



Développement de nouveaux outils haut débit pour l'évaluation précoce de la qualité de la viande de porc (QualiPorc)

Sandrine Schwob, Antoine Vautier, Bénédicte Lebret, Benoit Blanchet, Marie-José Mercat, Justine Faure, Rosa Castellano-Perez, Stéphane Quéllec, Sylvain Challos, Armel Davenel

► To cite this version:

Sandrine Schwob, Antoine Vautier, Bénédicte Lebret, Benoit Blanchet, Marie-José Mercat, et al.. Développement de nouveaux outils haut débit pour l'évaluation précoce de la qualité de la viande de porc (QualiPorc). Innovations Agronomiques, 2018, 63, pp.407-419. 10.15454/1.5191196642666567E12. hal-01811444

HAL Id: hal-01811444

<https://hal.science/hal-01811444>

Submitted on 8 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Développement de nouveaux outils haut débit pour l'évaluation précoce de la qualité de la viande de porc (QualiPorc)

Schwob S.¹, Vautier A.¹, Lebreton B.², Blanchet B.³, Mercat M.J.¹, Faure J.², Castellano R.²,
Queliec S.⁴, Challos S.⁴, Davenel A.⁴, avec la collaboration de l'entreprise Fleury Michon

¹IFIP, La Motte au Vicomte, F-35651 Le Rheu

²INRA, UMR 1348 PEGASE, Domaine de la Prise, F-35590 Saint Gilles

³INRA, UETP, La Motte au Vicomte, F-35651 Le Rheu

⁴IRSTEA, 17 avenue de Cucillé, F-35044 Rennes

Correspondance : sandrine.schwob@ifip.asso.fr, antoine.vautier@ifip.asso.fr

Résumé

Les perspectives en matière d'amélioration génétique de la qualité de viande (QV) reposent sur la mise au point de nouveaux outils haut débit, de prédiction précoce, peu coûteux et non invasifs. Pour cela, de nouvelles méthodes de mesure de QV, s'appuyant sur des technologies émergentes, ont été développées et testées en routine. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet de quantifier les teneurs en lipides intramusculaires (LIM) et caractériser le persillage dans le muscle *Longissimus*. La méthode d'analyse d'images a été automatisée pour améliorer les cadences de mesures (400 échantillons scannés par jour) et assurer la traçabilité des données. L'évolution du taux de LIM le long du muscle *Longissimus* analysée par IRM montre que l'échantillon prélevé au niveau de la 13^{ème} côte est représentatif du taux de LIM moyen de la longe ($R^2=0.88$). La spectroscopie visible et proche infrarouge (NIRS) permet, quant à elle, de prédire les rendements technologiques et les défauts de tranchage. Enfin, les données d'expression génique quantifiées dans le muscle *Longissimus* ont été exploitées afin d'identifier des biomarqueurs discriminant 3 classes de qualité technologique et sensorielle: à défaut, correct ou extra. Le meilleur modèle pour prédire l'appartenance d'un échantillon à une classe de qualité inclut 12 gènes.

Mots-clés : Imagerie par résonance magnétique, spectroscopie visible et proche infrarouge, biomarqueurs moléculaires, muscle *Longissimus*, lipides intramusculaires, rendements technologiques et de tranchage, classes de qualité de la viande.

Abstract: Development of high throughput methods to predict pork quality at industrial scale

This project aimed at providing new early and non-invasive predictors of pork quality usable in slaughter houses, to orientate use of carcasses and cuts and optimize their economic value. For this purpose, the project included development, testing and validation of various methods under industrial conditions. Magnetic Resonance Imaging (MRI) technology was used to estimate the *Longissimus* muscle intramuscular fat (IMF) content and marbling. Image analysis method was automated to improve measurement rate (400 samples scanned per day) and ensure data traceability. MRI was also used to study the representativeness of IMF content determined at the 13th rib to assess average IMF of the whole *Longissimus* muscle. Results showed high repeatability and good predictive ability of *Longissimus* average IMF content with determination at the 13th rib level ($R^2=0.88$). Near Infrared Spectroscopy (NIRS) was used to estimate cooking and slicing yields and structural defects. NIRS technology could predict slicing losses caused by paste-like and cohesion defects on processed loin slices. Finally, gene expressions quantified on *Longissimus* muscle were used to discriminate 3 pork

quality classes: low, acceptable and extra technological and sensory quality levels. The best model to predict meat quality level of pork loins included expression levels of 12 genes.

Keywords: Magnetic resonance imaging technology, near infrared spectroscopy, molecular biomarkers, *Longissimus* muscle, intramuscular fat, cooking and slicing yields, meat quality classes.

Introduction

Les paramètres de qualité de la viande (pH, couleur, rétention d'eau) sont pris en compte depuis le milieu des années 1980 dans les objectifs de sélection des populations porcines françaises. De plus, deux gènes responsables de défauts majeurs de la qualité technologique de la viande (gènes *Halothane* et *RN*) ont été identifiés et sont intégrés dans les schémas de sélection.

Pourtant, la qualité de la viande (QV) reste un caractère complexe, difficile à prédire, souvent mesuré par des méthodes coûteuses et/ou invasives, nécessitant l'abattage des animaux. La mise au point de nouveaux outils d'évaluation précoce de la QV est un enjeu à la fois pour les sélectionneurs et pour les industriels de la filière. En effet, de tels outils sont l'opportunité pour les Organismes de Sélection Porcine (OSP) d'intégrer de nouveaux caractères de QV dans les programmes d'amélioration génétique et ainsi de mieux répondre aux attentes des industriels. Par ailleurs, les industries d'abattage et de transformation des viandes sont demandeuses d'outils précis pour évaluer précocement après l'abattage la qualité des pièces, composantes dont la détermination est difficile (transformation individuelle des pièces) et coûteuse car invasive, longue et tardive (paramètres sensoriels). Ceci afin d'attribuer rapidement après abattage une valeur objective aux pièces pour une meilleure valorisation.

Pour permettre l'évaluation précoce de la QV, l'IFIP a conduit un projet en partenariat avec l'INRA, l'Irstea et Fleury Michon, faisant appel à de nouvelles technologies émergentes (génomique et biologie moléculaire, spectroscopie visible et proche infrarouge, imagerie par résonance magnétique), compatibles avec les besoins de phénotypage haut débit. L'étude mise en place a pour objectifs (i) de développer et tester en routine de nouvelles méthodes de mesure de QV, (ii) d'identifier des marqueurs d'expression génique précoces de QV, et enfin (iii) de mettre à disposition des industriels et des OSP de nouveaux outils d'évaluation de la QV précoces (péri-mortem), peu coûteux et non invasifs, permettant d'optimiser la valorisation des pièces (produits frais, transformés...).

Le projet s'appuie en grande partie sur un protocole animal de haute valeur scientifique mis en place dans le cadre du programme UtOplGe (2011-2014) dédié à la mise en œuvre d'une sélection génomique chez le porc (et la poule pondeuse). Notre projet a utilisé principalement un sous-effectif des animaux du programme UtOplGe produits en 2012-2013 par les OSP membres de BIOPORC et élevés à l'UETP de l'INRA du Rheu, et dont la qualité de la viande a été finement analysée. Ces animaux, mâles entiers, issus du croisement entre des verrats Piétrain et des truies de types génétiques variés, sont représentatifs des porcs charcutiers présents sur le marché français.

1. Dosage des lipides intramusculaires et caractérisation du persillage par IRM

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique d'analyse non invasive qui permet de scanner les produits dans leur intégralité. La méthode associée à des techniques d'analyse de texture des images a été testée pour classer des longues séchées (Antequera *et al.*, 2003) ou des jambons secs (Pérez-Palacios *et al.*, 2009) selon leurs caractéristiques sensorielles et leur teneur en lipides intramusculaires (LIM). La même approche a été utilisée pour discriminer des jambons frais en fonction de différents régimes alimentaires (Pérez-Palacio *et al.*, 2011). De plus, le dosage des LIM par méthode chimique reste onéreux et est inenvisageable à grande échelle d'où l'intérêt de développer une méthode alternative de dosage par IRM.

1.1 Automatisation de la méthode de traitement d'images, validation et tests en routine

Cette tâche s'appuie sur les travaux antérieurs qui ont permis de montrer la potentialité de l'IRM pour doser à haut débit les LIM avec une précision et des cadences de mesure compatibles avec les besoins du phénotypage haut-débit (Davenel *et al.*, 2012). Le protocole d'acquisition des images IRM défini précédemment n'a pas été remis en cause : même dispositif d'acquisition par 24 échantillons, même séquence IRM. L'automatisation de la méthode de traitement d'images doit permettre d'accroître la traçabilité des résultats et d'assurer un traitement en temps masqué. Les tests ont été réalisés sur une collection d'images existantes de 157 échantillons de longues du programme de recherche BIOMARK (ANR, 2006-2009).

Par construction, l'intensité du signal recueilli dans un IRM n'est pas homogène suivant la position de l'échantillon dans l'aimant. L'effet position dans l'imageur a été étudié sur un lot d'une centaine d'échantillons de la collection de longues disponibles à l'INRA, pour optimiser la méthode de traitement d'images. La mise en évidence d'un effet position des échantillons dans l'imageur a nécessité d'intégrer dans le logiciel la méthode de correction développée à cet effet.

Enfin, la méthode de dosage des LIM et du persillage par IRM a été validée par comparaison avec des méthodes chimiques de référence et la spectrométrie RMN. Cette tâche inclut donc les déterminations de taux de LIM par la méthode de Folch (réalisées par l'INRA-PEGASE), par spectrométrie RMN (réalisées par l'Irstea) et par IRM (également réalisées par l'Irstea) pour une centaine d'échantillons.

1.1.1 400 échantillons analysés en une journée par IRM

Pour obtenir des cadences élevées de dosage des LIM, la méthode mise en œuvre par l'Irstea permet de scanner 24 échantillons de longue simultanément en moins de 30 minutes. La traçabilité des échantillons est assurée par des codes-barres. Le logiciel de traitement d'images développé par l'Irstea permet de recueillir automatiquement le taux de LIM et 169 paramètres de texture d'une collection d'échantillons scannés par IRM au cours d'une même journée. Ainsi, l'analyse de 2 679 échantillons par IRM a été possible grâce à des cadences journalières de 400 échantillons scannés puis analysés.

1.1.2 Effet position des échantillons dans l'IRM

L'exploitation des taux de LIM issus du traitement des images a fait apparaître un effet position des échantillons suffisamment répétable pour être corrigé. Cet effet est largement imputable aux différences de rapport signal/bruit entre les 24 positions dans l'IRM. Une fois cet effet pris en compte, la méthode de dosage des LIM par IRM s'avère très répétable. L'erreur de répétabilité du taux de LIM prédit par IRM est de l'ordre de 0,15% après correction de l'effet position (contre 0,25% avant correction).

1.1.3 Corrélation élevée avec la méthode chimique de référence

La détermination du taux de LIM est généralement basée sur des méthodes chimiques d'extraction par solvants, longues et fastidieuses à mettre en œuvre, donc incompatibles avec le haut-débit. C'est pourquoi l'IRM apparaît comme une méthode alternative précise, facile à mettre en œuvre et extrêmement compétitive lorsqu'elle est déployée sur de grandes séries d'analyses. La comparaison des résultats avec la méthode chimique de référence montre une corrélation élevée entre le taux de LIM prédit par IRM et par la méthode de Folch ($R^2=0,76$). Le taux de LIM prédit par IRM est légèrement sous-estimé comparé à la valeur prédite par analyse chimique, probablement à cause de la nécessité d'éroder les pixels périphériques contenant à la fois du muscle et de l'air lors du traitement des images. Ainsi, une partie du muscle (20 à 30%) de chaque échantillon n'est pas analysée par IRM.

1.2 Etude par IRM de la représentativité de l'échantillonnage de la longe

La méthode actuelle de dosage des LIM de la longe est appliquée sur un échantillon du muscle *Longissimus* prélevé au niveau de la 13^{ème} côte. L'IRM offre l'opportunité d'étudier la représentativité de

cet échantillonnage pour prédire le taux de LIM moyen de la longe et de valider le choix de la côte de référence ou, au contraire, proposer un nouveau site de prélèvement pour réduire la dépréciation des pièces. Au total, 34 carrés de longe de porcs de types génétiques variés (plus ou moins gras) ont été scannés par IRM : 12 carrés de porcs Duroc purs, 16 carrés de porcs Piétrain purs et croisés, 6 longes de porcs Basque Kintoa. Deux longes entières avec os ont également été scannées pour mieux appréhender l'effet des transitions côtes-intercôtes sur les variations de taux de LIM le long du muscle *Longissimus*. Enfin, pour vérifier la répétabilité de la mesure et du traitement d'images, 6 carrés ont été scannés 2 fois, en changeant leur emplacement dans l'IRM.

1.2.1 Bonne répétabilité de la mesure

Le taux de LIM est assez stable le long de la longe, excepté aux extrémités qui sont plus grasses. On observe un léger décalage entre 2 répétitions (Figure 1) lié à l'élasticité de la viande. Toutefois, le taux de LIM prédit entre 2 répétitions n'excède pas 0,15 % de LIM, ce qui témoigne de la grande répétabilité de la mesure. Ces très faibles différences peuvent être liées à la reproductibilité de la segmentation semi-manuelle du muscle *Longissimus* sous le logiciel de traitement d'images TurtleSeg.

1.2.2 Nette modulation côte/inter-côte du taux de LIM

Les résultats de dosage des LIM le long de 34 carrés de longes et 2 longes avec os montrent une modulation côte/inter-côte du taux de LIM très nette, même en moyennant des coupes successives (Figure 1). Dans certains cas, notamment pour les longes les plus grasses, il peut y avoir jusqu'à 1% de lipides d'écart suivant que la coupe est centrée sur la côte ou entre deux côtes. Les valeurs minimales correspondent aux positionnements des côtes.

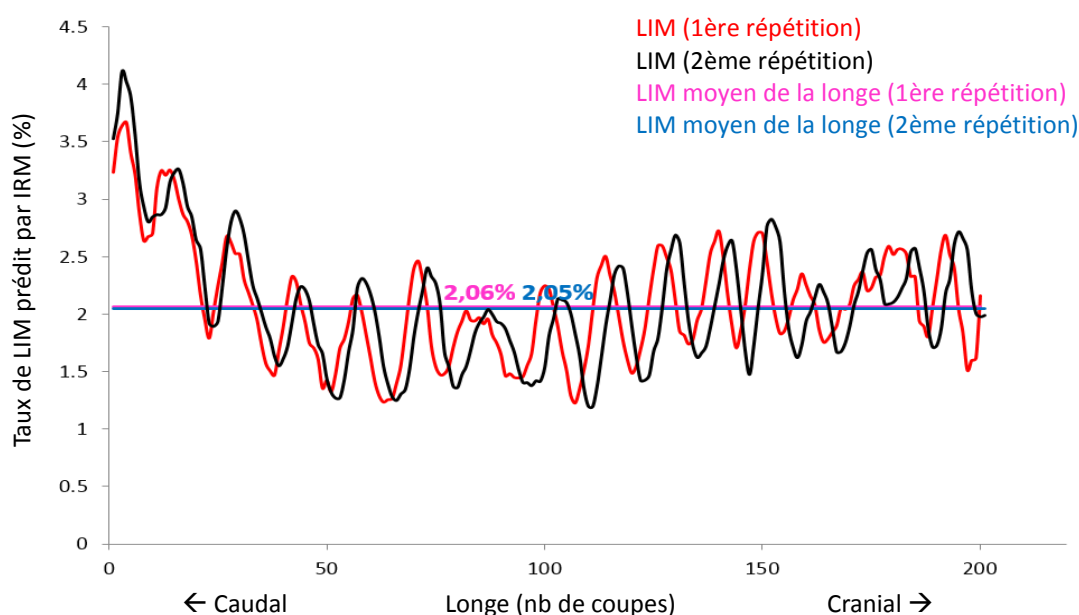


Figure 1 : Evolution du taux de LIM le long de la longe (moyenne sur 5 coupes, épaisseur 12,5 mm) et répétabilité de la mesure par IRM (2 répétitions).

1.2.3 Bonne représentativité de l'échantillon prélevé au niveau de la 13^{ème} côte

La corrélation entre le taux de LIM moyen du muscle *Longissimus* et celui prédit à chaque position de la longe est élevée (R^2 entre 0,76 et 0,88). Les corrélations les plus élevées se situent au voisinage de la 13^{ème} côte. L'échantillon prélevé au niveau de la 13^{ème} côte est donc représentatif du taux de LIM moyen de la longe. Toutefois, l'étude montre qu'il est possible de choisir un site de prélèvement plus proche de l'extrémité avant du *Longissimus*, pour limiter la dépréciation de la longe, sans dégrader la corrélation avec le taux de LIM moyen de la longe.

2. Prédiction des rendements technologiques par spectroscopie NIR : validation des équations (longes) et prédiction en ligne (jambons)

La spectroscopie visible et proche infrarouge (NIR) a fait l'objet de nombreux travaux sur la prédiction de la QV. De bons résultats ont été obtenus en viande porcine notamment pour prédire la capacité de rétention d'eau (Brondum *et al.*, 2000 ; Geesink *et al.*, 2003) et la tendreté (Chan *et al.*, 2002 ; Geesink *et al.*, 2003). Les travaux menés à la fois sur la prédiction des rendements de transformation en jambon cuit (Vautier *et al.*, 2009) et de la longe transformée (Vautier *et al.*, 2011) ont permis de mettre en évidence le potentiel de cette technologie pour la prédiction des rendements de transformation dont l'intérêt est majeur pour les transformateurs. Ces éléments permettent d'envisager la spectroscopie NIR comme méthode alternative à la fabrication individuelle de jambon cuit ou de rôti cuit, qui n'est pas réalisable comme mesure de routine, contrairement à l'acquisition de spectres.

2.1 Transformation industrielle de longes en rôtis cuits supérieurs : validation des équations de prédiction des rendements technologiques et de tranchage obtenus par spectroscopie

Des acquisitions de spectres NIR ont été réalisées sur 10 lots d'abattage des animaux du dispositif UtOplGe. Pour chaque lot d'abattage, un échantillon de 15 carcasses prélevées à chaud pour les analyses d'expression de gènes (cf. partie 3.2), a fait l'objet d'acquisitions NIRS au niveau du muscle *Longissimus*. Sur chaque longe, 4 mesures NIRS ont été réalisées : 2 mesures avec une sonde de surface et 2 mesures avec une sonde de pénétration (Figure 2). Le pH ultime (pHu, mesuré 24h *post-mortem*) a également été mesuré sur le muscle *Longissimus*, au niveau de la 14^{ème} côte.

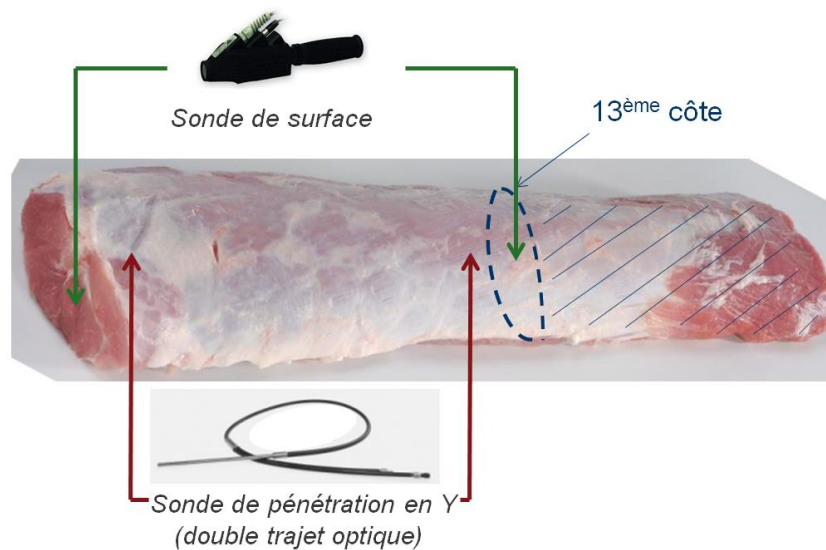


Figure 2 : Protocole d'acquisition spectrale

Parmi ces 15 carcasses, 10 demi-carrés ont été transformés par l'entreprise Fleury Michon individuellement en rôtis cuits supérieurs. Après transformation, le rendement technologique a été mesuré et l'intégralité des tranches de rôtis cuits ont été transmises à l'IFIP. Les défauts de tranchages (défaut « pommade », tranches trouées, problèmes de cohésion de tranche, pétéchiées, présence de gras non paré, tranches persillées) ont été évalués sur chaque tranche.

Au total, 157 animaux ont fait l'objet d'acquisition NIRS et de mesures de pHu, parmi lesquels 96 porcs ont suivi le protocole complet : mesures de qualité, acquisitions spectrales NIRS et transformations en rôtis cuits supérieurs. Ce protocole a permis d'assurer la traçabilité individuelle depuis l'abattoir jusqu'au produit fini.

2.1.1 Qualité de viande des échantillons « QualiPorc » intra lot d'abattage

Sur l'ensemble des 10 répétitions (10 lots d'abattage), une variation forte de corrélation entre le pHu et le rendement technologique a été observée (-0,11 à 0,88) (Tableau 1). Cette différence de réponse dégrade très fortement la corrélation moyenne sur l'ensemble des 10 répétitions ($r=0,29$).

Tableau 1 : Résultats de qualité de viande moyens intra lot d'abattage et comparaison avec les résultats obtenus par Vautier *et al.* (2014) lors d'une étude antérieure

Répétition	n=	pHu	Rdt technologique	% tranches pommade	% tranches sans tenue	Corr. pHu/rdt
• 1	• 10	• 5,57	• 87	• 38	• 29	• 0,48
• 2	• 10	• 5,46	• 87	• 69	• 70	• 0,32
• 3	• 10	• 5,47	• 82	• 56	• 67	• 0,74
• 4	• 9	• 5,48	• 91	• 28	• 40	• 0,65
• 5	• 10	• 5,49	• 90	• 22	• 51	• 0,87
• 6	• 10	• 5,42	• 92	• 59	• 88	• -0,11
• 7	• 7	• 5,53	• 90	• 37	• 41	• 0,88
• 8	• 10	• 5,45	• 89	• 68	• 67	• 0,46
• 9	• 10	• 5,54	• 87	• 66	• 69	• 0,60
• 10	• 10	• 5,48	• 88	• 84	• 51	• 0,69
• Total	• 96	• 5,49	• 88	• 53	• 58	• 0,29
• Vautier et al. (2014)	• 80	• 5,47	• 90	• 27	• 63	• 0,69

Afin de permettre la mise au point de calibrages, certaines données ont été supprimées (répétitions dont la corrélation entre pHu et rendement technologique est inférieure à 0,50) et un redressement de la réponse par répétition (débiaisage sur le niveau moyen de rendement pour un niveau moyen de pH ultime) a été appliqué. A l'issu de ces traitements, un sous-échantillon de 56 longues a été sélectionné, présentant une corrélation moyenne entre pHu et rendement technologique de 0,70, comparable à celle observée dans une précédente étude ($r=0,69$, Vautier *et al.*, 2014). Malgré cela, il a été impossible de mettre en place un calibrage performant pour prédire le rendement technologique de la longe à partir des spectres NIR sur ce jeu de données.

Les raisons de cette absence de lien entre signature spectrale et qualité technologique peuvent être multiples :

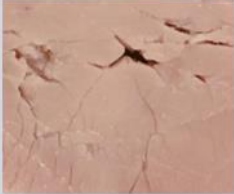
- Format inhabituel pour la transformation individuelle en rôti cuit supérieur (demi longe – partie filet uniquement vs longe entière précédemment).
- Biais et fort bruit de fond probablement induit par les conditions de prélèvement à chaud en fin de chaîne d'abattage : les carcasses ont été déviées de la chaîne d'abattage mais n'ont pas pu être réintroduites immédiatement dans le process habituel, restant à température ambiante 30 à 60 minutes selon les répétitions. Ces conditions expérimentales particulières ont probablement été propices au développement d'une proportion importante de viande PSE.

2.1.2 Calibration par validation croisée pour la prédiction des défauts de tranchage du rôti cuit

Les tranches présentant des défauts de texture « pommade » ou « sans tenue » présentent les mêmes caractéristiques technologiques que lors de l'étude précédente : le pHu est très significativement

supérieur pour les longes présentant un faible taux de tranches sans tenue, alors que le pHu ne semble pas varier selon le taux de tranches pommade (Tableau 2).

Tableau 2 : Caractérisation des défauts de tranchage (pH ultime moyen par classe de longes transformées ; 1= peu touchées (>50%) et 2= fortement touchées (>50%) par les défauts de tranchage « pommade » et « sans tenue »)

Classe	Tranche pommade	pHu	Tranche sans tenue	pHu
				
				
1	< 50%	5.51	< 50%	5.53
2	> 50%	5.47	> 50%	5.45
p.=		0.18		0.0001

Les résultats de calibration pour prédire les défauts « tranche pommade » et « tranche sans tenue » à partir de spectres NIR montrent une précision légèrement plus importante pour la prédiction du défaut « tranche pommade » (64% à 78% de longes bien classées selon le type de sonde et le site de mesure) que pour le défaut « tranche sans tenue » (54% à 79%). Mais le niveau d'erreur en validation croisée (% de longes mal classées) est globalement trop élevé (37% à 44% pour le défaut « pommade » et 42% à 52% pour le défaut « sans tenue ») pour envisager une sélection sur ces défauts par NIRS.

2.2 Prédiction de la qualité technologique du jambon par NIRS

Les acquisitions spectrales sur le muscle *Gluteus medius* du jambon ont été réalisées simultanément aux acquisitions des NIRS sur la longe. Mais contrairement aux acquisitions de spectres sur la longe qui ne concernent qu'un échantillon du lot d'animaux abattus, les acquisitions de NIRS sur le jambon ont été réalisées sur l'ensemble du lot d'abattage à l'aide d'une sonde de surface. En parallèle, le pHu a été mesuré sur le muscle *Semimembranosus* du jambon. La prédiction des rendements technologiques des jambons a été réalisée à l'aide du Logiciel Matlab et de la toolbox SAISIR à partir d'une équation définie dans une étude précédente (Vautier *et al.*, 2013).

2.2.1 Rendement technologique prédit par NIRS sur 375 jambons

Au cours des 10 répétitions du projet, des acquisitions de NIRS et des mesures de pHu ont été réalisées sur 375 jambons de porcs Piétrain croisés issus du dispositif UtOplGe. Le pHu moyen mesuré sur le muscle *Semimembranosus* est de 5,68 et le rendement technologique moyen prédit par NIRS s'élève à 86,9%. Ce niveau de rendement prédit est conforme au niveau de pHu lorsqu'on le compare aux données de références ayant servi à déterminer les algorithmes de prédiction NIRS de rendement technologique du jambon cuit supérieur (Tableau 3).

La corrélation entre le pHu et le rendement prédit par NIRS pour les 375 jambons n'est pas très élevée dans l'absolu (0,53), mais il s'agit de la relation entre deux prédicteurs du rendement technologique. Ce niveau de corrélation est conforme aux résultats observés dans de précédents travaux.

Tableau 3 : Niveau moyen du rendement technologique prédit par NIRS

Etude	n	Rdt prédit NIRS	Rdt observé	pHu
QualiPorc	375	86,9	-	5,68
Vautier <i>et al.</i> (2013)	36	87,0	86,8	5,73

3. Outils moléculaires d'évaluation précoce de la qualité des viandes de porc

L'application de la génomique fonctionnelle (étude de l'expression du génome) au service de l'identification de marqueurs de QV se développe chez le porc depuis quelques années (Ponsuksili *et al.*, 2008 ; Wimmers *et al.*, 2010 ; Picard *et al.*, 2015). Dans le cadre du programme européen Q-Porkchains (www.q-porkchains.org) une quarantaine de biomarqueurs *post-mortem* (*pm*) précoces de QV ont été identifiés par transcriptomique (analyse à haut-débit de l'expression génique), dont la moitié a été validée sur une population porcine commerciale (Damon *et al.*, 2013 ; Lebreton *et al.*, 2013). De plus, il a été montré qu'une combinaison de 3 à 5 marqueurs permet d'expliquer jusqu'à 59% de la variabilité d'un caractère. Ces résultats très encourageants suggèrent toutefois qu'une approche plus discriminante et applicable en industrie, et qui n'a encore jamais été développée, consisterait à classer les pièces en niveaux de qualité à partir de l'expression d'un nombre réduit de gènes marqueurs.

3.1 Identification de combinaison de gènes associés à différentes classes de qualité de la viande

Dans un premier temps, les matrices de données phénotypiques (caractères physico-chimiques, biochimiques et sensoriels de QV) et transcriptomiques du programme européen Q-Porkchains (2007-2012) ont été ré-exploitées. Le jeu de données inclus 100 porcs de race pure (Large White et Basque) présentant une variabilité élevée de QV (Damon *et al.*, 2013). Il s'agit d'identifier des combinaisons d'expression de gènes associées à des classes de qualités technologique et sensorielle. Le niveau d'expression de ces gènes est quantifié par PCR en temps réel (qRT-PCR), technique bien adaptée au développement d'outils industriels car plus rapide et moins onéreuse que la transcriptomique.

La construction de classes de QV a été réalisée en combinant des avis d'experts (incluant plusieurs partenaires du projet), l'étude de la littérature (Fernandez *et al.*, 1999 ; Joo *et al.*, 1999 ; Frodin *et al.*, 2007 ; Lonergan *et al.*, 2007 ; González *et al.*, 2014) et une approche statistique multidimensionnelle (analyses en composantes principales, analyse des correspondances multiples et classification ascendante hiérarchique; FactoMineR package; Lê *et al.*, 2008).

Suite à l'établissement des classes de QV, les données d'expression de 40 gènes déterminées par qRT-PCR sur des échantillons de muscles *Longissimus* (prélevés 30 min après abattage) des mêmes animaux que ceux ayant servi à l'élaboration des classes de QV, ont été exploitées. Après élimination des données aberrantes (ACP), une imputation de données a été réalisée par analyse multidimensionnelle pour 52 échantillons présentant au moins une donnée manquante. L'absence d'effet de l'imputation sur la distribution des données a été vérifiée (missMDA R package; Husson et Josse, 2013). Au final, 93 échantillons présentant au maximum 7 données d'expression manquantes ont été considérés pour la suite des analyses.

Les gènes dont le niveau d'expression varie en fonction des classes de QV considérées ont été identifiés par analyse de variance et une combinaison de gènes permettant de prédire l'appartenance d'un échantillon à une classe de QV a été déterminée. Pour définir l'équation de prédiction, 2 stratégies

ont été mises en œuvre : le calcul d'un modèle linéaire multinomial généralisé par une sélection pas-à-pas et l'arbre de décision. Puis, le taux d'erreur de chaque modèle a été estimé par validation croisée

3.1.1 Trois classes de qualités technologique et sensorielle

L'expertise scientifique et les données de la littérature ont conduit à considérer 6 indicateurs de QV: pH30 (mesuré 30 min *pm*), pH ultime (pHu mesuré 24h *pm*), pertes en eau à 3 jours *pm*, clarté L*, teneur en LIM et note de tendreté, parmi lesquels les plus discriminants ont été sélectionnés par analyse statistique. Au final, 4 indicateurs : pH30, pHu, pertes en eau et LIM, associés à des valeurs seuils ont été retenus pour distinguer 3 classes de QV :

- A défaut (D) : pH30<6,10 (PSE et tendance PSE) ou pHu<5,50 (acide et tendance acide)
- Correcte (C) : perte en eau $\geq 1\%$ ou teneur en LIM $< 2,5\%$
- Extra (E) : perte en eau $< 1\%$ et teneur en LIM $\geq 2,5\%$

Comme attendu, la classe D présente les valeurs de pH30 et pHu les plus basses et la perte en eau la plus élevée, l'inverse étant observé en classe E, la classe C étant intermédiaire (Tableau 4). La teneur en LIM est supérieure dans la classe E, mais ne diffère pas entre les classes D et C. Concernant les autres indicateurs de QV non pris en compte dans la construction des classes, la classe E présente une viande moins claire et plus rouge (valeurs de L* et de h° (teinte) les plus basses) que celle des classes D et C. Aucune différence significative n'est observée sur la force de cisaillement, mais la classe E présente les notes de tendreté et de jutosité les plus élevées et la classe D les plus basses, la classe C étant intermédiaire. L'ensemble de ces résultats indique que les 3 classes de QV définies dans cette étude correspondent bien à différents niveaux de qualités sensorielle et technologique de la viande de porc, distinction qui est importante pour les consommateurs comme pour les industriels de la filière.

Tableau 4 : Caractéristiques des classes de qualité de viande

	A défaut (D)	Correcte (C)	Extra (E)	Sign. ¹
Nombre d'individus	34	25	34	
pH30 ²	6.39 a	6.48 b	6.59 c	***
pHu ²	5.43 a	5.57 b	5.66 c	***
Pertes en eau 1-3 j, % ²	2.52 c	1.84 b	0.65 a	***
LIM, % ²	2.90 a	2.71 a	3.67 b	**
Clarté (L*)	54.3 b	51.3 a	49.5 a	***
Teinte h° (rouge → jaune)	37.6 b	35.8 b	31.5 a	***
Force cisaillement, N	28.8	29.2	26.2	ns
Tendreté (note, de 0 à 10)	4.07 a	4.40 ab	4.92 b	***
Jutosité (note, de 0 à 10)	2.81 a	3.19 ab	3.36 b	*
Flaveur (note, de 0 à 10)	4.24	4.40	4.43	ns

¹ Analyse de variance (effet classe) ; *** : $P < 0,001$; ** : $P < 0,01$; * : $P < 0,5$; ns : $P > 0,05$; ² Caractères considérés dans la construction des classes de QV

3.1.2 Seize gènes différentiellement exprimés entre les classes de QV

Sur les 40 gènes considérés, 16 gènes sont différentiellement exprimés ($P < 0,05$) entre les classes de QV, parmi lesquels 2 gènes sont surexprimés en classe D ($P = 0,003$), 5 sont surexprimés ($P \leq 0,007$) et

4 sous-exprimés ($P \leq 0,009$) en classe E, et 2 gènes présentent une diminution graduelle de leur niveau d'expression ($P < 0,001$) des classes D à E. L'expression différentielle de plusieurs gènes en fonction des classes de QV suggère la possibilité de différencier des classes de QV en fonction du niveau d'expression de gènes déterminé sur des échantillons prélevés juste après l'abattage.

3.1.3 Equation de prédiction incluant 12 gènes biomarqueurs

Le meilleur modèle pour prédire l'appartenance d'un échantillon à une classe de QV inclut 12 gènes : GLOD4, PPARd, GUP1, HSPD1, YDJC, CCDC91, NAP1, FOS, LIPE, SPARC, IGF1 et MCAT comme meilleures variables prédictives. Il a été calculé en utilisant une sélection pas-à-pas. Le seuil de probabilité pour prédire l'appartenance à la classe D a été fixé à 0,3 afin de réduire le risque de sur-classement d'échantillons. Le taux d'erreur estimé est de 18%, ce qui signifie que 82% des 93 échantillons testés sont bien classés (Tableau 5). Après validation croisée, le taux de bonne classification est de 76%, soit un taux d'erreur de 24% (Tableau 6).

Tableau 5 : Prédiction d'attribution des échantillons à une classe de QV

		Prédit		
		D	C	E
Observé	D	33	0	1
	C	7	15	3
	E	4	2	28

Tableau 6 : Validation croisée du modèle de prédiction

		Prédit		
		D	C	E
Observé	D	30	2	2
	C	9	13	3
	E	4	2	28

Les gènes impliqués dans ce modèle correspondent à différentes fonctions biologiques identifiées pour leur rôle dans la détermination des qualités technologiques et sensorielles de la viande : le métabolisme énergétique mitochondrial (GLOD4), le métabolisme lipidique (PPARd, LIPE, MCAT), le métabolisme des glucides (YDJC), le contrôle de l'expression génique (GUP1), les processus de régulation cellulaire et d'apoptose (HSPD1), le transport des protéines (CCDC91), le transport du calcium (FOS, SPARC), la structure et la contraction musculaires (SPARC) et l'hypertrophie musculaire (IGF1).

Un modèle d'arbre de classification à 6 branches et incluant 5 gènes (GLOD4, ZNF24, FABPH, YDJC et PPARd) a également été retenu, mais le taux d'erreur de classification estimé sur les 93 échantillons est beaucoup plus élevé (41%) qu'avec le modèle d'équations mathématiques (18%).

3.2 Validation des outils moléculaires d'évaluation de la qualité de la viande sur le dispositif animal UtOpIGe

Pour valider l'équation de prédiction d'attribution d'un échantillon donné à une classe de QV, des animaux totalement différents de ceux constitutifs de la base de données de départ, et représentatifs de la population porcine commerciale actuelle ont été retenus. Ce jeu de données de validation était

composé de 157 animaux, mâles entiers issus de croisements commerciaux provenant du dispositif expérimental UtOpIGe, prélevés juste après l'abattage, auxquels ont été ajoutés 100 échantillons complémentaires issus d'études antérieures afin d'augmenter la variabilité de QV. Soit un effectif total de 257 échantillons pour lesquels les indicateurs de QV étaient connus.

L'ARN des 257 échantillons de tissu musculaire a été extrait, puis le niveau d'expression de 24 gènes (12 gènes de l'équation de prédiction, 2 gènes de l'arbre de décision différents de ceux inclus dans l'équation de prédiction, 8 gènes préalablement identifiés comme biomarqueurs de qualité de caractères individuels de QV et 2 gènes de référence) a été quantifié par RT-PCR. Les données d'expression génique ont été normalisées, puis soumises à des analyses statistiques pour valider l'équation de prédiction et l'arbre de décision établis précédemment.

3.2.1 Qualité de viande des échantillons « QualiPorc »

Le niveau global de qualité est plus bas que celui des échantillons du dispositif Q-Porkchains ayant servi à l'établissement de l'équation de prédiction et de l'arbre de décision. Cette situation était en partie attendue au vu des types génétiques conventionnels utilisés dans le dispositif QualiPorc, notamment pour la teneur en LIM. Toutefois, certains indicateurs montrent une QV dégradée (pertes en eau élevées en particulier), qui résulte des conditions de prélèvement des tissus après abattage ayant engendré des difficultés de gestion des carcasses (refroidissement tardif).

En considérant les indicateurs et valeurs seuils définis pour l'établissement des classes de QV, il s'avère que parmi ces 157 échantillons, 33 sont classés D, 123 sont classés C et aucun n'est classé E (1 donnée manquante).

3.2.2 Validation externe des modèles discriminant les classes de qualité de viande

L'application du modèle mathématique multinomial de prédiction de QV obtenu précédemment aux données QualiPorc donne un taux de bon classement de 76%, ce qui peut sembler satisfaisant. Cependant, les erreurs de classement sont conséquentes : 20 échantillons classés D sont prédits C et 15 échantillons prédits D sont observés en classe C, ce qui n'est pas acceptable en l'état et doit être amélioré avant d'envisager un développement de l'outil. L'application du modèle de prédiction de QV aux échantillons issus d'études antérieures donne un taux de bon classement de 41%.

Par ailleurs, le taux d'erreur de classement obtenu avec l'arbre de décision (41% à l'étape de validation croisée) est trop élevé pour envisager en l'état son application en validation externe. Malgré un jeu de données de validation conséquent, les erreurs de classement observées lors de l'étape de validation croisée des modèles discriminant les classes de QV sont trop élevées pour envisager un développement de l'outil en l'état à l'échelle industrielle.

Conclusion

Le travail réalisé dans le cadre de ce programme de recherche a conduit à plusieurs développements méthodologiques et à l'acquisition de nouvelles connaissances scientifiques.

L'étude a notamment confirmé le potentiel de la mesure IRM pour doser les LIM sur un échantillon de longe avec une précision et des cadences de mesure compatibles avec les besoins du phénotypage haut-débit. Par ailleurs, le taux de LIM étant assez stable le long de la longe, il est possible de choisir un site de prélèvement autre que celui considéré actuellement au niveau de la 13^{ème} côte. Ce nouveau site, plus proche de l'extrémité avant du muscle *Longissimus*, limiterait la dépréciation de la longe, sans dégrader la corrélation avec le taux de LIM moyen de la longe. Cette méthode de mesure de QV répétable, facile à mettre en œuvre et peu coûteuse est opérationnelle. Elle offre la possibilité aux OSP de prendre en compte dans les programmes d'amélioration génétique un nouveau critère de QV, le taux de LIM, pour optimiser la valorisation de la longe.

Des classes de QV discriminant les dimensions qualitatives technologiques et sensorielles des viandes de porc ont été déterminées. Un modèle mathématique de prédiction d'appartenance d'un échantillon donné à une classe de qualité a été établi. Ce modèle présente un taux élevé de bon classement des viandes de qualité élevée, mais il doit être amélioré afin de discriminer sans erreur des viandes à défaut de viandes de qualité correcte pour la consommation directe ou la transformation. Les résultats suggèrent cependant la possibilité de différencier des classes de QV en fonction du niveau d'expression de gènes déterminé par RT-PCR sur des échantillons prélevés juste après l'abattage. La mise à disposition de tels outils permettrait aux industries d'optimiser la valorisation des pièces dans les filières conventionnelles comme les filières dédiées aux produits de qualité.

Références bibliographiques

- Antequera T., Muriel E., Rodriguez P.G., Cernadas E., Ruiz J., 2003. Magnetic resonance imaging as a predictive tool for sensory characteristics and intramuscular fat content of dry-cured loin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83:268-274.
- Brøndum J., Munck L., Henckel P., Karlsson A., Tornberg E., Engelsen S.B., 2000. Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Science*, 65:2, 177-185.
- Chan D.E., Walker P.N., Mills E.W., 2002. Prediction of pork quality characteristics using visible and near-infrared spectroscopy. *Transactions of the ASAE*, 45:1519-1527.
- Damon M., Denieul K., Vincent A., Bonhomme N., Wyszynska-Koko J., Lebret B., 2013. Associations between muscle gene expression pattern and technological and sensory meat traits highlight new biomarkers for pork quality assessment. *Meat Science*, 95, 744-745.
- Davenel A., Bazin C., Quéllec S., Challos S., Gispert M., Mercat M.-J., 2012. High throughput determination of intramuscular fat content by magnetic resonance imaging. *Journées Recherche Porcine*, 44, 53-54.
- Fernandez X., Monin G., Talmant E., Mourot J., Lebret B., 1999. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat — 1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of *m. longissimus lumborum*. *Meat Science*, 53, 59-65.
- Frotin P., Gault E., Chevillon P., Econ Y., 2007. Mise à jour des références techniques et des recommandations sur le process d'abattage dans 15 abattoirs, IFIP - Pôle viandes fraîches et produits transformés, Paris, France, 61p.
- Geesink G.H., Schreutelkamp F.H., Frankhuizen R., Vedder H.W., Faber N.M., Kranen R.W., Gerritzen M.A., 2003. Prediction of pork quality attributes from near infrared reflectance spectra. *Meat Science* 65:1, 661-668.
- Gonzales J., Gispert M., Gil M., Hviid M., Dourmad J.Y., De Greef K.H., Zimmer C., Fàbrega E., 2014. Evaluation of the sustainability of contrasted pig farming systems: development of a market conformity tool for pork products based on technological quality traits. *Animal*, 8:12, 2038-2046.
- Husson F., Josse J., 2013. Handling missing values in multiple factor analysis. *Food Quality and Preference*. 30:2, 77-85.
- Joo S.T., Kauffman R.G., Kim B.C., Park G.B., 1999. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. *Meat Science*, 52, 291-297.
- Lê S., Josse J., Husson F., 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25:1, 1-18.
- Lebret B., Denieul K., Vincent A., Bonhomme N., Wyszynska-Koko J., Kristensen L., Young J.F., Damon M., 2013. Identification par transcriptomique de biomarqueurs de la qualité de la viande de porc. *Journées Recherche Porcine*, 45, 97-102.

- Loneragan S.M., Stalder K.J., Huff-Loneragan E., Knight T.J., Goodwin R.N., Prusa K.J., Beitz D.C., 2007. Influence of lipid content on pork sensory quality within pH classification. *Journal of Animal Science*, 85:1074–1079.
- Pérez-Palacios T., Ruiz J., Tejeda J.F., Antequera T., 2009. Subcutaneous and intramuscular lipid traits as tools for classifying Iberian pigs as a function of their feeding background. *Meat Science*, 81:632-640.
- Pérez-Palacios T., Antequera T., Durán M.L., Caro A., Rodríguez P.G., Palacios R., 2011. MRI-based analysis of feeding background effect on fresh Iberian ham. *Food Chemistry*, 126:1366-1372.
- Picard B., Lebret B., Cassar-Malek I., Liaubet L., Berri C., Le Bihan-Duval E., Hocquette J.F., Renand G., 2015. Recent advances in omic technologies for meat quality management. *Meat Science*, 109, 18-26.
- Ponsuksili S., Murani E., Phatsara C., Jonas E., Walz C., Schwerin M., Schellander K., Wimmers K., 2008. Expression profiling of muscle reveals transcripts differentially expressed in muscle that affect water-holding capacity of pork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 10311-10317.
- Vautier A., Gault E., Lhommeau T., Vendeuvre J.L., 2009. Apports de la spectroscopie visible-proche infrarouge sur la détection précoce du défaut jambon déstructuré. Rapport d'étude FranceAgriMer.
- Vautier A., Gault E., Lhommeau T., 2011. Aptitude technologique de la longe pour une transformation en salaison: identification des principaux prédicteurs du rendement technologique et tranchage. Rapport d'étude FranceAgriMer, 22p.
- Vautier A., Lhommeau T., Daumas G., 2013. A feasibility study for the prediction of the technological quality of ham with NIR spectroscopy. 64th annual meeting of EAAP, Nantes, France.
- Vautier A., Gault E., Lhommeau T., Bozec A., 2014. Meat quality mapping of the loin: pH vs NIR spectroscopy to predict the cooking yield. 60th International Congress of Meat Science and Technology, Punta del Este, Uruguay.
- Wimmers K., Murani E., Ponsuksili S., 2010. Pre-and postnatal differential gene expression with relevance for meat and carcass traits in pigs. *Animal Science Papers and Reports*, 28, 115-122.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons, CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL)