MÉTHODES D'ANALYSE DE LA STRUCTURE MUSCULAIRE

O. SCHMITT, B.-L. DUMONT

avec la collaboration technique de Claudette CHEVALIER et Thérèse DERINE

*Laboratoire de Recherches sur la Viande,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique*

SOMMAIRE

Il est présenté une méthode d'étude de la structure du muscle, définie par l'arrangement des divers types de faisceaux de fibres qui le constituent. Cette méthode fait appel à une technique d'obtention de sections de muscle de grande surface (jusqu'à plusieurs centaines de cm²). Le fixateur utilisé sur des échantillons préalablement congelés est un mélange à volume égal d'alcool absolu, d'acide acétique et de chloroforme employé dans un milieu turbulent obtenu par agitation magnétique. Il est préconisé, après fixation et lavage par l'alcool, d'imprégner le tissu musculaire par de la glycérine et d'effectuer l'inclusion sous vide partiel.

Les difficultés susceptibles d'être rencontrées dans l'exécution pratique sont exposées et des remèdes proposés.

Dans l'ensemble, la méthode assure une bonne fixation du tissu musculaire et du conjonctif, et entraîne une rétraction de la surface des échantillons de l'ordre de 30 p. 100 en moyenne.

Grâce à cette technique il est possible de considérer de grandes surfaces de coupe, de faible épaisseur (10-15 μ), observées sur écran ou après agrandissement photographique.

D'autre part, il est suggéré d'envisager de déterminer la structure du muscle en considérant les caractéristiques des unités d'organisation — appelées Myoskhènes — que paraît révéler l'examen de la trame conjonctive relativement homogène qui sépare certains groupes de faisceaux lorsqu'on examine la coupe d'un muscle à un très faible grossissement (< 4). Les dimensions moyennes des myoskhènes, l'importance de leur périnysium, le nombre et la nature des groupes de faisceaux de fibres qu'ils renferment sont proposés comme autant de critères propres à définir de façon quantitative la structure des muscles. Il est décrit un mode d'estimation subjective de la dimension et de l'importance du périnysium des myoskhènes et un mode objectif de jugement de la nature des groupes de faisceaux, exprimant un degré de structuration du muscle.

INTRODUCTION

Le cloisonnement du muscle en faisceaux de fibres d'inégale importance est une notion classique de la myologie, connue de longue date (BOURGELAT, 1797). Son étude a, jusqu'ici, essentiellement précisé (WALLS, 1960) les caractéristiques des fibres musculaires — dimension, forme — par la mise en œuvre de techniques simples, portant sur des échantillons de taille réduite. La structure du muscle — telle qu'on peut la définir à partir de la dimension et de l'arrangement des divers fais-

ceaux qui en déterminent ce qu'il est convenu d'appeler la texture, n'est connue que très imparfaitement. Son analyse n'a pas donné lieu à des recherches approfondies, sauf en ce qui concerne, pour de très petits muscles, le nombre total de fibres. En particulier les rapports existant entre la nature de la trame du tissu conjonctif et le développement des fibres ne paraissent pas élucidés.

La difficulté d'obtention de coupes histologiques de surface suffisante, offrant à considérer un vaste champ, a certainement été le facteur limitant des possibilités d'analyse de la structure musculaire. Le présent travail décrit une technique d'étude de cette dernière reposant, d'une part, sur l'obtention de sections de muscle de grande surface et de faible épaisseur et, d'autre part, sur l'appréciation quantitative de la structure du muscle.

I. — TECHNIQUE HISTOLOGIQUE D'OBTENTION DE SECTIONS DE MUSCLE DE GRANDE SURFACE

EXPOSÉ DE LA TECHNIQUE

L'obtention de coupes sériées de faible épaisseur — telles que les nécessitent les travaux intéressant la structure musculaire conduits dans notre laboratoire — impose le recours à l'inclusion à la paraffine. Ce mode d'inclusion offre, d'autre part, l'avantage de permettre la conservation pratiquement illimitée des échantillons.

Dans des essais antérieurs, nous avons mis en évidence que, parmi les différentes méthodes classiques de fixation, la technique utilisant le mélange de Gilson comme fixateur se révélait intéressante pour la préservation des fibres musculaires et du tissu conjonctif (DUMONT et PARIS, 1959 a), dans le cas d'échantillons de faible taille (20 à 25 mm de long sur 3 à 10 mm d'épaisseur). Au-delà de ces dimensions, l'application de cette technique conduisait à des difficultés conjointes de coupe et de mauvaise fixation, qui imposaient comme limite d'épaisseur une épaisseur maximum de 10 mm. Bien que déjà importante — à l'échelle microscopique — la surface musculaire observable dans ces conditions nous apparaissait, à l'usage, très insuffisante en raison de l'hétérogénéité constatée d'un échantillon à l'autre d'un même muscle et des difficultés, sinon des impossibilités, de reconstitution de l'ensemble de la surface d'un muscle ou même simplement de la surface correspondant aux quantités de muscle consommées lors de la mastication d'une bouchée de viande.

La nécessité d'accroître la surface des échantillons impliquait une augmentation très sensible de leur épaisseur pour assurer une adhérence latérale suffisante au bloc de paraffine lors de la coupe. Cette augmentation de l'épaisseur posait des problèmes en ce qui concerne la fixation, compte tenu des vitesses de pénétration du fixateur en milieu normal (de l'ordre de 1 mm/heure). Pour obtenir une homogénéité de fixation il était indispensable de pouvoir accélérer la pénétration du fixateur. A cette fin, nous avons eu recours à une fixation de l'échantillon immobilisé dans un milieu turbulent, obtenu par agitation magnétique.

Lors des premiers essais le mélange fixateur utilisé fut identique à celui précédemment employé (DUMONT et PARIS, 1959 a) qui supposait, après fixation, l'élimination du sublimé par l'iode. Cette dernière opération entraînait, dans le cas de gros échantillons, des difficultés, provoquant notamment des ruptures des pièces. Cette observation nous conduisit à supprimer le bichlorure de mercure de la formule du fixateur et de la simplifier en ne conservant que le mélange à volume égal d'alcool absolu, d'acide acétique cristallisable et de chloroforme. Cette suppression n'entraînait pas une modification notable de la qualité du fixateur mais éliminait tous les inconvénients provoqués par la présence du sublimé.

La dureté naturelle des échantillons (spécialement ceux riches en conjonctif) jointe à la grandeur des pièces à couper nous a conduits à modifier le cycle habituel des préparations, entre la fixation et l'inclusion dans la paraffine. Après l'élimination du fixateur, nous avons procédé à une imprégnation des tissus par la glycérine, préconisée par LEPLAT (1939) pour les objets durs à couper.

La nécessité de pouvoir considérer un grand nombre de muscles du même animal nous a amenés à envisager une congélation rapide préalable des pièces. Le but initial de cette pratique était la conservation. En plus nous devons noter que la congélation permet de rectifier facilement la surface

et l'épaisseur des échantillons et d'en obtenir, de façon simple, un contour précis. Toutefois, dans le cas d'un échantillon isolé pour lequel ne se pose pas de problèmes de conservation, la congélation n'est pas nécessaire. Le tableau 1 indique les différentes opérations de la mise en œuvre de la méthode, ainsi que des observations complémentaires intéressant des cas particuliers ou des détails pratiques de la technique.

INSUCCÈS ET REMÈDES

Au cours des travaux qui ont conduit à l'élaboration de cette technique, nous avons enregistré un certain nombre de difficultés qui sont susceptibles de se produire aux différentes manipulations. Nous présentons dans le tableau 2 les remèdes proposés pour surmonter les échecs ou les insuccès éventuels.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La méthode permet sous une faible épaisseur (15 μ environ) l'obtention de coupes de très grandes surfaces (20 $\times$ 10 cm), ce qui peut intéresser des muscles entiers de nombreux types de mammifères ou des portions importantes des muscles les plus volumineux d'animaux de très grande taille. Ainsi dans le cas du bœuf la quasi-totalité de la musculature est justiciable de cette technique sans qu'il soit besoin de fragmenter les muscles pour l'inclusion. De ce fait la méthode ouvre de larges horizons d'étude de la structure musculaire.

Dans l'ensemble la fixation des fibres musculaires et des éléments de la trame du tissu conjonctif est satisfaisante et homogène ; ce qui est en accord avec les observations précédentes concernant l'intérêt du mélange de Gilson par rapport à d'autres types de fixateurs tels le formol, le Bouin, le Carnoy, comme fixateur du tissu musculaire, dans le cas de petits échantillons (DUMONT et PARIS, 1959 b). Il en va de même pour ce qui concerne la facilité de coupe qui est même nettement améliorée par rapport à ce qu'elle est avec des échantillons de petite taille.

L'aisance de la coupe, la possibilité de programmation des différentes opérations font de cette méthode une technique susceptible d'être utilisée en travail de routine pour des études d'examen systématique de coupes sérieées examinées sous faible épaisseur, ce qui lui confère une supériorité certaine sur les autres techniques disponibles jusqu'ici (congélation, celloïdine, ...).

La présence à l'intérieur de certains muscles — *eg. supraspinatus* ou *infraspinatus* — de grandes lames aponévrotiques peut toutefois gêner en partie la réussite de cette technique, en perturbant la coupe lorsque le rasoir attaque l'aponévrose interne dans sa plus grande dimension. On peut y remédier soit en orientant latéralement le rasoir, au moment de la coupe, soit en orientant l'échantillon lors de l'inclusion.

La manipulation d'échantillons de grandes dimensions pose des problèmes, sur le plan matériel, l'équipement classique des laboratoires d'histologie étant en règle générale conçu pour des pièces de taille réduite. Nous insisterons surtout ici sur la nécessité d'utiliser un microtome dont la hauteur de coupe soit suffisante et qui soit très stable. En pratique seuls les grands microtomes sur pied, très lourds, peuvent convenir.

L'observation au microscope optique est longue et même impossible au-delà de la taille maxima permise par les plus importantes platines. Il est nécessaire pour

TABLEAU I
Techniques histologiques d'obtention de sections de muscle de grande surface

Méthode générale	Observations
<p><i>Préparation des échantillons</i></p> <p>Prélever le tissu musculaire, en isolant, de préférence, la totalité du muscle à étudier, avec son aponévrose.</p> <p>Repérer la direction des fibres musculaires.</p> <p>Couper au couteau des tranches d'environ 3 cm d'épaisseur selon le plan de coupe souhaité par rapport à la direction des fibres.</p> <p>Congeler ces tranches sur plateaux à -40°C.</p> <p>Éventuellement, stocker les tranches congelées, conditionnées sous plastique, à -15°C minimum.</p> <p>Au moment de l'utilisation, aplanir la tranche congelée d'un côté seulement et l'amener à une épaisseur de 15 mm environ à l'aide d'une machine à trancher en ayant soin d'orienter le plan de coupe de celle-ci dans la direction désirée. Dans toute la suite des opérations, la face plane est tournée vers le sol.</p>	<p>Le muscle peut être également conservé en entier, à -15°C, après congélation rapide et débité en tranches ultérieurement. Les muscles dont l'épaisseur ne dépasse pas 3 à 4 cm n'ont pas besoin d'être débités en tranches pour être fixés.</p> <p>Il est préférable de n'aplanir le muscle que sur une seule face de section et de conserver une face brute dont les aspérités permettent une meilleure prise de l'échantillon dans la paraffine au moment de l'inclusion.</p> <p>Le cas échéant on peut s'intéresser à des fractions de muscle en prélevant, à l'aide d'emporte-pièces, des échantillons circulaires (ou « carottes ») sur les muscles ou les tranches de muscles congelés. Dans ce cas, les carottes peuvent être préparées en séries, puis stockées à -15°C dans des tubes en matière plastique de diamètre voisin de ceux des échantillons. Ces flacons cylindriques en polystyrène du type « BOREL », peu résistants aux solvants organiques, sont très bon marché et parfaits pour stocker des pastilles congelées à condition toutefois d'intercaler entre chaque pastille de muscle une rondelle en polyvinyl. Ces tubes peuvent aussi servir comme récipients pour la glycérine, l'essence de cèdre ou l'alcool butylique.</p>
<p><i>Fixation</i></p> <p>Fixer dans un récipient couvert, dans du Gilson sans sublimé, en entretenant une agitation permanente du milieu, pendant 4 à 6 heures, en changeant 3 fois de bain fixateur : d'abord une heure après le début de fixation, puis deux heures environ après.</p>	<p>Pour les carottes de faible diamètre (20 à 40 mm) le temps de fixation est réduit (vitesse de pénétration du fixateur de 1 mm par heure) et la fixation, sans agitation, est réalisée dans des flacons de verre de 80 à 100 ml.</p> <p>Dans le cas d'échantillons de taille plus importante (tranches de plus de 40 mm de diamètre, muscles entiers de gros animaux), pour réaliser des séries d'une part, et pour économiser le temps et les produits d'autre part, il est nécessaire de se servir d'un agitateur magnétique et de récipients de taille suffisante (de 1 000 à 5 000 ml selon les cas). Il suffit pour cela de confectionner des plaques perforées en plexiglas du diamètre des récipients employés, de fabriquer avec des baguettes de soudure plastique des supports de plaques. Lester les échantillons entre 2 plaques perforées. Les trous des plaques en plexiglas doivent être assez gros afin de permettre la pénétration des liquides dans la viande (2 à 3 mm par heure) et de pouvoir facilement chasser les bulles qui s'y produiraient. Il faut veiller à ne pas faire tourner trop vite la barre magnétique afin d'éviter de tirer l'échantillon à travers les trous des plaques perforées. Si les grandes surfaces de muscles ont tendance à se déformer, ne pas hésiter à mettre un poids sur les plaques (fig. 4).</p>

Méthode générale	Observations
<p><i>Lavage</i></p> <p>Après fixation — dont le terme est apprécié par l'immersion plus ou moins prononcée de l'échantillon dans le fixateur — laver à l'alcool absolu en trois bains d'une heure en agitant (agitation magnétique).</p>	<p>Le lavage à l'alcool s'effectue avec le même matériel que la fixation (récipient couvert, utilisation d'agitateur magnétique, plaques perforées...) et les mêmes méthodes générales de traitement des échantillons, notamment en ce qui concerne le lestage. Si nécessaire chasser les bulles coincées sous l'échantillon.</p>
<p><i>Imprégnation avant inclusion</i></p> <p>Transporter les échantillons bien égouttés dans un bain de glycérol (30°Be), à l'air libre. Disposer délicatement les échantillons dans le bain et les y maintenir, au fond, pendant 48 heures, par des triangles en baguette de verre.</p> <p>Laver à l'alcool absolu en 3 bains d'une heure chacun, en agitant le milieu.</p> <p>Passer en 3 bains d'alcool butylique de une heure chacun, en agitant.</p> <p>De là commencer les processus d'inclusion par passage dans 4 bains de paraffine (cyto-paraffine 54°-56°C) de 24 heures chacun.</p>	<p>Une fois déposés dans le glycérol les échantillons ne doivent absolument pas être dérangés pendant 48 heures.</p> <p>Mêmes observations que pour le premier lavage à l'alcool absolu (voir ci-dessus).</p> <p>Mêmes observations que ci-dessus ; le premier bain est, après usage, éliminé ; le second bain peut être employé comme premier bain d'un nouveau cycle d'opérations et le troisième bain comme second bain.</p> <p>Lors du passage dans la paraffine les échantillons doivent être maintenus plats, tout en étant bien imprégnables. La solution idéale consiste à placer les échantillons sur des supports perforés et à utiliser l'agitation mécanique de la paraffine. Bien chasser les bulles périodiquement.</p>
<p><i>Inclusion</i></p> <p>Opérer l'inclusion sous vide partiel (0,2 atmosphère) et à une température de 60°C, pendant une heure environ. Arrêter le vide, sortir le récipient contenant la paraffine et l'échantillon, orienter ce dernier avec une pince préalablement chauffée, en ayant soin de décoller légèrement l'échantillon du fond du récipient de manière à permettre l'expulsion éventuelle des bulles résiduelles. Refroidir rapidement.</p>	<p>Utiliser pour l'inclusion des récipients en verre, assez hauts, ou des barres de Leuckart appropriées aux dimensions des échantillons.</p>
<p><i>Coupe</i></p> <p>Coupe à 10-15 microns.</p>	<p>Le temps de mordantage par l'acide phospho-molybdique doit être de 20 minutes et la durée de coloration de 2 à 15 minutes.</p>
<p><i>Coloration</i></p> <p>Méthode à l'Hématoxyline-Dioxane (DUMONT et PARIS, 1959 b) ou Méthode de LUISBERG (1966).</p>	<p>Après montage surcharger suffisamment, avec précaution, la lamelle de poids, de manière à exercer une pression de l'ordre de 0,10 à 0,15 kg/cm² (en utilisant par exemple des cubes de laiton).</p>
<p><i>Montage</i></p> <p>Montage au Baume du Canada.</p>	

TABLÉAU 2
Insuccès et Remèdes

Nature des difficultés	Remèdes
<p><i>Au cours des opérations d'inclusion</i></p> <p>Déformation des échantillons de grande taille.</p>	<p>Ne pas hésiter à mettre des poids de faible diamètre mais suffisamment lourds sur les grilles recouvrant les tranches de muscles.</p> <p>Ne pas trop léster les échantillons pendant l'imprégnation par le glycérol. La déformation du muscle qui pourrait se produire est aisément rattrapable par les bains suivants.</p>
<p><i>Après l'inclusion</i></p>	<p>Réinclure sous vide partiel.</p>
<p>Une grande bulle s'est formée : — soit sous l'échantillon (celui-ci n'a pas été soulevé lors de l'inclusion), — soit sur l'échantillon (le vide en cours d'inclusion n'a pas été suffisant).</p> <p><i>En cours de coupe</i></p>	<p>Réinclure en avant soin de faire un passage préalable dans un bain de paraffine avec agitation magnétique à l'étuve.</p>
<p>— Au bout d'une vingtaine de coupes, apparition d'une réticulation centrale très fine due à une vibration de l'échantillon qui se révèle être insuffisamment imprégné.</p> <p>— Coupe d'épaisseur irrégulière et décollement de l'échantillon. Ces difficultés peuvent avoir plusieurs causes :</p> <p>a) L'épaisseur initiale de l'échantillon était insuffisante, compte tenu de sa surface.</p>	<p>Réinclure et couper avec précaution.</p> <p>Si l'échantillon est très important, le fractionner en 2 ou 3 parties et réinclure chacune d'elles.</p> <p>Réinclure en fractionnant l'échantillon en plusieurs parties selon l'importance de celui-ci.</p>
<p>b) L'échantillon a été aplani, par mégarde, sur ses deux faces, lors des opérations de préparation.</p> <p>c) L'échantillon se décolle pour une autre raison : · une très fine couche gazeuse, invisible à travers la paraffine, s'est formée, à la surface supérieure de l'échantillon ; · cadence de coupe trop rapide (eu égard à la surface de l'échantillon).</p>	<p>Réinclure sous vide.</p>
<p><i>Déformation du bloc pendant le stockage</i></p>	<p>Réinclure, couper lentement.</p> <p>L'augmenter l'épaisseur de la coupe.</p>
<p>Importance trop faible de la paraffine par rapport aux dimensions de l'échantillon.</p>	<p>Réinclure, à l'aide de barres de Leuckart, en maintenant les échantillons à plat au cours de l'inclusion.</p>

éviter la fatigue des yeux d'observer les grandes coupes soit par projection directe de la préparation sur écran ou sur verre dépoli, soit, mieux, d'utiliser des techniques photographiques. Dans ce cas on peut employer la préparation directement dans un agrandisseur et obtenir un négatif sur papier. On peut également utiliser du plan film — de type Graphic Tone — pour obtenir des épreuves par contact ou des négatifs destinés à être projetés pour fournir des positifs géants, à l'agrandissement souhaité.

D'autre part la consommation des différents produits est assez importante en valeur absolue (quoique relativement plus faible en considérant les volumes des échantillons que dans le cas de traitement de pièces de petite taille).

A l'issue de la préparation l'échantillon a subi par rapport à l'état frais une rétraction assez importante de son volume, spécialement par suite d'une diminution sensible de la surface. La rétraction est très variable d'un muscle à l'autre du même animal et entre animaux pour le même muscle. Cette rétraction finale marque le terme des variations de dimensions (hauteur et surtout surface) présentées par l'échantillon au cours des diverses phases de la préparation. A une légère augmentation se produisant au cours de la fixation fait suite une légère rétraction pendant le premier passage dans l'alcool absolu (ce qui ramène le volume de la pièce sensiblement au volume initial). Puis l'imprégnation par le glycérol se traduit par une forte diminution de la surface — dont la forme n'est pas cependant affectée —, qui est encore accentuée lors du passage dans les bains de paraffine.

Par rapport à la surface initiale on peut estimer qu'en moyenne la réduction constatée est de l'ordre de 30 p. 100, la marge de variation se situant, selon les muscles, entre 15 et 50 p. 100.

II. — MÉTHODE D'APPRÉCIATION QUANTITATIVE DE LA STRUCTURE DU MUSCLE

En fournissant de grandes surfaces de tissu musculaire — et dans la plupart des cas en permettant de considérer la totalité de la section transversale d'un muscle, quelle que soit l'espèce zoologique — la technique que nous venons d'exposer permet d'aborder l'étude de la structure du muscle en considérant les rapports d'un très grand nombre de faisceaux de fibres musculaires de types différents.

L'observation d'un grand nombre de muscles d'origines différentes traités de cette façon nous conduit à suggérer la méthode suivante d'appréciation de la structure du muscle.

L'examen de la section transversale d'un muscle (perpendiculairement à la direction générale des fibres) laisse, en première analyse, l'impression d'une grande complexité d'agencement, quel que soit le grossissement considéré (fig. 1). On remarque toutefois que cette complexité paraît s'accroître au fur et à mesure qu'on examine la section à un plus fort grossissement et que se précise l'hétérogénéité du tissu musculaire traduite par une grande variabilité dans la forme et les dimensions des fibres, ainsi que par celles des faisceaux.

A faible grossissement ($\times 2$ à 4), pour les petits muscles ou les muscles de taille moyenne, et même en grandeur nature pour les muscles assez importants, on constate, en considérant attentivement la coupe, l'existence, à côté de grandes travées conjonc-

tives nettement orientées, d'une trame diffuse de tissu conjonctif qui paraît à peu près uniforme dans son épaisseur et relativement homogène dans sa répartition. Les contours de cette trame délimitent des surfaces d'importance et de forme parfois très variables mais qui ont, cependant, une allure générale propre à chaque muscle et qui semblent traduire une sorte de motif élémentaire de l'organisation et de la structure du muscle. Nous proposons d'appeler « MYOSKHÈNE » cette unité de structure musculaire et d'apprécier la structure générale du muscle dans sa section transversale d'après les caractéristiques moyennes des myoskhènes : dimensions, importance de leur périmysium, nombre et nature des groupes de faisceaux musculaires qu'ils renferment.

Les fibres musculaires sont groupées en faisceaux dits faisceaux primaires, que nous appellerons ici faisceaux d'ordre 1. Chacun de ces faisceaux est entouré par un périmysium de faible importance. Un nombre variable de faisceaux d'ordre 1 peuvent être regroupés pour constituer un faisceau de beaucoup plus grande taille ou faisceau d'ordre 2, délimité par un périmysium nettement plus marqué que celui des faisceaux d'ordre 1. On peut considérer qu'à leur tour un certain nombre de faisceaux d'ordre 2 sont assemblés pour donner un faisceau d'ordre 3, au périmysium encore plus important, etc. Finalement un ensemble de faisceaux d'ordre $n - 1$ constitue un myoskhène d'ordre n . La valeur de l'ordre du myoskhène traduit ce que nous appellerons le degré de structuration du muscle.

On peut suggérer d'utiliser une échelle d'évaluation subjective pour la moyenne des dimensions des myoskhènes, ainsi que pour évaluer l'importance de leur périmysium. A défaut d'une échelle universelle susceptible d'être employée pour tous les muscles, quelle que soit l'espèce ou l'âge des individus, — échelle qui reste à établir — nous utilisons, temporairement, une échelle particulière d'évaluation, propre à chaque expérience, employée à titre comparatif et tenant compte de la variabilité constatée entre échantillons extrêmes.

a) — Valeurs décroissantes de la note d'estimation de l'importance du tissu conjonctif; de gauche à droite respectivement 8, 6, 4 et 2.

b) — Taille des myoskhènes correspondant respectivement de gauche à droite à des notes de 8, 6, 4 et 2 dans l'échelle d'évaluation.

FIG. 2. — Illustration schématique, à faible grossissement, des échelles d'évaluation de la taille des myoskhènes et de l'importance de leur périmysium

FIG. 1. — *Section transversale du muscle semi-tendinosus de Bovin (Bos Taurus)*
Veau Charollais de 3 mois

FIG. 3. — *Section transversale de muscle Rhomboïdeus de Bovin (Bos Taurus)*
Taurillon Limousin x Charollais de 9 mois

La figure 2 donne, à titre d'exemple, une illustration schématique des échelles d'évaluation de la taille des myoskhènes et de l'importance de leur périnysium retenues dans une étude comparative de muscles de porcins de 100 kg de poids vif. La figure 3 (*Rhomboideus*) montre les limites de la signification qu'il faut accorder à la notion de « moyenne de dimension » et d'« importance du périnysium » dans un muscle donné. Malgré le caractère subjectif de l'appréciation de ces facteurs, l'expérience pratique nous a montré l'utilité de cette méthode dans des tests de comparaison (BOCCARD *et al.*, 1967).

FIG. 4. — Partie du matériel histologique nécessaire pour obtenir de grandes surfaces musculaires.

Le degré de structuration est une notion plus facilement quantifiable dans la mesure où on peut le définir à partir de la moyenne des numéros d'ordre de n myoskhènes d'un muscle donné. Ainsi, par exemple, dans le cas de l'étude comparative des muscles de porcs déjà mentionnée, le degré de structuration du muscle *Teres major* s'établissait pour 32 myoskhènes à 4,37 avec la répartition suivante des numéros d'ordre :

	Nombre
Myoskhènes d'ordre 5	18
— 4	8
— 3	6

pour un total de 87 faisceaux primaires, d'ordre 1.

Un mode plus rapide d'estimation — mais moins précis — de la structuration peut consister à déterminer le nombre d'ordre existant dans un myoskhène donné par appréciation du nombre des divers types de périmysium qu'il renferme. Pour cela on considère, à l'intérieur du myoskhène, d'abord le périmysium délimitant un faisceau d'ordre $n - 1$, puis à l'intérieur de ce faisceau le périmysium délimitant un faisceau d'ordre $n - 2$, etc. En fin de comptage, on aboutit à un dernier type de périmysium qui correspond à l'enveloppe conjonctive d'un faisceau primaire. Le nombre de différents types de périmysium rencontrés indique l'ordre du myoskhène. En répétant cette estimation sur une dizaine de myoskhènes différents et en retenant la moyenne, on obtient une approximation suffisante du degré de structuration du muscle considéré.

Finalement, les valeurs attribuées par la méthode que nous proposons aux 3 paramètres des myoskhènes — taille, importance du périmysium et degré de structuration — d'un muscle donné, permettent selon nous une description satisfaisante de la structure de ce muscle.

Il est bon de rappeler, en outre, que la technique d'obtention de sections de muscle de grande surface permet de déterminer également le nombre des fibres musculaires de chaque faisceau primaire.

Le traitement statistique qu'autorise la quantification de ces différents caractères devrait offrir des perspectives intéressantes pour la connaissance du déterminisme biologique et des conséquences technologiques du développement musculaire des animaux domestiques.

Reçu pour publication en août 1968.

SUMMARY

METHODS OF ANALYSIS FOR MUSCULAR STRUCTURE

The current paper describes a method for studying the structure of muscular tissue, according to the arrangement of the various kinds of bundles. The technique (table 1) allows to obtain thin cuts (10 to 15 μ) from a large area (up to 400 cm²). After freezing, the muscle is fixed in a magnetic-fanned mixture of absolute alcohol, acetic acid and chloroform. After alcohol washing, the muscle is impregnated in glycerin and included under partial vacuum.

The practical difficulties of the technique and their possible solutions are described in table 2.

On the other hand, it is suggested to describe the texture of muscles according to the characteristics of muscular structure units termed « Myoskhènes ». These units can be defined starting from the reticulum of connective tissue sheathing some bundles, as it can be seen at very low magnification ($\times 4$) (fig. 1). The average size of « myoskhènes », the importance of their perimysium, the type and number of fiber bundles they include, appear to be the most relevant criteria to quantitatively define muscular structure. Methods for judging these characteristics are proposed either subjectively (fig. 2) for the size of myoskhènes and perimysium, or objectively for the arrangement of different kinds of fiber bundles, which are in relation with the structuration degree of the muscle.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOCCARD R., DUMONT B.-L., SCHMITT O., 1967. Note sur les relations entre la dureté de la viande et les principales caractéristiques du tissu conjonctif. *13^e Réunion des Instituts de Recherches sur les Viandes*. Rotterdam, 1967 (23 p.).
- BOURGELAT C., 1797. *Éléments de l'art vétérinaire*. Librairie vétérinaire de la citoyenne Huzard, Paris.
- DUMONT B.-L., PARIS J., 1959 a. Application des méthodes de coloration différentielle du tissu musculaire

et du tissu conjonctif aux travaux de recherches sur la Viande. *5^e Réunion des Instituts de Recherches sur les Viandes*. Paris (14 p.).

DUMONT B. L., PARIS J., 1959 *b*. Étude critique de différents fixateurs du tissu musculaire. *5^e Réunion des Instituts de Recherches sur les Viandes*. Paris (12 p.).

LEPLAT G., 1939. In *Précis de Microscopie* de M. Langeron, Masson Éditeurs, Paris, 1949.

LIISBERG M. F., 1966. A new and easy staining method for collagen and reticular fibres. *Acta Anat.*, **85**, 308-314.

WALLS E. W., 1960. The microanatomy of muscle, in *The structure and function of muscle*, Academic Press, New York.