans la fibre, aboutissant à une dégénérescence musculaire, puis à une altération la qualité de la viande (Sandercock et al., 2009).

La résistance des muscles de rats Sprague-Dawley aux dommages dus à la perturbation de l'équilibre acido-basique sanguin serait améliorée lors d'un apport de vit E. (Bozrut, 2002). Philbey (1991) rapporte une myopathie chez des dindonneaux, qui ont reçu

pendant sept jours des diètes contenant de 60 à 67 mg de monensin (dose recommandée pour des dindes de 16 semaines comprise entre 54 mg et 100mg/kg d'aliment) et pauvre en E (5.9 mg/kg d'aliment).

Les ionophores ont déjà été impliqués dans plusieurs cas de myopathie chez les volailles (Cardona et al., 1993; Baird et al., 1997). Ils interfèrent avec le transfert ionique au niveau de la membrane des cellules musculaires, altèrent sa perméabilité vis-à-vis des ions et perturbent l'équilibre acido-basique au niveau de la cellule (Shane, 2006).

À titre d'exemple, l'élévation de la concentration intracellulaire en ions Na^+ par le monensin crée un appel d'ions Ca^{2+} dans la cellule. Le monensin est un ionophore spécifique du Na^+ et dans une moindre mesure du K^+ . Au niveau de la fibre musculaire striée, son action provoque une rupture de l'équilibre cationique, une perturbation du transport transmembranaire aux ions et aux nutriments, un afflux d'ions Ca^{2+} , une altération du métabolisme avec libération de CK puis la dégénérescence musculaire (Sandercock et Mitchell, 2003; Sandercock et Mitchell, 2004). Bains et Watson (1978) ont rapporté la myopathie chez des poulets commerciaux de 6 semaines recevant une diète contenant 50 ppm de monensin. Roudant et al. (2009) ont confirmé les effets néfastes du monensin sur la membrane des cellules et des mitochondries. D'autres ionophores utilisés comme anticoccidiens chez la volaille et comme promoteurs de croissance (narasin, salinomycine, lasalocide, maduramcine et semduramycine) ont provoqué des myopathies chez les dindes (Philbey, 1991; Cardona et al., 1993) et chez les porcelets (Carpentier et al., 2005).

1.3.7. Le rôle du tissu conjonctif

Les conditions qui détruisent le tissu conjonctif exposent les fibres musculaires aux protéases et aux usures de leur texture. Dans une étude, Das et al. (2010) ont rapporté que la constitution en fibre de collagène (constituant du tissu conjonctif) est affectée par la croissance et qu'elle est faible dans le muscle *Pectoralis superficialis* des poulets de chair. Les mêmes auteurs ont montré un an auparavant (Das et al., 2009) que les fibres de

collagène du muscle *Puboishiofemoralis* (muscle rouge) n'étaient pas affectées par la croissance chez les poulets de chair. Les auteurs ont relevé que le muscle *Pectoralis superficialis* (muscle blanc) est plus sensible aux déficiences alimentaires que le muscle *gastrocnemius* (muscle rouge). De façon générale, les muscles à croissance rapide contiennent moins de collagène que les muscles à croissance lente (Roy et al., 2007).

1.4. Manifestations cliniques et lésionnelles

1.4.1.1. Sur le plan clinique

La myopathie nutritionnelle entraîne une atrophie des muscles de la poitrine et de la cuisse. Parmi les signes rapportés sur des poulets vivants, les plus importants sont une ataxie locomotrice, une faiblesse musculaire, une mauvaise posture (Bains et Watson, 1978) et une insuffisance cardiaque (Van Vleet et Ferrans, 1986; Throp, 2008). On note une baisse du rendement de viande à l'abattoir chez dans les bandes affectées (Arnould et Leterrier, 2007).

1.4.1.2. À l'autopsie

Les lésions retrouvées varient selon la phase d'évolution. Pendant la phase aiguë on rapporte une pâleur homogène ou irrégulière des fibres musculaires (striations), des foyers de décoloration blanchâtre et parfois des pétéchies. Plus tard, une atrophie des muscles de la poitrine et de la cuisse est notée (Kranen et al., 2000). L'appellation de maladie du muscle blanc découlerait de la coloration blanchâtre des muscles de la poitrine qu'on observe lors de déficience en vit E et en Se chez les jeunes poulets. Le cœur et le gésier pourraient aussi présenter une décoloration blanchâtre et/ou des pétéchies hémorragiques (Sweeny et al., 1972). En plus des lésions précédentes, Bains et Watson (1978) ont rapporté une congestion de tous les muscles du corps, sauf les muscles médians du fémur chez les poulets; ces derniers étaient pâles et anormalement fermes à la palpation. Ils notèrent aussi

une tendance à la rupture des muscles *Sartorius* et *Adductor longus* des poulets malades à leur insertion osseuse.

1.4.1.3. Sur le plan histologique

L'observation au microscope optique des muscles dystrophiques de poulets montre en début de la maladie une perte de la striation transversale des fibres, un aspect hyalin puis une nécrose et une segmentation des fibres (Lederer, 1986). Une invasion par les macrophages et une prolifération des cellules satellites sont aussi rapportées (Williams, 2007). Des lésions vasculaires (rupture de l'endothélium vasculaire et dégénérescence des artérioles) pourraient être observées dans les cas sévères ou dans une combinaison de myopathie nutritionnelle et de diathèse exsudative chez le même sujet (Kranen et al., 2000; Fisher et al., 2008). Gill et al. (1980) ont rapporté un remplacement des fibres musculaires dégénérées par les adipocytes.

1.4.1.4. La régénérescence des fibres musculaires

Lorsque les fibres musculaires subissent des bris (chimiques, physiques etc...), elles dégèrent et sont phagocytées par les macrophages. De nouvelles fibres se créent pour rétablir la fonction musculaire. Leur capacité de régénération est assurée par une population de cellules souches dérivées du mésoderme, les cellules satellites. Ces cellules se trouvent entre les fibres et la lame basale, leur activation survient à la suite des dommages, puis elles prolifèrent rapidement et se différencient en myoblastes pour fusionner avec les fibres voisines (Partridge, 2002, Cheikh, 2009).

1.5. Analyses sanguines

Plusieurs enzymes ont été dosés pour détecter les dommages musculaires; parmi celles-ci on note l'aspartate-amino-transférase (AST), la lactate déshydrogénase (LDH) et la CK (Shivaprasad et al., 2002; Szabó et Milisits, 2007). L'AST manque de spécificité car elle est retrouvée en grande quantité dans le foie, le cœur et les muscles squelettiques; toute

altération de ces organes entraîne une libération des transaminases (MacDonald et al., 1976). Le dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) doit être combiné à un autre test de dépistage; son interprétation est complexe, les muscles de poulets contiennent au moins deux formes de LDH (H, M). Il est difficile de dire avec précision la provenance de chacune d'elles; le taux de LDH type H (*heart*) est aussi élevé dans le muscle pectoral des poulets atteints de dystrophie musculaire que dans le muscle cardiaque (Kaplan et Cahn, 1962). Macrae et al. (2006) ont dosé simultanément les enzymes CK, LDH et AST en plus des analyses histologiques pour évaluer les dommages des muscles squelettiques chez les poulets. Ils ont trouvé que l'activité de ces enzymes avait augmenté avec les dommages musculaires. La CK est retrouvée dans le muscle squelettique et dans le muscle cardiaque (Morandi et al., 2006). L'augmentation de son activité témoigne d'une atteinte ou d'une forte activité musculaire chez les poulets (Sandercock et al., 2009). Dans une étude Macrae et al. (2007) avaient rapporté une élévation de l'activité CK plasmatique avec la vitesse de croissance musculaire. Les auteurs ont observé que l'activité de la CK était élevée chez les poulets parentaux mâles de type chair (1368 UI/L) contre 995 UI/L chez leur femelle et 982 UI/L chez les parentaux de type ponte; ils n'ont cependant pas mis en évidence des dommages musculaires chez les poulets des trois groupes. Les études sur la CK chez les poulets ont donné jusqu'à lors des résultats variables; (a) Szabo et Milisitis (2007) l'ont utilisée avec succès pour mettre en évidence les dommages musculaires chez poulets de chair, (b) Mueller et al. (2009) n'ont pas trouvé de relation étroite entre les dommages musculaires et l'activité de la CK ou de l'AST. Tout comme les autres enzymes, la mesure de l'activité de la CK dans le sang devrait nécessiter plusieurs analyses ou d'autres tests pour confirmer les dommages musculaires chez les poulets de chair.

1.6. Autres myopathies du poulet de chair

1.6.1. Myopathie du muscle pectoral profond

La myopathie du muscle pectoral profond (MMPP) encore connue sous le nom de maladie d'Oregon (Kijowski et Konstanczak, 2009) ou de maladie du muscle vert (Williams, 2007) a été décrite pour la première fois en 1968 chez la dinde (Kijowski et Konstanczak, 2009). La MMPP est due à un accident ischémique qui entraîne une nécrose des fibres dans le muscle pectoral profond (*Pectoralis minor*). En effet, lors d'un effort musculaire, il se crée un afflux de sang vers le muscle qui augmente son poids d'environ 20%; le muscle s'étrangle sous l'effet de la pression qu'exercent le fascia et le sternum, puis s'en suivent une ischémie et une hémorragie. Le muscle hémorragique prend une couleur violacée ou verdâtre et s'atrophie (Throp et al., 2008; Kijowski et Konstanczak, 2009). Les oiseaux élevés en confinement, et qui n'ont pas pris l'habitude de voler ou de faire des exercices intenses sont exposés à cette forme de myopathie. Les souches améliorées sont plus sensibles que les races traditionnelles (Bianchi et al., 2006; Throp et al., 2008). Au microscope optique, les fibres des muscles affectés paraissent intactes mais présentent des noyaux fantômes, très peu ou pas de noyau. Les muscles nécrotiques sont entourés de tissu de granulation fibreux et leurs fibres sont infiltrées par des macrophages (Williams, 2007).

1.6.2. Dystrophie musculaire héréditaire (Hereditary muscular dystrophy, Genetic muscular dystrophy GMD)

Cette forme de myopathie serait due à une anomalie du gène de la dystrophine, qui est une protéine de la membrane plasmique favorisant la maintenance et la régénérescence des fibres musculaires (Wilson, 1990). Sur le plan anatomopathologique, la GMD se caractérise en début d'évolution par une hypertrophie et se poursuit par une atrophie irrégulière des muscles chez les poulets. Les lésions sont observées principalement sur le muscle pectoral et moins sur la cuisse. Les antioxydants administrés à un jeune âge diminueraient

l'incidence de cette maladie (Williams, 2007). Wilson et al. (2007) ont énuméré un ensemble de signes dans ce qu'ils ont appelé «myopathies héréditaires» des poulets de chair; ce sont (a) une faiblesse musculaire, (b) un fort taux sérique de CK, (c) un niveau élevé d'enzymes mitochondriales dans le muscle (ATP-synthétases, enzymes de la chaîne respiratoire), (d) un niveau anormal d'acétylcholinestérase dans le muscle, (e) un électromyogramme anormal, (d) une forte teneur en gras du muscle, (f) un élargissement du système sarcotubulaire, (g) une diminution de la LDH musculaire, (h) une augmentation des cathepsines et (i) une dégénérescence des fibres musculaires.

1.6.3. Myopathie de capture ou d'exercice (Exertional/Capture myopathy)

Elle fut rapportée pour la première fois chez le flamant, et depuis lors chez d'autres espèces de volailles. L'accumulation d'acide lactique serait la cause de nécroses musculaires. L'examen macroscopique des muscles de poulets atteints montre de larges zones pâles. Les lésions aiguës et chroniques sont très similaires à la myopathie nutritionnelle; perte de striation, fragmentation, dégénérescence hyaline, augmentation des cellules satellitaires et de macrophages phagocytant les fibres nécrotiques, ce qui rend le diagnostic différentiel difficile sans un historique du cas (Williams, 2007).

1.6.4. Myopathie toxique

L'usage inapproprié d'ionophores ou bien l'exposition à des plantes toxiques (*Senna occidentalis*) provoquerait une myopathie toxique chez les volailles (Williams, 2007; Cardona et al., 1993). Umemura et al. (1984) ont provoqué une myopathie chez des poulets après trois à cinq jours de diète conventionnelle supplémentée au monensin de sodium (80 mg/kg) et au tri-acétyle-oléandomycine (35 mg/kg); les poulets présentaient une faiblesse musculaire, des difficultés de locomotion et certains poulets restaient couchés après trois à cinq jours de diète. Ce type de myopathie est aussi survenue chez d'autres

volailles suite à une intoxication accidentelle au monensin chez des autruches (Baird et al., 1997).

1.6.5. Myopathie d'étiologie incertaine

Plusieurs cas de myopathies aiguës du muscle pectoral ou des muscles de la cuisse ont été rapportés chez les reproducteurs de poulet de chair sans qu'on sache les causes exactes (Wilson, 1990; Williams, 2007). Les lésions sont similaires à la myopathie d'exercice et les sujets malades peuvent présenter des paralysies locomotrices et des paralysies au niveau du cou puis une mort soudaine. On rapporte un syndrome d'œdème de la cuisse associée à une myopathie focale chez la dinde (Williams, 2007).

1.7. Conséquences de la myopathie du poulet de chair

1.7.1. Croissance et bien-être

La myopathie entraîne de la douleur, des difficultés de locomotion, une baisse de gain de poids et probablement des rejets aux abattoirs. Cette affection a des répercussions négatives sur le bien-être des poulets (Le Bihan-Duval et al., 2008). Arnould et Leterrier (2007) ont rapporté que les problèmes locomoteurs, révélateurs d'anomalies musculaires et squelettiques des pattes, constituent une cause majeure d'inconfort; ces problèmes affectent la capacité des poulets à accéder aux équipements et peuvent entraîner des lésions cutanées sur le bréchet et la mort. El Fadil et al. (1996) ont suggéré que les problèmes de locomotion sont un facteur de risque de cellulite; les poulets qui ont des difficultés de locomotion, ont une peau égratignée par la litière ou par les coups de bec des autres poulets. Les égratignures favorisent des infections cutanées et sous cutanées.

1.7.2. Qualité de la viande

La myopathie du muscle pectoral a pris son importance dans les années quatre-vingt à cause de l'engouement des consommateurs pour la poitrine de poulet (Leeson, 2007a). Le consommateur veut une viande saine, riche en protéines, tendre et d'un goût agréable (Bou

et al., 2006; Petracci et al., 2009). Les lésions observées lors de myopathie abaissent la valeur marchande de la viande et entraînent des rejets à l'abattoir (Le Bihan-Duval et al., 2008).

1.7.3. Conséquences économiques

La myopathie nutritionnelle prédispose probablement à une surinfection bactérienne et s'avère une des causes de la cellulite qui entraîne des rejets dans les abattoirs (ACIA, 2007), et d'énormes pertes économiques au Canada (4.7 millions de dollars) (AAARD; 2006) et aux É-U. (40 à 50 millions de dollars) (Leclerc et al., 2003). Les données directes des pertes dues à la myopathie nutritionnelle ne sont pas disponibles, cependant l'atteinte des muscles de poitrine affecte la qualité industrielle et hygiénique de la viande (Cortinas et al., 2005; Bou et al., 2006).

2. Rôle de l'alimentation

2.1. Alimentation des poulets de chair

Les aliments sont généralement présentés aux volailles sous forme de moulée contenant tous les nutriments devant fournir de l'énergie nécessaire aux fonctions vitales et à la croissance. L'énergie est produite par oxydation des molécules de glucides, de lipides (graisses) et de protéines. Les graisses doivent être digestibles et ne doivent pas être rancies (Harrison et McDonald, 2006). L'incorporation d'antioxydants tel que la vit E à l'aliment permet de préserver les nutriments contre le rancissement (Leeson et Summers, 2001; Pesti et al., 2007). Shivaprasad et al. (2002) ont rapporté des cas de myopathie nutritionnelle chez des pélicans qui avaient consommé de la moulée rancie. Le niveau de peroxyde était égal à 68 meq/kg, (normale < 20 meq/kg) et le niveau de vit E de 0 à 5 UI/kg (normale = 20 à 30 UI/kg).

2.2. Rôle des graisses dans la ration des poulets

Outre l'énergie, les graisses alimentaires apportent des acides gras (AG) et du cholestérol. Elles affectent aussi la qualité et le goût de la viande (Ruiz et al., 2001; Mahmoud et Hijazi, 2007), favorisent la cohésion des nutriments, réduisent les poussières dans l'aliment et améliorent la lubrification du tube digestif. Deux formes de graisses sont incorporées aux aliments de volailles: (a) les graisses d'origine animale, riches en acides gras saturés (AGS) et les huiles végétales riches en acides gras insaturés (AGI) (mono ou polyinsaturés) (Leeson et Summers, 2001; Leeson, 2007b).

2.2.1. Les acides gras saturés

Le lard est la principale graisse animale riche en AGS dans l'aliment des volailles (taux d'incorporation d'environ 6 %). L'ajout d'une petite quantité d'AGS dans la moulée facilite l'absorption des AGI; elle a un effet synergique au niveau de la digestion des graisses quand son taux d'incorporation est de 3 % (Leeson et Summers, 2001). Les

oiseaux de moins de 21 jours digèrent mal les AGS; leur production de lipase est limitée et le recyclage des sels biliaires est inefficace (Shane, 2006; Leeson et Summers, 2005).

2.2.2. Les acides gras insaturés

Les AGI sont une source importante d'acide α -linoléique et d'acide linoléique, précurseurs des prostaglandines. Une déficience en acide linoléique chez le poussin entraîne un retard de croissance, une accumulation de graisse au niveau du foie et des symptômes respiratoires (Leeson et Summers, 2005; Cherian, 2007).

Plusieurs auteurs recommandent d'élever le taux d'AGI dans la moulée pour améliorer la valeur nutritive de la viande (Ruiz et al., 2001; Brenes et al., 2008). Bou et al., (2005) ont montré que la teneur en AG de la viande de poulet reflétait celle apportée par la moulée. Dans leur étude, les poulets qui avaient reçus une ration supplémentée en huile de lin avaient une forte concentration musculaire en AGPi. Les AGI sont cependant susceptibles aux peroxydations, ce qui entraîne une augmentation des besoins en antioxydants dans ce type de diète (Bou et al., 2006). Chez les poussins, l'addition d'acide linoléique à une ration sans vit E accélère l'apparition de la dystrophie musculaire; celle-ci est d'autant plus rapide et grave que la quantité d'acide linoléique ajoutée est importante (Lederer, 1986). De façon générale, il est recommandé d'ajouter 30 UI de vit E par kg d'aliment pour chaque 1% d'AGPi ajoutée à la diète (Leeson et Summers, 2001). Leeson et Summers (2001) ont proposé les quantités supplémentaires de vit E alimentaire à apporter en fonction de l'origine de graisse utilisée (Tableau 3).

Tableau 3: Besoin supplémentaire de vit E relatif à la source d'AGPi utilisée (Leeson et Summers, 2001)

Source de graisse	Vit E (UI / 1% de graisse)
Suif	2
Lard	4
Poulet	8
Huile de canola	10
Huile de “noix de coco”	0
Huile de coton	16
Huile de poisson	8
Huile de lin	25
Huile de maïs	16
Huile de palme	4
Huile de soja	20
Huile de tournesol	20

Source: *Scott's nutrition of chickens 2001, p232*

2.3. Métabolisme glycolytique ou oxydatif dans le muscle

Chez les oiseaux et les mammifères, le glycogène et les acides gras sont les deux sources de production d'énergie. L'utilisation des glucides (glycogénolyse ou glycolyse) est deux fois plus élevée dans les muscles blancs que dans les muscles rouges (Bacou et Vigneron, 1988). La glycolyse permet de produire de l'énergie très rapidement et ceci est

fort utile au début du mouvement (Lemieux, 2003) ou lorsqu'un mouvement intense nécessite un surplus d'énergie ne pouvant être produite par oxydation des acides gras (Bacou et Vigneron, 1988). Cette réaction s'effectue soit en anaérobiose par conversion du glycogène en lactate et il se produit trois ATP par molécule de glucose consommée; soit en aérobie par l'intermédiaire du cycle de Krebs et il se produit 38 ATP. La glycolyse aérobie est une caractéristique des muscles blancs pour atteindre un pic d'activité intense. Cependant, lors d'une activité modérée, l'approvisionnement en O₂ dans le muscle est suffisant pour assurer la dégradation des nutriments et les lipides sont alors utilisés pour produire de l'énergie. L'utilisation préférentielle des glucides ou des lipides dans un muscle dépend du travail à accomplir et de sa constitution en fibres de type I ou II (Bacou et Vigneron, 1988).

2.4. Alimentation végétale

Les poulets dits «végétariens» sont nourris avec 100% d'aliment sans graisse, et sans protéine animale (Herenda et Jackel, 1994). Herenda et Jackel (1994) ont rapporté que la myopathie nutritionnelle est plus fréquente chez les poulets végétariens que chez les poulets conventionnels. Les AGPi apportés dans les rations de poulets sont en majorité d'origine végétale (Blair, 2008). L'abondance des AGPI dans les huiles végétales, augmente les besoins en antioxydants et notamment en vit E (Horwitt, 2001; Leeson et Summers, 2001). En outre, les vitamines liposolubles naturelles contenues dans la diète sont instables en présence de chaleur, de lumière, d'ions métalliques. La carence en vit E est exacerbée par l'abondance d'AGPi et par la rareté d'antioxydants alors que l'utilisation d'additifs alimentaires est très limitée dans les rations végétariennes comparativement aux rations conventionnelles (moulées industrielles). Au Canada, la vit E synthétique est désormais permise chez les poulets végétariens (Blair, 2008).

2.5. Rôle de la vitamine E alimentaire chez les poulets de chair

2.5.1. Aperçu général

On distingue deux classes d'antioxydants chez le poulet de chair, les antioxydants non enzymatiques : glutathion, vit E, vitamine C, acide urique, bilirubine et les antioxydants enzymatiques (SOD, GSH-Px, glutathion réductase, CAT).

La vit E et le Se agissent en synergie par leur pouvoir réducteur en séquestrant les radicaux libres ou l'ion superoxyde (Lederer, 1986). Whitacre et al. (1987) ont démontré qu'une supplémentation en Se chez les poussins diminue les besoins en vit E en préservant l'intégrité du pancréas pour permettre une bonne digestion des graisses et faciliter l'absorption de la vit E. Une déficience en Se et ou en vit E pourrait entraîner une atrophie du pancréas (Avanzo et al., 2002).

2.5.2. Biochimie

La vit E fait partie des tocophérols. On en distingue quatre tocophérols (α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol, δ -tocophérol) et quatre tocotriénols (α -tocotriénol, β -tocotriénol, γ -tocotriénol, δ -tocotriénol). Les tocophérols présentent beaucoup de similitude avec les tocotriénols, au point où il a été adopté en 1982 d'utiliser le terme vit E pour toutes les molécules ayant une activité biologique α -tocophérol (Sen et al., 2006). Une unité internationale (UI) de vit E correspond à 1 mg de all-rac- α -tocophérol acétate ou à 0.67 mg de RRR- α -tocophérol (Cuvelier et al., 2003). Les huiles végétales (huile de maïs, huile de tournesol, huile de palme), le maïs, le blé, l'orge et le soja constituent de bonnes sources de vit E pour les volailles (Cuvelier et al., 2007). La concentration de vit E dans les lipoprotéines dépend de la quantité de α -tocophérol consommée, la concentration des pro-oxydants et d'autres antioxydants dans la ration alimentaire, l'apport en Se et de l'apport en acides aminés soufrés. La vit E semble être la première ligne de défense contre la peroxydation des phospholipides cellulaires et subcellulaires. Les acides aminés soufrés

peuvent servir de précurseur au glutathion et favorisent la destruction spontanée d'une plus grande quantité de peroxydes par voie non enzymatique. Même en présence de vit E certains peroxydes sont formés; la GSH-Px dont le Se est un constituant fournit une seconde ligne de défense. La SOD catalyse la dismutation des radicaux superoxydes en OH et en H₂O₂ permettant ainsi à la GSH-Px et à la CAT de détoxifier la cellule (Cuvelier et al. 2007; Mahmoud et Hijazi, 2007).

2.6. Causes de Carence en vitamine E

En résumé, chez le poulet de chair, les carences en vit E sont dues principalement: (a) aux traitements thermiques lors de la fabrication d'aliment (Blair, 2008), (b) à l'utilisation des graisses rancies dans l'alimentation qui augmentent les besoins en antioxydants, (c) aux minéraux qui augmentent les besoins en AGPi et en vit E, (d) à la présence de mycotoxines dans l'aliment qui entraînent une altération de sa valeur nutritive et conduisent au rancissement des graisses, (e) à des régimes contenant de 6 à 8% de pectine pouvant diminuer la biodisponibilité de la vit E, (e) à un apport excessif ou un manque de graisses, et (f) à un déséquilibre en vitamine liposolubles telle que la vitamine A, (g) la malabsorption et la saponification (Leeson et Summers, 2001; Blair 2008).

2.7. Autres conséquences d'une de carence en vitamine E dans la diète du poulet de chair

2.7.1. Encéphalomalacie

Elle est rencontrée sur des poussins d'une à cinq semaines d'âge qui reçoivent des rations commerciales riches en AGPi rancis. Les animaux présentent une faiblesse musculaire, de l'ataxie avec une incoordination locomotrice puis une paralysie s'installe et les poussins en meurent. Les signes observés sont associés à des lésions au niveau du cervelet (œdème, nécrose et pétéchies). La vit E et d'autres antioxydants améliorent le tableau clinique (Tremblay et Bernier, 1992).

2.7.2. Diathèse exsudative

Elle affecte également les poussins en croissance, après deux semaines de diète déficiente en vit E (Mueller et al., 2009). Les animaux affectés développent des œdèmes dans le tissu sous cutané et ont un retard de croissance. Les carcasses présentent un exsudat péricardique et de l'ascite. Ces dommages seraient dus à des lésions vasculaires provoquées par les radicaux libres (Combs et Scott, 1974). Les auteurs rapportent qu'une supplémentation de la diète en vit E et en Se préviendrait la diathèse exsudative et diminuerait la mortalité chez les poussins.

2.7.3. Cardiomyopathie nutritionnelle

Cette affection est apparue chez des volailles qui ont été nourries avec une diète carencée en Se et en vit E. L'apport de Se et de vit E par voie parentérale a conduit à une amélioration des signes d'insuffisance cardiaque chez les animaux atteints (Lederer, 1986; Van Vleet et Ferrans, 1986). Une nécrose et une atrophie des muscles squelettiques et du myocarde sont rapportées à l'autopsie (Van Vleet et Ferrans, 1986 Throp et al., 2008).

2.8. Effets d'une supplémentation alimentaire en vitamine E

2.8.1. Absorption des radicaux libres et intégrité de la cellule

La vit E agit comme un agent protecteur contre les radicaux libres en empêchant les peroxydations des lipides (Avanzo et al., 2001; Singh et al., 2006). Dans une étude chez les poulets, Cortinas et al. (2005) ont montré qu'à un niveau de supplémentation de 200 à 400 mg d' α -tocophérol/kg d'aliment, il n'y avait plus d'oxydation de lipides dans la viande de poulets qui avaient reçu de 15 à 61 g par kg d'AGPi. Bou et al. (2006) ont rapporté qu'un apport de 150 mg de vit E par kg d'aliment pendant 32 jours était optimal pour lutter contre les peroxydations lipidiques et assurer une stabilité des muscles chez le poulet de chair.

La vit E préserve l'intégrité des cellules en stabilisant l'équilibre électrolytique et le passage des ions à travers la membrane et favorise une bonne oxygénation dans la cellule.

Une étude de Bozkurt (2002) a rapporté que la pO_2 et la concentration de HCO_3^- étaient plus élevées chez des rats mâles Sprague-Dawley traités à la vit E. Sandercock et al. (2009) ont rapporté que les muscles des poulets de chair étaient plus riches en ions Na^+ , K^+ et Ca^{2+} que ceux des poules pondeuses. Ils concluent que la sélection pour la chair a significativement altéré la régulation des cations dans le muscle et l'altération de l'homéostasie cationique déclenche le processus de dégénérescence des fibres musculaires. La vit E pourrait diminuer la concentration de ces ions dans le sang. Selon l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa), les besoins minimum des animaux sont couverts par des rations comportant 5 à 50 UI de vit E par kg d'aliment, un peu plus que la dose recommandée par le NRC en 1994 (10 UI/kg d'aliment).

2.8.2. Système immunitaire

La vit E et le Se agissent en synergie et améliorent le système immunitaire. Dans une étude, Singh et al. (2006) ont mesuré le titre d'inhibition de l'hémagglutinine des anticorps, le taux d'immunoglobuline et la masse des organes lymphoïdes (thymus, bourse de Fabricius et rate) sur des poulets recevant 0-200 mg de vit E et 0-0.2 mg de Se par kg d'aliment. Le titre maximal d'inhibition de l'hémagglutinine et le poids le plus élevé des organes lymphoïdes ont été obtenus avec 200 mg de vit E et 0.2 mg de Se par kg de diète. Le taux maximal d'immunoglobuline a été obtenu avec 100 mg de vit E et 0.2 mg de Se. Leshchinsky et Klasing (2001) ont rapporté qu'un niveau de 50 UI vit E + 0.1mg de Se par kg d'aliment suffit pour produire un bon effet immuno-modulateur contre les infections au virus de la bronchite infectieuses et à *Brucella abortus*. En plus de cet effet, la vit E à cette dose pourrait inhiber la peroxydation des lipides et protéger les mitochondries et les microsomes du foie contre le stress oxydatif.

2.9. La vitamine C et la vitamine E

La vitamine C a des effets positifs contre le stress oxydatif chez les poulets et préserve l'intégrité des érythrocytes et l'insuffisance cardiaque. Nain et al. (2008) ont rapporté que

le stress oxydatif est impliqué dans la pathogénèse de l'insuffisance cardiaque chez le poulet de chair. La supplémentation alimentaire en vit E (960 UI/kg) et en vitamine C (400 mg/kg) n'a cependant pas diminué les dommages chez les poulets qui souffraient déjà d'insuffisance cardiaque.

Hypothèses de l'étude

Un ajout de vitamine E à l'aliment diminue la peroxydation lipidique et préserve l'intégrité de la fibre musculaire contre l'action des radicaux libres, ce qui permettrait de diminuer les dommages musculaires chez le poulet de chair.

Objectifs de l'étude

Prévenir la myopathie nutritionnelle du poulet de chair par ajout de vitamine E à l'aliment conventionnel.

Trouver un outil qui permettrait d'indiquer l'état des muscles et détecter précocement la myopathie afin de réajuster la quantité de vitamine E à apporter à la diète.

Moyen de vérification de l'hypothèse

Le nombre de fibres dégénérées serait plus élevé dans les muscles des poulets non-supplémentés en vitamine E.

Méthodologie

Article

DIETARY VITAMIN E, PREVENTING NUTRITIONAL MYOPATHY

Effect of an extra dietary vitamin E: Preventing Nutritional Myopathy in Broiler Chickens

Authors: B. Guetchom*, D. Venne†, Y. Chorfi*,¹

* Département de Biomédecine Vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire 3200 Sicotte CP 5000, Saint-Hyacinthe, QC, J2S 7C6, Canada.

† Couvoir Scott Ltée 1798 Rte Du Président-Kennedy Scott, Canada.

¹Corresponding author: Younes Chorfi, tel: 450-773-8521, Fax: 450-778-8109

Metabolism and Nutrition

ABSTRACT

The present study was carried out to evaluate the effect of vitamin E supplementation in conventional commercial diet on muscle degeneration associated with nutritional myopathy in broiler chickens. One-day-old male broiler chicks ROSS 308 (n=1100) were randomly assigned to 2 diet treatments; commercial diet with up to 50 mg of vitamin E added per kg, or commercial diet with no extra vitamin E. Chickens were divided into 10 pens (5 replicates for each treatment). Body weight, feed intake values were monitored weekly. At d28, d35, d42 and d49 blood samples were taken to measure plasma vitamin E and CK activity. Both *Pectoralis superficialis* and *Adductor magnus* muscles were sampled for histological examination at d28, d42 and d49 and degenerated fibers were numbered. Results showed that plasma levels of vitamin E were significantly higher in chickens from supplemented group ($P = 0.001$), whereas activity of CK was high in both groups, but not significantly different ($P = 0.20$). There were also less damaged fibers in pectoral muscle from d28 chickens receiving this supplemented diet.

These results suggested that adding vitamin E into the conventional diet increases plasma vitamin E and decreases the number of damage muscle fibers within pectoral muscle. Blood CK activity did not detect degenerated muscle fibers from these broiler chickens.

Key words: Broiler, dietary vitamin E, creatine kinase, nutritional myopathy

INTRODUCTION

Nutritional myopathy is characterized by necrosis and degeneration of skeletal muscle and/or myocardium. It is observed in chickens of 4 weeks of age, when they are fed a deficient diet in vitamin E and selenium (Se), especially when they are poor in sulphur amino acid or rich in polyunsaturated fatty acid (PUFA) (Leeson and Summers, 2001; Shane, 2006). Foods containing higher levels of PUFA are considered beneficial for human health, mainly by preventing cardiovascular diseases (Cortinas et al., 2005). Since chicken meat has become a source of PUFA, broilers diet is increasingly rich in vegetable fats to improve muscle content of omega-3 and omega-6 PUFA which in turn, increases the need for antioxidants such as vitamin E and Se (Villaverde et al., 2008).

Clinically, nutritional myopathy is characterized by degeneration of skeletal muscle fibers, usually in the breast, but sometimes also in the leg (Bains et al., 1975; Bains and Watson, 1978; Shane, 2006). When thigh muscles are affected, birds can be reluctant to walk and are unable to compete for feed and water. This can markedly affect the weight gain, animal welfare and meat quality (Kim et al., 2006, 2010). On the other hand, genetic selection has led to a greater muscle mass that has tripled in size and become vulnerable to antioxidant deficiencies and oxidative damages (Macrae et al., 2006).

Vitamin E is a biological antioxidant that can contribute to improve meat quality and storage stability because it has the ability to neutralize free radicals and reduce lipid peroxidation in both plasma and skeletal muscle tissues (Smet et al., 2008; Gao et al., 2010). Some studies showed the validity of supplementing up to 200 mg of vitamin E per kg of the diet and this level did not affect broiler chickens growth (Kim et al., 2006; Gao et al., 2010). Up to date, Nutrient Requirements of Poultry (NRC, 1994) recommends 10 IU of vitamin E per kg and 0.15 mg of Se per kg of the diet to meet chickens meat nutritional requirements; these recommendations have not been updated since 1994 despite the rapidly growing broiler needs. Data suggest to increase dietary vitamins levels by 0.6-1.0% yearly merely to maintain constant vitamins intake per unit of output (Leeson 2007).

Commercial broiler producers feed 25 IU/kg in UK or 50 IU/kg in USA (Leshchinsky, 2000). In Quebec, farmers use fivefold or more of the NRC's recommended vitamin E dose in conventional feed, but they are still not satisfied even though price of vitamin E is in constant rising. Frequent damage at gross examination in both pectoral and thigh muscles including white striations, fat or mineral deposit associated with muscular dystrophy have been noticed in the field.

Creatine Kinase (CK) is most commonly used to diagnose muscles damages in mammals because of its high specificity for muscles damages. Microscopic examination can also lead to detection of muscular lesions. Therefore, the objectives of this study were to assess the effect of an extra dietary vitamin E in commercial diet to minimize muscle damage and to establish a tool for earlier detection of muscle damage in order to adjust vitamin E in the diet for preventing nutritional myopathy.

MATERIALS AND METHODS

Animals

This study was conducted at the Institute of Agricultural Technology (IAT) farm in La Pocatière, Quebec Canada. Animal care procedures followed the guidelines of the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 1993) and the protocol was approved by the Animal Care Committee of the IAT. Broiler chicks (n=1100), one day old (Ross 308) were obtained from Scott Inc. Hatchery (Scott Ltee, Qc., Canada). Birds were randomly divided into 10 pens and submitted to two treatments with five replicates. Twenty birds were randomly selected from all pens every week to assess animal body weight. The experiment was performed from February to March 2009. Temperature, humidity and lighting controls were automated and the litter consisted of wood shavings.

Diets

In both groups, birds were fed diets formulated and supplied by the same feed-mill and had free access to fresh water. All chicks received anti-coccidiosis vaccine Coccivac B (Schering/Intervet Inc., Millsboro, De., USA). The two groups received different vitamin E supplementations; group E had 75:50:25 and group E+ has 125:75:50 mg of vitamin E / kg of diet in starting (d1 - d14), growing (d15 – d28) and finishing (d29 – d49) diets respectively (Table 1).

Biochemical Analyses

At d21, d28, d35, d42, and d49, five birds from each pen (n = 25 / group) were blood sampled and euthanized for further examinations; two ml of blood were collected from brachial vein (*cutanea ulnaris superficialis*) into a lithium heparinized tube (BD Diagnostics, Saint Laurent, Qc., Canada) and kept in an ice cold box for almost 3 hours. At lab, collected blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 min at 4 °C and plasmas were collected and stored at - 80 °C until use.

Plasma vitamin E was determined by HPLC, using Hewlett Packard Series 1100 liquid chromatograph (Agilent-Technologies, Mississauga, On., Canada) according to the

method published by Gueguen et al. (2002) and modified in our laboratory. Briefly, samples were isocratically eluted with a mix mobile phase (75/25) respectively of acetonitrile (Fischer Chemical, Nepean, On., Canada) and methanol (Fischer Chemical, Nepean, On., Canada), and detected at 285nm wavelengths through a Hewlett-Packard 1046 fluorescence diode-array detector (Agilent-Technologies, Mississauga, On., Canada). Column type was Zorbax Eclipse plus C18, 3,0 x 50 mm, 600 bars (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, Ca., USA). External and internal standards were prepared from α -tocopherol and α -tocopherol acetate (Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, On., Canada) and were injected before samples. Concentrations of vitamin E were determined in $\mu\text{g}/\text{dl}$ from a standard curve of the peak-area ratio of the analyte-internal standard plotted against the concentration of analyte. Conditions of compliance criteria and quality control included: coefficient of determination of standard curve (r) > 0.98, relative standard deviation (rsd) \leq 20%, detection limit (LOD) = 85-115 % and quantification limit (LQO) = 80-120 %.

Plasma CK activity was measured by spectrophotometry using commercial kits Synchron LX[®] (Beckman Coulter Inc., Fullerton Ca., USA) following the manufacturer guide. Briefly, plasma samples (0.1ml each) were diluted 20 fold (1.9 ml distilled water each) before being transferred into numbered tubes and placed onto the auto-analyzer. The Beckman-Synchron[®] system (Beckman instruments, Fullerton Ca., USA) automatically proportions the appropriate sample and reagent volume and monitors the change in absorbance at 340 nm. Two levels of control were previously validated in the Lab and CK activities were calculated by the analyzer.

Histopathology

Two birds per pen at d28, d42 and d49 (n = 10/group) were euthanized by cervical dislocation and a necropsy was performed. Small muscle samples from breast (*Pectoralis superficialis*) and thigh (*Adductor magnus*) measuring approximately 1 cm X 1.5 cm X 0.5 cm were taken, tied to a tongue depressor stick and immediately fixed in 10% neutral buffered formalin (pH 7.2) (Fisher, Saint Laurent, Qc., Canada). Transverse and

longitudinal sections of each muscle samples were performed and routinely processed. The samples were washed in graded alcohol 70 to 100% at 37°C for 6 hours, toluene for 4 hours at 37°C, embedded into paraffin for 4 hours at 58°C, then cut one micron thin strips onto microtome Microm HM355 (Fischer Scientific, Ottawa, On., Canada) and stained with hematoxylin, eosin-phloxine, and saffron (HPES) with Leica Autostainer XL (Meyer Instruments, Inc., Houston, Tx., USA). Sections were coverlipped on Leica CV 3000, and examined by light microscopy. Slides were examined using an optical microscope (Leica DM3000, Leica microsystems ltd., Heerbrugg, Germany). Ten fields at X100 magnification were observed for each (transverse or longitudinal) muscle sample and degenerated fibers were counted. An average of the ten fields was determined and used for statistical analysis.

Statistical analysis

Data were analyzed by a linear mixed model SAS (SAS Institute Inc., Nc., USA) with days and treatments as fixed factors, and pens as a random factor. Sequential Bonferonni correction was allowed to consider multiple measurements in the groups. The significance of difference was evaluated by *F-test* ($P \leq 0.05$).

RESULTS

Body weight and feed consumption

Results of average body weights taken on weekly basis showed no significant difference ($P > 0.05$) between the two groups. Similarly, there were no significant differences in feed efficiency (FE). However at day 49, feed consumption (FC) was significantly higher in the group E+ ($P < 0.001$) (Table 2).

Vitamin E

All days combined, plasma concentrations of vitamin E in broilers of the group E + were significantly higher than those in the group E, ($P = 0.001$) (Table 3).

Creatine Kinase (CK)

Plasma activity of CK was not significantly different between groups E + and E all days combined ($P = 0.20$). The effect of treatment was similar one day to another ($P = 0.53$) (Figure 1).

Histopathology

A small number of degenerated muscle fibers were seen in both cross and longitudinal sections in pectoral muscle. The degeneration was characterized by swelling and loss of striation of the sarcoplasm, vacuolation and fragmentation, and rare mineralization (Figure 2). There was also mild interstitial edema and a mild macrophage invasion of necrotic cells.

In some areas, the number of sarcolemmal nuclei was increased and centrally-located (regeneration). Adipocytes were more numerous between fibers of the adductor muscle (Figure 3) than of the pectoral muscle. The average of degenerated fibers was significantly higher in group E. Most lesions were observed on d28 chicken's pectoral muscle of this group ($P = 0.002$) (Figure 4).

There were no or rare degenerated muscle fiber in adductor muscle. Similarly no significant effect of treatments was observed all days combined ($P = 0.65$) in adductor

muscle. The average of degenerated fibers (breast + thigh) was significantly lower in treated chickens at d28 ($P = 0.0007$) but not at d42 ($P = 0.53$) and d49 ($P = 0.89$) and higher in breast than in thigh ($P < 0.0001$).

DISCUSSION

In this study, the extra-vitamin E did not significantly influence weight gain. Overall, the feed efficiency was 1.9 in both groups at 42 days, which correspond to Canadian's norm in broiler chickens (Omafra, 2000).

Our results showed that supplementing an extra-vitamin E of 25 to 50 mg per kg of commercial diet increased plasma vitamin E level after 28 days of age. This is consistent with previous studies showing an accumulation of vitamin E in plasma, skeletal muscle and other tissues up to 7 weeks of age, after broilers chickens were fed with 150 mg vitamin E/kg diet during 0 to 3 weeks of age (Barthov et al., 1992). In our study, full dose of vitamin E was 125 mg/kg of diet in the treated group at the starter phase. Therefore, vitamin E accumulates in the organism when it is brought by feed and the plasma level increases proportionally. Plasma level of vitamin E is thus a good indicator of body status of vitamin E in broiler chickens.

Creatine Kinase is an enzyme commonly used to assess skeletal and heart muscles damages and acute renal failure in mammals (Branciari et al., 2009). It was suggested by many authors that increasing blood CK may be indicative of stress-associate tissue dysfunction or may also reflect protein turnover, which is closely related to muscle growth rate or activity (Rajman et al., 2006; Szabó and Milisits 2007; Branciari et al., 2009). In our study, CK activity was very high but not significantly different between the two groups. This confirmed a previous study by Mueller et al., (2009) who showed no difference in CK activity from turkeys with or without vitamin E supplementation. In the current study, high activities of CK were noticed at d28 to d49 in both groups. Elevation of CK activity with increasing age in broilers was reported by Macrae et al. (2006) and in turkeys (Cardona et al., 1993). It was also demonstrated that CK is released from acutely damaged fibers and that its peak activity occurs within a few hours of injury and returns to normal within 24 h (Cardona et al., 1993). Like in our study, CK levels assessment was unable to detect myopathy in broilers. In contrast, CK activity was used successfully to detect muscle damage due to vitamin E and selenium deficiencies in broilers chickens in another study

(Bartholomew et al., 1998), in rats (You et al., 2003) and in human's muscular dystrophy (Morandi et al., 2006). Macrae et al. (2006) coupled plasma activities of CK, AST and LDH with histological examination to detect myopathy in commercial broilers chickens.

In this study, some muscles showed damaged fibers. Lesions in the affected muscles were fibers necrosis and degeneration with swelling, lost of striations in the sarcoplasm, vacuolation, mineralization, interstitial edema and invasion of necrotic cells by macrophages. These lesions were previously reported in chickens with degenerative myopathy (Bains et al., 1975) or nutritional myopathy (Bains and Watson 1978). The lesions were almost only located in the pectoral muscle (breast) and rarely in the adductor muscle (thigh). Both breast and thigh muscles are susceptible to attacks by free radicals. However the pectoral muscle with large fibers is more susceptible to necrosis because of poor vascularisation and weakening of capillaries due to the selection for meat purposes (Macrae et al., 2006). Our results confirmed that the pectoral muscle is a particularly vulnerable muscle in broiler chickens at earlier age (Macrae et al., 2006).

CONCLUSION

Earlier onset of degenerated fibers in pectoral muscle suggests that young chicks are most susceptible to vitamin E deficiency. Given the beneficial effects of vitamin E, it is important to find its appropriate supplementation. This subject is of nutritional and economic importance because animals fed vitamin E may also provide meat with an oxidative stability. The current study did not showed a particular increase in CK activity in birds fed commercial diet compared to extra supplemented ones. CK was thus not able to detect nutritional myopathy in broiler chickens. Microscopic examination showed little damaged muscle fibers and only significantly in the pectoral muscle. The peak of lesion was observed on breast muscle at d28.

ACKNOWLEDGMENTS

Ms. Marie Claude Gendron for her technical assistance during the measurement of vitamin E, M. Guy Beauchamp for statistical analyses. M. Pierre Genest at ITA La Pocatière and the financial support of Couvoir Scott Ltée are gratefully acknowledged.

REFERENCES

- Bains, B. S., F. A. Margaret, A. Mackenzie and R. A. McKenzie. 1975. Selenium response myopathy in broiler breeder hens in Queensland. *Aust. Vet. J.* 51(3): 140-145.
- Bains, B. S. and A. R. A. Watson. 1978. Nutritional myopathy – a cause of ataxia in broiler chickens. *Clinical Communication. N Z Vet J.* 26:31-32.
- Bartholomew, A., D. Latshaw and D. Swayne. 1998. Changes in blood chemistry hematology, and histology caused by a Selenium/Vitamin E deficiency and recovery in chicks. *Biol Trace Elem Res.* 62: 7-16.
- Bartov I., and M Frigg. 1992. Effect of high concentrations of dietary vitamin E during various age periods on performance, plasma vitamin E and meat stability of broiler chicks at 7 weeks of age *Br Poult. Sci.* 33: 393-402
- Branciarri, R., C. Mugnai, R. Mammoli, D. Miraglia, D. Ranucci, A. Dal Bosco, and C. Castellini. 2009. Effect of genotype and rearing system on chicken behaviour and muscle fiber characteristics. *J. Anim. Sci.* 87:4109-4117.
- Cardona, C. J., F.D. Galey, A.A. Bickford, B.R. Charlton and G. L. Cooper 1993. Skeletal myopathy produced with experimental dosing of turkeys with monensin. *Avian Dis*, 37:107-117.
- Cortinas, L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola, and M.D. Baucells 2005. Influence of the Dietary Polyunsaturation Level on Chicken Meat Quality: Lipid Oxidation. *Poult. Sci.* 84:48–55.
- Gao, J., H. Lin, X. J. Wang, Z. G. Song, and H.C. Jiao. 2010. Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci.* 89:318-327.
- Gueguen, S., B. Herbeth, G. Siest, P. J. Leroy. 2002. An isocratic liquid chromatographic method with diode-array detection for the simultaneous determination of

alpha-tocopherol, retinol, and five carotenoids in human serum. *J. Chromatogr. Sci.* Feb. 40(2):69-76.

Kim, B-C., Y-C. Ryu, Y-J., Cho, M. S. Rhee. 2006. Influence of dietary α -tocopherol acetate supplementation on cholesterol oxidation in retail packed chicken meat during refrigerated storage, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70(4), 808-814.

Kim, Y. J., W. Y. Park and H. Choi. 2010. Effect of dietary alpha-tocopherol, selenium, and their different combinations on growth performance and meat quality of broiler chickens *Poult. Sci*, Mar; 89 (3):603-8.

Leeson, S. (June 2007). Vitamin requirements: is there basis for re-evaluating dietary specifications? *World's Poultry Science Journal*, Vol.63, World's Poultry Science Association 2007. DOI: 10.1017/S0043933907001444 pp 255-266.

Leeson, S. and J.D. Summers. 2001. *Scott's nutrition of the chicken* 4th edition. University books Guelph, Canada, 591p.

Leshchinsky, T. V., 2000. Vitamin E and Immune function in poultry. PhD dissertation. Department of Animal Science, University of California, Davis, CA 95616.

Macrae, V. E., M. Mahon, S. Gilpin, D.A. Sandercock and M. A. Mitchel. 2006. Skeletal muscle fibre growth and growth associate myopathy in the domestic chicken (*Gallus domesticus*). *Br Poult. Sci.* 47(3):264-272.

Morandi, L., C. Angelini, A. Prella, A. Pini, B. Grassi, G. Bernardi, L. Politano, C. Bruno, D. De Grandis, P. Cudia, and A. Citterio. 2006. High plasma creatine kinase: review of the literature and proposal for a diagnostic algorithm. *Neurol. Sci.* 27:303-311.

Mueller, A. S., J. Fisher, E. Most and J. Pallauf. 2009. Investigation into selenium requirement of growing turkeys offered a diet supplemented with two levels of vitamin E. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 93: 313-324

National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of poultry*. 9th rev.ed Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Omafra (2000) Ontario Ministry of Agricultural, Food and Rural Affairs. Accessed on 2010, 08:40, 03 Nov.

Rajman, M. A., M.A. Juráni, D. A. Lamošová, M.A. Máčajová, M., Sedlačková, L. Košťál, D.B. Ježová and P. Výboh. 2006. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus Gallus*). *Comp.Biochem.Physiol*, part A 145; 363–371.

Shane, S.M., (2006). *Nutritional and digestive disorders of poultry*. Trowbridge, UK: Nottingham University Press, 166p.

Smet, K., K. Raes, G. Huyghebaert, L.Haak, S. Arnouts, and S. De Smet. 2008. Lipid and protein oxidation of broiler meat as influenced by dietary natural antioxidant supplementation, *Poult. Sci*; 87:1682–1688.

Szabó, A., and G. Milisits. 2007. Clinicochemical follow-up of Broiler rearing a five-week study *Acta Vet. Hung*, 55 (4), pp. 451–462.

Villaverde, C., M.D. Baucells, E. G. Manzanilla, and A.C. Barroeta. 2008. High Levels of Decrease α -Tocopherol Content of Whole Body, Liver, and Plasma of Chickens Without Variations in Intestinal Apparent Absorption. *Poult. Sci* 87:497-505.

You T., A. H. Goldfarb, FACSM, R.J., Bloomer, L. Nguyen, X. Sha and M.J. McKenzie. 2003. Effect of Antioxidant Supplementation on Oxidative Stress Markers in rat Skeletal muscle after downhill Running. *Med Sci Sports Exerc*. 35(5), p 62-69.

Table 1: Feed composition

Ingredients	d1 to d14	d15-d28	d29-d35	d35-d49
Corn (g/kg)	516.75	608.3	687.5	708.6
Soybean meal (48% CP) (g/kg)	231	210	248	195
Added fat (g/kg)	5	5	11	10
Salt (g/kg)	1.45	1.85	2	1.9
Brown Shorts (g/kg)	97	61	0	36
Canola meal (g/kg)	25	8.5	0	0
Turkey's super premix (g/kg)	20	20	18	16
Corn gluten feed (g/kg)	47.5	50	0	0
Gluten meal (g/kg)	15	0	0	0
Limestone min (g/kg)	17.5	17	15	15
Dicalcium Phosphate 14 (g/kg)	14	12.5	12	11
Bicarbonate (g/kg)	2.8	2.65	2.6	2.9
Premix (g/kg)	1.7	0.5	0.6	0.6
D-L Methionine (g/kg)	1.75	0.95	1.2	0.9
L-Lysine (g/kg)	1.75	0.6	0.7	0.9
L-threonine (g/kg)	0.4	0	0	0
Mycocurb S.® (g/kg)	0.5	0.5	0.5	0.5
Cooper sulphate (g/kg)	0.3	0.4	0.4	0.4
Galliacid ® (g/kg)	0.6	0.6	0.6	0.6
Selenium (mg/kg)	0.3	0.3	0.3	0.3
Vitamin E (IU/kg)	125 or 75	75 or 50	50 or 25	50 or 25

Table 2: Average of feed consumption (FC) and feed efficiency (FE) (\pm SEM) in 2 groups of broilers (n=20/group) supplemented with different vitamin E intakes (per kg of diet); E+ (50 to 125 mg) and E (25 to 75 mg). FC was higher in E+ group at d49 ($P < 0.001$).

		d21	d28	d35	d42	d49
FC	E+	1.3 \pm 0.06	2.3 \pm 0.06	3.7 \pm 0.06	5.2 \pm 0.06	7.3 \pm 0.06***
	E	1.2 \pm 0.06	2.2 \pm 0.06	3.5 \pm 0.06	5.1 \pm 0.06	6.9 \pm 0.06
FE	E+	1.9 \pm 0.03	1.9 \pm 0.03	1.9 \pm 0.03	1.9 \pm 0.03	2.0 \pm 0.03
	E	1.7 \pm 0.03	1.7 \pm 0.03	1.8 \pm 0.03	1.9 \pm 0.03	2.0 \pm 0.03

*** $P < 0.001$

Table 3: Plasma vitamin E concentrations in 2 groups of broilers (n=25/group) with different vitamin E intakes (per kg of diet); E+ (50 to 125 mg) and E (25 to 75 mg). Data are presented as means (μ g/dl) \pm SEM. [The level of vitamin E was higher ($P = 0.0001$) in the E+ group (treated group) compared to E group (control group)].

	d21	d28	d35	d42	d49
E+	368.5 \pm 50.1	834.9 \pm 45.0*	1086.9 \pm 49.8*	1512.5 \pm 49.8*	1048.5 \pm 106.4*
E	329.5 \pm 50.3	509.4 \pm 37.1	811.2 \pm 49.8	933.3 \pm 49.2	688.0 \pm 106.4
<i>P</i>	0.58	0.001	0.0001	< 0.0001	0.02

*) Significantly higher than control group (E) by *F-test* ($P < 0.05$).

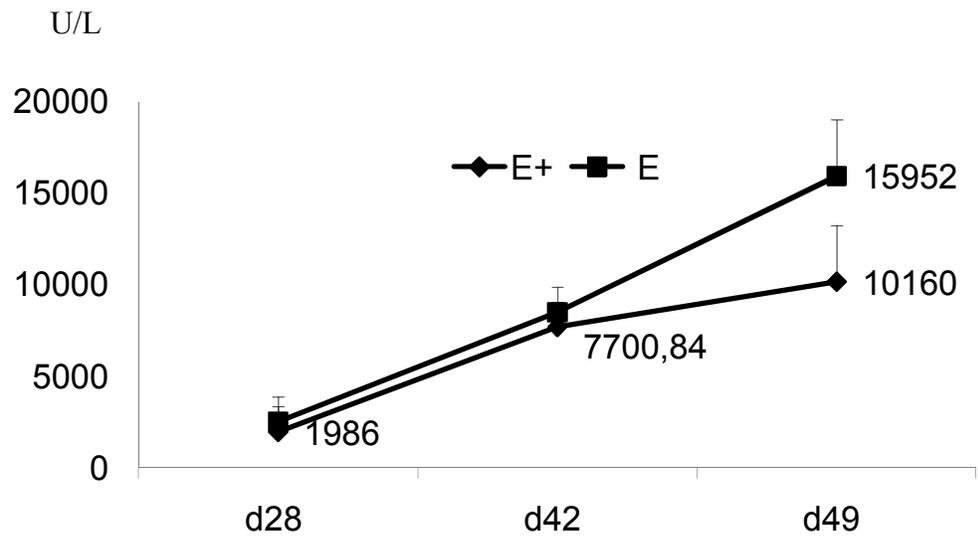
Figure Captions:

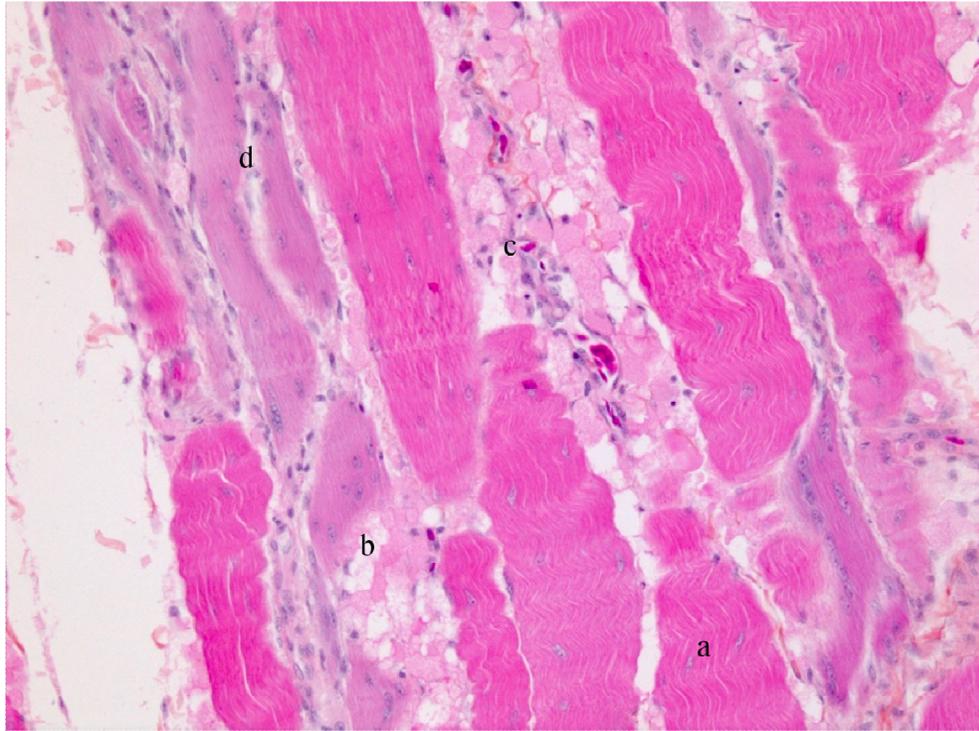
Figure 1: Mean plasma activity of CK in 2 groups of broilers (n=25/group) supplemented with different vitamin E intakes (per kg of diet); E+ (50 to 125 mg) and E (25 to 75 mg): Data are presented in means (U/L) \pm SEM. The activity of CK was very high in both groups, but no difference was observed between the two groups.

Figure 2: Pectoral muscle of a 42-day-old broiler chicken receiving a commercial diet (25 to 75 mg vitamin E/kg of diet) at X200 G. Note: normal fiber (a), fragmented fiber (b), macrophage (c), and regenerating fiber with sarcolemmal nuclei centrally located (d).

Figure 3: Adductor muscle from a 42-day-old broiler chicken receiving a commercial diet (25 to 75 mg vitamin E/kg of diet) at X100 G. Note fat particles among muscle fibers.

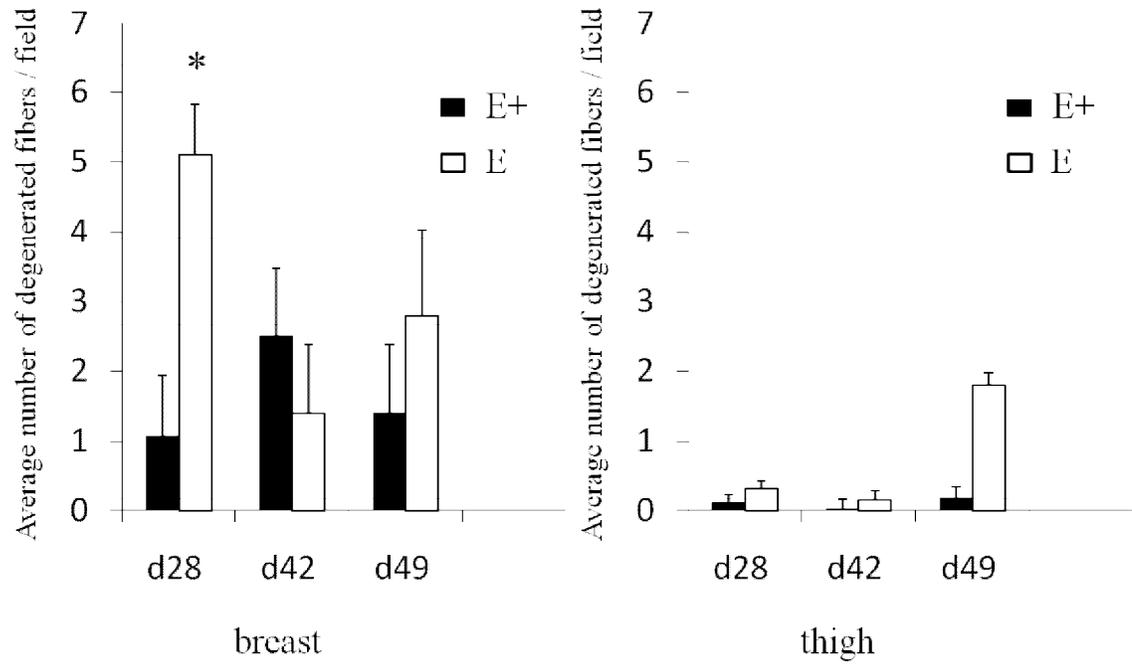
Figure 4: Average degenerated fibers/field at X100 G in *Pectoral Superficialis* muscle (breast) and in *Adductor magnus* muscle (right) from broiler chickens (n=10/group) receiving either commercial diet with a 25 to 50 extra-vitamin E/kg of commercial diet (E+) or a commercial diet (E). Note that commercial diet is already supplemented in vitamin E (25 to 75 mg per kg of diet).





(a) normal fiber, (b) fragmented fiber, (c) macrophage, (d) regenerating fiber





Discussion générale

Les principaux objectifs de ce travail étaient d'évaluer l'impact d'un enrichissement de la diète commerciale en vitamine E sur la dégénérescence des fibres musculaires de la poitrine et de la cuisse chez le poulet de chair, et d'établir un outil d'évaluation des dommages musculaires afin de réajuster la quantité de vitamine E dans la diète de façon à prévenir la myopathie nutritionnelle du poulet de chair au Québec.

Nous nous sommes intéressés dans le cadre de ce travail au muscle pectoral superficiel (*Pectoralis superficialis*) et au muscle adducteur de la cuisse (*Adductor magnus*). La valeur marchande du muscle pectoral est élevée dans les pays développés (Leeson, 2007a; Petracci et al., 2009). Quant au muscle adducteur, il est l'un des principaux muscles qui permettent aux poulets de se déplacer et d'adopter une posture adéquate dans le poulailler. Ce muscle est cité parmi les muscles de la cuisse qui s'atrophient lors de dystrophie musculaire (Bains et Watson, 1978).

La vit E et le Se sont impliqués dans l'apparition de la myopathie nutritionnelle du poulet de chair (Lederer, 1986); la vit E ne peut être remplacée par le Se dans son rôle (Harrison et Mc Donald, 2006), et les besoins en Se sont généralement couverts à faible dose. Le coût de la vit E limite malheureusement son utilisation et les éleveurs auraient tendance à diminuer son apport dans les moulées. Outre son rôle biologique chez le poulet, la vit E améliore la stabilité de l'aliment contre le rancissement des graisses et préserve sa qualité nutritive quand elle est incorporée dans l'aliment (Leeson et Summers, 2005).

Dans la présente étude, l'ajout de vit E à la diète commerciale n'a pas modifié de façon significative le gain de poids. L'efficacité alimentaire était de 1,9 à j42 chez les poulets dont la diète était enrichie en vitamine E ainsi que chez ceux qui recevaient l'aliment conventionnel sans vit E surajoutée, ce qui correspond à la norme canadienne (Omafra, 2010), et montre qu'un ajout de 50 mg de vit E par kg d'aliment commercial n'influence pas négativement la consommation d'aliment chez les poulets de chair. La concentration plasmatique de vit E était plus élevée chez les poulets dont la diète était plus riche en vit E (groupe supplémenté) conformément à ce qu'ont rapporté Mueller et al. (2009). Dans la présente étude, la concentration plasmatique de vit E augmente de j28 à j42

et chute à j49 alors que la richesse de la diète en vit E baisse graduellement avec l'âge, passant de 125 mg ou 75 mg/kg d'aliment au premier jour à 50 mg ou 25 mg/kg dès j35 respectivement dans le groupe traité et dans le groupe contrôle. Ceci pourrait traduire que la vit E s'accumule dans l'organisme, s'y maintient pendant plusieurs jours, comme le confirme l'étude de Barthov et al. (1992). En effet un apport alimentaire de 150 mg de vit E/kg d'aliment de 0 à 3 semaines d'âge a amélioré le niveau de vit E chez les poulets jusqu'à 7 semaines d'âge. De ce fait, la mesure de la concentration de vit E plasmatique donne une indication de la présence de vit E dans le muscle comme le confirme l'étude de Gao et al. (2010).

L'activité plasmatique de la CK n'était pas différente dans les deux groupes et sa mesure n'a pas permis d'évaluer les dommages musculaires chez ces poulets. Toutefois elle augmentait de j28 à j49. Pareillement, Mueller et al. (2009) n'ont pas trouvé de différence d'activité de CK entre les groupes de dindes qui avaient reçues une diète supplémentée en vit E et en Se et celles dont l'alimentation contenait seulement de la vit E ou seulement du Se ou celles dont la diète ne contenait ni vit E ni Se. Contrairement à nos résultats et à ceux de Mueller et al. (2009), Bartholomew et al. (1998) ont rapporté une corrélation entre les dommages musculaires dus à une déficience en vit E et en Se et activité de la CK chez les poulets de chair, tout comme You et al. (2003) qui ont rapporté une forte activité de CK et une forte dégénérescence musculaire suite à une activité physique intense chez les rats non traités à la vit E comparativement aux rats traités à la vit E. En dépit ceci, l'activité de CK était très élevée dans nos deux groupes de poulets. Nous l'attribuons principalement au métabolisme protéique élevé engendré par la forte activité de croissance chez les poulets de chair et aux fortes fluctuations d'activité de CK observées dans les deux groupes de poulets. L'étude de Sandercock et al. (2009) confirme que l'activité de la CK est plus élevée chez les poulets à croissance rapide tels que les Broilers que chez les poulets à croissance plus lente tels que les Leghorn. Celle de Branciarri et al. (2009) a montré que l'activité de la CK est plus élevée que chez les poulets Ross 208 (4542 UI) comme ceux qui ont été traités dans cette étude, comparativement aux poulets Leghorn (1590 UI) alors que les deux groupes de poulets avaient reçu la même ration et étaient soumis au même système

d'élevage pendant les cinq premières semaines de leur vie. Cardona et al. (1993) ont enregistré de fortes fluctuations de l'activité CK chez des dindes soumises à un même traitement alimentaire. Macrae et al. (2006) ont enregistré une élévation de l'activité de la CK sur des Broilers de la lignée Cobb 500 avec l'âge soit de 955 UI à 1035 UI entre 5 et 12 semaines d'âge. Si l'élévation de l'activité de CK sanguine est souvent un signe de dysfonctionnement des tissus musculaires, elle peut aussi refléter le renouvellement des protéines, et est étroitement liée à la croissance musculaire (Rajman et al., 2005; Szabó et al., 2007 ; Branciari et al., 2009).

L'examen histologique a révélé des dommages musculaires dans le muscle pectoral notamment : (a) des fibres fragmentées, (b) une migration centripète des noyaux indicatrice de régénérescence, (c) une infiltration de macrophages et (d) un œdème interstitiel. Ce type de lésions a été observé auparavant sur les poulets de chair atteints de myopathie nutritionnelle par Bains et al. (1975) puis sur des reproducteurs chair atteints de myopathie (Macrae et al., 2007). Le nombre moyen de fibres dégénérées observées dans cette étude est plus élevé dans le muscle pectoral superficiel (poitrine) que dans le muscle adducteur (cuisse) de façon générale. En outre il y avait plus de fibres dégénérées (5 fibres/champ d'environ 300 fibres) à j28 dans la poitrine des poulets dont la diète n'était pas enrichie en vit E. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Branciari et al., (2009) qui rapportent une plus forte prévalence de dommages dans le muscle pectoral superficiel des poulets Ross 208, et une susceptibilité des fibres du muscle pectoral à la dégénérescence, notamment en bas âge lors de déficience en vit E. Très peu de signes de dégénérescence ont été observés sur la cuisse, sauf une plus grande quantité d'adipocytes interstitiels qui ne semblaient pas indicatifs d'une perte antérieure de fibres dans le muscle. Le muscle pectoral superficiel (*Pectoralis superficialis*) et le muscle adducteur de la cuisse (*Adductor magnus*) sont susceptibles aux attaques par les radicaux libres. Cependant le gros diamètre des fibres du muscle pectoral superficiel le rend vulnérable à la nécrose à cause de son réseau de vascularisation défaillant suite à la sélection pour la viande. Nos résultats sont confirmés par les travaux de Macrae et al. (2006) qui ont montré que le muscle pectoral superficiel est très vulnérable aux dommages musculaires chez les poulets de chair au jeune

âge, et par ceux de Branciari et al. (2009) pour qui la déficience en vit E rend le muscle pectoral superficiel plus vulnérable à la myopathie que ne l'est le muscle adducteur de la cuisse en bas âge chez les poulets Ross 208.

Conclusion

L'apparition précoce des fibres dégénérées dans le muscle pectoral suggère que les jeunes poulets sont très sensibles aux déficiences en vit E. Étant donné que la vit E a des effets bénéfiques chez les poulets, il est important de trouver une supplémentation appropriée et de l'adapter en fonction des besoins. Ce sujet est d'une importance nutritionnelle et économique parce que les animaux nourris avec une diète riche en vit E peuvent également fournir de la viande avec une stabilité à l'oxydation. La présente étude a montré que la mesure de l'activité de la CK ne permet pas de détecter la myopathie nutritionnelle précocement dans tous les cas chez les poulets de chair. L'examen histologique a permis par contre de mettre en évidence des dommages musculaires avec un pic à 28 jours. Cet examen pourrait être considéré dans un diagnostic précoce de myopathie nutritionnelle du poulet de chair.

Bibliographie

Agence française pour la sécurité des aliments (AFSSA), France

Agence Canadienne d'inspection des aliments (ACIA), 2007; Communication, Canada

Alberta Agricultural and rural development (AAARD), 2006 Canada

Arnould, C., & Leterrier C. (2007). Bien-être animal en élevage de poulets de chair. INRA: *Prod. Anim.*, 20 (1), 41-46.

Ashmore, C.R., & Doerr, L. (1971). Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Experimental Neurology*, 31, 408-418.

Avanzo, J.L., De Mendonça, C.X. Jr., & De Cerqueira, C.M. (2002). Role of antioxidant systems in induced nutritional pancreatic atrophy in chicken. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 131, 815-823.

Avanzo, J.L., De Mendonça, C.X. Jr., Pugine, S.M.P., & De Cerqueira, C.M. (2001). Effect of vitamin E and selenium on resistance to oxidative stress in chicken superficial pectoral muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C* 129, 163-173.

Azad, M.A.K., Kikusato, M., Maekawa, T., Shirakawa H., & Toyomizu, M. (2010). Metabolic characteristics and oxidative damage to skeletal muscle in broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*:155, 401-406.

Bacou, F., & Vigneron, P. (1988). Propriétés des fibres musculaires squelettiques. Influence de l'innervation motrice. *Reprod. Nutr. Dévelo.*, 28 (6A), 1387-1453.

- Bains, B.S., Margaret, F.A., MacKenzie, A., & McKenzie, R.A. (1975, March). Selenium-response myopathy in broiler breeder hens in Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 51(3), 140-145.
- Bains, B.S., & Watson, A.R.A., (1978). Nutritional myopathy-a cause of ataxia in broiler chickens. *New Zealand Veterinary Journal*, 26, 31-32.
- Baird, G.J., Caldow G.L., Peek, I.S., & Grant, D.A. (1997). Monensin toxicity in a flock of ostriches. *The Veterinary Record*, 140, 624-626.
- Barnard, E.A., Lyles, J.M., & Pizzey J.A. (1982). Fibres types in chicken skeletal muscles and their changes in muscular dystrophy. *J. Physiol.*, 331, 333-354.
- Bartholomew A., Latshaw D. & Swayne D. (1998). Changes in blood chemistry hematology, and histology caused by a Selenium/Vitamin E deficiency and recovery in chicks. *Biol Trace Elem Res.* 62: 7-16.
- Berri, C., & Duclos, M.J. (2003). Typologie et ontogénèse des fibres musculaires chez les oiseaux. INRA: *Prod., Anim.*, 16(2), 137-143.
- Bianchi, M., Petracci M., Franchini, A., & Cavani A. (2006). The Occurrence of Deep Pectoral Myopathy in Roaster Chickens. *Poult. Sci* 85, 1843–1846.
- Bieri, J. G. (1960). Current aspects of vitamin A, vitamin E, and selenium in poultry nutrition. *World's poultry science journal*, 16, 245-258. Cambridge University Press. 1.
- Blair, R (2008). *Nutrition and feeding of organic poultry*. Cromwell Press. Trowbridge, UK. 314p.

- Blood D. C., Studdert V.P. and Gay C.C., 2007, *Saunders comprehensive veterinary dictionary*, 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, USA.2172p
- Bozkurt, A.K. (2002). A-Tocopherol (Vitamin E) and Iloprost attenuate reperfusion in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J.Cardiovasc Surg (Torino)*. 43:693-6.
- Bou, R., Grimpa, S., Baucells, M.D., Codony, R., & Guardiola, F. (2006). Dose and Duration Effect of α Tocopherol Content, and Oxidative Status. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 5020-5026.
- Branciarri R., Mugnai C., Mammoli R., Miraglia, D., Ranucci, A., Dal Bosco A., & Castellini, C. (2009). Effect of genotype and rearing system on chicken behavior and muscle fiber characteristics. *J. Anim. Sci.*, 87, 4109-4117.
- Brenes, A., Viveros, A., Goni, I., Centeno, C., Sayago-Ayerdy, S.G., Arija, I., & Saura-Calixto F. (2008). Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poult. Sci*, 87, 307-316.
- Callejas, M., (2009). *Le sélénium et la reproduction chez la vache. Diagnostic et prévention des carences*. (Thèse de doctorat vétérinaire). École nationale vétérinaire d'Alfort, France.
- Cardona, C.J., Galey, F.D., Bickford, A.A., Charlton, B.R., & Cooper, G.L. (1993). Skeletal myopathy produced with experimental dosing of turkeys with monensin. *Avian diseases* 37(1), 107-117.
- Carpentier J.A., Charbonneau G., et Josephson G. (2005) Tiamuline and narasin toxicosis in nursery pig. Case report. Peer Reviewed, *Journal of swine heath and production*. Novembre and Decembre 2005. 333-336.

- Cavani, C., Petracci, M., Trocino, A., & Xiccato, G. (2009). Advances in research on poultry and rabbit meat quality. *Ital. J. Anim. Sci.* 8, (suppl. 2), 741-750.
- Cheikh, A.R. (2009). *Développement de stratégies pour améliorer la survie des myoblastes humains in vitro et in vivo dans le cadre d'une thérapie cellulaire pour la dystrophie musculaire de Duchene.* (Mémoire de Maîtrise). Université Laval, Québec, Canada.
- Cherian, G. (2007). Metabolic and Cardiovascular diseases in poultry: role of dietary lipids. *Poult. Sci* 86: 1012-1016.
- Combs G. F., Jr., & Scott M.L. (1974). Antioxidant Effects on selenium and vitamin E function in the chick. *J.Nutr.* 104, 1297-1303.
- Cortinas, L., Barroeta, A., Villaverde, C., Galobart, J., Guardiola, F., & Baucells, M.D., (2005). Influence of dietary polyunsaturation level on chicken meat quality : Lipid oxidation. *Poult. Sci*, 84, 48-55.
- Cortinas L., Villaverde, C., Galobart, J., Baucells M.D., Codony R., & Barroeta A.C., (2004). Fatty acid content in chicken thigh and breast as affected by dietary polyunsaturation level. *Poult. Sci*, 83, 1155–1164.
- Cuvelier, C., Dotrppe, O., & Istasse, L. (2003). Vitamine E : état des connaissances chez les carnivores domestiques. Métabolisme, besoins et apports. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 367-382.
- Cuvelier, C., Dotrppe, O., & Istasse, L. (2007). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 315-324.

- Das C., Roy C., Oshima I., Miyachi H., Nishimura S., Iwamoto H., & Tabata S. (2009, January). Collagen content and architecture of the iliotibialis lateralis muscle in male chicks and broilers with growth rates fed on different nutritional planes. *British Poultry Science*, 50 (1), 47-56.
- Das, C., Roy C., Oshima, I., Miyachi, H., Nishimura, S., Iwamoto, & H., Tabata, S. (2010). Collagen content and architecture of the pectoralis muscle in male chicks and broilers reared under various nutritional conditions. *Animal Science Journal*, 81, 252-263.
- Demangeon, N. (2007). *Iode, sélénium et antioxydants chez le cheval d'endurance. Évaluation du statut sanguin et des facteurs de variation chez 54 chevaux d'endurance de haut niveau.* (Thèse de doctorat vétérinaire). École nationale vétérinaire d'Alfort, France.
- Diplock, A.T. (1974). The nutritional and metabolic roles of selenium and vitamin E. *Proc. Nutr. Soc.* 33, 315-322.
- El Fadil, A.A., Vaillacourt, J.-P., Meek, A.H., & Gyles C.L. 1996, A prospective study in Broiler Chickens in Southern Ontario. *Avian disease*, 40, 677-689.
- Fisher, J., Bosse, A., & Pallauf, J., (2008, December). Effect of selenium deficiency on the antioxidative status and muscle damage in growing turkeys. *Archives of Animal Nutrition*, 62(6), 485-497.
- Gao, J., Lin H., Wang X.J., Song Z. G., & Jiao H.C. (2010, Feb.). Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poult. Sci*, 89(2), 318-327.

- Gill, T.A., Sudeen, G.B., & Richards, J.F. (1980). The effects of dietary selenium and vitamin E on avian white muscle disease as measured by both chemical and physical parameters. *Poult. Sci*, 59 (9), 2088-2097.
- Harrison, G. J., & Mc Donald D. (2006). Nutritional considerations section II. Dans Harrison G.J., Lightfoot T. (dir.), *Clinical Avian Medicine Volume 1* (pp 101-115) .1st Ed. Palm Beach, FL, USA: Spix Publishing, Inc.
- Herenda, D., Jakel, O. (1994). Poultry abattoir survey of carcass condemnation for standard, vegetarian, and free range chickens. *Can Vet J.*, 293-296.
- Horwitt M.K., (2001). Critique of the requirement for vitamin E. *Am J Clin Nutr .*, 73, 1003-1005 Special article.
- Kaplan N.O., & Cahn R.D. (1962). Lactic dehydrogenases and muscular dystrophy in the chicken. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 48, 2123-2130.
- Kijowski, J., & Konstanczack, M. (2009). Deep pectoral myopathy in broiler chickens. *Bull vet Inst Pulawy* 53, 487-491.
- Kingston, B. (2005). *Understanding Muscles. A practical guide to muscle function* (2nd ed., p8). London, UK: Nelson Thornes.
- Kranen, R.W., Lambooi E., Veerkamp C.H., Van Kuppevelt T. H., & Veerkamp J. H. (2000, June). Haemorrhages in muscles of broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 56, 93-126. UK : Cambridge University Press.
- Le Bars, M.J-F., (2004). *Dystrophies musculaires chez les bovins : Étude bibliographique*. (Thèse de doctorat vétérinaire). École Nationale Vétérinaire d'Alfort, France.

- Le Bihan-Duval, E., Debut, M., Berri, M.C., Sellier, N., Santé-Lhoutellier, V., Jégo, Y., & Beaumont, C. (2008). Chicken meat quality: genetic variability and relationship with growth and muscle characteristics, *BMC Genetics*, 9(53), 1471-2156.
- Leclerc, B., Fairbrother, J.M., Bouliane, M., Messier, S. (2003), Evaluation of the capacity of *Escherichia coli* Isolates associated with avian cellulitis. *Avian Diseases* 47, 21-31.
- Lederer, J. (1986). *Sélénium et vitamine E, Les deux pompiers de l'organisme*. Bruxelles, Belgique: Éditions Nauwelaerts.
- Leeson, S. (2007^a). Metabolic changes: Past, Present, and Future. *J. Appl. Poult. Res.*, 16,121-125.
- Leeson, S. (June 2007^b). Vitamin requirements: is there basis for re-evaluating dietary specifications? *World's Poultry Science Journal*, Vol.63, World's Poultry Science Association 2007. DOI: 10.1017/S0043933907001444 pp 255-266.
- Leeson, S., & Summers J.D. (2001). *Scott's nutrition of the chicken*, (4th ed). Guelph, Ontario Canada: University Books. 414p.
- Leeson, S., & Summers J.D. 2005; *Commercial Poultry Nutrition*, (3rd ed). Guelph, Ontario, Canada: University Books. 398p.
- Lemieux, K. (2003). Mécanisme d'action de la contraction musculaire sur le transport du glucose dans le muscle squelettique de rat pp. 8-9, (Thèse de doctorat), Université Laval, Québec, Canada.
- Leshchinsky, T.V. & Klasing, K.C. (2001). Relationship between the levels of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poult. Sci*, 80,1590–1599.

- MacDonald, D.W., Christian, R.G., Whenham, G.R., & Howell, J. (1976) A Review of some aspects of vitamin E-Selenium response diseases with a note on their possible incidence in Alberta. *The Canadian veterinary journal*, 17(3), 61-71.
- Macrae, V.E., Mahon, M., Gilpin, S., Sandercock, D., A. & Mitchel, M.A. (2006, June). Skeletal muscle fibre growth and growth associate myopathy in the domestic chicken. *British Poultry Science*, 47(3), 264-272.
- Macrae V.E., Mahon M., Gilpin S., Sandercock., D., A. & Mitchel M.A., (2007). A comparison of breast muscle characteristics in three broiler great-grandparent lines. *Poult. Sci*, 86, 382-385.
- Mahmoud, K.Z. & Hijazi, A.A., (2007). Effect of vitamin A and/or E on plasma enzymatic antioxidant systems and total antioxidant capacity of broiler chickens challenged with carbon tetrachloride. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91, 333-340.
- Morandi, L., Angelini, C., Prella, A., Pini A., Grassi, B., Bernandi, G., ... Citterio, A. (2006). High plasma creatine kinase : review of the literature and proposal for a diagnostic algorithm. *Neurl Sci*. 27, 303-311.
- Mujahid, A.Y., Akiba, Y., & Toyomizu M. (2007). Acute Heat stress induces oxidative stress and decreases adaptation in young White Leghorn cockerels by downregulation of avian uncoupling protein, *Poult. Sci*, 86, 364–371.
- Mueller, A.S., Fischer, J., Most, E., & Pallauf, J. (2009). Investigation into selenium requirement of growing turkeys offered a diet supplemented with two levels of vitamin E. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93,313-323.

- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. (2003). *Biochimie de Harper* (25e éd. am.). Québec, Québec: Les Presses de l'Université Laval.
- Nain, S., Wojnarowicz C., Laarveld, B., & Olkowski A.A. (2008, Nov.). Effects of dietary vitamin E and C supplementation on heart failure in fast growing commercial broiler chickens. *British Poultry Science*, 49(6), 697-704.
- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry* 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Omafra (2000). Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Consulté le 2010, 08:40, 03 Nov.
- Patridge, T.A. (2002). Satellite - non - embryonic stem cells. Cells that participate in regeneration of skeletal muscle. *Gene therapy*, 9, 752-753.
- Pesti, G.M., Bakalli, R.I., Driver, J.P., Atencio, A., Foster, E.H. (2007), *Poultry nutrition and feeding*. A textbook. Oxford U.K.: Trafford publishing.
- Petracci M., Bianchi M., Cavani C. (2009). The European perspective on pale soft exudative conditions in poultry. *Poult. Sci* 88, 1518-1523.
- Philbey A. W. (1991), Skeletal myopathy induced by monensin in adult turkey. *Australian Veterinary Journal*, Vol 68, No7, July 1991. 250-251.
- Polak, M., Przybylska-Gornowicz. B., & Faruga, A. (2010). The effect of different rearing conditions on muscle characteristics in Broilers of two Commercial lines-A light microscopic study. *Journal of Poultry Science*, 47(2),125-132.

- Ranmanth, V., Rekha, P.S. & Sujatha, K.S., (2008). Amelioration of heath stress induced disturbances of antioxydant defense system in chicken by Brahma Rasayana. Advance Access Publication. eCAM 2008; 5 (1) 77-84 doi :1093| ecam|nel 116.
- Roudant, B., Chéneau, E., Henri, J., Burel, C., Maurice, R., & Sanders, P. (2009, 25-26 mars). *Étude des déplétions tissulaires du monensin chez le poulet et la dinde*, St Malo, France: Huitièmes journées de la recherche avicole.
- Roy, B.C., Oshima, I., Miyachi, H., Shiba, N., Nishimura S., Tabata, S. & Iwamoto, H. (2007, June). Histochemical properties and collagen architecture of M. iliotibialis lateralis and M. puboischiofemoralis in male broilers with different growth rates induced by feeding at different planes of nutrition, Br Poult Sci. 48(3), 312-322.
- Ruiz, J.A., Guerrero, L., Arnau, J., Guardia, M.D., & Esteve-Garcia E., (2001). Descriptive sensory analysis of meat from broilers fed diets containing vitamine E or β -carotene as antioxidants and different supplement fats. *Poult. Sci*, 80, 976-982.
- Sandercock D.A., Barker Z.E., Mitchell, M.A., & Hocking P. (2009, 14 Janv.). Changes in muscle cell cation regulation and meat quality traits are associated with selection for high body weight and meat yield in broiler chickens. *Genetic Selection Evolution*, 41(8) 1-8.
- Sandercock D.A., & Mitchell, M.A. (2003). Myopathy in Broiler Chickens: A Role for Ca²⁺-Activated Phospholipase. *Poult. Sci*, 82, 1307–1312.
- Sandercock D.A., & Mitchell M. A. (2004). The role of sodium ions in the pathogenesis of skeletal muscle damage in broiler chickens. *Poult. Sci*, 83, 701-706.
- Scheuermann, G.N., Bilgili S.F., Hess J.B., & Mulvaney,D.R., (2003). Breast muscle development in commercial broiler chickens. *Poult. Sci*, 82, 1648–1658.

- Scheuermann, G.N., Bilgili, S.F., Tuzun, S. & Mulvaney D.R., (2004). Comparison of chicken genotypes: myofiber number in pectoralis muscle and myostatin ontogeny. *Poult. Sci*, 83, 1404–1412 (2004).
- Sen, K.C., Khanna, S., & Roy, S. (2006, 27 March). Tocotrienols: vitamin E beyond tocopherols. *Life Science*, 78(18): 2088-2098.
- Shane, S.M., (2006). *Nutritional and digestive disorders of poultry*. Trowbridge, UK: Nottingham University Press. 166p.
- Shih, J.C.H., Jonas, R.H., & Scott, M.L., (1977). Oxidative deterioration of the muscle proteins during nutritional muscular dystrophy in chicks. *Journal of Nutrition*, 107, 1786-1791.
- Shivaprasad, H.L., Crespo, R., Puschner, B., Lynch, S., & Wright, L. (2002). Myopathy in brown pelicans (*Pelicanus occidentalis*) associated with rancid feed. *Veterinary Record*, 150, 307-311.
- Singh H., Sodhi S., Kaur R. (2006, Dec) Effects of dietary supplements of selenium, vitamin E or combinations of the two on antibody responses of broilers. *Br. Poult Sci*, 47 (6): 714-719
- Sweeny, P.R., Buchanan-Smith, J.G.F., De Mille. D., Pettit J.R., & Moran, E.T., (1972). Ultrastructure of Muscular Dystrophy. A Comparative Study in Lambs and Chickens. *Am. J. Pathol.* 68, 493-510.
- Szabo A., & Milisits, G. (2007), Clinicochemical follow-up of broiler rearing – A five-week study. *Acta veterinaria Hungarica*, 55 (4), 451-462.

- Testai, F.D., & Gorelick P.B., (2010, Janv.). Fabry Disease and mitochondrial myopathy, encephalopathy, Lactic acidosis and Strokelike Episodes. *Archives of Neurology*, 67 (1), 19-24.
- Tremblay, A., & Bernier G. (1992). *Maladies d'origine nutritionnelle et métabolique*. Dans Brugere-Picoux J., & Silim, A.,. *Manuel de pathologie aviaire* (pp.343-354). Paris, France: Imprimerie du Cercle des Élèves de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Throp B.H. *Disease of the musculoskeletal system* (2008). Dans Jordan, W.F.T., & Pattison, M. *Poultry diseases* (6th ed., pp 470-489. London, UK: W.B Saunders Company Ltd.
- Umemura, T., Nakamura, H., Goryo, M. & Itakura C., Ultrastructural of monensin–oleandomycin myopathy in broiler chicks. *Avian pathology*, 13: 743-751, (1984).
- Van Vleet J.F., & Ferrans, V.J., (1986, July). Myocardial diseases produced by nutritional deficiencies. Myocardial disease of animals. *AJP.*, 124(1), 98-157: Review article.
- Whitacre, M.A., Combs, G.F.Jr., Combs S.F., & Parker R.S. (1987) Influence of Dietary Vitamin E on Nutritional Pancreatic Atrophy in Selenium-Deficient *Chicks J. Nutr.*,117, 460-467.
- Williams S., (2007). Muscular System dans Fletcher, O. J. & Abdul-Aziz, T. (dir) *Avian Histopathology.*, (3rd ed.), pp80-94.American Association of Avian Pathologists Jacksonville, Fl. USA
- Wilson B.W., (1990). Developmental and maturational aspect of inherited avian myopathies (43061). *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 194 (2), 87-96.

Wilson B.W.; Randall W.R., Patterson G.T., & Entrikin R.K., (2007, 14 Mars), Muscular dystrophy in birds Major physiologic and histochemical characteristic and inherited dystrophy of the chicken. Wiley online Library. Annals of the New York Academy of Sciences, (317,(1). Published online 14 mar 2007. 224-246.

You T., Goldfarb, A. H, FACSM, Bloomer, R.J., Nguyen, L., Sha, X. and M.J. McKenzie. 2003. Effect of Antioxidant Supplementation on Oxidative Stress Markers in rat Skeletal muscle after downhill Running. *Med Sci Sports Exerc.* 35(5), 62-69.