

CARACTERISATION DE L'ORGANISATION DU TISSU CONJONCTIF INTRAMUSCULAIRE DE LA VIANDE BOVINE PAR ANALYSE D'IMAGES

SIFRE-MAUNIER L, TAYLOR RG, BERGE P, BONNY JM

Unité de Recherches sur la Viande, INRA de Clermont-Ferrand, 63122 Saint Genès Champanelle

Introduction

Le tissu conjonctif intramusculaire (TCIM), en interaction avec les myofibres, influence la tendreté de la viande, en particulier celle des bovins. Peu étudiée faute de moyens techniques adaptés, l'organisation spatiale de ce tissu peut maintenant être caractérisée grâce aux progrès récents réalisés dans le domaine de l'analyse d'images. Ainsi, à partir de l'image obtenue sur coupes histologiques colorées, des paramètres morphologiques caractérisant la distribution du TCIM (surface, longueur et épaisseur) ont été quantifiés et comparés pour différents types de muscle de bovin.

Matériels et méthodes

Animaux et préparation des échantillons:

Les échantillons de muscle ont été prélevés sur les 2 demi-carcasses de 8 vaches Charolaises âgées de 3 à 7 ans. Les muscles *biceps femoris* (BF), *infraspinatus* (IS), *longissimus thoracis* (LT) et *pectoralis profundus* (PP) ont été choisis pour leurs architectures contrastées, tant en ce qui concerne la taille des faisceaux de fibres musculaires que de l'épaisseur du TCIM (figure 1). Les échantillons destinés à l'histologie ont été prélevés 2 jours post mortem. Des cubes de $20 \times 20 \times 10 \text{ mm}^3$ ont été congelés à l'isopentane refroidi à l'azote liquide à -160°C . Trois coupes transversales sériées de 0,01 mm d'épaisseur ont été colorées au Rouge Sirius, colorant spécifique du tissu conjonctif (figure 1).

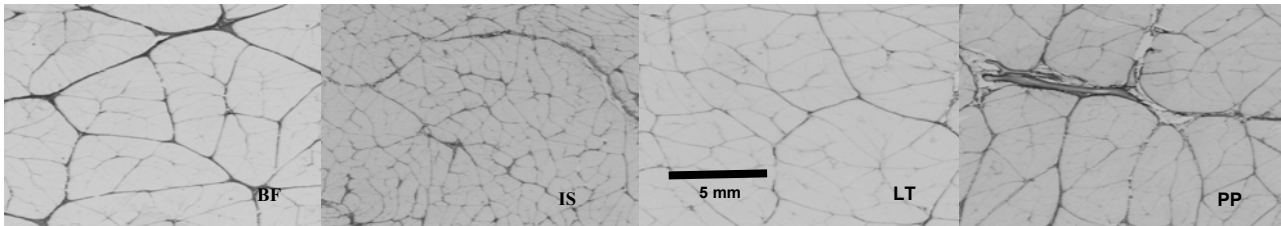


Figure 1 : coupes transversales de muscles (*biceps femoris*, BF; *infraspinatus*, IS; *longissimus thoracis*, LT; *pectoralis profundus*, PP) colorées au Rouge Sirius et observées à l'aide d'un objectif macroscopique en éclairage à transmission. Ici le tissu conjonctif apparaît en noir et les fibres musculaires forment le fond gris clair.

Analyse d'images et mesures des paramètres morphologiques de l'IMCT :

Une coupe par échantillon ($1,5 \times 1,5 \text{ cm}^2$) a été numérisée sur un banc lumineux en transmission avec une camera CCD Jai CV-M300 couplée à un objectif macroscopique ($6,8 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{pixel}$). Le traitement d'images, effectué grâce au logiciel Visilog (Noesis, France), se décompose en deux étapes. Dans un premier temps, le TCIM a été segmenté automatiquement par un seuillage FMT (Fuzzy maps Thresholding) [1] à 2 niveaux de confiance ε , pour extraire tout le réseau ($\varepsilon = 55\%$), puis seulement les éléments les plus épais (périmysium primaire, $\varepsilon = 80\%$) (Figure 2). Puis l'aire occupée par le réseau segmenté et sa longueur (aire du squelette du réseau) ont été mesurées puis son épaisseur, estimée par le rapport entre l'aire et la longueur, a été calculée.

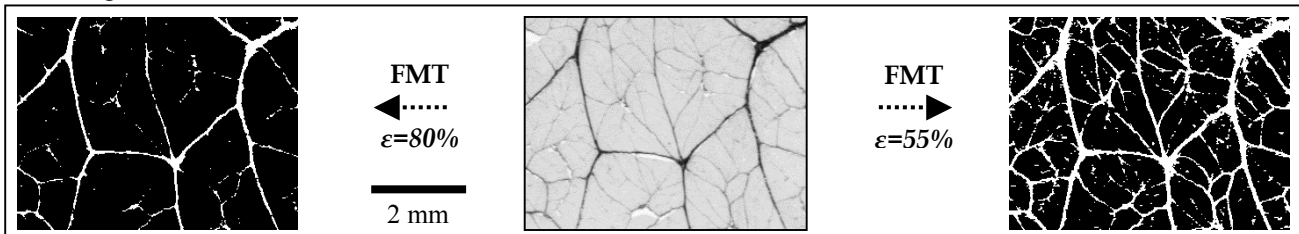


Figure 2 : extraction du TCIM par segmentation à l'aide de la méthode FMT à 2 niveaux de confiance ($\varepsilon = 80\%$: segmentation des segments les plus épais et $\varepsilon = 55\%$: segmentation du réseau entier) à partir d'une coupe transversale de muscle *biceps femoris* de bovin colorée au Rouge Sirius.

Dosage de la teneur en collagène et mesures mécaniques de dureté :

La teneur en collagène a été déterminée à partir de la concentration en hydroxyproline mesurée par colorimétrie selon la technique de Bergman et Loxley (1963) [2], adaptée par Bonnet et Kopp (1986) [3] sur 5 prises de muscles broyé de 3 g chacune. La dureté des muscles a été évaluée par la mesure de la résistance en compression, à 80% de déformation, après 21 jours de maturation à 4°C . Dix éprouvettes ont été prélevées sur des tranches de viande de 3 cm d'épaisseur, cuites sous vide à 65°C pendant 30 min au bain-marie.

Résultats et discussions

La surface occupée par le pérимыsium :

Le pourcentage de surface occupée par le réseau ne permet pas de discriminer les muscles BF et PP, malgré le fait que leurs teneurs en collagène soient significativement différentes (tableau 3). Le muscle BF présente la plus large surface de TCIM à 80% (13,9%), et la plus petite à 55% (4,9%). Cela peut s'expliquer par le fait qu'il présente un réseau épais avec peu de segments fins. Au contraire, le muscle IS a la plus grande surface à 55% (16%), ce qui peut être relié à sa forte teneur en collagène constituée par un réseau fin, qui n'est extrait qu'à faible niveau de confiance. Des valeurs similaires de pourcentages de surface occupée par le pérимыsium ont été mesurées [6] (12% contre 14% par FMT à 55% pour le muscle LT). Cependant la surface occupée par le pérимыsium semble être un déterminant faible de la tendreté de la viande, particulièrement à faible niveau de confiance (quand tout le réseau est segmenté) puisqu'elle ne permet pas de différencier nos 4 muscles. La surface des segments du réseau les plus épais ($\varepsilon = 80\%$) semble être plus pertinente puisqu'elle sépare les muscles en 3 groupes. Cependant elle est moins discriminante que le dosage du collagène (tableau 3).

Tableau 2 : Paramètres caractérisant la distribution du TCIM, déterminés après segmentation des images par la méthode FMT. Des lettres différentes dans une même colonne indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$)

	Épaisseur (μm)		Surface (% image totale)		Longueur (mm)	
	55	80	55	80	55	80
BF	82 ^a	82 ^a	13,8 ^b	4,9 ^a	330 ^b	118 ^c
IS	69 ^c	58 ^c	16,6 ^a	4,0 ^b	469 ^a	135 ^b
LT	74 ^b	58 ^c	14,0 ^b	3,1 ^c	374 ^b	104 ^d
PP	80 ^a	67 ^b	14,8 ^{ab}	4,9 ^a	363 ^b	144 ^a

Tableau 3 : Teneur en collagène et résistance à la compression à 80% de déformation sur viande cuite. Des lettres différentes dans une même colonne indiquent des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$)

	Teneur en collagène (μg d'hydroxyproline / g de muscle frais)	Force de compression à 80% de déformation (N/cm^2)
BF	1087 ^b	127 ^b
IS	892 ^c	85 ^c
LT	565 ^d	98 ^c
PP	1207 ^a	174 ^a

La longueur du réseau de pérимыsium :

La longueur totale du réseau (tableau 2), qui dépend de son degré de ramification, discrimine les 4 types de muscles au fort niveau de confiance seulement. Les muscles PP et IS, qui présentent les plus grands degrés de ramification (figure 1) ont des réseaux plus longs que les muscles LT et BF. Au faible niveau de confiance, la mesure de la longueur est probablement faussée par l'épaisseur des segments les plus épais. Lors de la squelettisation du réseau ces segments épais sont couverts de petits segments artéfactuels (figurant l'épaisseur), qui entraînent la surestimation la longueur du réseau.

L'épaisseur du réseau de TCIM:

L'épaisseur permet de discerner les muscles BF et PP d'une part et IS et LT d'autre part, aux 2 niveaux de confiance ε . Pour $\varepsilon = 80\%$ (extraction des segments épais), les muscles BF et PP présentent des épaisseurs de TCIM significativement différentes ($p < 0,05$) alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les muscles IS et LT (tableau 2). A l'opposé, pour $\varepsilon = 55\%$ (extraction du réseau entier), les muscles IS et LT présentent des épaisseurs significativement différentes mais pas les muscles BF et PP. Ainsi la segmentation à un niveau de confiance élevé est plus adaptée à la mise en évidence de différences entre muscle comportant un pérимыsium épais, tandis que les muscles à réseau fin seront séparés avec une segmentation à faible niveau de confiance. Les valeurs des épaisseurs du TCIM obtenues sont du même ordre de grandeur que celles précédemment publiées [4], qui estimait l'épaisseur du pérимыsium primaire des muscles *semitendinosus* et *semimembranosus* de bovin à respectivement 111 et 121 μm . Nos valeurs sont plus faibles car elles sont issues d'une moyenne des différents niveaux de pérимыsium. Par ailleurs, notre méthode surestime légèrement les réseaux les plus fins, contribuant à diminuer la valeur de l'épaisseur. Même si elle n'explique pas à elle seule les variations de la tendreté ($R^2 = 0,50$ [5]), il existerait donc bien une liaison entre l'épaisseur du TCIM et la tendreté du muscle, puisque les muscles BF et PP, qui sont des muscles durs (tableau 3) présentent des réseaux plus épais que ceux de muscles tendres tels que les muscles LT et IS.

Conclusions

Cette méthode automatique d'analyse d'images du réseau de tissu conjonctif dans le muscle et la viande, fournit un moyen de caractériser objectivement le réseau de TCIM, et d'analyser plus précisément son rôle dans le déterminisme de la tendreté de la viande. Ainsi, en comparant chez le bovin la structure du TCIM des muscles BF, IS, LT et PP, nos résultats indiquent que la tendreté de la viande semble être plus déterminée par la longueur et l'épaisseur de son réseau que par la surface de celui-ci. Afin d'étendre l'étude de l'organisation du TCIM à des niveaux d'échelle supérieurs, cette méthode générique de traitement d'images peut être adaptée à d'autres modalités d'acquisition, telle que l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM).

Références bibliographiques

- [1] Sifre-Maunier L., Taylor R.G, Berge P., Bonny J.M., 2004. 50th International Congress of Meat Science and Technology Helsinki, 532-535.
- [2] Bergman I., Loxley R., 1963. Ana. Chem., 35, 1961-1965.
- [3] Bonnet M., Kopp J., 1986. Viandes et Produits Carnés, 7, 263-266.
- [4] Torrecano G., Lujan L., Sanchez-Escalante A., Gimenez B., Roncales P., Beltran J. A., 2001. 47th International Congress of Meat Science and Technology Krakovie, 236-237.
- [5] Brooks J.C., Savell J.W., 2004. Meat Sci., 67, 329-334.
- [6] Geesink G. H., Koolmees P. A., van Laack H. L., Smulders F, 1995. Meat Sci., 41(1), 7-17.