

METHODE D'ETUDE DE LA TRAME PERIMYSIALE DE LA VIANDE FRAICHE

O. SCHMITT et B.L. DUMONT

Laboratoire de Recherches sur la viande de l'I.N.R.A., CNRZ, 78350 JOUY-EN-JOSAS, FRANCE

INTRODUCTION

Le muscle est un ensemble de fibres musculaires, de différents types métaboliques, qui peut comprendre un nombre considérable ($> 10^4$ pour des muscles de bovins moyens) de sous-ensembles élémentaires, les faisceaux primaires de fibres.

La réalisation de l'ensemble musculaire est assurée par une charpente interne tridimensionnelle de tissu conjonctif. Dans un plan de section du muscle cette charpente apparaît sous forme d'une trame complexe qui a été jusqu'ici très peu étudiée, en dépit de la variation qu'elle présente et de l'importance qu'elle peut avoir sur la tendreté de la viande (DUMONT 1952, DUMONT et al. 1977).

Il est possible d'obtenir des coupes histologiques intéressant la totalité de la section d'un muscle (SCHMITT et DUMONT 1969) et d'analyser l'organisation de la trame conjonctive en considérant ses différents caractères (SCHMITT et al. 1979). Les méthodes histologiques employées pour la préparation des échantillons sont longues et délicates et se prêtent donc mal à des études systématiques. C'est pourquoi nous avons recherché et mis au point des méthodes permettant d'apprécier la trame conjonctive intramusculaire directement sur le muscle frais, en surmontant les différentes difficultés que présentent l'obtention d'une surface plane - en raison de la flaccidité naturelle de la viande - et l'homogénéisation de son éclairage.

EXPOSE DE LA METHODE

- Principe

La trame intramusculaire est étudiée sur des photographies (négatifs) de coupes minces de l'ensemble du muscle. Les plans films sont réalisés avec un système d'éclairage qui supprime complètement les ombres. Les coupes de muscle, de 1 à 5 mm d'épaisseur, sont obtenues avec un appareil à trancher, après avoir procédé à la formation d'une croûte superficielle grâce à la congélation périphérique du muscle à l'aide de neige carbonique (CO₂).

- Mode opératoire

a- Congélation superficielle

Placer le muscle dans un bac de dimensions suffisantes (bords très hauts) et répartir d'abord la neige autour du muscle à l'aide du diffuseur de CO₂. Ensuite bien l'appliquer contre le muscle grâce à une spatule. Le traitement au CO₂ doit durer de 1 à 2 minutes, selon la taille de l'échantillon. Il est indispensable de provoquer une croûte superficielle suffisamment épaisse pour que le muscle ne se déforme pas lors de la coupe qui suit immédiatement le refroidissement. La croûte ne doit toutefois pas être trop épaisse sinon la coupe au couteau serait difficile.

b- Section du muscle

Dès que l'épaisseur de la croûte est suffisante (1 à 3 mm) on retire le muscle du bac à refroidissement et on procède à sa section, dans la zone à étudier, à l'aide d'un couteau à trancher.

c- Tranchage et traitement des tranches

La surface de section est ensuite placée sur une machine à trancher et on réalise une tranche d'épaisseur variable selon l'importance volumique du muscle (1 à 2 mm pour le muscle Teres Major, 3 à 5 mm pour le muscle Semimembranosus). L'épaisseur doit être suffisante pour donner assez de tenue à la tranche et éviter ainsi des déformations lors du transfert des tranches, de l'appareil à trancher, sur la plaque support où les échantillons seront photographiés. Pour cela on attendra que la zone périphérique soit complètement décongelée. Juste avant de prendre la photo on épongera délicatement la surface du muscle à l'aide d'un papier filtre afin d'enlever l'exsudat et supprimer ainsi la brillance de la coupe.

d- Photographie

- Prises de vues

Plusieurs systèmes de prises de vues peuvent être utilisés à savoir, par ordre de préférence :

- 1- Le banc de reproduction
- 2- L'appareil photographique
- 3- L'appareil d'agrandissement

Le banc de reproduction est l'appareil idéal pour ce genre de photographie. Il permet d'obtenir directement sur des plans films, des images dont les dimensions peuvent être soit réelles, soit agrandies ou réduites. Il permet aussi l'installation de différents moyens d'éclairage spécifiques aux travaux à obtenir et décrits ci-dessous.

L'appareil photographique ne permet d'obtenir l'image que sur un format déterminé et uniquement en réduction. L'installation d'éclairage nécessaire peut encore être envisagée mais de façon moins élaborée. L'appareil photographique est surtout intéressant pour obtenir des images en couleurs et des diapositives.

L'agrandisseur est d'une utilisation très restreinte et les éclairages additionnels sont difficiles à employer. Il n'est intéressant que pour utiliser, à bon escient, la lumière rasante.

Eclairage

Aucune ombre ne doit apparaître à la surface de l'échantillon. Notre expérience nous amène à conclure que tous les procédés classiques (flash, lumière rasante, spots, parapluie etc...) ne sont pas satisfaisants.

Pour obtenir une très bonne image s'approchant de celle obtenue par histologie, il est nécessaire d'avoir, en dehors des lumières du banc photographique, deux scialytiques disposés de telle manière à ce que les lumières se croisent sur l'échantillon à photographier. La combinaison de la lumière du banc et des scialytiques est surtout importante pour les grosses pièces (groupe de muscles par exemple). Pour des surfaces individuelles de muscle, moyennes ou petites, le même système d'éclairage peut être utilisé. On peut employer aussi un autre système d'éclairage à condition d'avoir à sa disposition des lumières de très fortes intensités. L'ambiance lumineuse sans ombre est réalisée en confectionnant, avec du papier calque, une sorte d'abat-jour cylindrique d'un diamètre suffisant, 30 à 50 cm et assez haut, 25 à 40 cm (la position du soufflet du banc de reproduction en limite la hauteur); l'abat-jour est placé au milieu de la table du banc d'optique et l'échantillon à photographier en son centre. Le papier calque donne de meilleurs résultats que les tissus spéciaux vendus à cet effet. Il est indispensable de braquer la maximum de lumière sur cet abat-jour, afin de diminuer le temps de pose et de pouvoir augmenter la profondeur de champ à l'aide du diaphragme.

e- Analyse des documents

A partir des images obtenues, les différents caractères de la trame conjonctive intramusculaire peuvent être appréciés en utilisant la méthode précédemment décrite (SCHMITT et al. 1979). Pour une bonne analyse des structures musculaires, il est nécessaire d'obtenir directement l'image agrandie de l'échantillon. L'analyse se fera de préférence à partir du négatif sur une table lumineuse classique ou à fonction analytique électronique. Le typage d'un négatif en positif est toujours une opération délicate entraînant la perte de quelques éléments intéressants à étudier.

DISCUSSION

La méthode proposée pour l'étude de la trame conjonctive intramusculaire sur des muscles entiers a pour objectif de remplacer les techniques histologiques, qui sont longues et coûteuses et qui présentent en outre, sur le plan technique, différents inconvénients :

- L'ensemble des traitements histologiques fait subir aux échantillons une rétraction d'importance variable, selon les traitements et les muscles, dont les conséquences sur les différents éléments de la trame conjonctive ne sont pas établies.
- L'homogénéité et la régularité des colorations sont difficiles à maîtriser dans le cas de sections de grande dimension.
- Les coupes ainsi obtenues présentent souvent des cassures, des déchirements ou des trous.
- L'analyse directe de l'ensemble de la trame conjonctive est impossible à réaliser au microscope, en raison de la taille des champs d'observation. Le recours à un système de projection est indispensable.

La méthode que nous venons de décrire permet d'éliminer complètement ces difficultés. Les coupes ne subissent pas de déformation et l'image obtenue est le reflet exact de la trame conjonctive. La totalité des caractères qui définissent la trame perimysiale principale (cf SCHMITT et al. 1979) peuvent être appréciés à partir des images obtenues. Il en est ainsi de l'importance et de la densité du tissu conjonctif perimysial, comme du degré de structuration, du nombre, de la dimension et de la forme des faisceaux principaux, des caractères de la paroi de la trame principale. Il est plus difficile, mais cependant encore possible d'apprécier certains aspects des trames conjonctives secondaires (homogénéité et finesse). En ce qui concerne l'étude de l'organisation de la trame conjonctive intramusculaire, la méthode est rapide et fiable dans l'obtention des documents correspondant à la réalité des structures existantes. Son application à un grand nombre d'échantillons de différentes origines devrait permettre de favoriser le développement des études de base de biologie musculaire qui ont été justement freinées, jusqu'ici, par l'impossibilité, puis la difficulté à obtenir des échantillons de grandes dimensions. Sur le plan strict de la qualité de la viande, l'analyse détaillée de la trame conjonctive doit permettre de préciser l'influence relative des différents caractères du conjonctif sur les diverses composantes sensorielles de la dureté, perçue par les consommateurs, ainsi que sur les propriétés rhéologiques mesurées par des appareils appropriés. Une première approche de ce problème a été déjà envisagée dans le cas de la force de cisaillement de muscles de bovins mesurés à l'appareil de WARNER-BRATZLER (DUMONT et al. 1977). Il serait intéressant d'étudier également les relations existant entre les caractères de la trame conjonctive et l'importance des infiltrations graisseuses (persillé). L'expérience pratique décèle une grande variation d'un muscle à l'autre. A partir des images obtenues, grâce à cette méthode, on doit envisager la constitution de standards de référence, permettant de définir visuellement l'échelle de variation de la texture des muscles. De tels standards pourraient à l'avenir être largement utilisés en pratique pour la qualification des viandes sur ce caractère essentiel.

Les figures suivantes montrent le résultat obtenu en appliquant cette méthode à un muscle de bovin (Biceps femoris).

La figure 1 est la reproduction sur papier du négatif original à l'échelle I/I.

La figure 2 est un agrandissement d'une partie de la figure 1 à l'aide du négatif original (agrandissement de 2,5 fois linéaire).

La figure 3 est un agrandissement de la figure 1 établie à partir du négatif original I/I (agrandissement de 4,4 fois linéaire).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DUMONT B., 1952 - La tendreté de la viande, Ann. Zootech., I, 71-95

DUMONT B.L., LEFEBVRE J., SCHMITT O., BARBU S., 1977 - Relations entre les caractères de la trame conjonctive et la dureté de la viande bovine. 23 th Eur. Meet. Meat Res. Workers, MOSCOU, 5,9 Sept. 1977, F4.

SCHMITT O, DUMONT B.L., 1969 - Méthodes d'analyse de la structure musculaire. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 9, I23-I34

SCHMITT O., DEGAS Th., PEROT P., LANGLOIS M.R., DUMONT B.L., 1979 - Etude morpho-anatomique du perimysium (Méthodes de description et d'évaluation) Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19, (IA) I-30



