

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE -ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

**PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

THEME

**ESSAI DE DETERMINATION DES MODIFICATIONS
HISTOLOGIQUES QUI SURVIENNENT DANS LES
MYOTOME DE LA CHAIR DE LA SARDINE à L'ETAT
CONGELE**

**Présenté par : Mr HACID ADEL
Mr ZOUID WALID**

Soutenu le : 07 / 07 / 2006

Le jury

Président : Dr HAMDI. M (Maitre de conférence à l'ENSV)

Promoteur : Dr ZOUAMBI. A (Maitre assistante classe A à l'ENSV)

Examineur : Dr MOKRANI (Maitre assistante classe A à l'ENSV)

Examinatrice : Dr ZENIA (Maitre assistante classe A à l'ENSV)

Année universitaire : 2010/2011

Remerciements

Louange à Dieu, le miséricordieux, sans Lui rien de tout cela n'aurait pu être,

À travers ce mémoire, nous tenons à exprimer tous nos remerciements et toute notre gratitude à tous ceux qui nous ont aidé à mener ce modeste travail à terme.

- Au Docteur HAMDI M. Maître de conférence à l'ENSV., de nous avoir honoré en acceptant la présidence de ce jury de notre projet fin d'études.

Qu'il trouve ici l'expression de notre respect.

- À Madame ZOUAMBI-DJHMANE A. notre promotrice Maître assistante classe A à l'ENSV., nous la remercions pour avoir proposé ce thème, dirigé notre travail et son aide précieuse, son amabilité, ses encouragements et ses conseils qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire.

Qu'elle trouve ici l'expression de toute notre

gratitude et notre profond respect.

- Au Dr MOKRANI. Maître assistante classe A à l'ENSV. et au Dr ZENIA. Maître assistante classe A à l'ENSV. d'avoir fait partie de ce jury et leurs bienveillances quant à l'examen de ce travail. D'autant plus que le délai accordé pour la lecture fut très limité.

Qu'elles trouvent ici l'expression de notre profond respect.

- Nous remercions vivement les personnels de la salle d'informatique surtout Mr FAOUZI.

- Nous remercions également Mr TOUFIK TATA pour tout son aide.

- Nous tiendrons à remercier beaucoup Mr KADOUR pour son aide et son savoir qu'il n'hésite pas à nous donner sans limite.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont encouragé tout au long de notre parcours et ceux qui ont contribué à notre formation mais que nous n'avons pas cités.

Dédicaces

Je dédie ce travail...

A, mon père et à ma très chère mère qui m'ont chaleureusement aidé,

*Plus spécialement à mon grand frère KRIMO qu'il trouve mon
profond respect,*

*A mes frères WALID, RAFIK et mes deux sœurs qui ont su me
donner de précieux conseils et aider dans les moments difficiles,*

A toute la famille HACID,

A, mon professeur préférée Dr AIT-OU DHIA. K

*A, tous mes amis de la cité universitaire salahif surtout TAREK,
AISSA, HAMZA, KASK, SID ALI, AMINE, KAMEL,
MOBAREK...*

*A, mes camarades SETSIVERG ← qui ont tant donné pour que
nous achevions notre but,*

A, groupe GLJ et surtout AMI AHMED et AMI MOUNIR

A tous ceux que j'aime.

ADEL

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents, pour leur amour, leur dévouement
et leur soutien*

tout au long de ces longues années d'études.

A mes chers frères et à mes chères sœurs

A ma grande famille

A tous mes amis

A mon allié du mémoire Adel et leurs famille

A toute la promotion vétérinaire

2010-2011

Walid

Sommaire :

Introduction :	1	
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE		
Généralité sur la sardine.....	2	
Chapitre 1 : muscle de poisson		
I. Généralité sur le muscle :	3	
I.1. Le muscle squelettique :	3	
I.2. Les fibres musculaires :	3	
I.3. La case musculaire :	4	
II. Structure de muscle squelettique du poisson :	5	
II.1. Muscle squelettique du poisson :	5	
II.2. Les myoseptes conjonctifs.....	6	
II.3. Diversité des fibres musculaires chez les poissons.....	6	
II.3.1. Les fibres musculaires blanches:.....	6	
II.3.2. Les fibres musculaires rouges :	6	
II.3.3. Les muscles dits grands latéraux :	7	
II.3.4. Les muscles commandant les nageoires :	7	
II.3.5. Muscles intermédiaires :	7	
II.3. Composition chimique :	8	
II.4. Caractéristiques morpho métriques.....	9	
Chapitre 2 : la congélation des poissons		
I. Définition.....	11	
II. Moyens et techniques pour la congélation du poisson.....	11	
II.1. Congélation dans l'air refroidi.....	11	
II.2. Congélation par contact sur serpentins ou sur plaque refroidies.....	12	
II.3. Congélation en saumure.....	13	
III. Moyens et techniques pour la décongélation du poisson		
III.1. Décongélation à l'air.....	13	
III.2. Décongélation sur glace.....	14	
III.3. Décongélation dans l'eau.....	14	
IV. Altération auxquelles est exposé le poisson pendant la congélation :		14
IV.1. Altération histologiques :	14	
IV.1.1. Poissons congelés dans l'air refroidi.....	16	
IV.1.2. Poissons congelés dans la saumure.....	17	
IV.1.3. Poissons congelés et emmagasinés.....	19	
IV.1.4. Poissons décongelés à l'air.....	19	
IV.1.5. Poissons décongelés dans l'eau.....	21	
IV.1.6. Poissons congelés, décongelés et recongelés.....	23	
IV.2. Altération physique :	24	
IV.3. Altérations chimiques :	24	
IV.4. Altérations microbiologiques :	25	
IV. 5. Mécanisme génétique des lésions histologiques :	25	

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Objectif.....	26
II. matériel et méthode.....	
II.1. Échantillonnage.....	27
II.1.1. Classification du poisson utilisé.....	27
II.1.2. Mode d'échantillonnages.....	27
II.1.3. Techniques de prélèvement.....	28
II.2. Préparations des lames histologiques (voir diagramme N°).....	29
II.2.1. La préparation des tissus.....	29
II.2.2. Coloration topographique à Hématéine Eosine.....	29
II.2.2.1. Principe.....	29
II.2.2.2. Réactifs.....	29
II.2.2.3. Mode opératoire.....	29
II.2.2.3.1. Déparaffinage.....	29
II.2.2.3.2. Hydratation.....	29
II.2.2.3.3. Coloration.....	29
II.2.2.3.4. Déshydratation.....	30
II.2.2.3.5. Eclaircissement.....	30
II.2.2.3.6. Montage.....	30
II.3. Observation.....	33
II.4. Analyses d'images.....	33
III. Exploitation et traitement des données.....	33
III.1. Exploitations des lames.....	33
III.2. Traitements des données et étude statistique.....	34
III.3. Résultat et discussion.....	35
IV. Etude des variations morphométrique.....	39
IV.1. Etude des variations morphométrique du muscle rouge.....	39
IV.1.1. Test de normalité pour les diamètres du muscle rouge (mr) :.....	39
IV.1.2. Statistique descriptive:.....	40
IV.1.3. Comparaison des diamètres moyens du muscle rouges.....	40
IV.1.3.1. Comparaison des moyennes rmT_0 ; rmT_1	40
IV.1.3.2. Comparaison entre les moyennes rmT_0 ; rmT_2	40
IV.1.3.3. Comparaison entre les moyennes rmT_0 ; rmT_3	41
IV.1.3.4. Comparaison entre les moyennes rmT_1 ; rmT_2	41
IV.1.3.5. Comparaison entre les moyennes rmT_1 ; rmT_3	41
IV.1.3.6. Comparaison entre les moyennes rmT_2 ; rmT_3	41
IV.1.4 Evolution du diamètre du muscle rouge en fonction du temps.....	41
IV.1.5. Discussion : muscle rouge.....	42
IV.2. Etude des variations morphométrique du conjonctif qui entour le muscle rouge.....	42
IV.2.1. Test de normalité pour l'épaisseur du conjonctif qui sépare les fibres du muscle rouge (cj) :.....	42
IV.2.2. Statistique descriptive: cjT_0 ; cjT_1 ; cjT_2 ; cjT_3 (voir en annexes tableaux des données).....	43
IV.1.3. Comparaison des diamètres moyens du muscle rouges.....	43
IV.1.3.1. Comparaison des moyennes cjT_0 ; cjT_1	44
IV.1.3.2. Comparaison des moyennes cjT_0 ; cjT_2	44
IV.1.3.3. Comparaison des moyennes cjT_0 ; cjT_3	44
IV.1.3.4. Comparaison des moyennes cjT_1 ; cjT_2	44
IV.1.3.5. Comparaison des moyennes cjT_1 ; cjT_3	44
IV.1.3.6. Comparaison des moyennes cjT_2 ; cjT_3	45
IV.1.5 Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps.....	45
IV.3.5. Discussion : épaisseur du conjonctif.....	45
IV.4. Evolution de l'ensemble des structures histologiques étudiées en fonction du temps.....	46
V. Discussion générale :.....	46
VI. Conclusion et Perspective :.....	50

Liste des figures :

Chapitre 1 : muscle de poisson

- Figure n°1** : disposition des principaux constituants d'un muscle squelettique.
Figure n°2 : Coupe transversale montre un muscle constitué de nombreux petits faisceaux.
Figure n°3 : une fibre musculaire.
Figure n°4 : disposition des myofilaments dans le sarcomère.
Figure n°5 : Forme des myotomes chez le saumon.
Figure n°6 : muscle rouges et muscle blanc.
Figure n°7 : structure générale.
Figure n°8 : Localisation des différents types de fibres musculaires

Chapitre 2 : congélation de poisson

- Figure n° 1**: Congélation dans l'air refroidie.
Figure n° 2: Congélation par contact sur serpentins.
Figure n° 3: Congélation par contact sur plaques refroidies.
Figure n° 4: Congélation en saumure.
Figure A1: Coupe longitudinale du muscle de poisson frais.
Figure A2: coupe transversale de muscle de poisson frais.
Figure n° 5: transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi.
Figure n° 6: Coupe longitudinale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi.
Figure n° 7: Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans la saumure.
Figure n° 8: Coupe longitudinale de muscle de poisson congelé dans la saumure.
Figure n° 9: Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi et décongelé à l'air.
Figure n° 10: Coupe longitudinale d'un muscle de poisson congelé à l'air froid.
Figure n° 11: Coupe longitudinale et transversale d'un muscle de poisson congelé dans la saumure et décongelé dans l'air.
Figure n° 12: Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi et décongelé dans l'eau.
Figure n° 13: Coupe transversale d'un muscle de poisson congelé dans la saumure et décongelé dans l'eau.
Figure n° 14: Coupe transversale et longitudinale d'un muscle congelé dans la saumure, décongelé dans l'eau et recongelé dans la saumure.
Figure n° 15: Coupe longitudinale d'un muscle congelé dans la saumure, décongelé dans l'eau et recongelé dans la saumure.

Liste des tableaux :

- Tableau n°1** : Principaux composants (en pourcentage) des muscles de poisson.
Tableau n°2 : Quelques caractéristiques morpho métriques des fibres de la musculature axiale des poissons adultes.
Tableau n°3 : Quelques caractéristiques morpho métriques des fibres de la musculature axiale des poissons adultes.

Partie expérimentale

Liste des figures et photos

- Figure n°a** : technique de prélèvement du coupe
Figure n°b: Coupe transversale du muscle de la sardine
Figure n°c : mode opératoire
Figure n°d : mode opératoire suit
Photo n°1 : aspect des myotomes rouge après congélation (10J) T1 coloration HE Gx40
Photo n°2 : aspect des myotomes rouge avant congélation (10J) T1 coloration HE Gx40
Photo n°3 : aspect des myotomes rouge avant congélation (10J) T1 coloration HE Gx40
Photo n°4 : aspect des myotomes rouge avant congélation (10J) T1 coloration HE Gx40

Photo n°5 : aspect des myotomes rouge avant congélation (10J) T1 coloration HE Gx40

Photo n°6 : cristaux formés au cours de la congélation à Gx10 et Gx4 lot T2

Photo n°7: cristaux formés au cours de la congélation à Gx10 et Gx4 lot T2

Photo n°8: l'hypertrophie des fibres et leur désorganisation constatant les noyaux dans le conjonctif lot T2

Photo n°9: des myotomes détruit probablement par les cristaux d'eau lot T2

Liste des graphes

Graphe n°1: pour la distribution des mesures de poids

Graphe n°2: pour la distribution des mesures de taille

Graphe n°3: La comparaison entre le lot T 1 et le lot T2 (taille)

Graphe n°4: La comparaison entre le lot T 1 et le lot T3 (taille)

Graphe n°5: La comparaison entre le lot T 2 et le lot T3 (taille)

Graphe n°6: La comparaison entre le lot T 1 et le lot T2

Graphe n° 7: La comparaison entre le lot T 1 et le lot T3

Graphe n° 8: La comparaison entre le lot T 2 et le lot T3

Graphe n° 9: Test de normalité pour les diamètres du muscle rougeT0

Graphe n°10 : Test de normalité pour les diamètres du muscle rougeT1

Graphe n° 11: Test de normalité pour les diamètres du muscle rougeT2

Graphe n° 12: évaluation du diamètre du muscle rouge en fonction du temps

Graphe n°14 : Test de normalité pour les diamètres du tissu conjonctif

Graphe n°15 : Test de normalité pour les diamètres du tissu conjonctif

Graphe n°16 : Test de normalité pour les diamètres du tissu conjonctif

Graphe n°17 : Test de normalité pour les diamètres du tissu conjonctif

Graphe n°18 : Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps

Graphe n°19 : Evolution de l'ensembles des structures histologiques étudiées en fonction du temps

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Evolution du diamètre moyen des fibres rouge en fonction du temps

Tableau n°2 : Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps.

Liste des abréviations

T : variation du temps

T0 : le 1^{er} lot c'est le témoin

T1 : le 2eme lot congelé pendant 10j

T2 : le 3eme lot congelé pendant 25j

T3 : le 4eme lot congelé pendant 30j

Ktab : coefficient de Kolmogorov-Smirnov

Ks : coefficient de Kolmogorov-Smirnov sur le graphe

Ho: hypothese nulle

P-Value:

mrT0: muscle rouge dans la variation du tempsT0

cjT0: moyenne des distances entre les fibres rouges en temps T0

cjT1: moyenne des distances entre les fibres rouges en temps T1

cjT2: moyenne des distances entre les fibres rouges en temps T2

cjT3: moyenne des distances entre les fibres rouges en temps T3

um: micrometre

Introduction

Le marché national connaît de nos jours un engouement important pour les denrées congelées issue de la pêche, et ceux pour de multiples raisons à savoir, sa forte demande, et son prix plus ou moins abordable par rapport aux produits carnés.

D'autres facteurs sont aussi misent en cause : la démographie galopante et le souci d'assurer une ressource protéique pour la population.

La conservation du poisson devient ainsi le cheval de bataille en industrie de la pêche, malgré la rareté de cette denrée et sa menace d'extinction.

Cependant l'utilisation de ces produits congelés demande la maîtrise des règles du conditionnement et de la conservation sous froid ainsi que le respect des conditions d'hygiène afin que le produit puisse garder autant que possible sa qualité et sa salubrité.

De ce fait, chaque avancée scientifique, chaque acquisition de connaissance nouvelle sur la structure du tissu musculaire, les mécanismes biochimiques, le comportement microbiologique, qui est spécifique aux muscles de poisson, vont avancer à grand pas la maîtrise de la conservation de cette denrée alimentaire.

Très tôt les chercheurs tel que le *Pr. guiseppe penso*, en 1953 ont décomposé le processus de conservation par la congélation en ses trois phases constitutives : congélation, stockage et, décongélation. Ils ont également défini, pour chacune de ces phases, les conditions causant le minimum de modifications de manière à rester au plus près des caractéristiques du produit initial c'est-à-dire l'état frais et subir le minimum de dommages. Cependant une récente enquête a été identifiée par le service d'hygiène sur des pêcheurs qu'ont importé la sardine au-delà des payés voisins, et ils ont la mise en marché à l'état décongelé.

Notre présent travail vise à détecter les modifications de l'aspect des myotomes de la chair de poisson lors du phénomène de congélation par analyse histologique de coupe de muscle en utilisant la morphométrie comme méthode d'analyse.

Le choix de la sardine dans notre exemple de poisson nous a été dicté par le fait qu'elle est le poisson le plus consommé par la population, sa disponibilité dans le marché, et surtout son prix.

Notre travail est basée sur la détermination des critères de qualités de la **chair** de *sardina pilchardus*; en ayant recours au laboratoire d'histologie ; dans l'espoir de trouver un moyen rapide, facile, et qui nécessite peu de moyens à coté du lourd et coûteux matériels qu'utilise le laboratoire de physicochimie ; et la lenteur des techniques utiliser en laboratoire de microbiologie.

Les recommandations et les objectifs qui émergeront de notre travail seront liés aux résultats obtenus, puisque notre tentative d'analyse histologique dans le monde de la qualité agroalimentaire, reste parmi les axes les moins prospectés.

Généralité sur la sardine :

Histoire :

La **sardine** (*Sardina pilchardus*) est un poisson de la famille des Clupeidae, qui comprend également le hareng, l'alose. Selon la région géographique, elle est appelée célan , célerin, pilchard, sarda, sardinyola.

- Son nom provient de la Sardaigne car les Grecs avaient remarqué qu'elle abondait dans ses eaux côtières. Ce n'est pas une espèce considérée comme menacée, mais suite à une *surpêche* (surexploitation de la ressource) elle a fortement régressé dans une grande partie de son aire de répartition où elle a été très abondante jusqu'au début du XX^e siècle (en Baie de Douarnenez en France par exemple où elle a fait vivre plusieurs milliers de pêcheurs et ouvrières de conserveries.. La régression des sardines a des impacts sur les réseaux trophiques (chaines alimentaires) et la structure des écosystèmes. Elle pourrait contribuer à l'extension des zones marines mortes. Inversement, certains scientifiques pensent que restaurer leurs populations pourrait contribuer à améliorer l'état des eaux, et notamment limiter les émissions de méthane (puissant gaz à effet de serre) des zones très dégradées (dystrophisées) (Walbaum, 1792)

Description

Mesurant au plus une vingtaine de centimètres de long, la sardine possède un ventre argenté et un dos bleuté. Elle se caractérise par :

- un opercule strié,
- des caches sombres sur le dos,
- une carène ventrale peu aigue,
- des écailles sessiles,
- les deux derniers rayons de l'arête anale plus longs. (Walbaum, 1792)

Lieux de vie, et lieux de pêche

Ce poisson vit :

- en Méditerranée où il est le second poisson le plus pêché (16 %) parmi les « petits pélagiques » (qui constituent 50 % de la pêche totale. *
- dans presque tout l'Atlantique nord, de l'Irlande jusqu'aux Açores, en zone tropicale (devant le Sénégal et la Mauritanie) et entre les côtes Atlantique Marocaine et Européenne en zone pélagique côtière de 15 à 35 m de profondeur.

Mode de vie

Il évolue au large, au sein de bancs parfois très compacts, entre 10 et 50 mètres sous la surface.

La reproduction a lieu en haute mer et peut advenir toute l'année, avec une période maximale en fin d'automne et début d'hiver au large de l'Afrique. Au large de l'Afrique, la reproduction semble maximale de novembre à février. Dans cette zone la maturité sexuelle semble atteinte à $16,3 \pm 0,31$ cm pour les mâles et à $17,5 \pm 0,35$ cm pour les femelles qui se reproduisent dans une eau dont la température est de $16,3^{\circ}\text{C}$ à $18,9^{\circ}\text{C}$ (avec certaines variations annuelles). . (Walbaum 1792)

La sardine se nourrit de plancton, d'œufs et de larves de crustacés. . (Walbaum 1792)

Généralité sur le muscle squelettique :

Le muscle squelettique :

Les cellules musculaires individuelles (fibres musculaires) sont regroupées en faisceaux allongés, parfois appelés fascicules ; un délicat tissu de soutien, l'**endomysium**, occupe les espaces libres situés entre les fibres.

Chaque faisceau musculaire est entouré par un tissu collagène lâche le **pérmysium**. la plupart des muscles sont constitués de nombreux faisceaux et la masse musculaire dans son ensemble est revêtue d'une épaisse gaine de tissu conjonctif dense appelée **épimysium**. (Atlas d'histo fonct de Wheeler, 2003).

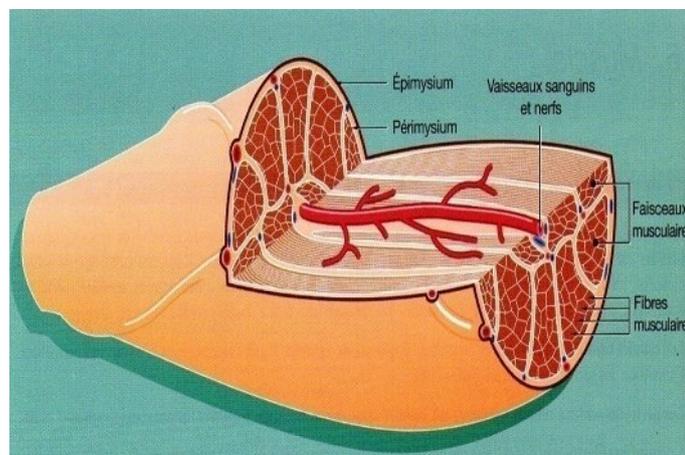


Figure 1. disposition des principaux constituants d'un muscle squelettique (Atlas d'histo fonct de Wheeler, 2003).

Les fibres musculaires :

Les fibres musculaires sont des cellules cylindriques non ramifiées extrêmement allongées, contenant de nombreux noyaux aplatis situés à intervalles réguliers juste en dessous de **sarcolemme** (membrane plasmique).

Chaque fibre musculaire renferme de nombreux noyaux disposés à sa périphérie. (Atlas d'histo fonct de Wheeler, 2003).

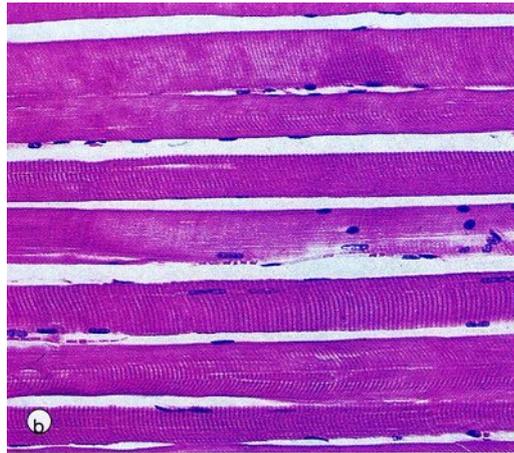


Figure 2. coupe transversale montre un muscle constitué de nombreux petits faisceaux (Atlas d'histo fonct de Wheater, 2003).

L'existence de striations régulières transversales est une caractéristique importante des fibres musculaires squelettiques sur certaines préparations. Les protéines contractiles de chaque cellule musculaire se présentent sous forme de longues structures cylindriques, **les myofibrilles**, disposées parallèlement les unes aux autres dans le sarcoplasme. (Histo fonct Wheater, Durkitt, Daniel, 2003).

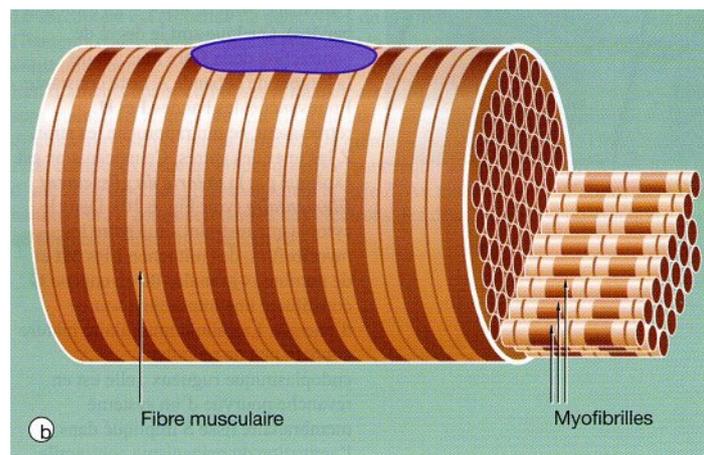


Figure 3. un fibre musculaire (Atlas d'histo fonct de Wheater, 2003).

La case musculaire :

La disposition régulière des protéines contractiles dans chaque myofibrille est responsable de la striation transversale observée en microscope électronique.

La striation est constituée de l'alternance de **bandes claires I** et de **bandes A**. de fines lignes sombres appelées **striés Z** (de l'allemand Zwischenscheiben) subdivisent en deux chaque bande claire I.

Chaque myofibrille possède une sériation transversale régulière bien visible, alignée avec celle des autres myofibrilles, correspond aux bandes I, A et Z en microscope optique les strie

La bande sombre A est divisée en deux parties égales par une bande claire, **la bande H** (de l'allemand Heller) elle-même partagée en deux par une ligne plus dense, **la ligne M**. (Atlas d'histo fonct de Wheater, 2003).

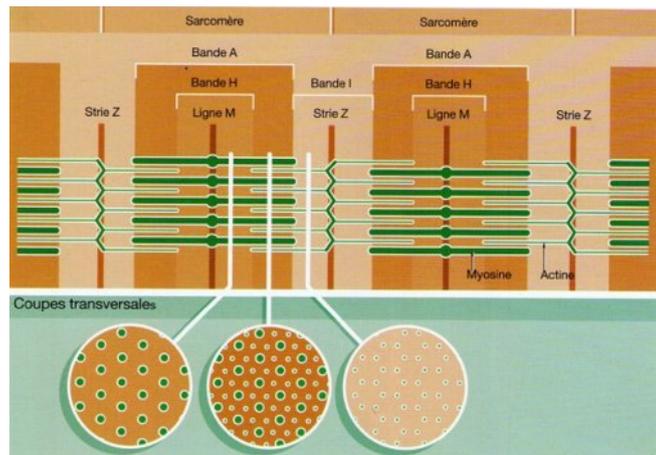


Figure 4. disposition des myofilaments dans le sarcomère (Atlas d'histo fonct de Wheater,2003).

Structure de muscle squelettique du poisson :

Muscle squelettique du poisson :

Chez les poissons, le tissu musculaire occupe une part plus importante de la masse corporelle que chez les autres vertébrés. Les muscles locomoteurs axiaux représentent 40 à 60 % de la masse corporelle totale des poissons adultes. Ces muscles sont segmentés en myotomes qui ont la forme de W et qui s'emboîtent Les uns dans les autres (figure 1). Les myotomes sont délimités par des myoseptes conjonctifs dans lesquels les fibres musculaires s'insèrent. L'orientation des fibres dans les myotomes est complexe et varie à la fois selon l'axe longitudinal du poisson et selon la distance depuis la colonne vertébrale (Alami-Durante et Rescan, 2003). En général, les fibres superficielles sont parallèles à l'axe du corps alors que les fibres profondes forment des angles pouvant atteindre 40° avec l'axe longitudinal du poisson (Alexander 1969).

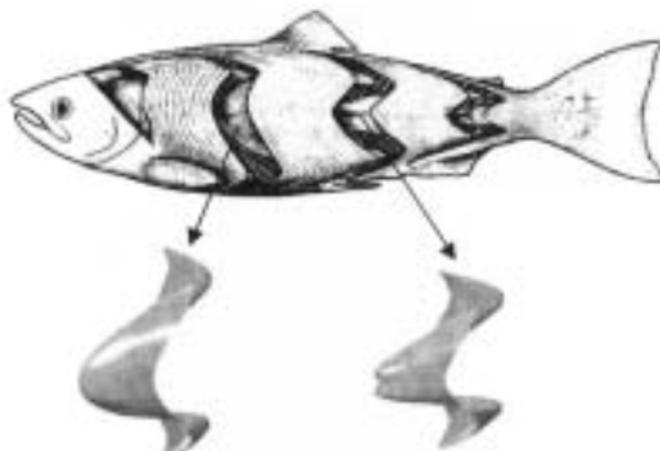


Figure 5. Forme des myotomes chez le saumon (D'après Van Leeuwen 1999).

Myoseptes conjonctifs :

Comparé aux animaux à sang chaud, chez les poissons, la proportion du tissu musculaire est nettement plus importante que le tissu conjonctif (Dryer W.J, et al.1979 ; Sainclevier M 1983). Mais il est plus uniformément réparti dans le massif musculaire. Cependant, les teneurs en tissu conjonctif varient en une formation musculaire à une autre (Sainclevier M 1983). A titre d'exemple ; il est plus abondant autour des fibres dans le muscle rouge que le muscle blanc (love R M et al. 1969 ; Sikoredki Z E. 1980)

Le tissu conjonctif forme une charpente, sur laquelle se fixe le muscle d' bout à l'autre. De ce réseau, se détachent des travées divisant le muscle en lamelles et les lamelles en fibres. Il est constitué de fibres de collagènes et de réticulines agencées sous forme d'un réseau baignant dans une substance fondamentale (Bermer A, 1986 ; Dunajunski, 1979).

Diversité des fibres musculaires chez les poissons :

Les différents types de fibres musculaires qui existent dans la musculature myotomale des poissons adultes occupent des positions anatomiques distinctes. Chez de nombreux poissons, une couche superficielle de **fibres rouges** recouvre une masse importante de **fibres blanches**, la proportion de ces deux types de fibres variant suivant les espèces (Bone 1978). Chez la plupart des poissons téléostéens, les fibres rouges et blanches sont séparées par une zone intermédiaire (fibres roses), qui varie suivant les espèces à la fois en épaisseur et en types de fibres (Mascarello *et al* 1986)

Les fibres musculaires blanches:

Les plus grands diamètres de fibres sont observés dans le muscle blanc. Dans ce muscle, la distribution des diamètres des fibres est plus étendue chez les poissons de taille adulte importante (carpe) que chez les poissons de taille adulte réduite (guppy). Les fibres musculaires blanches ont un volume de myofibrilles supérieur à ceux des fibres musculaires rouges. (Barany, 1967).fig 6

Les fibres blanches des poissons permettent les mouvements de nage rapide grâce à leur vitesse de contraction élevée et à leur orientation au sein du muscle blanc (Rome *et al* 1988).

Les fibres musculaires rouges :

Ils sont communément appelés muscle rouge bien qu'ils présentent une coloration rouge due à la richesse en myoglobine.

Ils se situent sous la peau, sur les flancs le long des deux lignes médianes latérales.

Ils sont caractéristiques des téléostéens ou ils sont nettement distincts, entre la peau et les grands latéraux. Fig 2

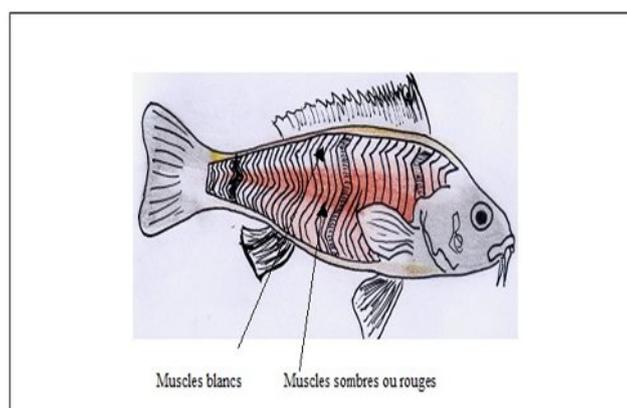


Figure 6 : muscle rouges et muscle blanc

Ils participent aux déplacements des poissons et en conséquence sont fortement vascularisés exemple chez le thon, 7 à 15 fois plus de sang que les grands latéraux.

Ce sont des muscles anatomiquement bien définis, ils forment en général une lame musculaire depuis la partie thoracique jusque vers la queue et présentent la même structure en feuillets que les muscles latéraux mais la structure des fibrilles qui les composent est différente (Sainclivier M 1983).

Les muscles dits grands latéraux :

Ce sont deux muscles en forme de fuseaux disposés le long et de chaque côté de la colonne vertébrale. Le nombre de myotomes constituant ces muscles correspond de vertèbres.

Leur forme est caractéristique de l'espèce de poisson et dépend aussi de son emplacement dans le muscle.

La structure est en relation avec la manière dont le poisson nage (Sainclivier M.1983).

Les muscles commandant les nageoires :

Contrairement à une opinion souvent répandue ils n'ont pas de rôle propulseur mais sont très actifs dans leur rôle stabilisateur et directionnel dans les trois déviations.

Ce sont essentiellement les muscles carénaux dorsaux et ventraux (supra et infracarénaux), et les muscles du complexe scapulaire ou coracoïde, enveloppés d'une gaine conjonctive identique à l'épimysium des mammifères, se prolongeant à l'intérieur par des septas conjonctifs à replis complexes spiralés donnant à ces muscles l'aspect des torons d'une corde (Sainclivier M, 1983). Fig 7

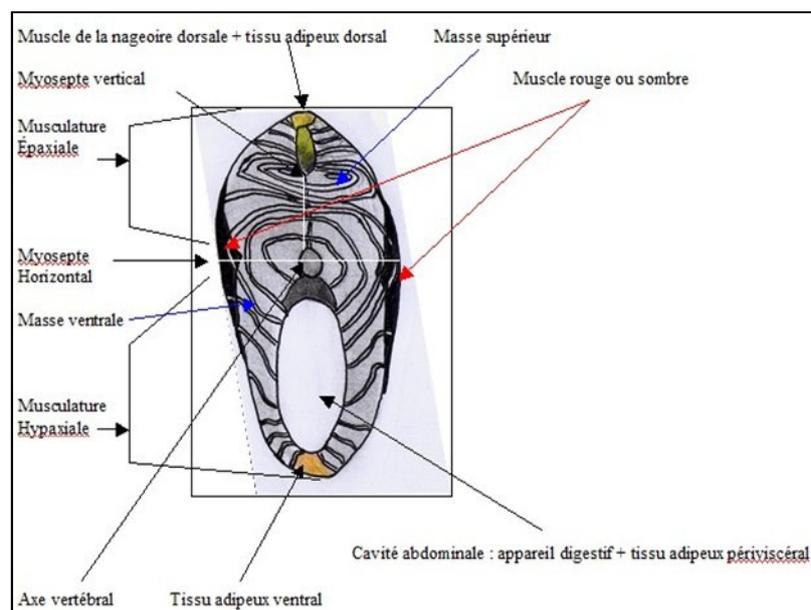


Figure 7: structure générale (Sainclivier M, 1983).

Muscles intermédiaires :

Chez la plupart des poissons téléostéens, les fibres rouges et blanches sont séparées par une zone intermédiaire (fibres roses), qui varie suivant les espèces à la fois en épaisseur et en types de fibres. A ces principaux types de fibres musculaires s'ajoutent, chez certaines espèces, d'autres types de fibres présents en petite quantité et situés sous les fibres rouges nous citerons une disposition chez le poisson zèbre et d'un cyprinidé (Mascarello *et al* 1986) (voir figure 8)

- Les fibres de bordure du muscle rouge situées entre les fibres rouges et les fibres intermédiaires (Van Raamsdonk *et al* 1980 et 1982),

- Les fibres toniques entre les fibres intermédiaires et les fibres blanches (Kilariski et Kozlowska ; 1985, Sanger *et al* 1988, Sanger *et al* ;1989, Stoiber *et al* 2002),
- Les fibres de la zone de transition sont dispersées dans les extrémités dorsale et ventrale du muscle blanc (Van Raamsdonk *et al* 1980, Van Raamsdonk *et al* 1982, Kilariski et Kozlowska 1985, Sanger *et al*1988 et 1989)

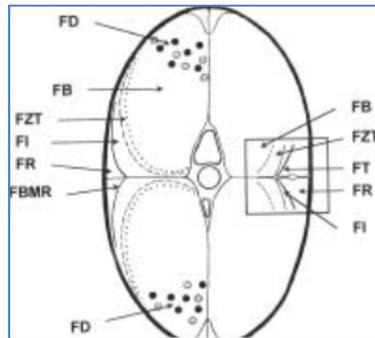


Figure 8 : Localisation des différents types de fibres musculaires. (Van Raamsdonk, . Al., (1980)

Figure8 . Localisation des différents types de fibres musculaires dans une section transversale de la région caudale du poisson zèbre (partie gauche du schéma) et de certains cyprinidés (rectangle dans la partie droite du schéma) FR : fibres rouges, FI : fibres intermédiaires, FB : fibres blanches, FBMR : fibres de bordure du muscle rouge, FT : fibres toniques, FZT : fibres de la zone de transition, FD : fibres dispersées. D'après Van Raamsdonk et al (1980) et Sanger et al (1988).

Composition chimique :

Les principaux composants des poissons et des mammifères peuvent être classés selon les mêmes catégories et le Tableau 1 donne des exemples des différences des composants des poissons.

Constituants	Minimum	Intervalle normal	Maximum
Protéines	6	16-21	28
Lipides	0.1	0.2-25	67
Hydrates de carbone		< 0.5	
Cendres	0.4	1.2-1.5	1.5
Eau	28	66-81	96

Tableau 1 : Principaux composants (en pourcentage) de muscle de poisson. Source : Stansby, 1962, Love, 1970

Caractéristiques morpho métriques :

Comme chez les mammifères, les techniques d’histologie quantitative permettent un classement des fibres musculaires selon la structure, la distribution et leurs diamètres.

Les diamètres les plus grands sont observés dans le muscle blanc. Dans ce muscle la distribution de diamètres de fibres est plus étendue. Voir tableau n° 2

Plusieurs critères et éléments histologiques peuvent faire l’objet d’études comparatives pour la détermination des espèces lors d’une inspection des filets de poissons. Les tableaux n°2 et 3 peuvent être utilisé comme model a réalisé lors d’études ultérieures.

Fibres musculaires	Blanches	Rouges	Intermédiaires Toniques	Espèces	Références in Alim et al ; (2003)
Diamètre (μm)	15-185	10-50	15-110	Morue	Korneliussen et al (1978)
	20-180	9-37	10-52	Carpe	Akster(1985) ;Koumans et al(1993)
	10-120	10-60	20-50	Cyprin doré	Tatarczuch et Kilarski (1982)
	48-72	21-46	10-39	Doche	Kilarqki et Kozłowska(1985)

Tableau N° 2: Quelques caractéristiques morpho métriques des fibres de la musculature axiale des poissons adultes. (Extrais du tableau d'Alami et al, 2003)

Caractères ultrastructuraux des muscles	Tailles des structures					Espèces	Référence in Alim et al ; (2003)
Volume des myofibrilles (%)	85	60	75	45		Chevaine	Sanger (1997)
Longueur des sarcomères (μm)	1,7	1,9	1,6	2,1	1,8	Loche	Akster(1985) ;Koumans et al(1993)
	47	54	50	2,1	59	Loche	
Epaisseur de la strie Z (nm)							Akster(1985) ;Koumans et al(1993)
	0,26	0,18	0,19	64		Perche	
Volume du tubule T	1,1	21,4	6,9	9,6		Chevaline	Sanger (1997)
Volume des mitochondries	93	0,9	0,4			Carpe	Akster(1985)
Volume du noyaux							Akster(1985)

Tableau 3 : Quelques caractéristiques morpho métriques des fibres de la musculature axiale des poissons adultes. (Extrais du tableau d'Alami et al, 2003).

Définition :

On appelle poisson congelé : lorsque le froid a provoqué la cristallisation de tous les sucs organiques extra et intracellulaires et dont le corps de l'animal s'est, par la suite, intégralement solidifier.

(*Giuseppe Penso, 1953*)

Pour congeler un poisson, il suffit de l'exposer à une température permettant d'obtenir la cristallisation de ses sucs, c'est à dire à une température inférieure à moins quatre degrés Celsius (-4°C), celle qui convient justement à la congélation.

Toutefois, on comprendra facilement qu'il faut, pour que le froid pénètre à l'intérieur du poisson et également afin d'accélérer l'opération, des températures plus basses.

Plus la température est basse, plus la congélation du poisson est rapide ; et le produit congelé sera d'autant meilleur que la congélation aura été plus rapide. (Plank, 1929)

Selon, Plank, 1929 On peut affirmer en règle générale, que la rapidité plus ou moins grande de la température s'obtient soit :

- 1^{er} cas : on abaissant toujours davantage la température du milieu ambiant,
- 2^{ème} cas on augmentant la surface des morceaux à congelés par rapport a leur poids,
- 3^{ème} cas on augmentant le coefficient d'échange de chaleur entre l'objet à congeler et le milieu ambiant.

Si l'on expose un poisson à une température ambiante très basse, c'est à dire le 1^{er} cas, une forte proportion d'eau se sépare par congélation de la substance colloïdale du plasma musculaire et l'on arrive ainsi à dépasser la limite de la réversibilité du phénomène, autrement dit l'eau ne regagnera plus le compartiment musculaire. Aussi pour assurer théoriquement une solidification des sucs du poisson, on doit descendre au dessous de -30° . (*Giuseppe Penso, 1953*)

La seconde solution, qui correspond au second cas, est difficilement applicable voire impossible. Elle a toutefois inspiré les techniciens dans la congélation des filets de poisson : ainsi la superficie du poisson découpé en filets augmente, tandis que le poids de chaque unité diminue. *giuseppe penso, 1953*

La troisième solution la plus utilisée, consiste à mettre en contact la matière à congeler et l'agent frigorifique. (*Giuseppe Penso, 1953*)

Moyens techniques pour la congélation du poisson :

Congélation dans l'air refroidi :

La congélation dans l'air refroidi se fait en exposant les poissons dans un milieu refroidi directement au moyen de serpentins ou par introduction d'air froid.

Dans l'un et l'autre cas les poissons sont d'ordinaire suspendus à des crochets et exposés ensuite à l'air froid (-25°C) pendant le temps nécessaire à leur congélation (congélation lente). Voir fig. 1

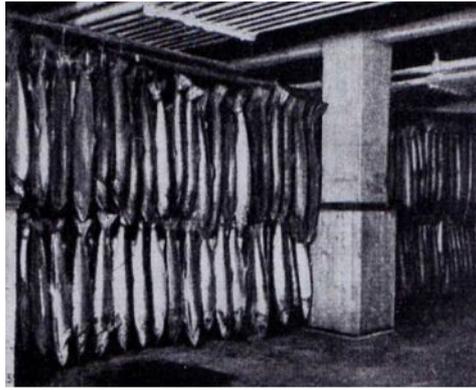


Figure 1 : *Congélation dans l'air refroidi : (Guiseppe Penso, 1953)*

Cette technique est très simple mais le temps relativement lent pour obtenir une congélation pourrait (Guiseppe Penso, 1953)

- augmenter les lésions histologiques
- engendrer une perte de poids du poisson, due à une importante évaporation de leurs sucs.
- dessèchement des tissus si l'air est trop sec;
- la formation des moisissures si l'air est trop humide.
- La perte de mucilage qui recouvre les poissons (valeur commerciale)

Congélation par contact sur serpentins ou sur plaques refroidies :

Elle se fait soit directement en déposant le poisson sur la surface froide, soit indirectement en l'enfermant dans des récipients déposés sur ces mêmes serpentins ou sur ces mêmes plaques.

Congélation par contact sur serpentins : disposer de serpentins construits de telle sorte qu'ils forment des surfaces horizontales de soutien. Fig 2

Quatre serpentins au moins, parallèlement disposés en forme d'hélice ou à l'aide d'un seul serpentin à courbures multiples.

La température varie entre -35°C et -20°C .

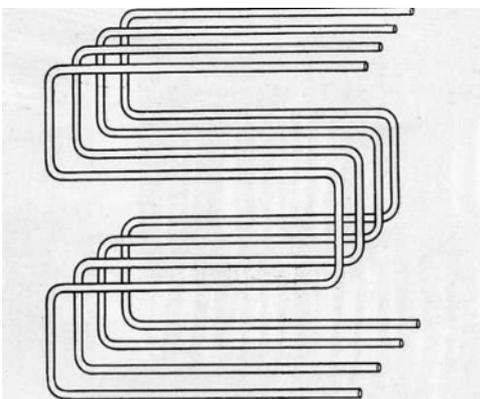


Figure 2 : *Congélation par contact sur serpentins : (Guiseppe Penso, 1953)*

Congélation par contact sur plaques refroidies : ce système n'est que l'évolution du système précédent. Les tubes de serpentin au lieu d'être libres sont enfermés entre deux plaques métalliques, qui adhèrent étroitement aux tubes eux-mêmes on augmente de cette façon la transmission du froid par conduction. Fig. 3

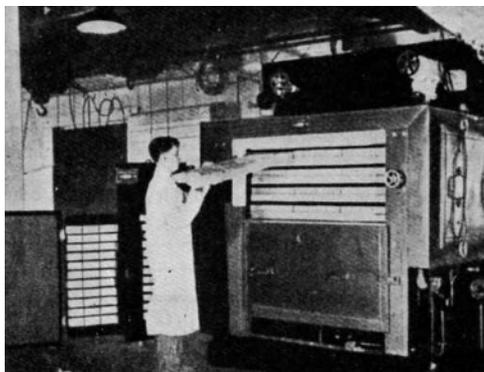


Figure 3 : *Congélation par contact sur plaques refroidies (Guisepe Penso, 1953)*

Congélation en saumure : il peut y avoir trois façons différentes : soit en plongeant directement le poisson dans la saumure, soit en l'exposant ou à une pluie ou à une pulvérisation de saumure également refroidie. fig 4

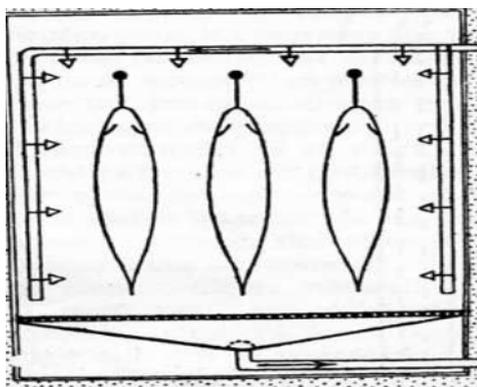
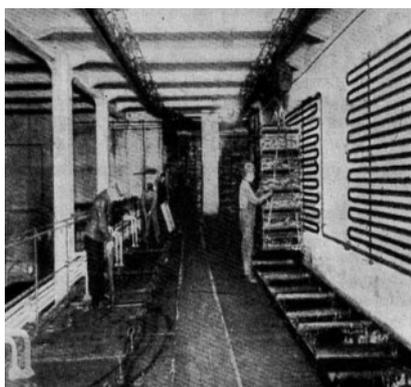


Figure 4 : *Congélation en saumure (Guisepe Penso, 1953)*

Moyens techniques pour la décongélation du poisson :

A) Décongélation à l'air

On opère la décongélation à l'air en laissant les poissons à la température ambiante sur un support quelconque. La surface froide du poisson provoque la condensation d'une vapeur aqueuse, qui est en partie absorbée par le poisson lui-même, si bien que celui-ci peut, suivant Taylor, gagner de 1 à 3 % en poids. Si le temps de congélation se prolonge, ce qui se produira pour les poissons de grande taille. On peut constater un écoulement de sucs décongelés et un dessèchement de la surface cutanée, ce qui donne au poisson décongelé une apparence désagréable et, comme l'affirment Plank, Ehrenbaun et Reuter (1916), peut même lui faire perdre du poids.

Pour pallier cet inconvénient, on peut décongeler le poisson dans une atmosphère refroidie; ce système n'est cependant pas très pratique, car il suppose que l'on dispose d'une chambre froide ou d'un réfrigérateur à température positive.

Pour décongeler un poisson à l'air et à la température ambiante (15⁰ C), il faut trente minutes pour les petits poissons du type sardine, une ou deux heures pour ceux allant de 500g à 1 kilo, deux à quatre heures pour les poissons de 1 à 3 kilos; douze heures environ pour les grands poissons que l'on vend par tranches. (*Guiseppe Penso, 1953*)

B) Décongélation sur glace

Marchis (1925), estime que la décongélation sur glace est la meilleure. Il conseille de déposer le poisson congelé sur un support, au-dessus d'un bloc de glace et de l'y laisser, il ne dit pas pendant combien de temps jusqu'à décongélation.

Fortuyn et van Driest (1920) conseillent au contraire de décongeler le poisson en le gardant sous de la glace pilée : la décongélation se produirait lentement, il faut vingt-quatre heures environ, et le poisson aurait le temps de s'imbiber d'eau et, de la sorte, de gagner du poids. Un long séjour sous la glace finit toutefois par altérer quelque peu le poisson, tant dans son aspect extérieur, que dans la consistance de ses chairs. (*Pr. guiseppe penso, 1953*)

C) Décongélation dans l'eau

La méthode la plus simple, pour une famille, et la plus rapide, est sans aucun doute celle de la décongélation en eau froide : avec ce système le poisson augmente de poids d'environ 10 %; il ne change pas d'aspect et a l'apparence, une fois la décongélation effectuée, d'un poisson qu'on vient de pêcher.

Une certaine quantité de substances solubles passent inévitablement dans l'eau : pour les réduire au minimum, il suffit d'ajouter à l'eau du sel de cuisine : 7‰ pour les poissons d'eau douce et 13 ‰ pour les poissons d'eau de mer (*Taylor, date*).

La décongélation dans l'eau demande très peu de temps : une heure environ, pour les poissons au-dessous de 1 kilo; deux heures, de 1 à 3 kilos; quatre à six heures pour les très gros poissons.

Du point de vue pratique, la décongélation dans l'eau est celle qui convient le mieux dans le cadre de la famille; du point de vue scientifique elle est également rationnelle, (*Guiseppe Penso, 1953*)

Altération auxquelles est exposé le poisson pendant la congélation :

Altération histologiques :

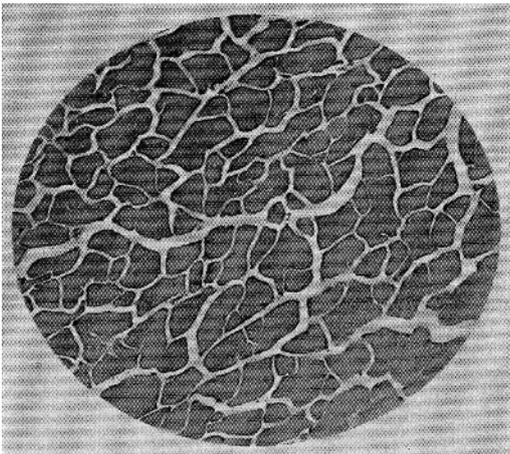
Le tissu musculaire des poissons congelés est exposé à de sérieuses lésions histologiques. Ces lésions ont été pour la première fois étudiées par Reuter (1916) qui les attribue à la formation des cristaux de glace à l'intérieur des fibres musculaires, cristaux qui seront d'autant plus gros que la congélation aurait été plus lente.

Par la suite, Weld (1927) a étudié la taille et la forme de ces cristaux en se basant sur des images négatives trouvées dans les muscles.

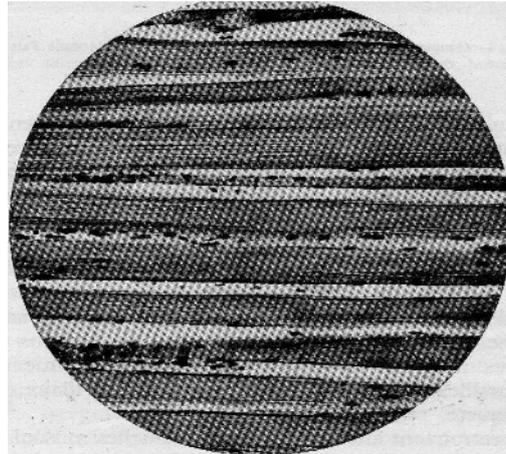
Vladikoff (1930) a basé lui aussi son étude sur l'existence hypothétique de ces cristaux ;

Kallert également (1931) qui a pleinement confirmé les observations de Reuter. Imbasciati ,(1939) enfin, en cherchant a déterminé expérimentalement un système rationnel de décongélation du poisson, affirme que les lésions histologiques se produisent surtout dans la décongélation et varient avec le type adopté.

La physique quant à elle nous apprend que, dans la décongélation d'un système colloïdal, on obtient des cristaux d'autant plus petits que le temps de congélation a été plus rapide. Ce principe général est également vrai pour la congélation des systèmes colloïdaux contenus dans les tissus musculaires : aussi est-il indiscutable, en théorie que les cristaux qui se forment dans les tissus pendant la congélation sont d'autant plus petits que la congélation a eu lieu plus rapidement.



A1: Coupe transversale du muscle de poisson frais (Pr. guiseppo penso, 1953)



A2 coupe longitudinale de muscle de poisson

Avant de décrire les altérations histologiques qui se produisent dans les muscles congelés, je rappellerai que, dans les poissons frais, les coupes transversales (fig. A1) de muscle normal, présentent leur disposition typique en mosaïque et leur regroupement en faisceaux primitifs, secondaires et tertiaires séparés du périnysium, presque toujours bien visible dans ses trois ordres; la section de chaque faisceau est uniforme et les myofibrilles sont intactes dans leur structure; les espaces inter-fasciculaires, larges et d'aspect normal. Dans les coupes longitudinales (fig.A2), les faisceaux musculaires se présentent comme de minces couches avec des noyaux marginaux; leur myolemme est bien visible et accolé comme un involucre à la fibre musculaire.

Décrivons maintenant les altérations histologiques que l'on constate dans les muscles des poissons congelés.

a) **Poissons congelés dans l'air refroidi.** — La caractéristique principale des lésions, c'est qu'elles ne sont pas uniformément distribuées sur toute la surface

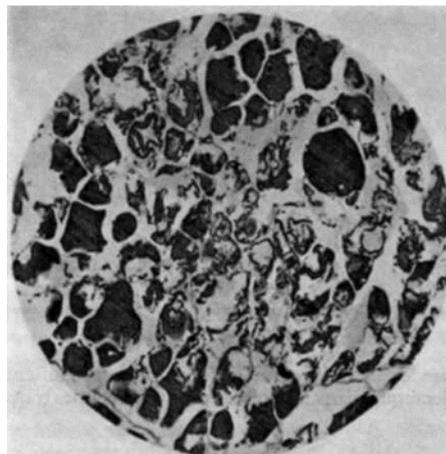


FIGURE 5: *transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi. Noter les fibres musculaires brisées et détruites.* (, Pr. Giuseppe Penso, 1953

de la coupe, mais que, tout en étant généralisées, elles se présentent en foyer de plus ou moins grande intensité, sans qu'il y ait de raisons locales apparentes pour trouver une explication logique à ce comportement différent des tissus devant la même cause.

Si l'on examine systématiquement (fig.5) une coupe transversale du muscle, on constate qu'à côté de certains faisceaux musculaires qui ne semblent pas avoir beaucoup souffert de la congélation, d'autres se montrent au contraire profondément altérés; les fibres musculaires apparaissent en effet subdivisées, broyées en petits morceaux, réduites en certains endroits à une masse pulvérulente. Sous un agrandissement plus grand, les divers faisceaux musculaires paraissent effilochés, subdivisés en éléments filiformes dont les bords ne sont plus distincts ou sont indéfinis. Les fibres musculaires se détachent du

myolemme et l'on rencontre fréquemment des mailles de soutien privées de tissu musculaire ou n'en contenant qu'un résidu déchiqueté.

Ces lésions se retrouvent aussi bien dans les couches musculaires superficielles que dans les couches profondes, sans aucune différence.

Dans les coupes longitudinales (fig. 6), à côté de quelques fibres assez bien conservées, on en voit de profondément altérées, réduites à une masse vacuolée et spongieuse, à bords irréguliers et souvent indistincts. A certains endroits, les fibrilles paraissent brisées, interrompues sur un parcours plus ou moins long, la brisure présentant des bords nets ou effilochés.

Sous un agrandissement plus grand, les régions altérées laissent apparaître plus clairement encore les altérations profondes qu'elles ont subies dans leur structure : les petits faisceaux musculaires ne s'avancent plus parallèlement, mais suivent une marche sinueuse, si bien que, souvent, on ne peut plus les suivre sur tout leur trajet : ils délimitent des concamérations et paraissent dans l'ensemble déformés, brisés, méconnaissables eu égard à leur structure première.

Quelques petits faisceaux musculaires, bien que n'étant pas brisés, présentent des espaces sur lesquels les fibres musculaires semblent avoir subi un tiraillement,

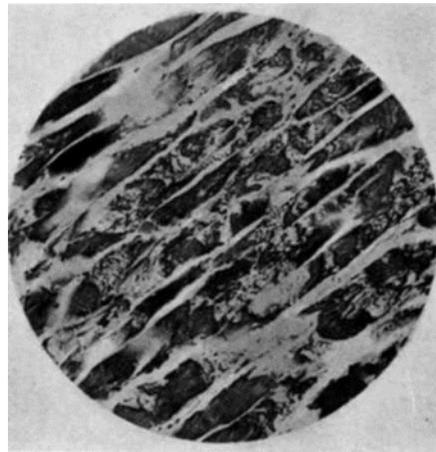


Figure 6 — Coupe longitudinale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi. Les différentes fibres musculaires sont spongieuses, étirées, brisées. :(Pr.guiseppo penso, 1953)

de telle sorte qu'il reste des espaces clairs le long du trajet des fibres, dont quelques-unes laissent cependant apercevoir des interruptions de parcours.

Enfin, on voit fréquemment des espaces de tissu musculaire sur lequel l'unique résidu reconnaissable, est le myolemme, plus résistant de beaucoup que les fibres musculaires à l'action destructrice du froid.

b) Poissons congelés dans la saumure : Considérons maintenant les altérations que subit la chair de poisson au cours de la congélation rapide par immersion dans la saumure (méthode d'Ottesen).

Ces altérations sont différentes de celles que nous avons décrites jusqu'ici et qui se produisent par suite de l'exposition du poisson à l'air refroidi.

Avec la congélation rapide, les altérations sont uniformément répandues sur toute l'épaisseur de la chair (fig. 7) ; chaque petit faisceau musculaire présente des fibres très atteintes, irrégulièrement vacuoles et remplies de concamérations.

On voit, à l'intérieur des concamérations, de minces trabécules qui passent d'un côté à l'autre de ces mêmes concamérations.

Si l'on observe l'ensemble des coupes, on est frappé et plus encore dans les coupes longitudinales que dans les coupes transversales. Un examen attentif permet de comprendre que ce fait est la conséquence de l'épaisseur irrégulière des coupes, les faisceaux musculaires présentant çà et là de petits vallonnements dus à des fibres musculaires striées, amincies, brisées ou absentes : il est par conséquent logique que là où le faisceau musculaire est plus épais, il apparaisse plus sombre; et que là où par suite des lésions qui se sont produites il est plus mince, il apparaisse plus clair.

Malgré l'uniformité de diffusion des différentes lésions, on observe parfois çà et là quelques faisceaux musculaires qui sont réduits à l'ombre d'eux-mêmes : le périnysium extérieur reste intact et le réseau formé par le périnysium du premier et du second ordre également : dans chaque maille du réseau on peut apercevoir des résidus plus ou moins conservés de tissu musculaire.

En coupe longitudinale (fig. 8), les fibres apparaissent fortement vacuolées; les vacuoles sont allongées et leur plus grand axe est perpendiculaire au sens des fibres. Le nombre de ces vacuoles transversales est parfois tel que les faisceaux musculaires prennent l'aspect d'une échelle. Çà et là les faisceaux musculaires sont brisés.

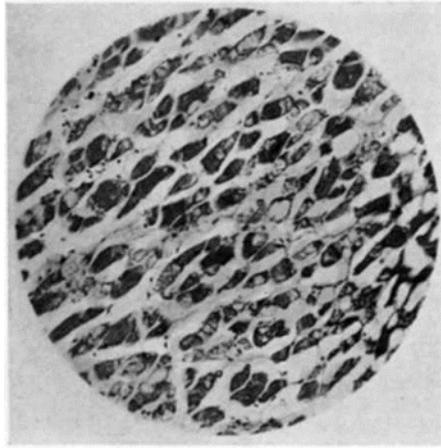


Figure 7 — *Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans la saumure. Noter les vacuoles et les concamerations a l'intérieur des fibres musculaires. : (Pr.guiseppe penso, 1953*

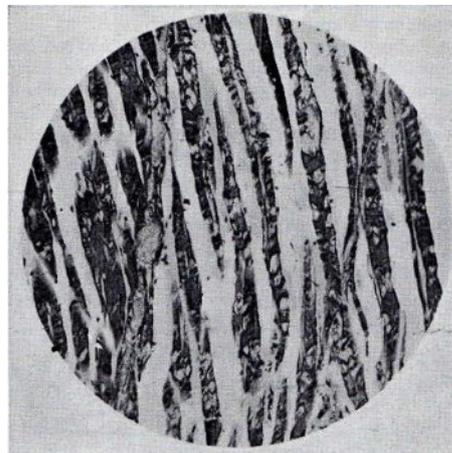


FIGURE 8:— *Coupe longitudinale de muscle de poisson congelé dans la saumure. Remarquer les vacuolisations des fibres musculaires. (Pr.guiseppe penso, 1953)*

c) Poissons congelés et emmagasinés : On peut dire, d'une façon générale, que les altérations constatées et décrites chez les poissons aussitôt après la congélation restent, ou peu s'en faut, ce qu'elles sont, même après un séjour de plusieurs semaines ou de plusieurs mois dans les chambres de dépôt.

d) Poissons décongelés à l'air : Considérons maintenant ce qui se passe dans la décongélation des chairs de poisson et, en particulier, comment évoluent et se transforment les lésions histologiques que nous avons décrites jusqu'ici.

Commençons par le poisson congelé dans l'air refroidi et gardé ensuite à l'air jusqu'à décongélation complète.

La caractéristique principale des coupes de poissons ainsi traités est que tous les faisceaux musculaires vus en coupe transversale présentent à leur centre un espace clair, arrondi ou elliptique, et vide à tel point

qu'ils ont l'air troués (fig. 9). Certains faisceaux au lieu d'un trou en ont deux; quelques-uns même trois ou quatre.

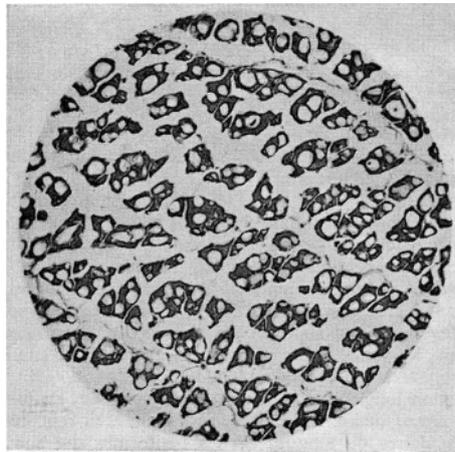


Figure 9 : Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi et décongelé à l'air. Tous les petits faisceaux sont perforés une ou plusieurs fois. : (Pr.guiseppo penso, 1953)

Les dimensions des trous varient considérablement d'un endroit à l'autre : tandis que ces trous sont de grande dimension dans certaines zones, ils sont au contraire petits dans d'autres et leur anneau musculaire périphérique est plus épais. Il y a enfin des zones où ces trous sont si petits et si nombreux dans le même faisceau musculaire que ce dernier semble en être criblé.

Naturellement les bords eux-mêmes de chaque faisceau musculaire apparaissent aussi plus ou moins altérés dans leur forme et irréguliers. Le muscle n'est pas uniformément colorable; il l'est d'autant moins que les trous du faisceau sont plus grands. Il est évident que les fibres musculaires résiduelles de ces faisceaux doivent s'être davantage amincies par suite de la compression, de l'étirement, et des cassures.

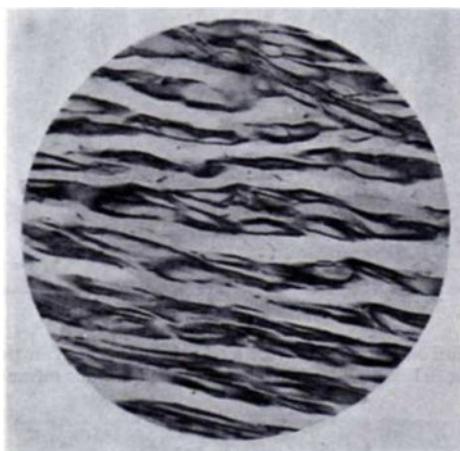


FIGURE 10- — Coupe longitudinale d'un muscle de poisson congelé à l'air froid. Remarquer la subdivision des fibres et les larges concamérations longitudinales. : (Pr.guiseppo penso, 1953)

Il va de soi que dans les zones où les muscles avaient été détruits, il ne reste que le périnysium vide de contenu.

En coupe longitudinale (fig10), les faisceaux présentent des fibres subdivisées de telle sorte qu'elles forment de larges espaces vides, allongés longitudinalement et placés au centre de chaque faisceau : ce sont ces espaces qui, dans les coupes transversales, donnent aux fibres l'apparence d'un anneau.

Les muscles des poissons congelés dans la saumure et décongelés à l'air présentent, en substance, le même aspect que les précédents, avec cette différence qu'il y a, près des zones qui répètent les figures que nous avons déjà décrites, d'autres zones dans lesquelles toute la masse fasciculaire est trouée, ce qui donne aux faisceaux musculaires un aspect alvéolaire (fig. 11).

Même en section longitudinale l'aspect des carpes est, en substance, analogue à celui que nous avons décrit dans le cas précédent. On rencontre ici aussi dans les faisceaux musculaires de longues cavités fusiformes qui sont la conséquence de la désagrégation de l'ensemble des fibrilles. Dans certaines zones, les faisceaux prennent une apparence spongieuse due à de petites cavités qui de toute évidence communiquent entre elles et qui sont délimitées par de simples laciniés et des filaments musculaires.

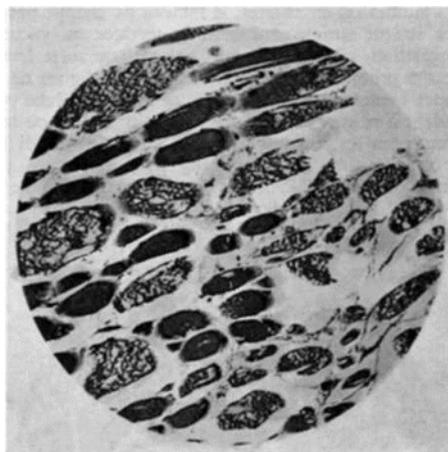


FIGURE 11— *Coupe longitudinale et transversale d'un muscle de poisson congelé dans la saumure et décongelé à l'air. Remarquer l'aspect alvéolaire typique des faisceaux musculaires en section transversale ou oblique et longitudinale. : (Pr.guiseppo penso, 1953)*

e) **Poissons décongelés dans l'eau.** — Voyons maintenant ce qui se passe dans la décongélation lente, à la température ambiante, dans l'eau.

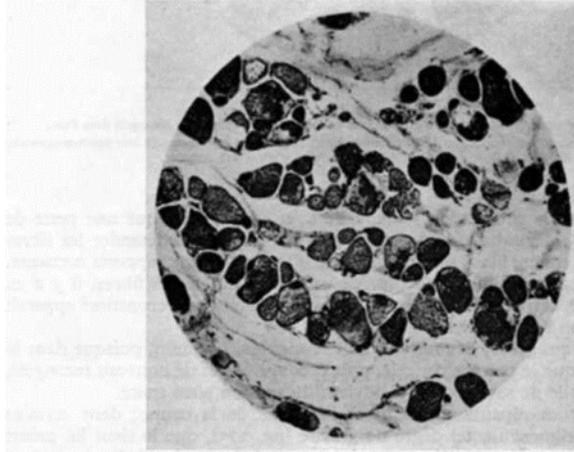


Figure 12— *Coupe transversale de muscle de poisson congelé dans l'air refroidi et décongelé dans l'eau. Remarquer que les lambeaux de muscles des divers faisceaux se sont distendus et ont repris sinon leur aspect, du moins leur volume ou leurs rapports normaux. : (Pr. guisepe penso, 1953)*

D'une façon générale, on peut dire qu'avec cette méthode les lésions existantes tendent, pour employer un mot inexact mais expressif, à se cicatriser.

Naturellement, là où il y avait destruction de tissu et où les fibres musculaires étaient réduites en lambeaux, en miettes, le tableau ne change pas; mais là, où les fibres musculaires étaient simplement brisées, tordues ou vacuolées, il semble qu'après la décongélation, elles reprennent, en quelque sorte leur aspect, ou du moins, leurs rapports primitifs. Il va sans dire que les lignes de cassure restent, ainsi que les grandes vacuoles quand il y en a, ce qui n'empêche pas que les bords des lambeaux tendent à se rapprocher et à reconstituer plus ou moins le faisceau primitif, et ceci vaut pour les poissons congelés dans l'air refroidi (fig. 12) comme pour les poissons congelés dans la saumure (fig. 13). Cette ((cicatrisation » est évidemment due au fait que chaque faisceau musculaire, brisé pendant la congélation — laquelle a, en outre, provoqué une perte de substance liquide — s'imbibe d'eau; cette imbibition fait se redétendre les fibres coarctées, qui reprennent ainsi, plus ou moins leur forme ou leurs rapports normaux. Naturellement, aux endroits où, en plus de cette coarctation des fibres, il y a eu perte de substance, cette perte n'est pas compensée et le faisceau reconstitué apparaît plus ou moins altéré et vacuole.

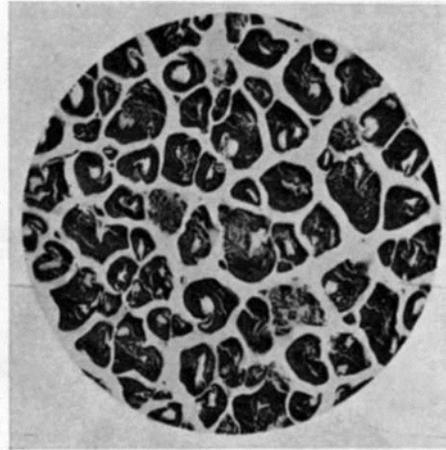


Figure 13 — Coupe transversale d'un muscle de poisson congelé dans la saumure et décongelé dans l'eau. Remarquer que les résidus musculaires de chaque faisceau tendent à se détendre et à reprendre leur position normale ; la où il y avait perte de substance, celle-ci n'a pas été comblée. : (Pr.guiseppa penso, 1953)

f) Poissons congelés, décongelés et recongelés. — Enfin, puisque dans la pratique il arrive que le poisson congelé, puis décongelé, soit de nouveau recongelé, il ne sera pas inutile de savoir ce qu'il advient du poisson ainsi traité.

Les lésions sont répandues sur toute l'étendue de la coupe; dans certains endroits, elles atteignent un tel degré de gravité (fig. 14), que le tissu lui-même apparaît bouleversé, tordu, détruit, réduit à un amas informe de détritrus qui n'ont plus aucun ordre logique ni histologique. De nombreuses fibres, en coupe transversale, ont l'air de flammes qu'on agite. Dans les coupes longitudinales (fig. 15), les fibres sont complètement détachées les unes des autres; elles sont en outre brisées, tordues, désagrégées, et réduites à un amas informe.

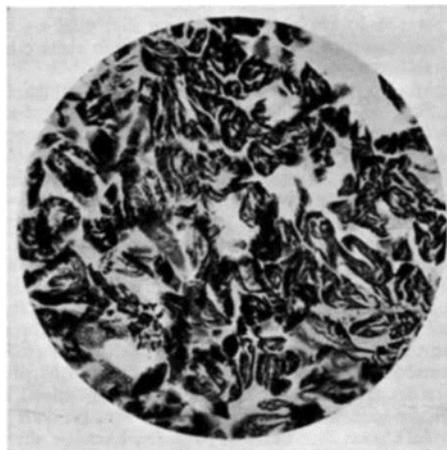


Figure 14— Coupe transversale et longitudinale d'un muscle congelé dans la saumure, décongelé dans l'eau et recongelé dans la saumure. Zone profondément altérée, qui a perdu sa structure normale. : (Pr.guiseppa penso, 1953)

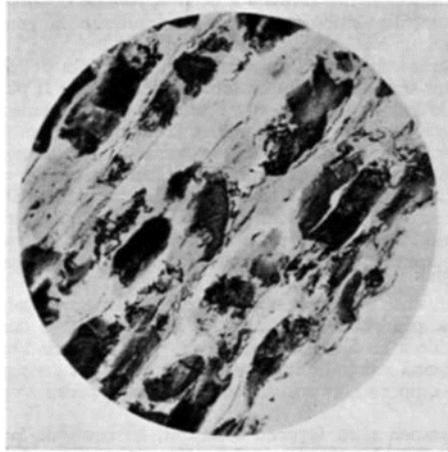


Figure 15 — *Coupe longitudinale d'un muscle congelé dans la saumure, décongelé dans l'eau et recongelé dans la saumure. Les fibres sont détachées, brisées et réduites pour ainsi dire à un amas de débris. : (Pr.guiseppo penso, 1953)*

b) Altération physique :

Pendant la congélation les poissons augmentent de volume. L'augmentation est en rapport avec la solidification de l'eau des tissus et peut varier entre 4 et 6 % du volume normal du poisson. Cette augmentation du volume n'a en soi aucune importance; il faut cependant en tenir compte lorsque le poisson, en filets ou entier, est congelé dans des boîtes ou dans des récipients spéciaux.

La couleur extérieure des poissons peut varier au cours de la congélation directe en saumure, de même que la couleur des tissus, qui deviennent d'abord rouge clair, puis rouge foncé. Ceci est dû au fait que les globules qui contiennent l'hémoglobine se brisent pendant la congélation et libèrent l'hémoglobine, laquelle se dépose d'abord autour des grands vaisseaux, surtout dans la région dorsale, et ensuite, pendant la décongélation, se répandent sur toutes les parties du corps en leur donnant une coloration intense. Le phénomène est particulièrement visible dans les parties transparentes de l'œil et dans les branchies qui peuvent devenir rouge sombre et même brunâtres si l'hémoglobine — par suite d'un long magasinage — a eu le temps de s'oxyder et de se transformer en méta-hémoglobine. (*Pr.guiseppo penso, 1953*)

c) Altérations chimiques

Des altérations chimiques se produisent chez les poissons par l'action de l'oxygène atmosphérique et à la suite de phénomènes d'autolyse.

Les poissons, à cause de leur contenu en graisses non saturées et plus précisément en glycérides d'acides gras non saturés, sont facilement attaqués par l'oxygène de l'air. La conséquence de l'oxydation est la scission des graisses et la formation, à la surface du poisson, de taches jaunâtres et visqueuses connues sous le nom de *rouille*.

Ces taches se forment à la surface de l'entaille, dans le voisinage des nageoires et dans la cavité abdominale des poissons ouverts.

A la suite de la scission des graisses, le contenu en acides gras libres augmente pendant le magasinage (Clark et Almy, 1920).

D) Altérations microbiologiques

Des moisissures peuvent se développer, en surface, sur les poissons congelés et mal conservés. Cette éventualité est beaucoup plus rare sur la chair de poisson que sur les viandes.

Comme les moisissures ne peuvent se développer que jusqu'à -8°C , il surfit, pour éviter à coup sûr leur apparition, de fixer la température de magasinage au-dessous de -8°C , ce qui, nous l'avons vu au paragraphe concernant le magasinage, doit être la règle.

Le poisson décongelé sera consommé immédiatement pour ne pas devenir la proie facile des germes de putréfaction. (*Pr. guiseppe penso, 1953*)

Mécanisme génétique des lésions histologiques

Les fibres musculaires qui se sont solidifiées par suite de la congélation qui les a rendus fragiles, sont brisées par les petits glaçons qui se forment à l'intérieur des tissus, glaçons qui — étant plus durs que les fibres et plus volumineux que n'étaient les liquides qui leur ont donné naissance — non seulement brisent ces fibres, mais les désagrègent, en donnant lieu à la formation de cavités et de conglomérations.

I. Objectif

Le froid vous rend se que vous lui donner ; c'est une phase qui se transmet et n'est presque jamais controverser dans le monde de la qualité.

Cependant le tissu musculaire squelettique, en particulier sa structure histologique (celle des myotomes) est le principal élément mis en jeu dans le processus de la congélation. Il réagit d'après les travaux de nombreux auteur tel que *Pr. Guiseppe Penso, (1953)* aux influences qu'exerce le froid sur les structures colloïdales du muscle (substance fondamental et sarcoplasme) d'où l'idée d'essayer d'établir un lien entre les modifications de l'aspect histologique selon la durée du temps de congélation, en utilisant l'outil morphométrique.

Dans notre présente étude nous avons opté pour un des aspects les plus simples de la morphométrie ; vue les moyens et le temps de réalisation du projet.

Nous avons choisi de comparer la variation des diamètres des fibres rouges, en utilisant la variable temps durant la période de congélation à l'aide d'un logiciel dit (MINITAB 14).

Nous nous sommes également intéressés aux mortifications du tissu conjonctif qui sépare le muscle rouge suite à notre recherche bibliographique et aux constatations rapportées par Alami et al., 2003.

Les objectifs espérés sont en premier lieu d'établir un lien entre le temps de stockage et la modification de la taille des fibres musculaires et du conjonctif. Second aspect ; existe-t-il un paramètre numérique pouvant être pris comme référence histologique indiquant la qualité de la chair de poisson ?

II.1. Échantillonnage

Notre travail compte quatre (03) échantillons, renfermant chacun trente (30) individus. Les quatre échantillons appartiennent à la même population.

La population appartient à une espèce de poisson très connue du consommateur algérien.

Sa consommation est plus ou moins fréquente en raison de sa disponibilité sur les marchés mais surtout pour son prix abordable pour un grand nombre de famille ; par rapport aux autres poissons. Il s'agit de la sardine très souvent confondu avec le vrai l'allache lorsqu'elle est de grande taille.

II.1.1. Classification du poisson utilisé

Classification Règne : animal

- **Embranchement** : vertébrés
- **Sous embranchement** : gnatostomes
- **Super classe** : poissons
- **Classe** : ostéichthyens
- **Sous classe** : actinoptérygiens
- **Super ordre** : téléostéens
- **Ordre** : clupéiformes
- **Sous ordre** : clupéidés
- **Famille** : clupéidés
- **Genre** : sardina
- **Espèce** : sardina pilchardus

Nom commun: la sardine

II.1.2. Mode d'échantillonnages

- Les échantillonnages ont été réalisés au niveau de la pêcherie a 6h du matin le 28/04/2011, nous avons pris trois lots, chaque lots compte 30 poissons.
- Tous les échantillons pris au hasard. Nous les avons pesé et mesuré afin de réaliser un test statistique pour prouvé que notre échantillonnage a été correctement réalisé de manière a avoir une homogénéité de l'échantillon.
- Le premier lot dit témoin T_0 : a été prélevé sans avoir été congelé il sera pour nous le témoin des modifications morphométrique des myotomes et de leur conjonctif. « T_0 » est notre première variable temps .par mesure d'économie nous avoir congelé se lot juste après prélèvement et nous l'avons utilisé comme lot T1

- Le 08/05/2011, après une durée de congélation de dix (10) jours. Le second lot dit T_1 a été décongelé et un prélèvement des myotomes est réalisé. C'est la seconde variable temps T_1 , un deuxième échantillonnage.
 - le 24/05/2011 Le troisième échantillonnage a été réalisé, soit une durée de 25 jours de congélation : C'est la variable temps T_2 .
- Le 29 /05/2011 le quatrième échantillonnage a été réalisé soit une durée de un mois de congélation. c'est la variable temps T_3 .

• II.1.3. Techniques de prélèvement

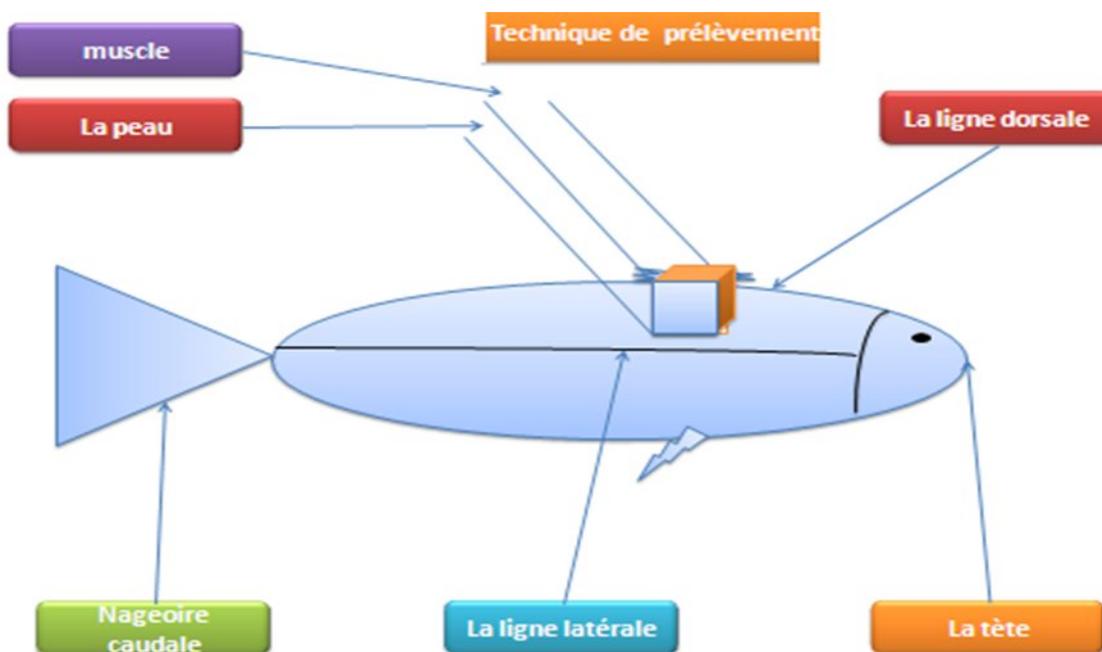


Fig a : technique de prélèvement du coupe

Les prélèvements de chair s'opèrent au niveau d'une même région anatomique de l'animal : région latéro-dorsale (à peu près $0,5\text{cm}^2$) limitée en haut par la nageoire dorsale.

Le choix de ce prélèvement permet d'effectuer un bon échantillonnage et sans risque de contamination par les souillures des viscères (Les échantillons ne sont pas éviscérés).

La partie de la chair servant à l'étude est mise à nu, soigneusement parée, prélevée en bloc sous forme d'un petit filet, puis coupée en petits tranches pour la réalisation des lames histologiques. Voir schéma n°a .

II.2. Préparations des lames histologiques (voir diagramme N°)

II.2.1. La préparation des tissus

La préparation des tissus comporte cinq étapes qui permettront au colorant de ce fixé de manière uniforme:

Fixation

Déshydratation

Imprégnation

Eclaircissement

Inclusion ou enrobage

II.2.2. Coloration topographique à Hématéine Eosine

II.2.2.1. Principe

L'hématoxyline et l'éosine constituent le colorant morphologique le plus couramment utilisé. Il s'agit de teintures naturelles (hématoxyline) et synthétiques (éosine) qui réagissent en présence de divers organites cellulaires ou matériel extracellulaire.

II.2.2.2. Réactifs

Hématoxyline de Harris :

Eosine à 1 %, Erythrosine à 0.1% dans l'eau distillée ou Eosine-Erythrosine à solution saturée de lithium de carbonate.

II.2.2.3. Mode opératoire

II.2.2.3.1. Déparaffinage

- 5 min toluène
- 7 min toluène

II.2.2.3.2. Hydratation

- A° 100° → 30s à agitations.
- A° 90° → 30s à agitations.
- A° 70° → 30s à agitations.

II.2.2.3.3. Coloration

- L'hématine 45s
- Laver pendant 3 min à l'eau courante.
- Colorer 2 min à l'éosine (pour la différenciation se fait par alcool 70° et 90°).
- Rincer 2 min à l'eau courante.

II.2.2.3.4. Déshydratation

- A° 70° → 30s à agitations.
- A° 90° → 30s à agitations.
- A° 100° → 01mn à agitations

II.2.2.3.5. Eclaircissement

- 5 min toluène
- 5 min toluène

II.2.2.3.6. Montage

Résine.

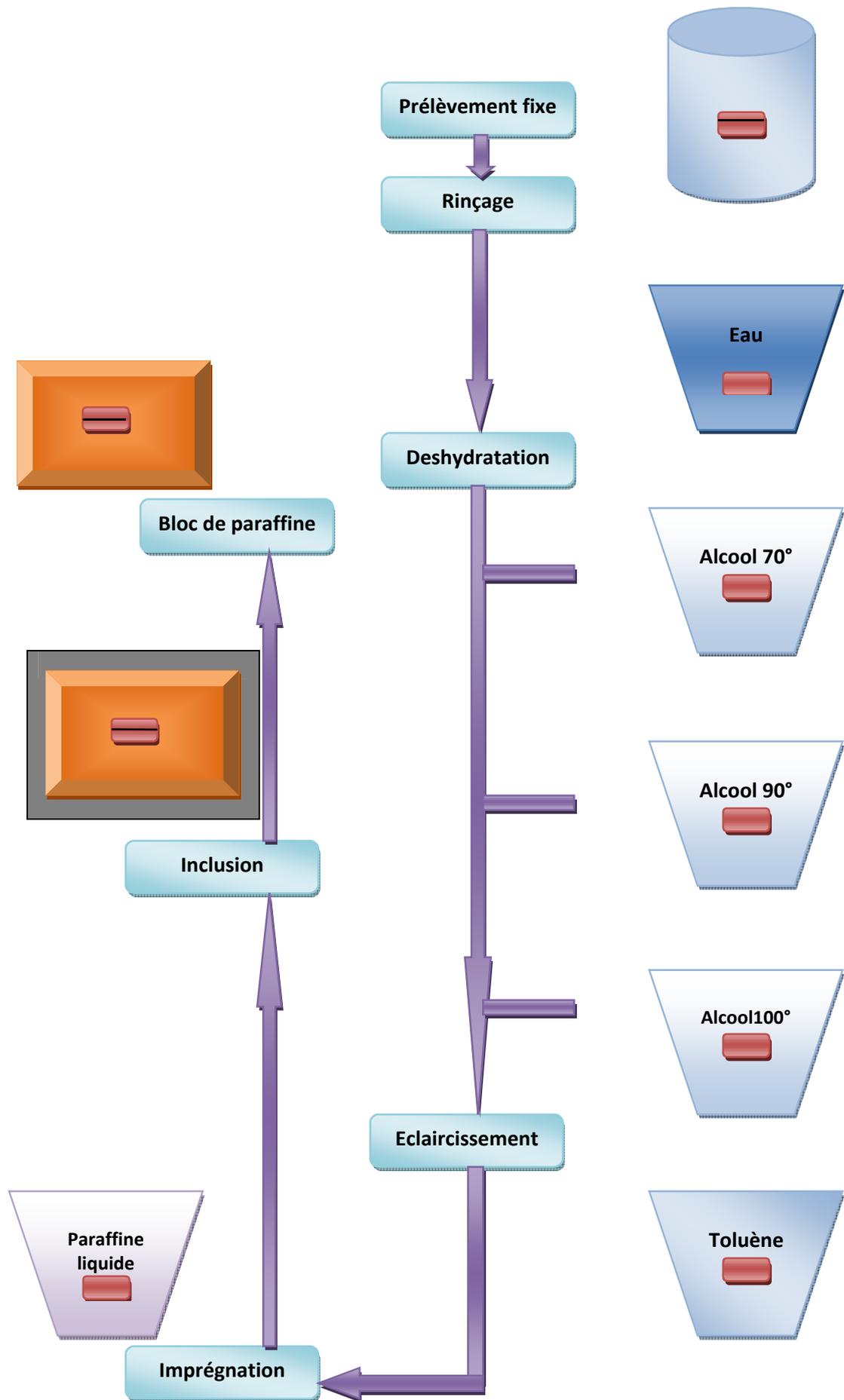


Fig b: mode opératoire

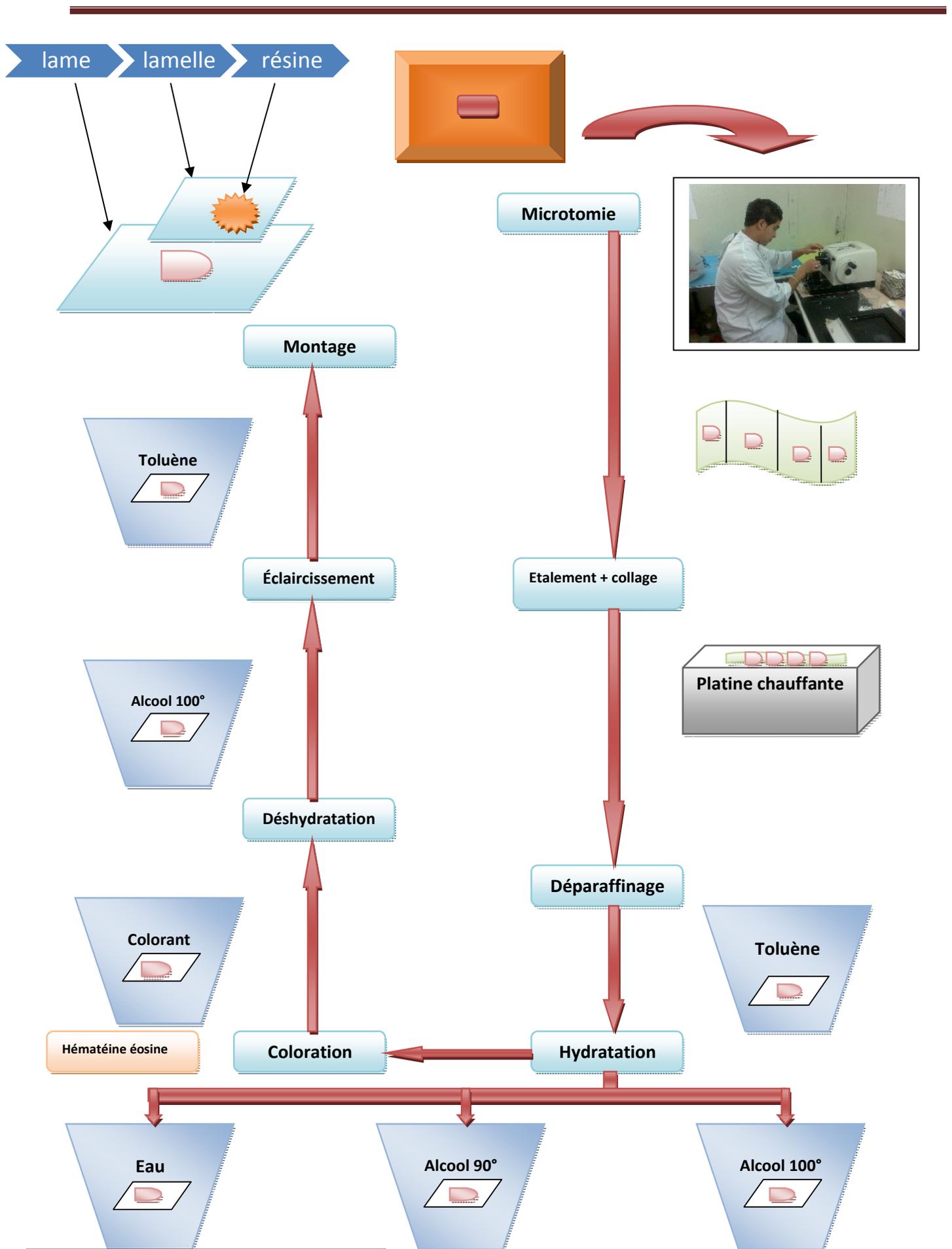


Fig c : mode opératoire suite

II.3. Observation

Noyau en bleu (basophilie), Cytoplasme et membranes en rose (acidophilie ou éosinophilie).

II.4. Analyses d'images

Nous avons utilisé un microscope de marque **Motic USB3 # capture** relié à un microordinateur. Le logiciel de traitement d'image porte le nom d' « Image plus » destiné essentiellement aux mesures et à aux analyses morphométriques.

III. Exploitation et traitement des données

III.1. Exploitations des lames

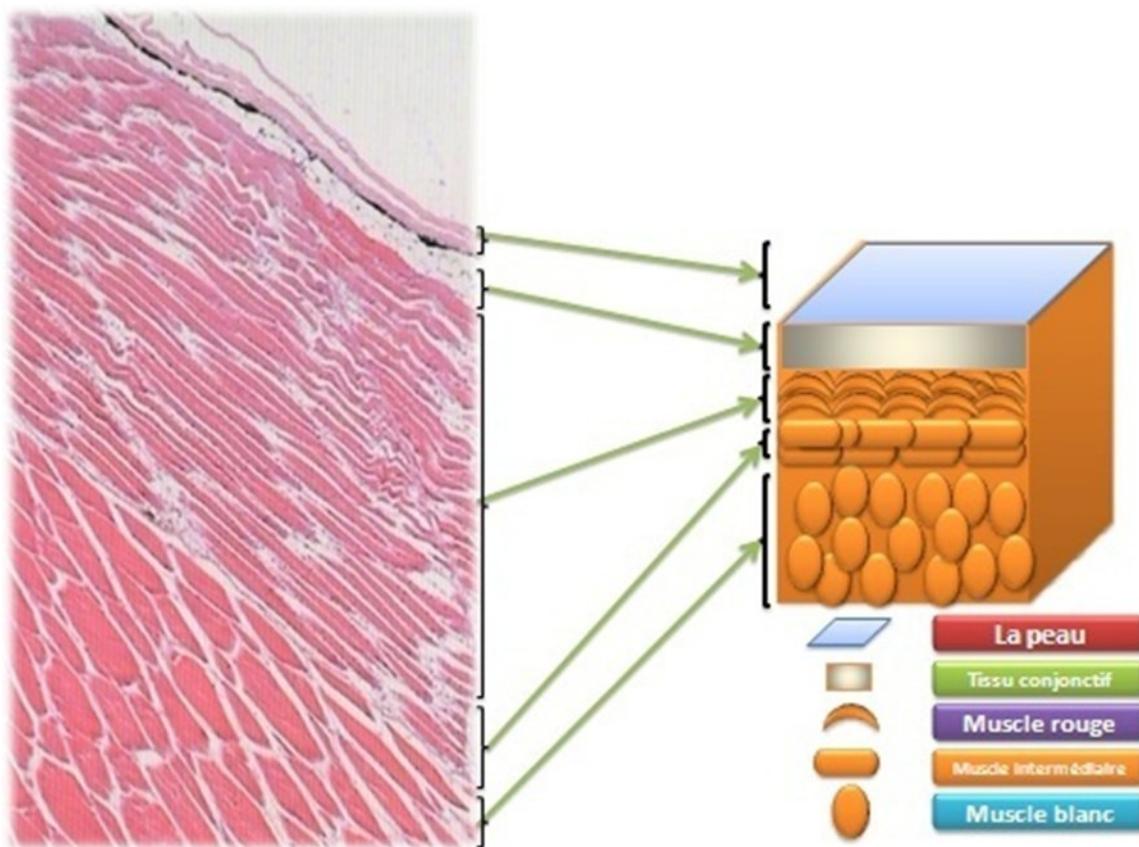


Figure d : Coupe transversale du muscle de la sardine

Pour chaque variable temps nous avons procédé de la manière suivante :

On mesure pour chaque lame soit 30 lames pour T0 ; T1 ; T2 et T3 (soit un nombre au total de 120 lames) ;

- le diamètre de trente (30) fibres de muscle rouge.
- la distance qui sépare les fibres du muscle rouge entre elles.

Remarque : Nous avons mesuré uniquement la distance qui sépare les fibres rouges entre elles parce que le conjonctif et les fibres blanches se sont fortement altérées suite à la congélation

III.2. Traitements des données et étude statistique

Hypothèse

Notre travail repose sur le fait que si on refait la même expérience qu'elle est la probabilité de trouver nos deux moyennes égales. Si $P > 0,05$ les moyennes sont égales.

Si $P < 0,05$ les moyennes ne sont pas égales.

Test d'homogénéité des quatre lots utilisé :

Nous avons procédé aux comparaisons moyennes des poids et des tailles de nos quatre échantillons afin de prouver s'il existe une uniformité des lots.

Dans le cas où il existe une différence dans les poids et tailles toutes comparaisons des diamètres des fibres musculaire seraient compromise, car la tailles et le poids d'un individu sont fonctions de l'aspect des muscle et du tissu conjonctif.

Test de normalité Kolmogorov-Smirnov

C'est un test utilisé de manière très large en statistique pour déterminer si la distribution des effectifs suit une loi normale. (Myoung H.P., 2006)

Dans notre cas nos effectifs sont autour de $n=30$, pour $\alpha=0,05$ et $K_{tab} = 0,24$ qui représente le coefficient de Kolmogorov-Smirnov (K) lu sur la table.

Si le K_s coefficient calculé est inférieur à K_{tab} notre distribution est normale et nous pouvons dans ce cas là utiliser les tests statistiques spécifiques à la loi normale.

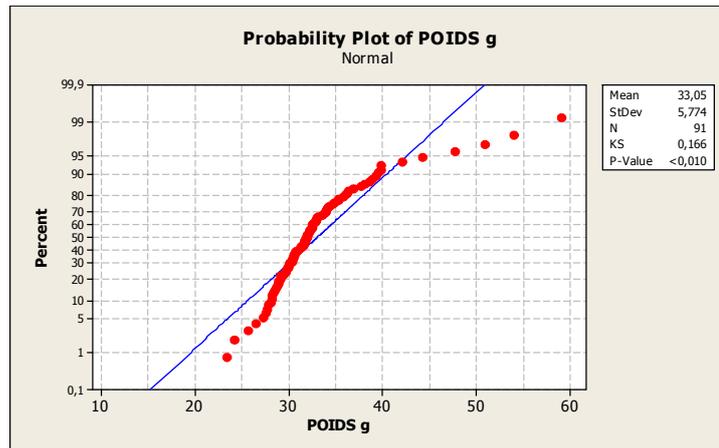
Hypothèse émise H_0 qui doit être vérifiée dit : la distribution des résultats obéit à la loi normale au taux de sécurité de 95%.

III.3. Résultat et discussion

Test de normalité pour la taille et le poids des individus

- pour la distribution des mesures de poids (voir graphe n°1)

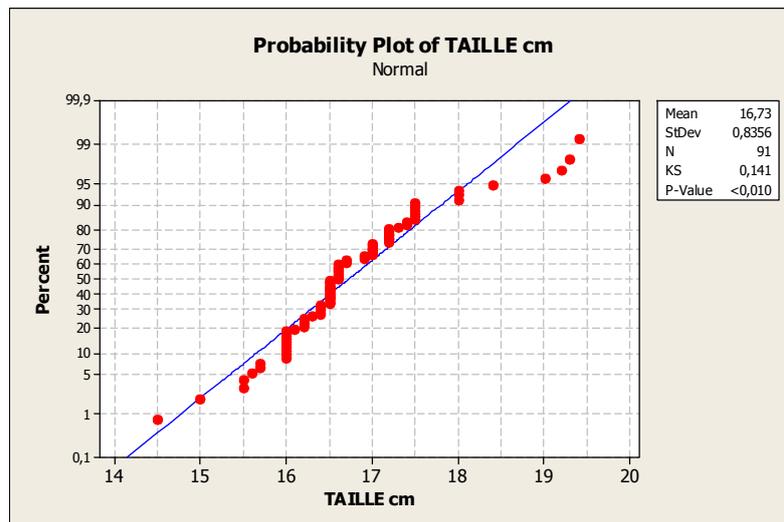
K_s poids des individus = 0,116 donc inférieur à 0,24 : H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.



Graphe n°1 :distribution des mesures de poids

- pour la distribution des mesures de taille (voir graphe n°2)

K_s taille des individus = 0,141 < K_{tab} qui est égal à 0,24 : H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.



Graphe n°2 :distribution des mesures de taille

Conclusion : Aussi bien pour la distribution des poids et des tailles des individus le test de normalité indique qu'au taux de sécurité de 95% nous pouvons pour notre comparaison des moyennes des poids et des tailles des lots, utiliser l'étude statistique descriptive et le test T test de Student en toute sécurité.

Test d'homogénéité des lots utilisés :

- Pour la taille des poissons :

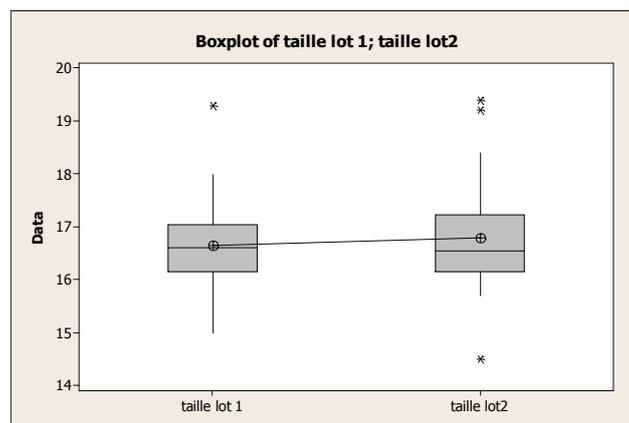
Le lot témoin et T1 (même lot) présente une taille moyenne de : $16,6467\text{cm} \pm 0,82242$

Le lot T2 présente une taille moyenne de : $16,793\text{cm} \pm 0,992$

Le lot T3 présente une taille moyenne de : $16,760\text{cm} \pm 0,702$

La comparaison entre le lot T 1 et le lot T2 voir graphe n°3

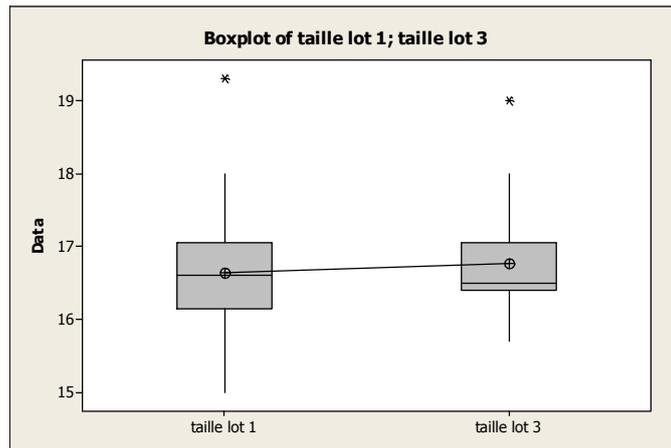
Au taux de sécurité de 95% : **P-Value = 0,535** donc les deux moyennes sont égales et les deux lots ne présentent pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à $-0,146667$. L'intervalle de confiance de la différence entre les moyennes au taux de sécurité de 95% est : $(-0,617857; 0,324524)$.



Graph n°3 : comparaison entre T1 et T2 (taille)

La comparaison entre le lot T 1 et le lot T3 voir graphe n°4

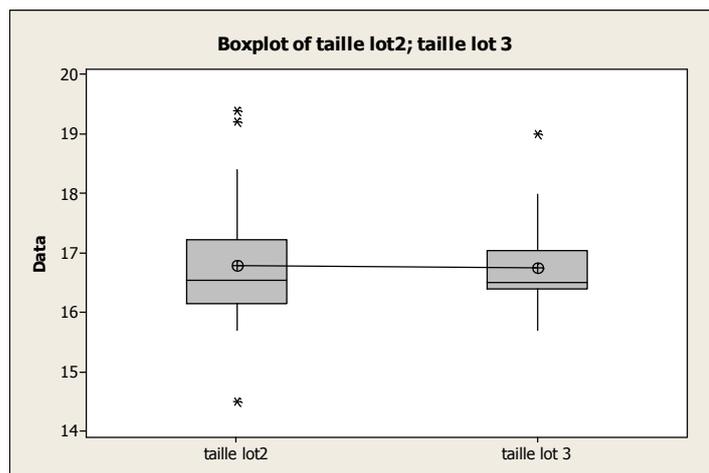
Au taux de sécurité de 95% **P-Value = 0,568** donc les deux moyennes sont égales et les deux lots ne présentent pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à $-0,113333$. L'intervalle de confiance au taux de sécurité de 95% est : $(-0,508806; 0,282139)$



graphe n°4 : comparaison entre T1 et T3 (taille)

La comparaison entre le lot T 2 et le lot T3 voir graphe n°5

Au taux de sécurité de 95% **P-Value = 0,881** donc les deux moyenne sont égales et les deux lots ne présente pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à 0,033333. L'intervalle de confiance au taux de sécurité de 95% est : (-0,411797; 0,478464)



graphe n°5 :comparaison entre T2 et T3(taille)

Conclusions : tous les lots sont homogènes du point de vue taille. Nous pouvons donc les comparer et appliquer les tests statistiques qui conviennent.

- **Pour le poids des poissons :**

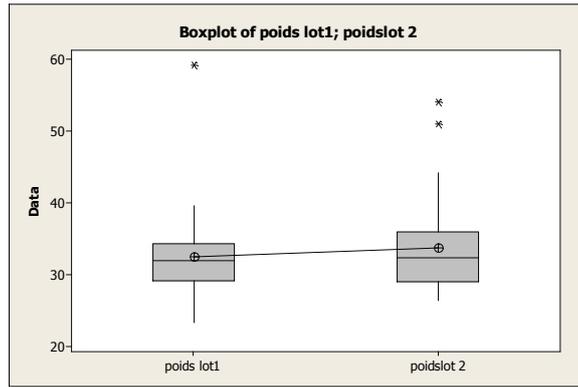
Le lot témoin et T1 (même lot) présente du poids moyen de : $32,49g \pm 6,31$

Le lot T2 présente du poids moyen de : $33,69g \pm 6,48$

Le lot T3 présente du poids moyen de : $33,02g \pm 4,57$

La comparaison entre le lot T 1 et le lot T2 voir graphe n°6

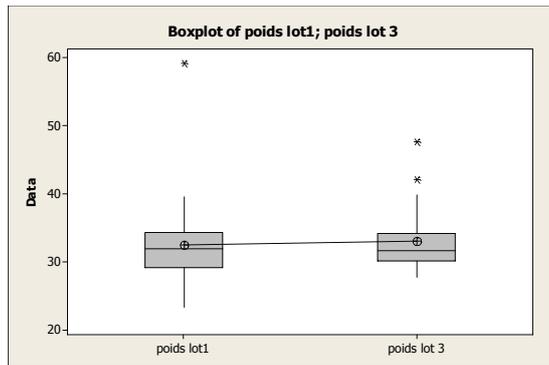
Au taux de sécurité de 95% **P-Value = 0,470** donc les deux moyenne sont égales et les deux lots ne présente pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à -1,19967. L'intervalle de confiance au taux de sécurité de 95% est : (-4,50621; 2,10688)



graphe n°6 : comparaison entre T1 et T2(poids)

La comparaison entre le lot T 1 et le lot T3 voir graphe n°7

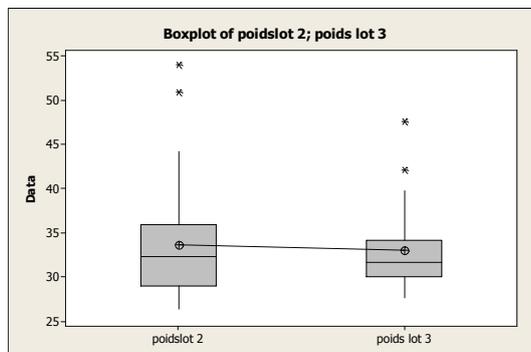
Au taux de sécurité de 95% **P-Value** = 0,708 donc les deux moyenne sont égales et les deux lots ne présente pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à -0,535667. L'intervalle de confiance au taux de sécurité de 95% est : (-3,389242; 2,317909)



graphe n°7 : comparaison entre T1 et T3 (poids)

La comparaison entre le lot T 2 et le lot T3 voir graphe n°8

Au taux de sécurité de 95% **P-Value** = 0,648 donc les deux moyenne sont égales et les deux lots ne présente pas de différence significative quant à leur taille. La différence entre les moyennes des deux lots est estimée à 0,664000. L'intervalle de confiance au taux de sécurité de 95% est : (-2,240540; 3,568540)



graphe n°8 comparaison entre T2 et T3 (poids)

Conclusions : tous les lots sont homogènes du point de vue poids. Nous pouvons donc les comparer et appliquer les tests statistiques qui conviennent.

IV. Etude des variations morphométriques

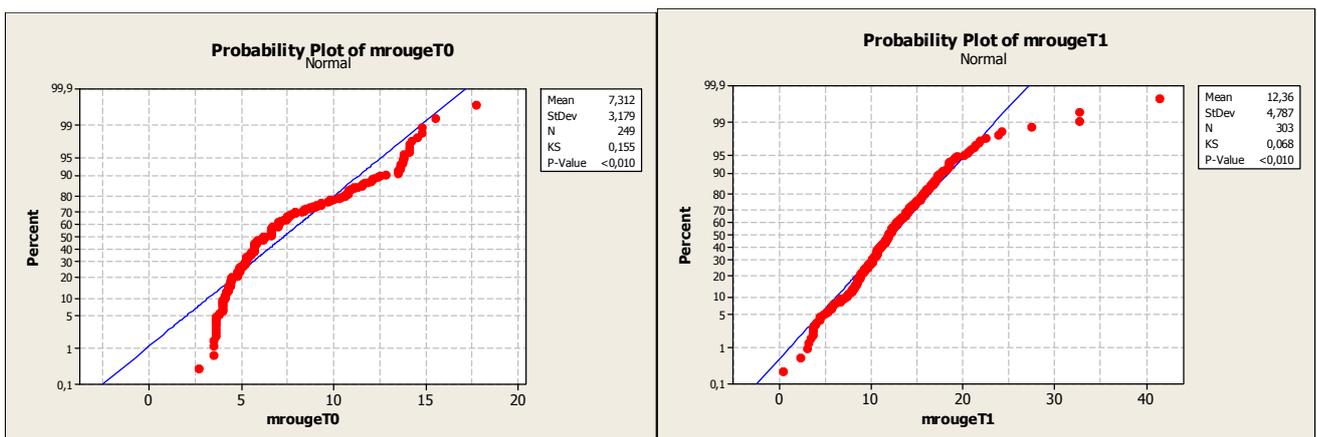
IV.1. Etude des variations morphométriques du muscle rouge

Comme pour la distribution des poids et de la taille, nous avons procédé pour les données recueillis lors des mesures des diamètres des muscles rouges, au test de normalité afin de s'assurer qu'il nous est possible d'appliquer les tests statistiques relative à la loi normale.

IV.1.1. Test de normalité pour les diamètres du muscle rouge (mr) :

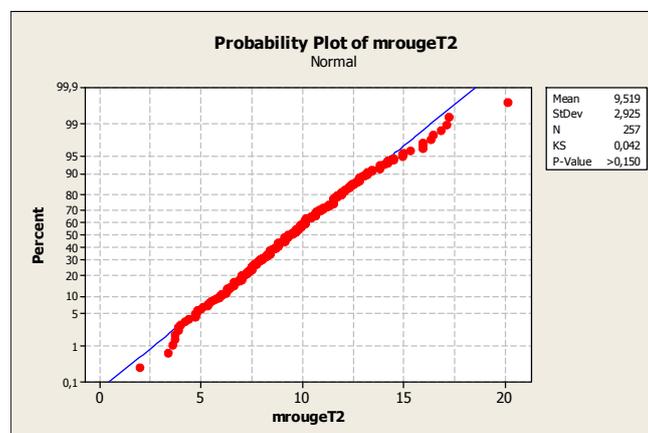
- Pour le lot T0 : $K_s(\text{mrT0}) = 0,155$ donc inférieur à $0,24$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(\text{mrT1}) = 0,068 < K_{\text{tab}}$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(\text{mrT2}) = 0,042 < K_{\text{tab}}$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(\text{mrT3}) = 0,052 < K_{\text{tab}}$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.

Toutes les données des distributions et quelques soit les stades de prélèvement dans le cas du muscle rouge obéissent à la loi normale donc nous pouvons utiliser l'étude statistique descriptive et le test T test de Student en toute sécurité (histogramme et courbe de loi normale annexe)



Graphe n°9 : graphe de probabilité mr t0

graphe n°10 : graphe de probabilité mrt1



graphe :11 : graphe de probabilité mrt2

IV.1.2. Statistique descriptive: **rmT0; rmT1; rmT2; rmT3** (voir en annexes tableaux des données)

rmT0: la moyennes des diamètres du muscle rouge du lot témoin sur les 30 lames est de: $8.0556\mu\text{m} \pm 2.9495$

rmT1: la moyennes des diamètres du muscle rouge du lot T1 sur les 30 lames est de: $10.41203\mu\text{m} \pm 4.88069$

rmT2: la moyennes des diamètres du muscle rouge du lot T2 sur les 30 lames est de: $10.4120\mu\text{m} \pm 2.19873$

rmT3: la moyennes des diamètres du muscle rouge du lot T2 sur les 30 lames est de: $12,4248\mu\text{m} \pm 5.12307$

III.1.3. Comparaison des diamètres moyens du muscle rouges

Hypothèse (Ho) : Si on refait la même expérience qu'elle est la probabilité que nos deux moyennes soit égale.

- si $p > 0,05$ les moyennes sont égales.
- si $p < 0,05$ les moyennes ne sont pas égales.

IV.1.3.1. Comparaison des moyennes **rmT0 ; rmT1**

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (**rmT0**) et (**rmT1**) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouvé que les moyennes de la période T0 et T1 soient les mêmes

IV.1.3.2. Comparaison entre les moyennes **rmT0 ; rmT2**

Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (**rmT0**) et (**rmT2**) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouvé que les moyennes de la période T0 et T2 soient les mêmes

IV.1.3.3. Comparaison entre les moyennes **rmT0 ; rmT3**

Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (**rmT0**) et (**rmT3**) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouvé que les moyennes de la période T0 et T3 soient les mêmes

IV.1.3.4. Comparaison entre les moyennes **rmT1 ; rmT2**

Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (rmT0) et (rmT3) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T1 et T2 soient les mêmes.

IV.1.3.5. Comparaison entre les moyennes rmT1 ; rmT3

Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (rmT0) et (rmT3) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T1 et T3 soient les mêmes.

IV.1.3.6. Comparaison entre les moyennes rmT2 ; rmT3

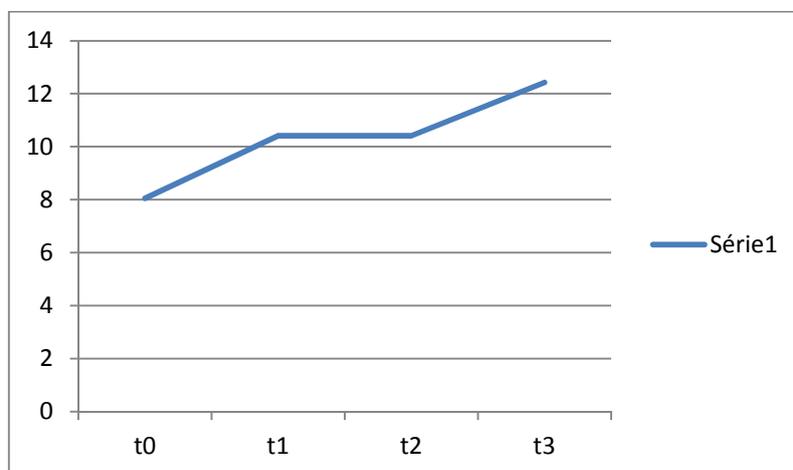
Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des diamètres du muscle rouge (rmT0) et (rmT3) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T2 et T3 soient les mêmes.

IV.1.4 Evolution du diamètre du muscle rouge en fonction du temps.

Moyenne rmT0	Moyenne rmT1	Moyenne rmT2	Moyenne rmT3
8.0556 $\mu\text{m} \pm 2.9495$	10.41203 $\mu\text{m} \pm 4.88069$	10.4120 $\mu\text{m} \pm 2.19873$	12,4248 $\mu\text{m} \pm 5.12307$

Tableau N°1 : Evolution du diamètre moyen des fibres rouge en fonction du temps



Graph N°12 Evolution du diamètre du muscle rouge en fonction du temps

IV.1.5. Discussion : muscle rouge

L'augmentation du diamètre des fibres musculaires n'est rien d'autre qu'un phénomène de régulation osmotique entre le milieu intra cellulaire et le milieu interstitiel .L'équilibre ne sera pas atteint en raison de la destruction des fibres musculaires et le déversement de leur contenu dans l'espace conjonctif

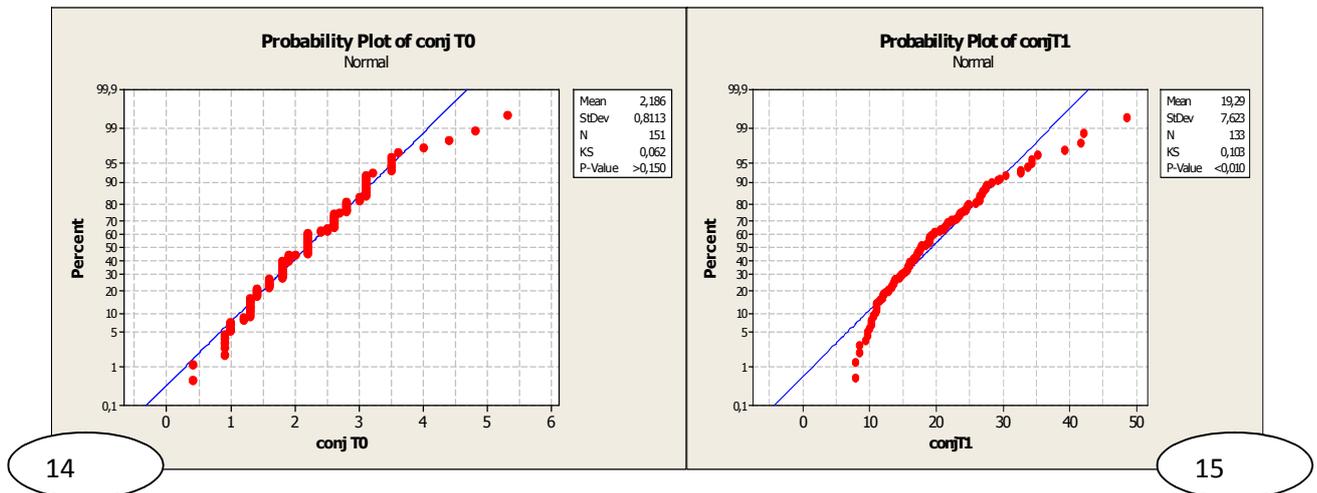
IV.2. Etude des variations morphométrique du conjonctif qui entour le muscle rouge

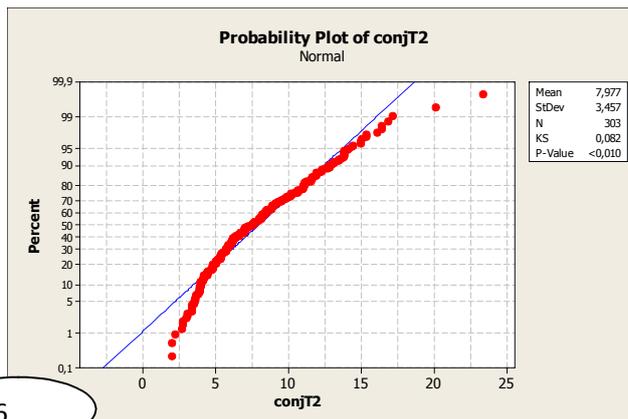
Comme pour la distribution diamètre des fibres rouges, nous avons procédé pour les données recueillis lors des mesures des distances qui séparent les fibres du muscle rouge, au test de normalité afin de s'assuré qu'il nous est possible d'appliqué les tests statistique relative à la loi normale.

IV.2.1. Test de normalité pour l'épaisseur du conjonctif qui sépare les fibres du muscle rouge (cj) :

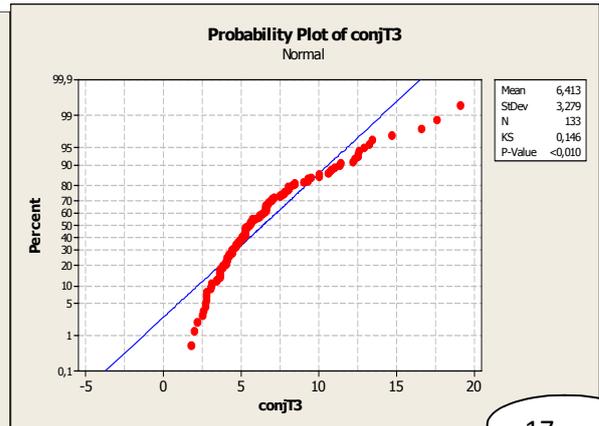
- Pour le lot T0 : $K_s(cjT0) = 0,062$ donc inférieur à $0,24$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(cjT1) = 0,068 < K_{tab}$: H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(cjT2) = 0,082 < K_{tab}$ H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.
- $K_s(cjT3) = 0,146 < K_{tab}$ H_0 est maintenue donc la normalité est prouvée au taux de sécurité de 95%.

Conclusion : Toutes les données des distributions et quelques soit les stades de prélèvement dans le cas de l'épaisseur du conjonctif obéissent à la loi normale donc nous pouvant utiliser l'étude statistique descriptive et le test T test de Student en toute sécurité (histogramme et courbe de loi normale annexe)





16



17

Graphes : (14, 15, 16, 17 ; T0, T1, T2, T3) graphes de probabilité de cj

IV.2.2. Statistique descriptive: cjT0; cjT1; cjT2; cjT3 (voir en annexes tableaux des données)

cjT0: la moyennes des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge du lot témoin sur les 30 lames est de:
 $2.2226\mu\text{m} \pm 0.83181$

cjT1: la moyennes des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge du lot témoin sur les 30 lames est de:
 $19.2872\mu\text{m} \pm 7.62277$

cjT2: la moyennes des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge du lot témoin sur les 30 lames est de:
 $8.1940\mu\text{m} \pm 3.71381$

cjT3: la moyennes des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge du lot témoin sur les 30 lames est de:
 $6.4128\mu\text{m} \pm 3.27910$

IV.1.3. Comparaison des diamètres moyens du muscle rouges

Hypothèse (Ho) : Si on refait la même expérience qu'elle est la probabilité que nos deux moyennes soit égale.

- si $p > 0,05$ les moyennes sont égales.
- si $p < 0,05$ les moyennes ne sont pas égales.

IV.1.3.1. Comparaison des moyennes cjT0 ; cjT1

Calcul de P: (voir annexe)

$P = 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouvé que les moyennes de la période T0 et T1 soient les mêmes

IV.1.3.2. Comparaison des moyennes cjT0 ; cjT2

Calcul de P: (voir annexe)

$P= 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T0 et T2 soient les mêmes

IV.1.3.3. Comparaison des moyennes cjT0 ; cjT3

Calcul de P: (voir annexe)

$P= 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T0 et T3 soient les mêmes

IV.1.3.4. Comparaison des moyennes cjT1 ; cjT2

Calcul de P: (voir annexe)

$P= 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T1 et T2 soient les mêmes

IV.1.3.5. Comparaison des moyennes cjT1 ; cjT3

Calcul de P: (voir annexe)

$P= 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T0 et T2 soient les mêmes

IV.1.3.6. Comparaison des moyennes cjT2 ; cjT3

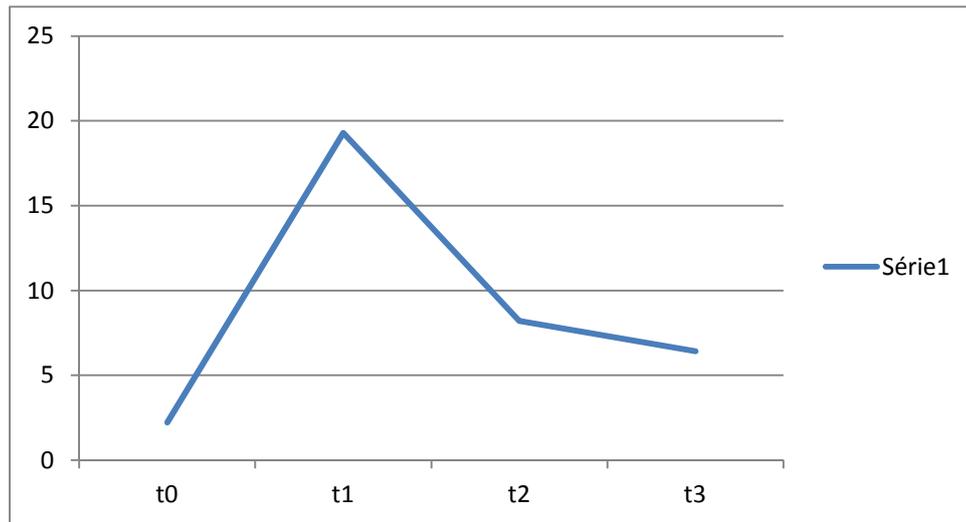
Calcul de P: (voir annexe)

$P= 0.000 < 0.05$ donc la différence entre la moyenne des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge (cjT0) et (cjT1) est significative. Nous avons moins d'une chance sur 1000 en répétant nos calculs de trouver que les moyennes de la période T0 et T2 soient les mêmes.

IV.1.5 Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps.

Moyenne cjTo	Moyenne cjT1	Moyenne cjT2	Moyenne cjT3
2.2226µm ± 0.83181	19.2872µm ± 7.62277	8.1940µm ± 3.71381	6.4128µm ± 3.27910

Tableau N°2 : Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps.



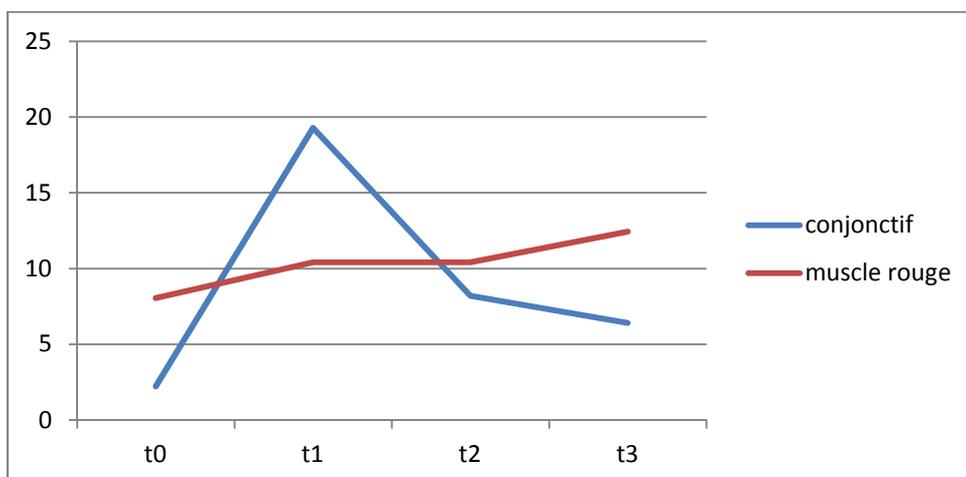
graphe N°18 : Evolution des épaisseurs du conjonctif qui sépare le muscle rouge en fonction du temps.

IV.3.5. Discussion : épaisseur du conjonctif

L'endomysium et le perimysium sont des structures permettant la cohésion myotomale, au fur et à mesure du temps de stockage, la distance qui sépare les fibres musculaires augmente de manière spectaculaire entre T0 et T1. Cette augmentation est expliquée par l'altération des fibres musculaires, de leur sarcolemme et des protéines du tissu conjonctif. Ceux-ci corroborent exactement les observations relevées par Alami et al, 2003, qui mettent en cause les dissociations des fibres, due aux clivages des myomères appelé par les inspecteurs « phénomènes de Gaping. » Dans notre cas il est dû à la destruction des myotomes par le froid et par les cristaux d'eau.

Entre T1 et T3 les distances entre les muscles tendent à se rétablir même si elle reste bien plus importante que celle observée dans le lot témoin.

IV.4. Evolution de l'ensemble des structures histologiques étudiées en fonction du temps



Graphe n° 19 : Evolution de l'ensemble des structures histologiques étudiées en fonction du temps

On observe que les deux courbes de l'évolution du muscle rouge, et tissu conjonctif suivent le même schéma entre le stade T0 et T1. Entre T2 et T3 le diamètre des fibres rouges se stabilise alors que le conjonctif continue à diminué de diamètre ; cette perte de l'épaisseur corrobore les mesures du diamètre des myotomes, puisque un équilibre doit se faire entre les deux milieux intra et extracellulaire. Durant la phase T2 et T3 l'évolution inversement proportionnel des deux mesures s'explique parfaitement puisque la circulation du système colloïdale se fait entre le compartiment cellulaire et le compartiment extra cellulaire.

V. Discussion générale :

Les résultats que nous avons obtenus sont fort encourageant pour le laboratoire d'histologie qui tente de se faire une place dans le monde du contrôle de la qualité des denrées d'origines aussi bien animal que végétal.

Le lot témoin présenté un diamètre moyen des fibres rouges $8.0556\mu\text{m} \pm 2.9495$ se diamètre à augmenté pour atteindre $10.41203\mu\text{m} \pm 4.88069$ se changement de diamètre de l'ordre du hautement significatif puisque P-value=0,000.

Bien que après un séjour de 25jours dans le froid négatif à donnée un diamètre du muscle rouge de $10.4120\mu\text{m} \pm 2.19873$ qui à première vue se rapproche du lot T1 (durée du séjour 10jours), les statistiques révèlent une différence entre la taille des deux lots avec un P-value de 0.000 soit hautement significatif.

Au stade de 30 jours de congélation le sarcoplasme est hypertrophié est le diamètre de $12,4248\mu\text{m} \pm 5.12307$ est très explicite.

Quant aux distances qui sépare les fibres rouges entre elles l'augmentation spectaculaire de l'épaisseur du conjonctif de $2.2226\mu\text{m} \pm 0.83181$ pour le lot T0 à $19.2872\mu\text{m} \pm 7.62277$ pour le lot T1 explique une modification de la structure qui se traduit par le passage des fluides d'un compartiment à l'autre. A partir de T2 ($8.1940\mu\text{m} \pm 3.71381$) et T3 ($6.4128\mu\text{m} \pm 3.27910$) un équilibre s'installe bien que dans tous les cas les p-value reste significatif, donc les épaisseurs ne sont pas les même autrement dit nous n'arriverons pas au retour vers les mesures initiales. Cette état de fait est prometteur pour la technique morphométrique ; en effet il suffira de déterminer un diamètre étalon pour chaque période de congélation et pourquoi pas l'utilisé pour daté les denrées des produits de la pêche congelé et même déterminer si le produit à séjourné ou pas au **congélateur**.

Nous pouvons aussi utiliser les observations des lames histologiques :

Sur les coupes histologiques **photos n°1** l'aspect du lot témoin montre une régularité de l'épaisseur du conjonctif ainsi qu'une uniformité de la structure des fibres rouges

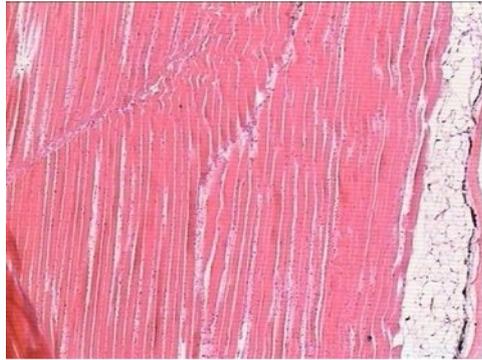
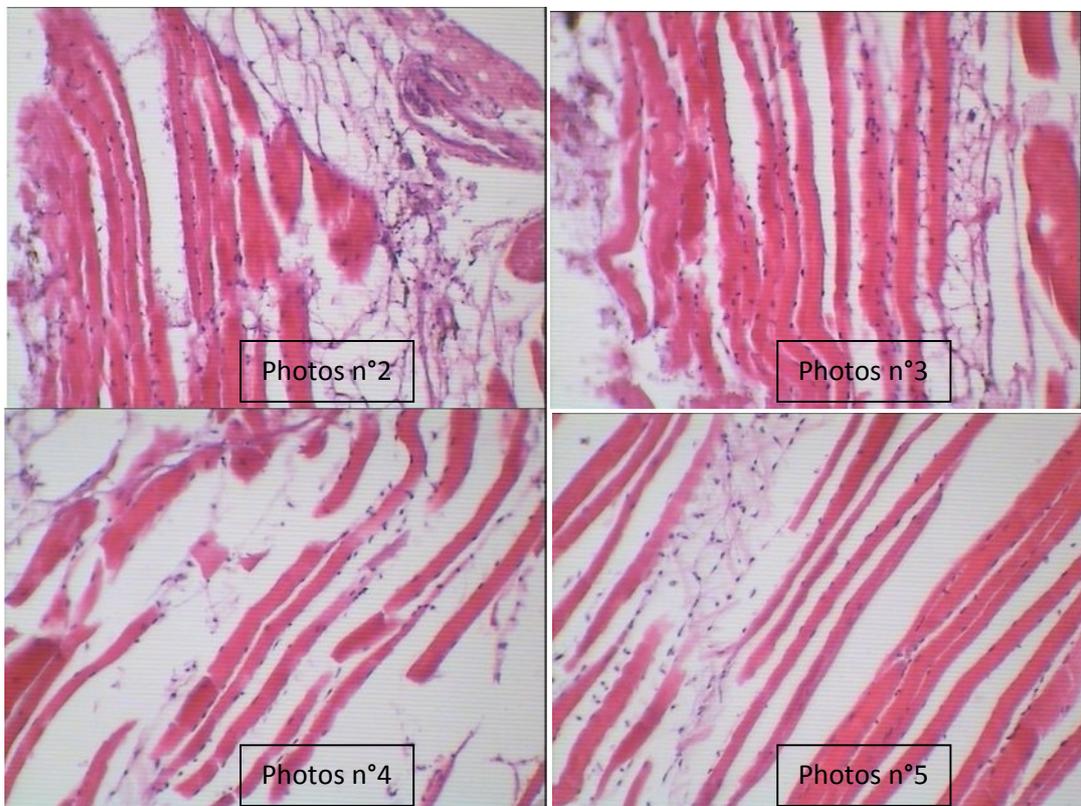


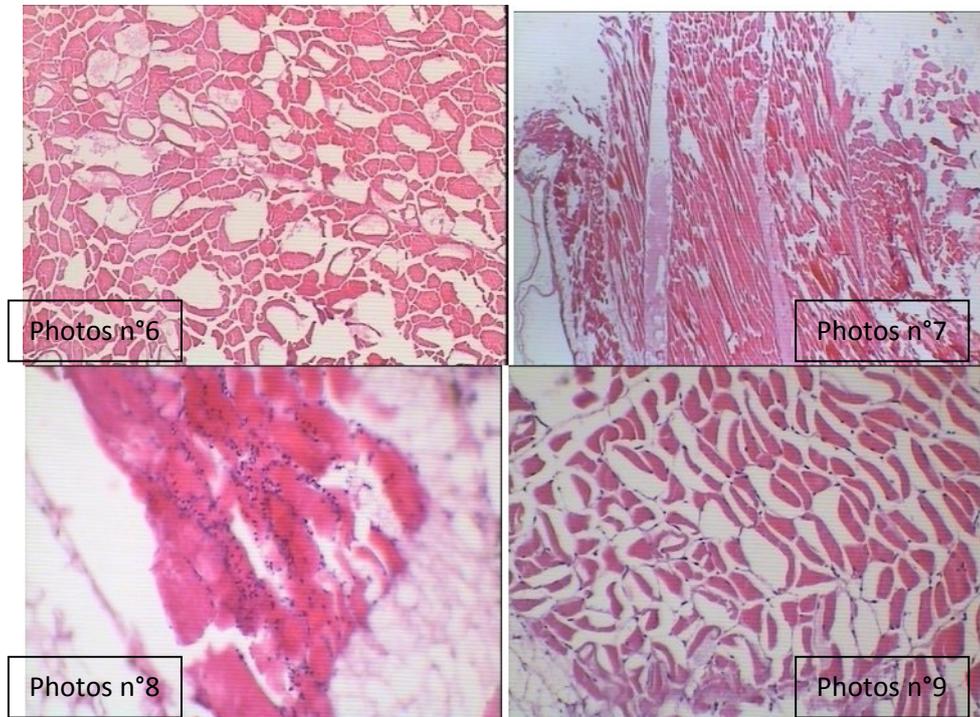
Photo n°1 aspect des myotomes rouge avant congélation coloration T° HE Gx40

Les photos 2 et 3 et qui sont au même grossissement (Gx40) et avec la même coloration HE, elles appartiennent au lot T1 (10 jours de congélation) montre clairement un début de désorganisation des fibres rouges. Sur les photos 4 et 5 le conjonctif devient très épais et les noyaux qui étaient logés dans le sarcoplasme se retrouvent dans l'espace interstitiel. Une destruction de quelques fibres rouges commence à s'observer bien quelle soit très faible en proportion soit en moyenne 30.769% du totale des fibres rouge par image capturée. Les fibres montrent clairement un aspect hypertrophié.

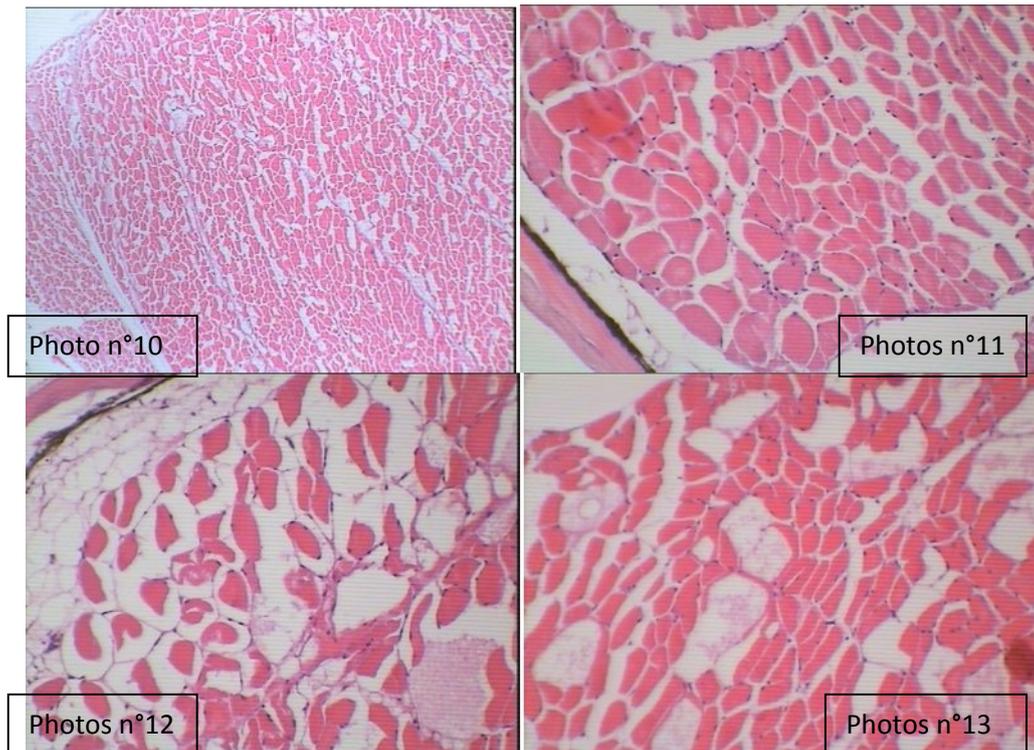


Le lot T2 des lacunes de très probablement engendré par les cristaux former au cours de la congélation s'observe dans l'ensemble des coupes histologiques nous avons sélectionné les photos 6 et 7 prise

respectivement à Gx10 et Gx4 pour les mettre en évidence. La photo n°8 montre l'hypertrophie des fibres et leurs désorganisation constatant les noyaux dans le conjonctif ; La photo n°9 révèle des myotomes détruit probablement par les cristaux d'eau qui se sont formés à l'intérieur du sarcolemme.



Les photos du lot T3 les lacunes probablement engendré par les cristaux former au cours de la congélation sont plus nombreux (photo n°10 Gx4 et photo n°12 Gx40) que pour le lot T2. Sur la photo 11, prise à Gx40, l'aspect des fibres rouges peu être facilement confondu avec celui des fibres intermédiaire car leur taille est leur aspect est très ressemblant ; ceci est du probablement à leur engorgement en eaux provenant de la fonte des cristaux d'eau. Les photos 12 et 13 présent à Gx40 montrent respectivement la première des déchirures des myotomes ainsi qu'une accumulation de liquides dans les interstices.



IV. Conclusion et Perspective :

Les tests statistique et les coupes histologiques nous on permit de mettre en évidence que le muscle rouge et le tissu conjonctif peuvent être pris de leur aspect comme référence, dans la datation de la durée de séjour de sardina aurata dans le froid négatif, vue la différence significative entre les différents stades.

Il faut établir une moyenne de taille définitive pour notre espèce. En répétant l'expérience plusieurs fois, afin d'avoir une référence chiffré qui jouera le rôle d'étalon pour daté cette espèce.

Nous venant avec peu de moyens, des références bibliographiques très rares et un temps très courts montrer que le laboratoire d'histologie peu avoir une place dans le monde de la qualité.

La même expérience peu se répétée pour d'autre espèce.

L'histologie alimentaire est à ces débuts de par le monde à savoir il n'existe que deux laboratoires, l'un crée par les coopératifs agrovétérinaires français « laboratoires hisalim ». et un autre en Islande qui coopère activement avec l'ensemble des industries aussi bien de conservation et de conditionnement des aliments. et même avec les industries agroalimentaire.

Le but et l'objectif est non seulement arrivé à prouvé l'utilité du laboratoire à travers se modeste travail mais de crée au sein de L'ENSV une unité d'histologie en hygiène alimentaire.



References bibliographiques:

Alami-Durante H., Bergot P., Rouel M., Goldspink G., 2000 : Effects of environmental temperature on the development of the myotomal white muscle in larval carp (*Cyprinus carpio* L.). J. Exp. Biol., 203, 3675-3688.

Alexander R.McN., 1969: The orientation of muscle fibers in the myomeres of fishes. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 49,263-290.

Akster H.A., 1981:Ultra structure of muscle fibres in head and axial muscles of the perch (*Perca fluviatilis* L.). CellTissue Res., 219, 111-131.

Akster H.A., 1985 :Morphometry of muscle fibre types in the carp (*Cyprinus carpio* L.). Relation ships between structural and contractile characteristics. Cell Tissue Res.,241, 193-201

Akster H.A., 1985: Morphometry of muscle fibre types inthe carp (*Cyprinus carpio* L.). Relation ships between structural and contractile characteristics. Cell Tissue Res., 241, 193-201

Bermer A, 1986 : degradation in muscle fiber connective tissues junctions in the spotted travella (*Secriolella puncta*) examined by scanning electron microscopy. J. food. Agric p1011-1018.

Bone 1978 : Bone Q., 1978 : Locomotor muscle. In: W.S. Hoar and D.J. Randall (eds), Fish Physiology, vol. VII, 361-424. Academic Press, New York, London.)

Dunajunski, 1979 : texture of fish muscle. J. of texture studies, p301, 318.

Dryer W.J, DINGLE J.R, 1979 : fish proteins with special references to freezing.extraitde : fish as food, "Borgstom G. Ed. Acada. Press ., New York.

Imbasciati B, prove spermentati per la dètèrminazione di un razionale sistema di , dècongèlazione della annali d'Igiene 1939 XLIX. 692.

Kilarski W., Kozłowska M., 1985: Histochemical and electronmicroscopical analysis of muscle fiber in myotomes of teleost fish. Gegenbaurs Morphol. Jahrb., 131, 55-72.

Love R M et al. 1969 : the connective tissue of fish II gaping in commercial species of frozen fish in relation to rigor mortis. J. food technol. P251-255

Marchis L, le froid industriel Paris 1925.

Mascarello et al 1986 Mascarello F., Romanello M.G., Scapolo P.A., 1986: Histochemical and immunohistochemical profile of pink muscle fibres in some teleost. Histochem., 84, 251-255.)

Plank R, procédès modernes de congèlation rapide conference fait à Paris le 22 aout 1929 au congrès des sociétés international d' exploitation de la méthde de congèlation d'Ottesen.

Bull. Int. Des renseignements frigorifique 1930,XI 138.

Rome L.C., Funke R.P., Alexander R. McN, Lutz G., Aldridge H., Scott F., Freadman M., 1988
Why animals have different muscle fibre types. Nature, 335, 824-827

Sainclevier M 1983 : l'industrie alimentaire halieutique, science agronomique.

Sikoredki Z E. 1980 : structure and proteins of fish part 2. Extrait de : advance in fish science and technology. Cornell J. fishing new books Ltd, farnham, England.

Sanger A., Claassen H., Adam H., 1988:The arrangement of muscle fiber types in the axial muscle of various cyprinids (Teleostei). Zool. Anz., 221, 44-49.

Sanger et al ;1989: Sanger A., Goldschmid G., Adam H., 1989. Muscle fiber type distribution in various cyprinids. Progr. Zool., 35, 561-563.

Stoiber W., Haslett J.R., Steinbacher P., Freimuller M.,Sanger A.M., 2002:Tonic fibres in axial muscle of cyprinid fish larvae: their definition, possible origins and functional importance. Anat. Embryol., 205, 113-124.

Van Raamsdonk W., Pool C.W., Tekronnie G., 1978 : Differentiation of muscle fiber types in the Teleost *Brachidanio rerio*. Anat. Embryol., 153, 137-155

Van Raamsdonk W., Tekronnie G., Pool C.W., Van de Laarse W., 1980 : An immune histochemical and enzymic characterization of the muscle fibres in myotomal muscle of the teleost *Brachidanio rerio*, Hamilton-Buchanan. Acta Histochem., 67, 200-216.

Van Raamsdonk W., Van't Veer L., Veeken K, Heyting C.,Pool C.W., 1982. Differentiation of muscle fiber types in the Teleost *Brachidanio rerio*, the zebrafish. Anat. Embryol., 164, 51-62.

Taylor H.F. refrigeration of fish , appendice V II au report of the U.S. commissioner, 1927.

Résumé :

La sardine est le poisson le pins consommé en Algérie va sa valeur nutritive, en raison de son coût relativement bas et son abondance par rapport aux autres sources de protéines.

L'objet de notre étude expérimentale a pour but d'évaluer les modifications de la chair de poisson au cours de la décongélation, nous avons réalisés un examen histologique sur les différents types de muscle au niveau de laboratoire d'histologie de L'ENSV.

Nos résultats ont montré que la chair de sardinella aurita a été modifiée pendant la congélation, par une variation des diamètres des fibres musculaire et du conjonctif.

Summary:

The sardine is the fish more consumed in Algeria considering hs food value, because of its relatively low cost and its abundance compared to the other sources of proteins.

The purpose of the object of our experimental study is to evaluate the modifications of the fish flesh during defrosting; we carried out a histological examination on the various types of muscle on the level of laboratory of histology of the ENSV.

Our results showed that the flesh of sardinella aurita was modified during congelation, by a variation of the diameters of muscle fibres and the conjunctive one.

الملخص

يعتبر السردين السمك الأكثر استهلاكاً في الجزائر نظراً لقيمه الغذائية وفلة تكلفته وتوفره بكثرة مقارنة بالمواد البروتينية الأخرى

لهذا قمنا بهذا العمل والذي أجري بمخبر الأنسجة بالمدرسة الوطنية العليا للبيطرة وذلك بعمل شرائح مجهرية على مختلف أنواع الألياف العضلية وذلك أثناء تجميدها وإعادة تدويرها

النتائج المتحصل عليها تؤكد أن لحم السردين قد تغير أثناء تجميده وإعادة تدويره وذلك بتغير في قطر الألياف العضلية والنسيج الرابط بينهما