

Intégration de données pour la qualité de la viande chez le porc : Méta-analyse et analyse multidimensionnelle

Btissam Salmi-Boukhari

▶ **To cite this version:**

Btissam Salmi-Boukhari. Intégration de données pour la qualité de la viande chez le porc : Méta-analyse et analyse multidimensionnelle. Alimentation et Nutrition. AgroParisTech, 2011. Français. NNT : 2011AGPT0060 . tel-01124045

HAL Id: tel-01124045
https://pastel.hal.science/tel-01124045

Submitted on 24 Mar 2015

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

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

Doctorat ParisTech

THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech)

Spécialité : Sciences du vivant

présentée et soutenue publiquement par

Btissam SALMI

le 2 Décembre 2011

Méta-analyse et analyse multidimensionnelle : application à la qualité de la viande de porc

Directeur de thèse : ***Jean-Pierre BIDANEL***

Codirecteur(s) de thèse : ***Catherine LARZUL***

Travail réalisé à l'INRA, UMR 1313 Génétique Animale et Biologie Intégrative (GABI) F-78352 Jouy-en-Josas

Jury :

M. Etienne VERRIER, Professeur, AgroParisTech, Paris	Président
Mme Pilar HERNÁNDEZ, Professeur, Universidad Politécnica de Valencia	Rapporteur
Mme Isabelle ORTIGUES-MARTY, Directrice de Recherche, INRA	Rapporteur
Mme Marie-José MERCAT, Ingénieur, IFIP (Insitut du porc), Rennes	Examinateur
Mme Catherine LARZUL, Directrice de Recherche, INRA GABI, Jouy-en-Josas	Examinateur

RESUME

Méta-analyse et analyse multidimensionnelle : application à la qualité de la viande de porc

La qualité de la viande englobe des critères d'importance différente suivant l'espèce animale considérée. Chez le porc, la qualité de la viande a un impact économique important et de nombreux travaux ont pu montrer que les interactions entre le type génétique (particulièrement les gènes halothane et Rendement Napole), les conditions d'élevage et les conditions d'abattage des animaux déterminent la qualité de la viande de porc. L'Europe, longtemps leader du marché mondial des produits de la viande de porc, se trouve aujourd'hui confronté à la concurrence d'autres pays, notamment le Brésil, les Etats-unis et la Chine. Ce projet de thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet européen multidisciplinaire portant sur l'amélioration de la qualité de la viande de porc et des produits dérivés pour le consommateur. Un des modules est dédié à l'intégration des connaissances passées et celles à venir afin de construire des modèles de prédiction des qualités technologiques et sensorielles de la viande de porc à partir des données se rapportant à l'animal, ainsi qu'aux conditions d'élevage et de pré-abattage. L'objectif de la thèse est d'intégrer l'ensemble des données bibliographiques et expérimentales relatives aux principaux facteurs influençant la qualité de viande dans le cadre d'une méta-analyse, qui est une démarche statistique combinant les résultats d'une série d'études indépendantes sur un problème donné. Les résultats obtenus ont permis de préciser l'effet du gène halothane, des temps de jeûne, de transport et de repos à l'abattoir sur les principaux paramètres d'évaluation de la qualité technologique de la viande de porc. En effet, nos résultats ont pu confirmer l'effet significatif du gène halothane sur l'ensemble des paramètres de qualité étudiés. Cependant, l'effet significatif du gène halothane a été associé à celui de la race uniquement pour expliquer les variations des paramètres suivants : L* (la réflectance), b* (indice de jaune) et les pertes d'exsudat (DL). La méta-régression a permis de mettre en évidence l'effet du poids à l'abattage sur les différences de pH ultime (pHu) entre les génotypes homozygotes NN et nn. Parmi les facteurs de pré-abattage analysés, nos résultats indiquent que le temps de jeûne affecte le pHu et le DL mesurés au niveau du muscle *longissimus*, alors que le temps de repos à l'abattoir affecte le pHu du muscle *semimembranosus*. Le transport et l'interaction transport x temps de jeûne n'avaient d'effet significatif que sur les variations de DL. L'effet significatif de l'apport en vitamine E sur le processus d'oxydation des lipides pendant la conservation de la viande, et par conséquent, sur

la qualité technologique de la viande a pu être démontré en utilisant un modèle de régression méta-analytique non linéaire. D'un point de vue statistique, la comparaison des méthodes statistiques de méta-analyse par approche bayésienne et fréquentiste a permis de mettre en évidence l'avantage de la première quant à l'obtention de résultats plus probants lorsqu'il s'agit de méta-analyse sur un nombre de données relativement limité.
Parallèlement à l'approche méta-analytique, une étude exploratoire par analyse multivariée a été réalisée afin d'identifier les corrélations qui existent entre un très grand nombre de variables structurées en groupes distincts. Nos résultats ont montré que les variables discriminant les cinq classes de race (Large White et Basque) x système d'élevage (conventionnel, alternatif et extensif) étaient les mêmes que celles qui discriminaient les individus entre eux, en l'occurrence les variables transcriptomiques, chimiques et technologiques. Le groupe composé des variables relatives à la réactivité à l'abattage discriminaient principalement les systèmes d'élevage, en particulier la classe des porcs basques élevés dans le système extensif.
Mots-clés : qualité de viande, méta-analyse, analyse multivariée, porc

ABSTRACT

Meta-analysis and multidimensional analysis: application to the pig meat quality traits

Meat quality includes criteria of different importance depending on the animal species. Meat quality is a significant economic factor in pork production, and numerous publications have shown that it is strongly influenced by the interaction between genetic type (especially the halothane gene (Hal) and Napole yield gene (RN)), breeding conditions, and pre-slaughter and slaughter conditions of animals. The European Union, longtime leader of the global market of pork and pork products, now faces increasing competition from other countries, including Brazil, the United States and China. This thesis project is part of a multidisciplinary European project on improving the quality of pork and pork products for the consumer. One of the modules of this project is dedicated to the integration of existing and upcoming data to produce a model for predicting technological and sensory pork quality, based on animal, production, and slaughter information. The objective of this thesis is to synthesize existing knowledge derived from bibliographic and experimental data relating to the main factors

influencing meat quality within a meta-analysis, which is a statistical approach combining the results of a series of independent studies on a given problem. The results of this work have confirmed the effect of the halothane gene, as well as fasting, transport and lairage times on most of the analyzed parameters of technological pork meat quality. Indeed, our meta-analysis confirmed the significant effect of the halothane gene on all the analyzed meat quality attributes. However, the halothane gene effect was associated with the breed effect only for the following variables: L*-value (reflectance), b*-value (yellowness) and DL (drip loss). Slaughter weight contributed significantly only to the explanation of differences in ultimate pH between homozygous genotypes: NN and nn. Regarding the preslaughter conditions, the results of our meta-analysis showed that fasting time had a significant effect on pHu and DL measured in *longissimus* muscle. While, lairage affected only the pHu in *semimembranosus* muscle. Interestingly, we found that DL was the lonely attribute significantly affected by transport time and its interaction with fasting time. The significant effect of the vitamin E supplementation on lipid oxidation process in pork and, therefore, affect the technological meat quality, was demonstrated by using a non linear meta-analytic regression model. Statistically, the comparison between the Bayesian and frequentist meta-analytic approaches has highlighted the ability of the hierarchical Bayesian model to reduce uncertainty in parameter estimates, especially when the number of studies included in the meta-analysis is relatively limited.

In addition to the meta-analytic approach, an exploratory study by multivariate analyses was performed to identify the correlations among a large number of variables structured into separate groups. Our results showed that the variables which discriminated the five classes of breed (Large White and Basque pigs) x rearing system (conventional, alternative and extensive) were the same as those discriminating individuals. Indeed, a first group composed of transcriptomic, chemical and technological variables discriminated breeds. Slaughter reactivity variables discriminated rearing systems, especially the Basque pigs reared in the extensive system.

Keywords: meat quality, meta-analysis, multivariate analysis, pig

A mon fils, Adam,

A mon mari, Sifeddine,

Et à ma famille.

REMERCIEMENTS

Et voilà la page tant attendue, celle qui finalise la thèse et ces belles années. L'unique page qui sera lue par plus de 6 personnes, si si, j'ai espoir !

Parfois pendant la thèse, on peut se sentir seul(e). Mais on a beau dire, on n'est pas seul(e) tout le temps, loin de là. Toutes mes pensées vont à ceux qui m'ont tant aidée, tant apportée durant ces années, et j'aimerais citer :

Mes deux encadrants de thèse, Jean-Pierre Bidanel et Catherine Larzul .Votre expertise, vos conseils et votre disponibilité m'ont été indispensables pour avancer dans ce travail, particulièrement en cette dernière ligne droite.

J'adresse toute ma gratitude à Jean-Pierre, pour m'avoir accueillie au sein de GABI et avoir permis la réalisation de cette thèse dans d'excellentes conditions, et à Catherine qui a rempli son rôle avec beaucoup de savoir faire, a su me faire confiance et m'accorder une grande liberté et autonomie pour avancer comme bon me semblait … Je tiens à vous remercier d'avoir répondu à toutes mes sollicitations malgré vos obligations.

Je tiens à remercier également Etienne Verrier d'avoir accepté de présider le jury de thèse. Une mention particulière s'adresse à Isabelle Ortigues-Marty et Pilar Hernández de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs attentifs de ce travail.

Un grand merci aux membres de mon comité de thèse composé de Claudia Terlouw, Bénédicte Lebret, Jean-Yves Dourmad, Etienne Verrier, Catherine Larzul et Jean-Pierre Bidanel qui, par leur expertise, leurs idées, remarques et réflexions ont apporté beaucoup à la réalisation de ce projet.

Outre le financement de cette thèse, je suis heureuse d'avoir collaboré dans le cadre du projet Q-Porkchains avec Laszlo Trefan (Scottish Agricultural College), Andrea Wilson (The Roslin Institute, Edinburgh University), Karel de Greef (Wageningen) et Jesper Bloom-Hansen (Danish Meat Research Institute).

Pour les statistiques : Merci à Denis Laloë, qui s'est réintéressé à la génétique du cochon pour m'aider dans les analyses multivariées. Ton investissement et ta disponibilité sont à l'origine de la qualité du travail qu'on a fait : le beau poster, et les belles figures ! Je te remercie également d'avoir été mon mentor en R.

Un grand merci à Jean-Louis Foulley, qui m'a aidée à résoudre mon problème d'estimation de variances dans le cadre de la méta-analyse, ainsi que pour son cours d'initiation à l'approche Bayésienne qui m'a été très utile pour la suite de mon travail.

Au sein de la dynamique équipe Porc de GABI, j'étais particulièrement bien entourée : Marie-Pierre, Thierry, Lauriane, Hélène, Catherine, Jean-Pierre, Pierre, Sandrine et Romain. Un grand MERCI à vous tous !

Par ailleurs, je tiens à ne pas oublier Hervé Lagant, Fabien Dequine, François Guillaume et Thierry Heirman pour leur grande disponibilité, leurs astuces et leurs dépannages informatique et statistiques.

Merci aussi à François et Serge pour leur travail de reprographie et pour leur aide précieuse lors de l'organisation de mes visioconférences.

Une pensée particulière s'adresse à Christelle, Manuéla, Sylvie, Valérie, Cécile, Pascale et Evelyse pour leur aide dans les diverses démarches administratives, et également pour le soutien qu'elles m'ont apportée pendant les derniers mois qui ont été particulièrement difficiles. Merci à toi Christelle, d'avoir été à mon écoute à chaque fois que je frappais à ta porte !

Je remercie Françoise Launay et Corinne Fiers pour leur gentillesse et l'aide administrative précieuse qu'elles m'ont apportée. Merci à l'école doctorale pour toutes les formations de qualité auxquelles j'ai pu participer.

La liste serait longue à établir, alors je remercie l'ensemble des membres de GABI 211. Durant ces quatre dernières années passées en votre compagnie, j'ai eu le plaisir de retrouver chaque jour cette ambiance conviviale dont vous seuls avez le secret. Merci aussi pour tous les bons moments partagés ensemble au Café cochon. Vous faîtes de ce bâtiment un lieu de travail et de bonne humeur très agréable !

Un remerciement particulier à mes amies qui, elles aussi, ont vécu cette thèse du début à la fin et m'ont aidée dans l'aboutissement de ce travail : Andrea pour son soutien sans faille, son inconditionnelle présence dans les moments importants, ses encouragements et ses conseils avisés, et Sandrine pour son optimisme à toute épreuve et ses conseils précieux.

Je tiens à adresser un remerciement spécial à toi Sophie, ma voisine de bureau pendant près de deux années, pendant lesquelles tu me transmettais ta joie et ta bonne humeur. Ne change rien, et reste comme tu es, car tu es quelqu'un de formidable !

Je tiens à saluer et encourager tous les amis et collègues doctorants de GABI, de Jouy et d'ailleurs qui m'ont accompagnée dans cette course effrénée ou qui viennent de se lancer dans l'aventure.

Il y aurait beaucoup d'autres personnes que j'aimerais remercier pour leur soutien mais je pense qu'il faut quand même un peu écourter. Cependant, je tiens à remercier Aurélia et Clotilde pour leur soutien. Guillemette Marot pour ses conseils statistiques qui m'ont beaucoup aidée. Merci aussi à tous les anciens et nouveaux thésards que je n'ai pas encore remercié ainsi que tous les stagiaires et post-docs, particulièrement ceux que j'ai côtoyé le plus longtemps : Haifa Benhajala, Alban Bouquet, Bérénice Huquet, Romain Dassonneville, Guillaume Le Mignon, Chris Hoze.

Je tiens à remercier ma famille et belle-famille, au Maroc et en France, pour leur soutien et l'intérêt qu'ils ont manifesté pour comprendre les tenants et aboutissants de ce travail réalisé pendant les quatre dernières années.

Je voudrais particulièrement remercier mes parents qui m'ont offert tant de possibilités, et sans qui, je ne serais pas là aujourd'hui entrain d'écrire ces mots… Merci à mon père pour toujours s'être inquiété de « ma thèse », merci maman pour ta sérénité et tes prières qui m'ont toujours accompagnée même si la distance nous sépare. Merci à mon frère et à ma sœur qui m'ont toujours accompagnée par leurs pensées et encouragements quand j'avais besoin d'eux.

Je souhaite aussi te remercier Sifeddine pour ton amour inconditionnel et irremplaçable, sans lequel cette thèse n'aurait peut être pas été ce qu'elle est aujourd'hui. C'est dur de partager sa vie avec une thésarde qui travaille le soir de chez elle, reste accrochée à son ordinateur des week-ends entiers et a pour sujet de conversation favori… sa thèse. Merci à toi Sifeddine d'avoir toujours fait preuve de patience à mon égard et avoir conservé cet humour qui m'a toujours remonté le moral dans les moments difficiles.

Enfin cette dernière pensée est destinée à mon fils Adam…et ses sourires charmeurs mais qui ravivent chez moi la motivation à chaque fois que je le regarde. Je te dédie cette thèse parce que ces deux dernières années m'ont fait comprendre que tu contribues, plus que tout autre chose, à mon épanouissement en cette nouvelle vie de mère.

Un grand merci à tous ceux que je ne cite pas ici mais que je porte dans mon cœur !!

Sommaire

REMERCIEMENTS **9**

LISTE DES PUBLICATIONS **15**

Introduction générale **17**

Chapitre 1- Facteurs influençant la qualité de viande chez le porc **23**
Partie 1.1 - Définition et méthodes d'évaluation **27**
Partie 1.2 - Les principaux facteurs influençant la qualité de viande **41**

Chapitre 2 - Méta-analyse : Synthèse bibliographique **81**
Partie 2.1 - Généralités **85**
Partie 2.2 - Protocole-type de la méta-analyse **97**
Partie 2.3 - Protocole statistique pour mener une méta-analyse **109**
Partie 2.4 - Applications de la méta-analyse en sciences animales **141**

Chapitre 3 - Méta-analyse des principaux facteurs influençant la qualité de viande **165**
1. La base de données QPC6 ..... **167**
2. Méta-analyse de l'effet du gène Halothane **176**

Chapitre 4 - Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système d'élevage **229**

Discussion générale **265**

Annexes……..……**273**

Liste des figures

Figure 1.1 - Schéma d'acidification du muscle après abattage (Roux, 2006)..... 33

Figure 1.2 - Relations entre les caractéristiques musculaires et les critères de qualité de la viande (Hocquette *et al.*, 2000). 34

Figure 1.3 - Couleur de la viande. A. Viande PSE de couleur claire – B. Viande normale – C. Viande DFD de couleur sombre (Roux, 2006) 38

Figure 1.4 - Les principaux facteurs influençant les paramètres de qualité de viande chez le porc. (Heyer *et al.,* 2004). 43

Figure 1.5 - Patrimoine génétique et vécu influencent la résistance au stress : représentation schématique des liens entre la réactivité au stress, le stress à l'abattage et les qualités des viandes (Terlouw *et al.,* 2001). 59

Figure 1.6 - Evolution du rythme cardiaque (valeurs moyennes) chez des porcs pendant le transport durant une courte durée (n = 91), et pendant les phases ante-mortem (repos à l'abattoir) et d'abattage (étourdissement et saignée). (Álvarez *et al.*, 2009) 60

Figure 1.7. – Risque d'incidence de la viande PSE chez le porc selon la densité de chargement (0.25 – 0.5 m² kg de poids vif) et le temps de transport. (Guárdia *et al.,* 2004) 64

Figure 2.1 - Principales étapes d'une méta-analyse (Sauvant *et al.,* 2005)..... 99

Figure 2.2 - Exemple de relation intra-expérience curvilinéaire et inter-expériences négative (Sauvant *et al.,* 2005). 102

Figure 2.3 - Exemple de relation inter-expériences curvilniéaire et intra-expérience linéaire (Sauvant *et al.,* 2005). 103

Figure 2.4 - Différenciation des zones possible, plausible et observée en méta-analyse (Sauvant *et al.,* 2005). 104

Figure 2.5 – Illustration théorique d'une situation d'absence de biais de publication (cas de la régression des effets traitement sur les effectifs par étude) (Whitehead, 2002)..... 126

Figure 2.6 – Illustration théorique d'une situation de présence de biais de publication (cas d'une régression des effets traitement sur l'erreur standard de chaque étude) (Shachar, 2008). 127

Figure 2.7 - qqplot montrant la distribution des résidus du modèle de régression de l'effet du gène halothane sur le pH45 (Salmi *et al.,* 2010). 135

Figure 2.8 - Histogramme de distribution des écarts-types résiduels des différentes expérience (Sauvant *et al.,* 2005). 136

Figure 2.9 - Représentation schématique de la chaine de traitement Bayésien (Ono, 2007). 137

Figure 2.10 - Evolution de la « pénétration » des méta-analyses dans les publications scientifiques (Sauvant *et al.,* 2005). 143

Figure 2.11 - Visualisation des résultats de la méta-analyse des QTL du gain moyen quotidien (a) et l'épaisseur du lard dorsal (b) sur le chromosome SSC4 chez le porc. (Veyriéras, 2006). 151

_Toc301886958
Figure 3.1 – Schéma décrivant la complexité des facteurs affectant les paramètres de la qualité de viande de porc et leurs interactions. 168

Figure 3.2 – Diagramme des tâches attribuées aux chercheurs et aux méta-analystes concernant l'enregistrement des données dans la base de données QPC6. 174

Figure 4.1 - Structure des données dans le cadre d'une AFM 233

Liste des tableaux

Tableau 1.1 - Caractéristiques de qualité de viande des différents génotypes pour le gène HAL (Guéblez et al., 1995 et 1996) 46

Tableau 1.2 - Caractéristiques de qualité de viande des différents génotypes pour le gène RN (Le Roy *et al.,* 1996) 48

Tableau 2.1 – Valeurs exactes du facteur de correction de biais J(m) selon le nombre d'études incluses "m" (Hedges et Olkin (1985), cité par Whitehead (2002)). 115

Tableau 3.1 – Liste des principaux éléments d'informations extraites des publications ainsi que les données essentielles qui y correspondent. 169

LISTE DES PUBLICATIONS

Revues à comité de lecture

- **Article 1 : Salmi B.,** L. Trefan, J. Bloom-Hansen, J. P. Bidanel, A. B. Doeschl-Wilson and C. Larzul. 2010. Meta-analysis of the effect of the halothane gene on six parameters of pig meat quality and on carcass leanness. Journal of Animal Science, 88: 2841 - 2855.

- **Article 2 : Salmi B.,** L. Trefan, L. Bünger, A. Doeschl-Wilson, J.P. Bidanel, C. Terlouw, and C. Larzul. 2012. Bayesian meta–analysis of the effect of fasting, transport and lairage times on four attributes of pork meat quality. Meat Science, 90: 584 – 598.

- **Article 3 : Salmi B.,** C. Larzul, M. Damon, L. Lefaucheur, J. Mourot, E. Laville, P. Gatellier, K. Méteau, D. Laloë and B. Lebret. A multivariate analysis comparing pig meat quality traits according to breed and rearing system. Animal. (Soumis)

- **Article 4 :** Trefan L., L. Bünger, J. Bloom-Hansen, J.A. Rooke, **B. Salmi,** C. Larzul, C. Terlouw, and A. Doeschl-Wilson. 2011. Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. Meat Science, 87: 305 - 314.

- **Article 5:** Trefan L., L. Bünger, J.A. Rooke, J. Bloom-Hansen, **B. Salmi,** C. Larzul, C. Terlouw, A. Doeschl-Wilson. 2011. Meta-analysis of effects of dietary vitamin E and post slaughter storage conditions on changes of redness (a*) of pork. Archiv Tierzucht, 5: 564 - 577.

Colloques internationaux

- **Salmi B.,** C. Larzul, M. Damon, L. Lefaucheur, J. Mourot, E. Laville, P. Gatellier, K. Méteau, D. Laloë and B. Lebret. 2010. Multivariate analysis to compare pig meat quality traits according to breed and rearing system. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Leipzig, Germany, August 1-6.

- **Salmi B.,** Bidanel J.P., and Larzul C., 2009. Meta-analysis of the halothane gene effect on parameters of pig meat quality. Annual conference of British Society of Animal Science. Southeport, UK, 30 March-1st April.

- **Salmi B.,** Bidanel J.P., and Larzul C., 2009. Meta-analysis of the halothane gene effect on seven parameters of pig meat quality. 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Barcelona, Spain, 24 - 27 August.

Colloques français

- **Salmi B.,** Bidanel J.P., et Larzul C., 2009. Méta-analyse de l'effet du gène halothane sur les mesures de qualité de la viande porcine. Journées de la Recherche Porcine en France, 41, 19 -24.

- **Salmi B.,** C. Larzul, M. Damon, L. Lefaucheur, J. Mourot, E. Laville, P. Gatellier, K. Méteau, D. Laloë et B. Lebret. Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système d'élevage. Journées de la Recherche Porcine en France, 43, session de Génétique, Poster G03.

Introduction générale

En 2009, un effectif de 14,5 millions de têtes de porcs ont été recensés en France (Les cahiers de FranceAgriMer, 2009). Après avoir augmenté régulièrement jusqu'en 1998, la production et la consommation de viande de porc se sont stabilisées et évoluent peu depuis. Le Grand Ouest (Bretagne, Pays de la Loire et Basse Normandie), le fer de lance de la filière porcine française, détient 56% des volumes de la production française en 2009 (Chambre régionale d'agriculture de Bretagne, 2009).

Avec près de 36 kg par an et par habitant, la viande de porc est la plus consommée en France. A l'échelle européenne, la France est le 3ème pays producteur de porc de l'union européenne (10,3% de la production communautaire), derrière l'Allemagne (20,7%) et l'Espagne (16,1%) (Tregaro, 2010).

Parmi les principaux enjeux de la filière porcine d'aujourd'hui, on cite : l'acceptabilité du produit par la société (bien être, environnement), et sa réponse aux exigences du consommateur en termes de prix, qualité et sécurité (Dourmad, 2008).

Aujourd'hui, la qualité de la viande est un sujet de plus en plus traité par la filière porcine française. Chaque intervenant du milieu a un rôle à jouer pour que l'ensemble de l'industrie demeure concurrentielle sur la scène mondiale où l'Europe occupe une place de leader mais qui est de plus en plus concurrencée par le Brésil, la Chine, les Etats-Unis et le Canada.

Dans le cadre de cette concurrence, un projet européen multidisciplinaire, de grande envergure, portant sur l'amélioration de la qualité de la viande de porc et des produits dérivés pour le consommateur a débuté en 2007. Une des tâches de ce projet, dans lequel s'inscrit ce travail de thèse, est dédiée à l'intégration des connaissances passées et à venir afin de construire un modèle de prédiction des qualités technologiques et sensorielles de la viande de porc à partir des données se rapportant à l'animal, ainsi qu'aux conditions d'élevage et d'abattage. Son but principal est de synthétiser les résultats d'études menées à l'échelle internationale afin d'offrir des lignes de conduite pour obtenir des produits carnés en accord avec les demandes spécifiques se rapportant à la qualité de la viande. En effet, le type génétique, le mode d'élevage des animaux et leur alimentation, mais aussi le stress lié aux conditions de pré-abattage et d'abattage et les procédés mis en œuvre pendant cette période, ont des effets sur la biochimie du muscle et des répercussions sur les qualités technologiques et sensorielles des viandes.

Ce projet a été mené en partenariat avec le Scottish Agricultural College et le Danish Meat Research Institute.

Cette thèse a un double objectif : d'abord, construire une base de données exhaustive des travaux publiés concernant les facteurs précités influençant la qualité de viande de porc. Cette base de données interactive (www.qpc6.dk) a été enrichie par l'ensemble des partenaires du projet. Ensuite, une méta-analyse visant à construire des modèles prédictifs qui décrivent les relations entre les caractéristiques de l'animal et les conditions d'élevage et de pré-abattage et la qualité technologique et sensorielle de la viande. L'un des attendus de cette partie est également de mettre en évidence des effets peu ou pas explorés jusqu'à présent.

Le deuxième objectif de ce travail de thèse est d'identifier la structure des corrélations entre un très grand nombre de variables issues de différents types de mesures qui visent toutes à décrire les caractéristiques musculaires en relation avec la qualité de viande de porc mais qui sont effectuées sur un effectif limité. Cette étude a été réalisée par le biais des analyses exploratoires multivariées, notamment les analyses en composantes principales et les analyses factorielle multiples.

La thèse est structurée en cinq grandes parties :

- Une première partie bibliographique, où sont présentés les principaux facteurs qui contrôlent la qualité de viande de porc, ainsi que les principaux paramètres d'évaluation de cette qualité.
- Une seconde partie consacrée à une revue comparative complète des approches statistiques de la méta-analyse existant dans la littérature.
- Une troisième partie reprend les différentes méta-analyses réalisées dans le cadre de ce travail : méta-analyses du gène halothane, des conditions de pré-abattage et de l'effet de la supplémentation de la vitamine E sur les qualités technologiques de la viande de porc.
- Une quatrième partie destinée à une analyse exploratoire des structures des corrélations entre neuf groupes de variables correspondant aux principaux paramètres de qualité de viande et comment ces groupes de variables discriminent les animaux selon cinq classes de race x systèmes d'élevage.
- Une dernière partie est consacrée à la discussion générale.

Références

Chambre régionale d'agriculture de Bretagne, 2009. Analyse de la compétitivité de la filière porcine bretonne, Chambre régionale d'agriculture de Bretagne – Observatoire économique des IAA de Bretagne, 202 p.

Dourmad J.Y., 2008. Filières animale: la filière porcine. INRA Département de Physiologie Animale et Systèmes d'Elevage. http://www.inra.fr/internet/Departements/phase/spip.php?article66 (consulté le 10 juillet 2011).

Les cahiers de FranceAgriMer, 2009. Filière porcine : Cheptel porcin en France en 2009. http://www.franceagrimer.fr/informations/publications/F-elevage/09-09-15/porcs-96B.pdf (consulté le 10 juillet 2011).

Tregaro, 2010. La filière porcine française face à l'épreuve du dynamisme de la filière nord-européenne. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. http://www.academie-veterinaire-defrance.org/bulletin/pdf/2011/numero01/27.pdf (consulté le 11 août 2011), 28 p.

Chapitre 1

Facteurs influençant la qualité de viande chez le porc

Sommaire du Chapitre 1

Partie 1.1 Définition et méthodes d'évaluation 27

1. Qualité de la carcasse 30
2. Transformation du muscle en viande 30
2.1. Evolution post-mortem du muscle. 30
2.2. Maturation de la viande. 33
2.3. Différentes mesures de la qualité de viande 35
2.3.1. Caractéristiques technologiques. 35
2.3.2. Caractéristiques organoleptiques. 36
2.3.3. Qualité hygiénique 40

Partie 1.2 Les principaux facteurs influençant la qualité de viande 41

1. Facteurs intrinsèques 44
1.1. Influence de la race 44
1.2. Influence des gènes majeurs 45
1.3. Influence du type sexuel 48
1.4. Influence de l'âge et du poids à l'abattage 49
2. Facteurs extrinsèques 49
2.1. Alimentation 49
2.1.1. Niveau alimentaire 50
2.1.2. Equilibre entre les principaux nutriments : protéines, glucides, lipides 50
2.1.3. Composition en acides gras 51
2.1.4. Apports vitaminiques 51
2.2. Les systèmes d'élevage 52
2.2.1. Système d'élevage en bâtiment : effet du type de sol (sur caillebotis ou sur litière) et de la densité animale 52
2.2.2. Systèmes d'élevage en bâtiments avec courettes 53
2.2.3. Systèmes d'élevage en plein air 54
2.2.4. Elevages en agriculture biologique 57
2.3. Les conditions de pré-abattage 58
2.3.1. La mise à jeun 58
2.3.2. Transport 62
2.3.3. Attente et mélange des animaux 65
2.3.4. Conduite des animaux au poste d'étourdissement 66
2.3.5. Etourdissement 66

Conclusion 67

Partie 1.1

Définition et méthodes d'évaluation

La notion de qualité peut se définir selon la norme ISO 8402 comme « l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites». En d'autres termes, la qualité est la satisfaction du client ou de l'utilisateur. En l'occurrence pour la viande, il s'agit de satisfaire les consommateurs et les industries de la transformation, qui constituent les utilisateurs à hauteur respective de 20 à 35% et de 65 à 80% de la carcasse produite (Anderson, 2000). La qualité concerne cependant l'ensemble des opérateurs qui attendent des satisfactions liées, évidemment à la rentabilité de leur activité. C'est ainsi que la qualité définie par les uns ne correspond pas nécessairement à la qualité définie par les autres, les appréciations de la qualité apparaissent parfois même contradictoires (FPW, 2001).

Pour le producteur, c'est essentiellement en terme de qualité de la carcasse, notion qui ne va pas automatiquement de pair avec la qualité de la viande, mais également en terme d'état physiologique de l'animal et d'identification dans le cadre du système de traçabilité que se dessinent ses exigences.

La qualité technologique ou aptitude à la transformation (pH, pouvoir de rétention d'eau, couleur, genre de découpe, fermeté du lard, composition chimique, propriétés gélifiantes, statut anti-oxydant,…) et qualité hygiénique (absence de micro-organismes pathogènes, de substances interdites et de contaminants d'origines diverses,…) constituent les deux paramètres d'importance pour les opérateurs de la viande.

Pour le consommateur, la notion de qualité de la viande de porc peut être scindée en critères « invisibles », relatifs notamment à l'aspect sécurité dont ils espèrent tacitement le contrôle efficace par les pouvoirs publics, et des critères « visibles », relatifs à l'aspect organoleptique, à la présentation et également au prix (Anderson, 2000).

Une proportion toujours plus large de consommateurs accorde une importance grandissante à l'image des produits carnés consommés ; cette image intègre en particulier la manière dont les animaux sont élevés, le niveau de bien-être qui leur est assuré et le degré de pollution engendré par l'élevage (Bonneau *et al.*, 1996). Enfin, un aspect 'émotionnel' de la qualité, est mis en évidence aujourd'hui par l'intérêt que les consommateurs portent à l'origine du produit ; le nom de l'éleveur et le Département sont appliqués sur l'étiquette du produit (Chevillon *et al.*, 2000).

1. Qualité de la carcasse

Par qualité de la carcasse on comprend la conformation et la structure de la carcasse, c'est-à-dire ce qui se rapporte au caractère viandeux de la carcasse, la quantité de gras sur et à l'intérieur de la carcasse, le rapport os/viande et le rapport gras/viande. Elle est souvent définie après l'abattage et sert de critère de valeur pour la carcasse.

La classification (S) EUROP des carcasses de porcs se fait par voie instrumentale, en utilisant des appareils autorisés par l'Union Européenne. Elle est obligatoire dans les abattoirs traitant en moyenne annuelle plus de 200 porcs par semaine à l'exclusion des porcs qui ont été utilisés pour la reproduction.

Les appareils, CGM-Sydel et Giraldo Choirometer PG 200, permettent d'estimer l'épaisseur du lard dorsal (couenne comprise) et de muscle entre la troisième et la quatrième dernière côte, à 6 cm latéralement de la ligne médiane, et d'évaluer avec une équation de prédiction le taux de muscle des pièces (TMP) (Daumas, 2008; Daumas *et al.,* 2010).

2. Transformation du muscle en viande

La viande est le résultat de l'évolution chimique et physique des muscles squelettiques initiée par la mort de l'animal. Elle est principalement composée du tissu musculaire ainsi que du tissu adipeux (Scheffler et Gerrard, 2007).

2.1. Evolution post-mortem du muscle

Immédiatement après l'abattage, le muscle est souple. Après la mise en chambre froide des carcasses, les réserves énergétiques stockées sous forme de glycogène s'épuisent rapidement. Le glycogène est transformé en acide lactique qui s'accumule et acidifie le muscle. Les fibres musculaires se figent et le muscle devient rigide. Cette phase de *rigor mortis* dure plusieurs jours. L'installation de la rigidité cadavérique est directement perceptible sur la carcasse dans les heures qui suivent la mort de l'animal : la musculature devient progressivement raide et inextensible. Ce phénomène résulte de l'épuisement progressif de l'ATP. En présence d'ATP, les filaments épais (myosine) et les filaments fins (actine) constituant l'appareil contractile peuvent glisser les uns par rapport aux autres, ce qui

permet l'extension du muscle lorsqu'une traction est appliquée à ses extrémités, et son retour à sa longueur initiale lorsque la traction cesse : le muscle est donc extensible et élastique.

Lorsque le taux d'ATP s'abaisse en dessous d'un certain niveau, généralement de l'ordre de 50 % de la teneur du muscle au repos, correspondant à une valeur de pH de l'ordre de 6, les molécules d'actine et de myosine se combinent en actomyosine. Le glissement relatif des filaments devient impossible et l'ensemble de l'appareil myofibrillaire se transforme en un système rigide : le muscle devient inextensible. Par la suite, la rigidité musculaire s'estompe progressivement, mais pas l'inextensibilité.

Comme tout tissu vivant, le muscle squelettique a un besoin constant en énergie. Au repos, l'énergie est nécessaire à l'homéostasie, c'est-à-dire à la stabilité du milieu intérieur des cellules, grâce en particulier au maintien de gradients de concentration entre celles-ci et leur milieu extérieur, et entre différents compartiments cellulaires. La dépense énergétique augmente considérablement lorsque le muscle rempli sa fonction physiologique : la contraction. Le principal transporteur d'énergie dans la cellule est l'ATP. La synthèse de l'ATP est permise par la dégradation de nutriments comme le glucose, le glycogène, les acides gras. Cet ATP va être utilisé dans la cellule afin d'assurer différents travaux chimiques (biosynthèse), osmotiques (maintien des gradients) ou mécaniques (contraction musculaire). De plus, dans la cellule contractile, deux réactions contribuent à fournir de l'ATP lorsque le besoin s'accroît brutalement, principalement lors de la contraction. Il s'agit d'une part de la dégradation de la phosphocréatine catalysée par l'enzyme créatine phosphokinase, et d'autre part de la réaction catalysée par la myokinase (enzyme spécifique du muscle), qui permet la synthèse de l'ATP grâce à la condensation de deux molécules d'ADP avec formation d'une molécule d'ATP et une d'AMP.

L'abattage entraîne le bouleversement du métabolisme musculaire. L'arrêt de la circulation sanguine interrompt l'apport d'oxygène et de nutriments aux cellules, c'est la fin de l'apport de sources d'énergie extérieures. La privation d'oxygène, ou anoxie, diminue très rapidement leur pouvoir d'oxydation, et seuls les mécanismes anaérobies continuent de fonctionner. Les cellules peuvent encore synthétiser de l'ATP, donc maintenir momentanément leur homéostasie, en mobilisant leurs réserves énergétiques glucidiques, normalement constituées par le glycogène. La phosphocréatine fournit également de l'ATP, mais en plus faible quantité. Bendall (1973) a écrit le bilan des réactions biochimiques de dégradation et de synthèse de l'ATP qui se produisent dans la cellule musculaire immédiatement après la mort. Il distingue deux phases dans ces réactions. Au début, l'ATP dégradé par les nombreuses

ATPases musculaires est resynthétisé par la dégradation de phosphocréatine et la glycolyse. La glycolyse est une voie métabolique activée par des enzymes localisées dans le sarcoplasme (Constantinescu, 2005). Elle permet la dégradation du glucose en deux molécules d'acide pyruvique et mène ainsi à la production d'ATP. Rapidement, la phosphocréatine s'épuise et le taux d'ATP diminue car la glycolyse est une voie de synthèse comparativement peu performante. La synthèse d'ATP par la myokinase intervient alors : c'est la seconde phase des changements biochimiques. L'ensemble de ces réactions conduit à l'accumulation d'acide lactique et de protons à des concentrations sensiblement équivalentes. Cette accumulation d'acide lactique se traduit par une acidification progressive du muscle (donc une diminution du pH) jusqu'à l'arrêt des processus biochimiques (Figure 1.1). Le pH se stabilise alors à une valeur appelée pH ultime (pHu). Cette valeur est atteinte suite à l'épuisement de l'AMP (co-facteur de la glycolyse et de la glycogénolyse), ou suite à une carence en phosphocréatine et surtout en glycogène dégradable. L'étude de Charpentier (1968) décrit l'évolution des concentrations musculaires des principaux composés de la glycolyse anaérobie : le glycogène, les sucres réducteurs, l'acide pyruvique et l'acide lactique. La quantité des réserves en glycogène musculaire au moment de l'abattage est estimée grâce au potentiel glycolytique (PG) qui correspond à la quantité de composés glucidiques susceptibles de se transformer en acide lactique lors de la glycogénolyse *post mortem* du muscle (Monin et Sellier, 1985). Cette quantité étant exprimée en µmol d'équivalent acide lactique par g de tissu musculaire frais. Il existe ainsi une forte liaison négative entre le PG et le pHu (Larzul *et al.*, 1998). Cependant, cette association ne devrait pas être interprétée comme une relation directe de cause à effet entre le PG et le pHu (Scheffler *et al.,* 2011). En effet, des valeurs identiques d'acide lactique peuvent correspondre à des valeurs différentes de pHu.

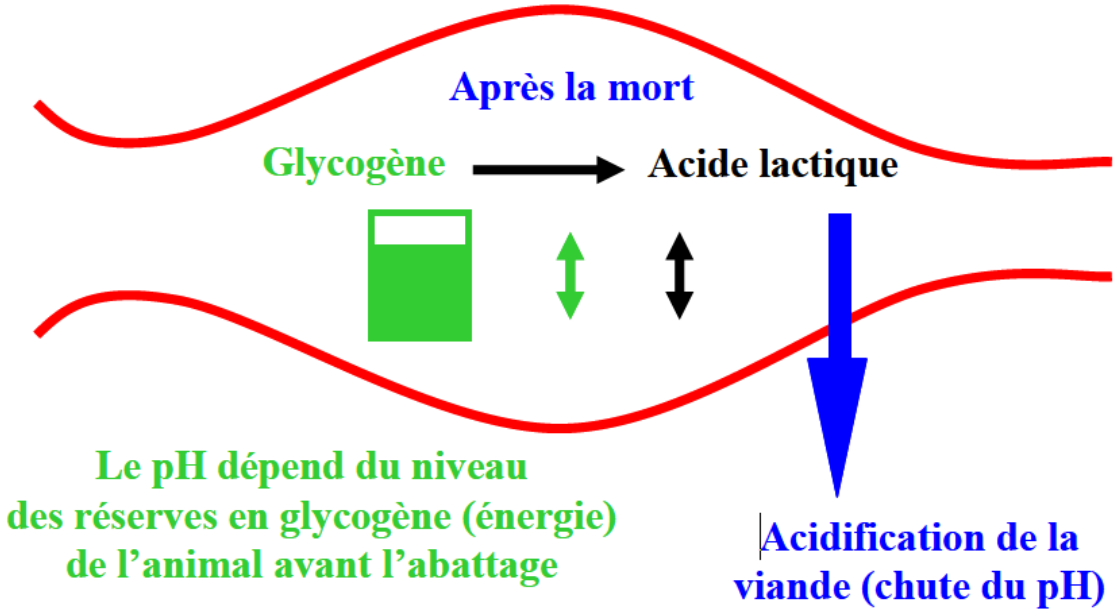


Figure 1.1 - Schéma d'acidification du muscle après abattage (Roux, 2006).

Après la mort de l'animal, le glycogène intramusculaire est dégradé pour fournir de l'énergie à la cellule. Cette transformation produit en plus de l'énergie du lactate qui a pour effet d'acidifier le muscle. Le pH final obtenu sera alors dépendant du taux de glycogène initialement présent dans la cellule avant l'abattage.

2.2. Maturation de la viande

Le muscle est transformé en viande grâce à la maturation. La maturation est un processus naturel d'attendrissement des muscles, qui se met en œuvre après l'avènement de la rigidité cadavérique, dans les 24 ou 48 heures post-mortem. Les modifications qui affectent principalement le compartiment myofibrillaire vont conduire progressivement à une phase de maturation de la viande. Les proportions des différentes caractéristiques du tissu musculaire ont une relation avec les qualités organoleptiques de la viande (aspect visuel, tendreté, flaveur, jutosité) (Figure 1.2).

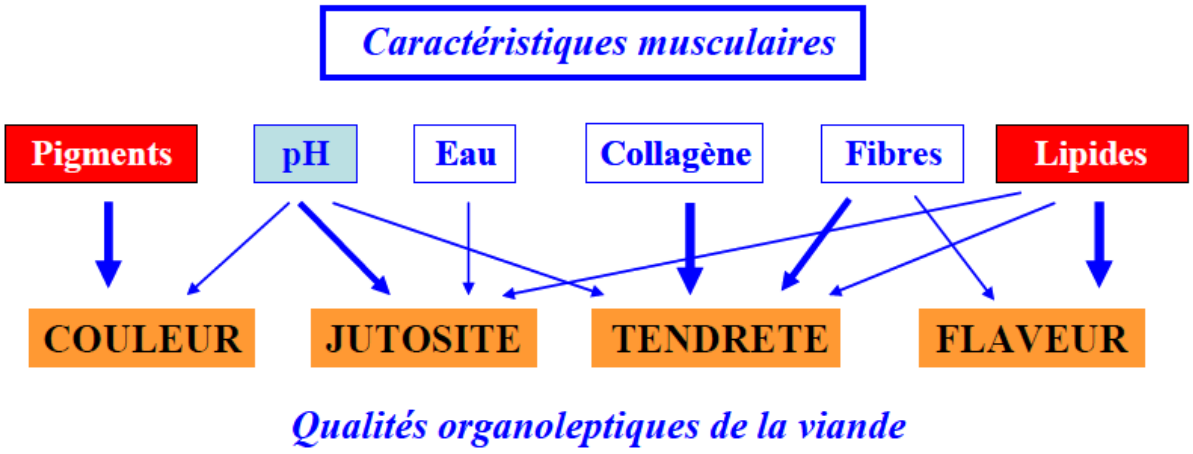


Figure 1.2 - Relations entre les caractéristiques musculaires et les critères de qualité de la viande (Hocquette *et al.*, 2000).

La structure myofibrillaire est profondément remaniée sous l'action de protéines protéolytiques endogènes. L'acidification permet l'activation d'enzymes qui progressivement fragmentent les protéines du muscle et permettent ainsi son attendrissement naturel. C'est la phase de maturation proprement dite : elle correspond à la transformation du muscle en viande, au cours de laquelle se forment également les précurseurs des arômes et de la saveur de la viande. Deux systèmes protéolytiques semblent impliqués dans le processus de maturation post-mortem du tissu musculaire : le système calpaïne/calpastatine et le système cathépsines/cystatines (Ouali, 1991). Récemment, Ouali *et al.* (2006) ont proposé un nouveau concept impliquant des enzymes de la famille des caspases ayant également un rôle important dans les processus d'apoptose (mort cellulaire programmée). Ces derniers pourraient constituer une première étape du phénomène de maturation. L'apoptose serait donc un processus précoce intervenant dans la mise en place de la tendreté (Ouali *et al.,* 2006).
La part de l'apoptose dans la tendreté est sujette à de nombreux débats à l'heure actuelle, en opposition notamment avec l'idée d'un rôle très largement dominant du système calpaïne dans la maturation (Guillemin, 2010).

S'agissant d'un phénomène enzymatique, la vitesse de maturation est fonction de la température mais également du pH du muscle. Chez le porc, le pHu d'une viande normale est compris entre 5,6 et 6,1. La vitesse de dégradation varie d'une espèce à l'autre, voire au sein des espèces (Shackelford *et al.*, 1994).

2.3. Différentes mesures de la qualité de viande

La structure et la composition physico-chimique du tissu musculaire sont les éléments majeurs qui déterminent la qualité d'une viande. Les qualités organoleptiques des viandes regroupent les propriétés sensorielles à l'origine des sensations de plaisir associées à leur consommation. Ce sont la couleur, la flaveur, la jutosité et la tendreté. L'appréciation d'un produit par un individu aboutit à la formulation d'un jugement de valeur qui sera pour cet individu « la qualité » du produit sans que cette évaluation soit forcément partagée par tous. Les caractéristiques technologiques et organoleptiques de la viande correspondent à « la qualité » de celle-ci telle qu'elle est perçue de manière directe par le transformateur ou par le consommateur. Au sens large, l'évaluation de la qualité de la viande dépasse pourtant ce cadre puisqu'elle comprend également des aspects sécuritaires (caractéristiques microbiologiques ou toxicologiques) et nutritionnels (teneurs en nutriments). Ici, le terme « qualité » sera plutôt remplacé par « caractéristiques technologiques et organoleptiques ».

2.3.1. Caractéristiques technologiques

Les caractéristiques technologiques représentent l'aptitude de la viande à la conservation et à la transformation (Monin, 1991).

2.3.1.1. Le pH

Bien qu'il s'agisse en fait d'un paramètre chimique, le pH est habituellement classé parmi les caractéristiques technologiques parce qu'il influence de façon très importante l'aptitude à la conservation et à la transformation des viandes (Bruce et Ball, 1990). La cinétique de chute du pH (vitesse et amplitude) est un indicateur de qualité de la viande. Une vitesse de chute post-mortem trop rapide est généralement associée au développement des viandes PSE (pales, soft, exsudative) (Barbut *et al.,* 2008).

Comme le rappellent Barbut *et al.* (2008), la valeur du pHu est corrélée à un ensemble de critères de qualité de la viande comme la couleur, le pouvoir de rétention d'eau, la tendreté, voire les qualités sensorielles dans leur ensemble. Ainsi, un pHu élevé (pH>5.7) est associé à une meilleure rétention en eau, à un meilleur rendement à la transformation et améliore également la flaveur de la viande fraîche. Cependant, une augmentation trop importante du

pHu (pH>6.1) compromet la conservation de la viande, en favorisant le développement de micro-organismes.

2.3.1.2. Le pouvoir de rétention d'eau

Le pouvoir de rétention d'eau ou capacité de rétention d'eau est la capacité qu'a la viande à retenir fermement sa propre eau ou de l'eau ajoutée, et ce lors de l'application d'une force quelconque. Il est primordial de prendre en compte ce paramètre parce qu'il influence la rentabilité du secteur de la transformation et, plus important encore, les qualités organoleptiques de la viande. De plus ce paramètre est souvent considéré par le consommateur comme un critère de qualité, voire, à tort parfois, comme une indication d'un traitement des animaux par des promoteurs de croissance. Il est donc nécessaire de déterminer le pouvoir de rétention d'eau au cours de la conservation (on parle alors de pertes par écoulement) mais aussi au cours de la cuisson (on parle alors de pertes à la cuisson). Il est par ailleurs possible d'estimer le pouvoir de rétention d'eau d'une viande par détermination des pertes de jus lors de l'application d'une force externe sur un échantillon de muscle : la quantité de jus produite est appelée jus expressible (cf. Otto *et al.* (2004)) pour une comparaison des différentes méthodes de mesure du pouvoir de rétention d'eau chez le porc).

2.3.2. Caractéristiques organoleptiques

Ce sont les caractéristiques perçues par les sens du consommateur (Monin, 1991). Tous les sens peuvent être impliqués dans l'évaluation d'une denrée alimentaire : la vue, le goût, l'odorat, le toucher à la main ou dans la bouche, voire même l'ouïe. Le terme de caractéristiques « sensorielles » est également employé (Sauvageot, 1982). En raison même de leur influence directe sur le comportement du consommateur et donc sur l'acceptabilité du produit, les anglo-saxons utilisent également les termes « palatability attributes » ou « acceptability attributes ». Quelle que soit la terminologie utilisée, les différentes caractéristiques sont : la tendreté, la couleur, la jutosité et la flaveur. Ces caractéristiques peuvent être mesurées soit par des méthodes instrumentales, soit par des évaluations sensorielles réalisées par un jury. Le consommateur est particulièrement attentif aux variations de la qualité des produits qu'il consomme. Lorsqu'elles sont excessives, elles

peuvent entraîner un rejet du produit. La viande n'échappe pas à la règle, d'autant plus qu'il n'est pas possible de corriger ces variations par mélange ou homogénéisation.

2.3.2.1. Couleur et aspect visuel

Chronologiquement, la couleur d'une viande est le premier critère d'appréciation de la viande perçu par le consommateur. Elle le guide pour son choix. Elle dépend fortement de la quantité de myoglobine (Charpentier, 1966). Les différentes fibres musculaires possèdent des teneurs variables en myoglobine suivant qu'il s'agisse d'un muscle à caractère oxydatif (riche en myoglobine) ou à caractère glycolytique (pauvre en myoglobine). La proportion de ces différents types de fibres au sein d'un muscle influence directement sa couleur. La quantité de pigments peut ainsi varier du simple au double entre muscles d'une même carcasse (Renerre et Valin, 1979).

La couleur peut être mesurée à l'aide d'une échelle de référence ou bien, pour une mesure considérée comme plus objective, avec un chromamètre. Cet appareil décompose la couleur dans un espace tri-dimensionnel caractérisé par la luminance (L*), et 2 axes de nuances (bleu-rouge, a* et vert-jaune, b*).

L'aspect visuel d'une viande dépend également de la structure du muscle réfléchissant la lumière. L'abaissement du pH augmente la quantité d'eau extracellulaire et, en conséquence, la réflexion de la lumière incidente (Offer *et al.*, 1989), ce qui confère un aspect clair aux viandes à bas pH. Dans certains cas, une carence en glycogène musculaire au moment de l'abattage induit un pH élevé (pH > 5,8-6), l'acidification s'arrête trop tôt et la viande reste sombre. On parle alors de viande « à pH élevé » ou « à coupe sombre », la viande est alors rouge foncé (Figure 1.3C) et sa coupe est dure et ferme, on l'appelle viande DFD pour « dark, firm and dry ». Au contraire, une acidification trop rapide du muscle induit une viande pâle, molle et exsudative ou viande PSE (Figure 1.3A) pour « pale, soft and exudative ». Une vitesse de chute trop rapide du pH est jugée responsable du manque de maturation des viandes PSE et des défauts de tendreté qui en découlent (Minelli *et al.*, 1995). Le consommateur recherche en général une viande ni trop pâle, ni trop foncée, et de couleur homogène.



Figure 1.3 - Couleur de la viande. A. Viande PSE de couleur claire – B. Viande normale – C. Viande DFD de couleur sombre (Roux, 2006)

Les tissus adipeux intermusculaire (marbré) et intramusculaire (persillé) influencent également l'acceptabilité de la viande par le consommateur qui n'apprécie pas une quantité trop importante de gras visible, même si la teneur en lipides intramusculaires améliore les autres composantes de la qualité organoleptique. Une étude réalisée par Fernandez *et al.* (1996) confirme ce paradoxe : les consommateurs ne souhaitent pas voir de gras dans la viande avant consommation, alors que l'appréciation de la viande après consommation augmente avec le taux de lipides intramusculaires jusqu'à une teneur en lipides comprise entre 2,5 et 3,5 %.

2.3.2.2. Tendreté

La tendreté de la viande est la facilité avec laquelle la viande est découpée puis broyée lors de la mastication. Elle peut être considérée comme le composant mécanique de la texture de la viande. C'est la qualité la plus appréciée et la plus recherchée par le consommateur. Paradoxalement, la tendreté est souvent exprimée par son contraire : la dureté. Ce paramètre peut facilement être mesuré par des appareils puisqu'il représente la résistance mécanique lors du cisaillement ou de la mastication, on parle alors de force de cisaillement ou force de compression. Ce paramètre est généralement mesuré sur des viandes cuites puisque les viandes non divisées sont consommées le plus souvent après cuisson.

Une mesure biochimique de la tendreté est la teneur en collagène. La facilité avec laquelle une viande se laisse trancher ou mastiquer, dépend de la quantité, de la répartition et du degré de polymérisation du collagène musculaire, ainsi que de la structure myofibrillaire

(Valin, 1988). Le collagène intervient par sa quantité et sa solubilité. C'est un composant musculaire très résistant qui forme l'armature interne et externe des muscles, encore appelé « tissu conjonctif ». Cette armature de collagène confère au muscle sa dureté de base : le morceau est d'autant plus dur que la quantité de collagène est importante et que ce collagène est insoluble.

2.3.2.3. Jutosité

La jutosité d'une viande, ou impression de libération de jus, est une caractéristique perçue lors de la mastication. Elle est liée à la quantité d'eau libre subsistante dans la viande et à la sécrétion de salive stimulée essentiellement par les lipides. Elle est exclusivement mesurée par un jury de dégustation. Elle varie avec le pouvoir de rétention d'eau de la viande, les pertes à la cuisson et la présence de lipides. Le pouvoir de rétention d'eau peut donc être une alternative à la mesure de la jutosité car c'est une caractéristique de la viande importante à plusieurs titres : aspect du produit cru, perte à la cuisson, jutosité du produit cuit.

2.3.2.4. Flaveur

La flaveur est un ensemble complexe de sensations perçues par le goût et l'odorat lorsque le morceau de viande est en bouche. La flaveur associe les saveurs et les arômes. Ces perceptions olfactives et gustatives lors de la dégustation sont libérées au moment de la cuisson de la viande à partir de molécules précurseurs d'arômes, contenues notamment dans le gras. Elle est mesurée par un jury de dégustation. La teneur en lipides intramusculaires peut également être un indicateur de la flaveur puisque c'est un facteur primordial concernant la flaveur de la viande. Si ce taux est inférieur à la valeur seuil déterminée pour l'espèce concernée, la viande n'est plus caractérisée par une flaveur spécifique (Hocquette *et al.*, 1998). La teneur optimale en lipides intramusculaires pour l'obtention de caractéristiques sensorielles favorables est de 2,5 à 3,0 % dans le muscle *Longissimus* de porc (Fernandez *et al.*, 1995). Parmi la composante lipidique, un rôle important est attribué aux phospholipides dans le développement de la flaveur caractéristique de la viande cuite (Mottram et Edwards, 1983).

2.3.3. Qualité hygiénique

La qualité hygiénique de la viande constitue l'exigence élémentaire du consommateur. Elle peut être altérée par la prolifération de micro-organismes néfastes et/ou la présence de composés toxiques. La viande peut être contaminée par des microorganismes à différentes étapes de la chaîne de transformation. Le contrôle des proliférations microbiennes dépend avant tout du respect de la chaîne du froid, cependant plusieurs facteurs peuvent également influencer la multiplication microbienne. Ainsi, un pHu élevé favorise le développement de bactéries putréfiantes. L'utilisation de certaines molécules en élevage (antibiotiques, facteurs de croissance), qui peut entraîner la présence de résidus dans les viandes, devient une préoccupation grandissante pour le public. L'évolution possible de la demande des consommateurs vers une viande exempte de résidus pourrait avoir des conséquences considérables sur l'ensemble des acteurs de la filière.

Partie 1.2

Les principaux facteurs influençant la qualité de viande

La qualité de la viande est sous le contrôle d'un grand nombre de paramètres, allant de l'alimentation de l'animal au déterminisme génétique, en passant par l'âge, le stress, les conditions d'abattage, les conditions de stockage et de maturation… (Figure 1.4).

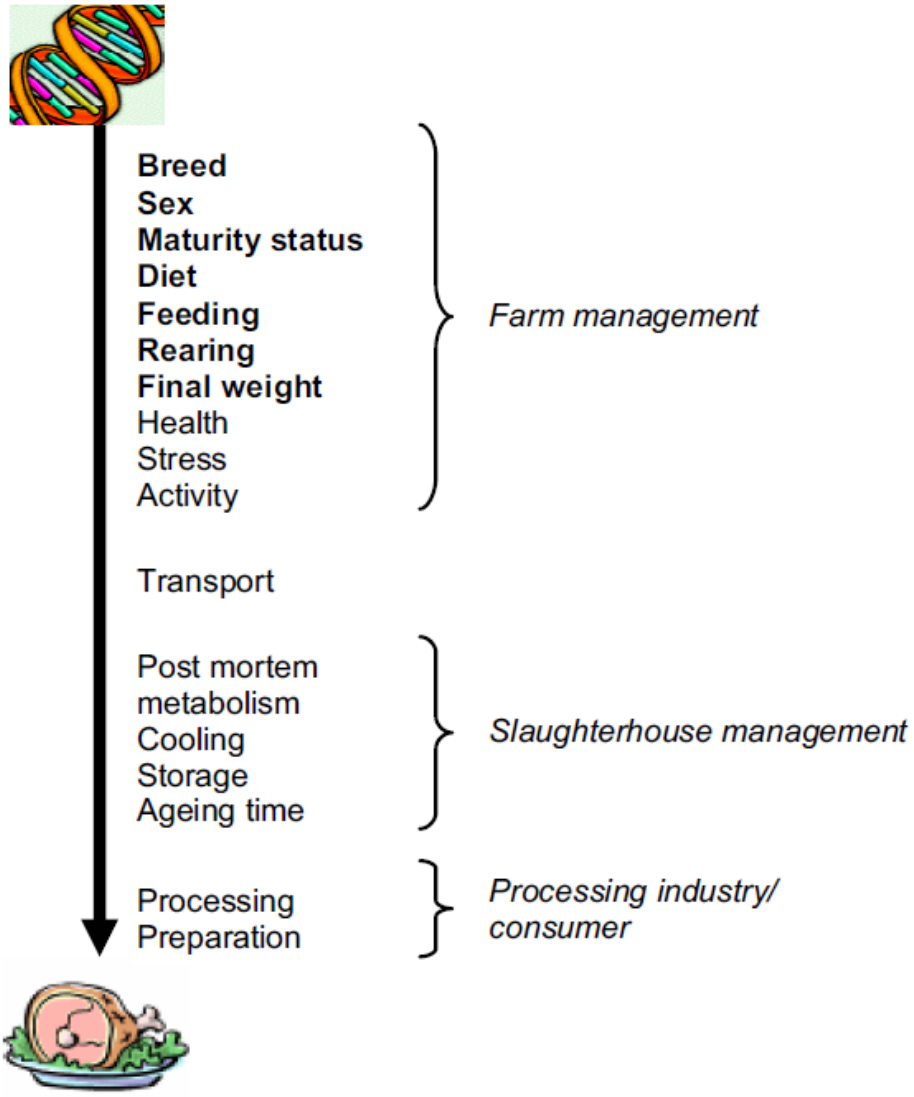


Figure 1.4 - Les principaux facteurs influençant les paramètres de qualité de viande chez le porc. (Heyer, 2004).

Ces caractéristiques dans les différentes espèces animales sont fonction d'un grand nombre de paramètres dont certains sont inhérents à l'animal lui-même et d'autres contrôlés par l'homme comme le mode d'élevage ou la transformation en viande. Ainsi, ces facteurs peuvent être classés en deux catégories : ils sont intrinsèques ou extrinsèques à l'animal.

1. Facteurs intrinsèques

1.1. Influence de la race

La race est l'un des principaux facteurs de variation des propriétés technologiques et organoleptiques de la viande porcine. Chaque race est caractérisée par une vitesse et une amplitude de chute du pH musculaire *post mortem*, et par une teneur en lipides intramusculaires qui influencent largement les qualités de la viande (Sellier et Monin, 1994; Bout et Girard, 1988). Il existe de nombreuses études qui comparent différentes races ou lignées sur toute une diversité de critères de composition corporelle et de qualité de viande, qui ont-elles-même fait l'objet de plusieurs revues (cf. Ciobanu *et al.* (2011)).

En France, 4 types génétiques se distinguent pour leurs performances de production et de reproduction : les races Large White, Landrace, Piétrain, Duroc. Le Large White occupe une position centrale dans la production porcine française. Il est associé au Landrace pour la production de la truie croisée F1 Large White x Landrace qui est le type génétique de truies parentales le plus largement utilisé en France. La race Piétrain est surtout utilisée pour la production de verrats terminaux, généralement en pur. En Europe, le Duroc intervient aussi bien comme composante de la truie parentale que comme partenaire du verrat terminal.

A ces races, il faut ajouter la race Meishan, importée de Chine, qui est utilisée en croisement pour la constitution de lignées synthétiques sino-européennes.

Les races Large White, Landrace et Duroc sont des races mixtes, c'est-à-dire performantes à la fois pour la reproduction et la production (croissance rapide, bonne qualité de viande). La race Piétrain est une race paternelle caractérisée par des performances de production supérieures à celles des races mixtes (meilleur taux de muscle). La race Meishan est une race chinoise maternelle qui se distingue par des qualités maternelles exceptionnelles (précocité et prolificité) mais aussi par de médiocres performances de croissance (important retard de croissance, carcasse très grasse). Gispert *et al.* (2007) ont récemment comparé ces 5 races. Comme attendu le Piétrain était le plus maigre et la Meishan la plus grasse, avec une teneur en gras intramusculaire élevée. Le Duroc avait également une teneur en gras intramusculaire élevée pour une composition corporelle intermédiaire. Gil *et al.* (2008), comparant ces mêmes races sur des critères plus fins de caractéristiques musculaires,

confirment que les différences observées peuvent induire des qualités de viande différentes d'une race à l'autre.

Quelques études comparent également les races locales, montrant généralement des différences de qualité de viande partiellement liées à la teneur en gras intramusculaire (Labroue *et al.,* 2000).

1.2. Influence des gènes majeurs

Il existe principalement deux gènes majeurs influençant la qualité de la viande porcine : le gène de sensibilité à l'halothane (RYR) et le gène des viandes acides (RN) (Sellier et Monin, 1994).

Au début des années 70, le test d'anesthésie au gaz halothane a permis une meilleure compréhension du déterminisme héréditaire des viandes pâles et exudatives ou viandes PSE (Eikelenboom et Minkema, 1974). Ce test sépare les animaux en deux catégories : les animaux sensibles et les animaux non sensibles. La sensibilité à l'halothane est liée à un déterminisme monogénique (Smith et Bampton, 1977; Ollivier *et al.,* 1975) : le gène est autosomal récessif à pénétrance élevée, désigné Hal^S (ou Hal^n ou n), l'allèle normal étant Hal^N ou N. Ce gène a été identifié comme le gène du récepteur à la ryanodine impliqué dans les mouvements de calcium (Ca^{2+}) dans la cellule musculaire striée. La sensibilité à l'halothane se traduit par la perte de la capacité de la cellule musculaire à contrôler ses flux d'ions Ca^{2+} en situation de stress intense. Le taux de Ca^{2+} libre sarcoplasmique augmente rapidement, l'activité ATPasique myofibrillaire est activée de façon durable, ce qui conduit à une intense hydrolyse de l'ATP. En conséquence, les mécanismes de resynthèse de l'ATP sont très actifs. Cette accélération du métabolisme s'accompagne d'une forte production de chaleur et d'une accumulation d'acide lactique : les animaux sensibles montrent un pH_{45} plus bas lié à une chute anormale du pH, une température musculaire plus élevée et un établissement précoce de la *rigor mortis* (Monin, 1988). La conjonction entre pH_{45} bas et température élevée est à l'origine de l'apparition du syndrome PSE car elle aboutit à la dénaturation des protéines musculaires, induisant un affaiblissement de la couleur et une diminution du pouvoir de rétention d'eau. Il existe donc une relation très étroite entre la sensibilité à l'halothane et le syndrome PSE (Eikelenboom et Minkema 1974 ; Tableau 1.1). Cependant, il est intéressant de noter que la sensibilité à l'halothane est sans effet sur le potentiel glycolytique et donc sur

le pHu (Monin et Sellier 1985 ; Larzul *et al.,* 1998) ; les viandes des porcs nn se caractérisent par une augmentation de leur vitesse d'acidification mais leur pHu n'est pas différent de celui des viandes de porcs NN.

Tableau 1.1 - Caractéristiques de qualité de viande des différents génotypes pour le gène HAL (Guéblez et al., 1995 et 1996)

Caractéristique	NN	Nn	nn
pH_u, *longissimus*	5,53	5,51	5,52
pH_u, *semimembranosus*	5,59[a]	5,61[a]	5,68[b]
L*, *longissimus*	55,9[a]	56,0[a]	59,4[b]
Rétention d'eau, *biceps femoris*[†]	7,4[a]	3,3[b]	2,3[b]
Rendement Napole (%)	90,0[a]	89,3[a]	87,0[b]
Rendement technologique[††] (%)	82,2	81,1	80,9
Note de tendreté, *longissimus*[†††]	4,75[a]	4,30[b]	3,69[c]

[†]Temps d'imbibition d'un papier pH en dizaines de secondes
[††]Rendement technologique de fabrication du jambon cuit
[†††]Note décernée par un jury d'analyse sensorielle, de 0 : très faible à 10 : très forte
a,b,c : Deux valeurs portant la même lettre en exposant ne diffèrent pas significativement

Un stress avant l'abattage limite les manifestations du syndrome PSE chez les porcs sensibles ; le stress pré-abattage diminue le taux de glycogène musculaire et entraîne ainsi un arrêt prématuré de la chute du pH à une valeur élevée ce qui empêche le développement du caractère exsudatif malgré l'évolution rapide du pH (Monin, 1983). La sensibilité à l'halothane est également à l'origine d'une dégradation des qualités technologiques et organoleptiques de la viande, en particulier sur la tendreté (Monin *et al.,* 1999; Sellier et Monin 1994), mais favorise le développement musculaire (Ollivier *et al.,* 1975). Ainsi, le gène de sensibilité à l'halothane explique une bonne part de la variabilité génétique des qualités technologiques et organoleptiques de la viande. Une question longuement débattue a concerné la valeur exacte des sujets hétérozygotes « Nn » en termes de qualités technologiques et sensorielles de la viande (Larzul *et al.,* 1997a, Monin *et al.,* 1999).

L'allèle n a été quasiment éradiqué dans toutes les grandes populations porcines exploitées comme lignées maternelles. Par contre, cet allèle est pratiquement fixé dans la race Piétrain, fréquemment utilisée pour fabriquer des verrats de croisement terminal.

Au début des années 90, une mutation génétique entraînant un phénotype nommé RN^- (Rendement Napole) responsable de l'acidité anormale des viandes porcines (Naveau *et al.*, 1985), a été caractérisée grâce à une analyse de ségrégation réalisée dans des lignées de porcs de race Hampshire (Le Roy *et al.*, 1990). Les conséquences de ce défaut n'ont pas été immédiatement comprises, car non seulement aucune pathologie liée à cette mutation n'avait été recensée, mais au contraire, elle favorisait la croissance et la masse musculaire des carcasses. Les éleveurs ont donc préférentiellement sélectionné les animaux porteurs de la mutation RN^- conduisant ainsi à un accroissement de la fréquence de cet allèle au sein de la population de la race Hampshire. Les muscles des animaux porteurs de cet allèle subissent une baisse des rendements industriels notamment lors de l'élaboration de jambons cuits ou salés. Cet effet est dû à un accroissement d'environ 70 % du taux de glycogène dans les muscles squelettiques (Estrade *et al.*, 1993). L'identification et l'élimination de la mutation responsable de ce phénotype devinrent rapidement une nécessité économique pour les industriels. La mutation RN^- est située sur le chromosome 15 porcin (Milan *et al.*, 1996). Elle a été identifiée par une technique de clonage positionnel (Milan *et al.*, 2000). Cette mutation concerne le gène RN qui possède 2 allèles : RN^- (allèle dominant) et rn^+ (allèle normal récessif) (Le Roy *et al.*, 1990). La mutation causale a été identifiée sur le gène intervenant dans la régulation d'une protéine kinase, elle-même impliquée dans la biosynthèse du glycogène (Renand *et al.,* 2003). Les porteurs de l'allèle RN^- montrent une activité 2 fois plus forte de l'enzyme branchante qui catalyse la ramification des chaînes de molécules de glucose lors de la biosynthèse du glycogène. Le défaut métabolique primaire est très probablement situé dans la cellule musculaire elle-même, les granules de glycogène s'accumulant dans le compartiment sarcoplasmique des fibres musculaires (Larzul *et al.,* 1998).

Les animaux porteurs de l'allèle RN^- montrent une réduction significative du rendement Napole liée à un stock de glycogène musculaire particulièrement élevé conduisant à une amplitude trop importante de la chute du pH *post mortem*. Ces viandes acides sont plus pâles et moins tendres, et se caractérisent par un moindre pouvoir de rétention d'eau mais leur flaveur est plus importante (Le Roy *et al.,* 1996 ; Tableau 1.2). Il existe d'autres mutations décrites par Ciobanu *et al.* (2001) dans le gène RN qui peuvent influencer la qualité de la viande. Ainsi la mutation V199I, avec un allèle appelé rn*, est associée à une moindre teneur en glycogène musculaire comparée à l'allèle sauvage rn+, bien que ce résultat n'ait pas été confirmé par des études plus récentes (Fontanesi *et al.,* 2008 ; Josell *et al.,* 2003).

Tableau 1.2 - Caractéristiques de qualité de viande des différents génotypes pour le gène RN (Le Roy *et al.*, 1996)

Caractéristique	rn+rn+	rn+RN-	RN-RN-
pH_u, *longissimus*	5,71[a]	5,52[b]	5,55[b]
pH_u, jambon[†]	5,77[a]	5,57[b]	5,54[b]
Couleur[††]	46,4[a]	48,6[b]	48,9[b]
Rétention d'eau[†††]	13,5	11,4	12,6
Rendement Napole (%)	88,0[a]	80,5[b]	79,8[b]
Rendement technologique (%)	104,4[a]	102,2[b]	102,2[b]
Note de tendreté, *longissimus*	6,30[a]	4,80[b]	5,12[b]

[†]pH moyen des muscles *adductor*, *biceps femoris* et *gluteus superficialis*
[††]Moyennes des luminances L* mesurées au Chromamètre Minolta sur les muscles *biceps femoris* et *gluteus superficialis*
[†††]Moyenne des temps d'imbibition mesurés sur les muscles *biceps femoris* et *gluteus superficialis*
a,b : Deux valeurs portant la même lettre en exposant ne diffèrent pas significativement

1.3. Influence du type sexuel

Les qualités organoleptiques sont peu influencées par le sexe des animaux ; on observe peu de différences entre les femelles et les mâles castrés (Monin, 1983). Selon Lebret *et al.* (1999), l'effet du sexe sur le pHu est controversé. Plusieurs études rapportent un pHu identique chez les mâles castrés et les femelles (Barton-Gade, 1987 ; Cisneros *et al.*, 1996), alors que Larzul *et al.* (1997b) observent un pHu plus bas chez les femelles, en accord avec un potentiel glycolytique plus élevé. Les mâles entiers présentent un pHu plus élevé que les castrats et les femelles, en raison d'une plus grande mobilisation du glycogène musculaire avant l'abattage consécutive à une excitation physique plus importante (Fernandez et Tornberg, 1991). Les autres critères de qualité technologique, voire organoleptique, de la viande sont peu différents entre les mâles castrés et les femelles (Lebret *et al.,* 1999).

Concernant plus particulièrement les qualités sensorielles, la viande de porcs mâles entiers dégage souvent une odeur désagréable, lors des traitements thermiques (chauffage, cuisson), apparentée à l'urine et aux fèces. Deux molécules ont été mises en cause dans l'apparition de ce défaut : l'androstérone (stéroïde d'origine testiculaire) et le scatol (produit de la dégradation du tryptophane) sont responsables de ces défauts d'odeurs importants (Bonneau, 1988). De ce fait, les mâles sont le plus souvent castrés et écartés de la production de viande porcine (Monin, 1983). Avec l'évolution probable de la législation européenne

interdisant la castration des porcs, l'amélioration de la qualité sensorielle de la viande de verrat revient d'actualité.

1.4. Influence de l'âge et du poids à l'abattage

Incontestablement, l'âge à l'abattage influence les caractéristiques technologiques et organoleptiques : les viandes des animaux âgés (verrats et truies de réforme) sont nettement plus colorées, plus persillées, contiennent plus de collagène que celles des porcs charcutiers. Elles conviennent d'ailleurs mieux à certaines fabrications, comme le saucisson sec.

En effet, d'une façon générale, la teneur en lipides intramusculaires s'accroît avec l'âge et le poids des animaux. Ainsi, Candek-Potokar *et al.* (1998) montrent que la teneur en lipides du muscle long dorsal s'accroît avec le poids, que les animaux soient rationnés ou nourris à volonté. Cependant, à poids égal, l'augmentation de l'âge à l'abattage consécutif à la restriction alimentaire se traduit par une réduction de la teneur en lipides intramusculaires (Candek-Potokar *et al.*, 1998). La qualité technologique de la viande n'est pas modifiée par une augmentation du poids des porcs à l'abattage de 100 à 120-130 kg. Plusieurs études montrent qu'une telle augmentation du poids à l'abattage ne modifie pas non plus la qualité organoleptique de la viande, évaluée par des mesures physiques ou sensorielles (Malmfors *et al.*, 1978 ; Desmoulin *et al.*, 1983 ; Candek-Potokar *et al.*, 1998), alors que Ellis *et al.* (1996) rapportent une augmentation de la force de cisaillement et une diminution de la tendreté, de la jutosité et de l'acceptabilité globale de la viande avec l'augmentation du poids à l'abattage de 80 à 120 kg. Une augmentation plus importante du poids à l'abattage de 100 à 160 kg s'accompagne d'une légère diminution du pHu et de la tendreté du muscle long dorsal, malgré l'augmentation de sa teneur en lipides (Cisneros *et al.*, 1996).

2. Facteurs extrinsèques

2.1. Alimentation

L'influence de l'alimentation (quantité et qualité) sur la viande de porc a déjà fait l'objet d'une revue bibliographique (Lebret *et al.,* 1999) qui est largement reprise ici.

La conduite alimentaire (périodes de rationnement) et le rapport protéines / énergie de la ration déterminent le taux de croissance et la composition du gain de poids des porcs, en fonction de leur potentiel génétique. Notons que le porc, en tant qu'animal monogastrique, présente la particularité de stocker directement les apports en acides gras, vitamines et minéraux au niveau des tissus gras et musculaires (Purchas, 2000 ; Rosenvold et Andersen, 2003).

2.1.1. Niveau alimentaire

La qualité technologique de la viande semble peu affectée par une restriction alimentaire globale (Cromwell *et al.,* 1978, Candek-Potokar *et al.,* 1998). Concernant la qualité sensorielle, Ellis *et al.* (1996) rapportent un effet négatif de la restriction alimentaire globale (20 % par rapport au niveau à volonté) sur la tendreté, la jutosité et l'acceptabilité de la viande d'animaux abattus au même poids vif, alors que d'autres travaux ne montrent pas d'effet significatif (Wood *et al.,* 1996, Candek-Potokar *et al.,* 1998).

La teneur en lipides intramusculaires est réduite chez les animaux restreints pour un poids à l'abattage donné (Wood *et al.,* 1996 ; Candek-Potokar *et al.,* 1998), ce qui permet de produire des carcasses plus maigres que lorsque l'aliment est distribué à volonté (Ellis *et al.,* 1996 ; Lebret *et al.,* 2002). Consécutivement à la diminution de la teneur en lipides totaux du muscle, les porcs restreints présentent une proportion d'acides gras polyinsaturés dans les lipides totaux supérieure à celle observée chez les porcs nourris à volonté (Cameron et Enser, 1991).

2.1.2. Equilibre entre les principaux nutriments : protéines, glucides, lipides

Karlsson *et al.* (1992) n'observent pas d'effet d'une réduction du taux protéique de la ration sur le pHu et le pouvoir de rétention d'eau. La distribution d'un régime déficitaire en protéines et en lysine, mais non limitant en énergie, pendant la période de croissance - finition s'accompagne d'une augmentation de l'adiposité de l'animal et de la teneur en lipides intramusculaires (Bereskin *et al.,* 1978 ; Karlsson *et al.,* 1992 ; Castell *et al.,* 1994). Certaines études mettent en évidence une amélioration de la qualité sensorielle chez les animaux ayant reçu un régime déficitaire en protéines : diminution de la force de cisaillement (Karlsson *et al.,* 1992), augmentation de la tendreté et de la jutosité (Bereskin *et al.,* 1978 ; Castell *et al.,*

1994), augmentation de la marbrure (Kerry *et al.,* 2002). Malgré des variations de teneur en lipides intramusculaires, ces différents travaux ne rapportent pas de modification de la flaveur.

2.1.3. Composition en acides gras

Pour des régimes alimentaires isoénergétiques, isoprotéiques et isolipidiques, la nature des acides gras de la ration peut modifier les caractéristiques de la carcasse et de la fraction maigre de la viande. L'incorporation d'une matière grasse insaturée (huile de colza) par rapport à une matière grasse saturée (lait de vache), comme l'augmentation de la teneur en acide linoléique dans les lipides alimentaires diminuent le taux de muscle et augmentent l'adiposité des animaux (Mourot *et al.,* 1991, 1995). Le régime riche en acides gras polyinsaturés n'influence pas significativement la teneur en lipides du muscle *Longissimus* (Mourot *et al.,* 1995).

En revanche la composition en acides gras des lipides intramusculaires est influencée par la composition en acides gras du régime (Girard *et al.,* 1988 ; Mourot *et al.,* 1991, 1995). Selon Van Oeckel *et al.* (1996), la teneur en acide linolénique de la viande peut être augmentée jusqu'à 3 % des acides gras totaux sans conséquences sur la qualité organoleptique, et Ahn *et al.* (1996) rapportent qu'une teneur en acide linolénique de 12 % entraîne le développement de réactions d'oxydation et produit un effet négatif sur l'acceptabilité de la viande cuite lorsqu'elle n'est pas conservée sous vide. L'introduction de CLA (Conjugated linoeic acid) dans la ration à peu d'effet sur la qualité de la viande. Cependant, Dunshea *et al.* (2005) relèvent quelques tendances : augmentation de la teneur en gras intramusculaire, mais dégradation des qualités sensorielles (flaveur, jutosité et tendreté), diminution des pertes en eau, éclaircissement de la viande avec un indice de rouge augmenté. Aucun effet sur le pHu n'est signalé.

2.1.4. Apports vitaminiques

L'effet des modificateurs métaboliques, dont les vitamines, sur la qualité de la viande a été revu récemment par Dunshea *et al.* (2005) et Dikeman (2007). Supplémenter l'aliment en vitamine E améliore la couleur de la viande et sa durée de conservation. L'effet antioxydant de cette vitamine sur les lipides et la myoglobine permet de stabiliser la couleur

mais aussi la flaveur, la texture, et la valeur nutritionnelle de la viande, bien que cet effet reste limité chez le porc.

L'influence d'une supplémentation du régime alimentaire en acide ascorbique, ou vitamine C, sur la qualité de la viande est controversée : elle serait sans effet selon Rajic (1971), alors qu'un apport de 250 mg/kg d'aliment entre 35 et 100 kg de poids vif diminue la réflectance de la viande qui apparaît alors plus sombre et entraîne une augmentation du pHu et du rendement technologique du jambon estimé par la méthode Napole (Mourot *et al.,* 1992).

2.2. Les systèmes d'élevage

L'impact du système d'élevage sur les caractéristiques de la viande de porc résulte de l'interaction entre :

- Les modalités de logement (type de sol, densité animale, température ambiante, accès extérieur, plein air…) qui influencent l'activité physique et les besoins alimentaires des animaux,
- La conduite alimentaire et la composition des aliments,
- Le génotype des animaux, surtout dans les systèmes de production avec des races de porcs locales.

En France, on peut distinguer quatre systèmes d'élevage différents :

2.2.1. Système d'élevage en bâtiment : effet du type de sol (sur caillebotis ou sur litière) et de la densité animale

Le type de sol et la surface disponible par animal, ainsi que l'activité physique des porcs, peut avoir un impact sur les performances de croissance et les caractéristiques de la carcasse et de la viande. Comparés à des porcs élevés sur caillebotis intégral avec 0,76 m^2 accessibles par cochon, les animaux élevés sur paille (3,5 m^2/porc) présentent un indice de consommation plus élevé, une meilleure croissance et une carcasse plus grasse (Beattie *et al.,* 2000; Gentry *et al.*, 2002a). La différence de niveau de consommation d'aliment peut être expliquée par une température ambiante plus basse et un accès au nourrisseur plus facile en système extensif (Lebret *et al.*, 2006a).

L'effet positif de conduites d'élevage sur paille sur les activités d'investigation des porcs n'est plus à démontrer (Lyons *et al.*, 1995; Petersen *et al.*, 1995; Beattie *et al.*, 2000). Ces activités peuvent être interprétées comme indicatrices de bien-être chez le porc. Les effets de l'engraissement sur paille avec une surface accessible par porc augmentée sur la réponse physiologique au stress de l'animal lors du transport et de l'abattage, et donc sur la qualité finale de la viande, ont fait l'objet de plusieurs études (Geverink *et al.*, 1999 ; De Jong *et al.*, 2000 ; Klont *et al.*, 2001). Bien que les conditions de logement de l'animal aient une influence positive sur son activité et sur sa sécrétion de cortisol salivaire, durant la période d'élevage et le transport vers l'abattoir, seules de légères différences généralement non significatives, ont pu être constatées entre les qualités technologiques et biochimiques de viandes de porcs sur paille et conventionnels (Klont *et al.*, 2001; Geverink *et al.*, 1999). Une étude menée sur les produits carnés en Ecosse, prenant en compte la génétique et les conditions d'élevage des porcs, a démontré que le bacon issu de porcs élevés sur litière présentait de meilleures qualités sensorielles, notamment en terme de flaveur, que des porcs élevés en bâtiments conventionnels (Maw *et al.*, 2001). Ces résultats peuvent être expliqués par une plus forte teneur en gras intramusculaire de la viande de porcs élevés sur paille (Beattie *et al.*, 2000; Gentry *et al.*, 2002a).

2.2.2. Systèmes d'élevage en bâtiments avec courettes

Le logement en bâtiments avec courettes constitue une alternative intéressante entre les systèmes sur litière et en plein air, dans le sens où il bénéficie d'une bonne image auprès des consommateurs (Rainelli, 2001 ; Dransfield *et al.*, 2005) et nécessite un temps de travail et des coûts de production moindres qu'en élevage de plein air. De plus, il répond aux exigences du cahier des charges agriculture biologique européen. Une expérimentation sur deux systèmes d'élevage (paille raclée + courette et conventionnel) a été menée pour évaluer le bien-être et la santé des animaux, leurs performances de croissance, la qualité des carcasses et de la viande (Lebret *et al.*, 2006a; Meunier-Salaün *et al.*, 2006). Les surfaces accessibles par animal diffèrent selon les systèmes : 0,65 m^2/porc conduit en conventionnel contre 1,3 m^2 /porc (bâtiment) + 1,1 m^2/porc (courette) en système alternatif. Les résultats de l'étude montrent que les porcs bénéficiant de la courette présentent un meilleur statut sanitaire à l'abattoir et consacrent plus de temps à leurs activités d'investigation (Meunier-Salaün *et al.*, 2006) ce qui traduit un plus grand bien-être des animaux (Guy *et al.*, 2002). Leurs

performances de croissance sont améliorées : leur indice de consommation est plus important, mais leurs carcasses sont plus grasses que celles des porcs conventionnels. Aucune différence significative n'a été constatée concernant leurs réponses physiologiques et comportementales lors de l'attente à l'abattoir et de l'abattage en lui-même (Lebret *et al.*, 2006a). Toutefois, les jambons présentent un pHu plus bas en système avec courette, en lien avec une activité physique plus importante qui augmente la capacité d'oxydation du muscle (Gentry *et al.*, 2002a ; Bee *et al.*, 2004).

Concernant la qualité des viandes, celles issues de systèmes avec courette sont plus juteuses, du fait d'une plus grande concentration en lipides, tandis que les odeur, flaveur et tendreté restent similaires. Le système d'élevage n'influence pas l'appréciation globale de la viande par les consommateurs, lorsque ces derniers ne sont pas informés des conditions d'élevage de l'animal dont elle est issue. Cependant, le mode de production influence grandement le choix des consommateurs : 59% des consommateurs français interrogés opteraient pour une viande « d'extérieur» contre 8% préférant une viande « en bâtiments » et 34% resteraient indifférents à ce critère de choix (Dransfield *et al.*, 2005). Ces résultats soulignent les différences entre la qualité « perçue » et la qualité « réelle » des produits porcins issus d'élevages conventionnels et alternatifs (Edwards, 2005).

2.2.3. Systèmes d'élevage en plein air

Un certain nombre d'études ont été menées pour évaluer les effets de l'élevage en plein air de porcs au génotype « moderne » (issus des schémas de sélection classiques) sur leurs performances et la qualité de leur viande. Dans ces systèmes d'élevage, les porcs sont soumis aux variations climatiques, ils bénéficient de beaucoup d'espace et d'un environnement diversifié, ils peuvent exprimer leur comportement d'investigation, avoir une activité physique soutenue, et trouver de la nourriture par eux-mêmes, en complément de l'aliment distribué. Tous ces facteurs influencent la réponse de l'animal à son environnement, en terme de croissance et de qualité de viande. Les porcs de plein air sont généralement élevés en grands groupes et rarement mélangés à d'autres. Aussi, les réactions de stress des animaux lors de leur départ à l'abattoir, où ils peuvent être mélangés avec des porcs d'autres élevages, sont importantes à prendre en compte dans l'évaluation de la qualité de la viande (Terlouw, 2005).

Beaucoup d'études ont conclu que l'élevage de plein air en climat tempéré n'a que peu d'impacts sur les performances de croissance et la composition de la carcasse des porcs (Gentry *et al.*, 2002a). Par contre, en climat froid, la croissance des porcs est réduite et l'épaisseur du gras dorsal est moindre (Bee *et al.,* 2004). La composition des muscles des porcs élevés en plein air est différente de celle de porcs conventionnels : leur teneur en lipides intramusculaires est moindre du fait de conditions d'élevages plus difficiles (Enfält *et al.,* 1997 ; Sather *et al.,* 1997 ; Bee *et al.,* 2004).

Le fait que les animaux puissent chercher d'autres sources de nourriture dans l'environnement naturel joue beaucoup sur la composition en acides gras essentiels de leurs tissus : le niveau d'acide linoléique et d'autres omégas-3 et 6 est bien supérieur chez des porcs élevés en plein air (l'herbe est très riche en acide linoléique) (Nilzen *et al*., 2001 ; Bee *et al.,* 2004 ; Lebret et Guillard, 2005). On constate également que les porcs d'extérieur fixent plus de vitamine E dans leur gras superficiel et dans leurs lipides intramusculaires (Andres *et al.,* 2001; Nilzen *et al.,* 2001 ; Gonzalez et Tejeda, 2007). De plus, L'élevage en plein air améliore les qualités nutritionnelles de la viande. Dans les systèmes de production traditionnels méditerranéens, la consommation d'herbe durant la période de finition augmente la teneur en acides gras et la quantité d'anti-oxydants contenus dans le muscle des porcs, et donc la qualité des produits (Lopez-Bote, 1998). Concernant la qualité technologique de la viande, Gentry *et al.* (2002b) et Bee *et al.* (2004) n'ont constaté aucune différence de durée et de niveau de chute du pH post-mortem sur la longe de porc élevé en plein air comparé à celle de porc élevé dans un système conventionnel. Les impacts de l'élevage plein air sur la qualité technologique de la viande dépendent des muscles considérés: on constate des effets bien plus néfastes sur le jambon que sur les muscles de la longe (Gandemer *et al.,* 1990 ; Bee *et al.,* 2004).

Une question importante et souvent débattue concerne la réaction au stress pré-abattage de porcs issus de différents systèmes d'élevage et les impacts de ce stress sur la qualité des viandes. Terlouw *et al.* (2004) a évalué les réponses comportementales et physiologiques des porcs lors du mélange des cheptels à l'abattoir, en fonction de leurs conditions d'élevages (plein air / conventionnel). Ils ont montré que lors du rassemblement, les porcs plein air se battent moins que les porcs conventionnels ; ils présentent moins de lésions superficielles, une teneur en glycogène du muscle plus élevée avant et après abattage et un pH plus faible que ces derniers. Barton-Gade (2008) a également relevé moins de comportements agressifs chez les porcs plein air après mélange au chargement, ce qui suggère que cet événement soit plus stressant pour leurs congénères élevés de façon conventionnelle.

Les différences de comportement observées ont eu peu d'impacts sur les indicateurs de qualité de la viande mesurés dans cette étude. Des différences de qualité plus nettes auraient pu être observées si on avait comparé un groupe de porcs conventionnels mélangé, pour lesquels les conditions de détention avant abattage favorisent les comportements agressifs et l'activité physique, et un groupe de porcs plein air non mélangé, comme cela s'observe en pratique dans les abattoirs. (Lebret *et al.,* 2006b).

Les qualités organoleptiques de la longe de porcs élevés en plein air sous climat tempéré, au génotype « classique », et moins stressés avant l'abattage (conditions de détention plus favorables) ne sont que légèrement améliorées (plus grande tendreté ; Gentry *et al.,* 2002b) voire similaires (Gandemer *et al.,* 1990) à celles de la longe de porcs conventionnels. L'étude d'Enfält *et al.* (1997) rapporte au contraire une tendreté et une jutosité dégradées dans la longe de porcs plein air, ce qui pourrait être expliqué par un pHu et une teneur en gras intramusculaire plus faible dans cette étude.

Dans les régions méditerranéennes, on distingue le système sylvopastoral traditionnel en plein air qui met en œuvre des animaux de races locales, élevés de façon extensive dans les sous-bois, pour produire des aliments secs à forte valeur ajoutée, comme le jambon cru. Ces animaux présentent de faibles performances de croissance, ont des carcasses grasses de conformation médiocre, et ont des prédispositions à fixer plus d'acide oléique que les races conventionnelles (Edwards et Casabianca, 1997). De plus, dans ces systèmes traditionnels, la période de finition a lieu en automne, dans des forêts de chênes et de châtaigniers. Les animaux se nourrissant de glands et de châtaignes (riches en amidon) déposent beaucoup de gras superficiel et intramusculaire, du fait du stockage de triglycérides dans le muscle, ce qui donne de grandes qualités organoleptiques (jutosité, flaveur) aux produits secs issus de leur viande. Ces systèmes d'élevage jouent également un rôle important dans l'entretien des sous-bois et la préservation des paysages: la production porcine y est très liée aux écosystèmes et participe à leur préservation (Lopez-Bote, 1998 ; Edwards, 2005).

L'utilisation de races locales dans un environnement naturel pour la fabrication de produits porcins spécifiques et de haute qualité est reconnue par un label européen « Protected Designation of Origine » (PDO). Certains PDO ne s'adressent qu'aux élevages utilisant des races locales pures (la race Alantejano au Portugal ; en France, les porcs basques, corses et gascons), d'autres tolèrent les croisements (le porc Ibérique espagnol) enfin quelques PDO autorisent les races conventionnelles (en Italie, pour le jambon de Parme notamment).

2.2.4. Elevages en agriculture biologique

En agriculture biologique, l'interdiction d'utiliser des acides aminés de synthèse et l'obligation de distribuer aux porcs des fibres alimentaires jouent sur la croissance des animaux et la qualité de leurs carcasses et de leur viande.

Hansen *et al.* (2006) ont montré que des porcs élevés en agriculture biologique recevant moins de concentrés (70%) et des fibres alimentaires à volonté présentaient un Gain Moyen Quotidien (GMQ) réduit (-27%) et une carcasse avec plus de viande maigre (+ 1%) que des porcs recevant 100 % de concentrés, qu'ils soient élevés en agriculture biologique ou selon un schéma conventionnel. Le fait de réduire l'apport de concentrés n'affecte pas le pH ou l'exsudation de la viande mais en diminue la teneur en lipides et la tendreté.

Une autre étude a été réalisée par Millet *et al.* (2005) sur l'alimentation (100% bio contre 100% conventionnelle, avec acides aminés de synthèse) et le logement des porcs (accès extérieur avec 4 m^2/porc contre sol bétonné avec 1 m^2/porc). Les résultats ont montré que les performances de croissance des animaux ont été meilleures, mais les carcasses plus grasses, en logement optimisé tandis que les modalités d'alimentation n'ont pas eu d'effets significatifs. Les valeurs de pH et la couleur de la viande sont restées similaires entre les différents systèmes.

La principale difficulté à surmonter en agriculture biologique est l'adéquation des apports en protéines aux besoins du porc en croissance : généralement, en conditions d'élevages, les porcs conduits en agriculture biologique reçoivent moins d'acides aminés essentiels. De ce fait, leurs performances de croissance sont moindres, et leurs carcasses sont plus grasses (gras superficiel + lipides intramusculaires), ce qui améliore leurs qualités organoleptiques (Sundrum *et al.,* 2000).

En conclusion, l'impact de la conduite en agriculture biologique sur les performances de croissance de l'animal et sur les critères de qualité de la viande dépend essentiellement de l'alimentation, et du mode de logement dans une moindre proportion. Ainsi, les qualités organoleptiques de la viande de porcs bio sont très variables et dépendent du système d'élevage considéré (alimentation x logement).

2.3. Les conditions de pré-abattage

Durant tout les processus de pré-abattage et d'abattage, les animaux sont confrontés à de nombreux facteurs d'agression, dont les plus évidents sont le changement de milieu physique et social, la mise à jeun et l'activité physique inhabituelle.

Les animaux soumis à des situations aversives, c'est-à-dire perçues par eux comme contraignantes ou agressives, manifestent de multiples réactions physiologiques et métaboliques (Terlouw *et al.,* 2001; Figure 1.5). Les plus connues des réactions physiologiques à l'agression sont l'activation de l'axe corticotrope, avec l'augmentation de sécrétion des glucocorticoïdes (principalement le cortisol chez le porc), et celle du système nerveux autonome, qui résulte entre autres en une hypersécrétion de catécholamines. L'activation du système nerveux autonome se traduit immédiatement par une augmentation du rythme cardiaque (Figure 1.6), une glycogénolyse musculaire et hépatique (activation de la phosphorylase) et une potentialisation des contractions musculaires. Ses effets sur les qualités de la viande sont complexes car ils varient notablement avec son intensité et sa durée. Une hypersécrétion de catécholamines peu intense mais prolongée peut abaisser le taux de glycogène musculaire dans des proportions suffisantes pour augmenter le pH de la viande, favorisant l'apparition de viande DFD et s'opposant au développement du caractère PSE : c'est ce que l'on peut observer lors de situations modérément agressives comme le transfert et l'attente à l'abattoir. Les effets des taux de catécholamines potentiellement très élevés associés à l'excitation intense survenant en général immédiatement avant et pendant l'abattage sont controversés.

Álvarez *et al.* (2009) et Monin (2003) ont publié des synthèses bibliographiques des principaux facteurs de pré-abattage influençant la qualité de viande chez le porc, et dont certains détails ont été repris dans ce paragraphe.

Ainsi, les différentes étapes potentiellement stressantes pouvant influencer le métabolisme musculaire des porcs, et par conséquent le pH post-mortem et les qualités des viandes sont détaillées ci-dessous.

2.3.1. La mise à jeun

Une bonne mise à jeun des porcs avant l'abattage est primordiale afin d'obtenir une viande de qualité. Lorsque celle-ci n'est pas réalisée correctement, certains préjudices peuvent apparaître.

1) La réactivité au stress de l'animal dépend :

a) de ses caractéristiques génétiques
b) des conditions d'élevage

2) la nature et l'intensité des réactions à l'abattage dépendent :

a) des conditions d'abattage
b) de la réactivité de l'animal au stress
c) de l'état ponctuel physiologique et émotionnel de l'animal
d) du vécu et du patrimoine génétique de l'animal

3) Le stress provoque chez les animaux des réponses comportementales et physiologiques.

L'effet de ces réponses sur le métabolisme dépend :

a) de l'ampleur de ces réponses
b) de la génétique
c) des conditions d'élevage

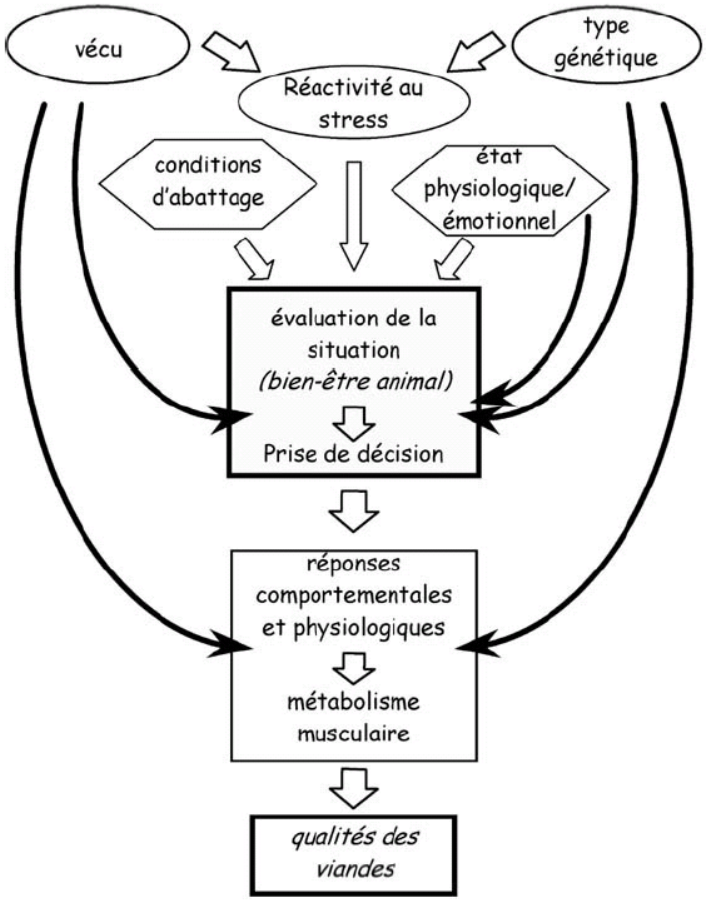


Figure 1.5 - Patrimoine génétique et vécu influencent la résistance au stress : représentation schématique des liens entre la réactivité au stress, le stress à l'abattage et les qualités des viandes (Terlouw *et al.*, 2001).

Selon une revue récente concernant le bien être des animaux durant le transport, réalisée par un groupe d'experts du comité scientifique de la santé animale et du bien être des animaux (European Council, 2005), les porcs doivent être mis à jeun durant une période maximale de 10 h avant la collecte et le transport. Cependant, un retrait d'alimentation chez les porcs de 12 à 18 h est une pratique commune dans plusieurs pays servant à diminuer le taux de mortalité pendant le transport et pendant l'attente en abattoir (Gispert *et al.,* 1996), et à diminuer également les problèmes associés à l'éviscération après l'abattage (Chevillon, 1994). Cette période de mise à jeun permet de réduire les risques de contaminations microbiennes lors du processus d'abattage (Bager *et al.,* 1995). Par ailleurs, les effets des réponses comportementales et physiologiques au stress sur le métabolisme musculaire dépendent du statut énergétique des porcs (Terlouw, 2005). Ainsi, les porcs mis à jeun sont beaucoup plus agressifs que les porcs nourris (Brown *et al.,* 1999) et manifestent une baisse aiguë du niveau du glycogène musculaire durant les combats (Fernández *et al.,* 1994).

Lorsque les animaux mis à jeun sont exposés à une longue durée de transport et d'attente en abattoir, l'augmentation de leur agressivité et leurs combats provoquent une augmentation des lésions et lacérations cutanées (Murray *et al.,* 2001), ainsi qu'une baisse du rendement de la carcasse (Eikelenboom *et al.,* 1991).

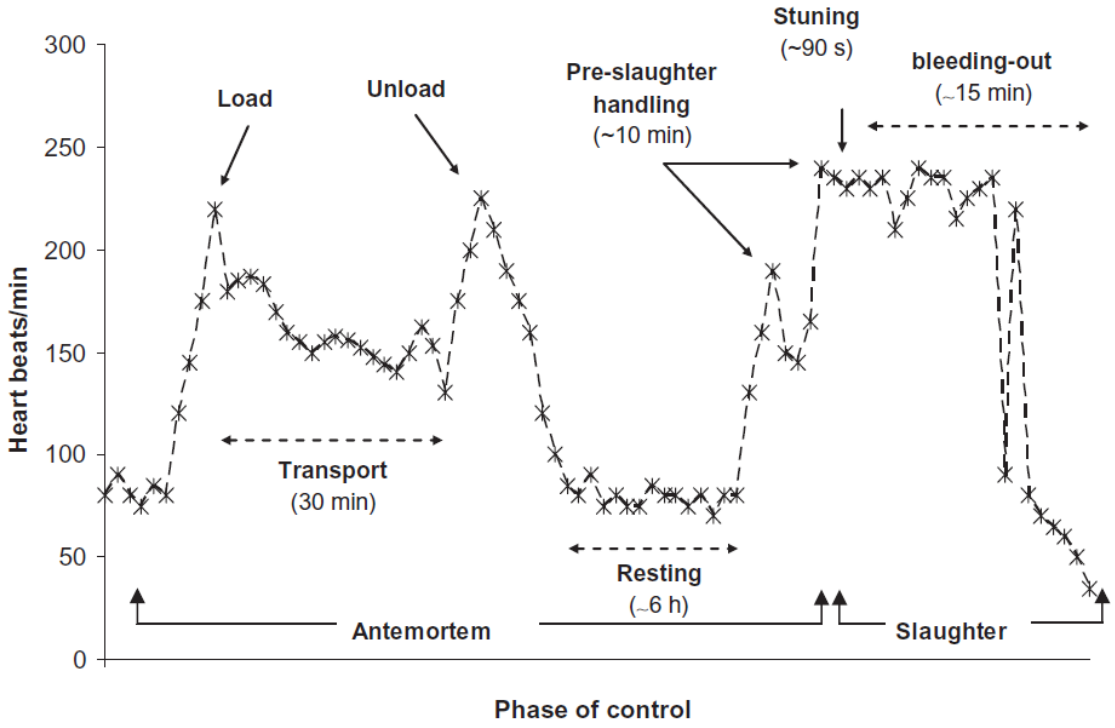


Figure 1.6 - Evolution du rythme cardiaque (valeurs moyennes) chez des porcs pendant le transport durant une courte durée (n = 91), et pendant les phases ante-mortem (repos à l'abattoir) et d'abattage (étourdissement et saignée). (Álvarez *et al.*, 2009)

D'autre part, le taux de mortalité des porcs durant le transport est plus élevé quand les animaux sont nourris jusqu'au chargement en raison de la pression exercée par l'estomac plein sur la veine cave, ce qui réduit son diamètre et perturbe la circulation sanguine (Warriss, 1994). Ce processus est souvent aggravé par l'inhalation de l'animal de son propre vomi (Guise, 1987). En outre, il augmente le risque de propagation de *Salmonella* à l'éviscération (Tarrant, 1989). En conséquence, les procédures d'abattage semblent avoir un effet plus prononcé sur le métabolisme ante- et post-mortem des animaux mis à jeun comparativement à ceux nourris sans restriction.

La durée du jeûne est aussi un paramètre à prendre en considération à cause de son impact sur l'amplitude de chute de pH de la viande et ses conséquences potentielles sur le développement de la viande PSE.

Il est admis que la période de jeûne contribue à réduire le taux des glucides disponibles à la conversion post-mortem en glycogène et en acide lactique, permettant ainsi de réduire les réserves musculaires en glycogène chez le porc durant l'abattage, par conséquent, augmenter le pHu , et ainsi améliorer la capacité de rétention d'eau et la couleur de la viande. Toutefois, l'augmentation du pHu observée après une période de jeûne de moins de 24 h n'est pas suffisante pour que la viande soit considérée comme viande DFD (Troeger, 1996). En effet, un temps de jeûne trop long favoriserait l'apparition des viandes DFD par épuisement trop rapide des réserves énergétiques de l'animal après sa mort. L'importance de la fréquence des viandes PSE et DFD en fonction du temps de jeûne à la ferme a été analysée dans plusieurs études (Guárdia *et al.,* 2004 ; Guárdia *et al.,* 2005) qui ont montré qu'une chute importante de la fréquence des viandes PSE et DFD est observée lorsque la durée de jeûne à la ferme est entre 18 - 22 h et 14 – 22 h, respectivement. Toutefois, les recommandations qui existent dans la littérature concernant la durée optimale du temps de jeûne, ainsi que ses potentiels avantages sont relativement contradictoires (Tableau 1.3).

Tableau 1.3 - Différents résultats publiés concernant l'effet de la durée de jeûne sur le bien être animal et la qualité de viande (Álvarez *et al.,* 2009)

Temps de jeûne	Observations	Référence
4 h	Risque élevé de vomissement	Bradshaw et Hall (1996)
2 - 6 h	Taux de mortalité très élevé des porcs transportés	English *et al.* (1988)
4 - 12 h avant le chargement	Durée appropriée de mise à jeun	Warriss (1987)
6 - 12 h	Taux de mortalité faible des porcs transportés	English *et al.* (1988)
Porcs nourris avant le transport	Aversion envers le transport plus élevée	Stephens et Perry (1990)
Porcs nourris le jour du transport	Les pertes à l'abattage sont plus élevées	Tarrant (1993)
Mise à jeun durant toute la nuit	pHu, couleur, et capacité de rétention d'eau plus élevés.	Jones *et al.* (1985)
	Pas d'effet sur la qualité de viande (PSE)	De Smet *et al.* (1996)
9 - 18 h	Pertes plus élevées en poids de carcasse	Fischer (1996)
< 12 h ou > 18 h	Taux de mortalité plus élevé (durant le transport + stabulation) et stress plus élevé des porcs (niveau de cortisol plus élevé	Gispert *et al.* (1996)
16 - 24 h	Avantageux aux manipulateurs	Eilert (1997)

24 - 48 h	Réduction de l'incidence de la viande PSE chez les porcs susceptibles au stress	Murray *et al.* (1989)
> 72 h	Aucun effet sur le pHu	Becker *et al.* (1989)
> 96 h	Augmentation de 8% de l'incidence de la viande DFD	González *et al.* (1987)

PSE : viande exsudative (Pale, soft and exudative) ; DFD : viande dure et ferme (Dark, firm et dry) ; pHu : pH ultime mesuré 24h post-mortem.

2.3.2. Transport

Le transfert des porcs de l'élevage à l'abattoir est une opération difficile et pénible à la fois pour les opérateurs et les animaux. Le transport est, ainsi, considéré comme l'un des plus importants facteurs de pré-abattage, car même dans les meilleures conditions, il représente une source potentielle de stress ou de fatigue chez les animaux. En effet, durant le transport, on assiste à des pertes de poids vifs (Wajda et Bak, 1994), ou même la mort des animaux, ainsi que des altérations du métabolisme post-mortem accompagnées d'une détérioration de la qualité de viande (Martoccia *et al.,* 1995 ; Lambooij et Van Putten, 1993). Le stress des animaux durant le transport peut être lié à des facteurs comme la distance parcourue, le type du véhicule, la densité des animaux, les conditions environnementales durant le transport, le contact avec des personnes non familières, le mélange des animaux,….

Le chargement dans les camions est facilité par une bonne conception des quais de chargement et l'emploi de véhicules équipés de planchers élévateurs. Si les animaux accèdent au camion par une rampe, la pente de celle-ci doit être inférieure à 20°.

Les camions utilisés pour le transport doivent être couverts, bien ventilés et posséder des planchers antidérapants pour éviter les chutes génératrices d'hématomes, voire de luxations et de fractures. La température dans le véhicule ne devrait pas excéder 30°C (Randall, 1993) pour rester dans la zone de neutralité thermique des porcs. La densité de chargement est importante :

1/ du point de vue économique : le coût du transport par porc est inversement proportionnel à la densité, mais celle-ci influence les pertes liées à la mortalité (Lendfers, 1971) et aux dépréciations éventuelles des carcasses (lacérations) ;

2/ pour le confort des animaux, car l'agressivité et la fréquence des combats, des lacérations et des retournements du rectum (Guise et Penny, 1989 cités par Tarrant, 1989) augmentent avec la densité.

La densité de chargement est une condition préalable qui permet de prévenir le stress durant le transport. La directive de l'Union Européenne relative à la densité de chargement mise en vigueur depuis Janvier 2007 (EC, 2005) recommande une densité de chargement maximale de 235 kg/m^2 (0.425 m^2/100 kg) pour des porcs de 100 kg de poids vif, afin de garantir la protection des animaux pendant le transport. Les effets de la densité de chargement sur les qualités des viandes ont été peu étudiés et sont controversés. Les animaux transportés dans des espaces réduits souffrent davantage de fatigue et d'épuisement, ce qui se traduit par l'augmentation du pH45 et pHu de leur viande (Lambooij et Engel, 1991). C'est pourquoi il est recommandé que la durée de transport ne dépasse pas 3 h quand les densités de chargement sont moyennement élevées (281 Kg/m² ou 0.35 m²/100 Kg), afin d'éviter les effets indésirables sur le bien être des animaux (Warriss *et al.,* 1998). Les différences qui existent dans la bibliographie concernant la densité de chargement appropriée qui garantit à la fois le bien-être animal et une meilleur qualité de viande reflètent des différences régionales des conditions climatiques et de type génétique avec une sensibilité au stress (Tarrant, 1989 ; Guárdia *et al.,* 1996). Concernant les transports de longue durée, Lambooy *et al.* (1985) rapportent une augmentation du pH de la viande avec la densité de chargement, mais cet effet n'est pas observé par Chevillon *et al.* (2003) pendant un transport de 36 h.

La durée du transport a également des effets sur le bien être animal et les qualités de viandes. Cette durée est le plus souvent assez faible dans les pays européens (au plus quelques heures, sauf dans le cas d'exportations par exemple des Pays-Bas en Italie). Dans ce cas, comme les principaux facteurs d'agression sont constitués par le chargement et le déchargement des véhicules, les effets de la durée de transport sont limités si les conditions de transport (conduite, ventilation, densité de chargement) sont bonnes (Tarrant, 1989). La Figure 1.7 montre que l'effet de la durée du transport sur l'incidence de la viande PSE dépend de la densité de chargement (Guárdia *et al.,* 2004). On observe que la proportion de viandes PSE (Minvielle *et al.,* 2003) diminue et que celle de viandes DFD augmente (Pedauyé, 1993) avec la durée du transport. C'est une conséquence de la glycogénolyse musculaire liée à l'augmentation de sécrétion de catécholamines et/ou à l'exercice musculaire, qui augmente le pHu. Toutefois, aucun effet significatif de la durée du transport (1 - 4 h) sur l'incidence de la viande PSE ou DFD n'a été mis en évidence par Warris *et al.* (1990).

Leheska *et al.* (2003) ont montré qu'une durée de transport de 8 h contribue à améliorer la tendreté, comparativement à une durée de 1/2 h, en raison d'un potentiel glycolytique réduit au moment de l'abattage et le pHu élevé qui en résulte. Cependant,

d'autres auteurs ont observé une détérioration des qualités de viandes avec l'augmentation de la durée de transport dans un intervalle entre 1 h et 8 h (Bradshaw *et al.,* 1996 ; Brown *et al.,* 1998).

On a peu de données sur des transports de très longue durée, mais il est vraisemblable que l'augmentation du pH est d'autant plus marquée que le transport est plus long. Chevillon *et al.* (2003) ont montré que le fait d'alimenter les porcs durant un transport de 36 h réduit fortement les pertes de poids, mais a peu d'effet sur le pH de la viande. La directive européenne citée plus haut stipule que l'on doit décharger puis alimenter et laisser reposer les porcs pendant 24 h dès que la durée du transport dépasse 24 h. Chevillon *et al* (2003) concluent que le déchargement n'est pas souhaitable car source d'efforts et d'excitation, et qu'il vaut mieux alimenter et laisser reposer les porcs dans le véhicule.

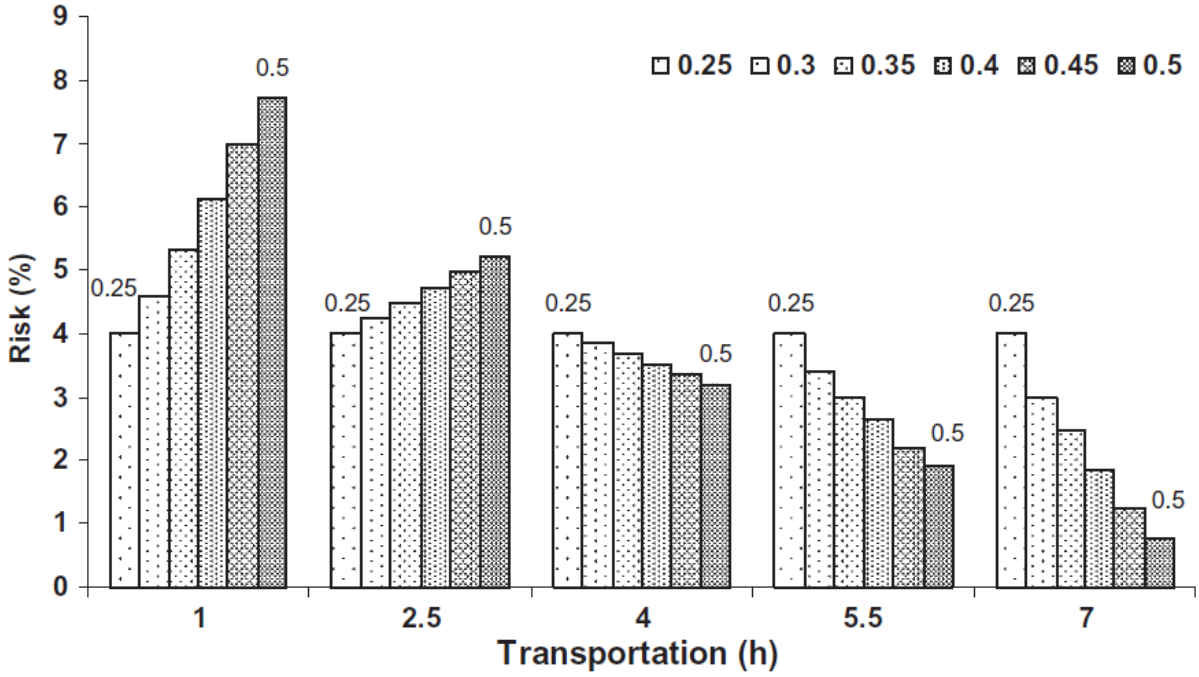


Figure 1.7. – Risque d'incidence de la viande PSE chez le porc selon la densité de chargement (0.25 – 0.5 m² kg de poids vif) et le temps de transport. (Guárdia *et al.*, 2004)

A l'arrivée à l'abattoir, les recommandations pour le déchargement des animaux sont les mêmes que pour le chargement : aménager l'espace de déchargement (quais à bonne hauteur ou plates-formes hydrauliques, absence de pentes ou pentes positives) et le parcours vers la porcherie, éviter les brutalités et, autant que possible, les mélanges d'animaux de cases d'élevage différentes. La zone de déchargement doit être bien éclairée, les couloirs doivent être larges (passage de plusieurs animaux de front), être rectilignes ou présenter un large

rayon de courbure et déboucher sur des cases allongées pouvant éventuellement être facilement divisées par des cloisons amovibles ou des portes intérieures.

2.3.3. Attente et mélange des animaux

La période de repos et d'attente des animaux avant l'abattage leur permet de retrouver leur statut physiologique initial avant le transport, et le retour du glycogène musculaire au niveau normal. Néanmoins, un traitement inadéquat des porcs durant cette étape peut provoquer un stress supplémentaire et des douleurs physiques conduisant, ainsi, à une détérioration supplémentaire de la qualité de la viande. En outre, les fluctuations de la température et de l'humidité relative pendant la stabulation peuvent influencer la qualité de la viande (Roseiro *et al.,* 1996). Il est conseillé de doucher les porcs pendant l'attente à l'abattoir, au moins si la température ambiante dépasse 15°C. Cette opération accélère le retour de la température corporelle à des valeurs normales et généralement calme les animaux (Tarrant, 1989). Long et Tarrant (1990) ont observé qu'une douche froide (~10°C) permet de baisser considérablement la température du muscle réduisant ainsi l'incidence de la viande PSE.

L'abattage durant les premières heures après le déchargement (< 2h), quand l'agressivité est encore prononcée, et que les animaux souffrent encore de stress physique et physiologique (Grandin, 1991), se traduit par une activité métabolique élevée, un pH musculaire faible (Enfält *et al.,* 1993), une température corporelle élevée et une qualité de viande inférieure (Perez *et al.,* 2002), ainsi qu'une incidence plus élevée de la viande PSE (Eikelenboom *et al.,* 1991). Pour cette raison, plusieurs auteurs suggèrent que l'abattage des porcs au bout de 2-4 h de repos mène à une réduction significative des problèmes de l'incidence de la viande PSE (Eikelenboom et Bolink, 1991; Grandin, 1994). D'autres auteurs ont constaté que la période de repos optimale qui permet d'obtenir de meilleurs indices de qualité de la viande est de l'ordre de 3-5 h (Honkavaara, 1989), 4-6 h (Garrido *et al.,* 1992) ou 6-8 h (Augustini et Fischer, 1982) chez les porcs sensibles au stress. Au-delà de 9 h de stabulation, l'agressivité et les combats entre les animaux sont probables, ce qui provoque un stress des animaux et augmente la proportion de lésions de la peau et l'incidence de la viande DFD (Nanni Costa *et al.,* 2002), et de la viande PSE (Gispert *et al.,* 2000).

Selon le Comité scientifique de la santé animale et du bien être des animaux (European Council, 2005), une durée de repos d'au moins 6 h est recommandée lorsque les porcs sont transportées durant une durée maximale de 8 h.

2.3.4. Conduite des animaux au poste d'étourdissement

La conduite des porcs au poste d'étourdissement est une source de bousculade et d'excitation. Les manipulateurs peuvent être brutaux avec les animaux et s'aident souvent de "stimulateurs électriques" pour les faire avancer. Dans les abattoirs de gros tonnages, où les cadences d'abattage sont élevées, la conduite des animaux au poste d'étourdissement est souvent assistée par des systèmes automatisés (tapis roulants, conduite suspendue). Ces opérations induisent un stress important dont les réponses contribuent à une élévation du métabolisme musculaire (Chevillon, 2001; Griot *et al.,* 2000). L'activation des réactions biochimiques de la glycolyse persiste après la saignée, accélère la vitesse de chute du pH et augmente la température musculaire (D'Souza *et al.,* 1998 ; Van der Wal *et al.,* 1999). Ce phénomène contribue à l'augmentation de la fréquence d'apparition de viandes PSE (Brown *et al.*, 1998 ; D'Souza *et al.,* 1998 ; Van der Wal *et al.,* 1999).

2.3.5. Etourdissement

L'étourdissement des animaux de boucherie avant la saignée est une obligation réglementaire qui permet de mieux respecter le bien-être animal et de réduire les risques d'accidents pour le personnel d'abattoir. Pour l'abattage des porcs, deux systèmes peuvent être utilisés : l'étourdissement électrique ou électronarcose, et l'étourdissement gazeux.

Lors d'un étourdissement par électronarcose, le courant électrique est généralement appliqué au niveau du cou. Cette méthode présente l'avantage d'étourdir le porc de manière quasi instantanée, mais l'application du courant électrique entraîne une violente contraction de la musculature ainsi qu'une perturbation du système nerveux qui conduit, entre autre, à un relargage important de catécholamines dans le sang (Van der Wal, 1975). La réponse métabolique dans les cellules provoque une augmentation de la température musculaire de 1°C en moyenne (Monin, 1973). Cette activation du métabolisme et l'augmentation de température qui lui est associée élèvent le risque d'obtention de viandes PSE. D'autre part, la violente contraction produite par le courant d'électronarcose provoque des lésions vasculaires qui conduisent à des microhémorragies dans les muscles. Ce phénomène provoque l'apparition de points de sang, visibles à la découpe et au tranchage (Griot *et al.*, 2000). Un mauvais réglage du matériel d'électronarcose ou sa mauvaise manipulation peut conduire à une fréquence élevée de ce défaut d'aspect.

L'étourdissement gazeux consiste à immerger les animaux dans une fosse contenant au moins 80% de CO_2 dans l'air. Avec ce mode d'étourdissement, on observe moins de défauts d'aspect dans la viande comme les points de sang et les ecchymoses et la fréquence d'apparition de viandes PSE est sensiblement réduite (Velarde *et al.,* 2001 ; Channon *et al.,* 2003). Cependant, l'utilisation du CO_2 suscite des interrogations quant au respect du bien-être animal lors de l'anesthésie elle-même. La perte de conscience par l'utilisation du gaz n'est pas instantanée, contrairement à l'électronarcose.

Conclusion

A l'issue de cette synthèse bibliographique, on conclut à l'existence de plusieurs études sur les critères de qualité de viande, dont on a cité les principaux dans ce premier chapitre.
Parallèlement, beaucoup d'études ont analysé les facteurs pouvant influencer ces critères de qualité de viande chez le porc, notamment la comparaison des différences dues à ces facteurs et la compréhension des mécanismes physiologiques qui expliquent ces variations.

Aujourd'hui, plusieurs synthèses bibliographiques de ces résultats existent dans la littérature (Sellier, 1998 ; Lebret *et al.,* 1999 ; Monin, 2003 ; Álvarez *et al.,* 2009). Cependant, et compte tenu de la disponibilité de l'information qui est parfois contradictoires entre les publications, le recours à la méta-analyse comme approche synthétique quantitative est recommandé (Glass, 1976 ; St-Pierre, 2001).

Références

Ahn D.U., Lutz S., Sim J.S., 1996. Effects of dietary α-linolenic acid on the fatty acid composition, storage stability and sensory characteristics of pork loin. Meat Science, 43, 291-299.

Álvarez D., Garrido M.D., Bañón S., 2009. Influence of pre-slaughter process on pork quality: an overview. Food Reviews International, 25, 233-250.

Anderson H.G., 2000. What is pork quality? Quality of meat and fat in pigs as affected by genetics and nutrition. In: 51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Zurich, Switzerland, EAAP Publication N° 100, 15-26.

Andres A.I., Cava R., Mayoral A.I., Tejeda J.F., Morcuende D., Ruiz J., 2001. Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles as affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. Meat Science, 59, 39–47.

Augustini C., Fischer K., 1982. Physiological reaction of slaughter animals during transport. In: Transport of Animals Intended for Breeding, Production and Slaughter (R. Moss, ed.), Martinus Nijhoff, The Hague, The Netherlands, 125-135.

Bager F., Emborg H.D., Lund S.L., Halgaard C., Thode J.P., 1995. Control of Salmonella in Danish pork. Fleiscwirtschaft,75, 1000-1001.

Barton-Gade P.A., 1987. Meat and fat quality in boars, castrates and gilts. Livestock Production Science, 16, 187-196.

Barton-Gade P.A., 2008. Effect of rearing system and mixing at loading on transport and lairage behaviour and meat quality: comparison of outdoor and conventionally raised pigs. Animal, 2, 902-911.

Barbut S., Sosnicki A.A., Lonergan S.M., Knapp T., Ciobanu D.C., Gatcliffe L.J., Huff-Lonergan E., Wilson E.W., 2008. Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. Meat Science, 79, 46-63.

Beattie V.E., O'Connell N.E., Moss B.W., 2000. Influence of environmental enrichment on the behaviour, performance and meat quality of domestic pigs. Livestock Production Science, 65, 71–79.

Bee G., Guex G., Herzog W., 2004. Free-range rearing of pigs during the winter: adaptations in muscle fiber characteristics and effects on adipose tissue composition and meat quality traits. Journal of Animal Science, 82, 1206–1218.

Bendall J.R., 1973. Post mortem changes in muscles. In : G.H. Bourne (ed.), The structure and function of muscle, 2nd Ed., Academic Press, New York.

Bereskin B., Rough D.K., Davey R.J., 1978. Some factors affecting the evaluation of pork quality. Journal of Animal Science, 47, 389-397.

Bonneau M., 1988. Intérêts et limites de la production de viandes de porc mâle entier. INRA Productions Animales, 1, 133-140.

Bonneau M., Touraille C., Pardon P., Lebas F., Fauconneau B., Remignon H., 1996. Amélioration de la qualité des carcasses et des viandes. Inra Productions animales, N° Hors série, 95-110.

Bout J., Girard J., 1988. Lipides et qualités des tissus adipeux et musculaires du porc. 2ème partie : lipides et qualités du tissu musculaire – facteurs de variation. Journées de la Recherche Porcine en France, 20, 271-278.

Bradshaw R.H., Parrott R.F., Goode J.A., Lloyd D.M., Rodway R.G., Broom D.M., 1996. Behavioral and hormonal responses of pigs during transport: effect of mixing and duration of journey. Journal of Animal Science, 62, 547–554.

Brown S.N., Knowles T.G., Edwards J.E., Warriss P.D., 1999. Relationship between food deprivation before transport and aggression in pigs held in lairage before slaughter. Veterinary Record, 145, 630-634.

Brown S.N., Warriss P.D., Nute G.R., Edwards J.E., Knowles T.G., 1998. Meat quality in pigs subjected to minimal preslaughter stress. Meat Science, 49, 257–265.

Bruce H.L., Ball R.O., 1990. Postmortem interactions of muscle temperature, pH and extension on beef quality. Journal of Animal Science, 68, 4167-4175.

Cameron N.D., Enser M.B., 1991. Fatty acid composition of lipid in Longissimus dorsi muscle of Duroc and British Landrace pigs and its relationship with eating quality. Meat Science, 29, 295-307.

Candek-Potokar M., Lefaucheur L., Zlender B., Bonneau M., 1998. Effects of age and/or weight at slaughter on pig longissimus dorsi muscle: biochemical traits and sensory quality in pigs. Meat Science, 48, 287–300.

Castell A.G., Cliplef R.L., Poste-Flynn L.M., Butler G., 1994. Performance, carcass and pork characteristics of castrates and gilts self-fed diets differing in protein content and lysine:energy ratio. Canadian Journal of Animal Science, 74, 519-528.

Channon H.A., Payne A.M., Warner R.D., 2003. Effect of stun duration and current level applied during head to back and head only electrical stunning of pigs on pork quality compared with pigs stunned with CO2. Meat Science, 65, 1325-1333.

Charpentier J., 1966. Pigmentation musculaire des veaux de boucherie. II - Influence d'une supplémentation en fer sur la teneur en fer de certains muscles. Annales de Zootechnie, 15, 361-366.

Charpentier J., 1968. Glycogénolyse post-mortem du muscle Longissimus dorsi de porc. Annales de Zootechnie, 17, 429-443.

Chevillon P., 1994. Control of pork stomachs in abattoir. The mirror of the stomach in cattle. Technological Institute of Pork, Le Rheu, France, 11 p.

Chevillon P., 2001. Opération de préabattage et d'anesthésie, la réduction du stress améliore le bien-être des porcs. Viandes et Produits Carnés, 22, 95-102.

Chevillon P., Frotin P., Rousseau P., Kerisit R., 2003. Incidence sur le bien-être des porcs de la densité de chargement et du protocole d'alimentation lors d'un transport de 36 heures incluant 9 heures d'arrêt. Journées de la Recherche Porcine en France, 35, 179-186.

Chevillon P. Jamain G., Grigot B. 2000. Evaluation du stress du porc par la mesure des fréquences cardiaques de la case d'engraissement au passage à l'anesthésie. ITP, Techni Porc, 23, 5-18.

Ciobanu D., Bastiaansen J., Malek M., Helm J., Woollard J., Plastow G., Rothschild M., 2001. Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate activated c3-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. Genetics, 159, 1151-1162.

Ciobanu D.C., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E.J., 2011. Genetics of meat quality and carcass traits. In: The Genetics of the Pig 2nd edition. Ed. Rothschild M.F.; Ruvinsky A. CABI, Wallingford, UK. Pages: 355-389.

Cisneros F., Ellis M., McKeith F.K., McCaw J., Fernando R.L., 1996. Influence of slaughter weight on growth and carcass characteristics, commercial cutting and curing yields, and meat quality of barrows and gilts from two genotypes. Journal of Animal Science, 74, 925-933.

Constantinescu, S., 2005. Biologie moléculaire de la cellule 3ème édition (De Boeck & Larcier, eds.), Bruxelles.

Cromwell G.L., Hays V.W., Trujillo-Figueroa V., Kemp J.D., 1978. Effects of dietary protein and energy levels for growing- finishing swine on performance, muscle composition and eating quality of pork. Journal of Animal Science, 47, 505-513.

Daumas G., 2008. Actualisation de l'équation CGM pour le classement des porcs en France. Journées de la Recherche Porcine en France, 40, 89-90.

Daumas G., Causeur D., Predin J., 2010. Validation de l'équation française de prédiction du taux de muscle des pièces (TMP) des carcasses de porc par la méthode CGM. Journées de la Recherche Porcine en France, 42, 229-230.

De Jong I.C., Prelle I.T., Van de Burgwal J.A., Lambooij E., Korte S.M., Blokhuis H.J., Koolhaas J.M., 2000. Effects of rearing conditions on behavioural and physiological responses of pigs to preslaughter handling and mixing transport. Canadian Journal of Animal Science, 80, 451–458.

Desmoulin B., Girard J.P., Bonneau M., Frouin A., 1983. Aptitude à l'emploi des viandes porcines suivant le type sexuel, le système d'alimentation et le poids d'abattage. Journées de la Recherche Porcine en France, 15, 177-192.

Dikeman, M.E., 2007. Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. Meat Science, 77, 121–135.

Dransfield E., Ngapo T.M., Nielsen N.A., Bredahl L., Sjö den P.O., Magnusson M., Campo M.M., Nute G.R., 2005. Consumer choice and suggested price for pork as influenced by its appearance, taste and information concerning country of origin and organic pig production. Meat Science 69, 61–70.

D'souza D.N., Dunshea F.R., Warner R.D., Leury B.J., 1998. The effect of handling pre - slaugther and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. Meat Science. 50, 429- 437.

Dunshea F.R., D'Souza D.N., Pethick D.W., Harper G.S., Warner R.D., 2005. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. Meat Science, 71, 8-38.

Edwards S.A., 2005. Product quality attributes associated with outdoor pig production. Livestock Production Science, 94, 5–14.

Edwards S.A., Casabianca F., 1997. Perception and reality of product quality from outdoor pig production systems in Northern and Southern Europe. In Livestock farming systems: more than food production (J.T. Sorensen, ed.), Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands, 145-156.

Eikelenboom G., Bolink A.H., 1991. The effects of foodstuff composition, sex and day of slaughter on pork quality. In Proceedings of the 37th International Congress of Meat Science and Technology, Kulmbach, Germany, 233-236.

Eikelenboom G., Bolink A.H., Sybesma W., 1991. Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. Meat Science, 29, 25–30.

Eikelenboom G., Minkema D., 1974. Predicton of pale, soft, exudative muscle with a non-lethal test for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. Tijdschrift voor Diergeneeskunde, 99, 421-426.

Ellis M., Webb A.J., Avery P.J., Brown I., 1996. The influence of terminal sire genotype, sex, slaughter weight, feeding regime and slaughter-house on growth performance and carcass and meat quality in pigs and on the organoleptic properties of fresh pork. Animal Science, 62, 521–530.

Enfält A.C., Lundström K., Engstrand U., 1993. Early post mortem pH decrease in porcine M. Longissimus dorsi of PSE, normal and DFD quality. Meat Science, 34, 131-143.

Enfält A.C., Lundström K., Hansson I., Lundeheim N., Nyström P.E., 1997. Effects of outdoor rearing and sire breed (Duroc or Yorkshire) on carcass composition and sensory and technological meat quality. Meat Science, 45, 1–15.

Estrade M., Vignon X., Rock E., Monin G., 1993. Glycogen hyperaccumulation in white muscle fibres of RN- carrier pigs. A biochemical and ultrastructural study. Comparative Biochemistry and Physiology - Part B, 104, 321-326.

European Council, 2005. Council Regulation (EC) No. 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No. 1255/97. Official Journal of the European Union L3, 1-44.

Fernandez X., Monin G., Culioli J., Legrand I., Quilichini Y., 1996. Effect of duration of feed withdrawal and transportation time on muscle characteristics and quality in Friesian-Holstein calves. Journal of Animal Science, 74, 1576-1583.

Fernández X., Meunier-Salaün M.C., Ecolan P., Morméde P., 1994. Interactive effect of food deprivation and agonistic behaviour on blood parameters and muscle glycogen in pigs. Physiology and Behavior, 58, 337–345.

Fernandez X., Mourot J., Mounier A., Ecolan P., 1995. Effect of muscle type and food deprivation for 24 h on the composition of the lipidic fraction in muscles of Large White pigs. Meat Science, 41, 335-343.

Fernandez X., Tornberg E., 1991. A review of the causes of variation in muscle glycogen content and ultimate pH in pigs. Journal of Muscle Foods, 2, 209-235.

Fontanesi L., Davoli R., Nanni Costa L., Beretti F., Scotti E., Tazzoli M., Tassone F., Colombo M., Buttazzoni L., Russo V., 2008. Investigation of candidate genes for glycolytic potential of porcine skeletal muscle: Association with meat quality and production traits in Italian Large White pigs. Meat Science, 80, 780–787.

FPW, 2001. La qualité de la viande de porc. Dossier technique. Filière Porcine Wallone asbl.

Gandemer G., Pichou D., Bouguennec B., Caritez J.C., Berge P., Briand E., Legault C., 1990. Influence du système d'élevage et du génotype sur la composition chimique et les qualités organoleptiques du muscle long dorsal chez le porc. Journées de la Recherche Porcine en France, 22, 101–110.

Garrido M.D., Pedauyé J., Marques F., Quiñonero J., Laencina J., 1992. Influencia del tiempo de reposo en la calidad de la carne. Jornadas Técnicas de Valoración de Canales y Carnes y Defensas de la Calidad de los Productos Ganaderos. Feria Internacional Ganadera del Quinto Centenario.Lugar de celebración Zafra. Badajoz. (España).

Gentry J.G., McGlone J.J., Blanton J.R., Miller M.F., 2002b. Alternative housing systems for pigs: influences on growth, composition and pork quality. Journal of Animal Science, 80, 1781-1790.

Gentry J.G., McGlone J.J., Miller M.F., Blanton J.R., 2002a. Diverse birth and rearing environment effects on pig growth and meat quality. Journal of Animal Science, 80, 1707-1715.

Geverink N.A., De Jong I.C., Lambooij E., Blokhuis H.J., Wiegant V.M., 1999. Influence of housing conditions on responses of pigs to preslaughter treatment and consequences for meat quality. Canadian Journal of Animal Science, 79, 285–291.

Gil M., Delday M.I., Gispert M., Font i Furnols M., Maltin C.M., Plastow G.S., Klont R., Sosnicki A.A., Carrión D., 2008. Relationships between biochemical characteristics and meat quality of Longissimus thoracis and Semimembranosus muscles in five porcine lines. Meat Science, 80, 927-933.

Girard J.P., Bout J., Salort D., 1988. Lipides et qualités du tissu adipeux, facteurs de variation. Journées de la Recherche Porcine en France, 20, 255-278.

Gispert M., Faucitano L., Oliver M.A., Guàrdia M.D., Coll C., Siggens K., Harvey K., Diestre A., 2000. A survey of pre-slaughter conditions, halotane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. Meat Science, 55, 97-106.

Gispert M., Font i Furnols M., Gil M., Velarde A., Diestre A., Carrión D., Sosnicki A.A., Plastow G.S., 2007. Relationships between carcass quality parameters and genetic types. Meat Science, 77, 397-404.

Gispert M., Guàrdia M.D., Diestre A., 1996. Mortality during transport and rest time for slaughter pigs. Eurocarne, 45, 73–79.

Glass G.V., 1976. Primary, secondary and meta-analysis of research. Educational researcher, 5, 3-8.

Gonzàlez E., Tejeda J.F., 2007. Effects of dietary incorporation of different anti-oxidant extracts and free-range rearing on fatty acid composition and lipid oxidation of Iberian pig meat. Animal, 1, 1060–1067.

Grandin T., 1991. Assessment of stress during handling and transport. Journal of Animal Science, 75, 249-257.

Grandin T., 1994. Methods to reduce PSE and Bloodsplash. In Proceedings of Allen D. Leman Swine Conference, University of Minnesota, 21, 206-209.

Griot B., Boulard J., Chevillon P., 2000. Reducing blood spots on pork meat: band restrainers for wellbeing and quality. Viandes et Produits Carnés, 21, 91-97.

Guàrdia M.D., Estany J., Balasch S., Oliver M.A., Gispert M., Diestre A., 2004. Risk assessment of PSE condition due to pre-slaughter conditions and RYR1 gene in pigs. Meat Science, 67, 471-478.

Guàrdia M.D., Estany J., Balasch S., Oliver M.A., Gispert M., Diestre A., 2005. Risk assessment of DFD meat due to pre-slaughter conditions in pigs. Meat Science, 70, 709-716.

Guàrdia M.D., Gispert M., Diestre A., 1996. Mortality rates during transport and lairage in pigs for slaughter. Meat Focus International, 10, 362-366.

Guéblez R., Bouyssière M., Sellier P., 1996. Evaluation sensorielle de différents produits issus de porcs de génotype halothane connu. Journées de la Recherche Porcine en France, 28, 45-52.

Guéblez R., Paboeuf F., Sellier P., Bouffaud M., Boulard J., Brault D., Le Tiran M.H., Petit G., 1995. Effet du génotype halothane sur les performances d'engraissement, de carcasse et de qualité de la viande du porc charcutier. Journées de la Recherche Porcine en France, 27, 155-164.

Guillemin N., 2010. Marqueurs protéiques de la tendreté de la viande bovine: étude prédictive et fonctionnelle. Thèse de doctorat, Saint-Genès-Champanelle, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, INRA.

Guise H.J., 1987. Moving pigs from farm to factory. Pig International, 8-12.

Guise H.J., Penny R.H.C., 1989. Factors influencing the welfare and carcass and meat quality of pigs. 1. The effect of stocking density in transport and the use of electric goad. Journal of Animal Production, 48, 25-37.

Guy J.H., Rowlinson P., Chadwick J.P., Ellis M., 2002. Behaviour of two genotypes of growing-finishing pig in three different housing systems. Applied Animal Behaviour Science, 75, 193–206.

Hansen L.L., Claudi-Magnussen C., Jensen S.K., Andersen H.J., 2006. Effect of organic pig production systems on performance and meat quality. Meat Science, 74, 605–615.

Heyer A., 2004. Performance, Carcass and Meat Quality in Pigs: Influence of Rearing System, Breed and Feeding. Thèse de doctorat, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Hocquette J.F., Ortigues-Marty I., Damon M., Herpin P., Geay Y., 2000. Métabolisme énergétique des muscles squelettiques chez les animaux producteurs de viande. INRA Productions Animales, 13, 185-200.

Hocquette J.F., Ortigues-Marty I., Pethick D., Herpin P., Fernandez X., 1998. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat producing animals. Livestock Production Science, 56, 115-143.

Honkavaara M., 1989. Influence of lairage on blood composition of pig and on the development of PSE pork. Journal of Agricultural Science in Finland, 61, 425-432.

Josell A., Enfält A.C., von Seth G., Lindahl G., Hedebro-Velander I., Andersson L., Lundström K., 2003. The influence of RN genotype, including the new V199I allele, on the eating quality of pork loin. Meat Science, 65, 1341-1351.

Karlsson A., Essen-Gustavsson B., Lundström K., 1992. Muscle glycogen depletion pattern in Longissimus dorsi muscle of pigs fed high and low protein diet. In Proceedings of the 38th International Congress of Meat Science and Technology, Clermont-Ferrand, France, 3, 375-379.

Kerry J., Kerry J., Ledward D., 2002. Meat Processing. Improving quality. CRC Press, London, UK.

Klont R.E., Hulsegge B., Hoving-Bolink A.H., Gerritzen M.A., Kurt E., Winkelman-Goedhart H.A., De Jong I.C., Kranen R.W., 2001. Relationships between behavioral and meat quality characteristics of pigs raised under barren and enriched housing conditions. Journal of Animal Science, 79, 2835–2843.

Labroue F., Goumy S., Gruand J., Mourot J., Neelz V., Legault C., 2000. Comparaison au Large White de 4 races locales porcines françaises pour les performances de croissance, de carcasse et de qualité de la viande. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 32, 403-412.

Lambooij E., Engel B., 1991. Transport of slaughter pigs by truck over a long distance: some aspects of loading density and ventilation. Livestock Production Science, 28, 163-174.

Lambooij E., Van Putten G., 1993. Transport of pigs. In Livestock Handling and Transport (T. Grandin, ed.), CAB International, Wallingford, UK, 123-231.

Lambooy E., Garssen G.J., Walstra P., Mateman F., Merkus G.S.M., 1985. Transport of pigs by car for two days: some aspects of watering and loading density. Livestock Production Science, 13, 289-299.

Larzul C., Le Roy P., Gueblez R., Talmant A., Gogue J., Sellier P., Monin G., 1997a. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. Journal of Animal Breeding and Genetics, 114, 309–320.

Larzul C., Lefaucheur L., Ecolan P., Gogué J., Talmant A., Sellier P., Le Roy P., Monin G., 1997b. Phenotypic and genetic parameters for Longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs. Journal of Animal Science, 75, 3126-3137.

Larzul C., Le Roy P., Monin G. Sellier P., 1998. Variabilité génétique du potentiel glycolitique du muscle chez le porc. Inra Productions animales, 11, 183-197.

Le Roy P., Juin H., Caritez J., Billon Y., Lagant H., Elsen J.M., Sellier P., 1996. Effet du génotype RN sur les qualités sensorielles de la viande de porc. Journées de la Recherche Porcine en France, 28, 53-56.

Le Roy P., Naveau J., Elsen J.M., Sellier P., 1990. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. Genetics Research, 55, 33-40.

Lebret B., Foury A., Mormède P., Terlouw E.M.C., Vautier A., Chevillon P., 2006b. Muscle traits, preslaughter stress and meat quality indicators as influenced by pig rearing system. In Proceedings of the 52nd International Congress of Meat Science and Technology, Wageningen, The Netherlands, 17, 145–146.

Lebret B., Guillard A.S., 2005. Outdoor rearing of cull sows: effects on carcass, tissue composition and meat quality. Meat Science, 70, 247–257.

Lebret B., Lefaucheur L., Mourot J., 1999. La qualité de la viande de porc. Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. INRA Productions Animales, 12, 11-28.

Lebret B., Massabie P., Granier R., Juin H., Mourot J., Chevillon P., 2002. Influence of outdoor rearing and indoor temperature on growth performance, carcass, adipose tissue and muscle traits in pigs, and on the technological and eating quality of dry-cured hams. Meat Science, 62, 447–455.

Lebret B., Meunier-Salaün M.C., Foury A., Mormède P., Dransfield E., Dourmad J.Y., 2006a. Influence of rearing conditions on performance, behavioral, and physiological responses of pigs to preslaughter handling, carcass traits, and meat quality. Journal of Animal Science, 84, 2436–2447.

Leheska J.M., Wulf D.M., Maddock R.J., 2003. Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. Journal of Animal Science, 81, 3194–3202.

Lendfers L.H.M.M., 1971. Loss of pigs due to death during transport; a one-year survey at an abattoir. In Proceedings of the 2nd International Symposium on Conditions and Meat Quality of Pigs. Wageningen, The Netherlands, 225-229.

Long V.P., Tarrant P.V., 1990. The effect of pre-slaughter showering and post-slaughter rapid chilling on meat quality in intact pork sides. Meat Science, 27, 181-195.

Lopez-Bote C.J., 1998. Sustained utilization of the Iberian pig breed. Meat Science, 49, S17–S27.

Lyons C.A.P., Bruce J.M., Fowler V.R., English P.R., 1995. A comparison of productivity and welfare of growing pigs in four intensive systems. Livestock Production Science, 43, 265–274.

Malmfors B., Lundström K., Hansson I., 1978. Fatty acid composition of porcine back fat and muscle lipids as affected by sex, weight and anatomical location. Swedish Journal of Agricultural Research, 8, 25-38.

Martoccia L., Brambilla G., Macri A., Moccia G., Cosentino E., 1995. The effect of transport on some metabolic parameters and meat quality in pigs. Meat Science, 40, 271–277.

Maw S.J., Fowler V.R., Hamilton M., Petchey A.M., 2001. Effects of husbandry and housing of pigs on the organoleptic properties of bacon. Livestock Production Science, 68, 119–130.

Meunier-Salaün M.C., Dourmad J.Y., Lebret B., 2006. Evaluation comparée de deux systèmes d'élevage par la réponse comportementale des porcs à l'introduction d'un nouvel objet dans le milieu de vie. Journées de la Recherche Porcine en France, 38, 417–422.

Milan D., Jeon J.T., Looft C., Amarger V., Robic A., Thelander M., Rogel-Gaillard C., Paul S., Iannuccelli N., Rask L., Ronne H., Lundstrom K., Reinsch N., Gellin J., Kalm E., Roy P.L., Chardon P., Andersson L., 2000. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. Science, 288, 1248-1251.

Milan D., Woloszyn N., Yerle M., Le Roy P., Bonnet M., Riquet J., Lahbib-Mansais Y., Caritez J.C., Robic A., Sellier P., Elsen J.M., Gellin J., 1996. Accurate mapping of the "acid meat" RN gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15. Mammalian Genome, 7, 47-51.

Millet S., Raes K., Van den Broeck W., De Smet S., Janssens G.P.J., 2005. Performance and meat quality of organically versus conventionally fed and housed pigs from weaning till slaughtering. Meat Science, 69, 335–341.

Minelli G., Culioli J., Vignon X., Monin G., 1995. Post mortem changes in the mechanical properties and ultrastructure of the Longissimus in two porcine breeds. Journal of Muscle Foods, 6, 313- 326.

Minvielle B., Boulard J., Vautier A., Houix Y., 2003. Viandes déstructurées dans la filière porcine : effets combinés des durées de transport et d'attente sur la fréquence d'apparition du défaut. Journées de la Recherche Porcine en France, 35, 263-268.

Monin G., 1973. Réaction à l'électronarcose et glycogénolyse post mortem chez le porc. Annales de zootechnie. 22, 73 - 81.

Monin G., 1983. Influence des conditions de production et d'abattage sur les qualités technologiques et organoleptiques des viandes de porc. Journées de la Recherche Porcine en France, 15, 151-176.

Monin G., 1988. Evolution post-mortem du tissu musculaire et conséquences sur les qualités de la viande de porc. Journées de la Recherche Porcine en France, 20, 201-214.

Monin G., 1991. Facteurs biologiques des qualités de la viande bovine. Inra Productions animales, 4: 151-160.

Monin G., 2003. Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. INRA Productions Animales., 16, 251-262.

Monin G., Larzul C., Le Roy P., Culioli J., Mourot J., Rousset-Akrim S., Talmant A., Touraille C., Sellier P., 1999. Effects of the halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. Journal of Animal Science, 77, 408–415.

Monin G., Sellier P., 1985. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post mortem period: the case of the Hampshire breed. Meat Science, 13, 49-63.

Mottram D.S., Edwards R.A., 1983. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef. Journal of the Science of Food and Agriculture, 34, 517-522.

Mourot J., Aumaitre A., Peiniau P., Chevillon P., 1992. Effet de l'apport de vitamine C sur les performances de croissance et la qualité de la viande chez des porcs Large White et croisés Large White Piétrain. Journées de la Recherche Porcine en France, 24, 55-64.

Mourot J., Chauvel J., Le Denmat M., Mounier A., Peiniau P., 1991. Variations du taux d'acide linoléique dans le régime du porc : effets sur les dépôts adipeux et sur l'oxydation du C18:2 au cours de la conservation de la viande. Journées de la Recherche Porcine en France, 23, 357-364.

Mourot J., Kouba M., Peiniau P., 1995. Comparative study of in vitro lipogenesis in various adipose tissues in the growing pig (Sus domesticus). Comparative Biochemistry and Physiology, 111B, 379-384.

Murray A., Robertson W., Nattress F., Fortin A., 2001. Effect of pre-slaughter overnight feed withdrawal on pig carcass and muscle quality. Canadian Journal of Animal Science, 81, 89–97.

Nanni Costa L., Lo Fiego D.P., Dall'Olio S., Davoli R., Russo V., 2002. Combined effects of preslaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different Halothane genotype. Meat Science, 61, 41-47.

Naveau J., Pommeret P., Lechaux P., 1985. Proposition d'une méthode de mesure du rendement technologique : la "méthode Napole". Techni Porc, 8, 7-13.

Nilzen V., Babol J., Dutta P.C., Lundeheim N., Enfält A.C., Lundström K., 2001. Free range rearing of pigs with access to pasture grazing – effect on fatty acid composition and lipid oxidation products. Meat Science, 58, 267–275.

Offer G., Knight P., Jeacocke R., Almond R., Cousins T., Elsey J., Parsons N., Sharp A., Starr R., Purslow P., 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. Food Microstructure, 8, 151-170.

Ollivier L., Sellier P., Monin G., 1975. Déterminisme génétique du syndrome d'hyperthermie maligne chez le porc de Piétrain. Annales de Génétique et de Sélection Animale, 7, 159-166.

Otto G., Roehe R., Looft H., Thoelking L., Kalm E., 2004. Comparison of different methods for determination of drip loss and their relationships to meat quality and carcass characteristics in pigs. Meat Science, 68, 401-409.

Ouali A., 1991. Conséquences des traitements technologiques sur la qualité de la viande. Inra Productions animales, 4, 195-208.

Ouali A., Herrera-Mendez C.H., Coulis G., Becila S., Boudjellal A., Aubry L., Sentandreu M.A., 2006. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74, 44-58.

Pedauyé J.J. 1993. Evaluación objetiva de la calidad de la carne porcina en diferentes condiciones de sacrificio. Doctoral Tesis, Faculty of Veterinary Science University of Murcia, Spain.

Perez M.P., Palacio J., Santolaria M.P., Acena M.D., Chacón G., Verde M.T., 2002. Influence of lairage time on some welfare and meat quality parameters in pigs. Veterinary Research, 33, 239–250.

Petersen V., Simonsen H.B., Lawson L.G., 1995. The effect of environmental stimulation on the development of behaviour in pigs. Applied Animal Behaviour Science, 45, 215–224.

Purchas R., 2000. Animal growth and meat production: Study guide, Auckland, Institute of Food, Nutrition and Human Health. Massey University New Zealand, Palmerton North.

Rainelli P., 2001. L'image de la viande de porc en France – attitude des consommateurs. Courrier de l'environnement de l'INRA, 42, 47–60.

Rajic, I.D., 1971. The effect of ascorbic acid on the prevention of muscle degeneration and pale, soft and exudative meat in swine. Acta Veterinaria (Belgrade), 21, 253-265.

Randall J.M., 1993. Environmental parameters necessary to define comfort for pigs, cattle and sheep in livestock transporters. Journal of Animal Production, 57, 299-307.

Renand G., Larzul C., Bihan-Duval E., Le Roy P., 2003. L'amélioration génétique de la qualité de la viande dans les différentes espèces : situation actuelle et perspectives à court et moyen terme. INRA Productions Animales, 16, 159-173.

Renerre M., Valin C., 1979. Influence de l'âge sur les caractéristiques de la viande bovine de race Limousine. Annales de Technologie Agricole, 28, 319-332.

Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare, 2002. The welfare of animals during transport (details for horses, pigs, sheep and cattle). European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, 1–130.

Roseiro L.C., Fraqueza M.J., Almeida J., Matias E., Santos C., Sardinha L., 1996. Influence of lairage temperature and time on postural attitude in pigs. In Proceedings of the 42nd International Congress of Meat Science and Technology, Lillehammer, Norway, 442-443.

Rosenvold K., Andersen H.J., 2003. Factors of significance for pork quality – a review. Meat Science, 64, 219-237.

Roux M., 2006. Structure, expression et polymorphisme du gène PRKAG3 bovin : implication dans le métabolisme musculaire et la qualité de la viande. Thèse de doctorat, Université de Limoges, Ecole Doctorale Sciences – Technologie – Santé, 60 p.

Sather A.P., Jones S.D.M., Schaefer A.L., Colyn J., Robertson W.M., 1997. Feedlot performance, carcass composition and meat quality of free-range reared pigs. Canadian Journal of Animal Science, 77, 225–232.

Sauvageot F., 1982. L'évaluation sensorielle des denrées alimentaires – aspect méthodologie. Comment comprendre l'expression « évaluation sensorielle des denrées alimentaires », Chap.1, Pages : 9-26. In : Tec et Doc (Ed.), Paris, France.

Scheffler T.L., Gerrard D.E., 2007. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. Meat Science, 77, 7-16.

Scheffler T.L., Park S., Gerrard D.E., 2011. Lessons to learn about postmortem metabolism using the the AMPK$\gamma 3^{R200Q}$ mutation in the pig. *Meat Science*, 89, 244-250.

Sellier P., 1998. Genetics of meat and carcass traits. In: The Genetics of the Pig (M.F. Rothschild, A. Rubinsky, eds), CAB Int., Wallingford, UK, 463-510.

Sellier P., Monin G., 1994. Genetics of pig meat quality: a review. Journal of Muscle Foods, 5, 187-219.

Shackelford S.D., Koohmaraie M., Wheeler T.L., Cundiff L.V., Dikeman M.E., 1994. Effect of biological type of cattle on the incidence of the dark, firm, and dry condition in the longissimus muscle. Journal of Animal Science, 72, 337-343.

Smith C., Bampton P., 1977. Inheritance of reaction to halothane anaesthesia in pigs. Genetical Research, 29, 287-292.

St-Pierre N.R., 2001. Invited Review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. Journal of Dairy Science, 84, 741-755.

Sundrum A., Büftering L., Henning M., Hoppenbrock K.H., 2000. Effects of on-farm diets for organic pig production on performance and carcass quality. Journal of Animal Science, 78, 1199-1205.

Tarrant P.V., 1989. The effects of handling, transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs – A review. Irish Journal of Food Science and Technology, 13, 79-107.

Terlouw C., 2005. Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience. A brief review of recent findings. Livestock Production Science, 94, 125–135.

Terlouw C., Astruc T., Monin G., 2004. Effect of genetic background, rearing and slaughter conditions on behaviour, physiology and meat quality of pigs. In Proceedings of the EU Workshop on Sustainable Pork Production: Welfare, Quality, Nutrition and Consumer Attitudes, Copenhagen, Denmark, 113–125.

Terlouw C., Ludriks A., Schouten W., Vaessen S., Fernandez X., Andanson S., Père M.C., 2001. Réactivité des porcs au stress à l'abattage : prédominance de l'allèle de sensibilité à l'halothane. Viandes et Produits Carnés, 22, 127-136.

Troeger K., 1996. Transportation of slaughter animals. Treatment during transport and its consequences for product quality. Fleiscwirtschaft International, 1, 2-4.

Valin C., 1988. Différenciation du tissu musculaire. Conséquences technologiques pour la filière viande. Reproducion Nutrition Développement, 28, 845-856.

Van Der Wal P.G., 1975. A comparison of physiological parameters after electroshock stunning and adrenaline (iv) administration. In Proceedings of the 21st European meeting of meat research workers, extraordinary session: the physiological basis of stunning methods, Bern, Switzerland, 1- 6.

Van Der Wal P.G., Engel B., Reimert H.G.M., 1999. The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. Meat Science. 53, 101-106.

Van Oeckel M.J., Casteels M., Warnants N., Van Damme L., Boucqué C.V., 1996. Omega-3 fatty acids in pig nutrition: implications for the intrinsic and sensory quality of the meat. Meat Science, 44, 55-63.

Velarde A., Gispert M., Faucitano L., 2001. Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. Meat Science, 58, 313 – 319.

Wajda S., Bak T., 1994. Slaughter value of pigs hauled to slaughterhouses from the distances of 50 and 100 Km. Iind Int. Conf. "The influence of genetic and non genetic traits on carcass and meat quality". Siedlce, 7-8 Nov.

Warriss P.D., 1994. Ante-mortem handling of pigs. In Principles of Pig Science (D.J.A. Cole, J. Wiseman, M.A. Varley, eds), Nottingham University Press: Loughborough, UK, 425–432.

Warriss P.D., Brown S.N., Franklin J.G., Kestin S.C., 1990. The thickness and quality of backfat in various pig breeds and their relationship to intramuscular fat and setting of joints from the carcasses. Meat Science, 28, 21–29.

Warriss P.D., Brown S.N., Knowles T.G., Edwards J.E., Kettlewell P.J., Guise H.J., 1998. The effect of stocking density in transit on the carcass quality and welfare of slaughter pigs: 2. Results from the analysis of blood and meat samples. Meat Science, 50, 447–456.

Wood J.D., Brown S.N., Nute G.R., Whittington F.M., Perry A.M., Johnson S.P., Enser M., 1996. Effects of breed, feed level and conditioning time on the tenderness of pork. Meat Science, 44, 105-112.

Chapitre 2

Méta-analyse : Synthèse bibliographique

Sommaire du Chapitre 2

Partie 2.1 Généralités 85

1. Une brève histoire de la méta-analyse 87
2. Typologie et classification des méta-analyses 90
3. Objectifs de la méta-analyse 91
4. Rôle de la méta-analyse dans la réalisation de nouveaux essais 93
5. Difficultés et limites de la méta-analyse 94

Partie 2.2 Protocole-type de la méta-analyse 97

1. Définition de l'objectif de l'étude de méta-analyse 99
2. Recherche de la littérature 100
3. La sélection des essais et la conception de la base de données 101
4. Le codage des données 101
5. L'étude graphique des données 102
6. Données combinées et méthodes statistiques 103
7. Démarche post-analytique : analyse de sensibilité 106

Partie 2.3 Protocole statistique pour mener une méta-analyse 109

1. Approche fréquentiste 111
1.1. Méthode de mesure de la taille de l'effet du traitement: « effect-size » 111
1.1.1. Méthodes d'estimation de la taille de l'effet traitement dans un seul essai pour une variable continue 111
1.1.2. La combinaison des estimations des effets traitement entre les différents essais 115
1.1.3. Hétérogénéité et méta-régression 123
1.1.4. La pondération du modèle méta-analytique de l'effet traitement 124
1.1.5. Identification et quantification du biais de publication 125
1.2. Méthode d'addition des effectifs: « pooling » 130
1.2.1. Cas d'un facteur explicatif qualitatif 130
1.2.2. Cas d'un facteur explicatif quantitatif 131
1.2.3. La pondération des données 132
1.2.4. Méta-régression 134
1.2.5. Les démarches post-analytiques 134

2. Approche Bayésienne 136
2.1. Cadre général de la théorie bayésienne 136
2.2. Avantages de l'approche bayésienne en méta-analyse 138

Partie 2.4 Applications de la méta-analyse en sciences animales 141

1. Méta-analyse appliquées en nutrition animale 144

2. Méta-analyse appliquée à la détection de QTL 147

3. Méta-analyse appliquée en production et qualité des produits animaux..... 154

Conclusion..... 156

Chapitre 2 – Partie 2.1

Partie 2.1

Généralités

1. Une brève histoire de la méta-analyse

La méta-analyse est une démarche consistant à rassembler les résultats de plusieurs essais conduits séparément sur un problème donné. Elle est justifiée par la disponibilité de données de qualité, provenant de différentes sources et dont les résultats ne concordent pas. Après vérification de la similitude des essais, il s'agit de réunir leurs résultats d'ensemble et de détail, en obtenant des responsables des études des informations individualisées et éventuellement mises à jour, pour les associer autant que possible et en tirer une conclusion globale dotée d'une signification statistique plus grande. Ainsi, on obtient des informations qu'aucune des études prises isolément ne pourrait fournir (D'Agostino et Weintraub, 1995 ; Boissel, 1994 ; Boissel *et al.,* 1989)

Dans leur livre publié en 1985, Hedges et Olkin ont attribué l'élan soudain des méthodes de recherche de synthèse à leur remarquable importance dans la formulation des décisions politiques qui ont affecté les institutions sociales. Ils ont constaté l'importance d'examiner les travaux qui avaient déjà été réalisés, comparativement à l'innovation de nouvelles études. Glass a expliqué : "le volume des recherches dans beaucoup de domaines grandissait à un tel point que les approches narratives traditionnelles de récapitulation et d'intégration de ces recherches commençaient à s'écrouler." (Glass, 2000). La méta-analyse est apparue comme une technique de revue de la littérature de plus en plus populaire, et qui a été fréquemment utilisée lors des dernières décennies dans la recherche académique. Sa popularité peut être attribuée, du moins en partie, à la quantité croissante d'articles de recherche fondamentale dans une variété de disciplines universitaires. Ces domaines comprennent la sociologie, la physique, l'éducation et la médecine. En plus de l'évolution importante de la recherche, des réalisations technologiques comme «Internet» ont permis une plus grande disponibilité de l'information.

Tout comme l'histoire d'une invention, l'histoire de la méta-analyse inclut des précurseurs et des étapes-clés. O'Rourke (2007) a retracé une brève chronologie de la méta-analyse, qui est reprise ici en citant les pionniers, les techniques initiales, et en décrivant les principales étapes historiques.

Avant 1900, plusieurs mathématiciens et astronomes ont commencé à identifier les avantages de combiner quantitativement les résultats de différentes études pour fournir une

synthèse complète. Gauss et Laplace étaient parmi ces pionniers, mais le plus influent était probablement l'astronome britannique, George Biddell Airy. Son travail, qui a été publié en 1861, a introduit des méthodes pour récapituler des effets à partir de différentes expériences individuelles. Ces concepts auraient pu être abordés dès les 18ème et 19ème siècles, mais ce n'est qu'au 20ème siècle que les statisticiens ont commencé à aborder ces questions dans le domaine des résultats des essais cliniques. Karl Pearson, qui était au courant du travail d'Airy, était la première personne ayant utilisé des méthodes de combinaison des observations provenant de différentes études cliniques. Pearson a publié un article qui analyse les corrélations entre la vaccination contre la fièvre typhoïde et l'apparition de cette maladie ou un décès. Pour l'analyse, Pearson a décidé qu'il était nécessaire de combiner les données dans des séries plus importantes puisque la plupart des groupes se composaient d'effectifs trop limités pour permettre une inférence significative (Pearson, 1904). Bien que cette pratique puisse être considérée comme invalide en se basant sur les normes actuelles de la recherche, les travaux de Pearson semblent avoir créé les premiers pas dans le développement de la méta-analyse.Comme Pearson, le statisticien britannique Ronald Fisher était également familiarisé avec le travail d'Airy. Il a favorisé la synthèse des recherches dans le secteur de l'agriculture qui traitent les données de fertilisation. Dans son livre datant de 1956, il a fait référence à l'analyse combinée des études multiples. En conclusion, il a encouragé les scientifiques et les chercheurs à « faire la comparaison et la combinaison des estimations presque automatiques, et la même chose comme si toutes les données étaient disponibles. ». O'Rourke (2007) a commenté que Fisher avait évoqué dans cette recherche les problèmes de la publication préférentielle. Bien que le « biais de publication » n'a pas encore été formalisé, dès cette période Fisher l'avait identifiée comme un problème de la méta-analyse.

Au milieu du 20ème siècle, la croissance de la quantité de recherches dans les domaines tels que la psychologie et la physique a facilité le développement de la synthèse quantitative de recherches. En 1932, Raymond T. Birge a publié un article dans le journal *Physical Review* dans lequel il a identifié et a expliqué une méthodologie qui incluait la combinaison des résultats des expériences répétées. Le développement et l'expansion de cette méthodologie ont continué dans les expériences agricoles à travers les travaux et les publications de Yates et Cochran (1937 et 1938 ; cités par Cook, 1992).

Le terme "méta-analyse" est apparu en dans un article de Gene V. Glass (Glass, 1976). Cet auteur (Glass, 2000) a cependant reconnu que d'autres chercheurs, en particulier Bob

Rosenthal, mériteraient beaucoup plus de considération pour le développement de la méthode. La même année, Rosenthal a notamment publié un article intitulé « les effets de l'expérimentateur en recherche comportementale » dans lequel il discute ce que le méta-analyste définit comme «effect-size » ou « taille de l'effet ». Si Rosenthal était allé un peu plus loin dans ses travaux, il aurait pu s'approprier davantage la technique (Glass, 2000).

Une définition formelle de la méta-analyse a été depuis fournie par Cook (1992). « Toutes les études combinent une évidence à travers des unités d'analyse. Dans une méta-analyse, les unités d'analyse sont des rapports publiés (ou des études) ». Plus précisément, la méta-analyse ou « analyse des analyses » a été définie comme étant un ensemble de techniques permettant l'analyse statistique, selon une méthodologie appropriée, d'un grand nombre de données provenant de plusieurs analyses, afin d'en tirer une synthèse qualitative, quantitative et reproductible (Boissel *et al.,* 1994).

Le processus formel fournit des techniques et des directives qui favorisent une démarche organisée et scientifique pour synthétiser les résultats d'études individuelles. En 1982, Cooper a présenté un modèle de 5 étapes, qui décrivait le schéma des différentes étapes d'une méta-analyse correctement effectuée (Cook, 1992). Ces étapes sont :

- la formulation du problème,
- la collecte des données,
- l'extraction et l'évaluation de données,
- l'analyse et l'interprétation,
- la publication des résultats.

En formalisant la technique et en prenant en considération les critiques, Cooper et d'autres ont contribué à améliorer l'acceptation de la nouvelle méthodologie. « Une méta-analyse de haute qualité exige la même attention à la conception, à la conduite de l'analyse, et au transfert des résultats comme dans le cas d'une étude expérimentale, et les mêmes questions doivent être considérées. » (Cook, 1992).

La pratique de la méta-analyse a augmenté à un rythme rapide. De nombreux chercheurs ont expliqué cette croissance par l'augmentation du nombre de mots clés de diverses bases de données scientifiques. En fournissant une méthode alternative à la revue bibliographique traditionnelle, la technique a apporté un regain d'intérêt dans plusieurs

domaines (Cook, 1992). Cependant il existe des variations importantes dans la qualité des méta-analyses. La plupart de ces méta-analyses se concentrent sur l'évaluation de l'effet d'un facteur ou d'une intervention mais les meilleures méta-analyses sont celles qui explorent plus profondément dans les populations à la recherche de paramètres, de traitements et d'autres facteurs qui influencent la taille de l'effet. (Cook, 1992).

Vingt-cinq ans après que Gene V. Glass ait inventé le terme, il a écrit un article intitulé «*Meta-Analysis at 25 »* (Glass, 2000). Les contributions de Glass ont été beaucoup plus importantes que le simple fait de fournir un nom et certaines applications courantes. En particulier, Glass a également présenté ses observations concernant l'avenir de la synthèse de recherches. Il pensait que la pratique actuelle de la méta-analyse devrait éventuellement être remplacée par des méthodes plus précises. Les modifications proposées dépendaient d'un changement fondamental dans la manière dont les investigateurs effectuent et publient leurs recherches. Glass a proposé que « les chercheurs doivent cesser de penser à eux-mêmes comme des scientifiques examinant des grandes théories, et faire face au fait qu'ils sont des techniciens qui collectent et classent des informations, souvent sous des formes quantitatives » En outre, les chercheurs doivent se voir comme des contributeurs aux archives de données, plutôt que de se concentrer sur leurs propres publications comme étant des études indépendantes. Avec la propagation de l'Internet, Glass montre de l'optimisme envers la faisabilité d'un changement dans la recherche scientifique.

«Maintenant, nous téléchargeons simplement les données de chacun, et le prix de la synthèse va à la personne qui rassemble le mieux les morceaux du puzzle en une image cohérente de la façon dont les variables sont liées les unes aux autres » (Glass, 2000).

2. Typologie et classification des méta-analyses

Une classification classique distingue trois types de méta-analyse en fonction du type de données utilisées (Buyse *et al.,* 1988 ; Buyse et Ryan, 1987) :

- la méta-analyse des données de la littérature,
- la méta-analyse exhaustive sur données résumées,
- la méta-analyse sur données individuelles.

Méta-analyse des données résumées de la littérature

Les données utilisées pour ce type de méta-analyse sont représentées exclusivement par les données résumées des essais publiés, à l'exclusion de toute autre source d'information, en particulier les essais non publiés. De fait que seuls les essais publiés soient pris en considération, ce type de travail déroge au principe de l'exhaustivité des informations synthétisées dans la méta-analyse et expose au problème du biais de publication**.**

Malgré ce risque, ce type de travaux est relativement fréquent. Cook *et al.* (1993) n'ont dénombré, parmi 150 « méta-analyses » publiées entre 1989 et 1991, que 30% de travaux qui avaient recherché des données non publiées. Il s'agit en fait de méta-analyse que l'on peut rapprocher des analyses conjointes, c'est-à-dire de synthèses quantitatives de plusieurs essais sélectionnés.

Méta-analyse exhaustive sur données résumées

La méta-analyse exhaustive sur données résumées utilise également des données résumées, mais les sources d'information ne se limitent pas aux essais publiés et comprennent aussi les travaux non publiés.

Méta-analyse sur données individuelles

La méta-analyse sur données individuelles se base sur les données de tous les individus inclus dans les essais pris en considération par la méta-analyse. Ces données sont en général contenues dans les fichiers d'analyse des essais. Ce type de méta-analyse présente une lourdeur sans commune mesure avec la méta-analyse sur données résumées. Néanmoins, il est raisonnable d'avancer qu'il s'agira, à l'avenir, de la méthode de référence (Oxman *et al.,* 1995).

3. Objectifs de la méta-analyse

Les différents objectifs qu'une méta-analyse peut poursuivre sont multiples (Sauvant *et al.,* 2005):

- augmenter la puissance statistique pour détecter l'effet d'un traitement en augmentant le nombre d'observations à partir des résultats de plusieurs expérimentations destinées

à l'évaluer. C'est plutôt dans ce type de démarche que les premières méta-analyses ont été pratiquées (Mantel et Haenszel, 1959 ; Glass, 1976) et que la plupart d'entre elles ont été publiées ;

- modéliser les réponses des individus à un ou plusieurs facteurs. Les modèles ainsi obtenus sont supposés avoir une portée relativement générale et peuvent être pris en compte par des utilisateurs pour les aider à mettre en place des décisions ou des recommandations ;
- mieux explorer et valoriser collectivement des informations « mineures » sur des caractéristiques peu mesurées ou n'ayant qu'un intérêt secondaire à l'échelle d'une seule expérimentation et publication. Dans ce cas, le rassemblement de plusieurs publications peut permettre de donner plus de sens à ces caractéristiques et d'en déduire de nouvelles réponses ou pistes de travail.

On peut également ajouter d'autres objectifs :

- améliorer la précision de l'estimation de la taille de l'effet;
- lever le doute en cas de résultats discordants;
- expliquer la variabilité des résultats entre essais (notamment par suite de biais dans certains essais) ;
- réaliser des analyses en sous-groupes;
- mettre un essai en perspective en le confrontant aux autres essais du domaine;
- constater le manque de données fiables dans un domaine et mettre en place de nouveaux essais ;

La méta-analyse est donc utile dans différents types de situations. Ainsi, les méta-analyses sont particulièrement utiles quand les essais sont de trop petite taille pour donner des résultats fiables, quand la réalisation d'un essai de grande taille est impossible ou irréalisable, quand les essais ont été réalisés mais donnent des résultats discordants ou non concluants ou quand les résultats d'un essai définitif sont attendus (Fagard *et al.,* 1996**).** Cependant, il faut rester conscient que l'interprétation des résultats et les décisions qui pourront être prises après une méta-analyse dépendent fortement du contexte.

4. Rôle de la méta-analyse dans la réalisation de nouveaux essais

La méta-analyse peut être utilisée à différents niveaux lors de la mise en place et la réalisation de nouveaux essais expérimentaux.

Aide à la planification

Durant la phase de planification d'un nouvel essai, la méta-analyse donne le moyen de faire une synthèse des connaissances déjà acquises sur le sujet. Elle permet ainsi de conforter l'hypothèse que le traitement produit un effet dont la taille n'est pas négligeable. Les résultats obtenus faciliteront le calcul des effectifs nécessaires en le basant sur des informations empiriques plutôt que sur des hypothèses théoriques.

Génération de nouvelles hypothèses

Au-delà d'une simple aide à la planification d'un nouvel essai sur le même problème, la méta-analyse peut déboucher sur la génération de nouvelles hypothèses différentes de celles qui avaient motivé les essais inclus dans la méta-analyse.

Analyses intermédiaires

Une utilisation de la méta-analyse dans le suivi d'un essai thérapeutique a été proposée par Henderson *et al.* (1995). Lors des analyses intermédiaires, les résultats de celles-ci sont combinés avec les données issues des essais antérieurs au démarrage de l'essai ou publiées entre son début et l'analyse intermédiaire considérée.

L'arrêt prématuré de l'essai peut être décidé, non pas parce que l'analyse intermédiaire apporte suffisamment d'informations en faveur ou en défaveur du traitement testé, mais parce que le résultat de l'analyse intermédiaire adjoint aux informations apportées par les autres essais débouche sur un résultat suffisamment probant.

Analyse finale

Une méta-analyse est de plus en plus fréquemment réalisée au moment d'une analyse finale d'un essai et publiée dans son compte rendu. Cette démarche permet d'intégrer immédiatement l'information apportée par cet essai à celles déjà amassées. L'apport de l'essai est discuté par rapport aux données déjà connues et cela permet de communiquer un message non pas basé sur une seule expérience, mais sur la totalité des connaissances disponibles.

Méta-analyse prospective

La méta-analyse prospective est une démarche dans laquelle plusieurs promoteurs d'essais similaires décident, avant la fin de leurs essais, de mettre en commun leurs données pour réaliser une méta-analyse sur données individuelles (Margitic *et al.,* 1995). Ce type de méta-analyse s'apparente plutôt à une analyse conjointe car l'exhaustivité n'est pas recherchée. Néanmoins, dans les domaines où aucun essai n'a été précédemment réalisé, la méta-analyse prospective pourra regrouper la totalité des essais existants.

L'intérêt de l'aspect prospectif, est de pouvoir adapter chaque essai afin d'optimiser la mise en commun des données : définition et codage standard des événements, durée des essais, moment de l'évaluation principale. Cette anticipation évite que des informations recherchées par la méta-analyse s'avèrent non recueillies dans certains essais, comme cela est souvent le cas dans les méta-analyses sur données individuelles initiées après la fin des essais. Il est aussi possible de fixer la taille de chaque essai en fonction de la puissance souhaitée pour la méta-analyse prospective.

Cette approche prospective permet aussi la définition de l'hypothèse testée avant le recrutement des individus, ce qui n'est presque jamais le cas dans une méta-analyse classique. Bien que parfois la méta-analyse prospective puisse apparaître proche d'un essai multicentrique, elle en diffère par plusieurs aspects, principalement pratiques (Probstfield et Applegate, 1995). On peut surtout souligner que la totalité du travail nécessaire est partagée entre plusieurs groupes collaboratifs, tandis que dans un essai unique ce travail incombe à un seul groupe.

5. Difficultés et limites de la méta-analyse

L'importance des besoins d'information représente l'une des principales difficultés pratiques rencontrées par la méta-analyse. Son principe contraint l'analyste à considérer le maximum d'études réalisées dans le domaine d'investigation retenu. Nous savons à quel point il est difficile de regrouper des études présentant une information suffisamment détaillée et exploitable. Cela détermine pourtant la représentativité de l'échantillon et la portée de la méta-analyse.

D'autres problèmes viennent également du biais de la publication et de la «subjectivité» de la sélection. Concernant ce dernier point, Van den Bergh *et al.* (1997) rappellent que

"même si la méta-analyse peut réduire le degré de subjectivité par rapport à une revue de la littérature habituelle (…), elle ne peut pas la faire disparaître". En effet, la sélection et l'introduction d'études dans l'analyse posent un problème de choix à l'analyste. La diversité des résultats fournis par les études collectées l'amène à considérer chaque étude et à statuer sur son intérêt. Il en découle que les choix formulés dépendent de son jugement. Mais ce problème de sélection doit selon nous être relié à l'arbitrage inévitable entre la finesse du paramétrage et l'hétérogénéité des données. Le jugement de l'analyste intervient principalement à ce niveau avec comme enjeu la gestion d'un tel arbitrage. Quant au biais de publication, il résulte de l'exclusion d'études non publiées, exclusion due aux contraintes de temps et de disponibilité des données. Selon Glass *et al.* (1981), cette omission revient à considérer que les résultats sont similaires en taille et en nature qu'ils soient publiés ou non. Mais comme c'est rarement le cas, l'introduction d'études exclusivement publiées risque d'aboutir à des résultats biaisés. Cela plaide pour l'élaboration d'une bibliothèque des études déjà réalisées.

Les analystes connaissent par ailleurs des problèmes statistiques, liés par exemple à la dépendance des facteurs explicatifs et aux risques d'hétérogénéité dus à la construction de l'échantillon. Certains procédés statistiques permettent cependant une relative prise en compte de ces problèmes.

Des difficultés d'ordre théorique interviennent également lors de la mise en œuvre d'une méta-analyse. L'ajustement semble le plus problématique. Comme les estimations ne sont généralement pas toujours exprimées dans la même unité, il s'avère nécessaire de les rendre comparables et de procéder à un ajustement. Mais cela suppose de formuler certaines hypothèses, avec pour conséquence une relative dépendance de la mesure standard au jugement de l'analyste. Des difficultés apparaissent également lors de l'interprétation des résultats en raison de la particularité des facteurs explicatifs et de l'omission possible de certains phénomènes non identifiés. Enfin la critique ultime faite à la méta-analyse a trait à son illogisme. Certains contestent l'association d'études assez différentes, ce à quoi Glass *et al.* (1981) répondent que toute revue de la littérature rencontre ce problème et que la comparaison d'études trop similaires n'est pas pertinente. En définitive, la sélection d'études favorise non seulement la cohérence de la question abordée mais également une relative homogénéité : regrouper des études trop disparates ne permet pas non plus une analyse intéressante.

Partie 2.2

Protocole-type de la méta-analyse

Un certain nombre de démarches, relevant des bonnes pratiques et constituant l'ingénierie de la méta-analyse, doivent être appliquées de façon aussi rigoureuse que possible, les principales étapes à prendre en compte sont résumées dans la Figure 2.1 (Sauvant *et al.,* 2005). Celle-ci indique que le processus peut être réitéré dans le cadre d'une approche à caractère heuristique, compte tenu du rôle décisif de celui ou ceux qui conduisent la démarche.

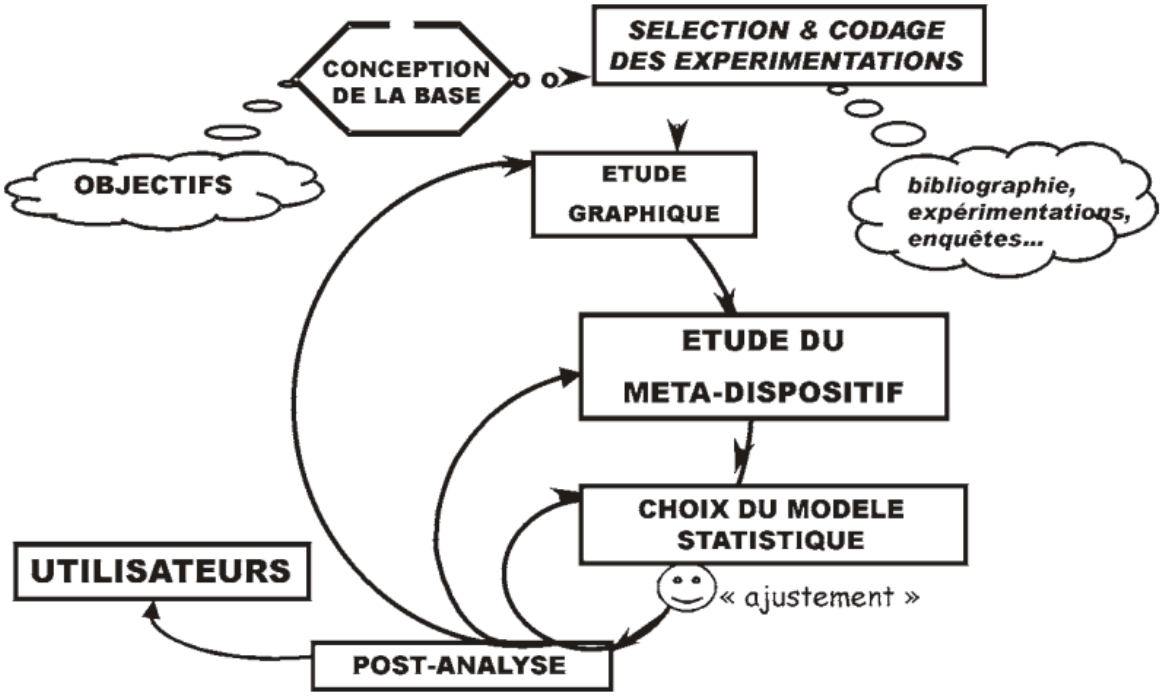


Figure 2.1 - Principales étapes d'une méta-analyse (Sauvant *et al.,* 2005).

Les principales étapes de cette démarche ont été partiellement reprises de Sauvant *et al.* (2005) et complétées ci-dessous.

1. Définition de l'objectif de l'étude de méta-analyse

On doit avant toute chose définir un objectif d'étude, une problématique, qui est essentielle pour définir les étapes suivantes et en particulier, le codage, le filtrage, la pondération des données et le modèle statistique. On peut avoir des objectifs plus ou moins

ciblés allant d'une étude exploratoire de type veille bibliographique à celle de l'estimation de l'effet particulier d'un additif. Il est donc conseillé de clarifier ce point avant toute chose.

2. Recherche de la littérature

La recherche des essais à inclure dans la méta-analyse est une étape capitale qui peut être soumise à certains biais.

Le recensement des essais réalisés doit être le plus exhaustif possible afin d'éviter un biais lié à la sélection d'un sous-ensemble d'essais dont les résultats seraient différents de ceux de l'ensemble des essais existants, en raison notamment de la non publication d'essais "négatifs". En effet, il existe ce que l'on appelle "le phénomène de l'iceberg" : les essais publiés, donc les plus facilement accessibles, sont en général des essais "positifs" ou présentant un intérêt scientifique majeur. Simes (1986) a démontré, dans un article paru en 1986, une différence significative entre les résultats d'une méta-analyse basée sur un ensemble d'essais identifiés à l'aide d'un registre d'essais randomisés en cancérologie, et ceux d'une méta-analyse ne prenant en compte que les essais publiés de ce registre.

En conclusion, il est nécessaire de disposer des essais "négatifs" et même si possible des essais avortés. La recherche des essais réalisés doit s'appuyer sur :

- les banques de données bibliographiques,
- les références bibliographiques d'articles de revues générales,
- les ouvrages de résumés de communications à des congrès,
- les minutes de conférences,
- les contacts directs avec les investigateurs et les promoteurs.

La liste des moyens qui sont mis en œuvre pour rechercher les essais doit être décrite dans le protocole. Il convient aussi de préciser les critères qui autorisent à mettre fin à la procédure de recherche (date ou autre critère). La définition d'une date butoir est nécessaire car, en général, il est très difficile de garantir l'exhaustivité d'une recherche pour les derniers mois qui la précédent (délai d'enregistrement des références dans les bases informatisées par exemple). Cette date butoir fixe la date de publication, au delà de laquelle, des essais, mêmes identifiés, ne seront plus pris en considération.

3. La sélection des essais et la conception de la base de données

Après la collecte de l'ensemble des études concernant le problème à résoudre, il faut sélectionner les essais à inclure dans la méta-analyse.

Les essais sont classés en fonction de critères d'inclusion et d'exclusion préalablement définis. Le premier critère de choix est naturellement l'existence de l'événement étudié. La qualité des études et leur homogénéité sont des critères de sélection également très importants. En effet, la médiocre qualité de certaines études peut induire un résultat erroné, dans la mesure où il existe indubitablement une corrélation entre la qualité méthodologique d'un essai et le fait que son résultat soit positif ou négatif. Par ailleurs, une discordance entre la méthodologie des essais et l'objectif de la méta-analyse (exemple : durée de suivi très différente) peut être préjudiciable. Inversement, le processus de sélection peut introduire un biais dans la mesure où la sélection peut être influencée par les résultats observés. La sélection doit donc toujours être réalisée le plus objectivement possible. L'ensemble des essais sélectionnés doit être enregistré dans une base de données qui sera le support de la méta-analyse.

4. Le codage des données

Ce point a été décrit par Sauvant *et al.* (2005). Il est non seulement nécessaire de coder les publications prises en compte mais aussi, à l'intérieur des publications, les expériences par type d'objectif expérimental annoncé et testé. Ces codages sont indispensables pour éviter d'interpréter des ensembles de données au sein desquelles plusieurs objectifs expérimentaux ont été confondus. Dans certaines situations, il peut s'avérer nécessaire de transformer des variables, notamment de discrétiser les variables continues (les découper en classes : équidistantes ou équiprobables). Il est important d'inclure dans la base toutes les informations disponibles, éventuellement contextuelles à l'étude, qui sont pertinentes vis-à-vis de l'objectif (année de publication, équipe de recherche, auteur principal). Pour obtenir plus d'informations sur les codages, les lecteurs peuvent consulter la référence Lebart et Salem (1988).

5. L'étude graphique des données

Cette étape peut être prise en compte lorsqu'il s'agit d'une variable réponse continue. Selon Sauvant *et al.* (2005), l'analyse graphique des données représente une phase essentielle du déroulement d'une méta-analyse. En effet, par l'intermédiaire de la vision et des représentations graphiques, l'analyste est capable d'appréhender très rapidement des ensembles informationnels importants. Cette approche est souvent très utile pour avoir une idée globale du degré d'hétérogénéité et de cohérence des données, sur la nature et l'importance des relations inter-expériences ou intra-expérience des caractères pris 2 à 2.

L'examen graphique systématique des données permet aussi de poser des hypothèses ou de dégager quelques idées vis-à-vis du choix d'un modèle statistique. Il peut également permettre de détecter rapidement, en particulier grâce au codage des données, des individus ou des expériences qui présentent à l'évidence un statut particulier ou aberrant. Elle permet également de situer l'existence de phénomènes de non linéarité, ainsi que d'interactions.
Par exemple la Figure 2.2 montre une situation où il y a une relation inter-expériences plutôt négative mais une relation intra-expérience positive et d'allure non linéaire ou quadratique ou polynomiale.

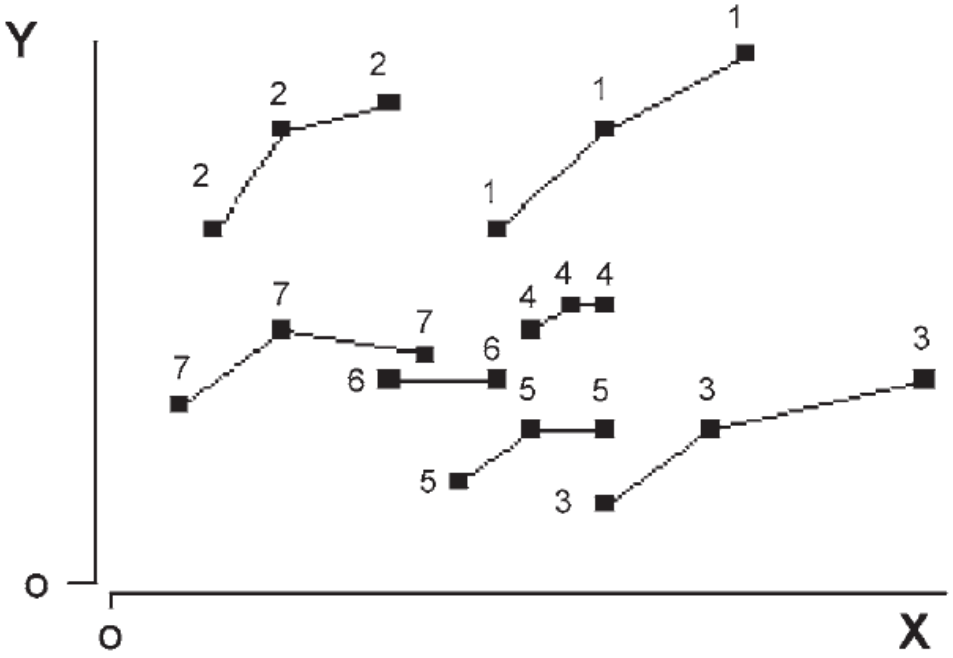


Figure 2.2 - Exemple de relation intra-expérience curvilinéaire et inter-expériences négative (Sauvant *et al.*, 2005).

D'autre part, la Figure 2.3 suggère l'existence d'une relation inter-expériences non linéaire, par contre la relation intra-expérience n'est que linéaire. Ces observations graphiques doivent bien entendu être confirmées et quantifiées par les traitements statistiques appropriés. Enfin, l'approche graphique permet de situer la zone des données expérimentalement explorée vis-à-vis des zones possibles et plausibles de variations des mêmes données. En outre elle permet d'évaluer les valeurs des paramètres pour lesquelles l'effort de recherche a été plus intense.

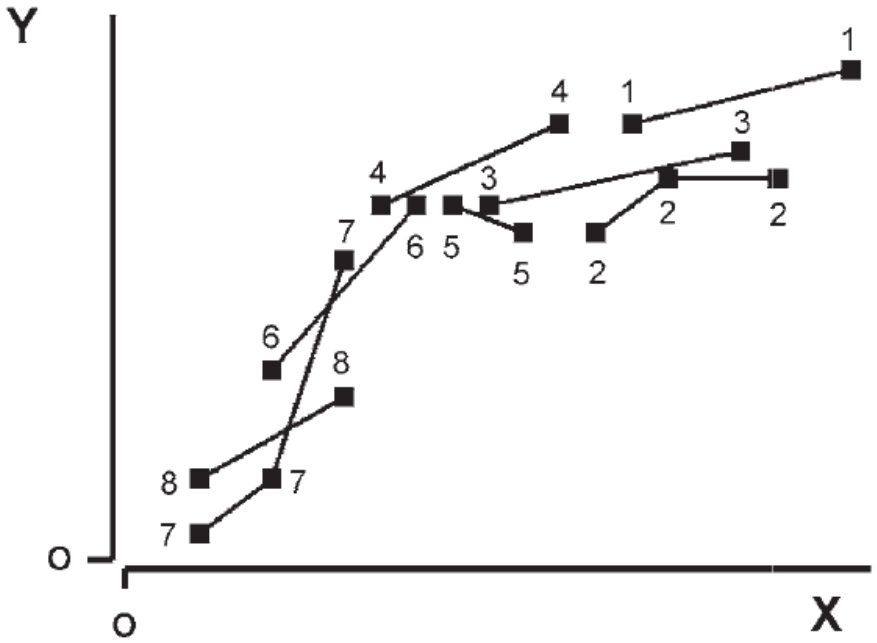


Figure 2.3 - Exemple de relation inter-expériences curvilniéaire et intra-expérience linéaire (Sauvant *et al.*, 2005).

La Figure 2.4 représente une approche synthétique de ces aspects. Cette structuration soulève la question du choix de la zone d'inférence.

Au niveau de la synthèse des données, notons aussi que les boites de distribution (ou « box-plots » ou « boites à moustaches ») constituent un outil graphique souvent intéressant.

6. Données combinées et méthodes statistiques

La méta-analyse peut combiner des données de complexité et précision variables, allant des données individuelles (brutes ou ajustées), aux résultats de tests statistiques ou décisionnels, en passant par des estimés d'effets. Plusieurs méthodes de synthèse des résultats d'expériences ont donc été développées.

La méthode des votes

La méthode des votes (en anglais «vote-counting» ou « box-score ») introduite par Light et Smith (1971), est relativement simple. Les essais sont classés en trois catégories suivant le résultat qualitatif du test statistique : les essais qui ont montré un effet bénéfique statistiquement significatif (« résultat positif »), ceux qui n'ont pas atteint la signification statistique («résultat nul ») et ceux qui ont montré un effet délétère significatif (« résultat négatif »).

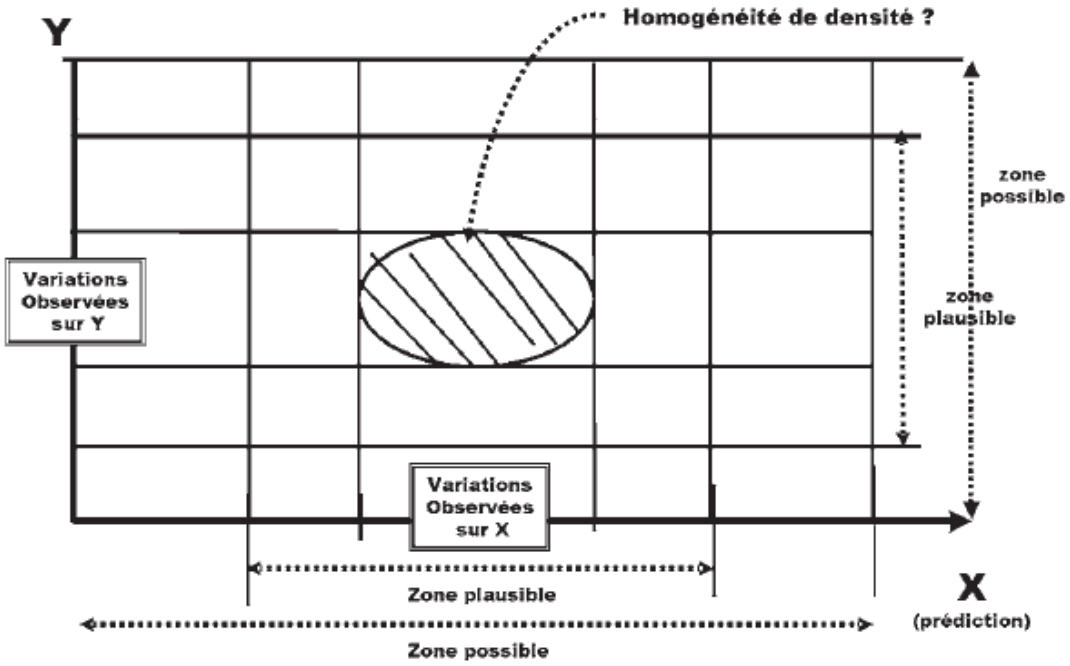


Figure 2.4 - Différenciation des zones possible, plausible et observée en méta-analyse (Sauvant *et al.*, 2005).

La catégorie qui contient plus du tiers de l'ensemble des essais est alors considérée comme représentative de ce qu'est réellement l'effet du traitement.

D'autres critères que cette proportion d'un tiers sont possibles, la moitié ou les quatre cinquièmes ont été utilisés par certains, le choix de ce seuil étant arbitraire.

Cette méthode présente deux intérêts :

1. elle permet de combiner des résultats obtenus avec des critères de jugements ou des procédures statistiques très différentes les unes des autres,

2. elle demande très peu d'informations sur les essais, seulement le résultat qualitatif du test qui est très fréquemment rapporté dans les comptes rendus d'essais.

Du fait de son extrême simplicité et du caractère très réducteur du paramètre sur lequel elle se base, cette technique échoue très fréquemment et conduit à des résultats erronés. Si les essais ont été insuffisamment puissants, leurs résultats seront à tort nuls (erreur de seconde espèce) et cette catégorie l'emportera sur les autres. La technique conclura elle aussi, à tort, à une absence d'effet traitement. Paradoxalement, l'augmentation de la quantité d'information disponible par augmentation du nombre d'essais rend la méthode de moins en moins efficace.

Des adaptations qui conduisent à un test statistique ont été développées (Hedges et Olkin, 1980).

Combinaison des degrés de signification

Les degrés de signification (valeur de p, « p-value » en anglais) peuvent être combinés entre eux. Le degré de signification combiné obtenu permet de tester l'hypothèse nulle globale : le traitement n'a pas d'effet à partir de la totalité de l'information apportée par l'ensemble des essais. Ces procédures statistiques sont anciennes **(**Pearson, 1904 ; Fisher, 1932). Cette technique ne permet d'obtenir qu'un résultat qualitatif (résultat significatif ou non).

Addition des effectifs : pooling

Par le terme de « *pooling »* emprunté à l'anglais, on désigne la technique qui consiste à faire de simples additions pour regrouper les essais. Les effectifs des groupes seront additionnés entre eux ainsi que les nombres d'événements. La comparaison globale et l'estimation de l'effet traitement combiné se basent sur ces totaux.

Modélisation de l'effet traitement

La modélisation de l'effet traitement, en anglais « effect-size », consiste à essayer d'expliquer, à partir des caractéristiques de base des individus ou à partir des modalités du facteur étudié, les différences de niveau d'effet observées entre différents essais.

Avec la modélisation de l'effet, la variabilité est considérée d'une façon radicalement différente de celle qui est en vigueur avec les autres techniques de méta-analyse.
Avec ces dernières, la variabilité est un paramètre de nuisance (l'hétérogénéité) qui contredit l'hypothèse de l'existence d'un effet traitement commun à tous les essais.

Au contraire, la modélisation de l'effet va considérer la variabilité comme informative car témoignant de l'existence de facteurs de modulation de la variable réponse.

Ceci débouche sur une recherche des facteurs expliquant les variations observées dans les essais.

D'un point de vue général, la méthodologie statistique doit être détaillée en précisant :
1/ Le type d'information sur lequel porte la méta-analyse ;
2/ Les techniques de calculs utilisées et les modalités du choix de la méthode finalement retenue. En effet, il convient de fixer dans le protocole la démarche retenue pour choisir la méthode avec laquelle les résultats seront obtenus. Pour les critères de jugement continus, les méthodes utilisées sont la méthode de mesure de la taille de l'effet ("*effect- size"*) et celle d'addition des effectifs ("pooling"). Ces deux méthodes ont été comparées dans la première partie de ce travail dans une méta-analyse de l'effet du gène halothane sur les principaux paramètres de qualité de la viande porcine (cf. Chapitre 3).

3/ Le seuil de signification statistique retenu pour le test de l'effet et pour le test d'hétérogénéité.

4/ Pour les critères continus, le type de variance retenu et les solutions de recours en cas de non publication (variance commune, variance du groupe contrôle, variance estimée à partir des résultats des tests)

5/ La conduite à tenir en cas d'hétérogénéité : utilisation d'un modèle aléatoire, analyse exploratoire des causes d'hétérogénéité.

7. Démarche post-analytique : analyse de sensibilité

Les analyses de sensibilité consistent à comparer les résultats obtenus en incluant ou en excluant des essais pour lesquels il est difficile de trancher définitivement sur leur éligibilité. Ces analyses de sensibilité pourront être effectuées :
– en incluant ou excluant des essais, en fonction de l'existence ou non de doute sur leur éligibilité,
– en excluant les essais non publiés (pour se rendre compte de l'importance de ces essais),
– en excluant les essais de plus faible niveau méthodologique,
– en utilisant différentes méthodes statistiques (modèle fixe, aléatoire, etc.).

Dans ces cas, l'analyse de sensibilité a pour but d'évaluer la stabilité des résultats et donc le cas échéant de justifier le fait que des essais quelque peu douteux aient été quand même inclus dans la méta-analyse (ils ne modifient pas le résultat et permettent d'augmenter la puissance). Ces analyses de sensibilités sont réalisées pour chaque point où il est difficile de trancher sans hésitation entre les essais qui doivent être inclus et ceux qui ne le doivent pas : modalité de traitement, type d'individus, etc.

Les différentes analyses de sensibilité relatives à la méthode statistique choisie (« pooling » ou « effect-size »), ainsi que les règles à adopter pour discuter leurs résultats et tirer des conclusions sont détaillées dans la partie ci-dessous.

Partie 2.3

Protocole statistique pour mener une méta-analyse

1. Approche fréquentiste

1.1. Méthode de mesure de la taille de l'effet du traitement: « effect-size »

Cette méthode qui a été initialement développée dans le cadre des études thérapeutiques s'applique quand le sujet de la méta-analyse est de comparer deux traitements à travers la sélection d'un ensemble de mesures. L'objectif est généralement d'estimer et de faire des inférences à la base de la différence entre les effets des deux traitements. Ceci implique le choix d'une mesure appropriée (paramétrisation) de la différence de traitement, le calcul de l'estimation de cette différence pour chaque étude individuelle, et l'estimation globale de cette différence à partir d'une moyenne pondérée des estimations des études individuelles.

La problématique statistique posée par la méta-analyse est donc double. Il s'agit tout d'abord de quantifier la différence de traitement grâce à une mesure appropriée pour chaque étude, puis de combiner en un seul indice les quantités de ces différences de traitements qu'on appelle les effets traitement ou « effect-size » issues d'une série d'essais expérimentaux (Olkin, 1995 ; Laird et Mosteller, 1990).

Les méthodes d'estimation de l'effet traitement varient en fonction de la nature de la variable réponse (ou critère de jugement) qui peut être binaire, catégorielle ou continue (Fleiss, 1993 ; Chalmers, 1982). Cette section n'aborde que les variables continues.

Les méthodes d'estimation de l'effet traitement pour chaque étude individuelle sont décrites puis les méthodes de combinaison de ces estimations individuelles sont détaillées.

1.1.1. Méthodes d'estimation de la taille de l'effet traitement dans un seul essai pour une variable continue

Une mesure quantitative continue est généralement considérée comme ayant une distribution normale. Quand ceci n'est pas le cas, une transformation est apportée aux valeurs de cette variable afin de la normaliser. Le modèle statistique utilisé dans cette situation suppose que les valeurs du critère de jugement dans le groupe traité $Y_1^T, \ldots, Y_n^T$ sont distribuées suivant une loi normale de moyenne μ_T et de variance σ^2. De manière similaire

dans le groupe contrôle, les valeurs $Y_1^C, \ldots, Y^C_n$ suivent une loi normale de moyenne μ_C et de même variance σ^2 :

$$Y_i^T \sim N(\mu_T, \sigma^2), \quad i = 1, \ldots, n^T$$

$$Y_i^C \sim N(\mu_C, \sigma^2), \quad i = 1, \ldots, n^C$$

La plupart des articles publiés citent l'effectif de leurs échantillons, la moyenne et l'écart-type de chaque groupe de traitement. Ces paramètres suffisent pour l'estimation de l'effet traitement.

Pour les données distribuées selon une loi normale, deux paramètres d'estimation de l'effet traitement sont à considérer. Il s'agit de la différence absolue entre les moyennes, notée $\mu_t - \mu_c$, et la différence des moyennes standardisée, notée $(\mu_t - \mu_c)/\sigma$. Pour le groupe traité on définit $\bar{y}_t$ comme étant la moyenne de l'échantillon de ce groupe et $\bar{y}_c$ la moyenne de l'échantillon du groupe contrôle. La différence absolue des moyennes est facile à interpréter et elle est la plus appropriée si les mesures sont effectuées de manière similaire entre toutes les études. Cependant, la différence standardisée est dimensionnelle, et peut être utilisée quand on a à combiner des mesures faites selon différentes échelles ou unités **(**Whitehead, 2002).

1.1.1.1. La différence absolue entre les moyennes

L'estimation du Maximum de Vraisemblance de la différence absolue des moyennes est la différence entre les moyennes des deux échantillons, notée $\hat{\theta}$ avec :

$$\hat{\theta} = \bar{y}_t - \bar{y}_c$$

La variance est donnée par la formule suivante :

$$\mathrm{Var}(\hat{\theta}) = \sigma^2 \left(\frac{1}{n_t} + \frac{1}{n_c}\right)$$

Afin de calculer la variance de $\hat{\theta}$, il est nécessaire de choisir une estimation appropriée de la composante de la variance σ^2.

Plusieurs choix sont possibles pour cette variance : la variance du groupe contrôle s^2_c, la variance du groupe traité s^2_t, ou une variance commune s^2 (pooled variance) qui combine s^2_c et s^2_t. Cette dernière présente l'avantage d'être l'estimation la plus précise de la variance commune des deux populations σ^2.

L'estimation du Maximum de Vraisemblance de la variance commune s^2 est donnée par la formule suivante :

$$s^2 = \frac{(n_t - 1)(s_t)^2 + (n_c - 1)(s_c{}^2)}{n_t + n_c}$$

Cependant, il est connu que cette estimation est biaisée, ainsi l'estimation la plus communément utilisée de la variance commune des deux échantillons et qui n'est pas biaisées est celle calculée en remplaçant le dénominateur de la précédente formule par (n_t + n_c -2). Cette estimation correspond à celle du REML (Restricted Maximum Likelihood estimate) (Searle *et al.,* 1992). Ainsi :

$$s^2 = \frac{(n_t - 1)(s_t)^2 + (n_c - 1)(s_c)^2}{n_t + n_c - 2} \qquad (4.1)$$

1.1.1.2. La différence des moyennes standardisée ou effet standardisé

Par définition, l'effet standardisé est la différence des moyennes standardisées sur l'écart type commun aux deux groupes. De ce fait, l'écart type de cette nouvelle variable est égal à 1. L'effet standardisé correspond donc à une variable normale réduite de moyenne nulle et de variance unitaire, appelée parfois z-score.

La formule générale de l'estimateur $\hat{\theta}$ de l'effet standardisé peut être obtenu par :

$$\hat{\theta} = \frac{\overline{y}_t - \overline{y}_c}{s} \qquad (4.2)$$

‘s’ étant la racine carrée de l’estimation de la variance commune s² exprimée selon la formule (4.1).

L’estimation de la variance de l’effet standardisé $\hat{\theta}$ est donnée par la formule suivante :

$$\text{Var}(\hat{\theta}) = \frac{n_t + n_c}{n_t n_c}$$

En 1976, Glass a proposé une estimation de l’écart type σ obtenue à partir du groupe contrôle uniquement. En effet, si plusieurs traitements sont comparés avec le groupe contrôle dans une étude, les comparaisons deux à deux de chaque groupe traité au groupe contrôle peut amener à des valeurs standardisées différentes pour des différences de moyennes identiques.

Hedges et Olkin (1985) ont montré que l’estimateur de l’effet standardisé donné par la formule (4.2) est biaisé surtout pour les échantillons de petite taille. Pour obtenir un estimateur sans biais, ils proposent un nouvel estimateur d défini par :

$$\text{d} = \frac{J(n_t + n_c - 2)(\bar{y}_t - \bar{y}_c)}{s}$$

où $\text{J(m)} = \Gamma(\text{m}/2) / (\sqrt{m/2}\ .\Gamma\ ((\text{m}-1)/2))$ en posant $\text{m} = n_t + n_c - 2$.

Le Tableau 2.1 donne les valeurs exactes de J(m) pour m variant entre 0 et 50. En pratique, lorsque m ≥ 10, une excellente approximation de J(m) (avec une erreur maximale inférieure à 0,0005) est obtenue par :

$$\text{J(m)} = 1 - \frac{3}{4m-1}$$

La variance de cette nouvelle estimation non biaisée de l’effet standardisé est égale à :

$$\text{var (d)} = \frac{n_t + n_c}{n_t n_c} + \frac{d^2}{2(n_t + n_c)}$$

La distribution de l'estimateur ***d*** est asymptotiquement normale, c'est-à-dire que cette distribution est d'autant moins éloignée d'une distribution normale que la taille de l'essai est grande.

Il est à noter que l' « effet standardisé » est un paramètre de population et non pas une statistique de test et donc il ne permet pas de déterminer si les deux moyennes sont significativement différentes.

Tableau 2.1 – Valeurs exactes du facteur de correction de biais J(m) selon le nombre d'études incluses "m" (Hedges et Olkin (1985), cité par Whitehead (2002)).

m	$J(m)$	m	$J(m)$	m	$J(m)$	m	$J(m)$
2	0.5642	15	0.9490	27	0.9719	39	0.9806
3	0.7236	16	0.9523	28	0.9729	40	0.9811
4	0.7979	17	0.9551	29	0.9739	41	0.9816
5	0.8408	18	0.9577	30	0.9748	42	0.9820
6	0.8686	19	0.9599	31	0.9756	43	0.9824
7	0.8882	20	0.9619	32	0.9764	44	0.9828
8	0.9027	21	0.9638	33	0.9771	45	0.9832
9	0.9139	22	0.9655	34	0.9778	46	0.9836
10	0.9228	23	0.9670	35	0.9784	47	0.9839
11	0.9300	24	0.9684	36	0.9790	48	0.9843
12	0.9359	25	0.9699	37	0.9796	49	0.9846
13	0.9410	26	0.9708	38	0.9801	50	0.9849
14	0.9453						

1.1.2. La combinaison des estimations des effets traitement entre les différents essais

Les estimations des différences de traitement ou les effets traitement des études doivent ensuite être combinées entre-elles selon une méthode présentée par Whitehead et Whitehead (1991). Cette méthode est utilisée principalement quand les données disponibles à partir de chaque étude consistent uniquement en des estimations des effets traitement (avec leur erreur standard) ou bien de statistiques résumées.

Il est assumé que les études disposent du même dispositif comparant un groupe traité à un groupe contrôle. Il est également assumé que la méta-analyse est appliquée sur une variable mesurée de la même manière dans toutes les études, et que l'effet traitement a été estimé dans toutes les études selon la même approche.

Une approche paramétrique générale selon un modèle à effets fixes sera détaillée dans un premier temps et qui inclut l'estimation d'un effet traitement global ainsi que des tests statistiques pour les hypothèses nulle de l'inexistence de différences entre les deux traitements ainsi que le test d'hétérogénéité des effets traitement entre les études.

1.1.2.1. Approche paramétrique selon un modèle linéaire fixe

Estimation de l'effet traitement de chaque étude

Soient **r** études indépendantes comparant chacune un groupe traité à un groupe contrôle. Le paramètre représentant la mesure de l'effet traitement est noté θ. Il est assumé, dans ce cas, que θ est égale à 0 quand les deux traitements ont le même effet.

Notons $\hat{\theta}_i$ l'estimation de θ dans la i^{ème} étude. Le modèle général fixe est donné par :

$$\hat{\theta}_i = \theta + \varepsilon_i \qquad \boldsymbol{i} = 1, \ldots, r \qquad (4.3)$$

pour i = 1,. . . , r, où ε_i est le terme d'erreur, $\varepsilon_i \sim N(0, \xi_i^2)$, ainsi :

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta, \xi_i^2)$$

Soit $w_i = 1/\text{var}(\hat{\theta}_i)$, l'inverse de la variance de $\hat{\theta}_i$. Avec cette notation :

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta, w_i^{-1})$$

L'hypothèse d'homogénéité, décrivant la constance de l'effet traitement quelle que soit l'étude, s'écrit :

$$\theta_1 = \ldots = \theta_r = \theta$$

La valeur de θ est la valeur de l'effet traitement commun à toutes les études.

Estimation et hypothèses de test de l'effet traitement commun

Pour estimer l'effet traitement commun θ on utilise la formule suivante :

$$\hat{\theta} = \frac{\sum \theta_i w_i}{\sum w_i} \qquad (4.4)$$

qui est la moyenne des estimations réalisées pour chaque essai, pondérée par l'inverse de leur variance (Jones, 1995). Cette pondération fait que les essais dont les résultats ont une faible variance contribuent fortement à l'estimation commune, contrairement aux essais avec des résultats à forte variance. L'utilisation d'une pondération est rendue nécessaire par le fait que les var ($\hat{\theta}_i$) ne sont pas égaux entre les études (Armitage et Berry, 1994).
Notons qu'il a été démontré que cet estimateur correspond approximativement à l'estimateur de maximum de vraisemblance (Whitehead et Whitehead, 1991).

La variance de l'estimateur de l'effet traitement commun est donnée par la formule suivante :

$$\text{Var}(\hat{\theta}) = \frac{1}{\sum_{i=1}^{r} w_i} \qquad (4.5)$$

Test d'association

C'est une statistique qui permet de tester l'hypothèse nulle H_0 : $\hat{\theta} = \theta_0$. Cette hypothèse correspond à une situation d'absence d'effet du traitement. Ce test est similaire au test réalisé pour un essai, dans le but de savoir si la différence observée entre le traitement testé et son contrôle est statistiquement significative.
θ_0 est la valeur de la mesure de l'effet θ qui correspond à l'absence d'effet du traitement.

La variable $\hat{\theta}$ est, sous l'hypothèse nulle, asymptotiquement distribuée suivant une loi normale d'espérance θ_0 et de variance $1/\sum w_i$.

Dans cette situation, la statistique de test :

$$Z = \frac{\left|\hat{\theta} - \theta_0\right|}{\sqrt{\text{var}(\hat{\theta} - \theta_0)}}$$

suit une loi normale centrée réduite. Le carré d'une variable normale centrée réduite est une variable qui suit une distribution Khi-deux à 1 degré de liberté.

En pratique, θ_0 est nulle avec les mesures d'effets utilisées. En élevant au carré la statistique précédente et en remplaçant θ_0 par 0 on obtient :

$$U = \frac{\left(\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i w_i / \sum_{i=1}^{r} w_i\right)^2}{\left(\sqrt{1/\sum_{i=1}^{r} w_i}\right)^2}$$

Ainsi, l'hypothèse globale nulle de l'absence d'effet traitement dans toutes les études est testée en comparant la statistique suivante :

$$U = \frac{\left(\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i w_i\right)^2}{\sum_{i=1}^{r} w_i}$$

qui suit une loi khi-deux à 1 degré de liberté.

En pratique, si **U** dépasse la valeur critique d'une loi de khi-deux à 1ddl correspondant au seuil de signification α choisi, le test est statistiquement significatif.

Test d'hétérogénéité

Sous l'hypothèse d'homogénéité, $\forall$ i, $\hat{\theta}_i = \theta$, $\hat{\theta}_i - \theta$ vaut en moyenne zéro et la variable $\left(\hat{\theta}_i - \theta\right) / \sqrt{\text{var}(\hat{\theta}_i)} = \left(\hat{\theta}_i - \theta\right).\sqrt{w_i}$ est approximativement une variable normale centrée réduite. Son carré est donc une variable du khi-deux à 1 degré de liberté. En pratique, θ est inconnu. Il est remplacé par son estimation $\hat{\theta}$ issu de la formule (4.4), ce qui conduit à une statistique asymptotiquement exacte :

$$\mathbf{Q} = \sum_{i=1}^{r} w_i (\hat{\theta}_i - \hat{\theta})^2$$

qui est une somme pondérée des carrés des écarts des estimations de chaque étude de l'estimation globale de l'effet traitement. Ce test est connu sous le nom de test Q de Cochran (Cochrane, 1954), et qui suit une loi du khi-deux à k-1 degrés de liberté.

Une formule équivalente et plus facile pour le calcul est donnée par la formule suivante :

$$\mathbf{Q} = \sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i^2 wi \; \mathbf{- U}$$

En pratique, si Q dépasse la valeur critique d'une loi du chi deux à k-1 ddl correspondant au seuil de signification α choisi, le test est statistiquement significatif. Cela signifie que l'utilisation d'un modèle à effet fixe n'est pas appropriée et qu'il faut utiliser un modèle mixte en intégrant l'effet "étude" comme facteur aléatoire.

1.1.2.2. Approche paramétrique selon un modèle linéaire avec effet aléatoire

Dans le modèle à effet fixe, les vrais effets traitement θ_i sont considérés comme identiques quel que soit l'essai : $\theta_1 = ... = \theta_r = \theta$. Quand le test d'hétérogénéité Q est significatif, cette hypothèse n'est pas valide.

Le modèle aléatoire permet au vrai effet traitement de varier en faisant l'hypothèse que ces θ_i sont des variables aléatoires distribuées suivant une loi normale autour d'un effet traitement constant θ avec une variance τ^2.

Ainsi $$\theta_i \sim N(\theta, \tau^2) \qquad (4.6)$$

Le modèle linéaire à effet aléatoire s'écrit:

$$\hat{\theta}_i = \theta + \nu_i + \varepsilon_i \qquad (4.7)$$

pour i=1,…,r, où ν_i suit une loi normale de moyenne 0 et de variance τ^2, et qui représente l'effet "étude". Il est assumé que ν_i et ε_i sont distribués indépendamment.

L'estimation $\hat{\theta}_i$ obtenue au niveau d'un essai est alors distribuée autour de θ_i précédemment défini dans la formule (4.6) qui est aléatoire et spécifique de l'essai i, avec une variance ξ_i^2 qui représente toujours les fluctuations d'échantillonnages :

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta_i, \xi_i^2) \qquad (4.8)$$

Le but de la méta-analyse est d'estimer le paramètre initial θ. A partir des formules (4.7) et (4.8), la distribution marginale des $\hat{\theta}_i$ est :

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta,\ \tau^2 + \xi_i^2)$$

En effet, la variance totale d'une observation $\hat{\theta}_i$ d'un effet traitement au niveau d'une étude est : Var ($\hat{\theta}_i$) = $\tau^2 + \xi_i^2$ où τ^2 représente la variabilité inter-étude et ξi^2 la variabilité intra-étude.

Estimation et hypothèses de tests pour l'effet traitement commun

Habituellement τ^2 est inconnu et doit être estimé à partir des données. Ainsi, l'hypothèse de la distribution de $\hat{\theta}_i$ est la suivante :

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta, w_i^{-1} + \hat{\tau}^2)$$

où $\hat{\tau}^2$ est une estimation de τ^2 . On considère le paramètre : $w_i^* = (w_i^{-1} + \hat{\tau}^2)$, il en suit que : $\hat{\theta}_i \sim N(\theta, (w_i^*)^{-1})$.

En considérant $(w_i^*)^{-1}$ comme étant la vraie variance de $\hat{\theta}_i$, on obtient le test statistique d'association selon la formule suivante :

$$\mathbf{U^*} = \frac{\left(\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i w_i^*\right)^2}{\sum_{i=1}^{r} w_i^*}$$

qui suit une distribution chi-deux avec 1 degré de liberté sous l'hypothèse nulle de l'absence de différence entre les deux traitements (θ=0). Si $(w_i^*)^{-1}$ est la vraie variance de $\hat{\theta}_i$, l'estimation de θ selon la méthode du maximum de vraisemblance est donnée par $\hat{\theta}^*$, où :

$$\hat{\theta}^* = \frac{\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i w_i^*}{\sum_{i=1}^{r} w_i^*}$$

$\hat{\theta}^*$ est une estimation non biaisée de θ, dont la variance est approximativement égale à :

$$\text{var}(\hat{\theta}*) = \frac{1}{\sum_{i=1}^{r} w_i *}$$

Si $\hat{\tau}^2$ est très faible voir nulle la précision modifiée w_i^* devrait être très proche de w_i. Dans ce cas, l'écart-type et l'intervalle de confiance obtenus à partir du modèle à effet aléatoire sont similaires à ceux du modèle à effet fixe. Ainsi l'estimation de l'effet traitement commun est également similaire dans les deux modèles. Si $\hat{\tau}^2$ est grand, dans ce cas l'écart-type et l'intervalle de confiance sont plus grands dans le modèle aléatoire.

Cependant, il est possible de démontrer que la Var($\hat{\theta}*$) < var($\hat{\theta}$) quand $\hat{\tau}^2 > 0$ et donc $\hat{\theta}*$ doit être préférée à $\hat{\theta}$ (Cucherat *et al.,* 2002).

Les méthodes d'estimation de τ^2

La méthode des moments

L'estimation de τ^2 par la méthode des moments peut être facilement calculée sans avoir besoin d'un logiciel de statistiques. En se basant sur les formules de l'estimation de $\hat{\theta}$, de la Var ($\hat{\theta}$) et du test d'hétérogénéité Q, DerSimonian et Laird (1986) ont décrit la méthode d'obtention de $\hat{\tau}^2$, qui est exprimée par la formule suivante :

$$\hat{\tau}^2 = \frac{Q - (r-1)}{\sum_{i=1}^{r} w_i - \sum_{i=1}^{r} w_i^2 / \sum_{i=1}^{r} w_i}$$

La méthode du maximum de vraisemblance (ML)

Pour une méta-analyse incluant *r* études indépendantes, la fonction de vraisemblance est donnée par le produit des fonctions de vraisemblance de chaque étude et de la fonction du log de vraisemblance par :

$$l(\theta, \tau^2; \hat{\theta}_i, i = 1, ..., r) = \text{constante} - \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{r} \log(w_i^{-1} + \tau^2) - \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{r} \frac{\left(\hat{\theta}_i - \theta\right)^2}{(\text{wi}^{-1} + \tau^2)}$$

Les estimations selon le maximum de vraisemblance de τ^2 et de θ peuvent être obtenues à travers un schéma itératif dans lequel chaque itération inclut deux étapes.

Premièrement, le paramètre de variance τ^2 est considéré comme fixe et la valeur de θ qui maximise le log de vraisemblance est calculée. Ensuite, θ est considéré comme fixe et la valeur de τ^2 qui maximise le log de vraisemblance est calculée. Ainsi, l'estimation de θ au $(t+1)^{ème}$ cycle d'itération est donnée par la formule:

$$\hat{\theta}*_{t+1} = \frac{\sum_{1=1}^{r} \hat{\theta}_i w^*_{it}}{\sum_{i=1}^{r} w^*_{it}}$$

et l'estimation approximative de τ^2 est :

$$\hat{\tau}^2_{M,t+1} = \frac{\sum_{i=1}^{r} \left(w^*_{it}\right)^2 \left\{ \left(\hat{\theta} i - \hat{\theta}^*_{t+1}\right)^2 - w_i^{-1} \right\}}{\sum_{i=1}^{r} w^{*2}_{it}} \qquad (4.9)$$

La méthode du maximum de vraisemblance restreinte (REML)

La méthode du maximum de vraisemblance sous-estime souvent la valeur de τ^2 car cette méthode ne tient pas en compte l'information utilisée dans l'estimation de θ. La méthode du maximum de vraisemblance restreinte ou REML considère cette perte d'information en modifiant l'équation de vraisemblance pour éliminer le paramètre θ (Brown et Prescott, 1999). En effet, la fonction log de vraisemblance du REML est basée sur le terme résiduel $\left(\hat{\theta}_i - \hat{\theta}^*_{t+1}\right)$ au lieu des observations $\hat{\theta}_i$.

L'estimation approximative de $\hat{\tau}^2$ par la méthode REML est donnée par :

$$\hat{\tau}^2_{R,t+1} = \frac{\sum_{i=1}^{r} \left(w^*_{it}\right)^2 \left\{ r(\hat{\theta}_i - \hat{\theta}^*_{t+1})^2/(r-1) - w_i^{-1} \right\}}{\sum_{i=1}^{r} \left(w^*_{it}\right)^2} \qquad (4.10)$$

Avec des programmes statistiques on peut facilement calculer les estimations ML et REML de τ^2 selon les formules (4.9) et (4.10) respectivement. On cite par exemple la procédure PROC MIXED sous le logiciel SAS.

1.1.3. Hétérogénéité et méta-régression

L'hétérogénéité peut être considérée comme une nuisance que l'on cherchera à éliminer en prenant une méthode adaptée. La méta-régression représente l'une des techniques permettant de résoudre ce problème.

A l'opposé, l'hétérogénéité peut être considérée comme informative, témoignant de changement dans l'effet du traitement en fonction des circonstances de sa mesure (conditions d'élevage ou niveau alimentaire par exemple).

Afin d'évaluer le niveau d'hétérogénéité à partir duquel on est amené à faire appel à la méta-régression, Higgins et Thompson (2002) ont proposé la formule suivante :

$$I^2 = \frac{Q^2 - (r-1)}{Q^2}$$

qui représente la proportion de la variance inter-étude dans la variance totale.

Quand I^2 est supérieure à 50%, une méta-régression est suggérée afin d'explorer la source de cette hétérogénéité entre-études.

La méta-régression consiste à modéliser l'effet traitement en fonction d'une ou plusieurs covariables caractérisant les études incluses dans la méta-analyse. C'est une analyse de régression dans laquelle les $\widehat{\theta}_i$ des études correspondent aux observations et les niveaux des covariables de ces études sont les variables explicatives.

Pour introduire une covariable dans un modèle de méta-analyse aléatoire, $\widehat{\theta}_i$ précédemment décrite dans l'équation (4.7), est exprimée par l'équation suivante :

$$\hat{\theta}_i = \beta_1 + \eta_i + \nu_i + \varepsilon_i$$

$\boldsymbol{\beta_1}$ est l'effet traitement commun à toutes les études,

$\boldsymbol{\eta i} = \beta_2 x_i$ dans le cas de covariable explicative continue x_i, avec β_2 son coefficient de régression,

et $\eta i = \beta_2 x_{2i} + \beta_3 x_{3i} + \ldots + \beta_q x_{qi}$ dans le cas de covariable explicative catégorielle (q est le nombre de niveaux de la covariable x_i).

L'estimation des coefficients de régression β des covariables avec la méthode du maximum de vraisemblance peut être réalisée en procédant à une régression de $\widehat{\theta}_i$ par rapport à la variable explicative, avec une pondération aux w_i (l'inverse de la variance de chaque étude).

$\mathbf{v_i}$ représente la déviation dans l'étude i de la moyenne de toutes les études ayant le même niveau de la covariable x_i.

1.1.4. La pondération du modèle méta-analytique de l'effet traitement

Dans une méta-analyse standard, les estimations de l'effet traitement de chaque étude sont pondérées par l'inverse de leur variance réciproque (Hedges et Olkin ,1985).
Dans un modèle à effets aléatoires, les estimations des effets traitement sont souvent pondérées par l'inverse de la somme des variances intra et inter-études, ce qui améliore la puissance statistique (Sanchez-Meca et Marin-Martinez, 1998). Dans le cas du modèle à effet fixe, la variance entre les études est supposée nulle. Une simple pondération sur la base de la taille des échantillons est également possible (Moodie *et al.,* 2004), mais qui sous-estime les effets traitement en cas d'échantillons de grande taille (Osburn et Callender, 1992).

Les mesures de variance ne sont pas souvent citées dans les publications de faible qualité, ou bien dans celles où la variance n'est pas une statistique pertinente du fait que les données ne suivent pas une distribution normale. Toutefois, si très peu d'études contiennent la variance, comme ce fut le cas dans la méta-analyse de Tudoreanu et Phillips (2004), la pondération n'est pas possible. Dans ce cas une simple méta-régression peut être effectuée.

La pondération par rapport à un paramètre reflétant la qualité de chaque étude reste un sujet de débat (Moodie *et al.,* 2004) pour plusieurs raisons. Tout d'abord, le choix du paramètre de pondération influence le poids de chaque étude dans l'analyse, ainsi que l'estimation de l'effet traitement commun et son intervalle de confiance. Deuxièmement, malgré la pondération, les études à faible qualité sont toujours incluses dans l'analyse, ainsi, toutes sortes de biais liés à ces études se trouvent réduits mais pas éliminés. Notons que l'inclusion des études de faible et de bonne qualité peut également augmenter l'hétérogénéité des estimations des effets entre les études et par conséquent diminuer la crédibilité de la méta-analyse (Egger *et al.,* 2001). Detsky *et al.* (1992) ont rapporté que l'incorporation des

paramètres de qualité des études comme facteur de pondération manque de justification statistique et empirique.

1.1.5. Identification et quantification du biais de publication

Par principe, la méta-analyse doit regrouper la totalité des essais qui ont été réalisés dans le domaine étudié. Cette exhaustivité est cependant difficile à atteindre, en particulier du fait de l'existence de travaux non publiés. Un manquement à ce principe fait courir le risque de l'introduction d'un biais, appelé biais de publication.

Les techniques présentées dans ce paragraphe permettent de rechercher l'existence d'un biais de publication à partir des données d'une méta-analyse. Bien sûr, les diagnostics de ces méthodes ne sont jamais certains et restent purement indicatifs. Ils représentent cependant des éléments de choix pour la discussion.

Dans un premier temps, une technique purement descriptive, à but d'analyse, est présentée, suivie par la description de deux méthodes destinées à estimer la taille du biais.

1.1.5.1. Le Funnel plot

La représentation dite « *funnel plot* » (dont une traduction possible est « graphe en entonnoir ») consiste à représenter, pour chaque étude, la valeur estimée de l'effet traitement en fonction de la taille des échantillons considérés (ou de leur écart type) (Light et Pillemer, 1984 ; Vandenbroucke, 1988).

En l'absence de biais de publication, les différentes estimations réalisées par les essais vont être réparties de façon homogène autour de la vraie valeur de l'effet traitement θ_i. Les estimations dont l'écart type est important (qui correspondent aux études de plus faible effectif), varient autour de θ_i avec une plus grande amplitude que celles dont l'écart type est petit (c'est à dire comportant les plus grands effectifs). De plus, les points se répartissent de façon symétrique de part et d'autre de la ligne verticale correspondant à la vraie valeur θ_i. La Figure 2.5 représente une illustration théorique indiquant une situation d'absence de biais de publication.

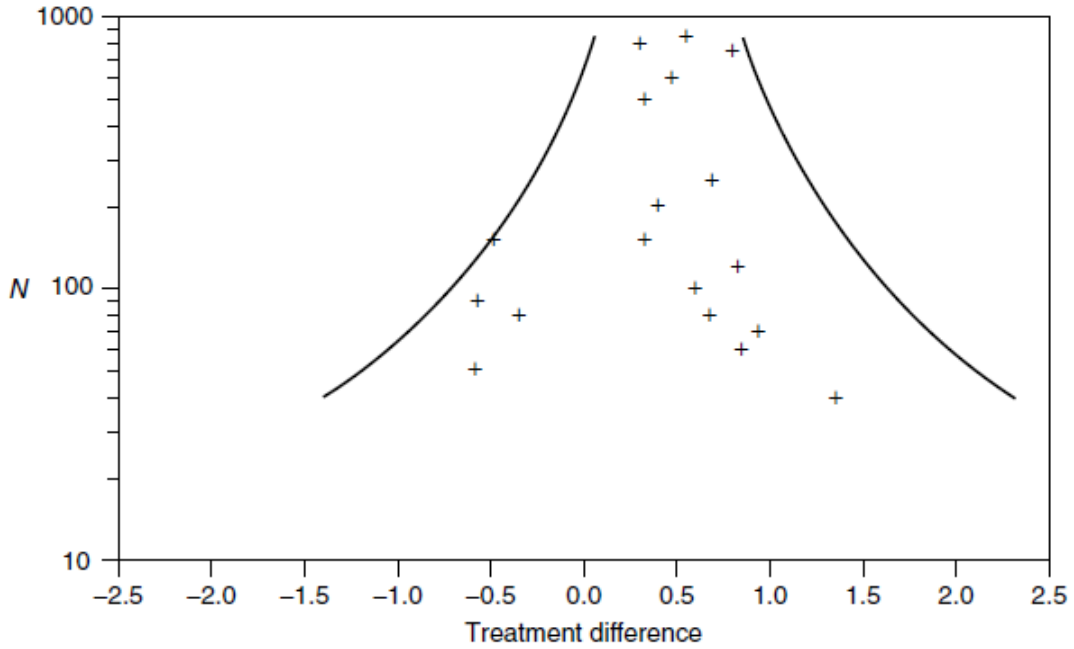


Figure 2.5 – Illustration théorique d'une situation d'absence de biais de publication (cas de la régression des effets traitement sur les effectifs par étude) (Whitehead, 2002).

En cas de biais de publication, la répartition des points n'est plus homogène, un déséquilibre apparaît avec moins de points dans la zone centrale, correspondant aux résultats non significatifs. Il s'agit principalement des estimations inférieures à la vraie valeur (en générale voisines de l'effet nul voire inférieures à lui) et obtenues sur des essais de faible effectif. Celà conduit à une forme « d'entonnoir » sur le graphique d'où le nom de ce type de représentation graphique. La Figure 2.6 correspond à l'illustration théorique d'une situation de présence du biais de publication dans une méta-analyse.

1.1.5.2. Méthodes statistiques de détection et de correction du biais de publication

Il est possible de formaliser l'approche du « *funnel plot* » par des tests statistiques permettant de quantifier la probabilité d'existence d'un biais de publication dans un jeu de données. Deux tests destinés à identifier et modéliser les biais de publication sont décrits ci-dessous.

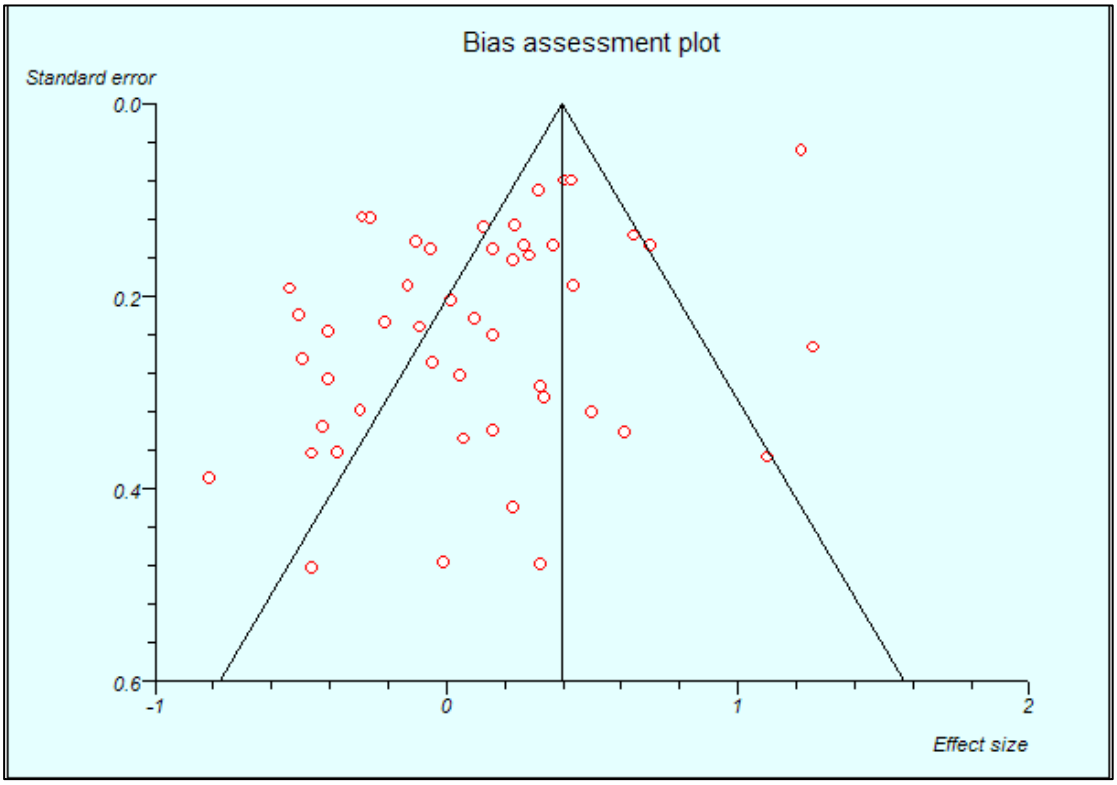


Figure 2.6 – Illustration théorique d'une situation de présence de biais de publication (cas d'une régression des effets traitement sur l'erreur standard de chaque étude) (Shachar, 2008).

Tests des rangs

Cette méthode est effectuée avec un test non-paramétrique dérivé du test τ de Kendall (Begg et Mazumdar, 1994). Une telle approche n'implique aucune hypothèse de modélisation statistique, mais souffre d'un certain manque de puissance.

Le principe de ce test consiste à dire qu'en l'absence de biais de publication, les deux variables représentées dans le graphe en entonnoir, θ_i et υ_i sont indépendantes. θ_i représente l'estimation de la taille de l'effet et υ_i sa variance. La réalisation de ce test nécessite de stabiliser la variance des θ_i car l'hypothèse d'égalité des variances est nécessaire. La transformation suivante vérifie cette hypothèse:

$$\theta_i^* = \frac{\theta_i - \bar{\theta}}{\sqrt{\upsilon_i^*}}$$

où $\overline{\theta}$ représente l'estimation de l'effet commun issue de la méta-analyse, et qui est estimé selon la formule (4.4), et où $\upsilon_i^* = \upsilon_i - \overline{\upsilon}$ est la variance de $\theta_i - \overline{\theta}.\overline{\upsilon} = (\sum \upsilon_i^{-1})^{-1}$ représente la variance de $\overline{\theta}$ qui est exprimée par la formule (4.5). Le test proposé consiste à rechercher la corrélation des rangs entre les $\{\theta_i^*\}$ et les $\{\upsilon_i\}$. Le test de Kendall est décrit dans de nombreux ouvrages de base de statistiques (Armitage et Berry, 1994). Son principe consiste à déterminer le rang de chaque valeur θ_i^* et υ_i dans sa série, puis de créer tous les regroupements possibles par paire des essais (leur nombre est (n (n - 1)). Ensuite, le nombre *P* de paires dans lesquelles le second élément est supérieur au premier est déterminé, ainsi que *Q*, le nombre de paires dans lesquelles l'ordre est inverse. Ensuite, une statistique de test qui suit une loi normale est obtenue par :

$$z = \frac{(P-Q)}{\sqrt{[k(k-1)(2k+5)/18}}$$

L'utilisation d'estimation standardisée de la taille de l'effet traitement pour ce test suggère que le graphe « en entonnoir » (« *funnel plot* ») doit utiliser la même transformation.

Par simulation, il a été montré que la puissance de ce test devient correcte dans le cas de grandes méta-analyses incluant plus de 75 essais (Begg et Mazumdar, 1994). Avec moins de 25 essais, la puissance est médiocre et le non rejet, par le test de l'hypothèse d'absence de biais de publication, ne permet pas de l'exclure de façon fiable.

Test d'asymétrie du « funnel plot »

Egger *et al.* (1997) présentent un test de détection de biais de publication basée sur une analyse de régression linéaire des "estimations standardisés» de l'effet traitement sur la «précision». Ce test consiste à ajuster cette ligne de régression qui devrait passer par l'origine en cas d'absence de biais de publication. Ainsi, le modèle de régression approprié est représenté par la fonction suivante:

$$y_i = \alpha + \beta x_i + \varepsilon_i$$

avec i=1,…,r qui représente le nombre des études incluses dans la méta-analyse ;

y_i : représente les «estimations standardisés » de l'effet traitement ($\hat{\theta}_i\sqrt{w_i}$) ;

x_i : représente la «précision» ($\sqrt{w_i}$) ;

ε_i : terme représentant l'erreur qui suit une distribution normale de moyenne nulle et de variance égale à 1.

Selon Egger *et al.* (1997), le test de détection du biais de publication revient à tester l'hypothèse nulle que α soit égale à zéro. L'intercept, α, fournit une mesure de l'asymétrie du funnel plot : plus son écart de zéro est élevé, plus l'asymétrie du « funnel plot » est importante.

Les estimations par la méthode des moindres carrés de α et β sont calculées selon les formules suivantes :

$$\hat{\alpha} = \frac{\sum_{i=1}^{r} (\hat{\theta}_i - \hat{\beta})\sqrt{w_i}}{r}$$

Et

$$\hat{\beta} = \frac{r\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i w_i - (\sum_{i=1}^{r} \sqrt{w_i})(\sum_{i=1}^{r} \hat{\theta}_i \sqrt{w_i})}{r\sum_{i=1}^{r} w_i - (\sum_{i=1}^{r} \sqrt{w_i})^2}$$

Sous l'hypothèse d'un modèle méta-analytique fixe décrit par la formule (4.3), la variance de $\hat{\alpha}$ peut être calculée selon la formule suivante :

$$\text{var}(\hat{\alpha}) = \frac{\sum_{i=1}^{r} w_i}{r\sum_{i=1}^{r} w_i - (\sum_{i=1}^{r} \sqrt{w_i})^2}$$

Le test de l'hypothèse nulle selon laquelle l'intercept α soit égale à zéro peut être réalisé en comparant la statistique $\hat{\alpha} / se(\hat{\alpha})$ à celle d'une distribution normale standard.

Les estimations des paramètres $\hat{\alpha}$ et $\hat{\beta}$ peuvent être obtenue par la régression par la méthode des moindres carrés des $\hat{\theta}_i \sqrt{w_i}$ sur $\sqrt{w_i}$ en utilisant, par exemple, PROC GLM du logiciel SAS.

En conclusion, les méthodes proposées ici ne sont pas très puissantes avec les nombres d'essais usuels dans les méta-analyses. Il est donc difficile d'affirmer le biais de publication, et encore plus difficile de le récuser.

1.2. Méthode d'addition des effectifs: « pooling »

Pour résoudre le problème posé par la synthèse des résultats de plusieurs essais, St-Pierre (2001) et Sauvant *et al.* (2005) ont proposé de combiner directement les effectifs et les nombres d'événements de tous les essais, par sommation (parfois appelé en anglais « pooling »). Les effectifs des groupes sont additionnés, ainsi que les nombres d'événements. La comparaison globale et l'estimation de l'effet combiné du facteur étudié se base sur ces totaux.

La variable réponse peut être continue ou discrète. Cependant nous nous intéresserons uniquement au cas de variables réponses continues qui sont la grande majorité des cas en productions animales.

Il y a globalement deux situations, selon que la variable réponse est dépendante d'un facteur qualitatif ou quantitatif.

1.2.1. Cas d'un facteur explicatif qualitatif

Une première façon simple de procéder et de traiter les données en appliquant un modèle statistique d'analyse de variance :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ij}$$

Avec Y_{ij} la variable réponse ;

α_i : l'effet traitement considéré ;

β_j : le facteur expérimentation qui peut être soit fixe, soit aléatoire ;

$(\alpha\beta)_{ij}$ l'interaction entre les effets traitement et expérimentation, fixe ou aléatoire

e_{ij} représente la variabilité résiduelle.

Dans ce modèle les observations peuvent être pondérées ou non pondérées. Des méthodes alternatives ont été proposées pour intégrer ces différents aspects en un seul test global de signification, mais il semble que ces approches soient moins puissantes que le modèle linéaire pondéré ci-dessus (Hedges *et al.,* 1992).

1.2.2. Cas d'un facteur explicatif quantitatif

Dans le contexte de la recherche d'une loi de réponse Y = f (X), St-Pierre (2001) a publié un article qui est considéré comme une référence chez les méta-analystes qui choisissent cette approche pour conduire leur analyse, et qui apporte des détails très importants concernant la méthodologie statistique de cette approche. Cet auteur propose d'ajuster les résultats de n essais (i = 1 à n) et m traitements (j = 1 à m) par un modèle statistique du type analyse de variance-covariance :

$$Y_{ij} = B_o + s_i + B_1 * X_{ij} + b_i * X_{ij} + e_{ij} \qquad (4.11)$$

Avec Y_{ij} la variable expliquée correspondant au traitement j de l'expérience i ;

B_0: « terme constant ou ordonnée à l'origine » générale considérée en effet fixe;

s_i : ordonnée à l'origine du facteur expérimentation i qui peut être soit fixe, soit aléatoire;

B_1 : coefficient de régression général de Y sur X (effet fixe);

X_{ij} : la variable explicative quantitative ;

b_i : effet aléatoire de l'expérience i sur le coefficient de régression de Y sur X ;

e_{ij} représente l'erreur aléatoire.

St-Pierre (2001) a simulé un jeu de données correspondant au modèle (4.11), il a ainsi montré la nécessité de procéder à une analyse de la relation intra-expérience et non globale (c'est-à-dire en intégrant toutes les observations sans distinction). En effet, une approche globale ne permet pas de retrouver les valeurs des paramètres qui ont été choisies pour les simulations des données. Lorsque la pente est calculée intra-essai, elle n'est pas différente de la valeur retenue (b_i centré sur 0) et l'ordonnée à l'origine n'est pas différente de la valeur retenue (s_i centré sur 0).

St Pierre (2001) a, par ailleurs, comparé les résultats obtenus avec un modèle à effet fixe ou aléatoire pour l'effet expériences. Sur l'exemple, la principale différence réside dans le fait que le modèle aléatoire aboutit à des intervalles de confiance plus larges.
En effet, la considération de l' « expérimentation » comme facteur fixe ou aléatoire dépend principalement du choix du méta-analyste d'extrapoler les résultats aux conditions du méta-dispositif uniquement (dans ce cas il est suggéré de choisir un modèle fixe (Sauvant *et al.,*

2005)), ou les généraliser à un champ d'application plus large (dans ce cas le modèle mixte est plus adapté).

D'autre part, s'il y a des différences significatives entre les expériences sur les X, le modèle (4.11) aboutit à une confusion des effets inter et intra-expériences. Ce fait peut aboutir à des interprétations erronées des coefficients de régression dès que la régression inter-expériences diffère de la régression intra-expérience moyenne. Pour éviter cet inconvénient, il convient alors d'adopter une procédure permettant de travailler sur les variables centrées, sauf dans le cas de relations non linéaires.

Dans le cas de relations de nature quadratique, il est envisageable de considérer les valeurs X_{ij} et X_{ij}^2 dans le même ajustement. Dans ce cas il convient aussi d'être très attentif au méta-dispositif des X si le but est de modéliser un effet intra non biaisé par un effet inter-expériences significatif sur les X. Si le terme quadratique en X^2 n'est pas significatif, il doit être retiré de l'équation de régression.

Une autre situation fréquente correspond à celle illustrée dans la Figure 2.3. Dans ces situations, il y a un effet intra-expérience linéaire significatif et une relation globale non-linéaire, cet aspect est considéré dans la méta-régression dans laquelle on considère des facteurs interférents.

Dans le cas d'une relation non-linéaire plus compliquée, c'est-à-dire de degré supérieur à 2, il est envisageable de la subdiviser en segments linéaires successifs (Martin et Sauvant, 2002), ou utiliser d'autres fonctions de régression non-linéaires comme la fonction de régression exponentielle, logistique ou de Gompertz (Trefan *et al.,* 2011).

1.2.3. La pondération des données

Les expérimentations rassemblées au sein d'une méta-analyse sont souvent très diverses par rapport à des critères tels que le nombre d'animaux pris en compte, le dispositif expérimental appliqué, la variation résiduelle après traitement statistique de l'essai. Il est alors logique de chercher à prendre en compte cette diversité. Il convient donc de s'interroger précisément sur le choix du système de pondération des expérimentations indicées par i (i = 1 à n), voire des traitements (groupe ou lots expérimentaux) en méta-analyse.

Globalement deux types de pondérations peuvent être envisagés :

1.2.3.1. Pondérations justifiées par la théorie statistique

Dans le cadre du modèle linéaire généralisé et où les variances des observations sont différentes et connues, les estimateurs du maximum de vraisemblance sont obtenus en pondérant chaque observation par l'inverse de la variance du résultat de l'expérimentation i, soit (n_i/σ^2_i), où ni est le nombre d'observations individuelles dont on a pris la moyenne. D'autres pondérations utilisent l'inverse de la variance résiduelle ($1/\ \sigma^2_i$) ou bien de l'écart type résiduel ($1/\ \sigma_i$). Appliquées telles quelles, ces pondérations présentent l'inconvénient de modifier les valeurs des paramètres (écart type résiduel…) et de rendre difficile l'étude de l'intérêt statistique d'une pondération. Pour éviter cet inconvénient St-Pierre (2001) propose de diviser chaque pondération par la valeur de l'ensemble pour aboutir à des paramètres possédant la même unité et échelle. Cette nécessité dépend du logiciel utilisé, par exemple avec l'option « weight » dans SAS, il y a normalisation automatique des pondérations pour que leur somme soit égale à 1.

1.2.3.2. Pondérations effectuées selon d'autres critères

D'autres critères de pondération sont imaginables, cela peut être par exemple la puissance de l'expérience (c'est-à-dire l'aptitude à mettre en évidence un effet dont l'amplitude est définie *a priori)* voire la durée de l'expérimentation. Il est aussi envisageable de prendre en compte une note d'évaluation globale, partiellement subjective, de la qualité de l'essai décidé après la lecture critique de la publication. Cette qualité doit être évaluée selon une grille élaborée par un ou plusieurs spécialistes du domaine considéré.
D'après les observations de Sauvant *et al.* (2005) en la matière, il semble que l'intérêt de la prise en compte d'un système de pondération des essais diminue assez rapidement lorsque le nombre d'expérimentations considérées est accru**.**

La question se pose aussi de savoir s'il est plus opportun de chercher à pondérer une expérimentation ou bien les traitements qu'elle contient qui correspondent en général aux résultats moyens d'un lot d'animaux. En effet, un lot très hétérogène, non rejeté par un test d'homogénéité des variances par les auteurs d'une publication, peut très bien être jugé, dans un contexte de méta-analyse, comme moins crédible que les autres par rapport à

l'élaboration d'une loi de réponse. Cependant, pour être mise en œuvre, cette démarche suppose la connaissance des variations « intra » de chaque traitement, ou lot, information qui est malheureusement rarement disponible dans les publications.

1.2.4. Méta-régression

Il s'agit de variations inter-expérience des conditions expérimentales qui sont susceptibles de moduler la réponse à un traitement. Un tel facteur peut être de nature quantitative ou qualitative, en outre il n'est pas forcément connu a priori. Dans le premier cas, il convient d'étudier la ou les réponses considérées en fonction des valeurs prises par le facteur interférent (étude d'une interaction si le nombre de degrés de liberté le permet). Il arrive assez souvent que la réponse d'un critère expliqué dépende de la valeur témoin de ce critère ou de celle de la variable explicative. Selon Sauvant *et al.* (2005), lorsque la réponse intra-expérience dépend du niveau de la variable explicative, c'est souvent parce qu'il y a une relation inter-expériences non linéaire qui est globalement confirmée par les évolutions intra-expérience. La Figure 2.3 traduit une telle situation.

Sur ces exemples, l'application du modèle (4.11) incluant un terme quadratique de la covariable X_{ij} aboutit à un ajustement assez précis intégrant l'effet expérience et l'ajustement quadratique.

Si le facteur interférent est de nature qualitative, il convient alors d'étudier les interactions entre la variable réponse et les modalités du facteur. Par exemple, l'effet d'un régime alimentaire peut être différent selon l'état physiologique des animaux qui peut être codé en plusieurs modalités.

1.2.5. Les démarches post-analytiques

Après application d'un modèle statistique d'ajustement des données, il convient de mettre en œuvre différentes démarches post-analytiques. Celles-ci permettent de mieux connaître certaines limites de l'analyse effectuée et de mieux savoir si des analyses complémentaires s'avèrent nécessaires.

La méthode la plus utilisée pour évaluer les résultats de la méta-analyse basée sur la combinaison des effectifs est celle de l'analyse de la structure des variations résiduelles.

Celle-ci consiste à examiner la distribution des résidus (e_{ij}) après analyse. Ceux-ci doivent suivre une loi normale, aspect qui peut être testé à l'aide des méthodes disponibles, test du Chi2, de Shapiro-Wilks et graphiques (QQplot : Figure 2.7). Les écarts « studentisés » trop grands (> 3 ou plus selon le nombre d'observations dans l'étude) peuvent être considérés comme aberrants. Sur ces différents points les principes appliqués ont déjà été fréquemment décrits (Tomassone *et al.,* 1983). Il est nécessaire, dans le cas d'une méta-analyse, d'être vigilent quant au retrait de lots (ou traitements) jugés comme aberrants suite à l'examen des écarts studentisés peut conduire à « mutiler » une expérimentation et obliger ainsi à l'exclure entièrement du procédé d'interprétation. Il faut bien évaluer l'ensemble des conséquences du retrait d'un traitement.

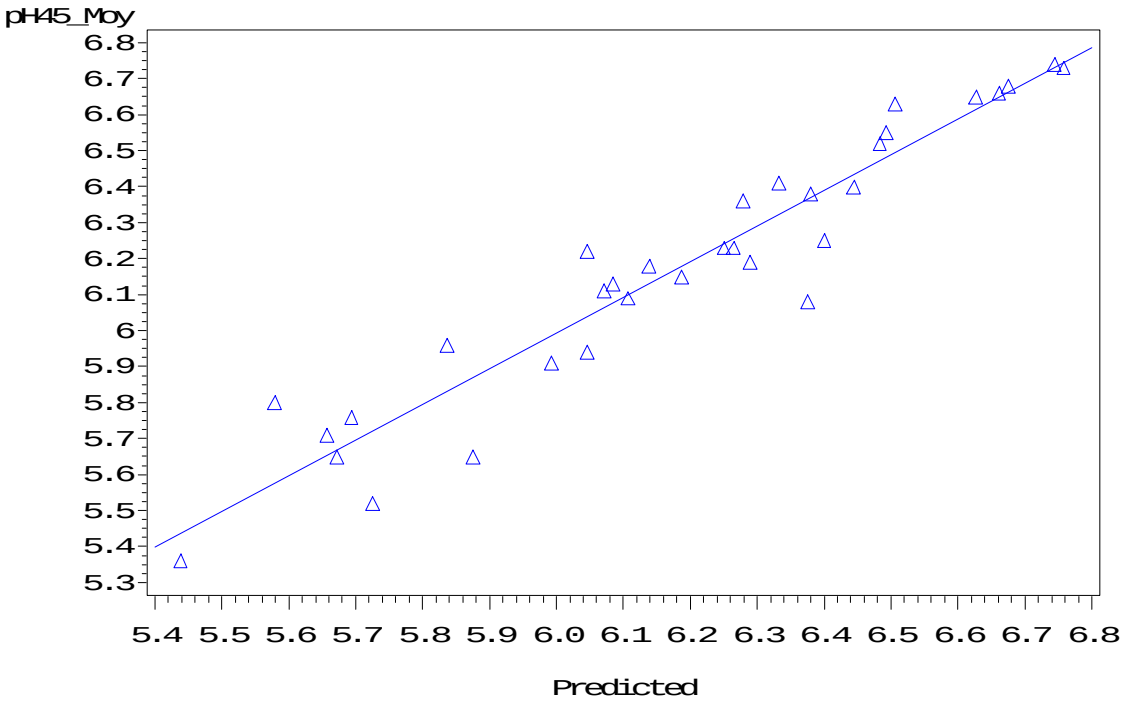


Figure 2.7 - qqplot montrant la distribution des résidus du modèle de régression de l'effet du gène halothane sur le pH45 (Salmi *et al.*, 2010).

Enfin, il est nécessaire d'examiner les éventuelles relations inter- ou intra-expérience qui pourraient apparaître entre les résidus et la (ou les) variable(s) explicative(s).

Lorsque les données sont ajustées par un modèle du type (4.11), il est également possible de chercher à évaluer les expériences sur la base de l'importance de leurs résidus propres. Ainsi la Figure 2.8 indique la distribution des valeurs des écart-types résiduels (σ_i) des différentes expériences consacrées à l'étude de l'influence du résidu analytique 'Fibre au

détergent neutre' qui est une estimation de la teneur en paroi végétale de la ration sur la durée de mastication (Sauvant *et al.,* 2005). Cette distribution est dissymétrique, elle amène, ainsi, à s'interroger sur l'opportunité de conserver les essais présentant une valeur de σ_i supérieure à un seuil fixé par le méta-analyste (par exemple le quantile 0,999 de la loi du chi2 pour les variances). Il est aussi possible d'envisager de refaire l'analyse en intégrant l'inverse de ces valeurs de σ_i comme coefficient de pondération.

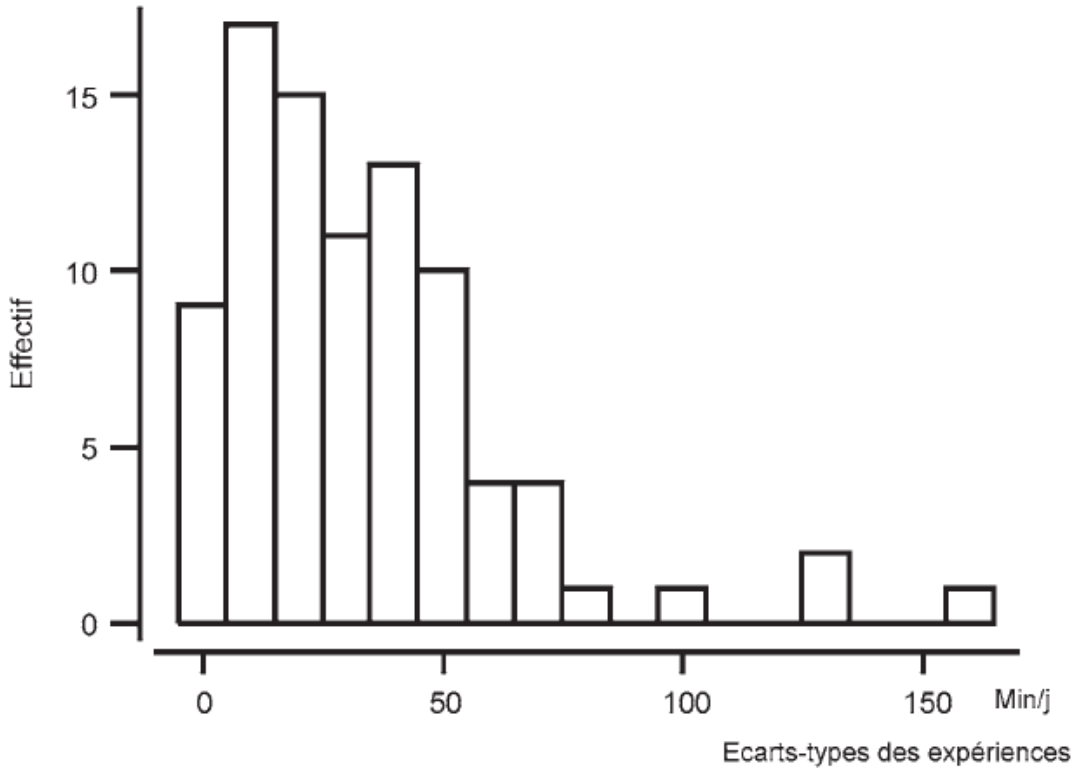


Figure 2.8 - Histogramme de distribution des écarts-types résiduels des différentes expérience (Sauvant *et al.*, 2005).

2. Approche Bayésienne

2.1. Cadre général de la théorie bayésienne

Dans l'approche fréquentiste, les paramètres θ et τ^2 pour lesquels on souhaite réaliser une inférence sont considérés comme des constantes inconnues. Ces paramètres peuvent prendre n'importe quelle valeur dans l'espace du paramètre et les données seules peuvent donner une indication sur la valeur vraie de θ et τ^2 sans jamais néanmoins donner ces vraies valeurs exactement.

Les méthodes fréquentistes, basées sur les propriétés des échantillons aléatoires, permettent d'obtenir donc une estimation ponctuelle ou par intervalle de la vraie valeur de θ et τ^2. Le paramètre est fixe et les données sont aléatoires.

Dans les méthodes bayésiennes (Cox et Hinkley, 1974), on considère que, par exemple, le paramètre θ est issu d'une densité de probabilité $f_\Theta(\theta)$ dont la forme est précisée *a priori* de même que les paramètres de cette densité de probabilité. En revanche, les données sont considérées comme fixes. Les données, combinées à cette information *a priori* vont servir à préciser la densité de probabilité de θ. Cette combinaison d'information se résume dans une densité de probabilité dite *a posteriori*. Cette densité de probabilité est donc conditionnelle aux données *D*. La Figure 2.9 illustre de manière schématique, le principe de l'approche bayésienne.

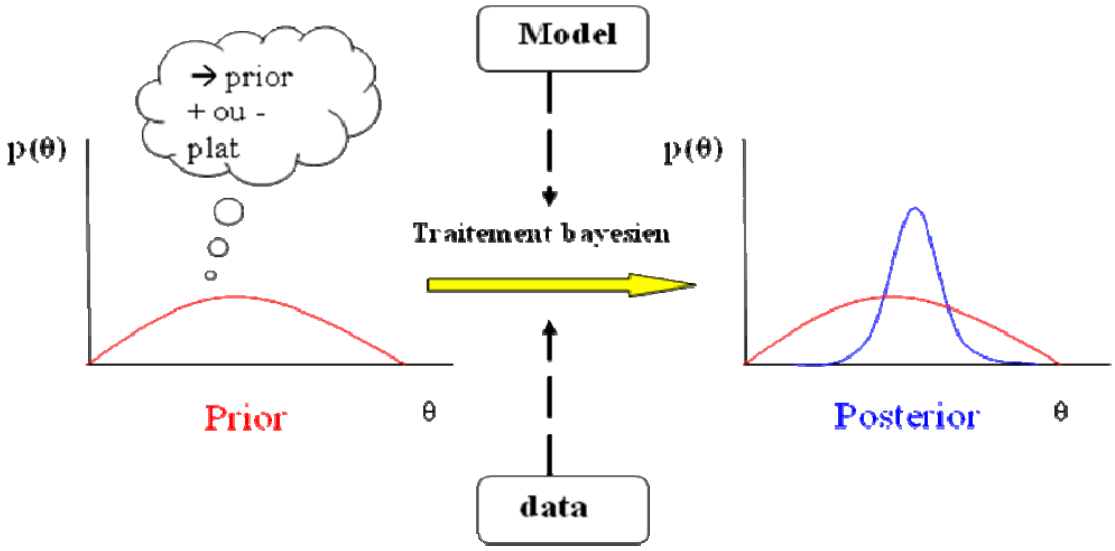


Figure 2.9 - Représentation schématique de la chaine de traitement Bayésien (Ono, 2007).

La méta-analyse bayésienne considère un modèle à effets aléatoires comme celui décrit par la formule (4.11), mais elle permet également de spécifier les distributions *a priori* de θ et τ^2. L'approche bayésienne permet d'incorporer toute la distribution *a posteriori* de τ^2 dans le processus d'estimation de la méta-analyse, plutôt que d'inclure une estimation unique de τ^2. De cette manière, toutes les informations, *a priori* et partir des données, concernant la variabilité entre les études est considérée.

Comme précédemment décrit dans la formule (4.11), le modèle bayésien s'écrit comme suit :

$$\hat{\theta}_i = \theta + \nu_i + \varepsilon_i$$

avec

$$\hat{\theta}_i \sim N(\theta_i, \xi_i^2)$$

et $\theta_i = \theta + \nu_i \qquad \nu i \sim N(0, \tau^2)$

Quand les distributions *a priori* de θ et τ^2 sont ajoutées, le modèle est appelé modèle linéaire hiérarchique bayésien. Ce modèle a été utilisé par plusieurs auteurs en réponse à diverses questions statistiques. Une excellente description de ce modèle, adapté à la méta-analyse, a été réalisée par DuMouchel (1990, 1994a, 1994b) et DuMouchel et Harris (1983).

2.2. Avantages de l'approche bayésienne en méta-analyse

Bien que les résultats obtenus avec l'approche bayésienne puissent parfois être similaires à ceux obtenus par l'approche fréquentiste, l'utilisation de la première en méta-analyse représente quelques avantages dont les principaux sont cités ci-dessous :

1/ l'approche bayésienne appliquée en méta-analyse peut être considérée comme un compromis entre le modèle à effets fixes et le modèle à effets aléatoires. Cette caractéristique est mise en évidence lorsque τ est proche de zéro. Dans ce cas, c'est le modèle à effets fixes qui est utilisé.

2/ une deuxième caractéristique de la méta-analyse bayésienne est que, grâce à la distribution *a posteriori* de τ, l'ensemble des données contribuent à exprimer l'importance relative de toutes les valeurs possibles de τ. Ces valeurs sont pondérées par leur probabilité *a posteriori* d'être incluses dans les estimations finales, qui sont des prévisions vis-à-vis de la distribution *a posteriori* de τ. Cela semble être raisonnable et, éventuellement, préférable à la considération d'une estimation unique de τ.

3/ D'un point de vue pratique, la plus grande flexibilité de la méta-analyse bayésienne, c'est qu'elle permet d'intégrer des informations concernant les principaux paramètres du modèle bien avant que les données ne soient considérées. En outre, il est important que les distributions *a priori* soient modifiées de manière à prendre en considération les informations concernant les études, leur variabilité, et les valeurs plausibles des paramètres du modèle à estimer (effet traitement commun et variance inter-études,…).

4/ un avantage important du logiciel dédié au calcul bayésien des estimations *a posteriori* des distributions, c'est que, quand différents *priors* sont considérés, les simulations selon les chaînes de Monte Carlo n'ont pas besoin d'être réinitialisées, et une simple repondération des échantillons déjà disponibles est suffisante.

En témoignage de son intérêt croissant, de plus en plus de chercheurs choisissent l'approche bayésienne au lieu de celle fréquentiste pour réaliser leurs études méta-analytiques dans divers domaines scientifiques, notamment, dans le domaine médical (Sung *et al.,* 2006 ; Jansen *et al.,* 2008), environnemental (Helser et Lai, 2004 ; Jonsen *et al.,* 2003), en génétique (Wood *et al.,* 2006 ; Liang et Kelemen, 2008), ainsi qu'en productions animales (Lean *et al.,* 2009 ; Salmi *et al.,* 2010).

Enfin, il pourrait être important de mentionner une extension de la méthode bayésienne pour la méta-analyse, qui modifierait la façon dont les études sont incluses dans l'analyse (Verdinelli *et al.,* 1998). En effet, outre la définition des distributions *a priori* de l'effet traitement commun θ et de la variance inter-études τ^2, qui expriment les connaissances actuelles sur les valeurs plausibles de ces paramètres d'intérêt et sur les similitudes entre les études, il faut noter que ce sont des paramètres simples, qui peuvent ne pas être en mesure de saisir les différences subtiles. Afin de tenir compte de cette variabilité, il est possible de considérer des termes supplémentaires à chaque variance résiduelle s^2_i de chaque étude. Ces termes peuvent attribuer des poids relatifs à la qualité de chaque étude comparée aux autres études, avec pour effet de réduire ou augmenter la variance résiduelle de chaque étude conformément à ces « variables de qualité ».

Partie 2.4

Applications de la méta-analyse en sciences animales

Quelques journaux sont spécialisés dans les revues, par exemple *Animal Health Research Reviews* et *Nutrition Research Reviews*. Cependant, même les revues bibliographiques critiques contiennent un élément de subjectivité, qui peut induire en erreur les chercheurs sur des questions importantes. La méta-analyse s'est donc avérée le meilleur outil pour réduire une telle évaluation subjective et la remplacer par une analyse statistique quantitative et rigoureuse des données recueillies à partir des expériences existantes. Par ailleurs, les incohérences des résultats expérimentaux en sciences animales induisent des difficultés dans l'interprétation de ces résultats. On pointe généralement du doigt le manque de puissance statistique (Jennions et Møller, 2003) et parfois à un manque d'indépendance entre les individus qui sont souvent des animaux sociaux élevés en groupe (Phillips, 1998, 2002).

Dans le domaine des sciences animales, une recherche menée par Phillips (2005) sur la base de données « Web of Science » a permis de recenser 74 méta-analyses publiées dans le domaine de l'expérimentation animale, dont 47 ont été menées sur des expériences incluant des modèles animaux de maladies humaines, 7 sur la biologie évolutionnaire, 6 sur la production animale et 5 sur les sciences vétérinaires. Ces publications ont commencé par un nombre modeste en 1993, et ce nombre a considérablement augmenté entre 2000 et 2005 pour atteindre les 27 méta-analyses en 2004. La Figure 2.10 permet de se rendre compte de l'importance croissante de ce type d'approche dans le domaine scientifique, principalement en psychologie et en médecine.

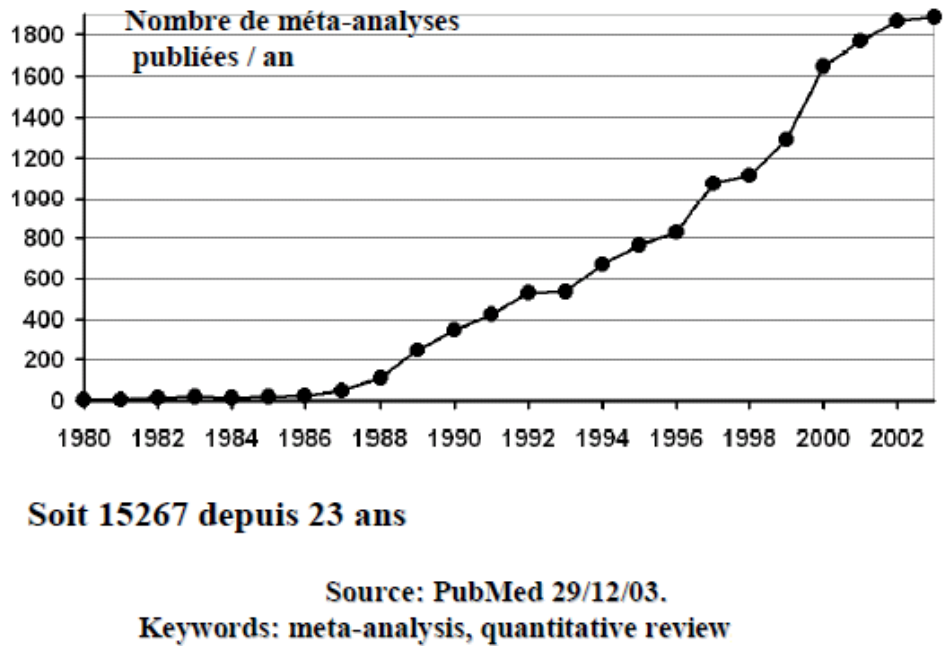


Figure 2.10 - Evolution de la « pénétration » des méta-analyses dans les publications scientifiques (Sauvant *et al.*, 2005).

En méta-analyse, une moyenne d'une expérimentation ou d'un traitement est souvent l'unité expérimentale, à la place de l'animal, qui est normalement le répliquât dans un essai randomisé contrôlé. Cette fonction permet d'élargir la population de base, qui peut donc contenir des animaux de différentes races, différents âges, et parfois même d'espèces différentes. Ainsi, les résultats peuvent être extraits d'une grande variété de conditions et avec une plus grande confiance par rapport aux résultats d'un nombre limité d'expériences isolées.

L'hétérogénéité des dispositifs expérimentaux est l'une des principales contraintes des méta-analyses. Une autre difficulté que confronte le méta-analyste est celle de décider quelles sont les expériences qui peuvent être introduites dans le modèle statistique et celles qui devraient être rejetées. La méta-analyse offre la possibilité de tester l'impact des différentes expériences et de décider *a posteriori* si les résultats de certaines doivent être exclus.

Une bonne application des étapes précédemment définies de la méta-analyse est essentielle car les résultats qui en découleront doivent être considérés comme définitifs en comparaison avec les études individuelles. Cependant, les méta-analyses sont parfois critiquées en raison de l'utilisation de modèles inappropriés, en particulier les modèles linéaires (Cole *et al.,* 2003), qui conduit à fournir des conclusions inappropriées. Notons que la méta-analyse possède un potentiel particulier quand les variations entre les sujets sont élevées, alors que les expérimentations individuelles ne doivent pas avoir nécessairement une puissance statistique élevée pour fournir des résultats fiables (Jennions et Møller, 2003).

Ci-dessous sont décrits quelques exemples d'application de la méta-analyse dans trois principaux domaines de la production animale où la méta-analyse s'est confirmée comme une stratégie statistique très efficace. Il s'agit du domaine de la nutrition animale, la détection de QTL et de l'étude des facteurs influant la qualité des produits.

1. Méta-analyse appliquées en nutrition animale

Compte tenu de l'émergence du nouveau paradigme des «lois de réponses multiples aux pratiques» (Sauvant, 1992, 1999: réponses à des critères d'efficacité alimentaire, de qualité des produits élaborés, d'impact sur l'environnement, sur le bien-être et la santé des animaux), les méta-analyses peuvent permettre de progresser significativement. C'est principalement pour cette raison qu'elles sont de plus en plus fréquemment appliquées dans

les domaines de la nutrition et de l'alimentation animale. Par exemple, elles ont été appliquées ces dernières années pour quantifier les réponses physiologiques ou zootechniques des ruminants à différents types d'amidon (Offner et Sauvant, 2004), à des niveaux variables d'apports azotés (Rico-Gomez et Faverdin, 2001), à des apports de différents types de matières grasses (Bas et Sauvant, 2001 ; Schmidely et Sauvant, 2001), ainsi qu'à la défaunation du rumen (Eugène *et al.,* 2004). Elles ont également été pratiquées pour déterminer la dégradabilité moyenne *in sacco* de l'amidon des aliments (Offner *et al.,* 2003) ou pour expliquer et prédire les flux de phosphore chez les ruminants (Bravo *et al.,* 2003).
Ci-dessous on cite de manière plus détaillée trois de ces exemples d'application de la méta-analyse en nutrition animale.

1.1. Méta-analyse des expérimentations déterminant l'effet de la sous-alimentation des vaches laitières sur la production et la composition du lait (Phillips, 1991)

Le but de cette étude était de calculer l'effet de la réduction proportionnelle de la consommation d'herbe sur le changement proportionnel de la production laitière, de sa composition (contenu protéique, la valeur énergétique du lait) et le changement du poids vif en utilisant les données de 34 expérimentations publiées au sujet des vaches laitières nourries en herbe coupé.

Les résultats obtenus ont montré que le degré de restriction de la consommation d'herbe était positivement corrélé avec la réduction de la production laitière, le contenu protéique, la valeur énergétique du lait et le produit de cette dernière avec le poids vif (valeur énergétique du lait x poids vif). Le ratio de la variation de la valeur énergétique du lait par rapport au poids vif a été lié au degré de restriction, ainsi, de sévères restrictions affectaient de manière plus importante la production laitière comparée au poids vif.
Les limitations de cette étude étaient :

- premièrement, le fait que chaque étude contribuait de manière égale dans le modèle, compte tenu du nombre d'animaux et des autres facteurs ceci peut influencer la qualité de l'étude. Aucune pondération n'a été possible à la base de la variance car la majorité des études incluses ne l'ont citée sous aucune forme,

- deuxièmement, aucune analyse de sensibilité n'a été effectuée, ainsi aucun intervalle de confiance n'a pu être déterminé. Cependant, cette étude est l'une des toutes premières dans ce domaine.

1.2. Méta-analyse des expérimentations déterminant la présence du cadmium dans le foie et le rein des moutons (Prankel *et al.*, 2004, 2005)

Un modèle d'effets aléatoires a été construit pour intégrer les résultats de 21 essais aléatoires contrôlés dans lesquels des moutons ont été soumis à des régimes à concentrations élevées en cadmium. Les concentrations du cadmium ont été mesurées dans le foie et le rein des animaux après abattage.

La concentration du cadmium dans l'alimentation animale et la durée d'exposition à cet élément étaient des prédicteurs significatifs de la concentration en cadmium accumulée dans le foie et les reins. Son accumulation est plus élevée quand le cadmium présent dans l'alimentation animale est d'origine organique plutôt que d'origine inorganique.

Cette méta-analyse a pu fournir des informations à partir des comparaisons inter-expérimentations. Avant cette publication, il n'existait aucune évidence concernant l'augmentation de l'absorption du cadmium organique en comparaison avec la forme inorganique. Dès lors, une étude contrôlée a été réalisée pour vérifier les résultats de cette méta-analyse (Phillips, 2005).

1.3. Méta-analyse sur la caractérisation de la valeur énergétique des rations pour ruminants d'après le flux énergétique portal net (Bermingham *et al.*, 2008)

Réalisés dans le cadre d'un programme de recherche sur la caractérisation de la valeur énergétique des rations pour ruminants d'après le flux énergétique portal net, les travaux présentés dans cette étude portaient sur la relation entre la consommation de matière sèche et de matière organique digestible, d'une part, et, d'autre part, le débit sanguin portal et le flux portal net d'oxygène, d'acides gras volatils, de β-hydroxybutyrate, de glucose et de lactate, chez le mouton et le bovin en croissance.

Afin de mettre en évidence ces relations, une méta-analyse a été réalisée par Bermingham *et al.* (2008). Le protocole adopté par les auteurs consistait en deux étapes principales : d'abord, la construction d'une base de données regroupant les données pertinentes relatives aux paramètres étudiés, deuxièmement, le choix de la méthode statistique appropriée pour analyser l'ensemble des données. La base de données construite dans le cadre de cette étude, appelée FLORA (FLux de nutriments dans les ORganes et les tissus des Animaux ruminants) est une compilation exhaustive des données publiées qui portaient sur le changement de la consommation d'aliments à teneur constante en énergie métabolisable dans des groupes expérimentaux (Vernet et Ortigues-Marty, 2006). Les groupes expérimentaux auxquels correspondaient les ensembles de données choisis étaient constitués principalement de moutons adultes (n = 17); il y avait aussi neuf groupes de bovins en croissance et un groupe de vaches laitières en lactation. L'approche méta-analytique choisie par les auteurs était celle décrite par Phillips (2005), Sauvant *et al.* (2005) et St-Pierre (2001), et qui consistait à combiner l'ensemble des données et de quantifier l'effet des facteurs étudiées en utilisant une analyse de covariance (ANCOVA). Selon les résultats obtenus, l'amplitude des équations différait considérablement d'une espèce à l'autre, et il se peut que des différences de rations et/ou d'état physiologique existent aussi entre les groupes. La consommation de matière sèche et la consommation de matière organique digestible sont deux bons prédicteurs de l'influence que peut avoir un changement de consommation sur le flux portal net des métabolites énergétiques. Ce travail a ouvert la voie pour la réalisation de futures études nécessaires pour déterminer jusqu'à quel niveau les résultats quantitatifs obtenus chez les ovins pouvaient être étendus aux bovins.

2. Méta-analyse appliquée à la détection de QTL

Les avancées expérimentales de la cartographie génétique en utilisant des marqueurs génétiques pendant les années 80 ont considérablement augmenté le potentiel de la génétique quantitative en identifiant des régions du génome dont le polymorphisme affecte les variations de caractères quantitatifs appelées QTL (acronyme anglais pour «Quantitative Trait Locus»).

Sur le plan théorique et statistique, le principe de la détection de QTL a suscité un vif intérêt, et de nombreux développements méthodologiques ont vu le jour dans les années 90 afin de faciliter la localisation de QTL dans les pedigrees de plusieurs espèces. Bien que de

nombreuses méthodes puissantes ont été développées pour résoudre les problèmes de la détection de QTL, le nombre limité d'individus recombinants disponibles dans un dispositif classique utilisé dans la cartographie de QTL (Kearsey et Pooni, 1996) qui est principalement dû au faible nombre de générations et d'individus étudiables, conduit essentiellement à une localisation approximative du QTL.
En définitive, même les dispositifs expérimentaux les plus « précis » ne renseignent que sur un sous-ensemble de QTL et de configurations alléliques à ces QTL.

Plusieurs auteurs (Kearsey et Farquhar, 1998 ; Xu, 2003) ont souligné que la détection de QTL est statistiquement biaisée à la fois par rapport au nombre réel de QTL, qui est sous-estimé puisque seuls les quelques QTL à effets importants sont détectés, et d'autre part par rapport aux effets des QTL qui sont biaisées par des valeurs plus grandes car seuls les effets significatifs sont rapportées (un phénomène désigné généralement sous le nom de l'effet Beavis (Beavis, 1994). Malgré ces limitations, les études de cartographie de QTL sont devenues monnaie courante et ont grandement contribué à améliorer les connaissances sur le déterminisme génétique des caractères complexes.

Ainsi, depuis la première publication de localisation de QTL à l'aide de données moléculaires (Paterson *et al.,* 1988), de plus en plus d'espèces et de caractères ont été étudiés et une grande partie de ces résultats est devenue accessible dans des bases de données publiques. Un des principaux objectifs de ces bases de données était d'aider les chercheurs à comparer les résultats de différentes études de QTL, pour étudier la précision de la localisation des QTL en fournissant à la fois congruence des lieux de QTL ainsi que la description standard de ces résultats et les dispositifs expérimentaux qui y sont liés.

Des analyses comparatives des études de QTL ont été effectuées par plusieurs auteurs (Khavkin et Coe, 1997, 1998; Lin *et al.,* 1995).
Cependant, ces études sont souvent basées sur de simples statistiques descriptives. Cette lacune dans les études de précision de QTL a été partiellement résolu par Goffinet et Gerber (2000) qui ont proposé une approche originale basée sur la méta-analyse comme stratégie pour combiner les résultats de plusieurs études de QTL. La pertinence de la méta-analyse en génétique et a été traitée par plusieurs auteurs durant les deux dernières décennies (Allison et Heo, 1998 ; Lohmueller *et al.,* 2003; Van Zandt et Mopper, 1998 ; Vollestad *et al.,* 1999).

La méthode de Goffinet et de Gerber (2000) permet d'évaluer le nombre de positions « vraies » de QTL qui sont à la base de la distribution des QTL observés sur le génome. Cette approche a été mise en œuvre dans BioMercator par Arcade *et al.* (2004). Ce logiciel permet d'abord à l'utilisateur de fusionner les marqueurs et les QTL dans une carte consensus par le biais d'une procédure de projection itérative. Ensuite l'algorithme conçu par Goffinet et Gerber (2000) peut être appliqué pour évaluer la vraisemblance des combinaisons possibles de QTL observés dans des groupes de 1, 2, 3 ou 4. Ensuite, le nombre optimal de combinaisons est sélectionné sur la base d'une adaptation du critère d'information d'Akaike (AIC).
Bien qu'elle soit originale, cette approche souffre de l'absence d'indicateurs d'évaluation de la qualité de la carte consensus et du nombre limité de combinaisons de QTL qui peuvent être étudiées.

Basé sur de récents développements méthodologiques, Veyriéras (2006) a développé dans le cadre de son travail de thèse le logiciel MetaQTL afin de réaliser des méta-analyses de QTL plus élaborées.

La conduite d'une méta-analyse par le biais de Meta-QTL consiste en quatre principales étapes:
1/ Construction d'une base de données des études incluses qui sera ensuite validée par le logiciel.

2/ Construction d'une carte consensus des marqueurs: la stratégie de MetaQTL consiste à intégrer toutes les cartes des marqueurs génétiques dans une carte consensus dans laquelle l'ensemble des marqueurs sont triés et positionnés. Avant de procéder à la construction de la carte consensus, MetaQTL permet aux utilisateurs de calculer certaines statistiques utiles pour évaluer la qualité de l'ordre des marqueurs entre les expériences de cartographie.

3/ Projection des QTLs sur la carte : les QTL sont généralement projetés par simple homothétie. Cependant, quand il y a des incohérences dans l'ordre ou la distance des marqueurs entre les cartes incluses, il y a un risque de projection incorrectes des QTL. Pour éviter ce problème, MetaQTL propose un algorithme dynamique qui permet une projection optimale dans ce genre de situations (Figure 2.11).

4/ Clusterisation des QTL :MetaQTL met en œuvre deux types d'algorithmes de clusterisation. Tout d'abord, une méthode basé sur un modèle de mélange gaussien (Dempster *et al.,* 1977) qui peut être appliquée pour évaluer la probabilité de toutes les combinaisons possibles des QTL. Deuxièmement, l'algorithme standard de classification hiérarchique, soit par une stratégie de groupe de liaison moyenne ou par l'algorithme de Ward (Ward, 1963).

Les applications de la méta-analyse dans la détection des QTL dans le domaine de productions animales se sont beaucoup inspirées des travaux de Goffinet et Gerber (2000) et Veyriéras (2006) qui ont été obtenus chez les végétaux. Ci-dessous deux exemples d'applications de méta-analyses chez les bovins et chez les porcs sont détaillés.

2.1. Cartographie de QTL chez les bovins laitiers (Khatkar *et al.,* 2004):

A partir d'un examen approfondi des études publiées de QTL chez les bovins laitiers, Khatkar *et al.* (2004) ont préparé un projet de carte-QTL en ligne pour des caractères de production laitière. La plupart des publications (45 parmi les 55 consultées) étudient les QTL pour les caractères majeurs de la production laitière (production de lait, le rendement en protéines et matière grasse, et la concentration de protéines et de matières grasse (%) et la numération de cellules somatiques. Relativement peu d'études ont analysé l'effet de QTL sur des caractères plus complexes tels que les mammites, la fécondité et la santé des animaux.

La carte consensus obtenue a mis en évidence quelques régions chromosomiques avec une forte densité de QTL, ainsi qu'un nombre important de QTL positionnés à la même localisation au niveau du chromosome. Pour extraire le maximum d'informations à partir de ces publications, une méta-analyse a été menée par Khatkar *et al.* (2004) afin d'obtenir une carte consensus des localisations des QTL ainsi que l'effet de substitution allélique de ces QTL.

L'approche méta-analytique utilisée par les auteurs est basée sur celle décrite par Goffinet et Gerber (2000) pour la localisation de QTL. En effet, sur la base de l'ensemble des études incluses étudiant un QTL précis sur un chromosome particulier, l'estimation du nombre de QTL est effectuée selon la méthode des moindres carrés ou le critère d'Akaike. Après l'estimation de la position des QTL consensus, une deuxième étape d'étude de l'effet de ces QTL par la méthode des « effect-size » est réalisée.

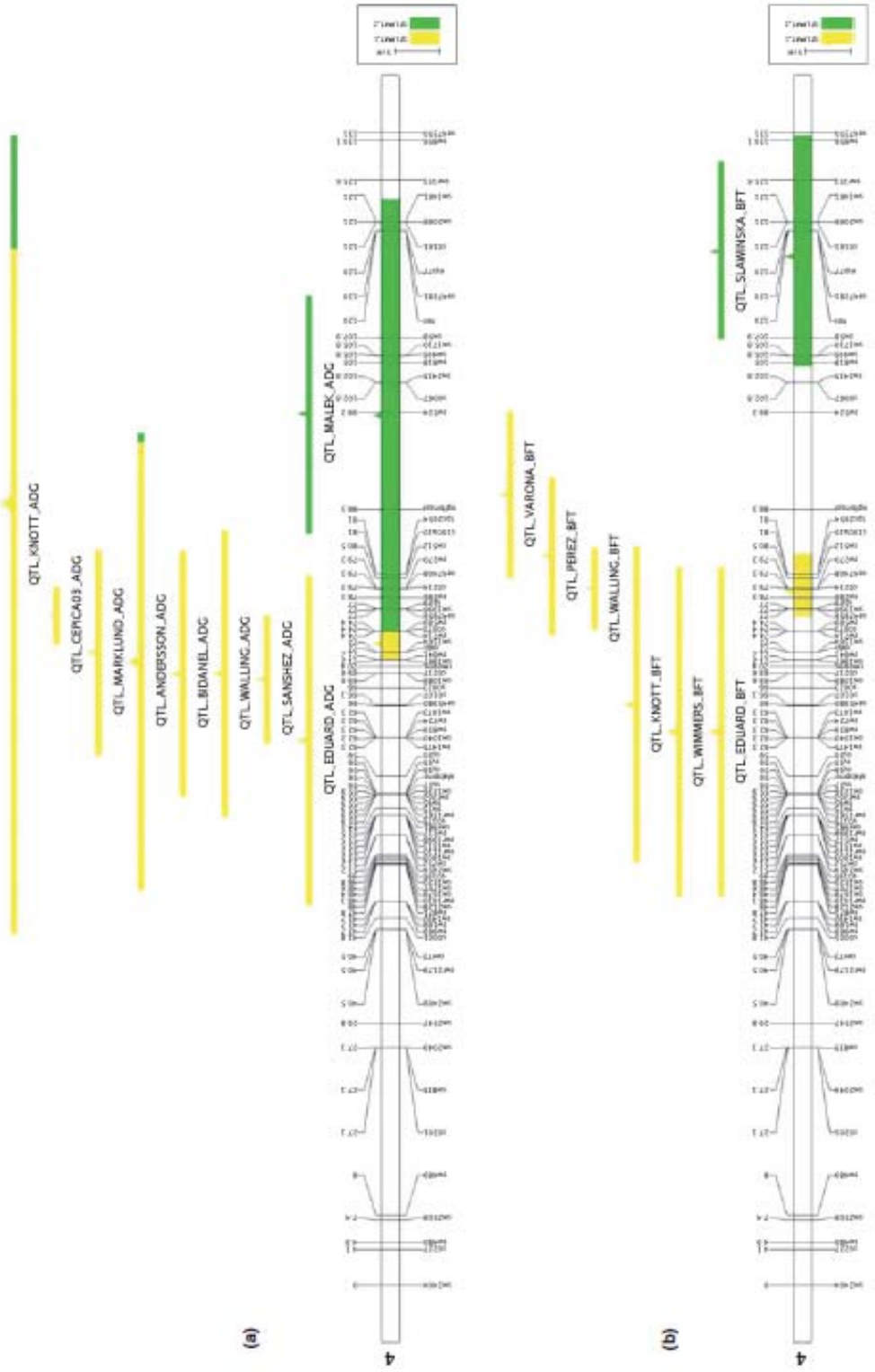


Figure 2.11 - Visualisation des résultats de la méta-analyse des QTL du gain moyen quotidien (a) et l'épaisseur du lard dorsal (b) sur le chromosome SSC4 chez le porc. Chaque barre colorée représente un QTL individuel, et sa longueur représente son intervalle de confiance. Les positions individuelles des QTL sont représentées par l'estimation de leur position la plus probable (triangles). Chaque méta-QTL et son intervalle de confiance sont indiqués sur SSC4 par des segments colorés (Veyriéras, 2006).

Les résultats de cette méta-analyse ont mis en évidence un certain nombre de régions consensus, les plus importantes sont deux régions distinctes qui affectent la production de lait et qui se retrouvent sur le chromosome 6 à 49 cM et 87 cM expliquant 4,2% et 3,6% de la variance génétique de production laitière, respectivement. La première de ces régions, qui se trouve près du marqueur BM143, influence cinq différents caractères de la production laitière : teneur en protéines, taux de protéines, teneur en matière grasse, taux de matière grasse, ainsi que le rendement du lait.

2.2. Méta-analyse des résultats de Cartographie de QTL sur le chromosome 4 chez le porc (Silva *et al.,* 2011)

Chez le porc, la détection et l'identification de QTL bénéficient d'un intérêt particulier pour leurs avantages potentiels et leur utilisation dans les programmes d'amélioration génétique (Rothschild et Plastow, 2007). La première analyse réussie de détection de QTL chez le porc a été réalisée par Andersson *et al.* (1994) qui a révélé la localisation de QTL majeurs sur le chromosome 4 qui affectent la longueur de l'intestin grêle, l'épaisseur du lard dorsal et la croissance. A partir de ces résultats, un grand nombre d'études analysant les QTL liés à des caractères de croissance, de carcasse, de qualité de viande, de reproduction et de résistance aux maladies, ainsi que d'autres caractères ont été publiées (Bidanel et Rothschild, 2002; Rothschild *et al.,* 2007).

Les résultats de ces études sont disponibles en ligne sur une base de données QTL du porc ((http://www.animalgenome.org/QTLdb/pig.html, Hu *et al.,* 2005).
Selon Rothschild *et al.* (2007), chez le porc, la zone à plus grande densité de QTL se trouve au niveau du chromosome 4. Le chromosome 4 regroupe un grand nombre de résultats similaires parmi les études de QTL réalisées (Andersson *et al.,* 1994; Knott *et al.,* 1998; Milan *et al.,* 1998; Moser *et al.,* 1998; Walling *et al.,* 1998; Wang *et al.,* 1998; De Koning *et al.,* 1999; Marklund *et al.,* 1999; Cepica *et al.,* 2003; Geldermann *et al.,* 2003).

A partir de ces multiples analyses, il paraît utile de déterminer si tous ces résultats indépendants fournissent, au niveau de la même région d'un chromosome particulier, de multiples découvertes concernant la position d'un seul QTL ? ou bien s'agit-t-il de plusieurs QTL dans des populations différentes?

La plupart des études de QTL chez le porc ont été basées sur des populations individuelles ou, dans certains cas, sur une analyse combinée de données brutes provenant d'un nombre limité d'études (Walling *et al.,* 2000; Kim *et al.,* 2005; Guo *et al.,* 2008), ce qui rend l'étude de Silva *et al.* (2011) la première méta-analyse combinant les résultats d'études indépendantes de détection de QTL chez le porc.

Le but de cette étude était d'affiner le nombre de positions sous-jacentes estimées des QTL localisés au niveau du chromosome 4 et de réduire leur intervalle de confiance en combinant les résultats de 25 expériences indépendantes. Ce travail a été réalisé selon plusieurs étapes : 1/ une méta-analyse a été effectuée pour les traits individuels: le gain quotidien moyen et l'épaisseur du lard dorsal. 2/ Une deuxième méta-analyse a été réalisée pour les trois caractères qui affectent le poids de la longe: la superficie de la coupe transversale du muscle dorsal, la longueur de la carcasse et le poids du muscle dorsal. 3/ Un ensemble de 78 QTL ont été sélectionnés sur la base de 20 caractères qui pouvaient être attribués à l'une des trois grandes catégories suivantes la carcasse, l'engraissement ou la croissance. Toutes les analyses ont été effectuées selon le protocole décrit par Veyriéras (2006) en utilisant le logiciel Meta-QTL.

Pour chaque analyse, le nombre de méta-QTL identifiés était inférieur au nombre de QTL initial. Cette réduction du nombre de QTL variait entre 71% to 86% du nombre de QTL total avant la méta-analyse. En outre, la méta-analyse a permis de réduire les intervalles de confiance des QTL de près de 85% comparativement aux estimations individuelles des QTL. La réduction de l'intervalle de confiance était plus importante quand un grand nombre de QTL indépendants a été considéré dans la méta-analyse.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude indiquent que la méta-analyse représente une stratégie efficace permettant de raffiner le nombre de positions estimées de QTL lorsque ces estimations sont disponibles dans plusieurs populations et proviennent de différentes expériences. En guise de perspective, Silva *et al.* (2011) suggèrent d'utiliser la méta-analyse pour de futures études ciblant la sélection de gènes candidat pour des variations de caractères.

3. Méta-analyse appliquée en production et qualité des produits animaux

Les applications de la méta-analyse en production et qualité des produits animaux sont moins nombreuses comparativement à celles publiées dans le domaine de la nutrition animale. Ceci peut être expliqué par le fait que la plupart des expériences dédiées à ce type de caractéristiques chez les animaux en croissance considèrent un nombre limité de facteurs et les dispositifs expérimentaux entre les études sont très hétérogènes ce qui entrave la conduite d'une méta-analyse car le nombre des études à combiner se révèle assez limité pour une inférence statistique des résultats à d'autres populations. Néanmoins, plusieurs chercheurs ont choisi la méta-analyse pour leurs études de qualité de produits, principalement dans les études de la qualité de carcasse (McPhe *et al.,* 2006 ; Wood *et al.,* 2006 ; Schreurs *et al.,* 2008). Ci-dessous, deux exemples de méta-analyses de qualité de viande bovine sont cités. La première étude est basée sur la méthode du « pooling», alors que la seconde utilise l'approche bayésienne pour la modélisation des «effect-size».

3.1. Evolution des caractéristiques musculaires bovines avec l'âge selon le muscle et le type d'animal (Schreurs *et al.*, 2007)

L'objectif de cette étude était de développer un modèle pour prévoir l'évolution des caractéristiques musculaires bovines en fonction du type d'animal (sexe, race) et du type de muscle. Pour cette question Schreurs *et al.* (2007) ont choisi l'approche par méta-analyse pour son avantage de permettre l'intégration d'un grand nombre de données issues de nombreuses expériences disponibles avec plusieurs niveaux de facteurs.

Le grand nombre d'animaux inclus dans le dispositif de la méta-analyse augmente la probabilité que les inférences faites soient représentatives des lois biologiques impliquées, d'où le choix de la méthode «pooling» comme approche méta-analytique.

Selon les auteurs, cette étude permet enfin d'avancer des hypothèses utiles pour la construction d'un modèle prédictif du développement des caractéristiques musculaires dans les différentes populations bovines françaises. Afin de répondre à ces objectifs, les auteurs ont qui ont étudié les caractéristiques musculaires de bovins en fonction du sexe et de la race

pour différents muscles. Une base de données a été construite avec 2 395 échantillons de muscle *longissimus thoracis* (LT), *semitendinosus* (ST) et *triceps brachii* (TB) de taurillons ou de boeufs (< 34 mois d'âge) des races Aubrac, Blonde d'Aquitaine, Charolaise, Limousine, Montbéliard et Salers. Les caractéristiques étudiées étaient la surface moyenne des fibres, les activités enzymatiques de l'isocitrate déshydrogénase (ICDH, oxydative) et de la lactate déshydrogénase (LDH, glycolytique), les concentrations en collagène total et insoluble et les concentrations en lipides intramusculaires totaux.
Le modèle utilisé était un modèle linéaire mixte dans lequel le facteur « expérience » était considéré comme facteur aléatoire. L'éventuelle interaction de l'expérience avec le facteur fixe n'a néanmoins pas pu être explorée car tous les niveaux des effets fixes n'étaient pas présents dans chaque expérience.

Cette méta-analyse a mis en évidence les effets âge, muscle, castration et race sur les caractéristiques musculaires. Le type de muscle semble avoir une grande influence sur le développement de ses caractéristiques chez les bovins. Le sexe ou la race semblent des facteurs de moindre importance. Cette analyse a également indiqué que pour la construction d'un modèle prédictif les muscles devront être considérés individuellement, parce que chaque muscle se développe d'une façon différente. Bien que le type de muscle ait la plus grande influence, il y a un effet notable de la castration et de la race sur les évolutions des activités métaboliques et de la concentration en collagène. Ceci indique, que pour les futures analyses non linéaires, les effets sexe et race devront aussi être différenciés.

3.2. Etude par méta-analyse de l'effet du marqueur de la Thyroglobuline sur la caractère « persillé » de la viande bovine (Wood *et al.*, 2006)

Par le biais de la méta-analyse, cette étude avait pour objectif d'étudier l'association entre le polymorphisme du gène Thyroglobulin (TG5) et le caractère "persillé" chez les bovins. La recherche bibliographique a révélé l'existence de 14 études indépendantes fournissant les estimations de l'association entre TG5 et le caractère "persillé". Chacune de ces études est basée sur un nombre relativement restreint d'animaux et une diversification des méthodes de mesure du caractère étudié. Ces deux contraintes ont été résolues par le choix de la méthode des «effect-size» qui permet par la voie de la standardisation des données incluses dans la méta-analyse de mélanger des mesures prises selon des échelles différentes entre les études. Le choix du modèle bayésien hiérarchique par Wood *et al.* (2006) a été justifié par le

faible nombre de données incluses dans le dispositif, et la flexibilité de cette approche qui offre la possibilité de tester plusieurs hypothèses dans le cadre de l'analyse de sensibilité (choix des distributions *a priori* des paramètres à estimer, contribution de certaines études dans l'estimation de l'effet commun, …). Les résultats obtenus dans le cadre de cette méta-analyse confirment l'existence d'une association entre le marqueur *TG5* et le caractère «persillé», et soulignent les avantages que représentent le modèle hiérarchique bayésien, comparativement à l'approche fréquentiste, par rapport à la résolution des problèmes d'hétérogénéité entre les études et le biais de sélection qui sont deux problèmes majeurs de la méta-analyse.

Conclusion

Les méta-analyses de données de la littérature sont un outil utile quand des études de bonne qualité n'ont pu montrer une différence significative par manque de puissance et/ou parce que les effets trouvés étaient contradictoires.

Cependant, il faut insister sur les points pratiques suivants:

- Le fait qu'il y ait toujours un biais de sélection d'études lié à la non publication d'études non significatives ce qui doit conduire à être vigilent quant à l'interprétation des résultats.
- Une méta-analyse a pour base, ce qui la différencie des « revues de la littérature », une analyse critique et argumentée de la méthodologie de chaque étude, ceci afin de justifier les inclusions et les non inclusions d'études. L'étude est à la méta-analyse ce que l'individu est à l'essai. Donc la méta-analyse sur données de la littérature n'est pas un mélange aléatoire d'analyses de la littérature. Cependant, l'inclusion d'études dans une méta-analyse ne peut pas être aussi stricte que celle des individus dans les essais car il est rare de trouver deux essais dont les critères d'inclusion et de non inclusion et le traitement sont identiques.
- L'hétérogénéité doit toujours être prise en compte, même quand elle n'est pas significative car elle dénote des différences importantes entre études. Donc s'il y a hétérogénéité, il faut réanalyser ces études avec des experts pour détecter les causes d'hétérogénéité et savoir si on conserve toutes les études dans la méta-analyse. Cette expertise peut permettre de mettre en évidence des spécificités méthodologiques, ce qui

est important dans la décision.

En conclusion, on pourrait dire des méta-analyses : « à utiliser avec compétence et modération » et ne pas croire que l'accumulation de données, qui par nature va très souvent conduire à une significativité, résout le problème de l'intérêt scientifique de la significativité et de la décision dans l'incertitude.

Références

Allison D.B., Heo M., 1998. Meta-analysis of linkage data under worst-case conditions: a demonstration using the human OB region. *Genetics*, 148, 859-865.

Andersson L., Haley C.S., Ellegren H., Knott S.A., Johansson M., Andersson K., Andersson-Eklund L., Edfors-Lilja I., Fredholm M., Hansson I., Hakansson J., Lundstrom K., 1994. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science,* 263, 1771-1774.

Arcade A., Labourdette A., Falque M., Mangin B., Chardon F., Charcosset A., Joets J., 2004. BioMercator : integrating genetic maps and QTL towards discovery of candidate genes. *Bioinformatics,* 20, 2324-2326.

Armitage P., Berry G., 1994. Statistical methods in medical research. 3rd Edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Bas P., Sauvant D., 2001. Variations de la composition des dépôts lipidiques chez les bovins. *INRA Productions Animales*, 14, 307-318.

Beavis W., 1994. The power and deceit of QTL experiments: lessons from comparative QTL studies. *In: Proceedings of the Forty-Ninth Annual Corn and Sorghum Industry Research Conference.* American Seed Trade Association, Washington, DC, 250-266.

Begg C.B., Mazumdar M., 1994. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics,* 50, 1088-1101.

Bermingham E.N., Nozière P., Vernet J., Lapierre H., Leger S., Sauvant D., Ortigues- Marty I., 2008. The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: a meta-analysis. Animal Feed Science and Technology, 143, 27-58.

Bidanel J.P., Rothschild M., 2002. Current status of quantitative trait locus mapping in pigs. Pig News Info, 23, 39–54.

Boissel J.P., 1994. Méta-analyse des essais cliniques; intérêts et limites. Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux, 87, 11-17.

Boissel J.P., Blanchard J., Panak E., Peyrieux J.C., Sacks H., 1989. Considerations for the meta-analysis of randomized clinical trials. summary of a panel discussion. Controlled Clinical Trials, 10, 254-281.

Boissel J.P., Delahaye F., Cucherat M., 1994. La méta-analyse. In : L'évaluation médicale. Du concept à la pratique (Y. Matillon, P. Durieux, eds), Médecine-Sciences, Flammarion, 24-32.

Bravo D., Sauvant D., Bogaert C., Meschy F., 2003. III. Quantitative aspects of phosphorus excretion in ruminants. Reproduction Nutrition Development, 43, 285-300.

Brown H., Prescott R., 1999. Applied Mixed Models in Medicine. John Wiley & Sons, Chichester, UK, (4, 5, 10, Appendix).

Buyse M., Ryan G., 1987. Issues of efficiency in combining proportions of deaths from several clinical trials. Statistics in Medicine, 6, 565-576.

Buyse M., Zeleniuch-Jacquotte A., Chalmers T.C., 1988. Adjuvant therapy of colorectal cancer. Why we still don't know? The Journal of the American Medical Association, 259, 3571–3578.

Cepica S., Stratil A., Kopecny M., Blazkova P., Schroffel J., Davoli R., Fontanesi L., Reiner G., Bartenschlager H., Moser G., Geldermann H., 2003. Linkage and QTL mapping for Sus scrofa chromosome 4. Journal of Animal Breeding and Genetics, 120, 28-37.

Chalmers T.C., 1982. Combinations of data from randomized control trials. Biometrics, 38, 190-193.

Cochran W.G., 1954. The combination of estimates from different experiments. Biometrics, 10, 101-129.

Cole P., Trichopoulos D., Pastides H., Starr T, Mandel J.S., 2003. Dioxin and cancer: a critical review. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 38, 378-388.

Cook T.D., 1992. Meta-analysis for explanation - a casebook. Russell Sage Foundation, New York.

Cook D.J., Guyatt G.H., Ryan G., Clifton J., Buckingham L., Willan A., Mcllroy W., Oxman A.D., 1993. Should unpublished data be included in meta-analyses? The Journal of the American Medical Association, 269, 2749-2753.

Cox D.R, Hinkley D.V., 1974. Theoretical Statistics. Chapman and Hall, London.

Cucherat M., Boissel J.P., Leizorovicz A., 2002. Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques. http://www.spc.univ-lyon1.fr/livreMA/frame.htm (consulté 10 janvier 2008).

D'Agostino R.B., Weintraub M., 1995. Meta-analysis: a method for synthesizing research. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 58, 605-616.

De Koning D.J., Janss L.L., Rattink A.P., van Oers P.A., de Vries B.J., Groenen M.A., van der Poel J.J., de Groot P.N., Brascamp E.W., van Arendonk J.A., 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (Sus scrofa). Genetics, 152, 1679-1690.

Dempster A., Laird N., Rubin D., 1977. Maximum Likelihood from incomplete data via the EM algorithm (with discussion). Journal of the Royal Statistical Society: Series B, 39, 1-38.

DerSimonian R., Laird N., 1986. Meta-analysis in clinical trials. Controlled Clinical Trials, 7, 177-188.

Detsky A.S., Naylor C.D., O'Rourke K., McGeer A.J., L'Abbé K.A., 1992. Incorporating variations in the quality of individual randomized trials into meta-analysis. Journal of Clinical Epidemiology, 45, 255 p.

DuMouchel W.H., 1990. Bayesian meta-analysis. In: Statistical Methodology in the Pharmaceutical Sciences (A. Berry, D. Dekker eds.) New York, NY, 509–529.

DuMouchel W.H., 1994a. Predictive crossvalidation of Bayesian meta-analysis. In: Proceedings of the Fifth International meeting on Bayesian Statistics (J.M. Bernardo, J.O. Berger, A.P. Dawid, A.F.M. Smith, eds.), Oxford University Press, Oxford.

DuMouchel W.H., 1994b. Hierarchical Bayesian Linear Models for Meta-Analysis. Technical Report, National Institute of Statistical Sciences.

DuMouchel W.H., Harris J.E., 1983. Bayes methods for combining the results of cancer studies in humans and other species. Journal of the American Statistical Association, 78, 293-315.

Egger M., Davey Smith G., Altman D.G. (eds), 2001. Systematic Reviews in Health Care: Meta-analysis in Context. London: BMJ Publishing Group.

Egger M., Davey Smith G., Schneider M., Minder C., 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. British Medical Journal, 315, 629-634.

Eugène M., Archimède H., Sauvant D., 2004. Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. Livestock Production Science, 85, 81- 91.

Fagard R.H., Staessen J.A., Thijs L., 1996. Advantages and disadvantages of the meta-analysis approach. Journal of Hypertension, 14, S9–S13.

Fisher R.A., 1932. Statistical methods for research workers. Oliver and Boyd (eds), Edinburgh, London.

Fleiss J.L., 1993. The statistical basis of meta-analysis. Statistical Methods in Medical Research, 2, 121-145.

Geldermann H., Muller E., Moser G., Reiner G., Bartenschlager H., Cepica S., Stratil A., Kuryl J., Moran C., Davoli R., Brunsch C., 2003. Genome-wide linkage and QTL mapping in porcine F2 families generated from Piétrain, Meishan and Wild Boar crosses. Journal of Animal Breeding and Genetics, 120, 363-393.

Glass G.V., 1976. Primary, secondary and meta-analysis of research. Educational researcher, 5, 3-8.

Glass G.V., 2000. Meta-Analysis at 25. http://www.gvglass.info/papers/meta25.html (consulté le 11 août 2009).

Glass G., McGaw B., Smith M., 1981. Meta-analysis in Social research. Sage Publications, Inc., Beverly Hills-London.

Goffinet B., Gerber S., 2000. Quantitative trait loci: a meta-analysis. Genetics, 155, 463-473.

Guo Y.M., Lee G.J., Archibald A.L., Haley C.S., 2008. Quantitative trait loci for production traits in pigs: a combined analysis of two Meishan x Large White populations. Animal Genetics, 39, 486-495.

Hedges L.V., Bushman B.J., Cooper H., 1992. Testing the null hypothesis in meta-analysis: a comparison of combined probability and confidence interval procedures. Psychological Bulletin, 111, 188-194.

Hedges L.V., Olkin I., 1980. Vote-counting methods in research synthesis. Psychological Bulletin, 88, 359–369.

Hedges L.V., Olkin J., 1985. Statistical Methods for Meta-Analysis. Academic Press, Inc., New York.

Helser T.E., Lai H.L., 2004. A Bayesian hierarchical meta-analysis of fish growth: with an example for North American largemouth bass, Micropterus salmoides. Ecological Modelling, 178, 399-416.

Henderson W.G., Moritz T., Goldman S., Copeland J., Sethi G., 1995. Use of cumulative meta-analysis in the design, monitoring, and final analysis of a clinical trial: a case study. Controlled Clinical Trials, 16, 331–341.

Higgins J.P.T., Thompson S.G., 2002. Quantifying heterogeneity in meta-analysis. Statistics in Medicine, 21, 1539-1558.

Hu Z., Dracheva S., Jang W., Maglott D., Bastiaansen J., Rothschild M.F., Reecy J.M., 2005. A QTL resource and comparison tool for pigs: PigQTLDB. Mammalian Genome, 16, 792–800.

Jansen J.P., Crawford B., Bergman G., Stam W., 2008. Bayesian meta-analysis of multiple treatment comparisons: An introduction to mixed treatment comparisons. Value in Health, 11, 956-964.

Jennions M.D., Møller A.P., 2003. A survey of the statistical power of research in behaviorial ecology and animal behavior. Behaviorial Ecology, 14, 438-445.

Jones D.R., 1995. Meta-analysis: weighing the evidence. Statistics in Medicine, 14, 137-149.

Jonsen I.D., Myers R.A., Flemming J.M., 2003. Meta-analysis of animal movement using state-space models. Ecology, 84, 3055-3063.

Kearsey M., Farquhar A., 1998. QTL analysis in plants; where are we now? Heredity, 80, 137-142.

Kearsey M., Pooni H.S., 1996. The genetical analysis of quantitative traits. Chapman and Hall, London.

Khatkar M.S., Thomson P.C., Tammen I., Raadsma H.W., 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. Genetics Selection Evolution, 36, 163-190.

Khavkin E., Coe E.H., 1997. Mapped genomic locations for developmental functions and QTLs reflect concerned groups in maize (Zea mays L.). Theoretical and Applied Genetics, 95, 343-352.

Khavkin E., Coe E.H., 1998. The major quantitative trait loci for plant stature, development and yield are general manifestations of developmental gene clusters. Maize Newsletter, 72, 60-66.

Kim J.J., Rothschild M.F., Beever J., Rodriguez-Zas S., Dekkers J.C.M., 2005. Joint analysis of two breed cross populations in pigs to improve detection and characterization of quantitative trait loci. Journal of Animal Science, 83, 1229-1240.

Knott S.A., Marklund L., Haley C.S., Andersson K., Davies W., Ellegren H., Fredholm M., Hansson I., Hoyheim B., Lundström K., Moller M., Andersson L., 1998. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in an outbred cross between wild boar and Large White pigs. Genetics, 149, 1069-1080.

Laird N., Mosteller F., 1990. Some statistical methods for combining experimental results. International Journal of Technology Assessment in Health Care, 6, 5-30.

Lean I.J., Rabiee A.R., Duffield T.F., Dohoo I.R., 2009. Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. Journal of Dairy Science, 92, 3545-3565.

Lebart L., Salem A., 1988. Analyse statistique des données textuelles. Dunod (ed), Paris, 209 p.

Liang Y., Kelemen A., 2008. Bayesian models and meta-analysis for multiple tissue gene expression data following corticosteroid administration. BMC Bioinformatics, 9, 356-366.

Light R.J., Pillemer D.B., 1984. Summing up: The science of reviewing research. Harvard University Press.

Light R.J., Smith P.V., 1971. Accumulating evidence: procedures for resolving contradictions among different research studies. Harvard Educational Review, 41, 429-471.

Lin Y.R., Schertz K.F., Paterson A.H., 1995. Comparative analysis of QTLS affecting plant height and maturity across the poaceae, in reference to an interspecific sorghum population. Genetics, 141, 391-411.

Lohmueller K.E., Pearce C.L., Pike M., Lander E.S., Hirschhorn J.N., 2003. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. Nature Genetics, 33, 177-182.

Mantel N., Haenszel W.M., 1959. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. Journal of the National Cancer Institute, 22, 719-748.

Margitic S.E., Morgan T.M., Sager M.A., Furberg C.D., 1995. Lessons learned from a prospective meta-analysis. Journal of the American Geriatrics Society, 43, 435-439.

Marklund L., Nystrom P.E., Stern S., Anderson-Eklund L., Andersson L., 1999. Confirmed quantitative trait loci for fatness and growth on pig chromosome 4. Heredity, 82, 134–141.

Martin O., Sauvant D., 2002. Meta-analysis of input/output kinetics in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 85, 3363-3381.

McPhee M.J., Oltjen J.W., Famula T.R., Sainz R.D., 2006. Meta-analysis of factors affecting carcass characteristics of feedlot steers. Journal of Animal Science, 84, 3143-3154.

Milan D., Bidanel J.P., Le Roy P., Chevalet C., Woloszyn N., 1998. Current status of QTL detection in Large White x Meishan crosses in France. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 26, 414-417.

Moodie P.F., Nelson N.A., Kock G.G., 2004. A non-parametric procedure for evaluating treatment effect in the meta-analysis of survival data. Statistics in Medicine, 23, 1075-1093.

Moser G., Muller E., Beeckmann P., Yue G., Geldermann H., 1998. Mapping of QTLs in F2 generations of wild boar, Pietrain and Meishan pigs. In: Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 26: 478-481.

O'Rourke K., 2007. An historical perspective on meta-analysis: dealing quantitatively with varying study results. Journal of the Royal Society of Medicine, 100, 579-582.

Offner A., Bach A., Sauvant D., 2003. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. Animal Feed Science and Technology, 106, 81-93.

Offner A., Sauvant D., 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. Animal Feed Science and Technology, 111, 41-56.

Olkin I., 1995. Statistical and theoretical considerations in meta-analysis. Journal of Clinical Epidemiology, 48, 133-146.

Ono K., 2007. Modélisation statistique bayésienne d'un modèle de production de biomasse. Application à la pêcherie de poulpe (Octopus vulgaris) de Mauritanie. Mémoire de fin d'études, Agrocampus, Rennes.

Osburn H.G., Callender J., 1992. A note on the sampling variance of the mean uncorrected correlation in meta-analysis and validity generalization. Journal of Applied Psychology, 77, 115-122.

Oxman A.D., Clarke M.J., Stewart L.A., 1995. From science to practice. Meta-analyses using individual patient data are needed. The Journal of the American Medical Association, 274, 845–846.

Paterson A.H., Lander E.S., Hewitt J.D., Peterson S., Lincoln S.E., Tanksley S.D., 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. Nature, 335, 521-529.

Pearson K., 1904. Report on certain enteric fever inoculation statistics. British Medical Journal, 3, 1243-1246.

Phillips C.J.C., 1991. Restriccion de la ingestion de pasto en la vaca lechera. Revision y analisis de resultados publicados. Archivos de Medicina Veterinaria, 23, 5-20.

Phillips C.J.C., 1998. The use of individual dairy cows as replicates in the statistical analysis of their behaviour at pasture. Applied Animal Behaviour Science, 60, 365-369.

Phillips C.J.C., 2002. Further aspects of the use of individual animals as replicates in statistical analysis. Applied Animal Behaviour Science, 75, 265-268.

Phillips C.J.C., 2005. Meta-analysis – a systematic and quantitative review of animal experiments to maximise the information derived. Animal Welfare, 14, 333-338.

Prankel S.H., Nixon R.M., Phillips C.J.C., 2004. Meta-analysis of experiments investigating cadmium accumulation in the liver and kidney of sheep. Environmental Research, 94, 171-183.

Prankel S.H., Nixon R.M., Phillips C.J.C. 2005. Implications for the human food chain of models of cadmium accumulation in sheep. Environmental Research, 97, 348-358.

Probstfield J., Applegate W.B., 1995. Prospective meta-analysis: Ahoy! a clinical trial? [editorial]. Journal of the American Geriatrics Society, 43, 452-453.

Rico-Gomez M., Faverdin P., 2001. La nutrition protéique modifie l'ingestion des vaches laitières: analyse bibliographique. Rencontres Recherches Ruminants, 8, 285-288.

Rothschild M.F., Hu Z.L., Jiang Z., 2007. Advances in QTL Mapping in Pigs. International Journal of Biological Sciences, 3, 192-197.

Rothschild M.F., Plastow G.S., 2007. Impact of genomics on animal agriculture and opportunities for animal health. Trends in Biotechnology, 26, 21–25.

Salmi B., Trefan L., Bloom-Hansen J., Bidanel J.P., Doeschel-Wilson A., Larzul C., 2010. Meta-analysis of the effect of the halothane gene on six parameters of pig meat quality and on carcass leanness. Journal of Animal Science, 88, 2841-2855.

Sanchez-Meca J., Marin-Martinez F., 1998. Testing continuous moderators in meta-analysis: a comparison of procedures. British Journal of Mathematical and Statistical Psychology, 51, 311-326.

Sauvant D., 1992. La modélisation systémique en nutrition. Reproduction Nutrition Development, 32, 217-230.

Sauvant D., 1999. Le concept de lois de réponses multiples aux régimes, trait d'union entre les domaines techniques et économiques de l'élevage. Rencontres Recherches Ruminants, 6, 11-17.

Sauvant D., Schmidely P., Daudin J.J., 2005. Les méta-analyses des données expérimentales: applications en nutrition animale. INRA Productions Animales, 18, 63-73.

Schmidely P., Sauvant D., 2001. Taux butyreux et composition de la matière grasses du lait chez les petits ruminants: effets de l'apport de matières grasses ou d'aliment concentré. INRA Productions Animales, 14, 337-354.

Schreurs N.M., Garcia F., Agabriel J., Jurie C., Micol D., Picard B., 2007. Evolution des caractéristiques musculaires bovines avec l'âge selon le muscle et le type d'animal: une approche par méta-analyse. Rencontres Recherches Ruminants, 14, 121-124.

Schreurs N.M., Garcia F., Jurie C., Agabriel J., Micol D., Bauchart D., Listrat A., Picard B., 2008. Meta-analysis of the effect of animal maturity on muscle characteristics in different muscles, breeds, and sexes of cattle. Journal of Animal Science, 86, 2872-2887.

Searle S.R., Casella G., McCulloch C.E., 1992. Variance Components. In: Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. John Wiley and Sons, New York, NY.

Shachar M., 2008. Meta-analysis: The preferred method of choice for the assessment of distance learning quality factors. The International Review of Research in Open and Distance Learning, 9, http://www.irrodl.org/index.php/irrodl/article/view/493/1147 (consulté le 15 mars 2009).

Silva K.M., Bastiaansen J.W.M., Knol E.F., Merks J.W.M., Lopes P.S., Guimarães S.E.F., van Arendonk J.A.M., 2011. Meta-analysis of results from quantitative trait loci mapping studies on pig chromosome 4. Animal Genetics, 42, 280-292.

Simes J., 1986. Publication Bias: The case of an international registry of clinical trials. Journal of Clinical Oncology, 4, 1529-1541.

St-Pierre N.R., 2001. Invited Review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. Journal of Dairy Science, 84, 741-755.

Sung L., Beyene J., Hayden J., Nathan P.C., Lange B., Tomlinson G.A., 2006. A Bayesian meta-analysis of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in children with cancer. American Journal of Epidemiology, 163, 811-817.

Tomassone R., Lesquoy E., Millier C., 1983. La régression: nouveau regard sur une ancienne méthode statistique. In: Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA (Masson, ed.) Paris, 180 p.

Trefan L., Bünger L., Bloom-Hansen J., Rooke J.A., Salmi B., Larzul C., Terlouw E.C.A., Doeschel-Wilson A., 2011. Meta-analysis of the effects of the vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. Meat science, 87, 305-314.

Tudoreanu L., Phillips C.J.C., 2004. Empirical models of cadmium accumulation in maize, rye grass and soya bean plants. Journal of the Science of food and agriculture, 84, 845-852.

Van den Bergh J., Button K., 1997. Meta-analysis of Environmental Issues in Regional, Urban and Transport Economics. Urban Studies, 35, 927-944.

Van Zandt P., Mopper S., 1998. A meta-analysis of adaptive deme formation in phytophagous insect populations. The American Naturalist, 152, 595-604.

Vandenbroucke J.P., 1988. Passive smoking and lung cancer: a publication bias? British Medical Journal, 296, 391-392.

Verdinelli I., Andrews K., Detre K., Peduzzi P., 1998. The Bayesian approach to Meta-analysis: a Case study. Technical Report, Department of Statistics, Carnegie Mellon University, 641, 1-16.

Vernet J., Ortigues-Marty I., 2006. Conception and development of a bibliographic database of net blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: data gathering and management prior to meta-analysis. Reproduction Nutrition Development, 5, 527–546.

Veyriéras J.B., 2006. Etude du déterminisme génétique de caractères quantitatifs chez les végétaux : Méta-analyse de QTL et études d'association. Thèse de doctorat, Toulouse, INA PG, UPS-XI, INRA.

Vollestad L.A., Hindar K., Moller A.P., 1999. A meta-analysis of fluctuating asymmetry in relation to heterozygosity. Heredity, 83, 206-218.

Walling G.A., Archibald A.L., Cattermole J.A., Downing A.C., Finlayson H.A., Nicholson D., Walker C.A., Haley C.S., Visscher P.M., 1998. Mapping of quantitative trait loci on porcine chromosome 4. Animal Genetics, 29, 415-424.

Walling G.A., Visscher P.M., Andersson L., Rothschild M.F., Wang L., Moser G., Groenen M.A., Bidanel J.P., Cepica S., Archibald A.L., Geldermann H., de Koning D.J., Milan D., Haley C.S., 2000. Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies: chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. Genetics, 155, 1369–1378.

Wang L., Yu T.P., Tuggle C.K., Liu H.C., Rothschild M.F., 1998. A directed search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in the pig. Journal of Animal Science, 76, 2560–2567.

Ward J.H., 1963. Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function. Journal of the American Statistical Association, 58, 236-244.

Whitehead A., 2002. Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.

Whitehead A., Whitehead J., 1991. A general parametric approach to the meta-analysis of randomised clinical trials. Statistics in Medicine, 10, 1665-1677.

Wood I.A., Moser G., Burrell D.L., Mengersen K.L., Hetzel D.J.S., 2006. A meta-analytic assessment of a Thyroglobulin marker for marbling in beef cattle. Genetics Selection Evolution, 38, 479-494.

Xu S., 2003. Theoretical basis of the Beavis effect. Genetics, 165, 2259-2268.

Chapitre 3

Méta-analyse des principaux facteurs influençant la qualité de viande

1. La base de données QPC6

Une base de données dédiée à recueillir l'ensemble des données collectées pour effectuer nos méta-analyses a été construite dans le cadre du module VI du projet Q-Porkchains (www.qpc6.dk). Cette base de données a été construite dans le but de faciliter le stockage des données provenant de données résumées des publications ou de données brutes quand elles sont disponibles, ainsi qu'une description des modèles statistiques utilisés dans chaque publication qui sont à l'origine des résultats qui y sont enregistrés. Les données sont introduites dans la base sous forme de valeurs statistiques.

Le site contenant la base de données est consacré également au projet Q-Porkchains. En effet, des parties du site sont réservées à l'édition des documents, l'échange de programmes, de notes entre les partenaires et la publication des événements et des nouvelles. Des champs ont été également réservés pour attribuer des mots-clés aux documents, ainsi qu'aux programmes et aux références des publications. Une liste commune des codes attribués aux facteurs et aux paramètres de qualité de viande a été établie et enrichie au fur et à mesure des enregistrements des références afin de garantir une uniformité des termes utilisés par les différents partenaires.

La base de données a été conçue selon un modèle relationnel qui consiste à stocker les données dans plusieurs tables reliées par des index. Le système de gestion de base de données choisi était MySQL (version 5.0.27), et l'interface du site a été programmée par le langage PHP (version 5.2.0).

1.1. Spécifications concernant la construction de la base de données QPC6

Une liste des spécifications à respecter lors de l'enregistrement des données dans la base a été établie. Elle comprend les éléments suivants :

1/ rassembler toutes les informations disponibles dans la publication. Le Tableau 3.1 recense l'ensemble des données extraites des publications sélectionnées pour être enregistrées dans la base.

2/ stocker d'importantes quantités d'informations, d'une manière fiable, et qu'elles soient faciles à récupérer a posteriori.

3/ Valider les informations : il est nécessaire de vérifier la cohérence entre les données rapportées dans la publication et celles précédemment enregistrées dans la base de données, (par exemple les mesures de pH, de températures, de concentrations.). Il faut également être vigilent vis-à-vis des données aberrantes, c'est pourquoi une étape préliminaire d'exclusion et de validation de données était nécessaire avant la saisie des données dans la base.

4/ Prendre en considération la potentielle complexité des facteurs qui influencent les paramètres de la qualité de viande et leurs probables interactions (Figure 3.1).

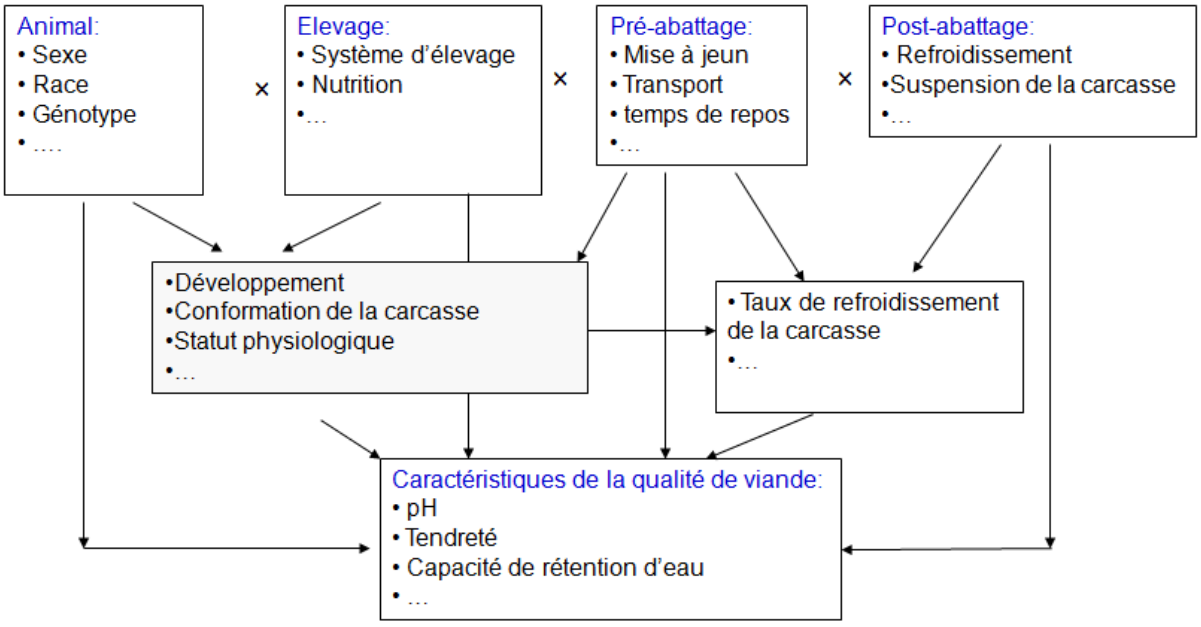


Figure 3.1 – Schéma décrivant la complexité des facteurs affectant les paramètres de la qualité de viande de porc et leurs interactions.

5/ Tenir compte des différences entre les méthodes de mesures des variables étudiées entre les publications afin d'expliquer une part de l'hétérogénéité entre publications. En raison de l'importance du dispositif expérimental utilisé pour l'obtention des résultats de chaque étude et leurs interprétations, il a été décidé d'inclure dans la base de données toutes les informations relatives aux méthodes utilisées par chaque auteur.

6/ Rapporter la variabilité intra-essai relatives aux données extraites des études qui sera utilisée par la suite dans le processus de pondération des données (St-Pierre, 2001 ; Whitehead, 2002).

Notons que certaines études exprimaient cette variabilité sous deux formes : écart-type ou erreur standard. Il a été décidé d'estimer les écart-types de certains résultats à partir de l'erreur standard et l'effectif afin d'avoir le même ordre de grandeur de la précision.

7/ Choix des unités de mesure : les unités de mesures de la même variable différent parfois entre les publications. Ainsi, le choix d'une unité de mesure unique pour une variable donnée est une nécessité pour l'homogénéité des données.

8/ Enfin, une dernière exigence concernait la facilité de la saisie des données dans la base. En effet, il a été décidé d'enregistrer les données dans un premier temps sous Excel (2007), puisque ce programme est bien connu et facile à utiliser. Une fois enregistrées, les données ont été ensuite transférées dans la base.

Tableau 3.1 – Liste des principaux éléments d'informations extraites des publications ainsi que les données essentielles qui y correspondent.

Objet	Données essentielles extraites
Référence	• Titre • Année de publication • Journal • Volume • Pages • Pays
Période d'expérimentation	• Saison • Nombre de jours des prises de mesures
Animaux	• Race • Sexe • Nombre d'animaux par groupe expérimental • Age à l'abattage

	• Poids à l'abattage
	• Génotype
Alimentation	• à volonté / restriction
	• composition
	• fréquence des repas
	• quantité
Système d'élevage	• intérieur / extérieur
	• Nombre d'animaux par loge
Conditions pré-abattage	
Mise à jeun	• Durée totale
	• Accès à l'eau
	• Durée de jeûne à la ferme
	• Durée de jeûne à l'abattoir
Transport	• Densité de chargement
	• Mélange d'animaux non familiers
	• Température
	• Durée
	• distance
	• type de véhicule
	• Utilisation d'aiguillon électrique pendant le déchargement
Attente à l'abattoir	• Durée
	• Accès à l'eau

	• densité des animaux
	• Mélange des animaux non familiers
Etourdissement	• Electrique ou CO_2
Résultats extraits des publications	
Statistiques	• Dispositif expérimental
	• Analyse des résultats
Muscle	• Longissimus
	• Semimembranosus
	• Biceps femoris
	• Adductor
Qualité technologique	• pH0 (pH mesuré juste après l'abattage)
	• pH45 (pH mesuré45 min post-mortem)
	• pHu (pH mesuré 24 h post-mortem)
	• Indices de la couleur (L*, a* et b*)
	• Capacité de rétention d'eau (24 h ou 48 h)
	• Gras intramusculaire
	• Pertes à la cuisson
Qualité sensorielle	• Tendreté
	• Jutosité
	• Fermeté
	• Flaveur

1.2. Spécifications concernant la gestion des données

Initialement, plusieurs critères de gestion des données ont été fixés. Tout d'abord, une étape préliminaire de vérification et de validation des données transférées dans la base de données a été prévue. Cette étape a pour objectif de vérifier qu'il n y'a pas eu d'erreur lors du transfert des données (par exemple la présence de données erronées ou de données manquantes).

Il était également important de décrire le méta-dispositif de chaque variable explicative X afin de pouvoir classer les publications en classes distinctes au sein desquelles il serait possible de situer les intervalles où il y a une grande disponibilité de données, et inversement, les intervalles où il y a beaucoup de données manquantes (Sauvant et al., 2005 ; Figure 1.4) .

Concernant la multiplicité des questions scientifiques et des relations à établir entre les facteurs et les variables par le biais de la méta-analyse et des données récoltées et enregistrées dans la base, il était nécessaire de construire de nouvelles tables pour chaque méta-analyse : par exemple les effets du gène halothane, du transport, du temps jeûne et du temps de repos sur les paramètres de la qualité technologique ont été traitées dans des tables séparées .

Enfin, l'étape du codage des données qui est une étape capitale pour la gestion des données, consiste à attribuer des codes à chaque variable X. Le codage concernait successivement les éléments suivants : 1/ la publication (étude1, étude2, …) ; 2/ les groupes de traitements au sein de chaque publication (par exemple pour le gène halothane : NN (pour les animaux homozygotes sauvages), Nn (pour les animaux hétérozygotes) et nn (pour les animaux homozygotes sensibles) ; 3/ les variables réponses (pHu (pour le pH ultime), a* (pour l'indice de rouge), b* (pour l'indice de jaune),…).

1.3. Quelques caractéristiques des publications incluses dans QPC6

Les publications incluses dans QPC6 détaillent généralement une seule expérience. Cependant, quelques publications peuvent être composées de plusieurs expériences séparées (Goetsch *et al.,* 1995). Afin de tenir compte de cette caractéristique, des codes différents ont été attribués à chaque expérience.

La description des animaux dans la base de données était basée sur des groupes d'animaux et non pas sur un seul animal. Chaque groupe d'animaux correspond à un traitement expérimental spécifique. Dans certains cas le même groupe d'animaux a été utilisé dans diverses publications lorsque les auteurs utilisent le même lot d'animaux pour différentes expériences (Reynolds *et al.,* 1991a ; Reynolds *et al.,* 1991b).

Les publications incluses dans la base de données devaient obligatoirement citer l'erreur-standard ou l'écart-type des moyennes de leur expérience, sinon, elles étaient exclues.

1.4. Modèle de la conception de la base de données QPC6

Plusieurs acteurs interviennent dans la construction de la base de données QPC6, notamment les chercheurs et les méta-analystes dont on décrit, ci-dessous, les tâches et la structure de la base de données qui leur a été dédiée (Figure 3.2).

- Insérer les références des publications introduites dans la base de données, et assigner une table datasets à chaque référence.
- Insérer les modèles statistiques : plusieurs modèles relatifs à une même publication ou expérience peuvent être insérés dans la même table datasets correspondant à la référence en question.
- Sélectionner les facteurs et les variables étudiées par les auteurs de la publication dans les tables correspondantes qui sont disponibles dans la base de données.
- Le chercheur doit ensuite sélectionner les niveaux du facteur étudié, et leurs potentielles interactions avec les autres facteurs.
- Ajouter une information concernant la significativité des différents facteurs et leurs interactions sur les variables étudiées : il s'agit du seuil de significativité *P* qui est souvent cité par les auteurs des publications.
- Insérer les valeurs statistiques rapportées par les auteurs : moyenne, moyenne ajustée (Lsmeans), effectif, écart-type ou erreur standard, …
- Possibilité d'éditer les différences entre les moyennes rapportées dans la publication. Cette mesure est utile quand la méthode choisie par le méta-analyste est celle de la mesure de la taille de l'effet « effect-size ».

- Possibilité d'exporter les données stockées dans la base de données vers les logiciels statistiques SAS ou R pour mener les analyses statistiques de la méta-analyse selon le modèle choisie.

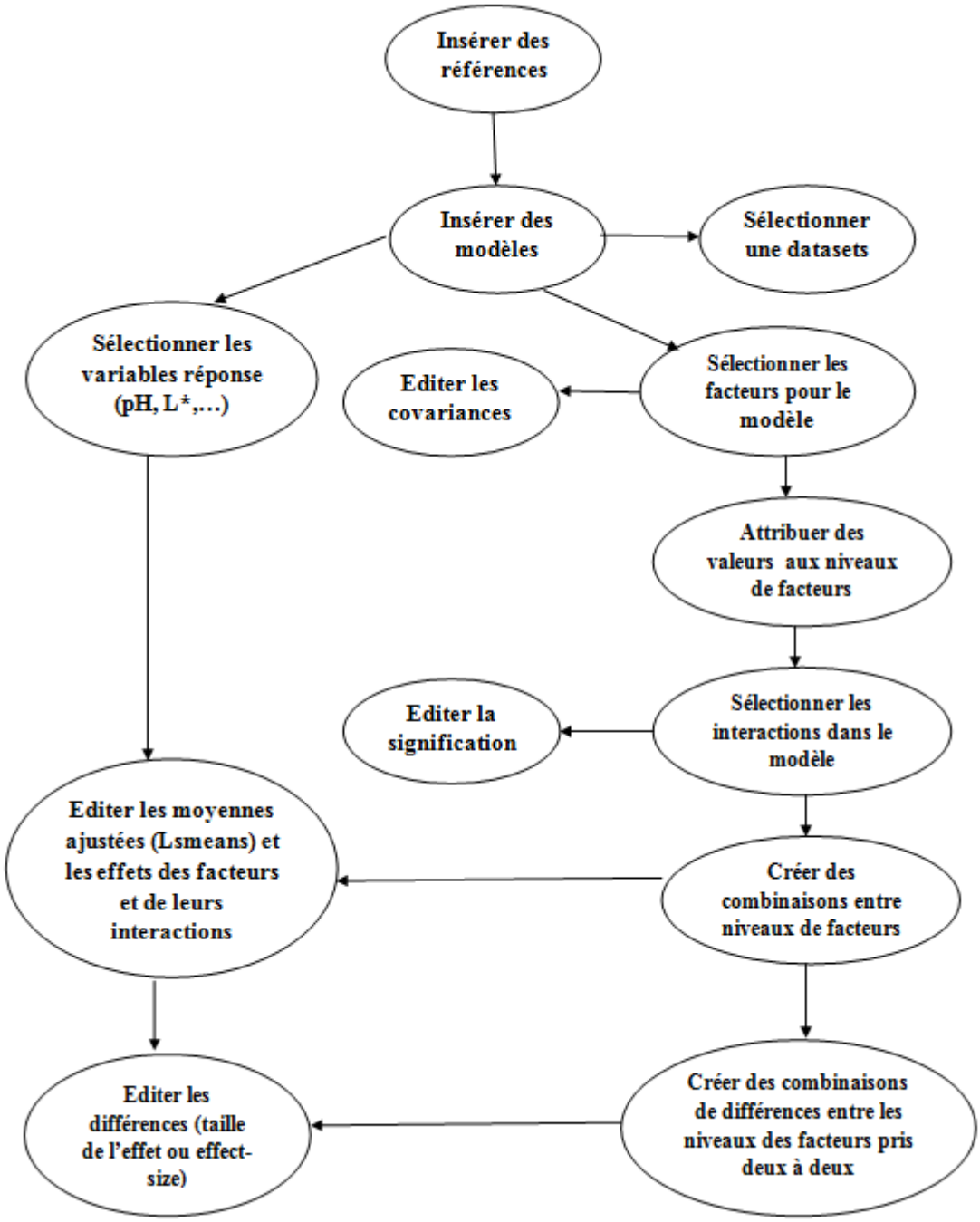


Figure 3.2 – Diagramme des tâches attribuées aux chercheurs et aux méta-analystes concernant l'enregistrement des données dans la base de données QPC6.

Après avoir consulté près de 100 études qui étudiaient l'effet du gène halothane et celui de trois des principaux facteurs du pré-abattage : durée du jeûne, du transport et du repos à l'abattoir, 50 études ont été retenues et stockées dans la base de données avant de les utiliser dans des méta-analyses séparées.

Références

Goetsch A.L., Ferell C.L., Reynolds P.J., 1995. Effects of dietary maize level on net plux across splanchnic tissues of oxygen and nutrients in wethers consuming ad libitum different forages. *Animal Science*, 61, 43-45.

Microsoft Excel, 2007. SP3. Microsoft Corporation, 1985.

Reynolds C.K., Tyrrell H. F., Reynolds P. J.,1991a. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *Journal of Nutrition*, 121, 994-1003.

Reynolds C.K., Tyrrell H. F., Reynolds P. J.,1991b. Effects of Diet Forage-To-Concentrate Ratio and Intake on Energy-Metabolism in Growing Beef Heifers - Net Nutrient Metabolism by Visceral Tissues. *Journal of Nutrition*, 121, 1004-1015.

St-Pierre N.R., 2001. Invited Review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. Journal of Dairy Science, 84, 741-755.

Whitehead A., 2002. Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.

2. Méta-analyse de l'effet du gène Halothane

Contexte de l'étude

La qualité de la viande englobe des critères d'importance différente suivant l'espèce animale considérée. Chez le porc, la qualité technologique a un impact économique important et de nombreux travaux ont pu montrer que les interactions entre le type génétique (particulièrement les gènes HAL et RN), les conditions d'élevage et les conditions d'abattage des animaux déterminent la qualité de la viande de porc (Sellier et Monin, 1994).

L'incidence du défaut majeur de la viande de porc (viande PSE : Pale, Soft, Exsudative) a fait l'objet de nombreuses études qui ont mis en évidence son origine génétique (locus HAL). Le défaut PSE lié à l'allèle n (allèle sensible) est causé par une chute excessivement rapide du pH post-mortem (pH45<6,0) et induit, entre autres conséquences, une moindre tendreté de la viande fraiche et de mauvais rendements de fabrication du jambon cuit ou cru, alors que ce même allèle a des effets favorables sur la teneur en muscles de la carcasse. Une question longuement débattue concerne la valeur exacte des sujets hétérozygotes « Nn » en termes de qualités technologiques et sensorielles de la viande (Larzul *et al.,* 1997, Monin *et al.,* 1999). Une autre question en débat concerne le pH ultime (pHu), mesuré 24 heures post-mortem dans le muscle, qui est un des facteurs essentiels dans l'établissement des qualités de la viande chez le porc (Sellier, 1998). En effet, plusieurs études ont montré que le gène halothane n'a pas d'effet significatif sur le pHu du muscle *Longissimus* (Guéblez *et al.,* 1995 ; Larzul *et al.,* 1996), tandis que d'autres trouvent un effet significatif du gène (Klont *et al.,* 1994 ; Fisher *et al.,* 2000). Afin de répondre à ces questions, nous avons choisi de combiner ces résultats dans le cadre d'une méta-analyse. Cette technique s'avère particulièrement utile lorsque les résultats des études, prises séparément, semblent contradictoires. Elle permet, par une augmentation de puissance, de conclure là où les essais individuels ne concluent pas du fait de petits effectifs, de faibles différences entre les traitements ou encore de la fréquence limitée des événements étudiés (Cucherat *et al.,* 2002).

Cette étude avait un double objectif :

- ✓ Combiner les résultats de 23 publications correspondant à un lot total de 3 530 animaux, afin d'étudier l'effet du gène halothane sur le pH45, le pHu, les coordonnées de la couleur (L*, a*, b*), les pertes d'exsudat (DL) et le pourcentage de maigre comme

paramètre de rendement de carcasse. Concernant la qualité de carcasse, seules les différences des pourcentages de maigre entre les génotypes NN et Nn ont été analysées.

- ✓ Comparer deux méthodes statistiques de méta-analyse : la méthode de l'addition des effectifs « pooling » et la méthode de la mesure de la taille de l'effet « effect-size ». Cette dernière étant plus appropriée lorsqu'il s'agit de méta-analyses combinant des études à effectifs limités, mais qui représente l'inconvénient de ne permettre que des comparaisons deux à deux des niveaux des facteurs étudiées.

Résultats

Les résultats des études qui ont fait l'objet de cette méta-analyse rapportaient des résultats contradictoires concernant l'effet du gène halothane sur les paramètres étudiés (cf. Annexes). Cependant, notre méta-analyse a pu confirmer l'effet du gène halothane sur l'ensemble des paramètres étudiés, à l'exception de l'indice de rouge (a*).

Concernant la méthode statistique appropriée, notre étude a permis de mettre en évidence l'avantage de la méthode des « effect-size » par rapport à la réduction de l'hétérogénéité entre les études combinées, bien que cette méthode ne permette que des comparaisons deux à deux des niveaux du facteur étudié.

Cette étude a permis également de distinguer l'avantage de l'approche bayésienne pour résoudre le problème de l'hétérogénéité entre études, d'où le choix de cette approche pour l'étude suivante qui a pour objet la méta-analyse de l'effet des principaux facteurs de la période de pré-abattage sur les paramètres de la qualité technologique de la viande de porc.

Références

Cucherat M., Boissel J.P., Leizorovicz A., 2002. Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques. http://www.spc.univ-lyon1.fr/livreMA/frame.htm (consulté 10 janvier 2008).

Fisher P., Mellett F.D., Hoffman L.C., 2000. Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat Science*, 54, 97-105.

Guéblez R., Paboeuf F., Sellier P., Bouffaud M., Boulard J., Brault D., Le Tiran M.H., Petit G., 1995. Effet du génotype halothane sur les performances d'engraissement, de carcasse et de qualité de la viande du porc charcutier. *Journées de la Recherche Porcine en France,* 27, 155-164.

Klont R.E., Lambooy E., van Logtestijn J.G., 1994. Effect of dantrolene treatment on muscle metabolism and meat quality of anesthetized pigs of different halothane genotypes. *Journal of Animal Science*, 72, 2008-2016.

Larzul C., Le Roy P., Gueblez R., Talmant A., Gogue J., Sellier P., Monin G., 1997. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 114, 309–320.

Larzul C., Rousset-Akrim S., Le Roy P., Gogue J., Talmant A., Vernin P., Touraille C., Monin G., Sellier P., 1996. Effet du génotype halothane sur la texture de la viande de porc. *Journées de la Recherche Porcine en France,* 28, 39-44.

Monin G., Larzul C., Le Roy P., Culioli J., Mourot J., Rousset-Akrim S., Talmant A., Touraille C., Sellier P., 1999. Effects of the halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. *Journal of Animal Science*, 77, 408–415.

Sellier P., 1998. Genetics of meat and carcass traits. In: The Genetics of the Pig (M. F. Rothschild, A. Rubinsky, eds.), CAB Int., Wallingford, UK, 463–510.

Sellier P., Monin G., 1994. Genetics of pig meat quality: a review. Journal of Muscle Foods, 5, 187-219.

Article 1 : Article paru dans Journal of Animal Science

B. Salmi, L. Trefan, J. Bloom-Hansen, J. P. Bidanel, A. B. Doeschl-Wilson and C. Larzul. 2010.

Meta-analysis of the effect of the halothane gene on 6 variables of pig meat quality and on carcass leanness

J. Anim. Sci. 88: 2841-2855.

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE
The Premier Journal and Leading Source of New Knowledge and Perspective in Animal Science

Meta-analysis of the effect of the halothane gene on 6 variables of pig meat quality and on carcass leanness

B. Salmi, L. Trefan, J. Bloom-Hansen, J. P. Bidanel, A. B. Doeschl-Wilson and C. Larzul

J Anim Sci 2010.88:2841-2855.
doi: 10.2527/jas.2009-2508 originally published online Mar 26, 2010;

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
http://jas.fass.org/cgi/content/full/88/9/2841

American Society of Animal Science
www.asas.org

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Meta-analysis of the effect of the halothane gene on 6 variables of pig meat quality and on carcass leanness[1]

B. Salmi,*†[2] L. Trefan,‡ J. Bloom-Hansen,§ J. P. Bidanel,* A. B. Doeschl-Wilson,‡ and C. Larzul*

*INRA, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy en Josas, France; †AgroparisTech, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78350 Jouy en Josas, France; ‡Scottish Agricultural College, Sustainable Livestock Systems, King's Buildings, West-Mains Road, Edinburgh, EH9 3JG, UK; and §Danish Meat Research Institute, Maglegaardsvej 2, DK-4000 Roskilde, Denmark

ABSTRACT: Technological meat quality is a significant economic factor in pork production, and numerous publications have shown that it is strongly influenced both by genetic status and by rearing and slaughter conditions. The quality of meat is often described by meat pH at different times postmortem, as well as by color and drip loss, whereas carcass quality is often characterized by lean percentage. A meta-analysis of findings relating to 3,530 pigs reported in 23 publications was carried out to assess the effects of the halothane gene, sex, breed, and slaughter weight of animals on 7 selected variables: pH at 45 min postmortem, ultimate pH, reflectance (L*-value), redness (a*-value), yellowness (b*-value), drip loss, and lean percentage. Two statistical methods were used in the meta-analysis: the method of effect size and the better known random effects model. The method of effect size was associated with Markov chain Monte Carlo techniques for implementing Bayesian hierarchical models to avoid the problems of limited data and publication bias. The results of our meta-analysis showed that the halothane genotype had a significant effect on all analyzed pork quality variables. Between-study variance was evaluated with the Cochran (1954) *Q*-test of heterogeneity. Meta-regression was used to explain this variance, with covariates such as breed, sex, slaughter weight, and fasting duration being integrated into different regression models. The halothane gene effect was associated with the breed effect only for the following variables: L*-value, b*-value, and drip loss. Slaughter weight contributed significantly only to the explanation of differences in ultimate pH between homozygous genotypes. In response to inconsistencies reported in the literature regarding the difference between the genotypes NN and Nn, results of the meta-analysis showed that the difference between these 2 genotypes was significant for all the analyzed variables except the a*-value.

Key words: halothane gene, meat quality, meta-analysis, pig

©2010 American Society of Animal Science. All rights reserved.

J. Anim. Sci. 2010. 88:2841–2855
doi:10.2527/jas.2009-2508

INTRODUCTION

Pork quality depends on genetic factors, environmental factors, and their interactions. A number of publications (Sellier and Monin, 1994) suggest that pork quality is strongly influenced by the effect of overall genetic type, by individual genes (especially the halothane and RN genes), and by rearing and slaughter conditions. Although the mutated halothane "n" allele is considered fully recessive, there is conflicting information regarding the meat quality of heterozygous animals (Monin et al., 1999; Channon et al., 2000; Miller et al., 2000). Another unresolved debate concerns the effect of the halothane gene on ultimate pH in LM (Larzul et al., 1997; Fisher et al., 2000). In response to these gaps in the scientific literature, we chose to combine existing results in a meta-analysis (i.e., an analysis combining published results in a statistically sound way; DuMouchel, 1990). This method is particularly useful when results from independent studies are contradictory because it increases statistical power (Cucherat et al., 2002).

[1]The authors gratefully acknowledge financial assistance provided by the European Community under the Sixth Framework Programme for Research, Technological Development and Demonstration Activities (Brussels, Belgium), for the Integrated Project Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245. The views expressed in this publication are the sole responsibility of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the European Commission. Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for any use that might be made of the information.

[2]Corresponding author: btissam.salmi@jouy.inra.fr

Received September 21, 2009.
Accepted March 11, 2010.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

The aim of this study was to use meta-analysis to estimate the effect of the halothane gene on 6 of the most important pig meat quality attributes: muscle pH measured 45 min (**pH45**) or 24 h (ultimate pH; **pHu**) postmortem, color coordinates (L*, a*, and b*), and drip loss (**DL**). For carcass quality, we analyzed the difference in lean percentage (**lean%**) between NN and Nn animals. Statistically, we compared 2 meta-analytical methods: the conventional random effects (**RE**) regression method and the effect size method. The RE regression method is commonly used in animal production studies, whereas the effect size method refers to the classical meta-analysis approach commonly performed in medical studies. The latter is considered more suitable for meta-analysis of a small number of studies but has the disadvantage that it allows only pairwise comparison between the analyzed factor levels.

MATERIALS AND METHODS

Animal Care and Use Committee approval was not obtained for this study because the data were obtained from an existing database.

Data Collection

For meat quality, the criterion for selecting publications was that they reported the effect of the halothane gene on 1 or more measurements of pork quality and compared the 3 halothane genotypes (NN, Nn, and nn). The measurements of pork quality extracted from studies were all taken in LM; they included pH45, pHu, objective color measurements determined with a Minolta Chroma Meter (CIE L* as a score of reflectance, a* as a score of redness, and b* as a score of yellowness; CIE, 1978) measured 24 h postmortem, and DL as a measurement of weight loss determined after 24 or 48 h of storage at 4°C and expressed as a percentage of the initial weight of a muscle sample. For carcass quality, the criterion for selecting publications was that they reported the effect of the halothane gene on lean%. Only the comparison of NN and Nn was retained. The studies had to be published as reviewed papers or conference proceedings, in English or in French, after 1990 for the halothane status to be established through molecular genotyping (Fujii et al., 1991). The search was conducted through the Web of Science bibliographic database (http://www.isiwebofknowledge.com/).

The database included general information (e.g., titles, author names, dates of publication), experimental qualities (e.g., preslaughter treatment, feed composition, breed, sex, and castrate status), and other quantitative data (e.g., slaughter weight, slaughter age, statistics used in the original analysis that were necessary for the present meta-analysis). Only 6 publications were excluded because they compared only the 2 genotypes NN and Nn for all the analyzed attributes except lean%. Publications reporting several experiments were dealt with by assigning a specific code for each experiment. Each observation in the meta-analysis corresponded to the mean of each treatment group. The selected publications were further required to provide intraexperiment variation, expressed either as SEM (or SE) or SD, for the mean of each treatment group. Publications in which this information was missing were excluded. The bibliographic search yielded a total of 55 studies. Selection for an effect of the halothane gene on the 7 analyzed attributes narrowed this number to 23 publications published between 1990 and 2008 and 74 experimental groups (see Appendix Table A1), representing 3,530 pigs. In the sensitivity analysis, the influence of each individual study was evaluated by estimating overall effect size in the absence of one or more studies. Five studies were excluded in the context of sensitivity analysis.

Statistical Analysis

Effect Size Method. The effects of the halothane gene on pH45, pHu, L*, a*, and b* were evaluated using the mean difference or effect size method described by Whitehead and Whitehead (1991). For DL and lean%, the standardized effect size was used because the measurement methods for these 2 attributes differed from 1 study to another (Whitehead, 2002). The effect size method allows the comparison of 2 population groups (i.e., a treatment and a control group). The effect size (θ) was calculated as the difference between the means of 2 genotypes for each attribute. For example, in the comparison NN vs. nn, NN was considered the control group and nn was considered the treatment group. The standardized effect size was estimated by dividing this difference by its pooled SD. Reported SE, and the number of animals in the treatment and control groups, were used to calculate the pooled SD of each effect size (Searle et al., 1992). Effect size estimates on data pooled across experiments were obtained with a fixed effects model (Mantel and Haenszel, 1959). The general fixed effects model is given by $\widehat{\theta}_i = \theta + \varepsilon_i$, for $(i = 1,\ldots,r)$, where r is the number of studies, $\hat{\theta}$ is the maximum likelihood estimate of the effect size in study i, θ is the common effect size, and ε_i is the error term for the ith study. Effects were assumed to be normally distributed: $\widehat{\theta}_i \sim N\left(\theta, \sigma_\varepsilon^2\right)$.

Forest plots, showing the point estimate and the 95% confidence interval (**CI**) of the individual experiment-level effect size, were used to visualize the data. The plots of the 3 halothane genotype comparisons for each attribute are included as online-only data supplements (http://jas.fass.org/content/vol88/issue9/).

The global null hypothesis that the treatment difference in all studies was equal to zero was tested using the association test U (Whitehead, 2002). This test was performed by comparing the statistic

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

$$U = \frac{\left(\sum_{i=1}^{r} \widehat{\theta}_i w_i\right)^2}{\sum_{i=1}^{r} w_i}$$

with the χ^2 with 1 df, where w_i is the inverse of the variance of the effect size θ_i.

Variation in experiment-level effect size was assessed with a χ^2 test of heterogeneity, denoted as the Q^2-test. The null hypothesis was that the treatment effect would be the same across all r trials. The null hypothesis was rejected if the heterogeneity test statistic was greater than a critical value that separated the upper 5% of a χ^2 with $(r-1)$ df (Cochran, 1954). With heterogeneous data, an RE model was used to estimate effect size by considering study a random factor (Der Simonian and Laird, 1986). The general RE model is given by $\widehat{\theta}_i = \theta + \nu_i + \varepsilon_i$, where ν_i is the RE of study i, $\nu_i \sim N(0, \tau^2)$, and τ^2 is the between-study variance. It follows that $\widehat{\theta}_i \sim N\left(\theta, \sigma_\varepsilon^2 + \tau^2\right)$.

The heterogeneity of results among trials was quantified using the I^2-statistic (Higgins and Thompson, 2002). The I^2-statistic described the proportion of the total study variance that was due to between-study variation; it was calculated as

$$I^2 = \frac{Q^2 - (r-1)}{Q^2} \times 100.$$

Where I^2-values were greater than 50%, a meta-regression was carried out to explore the source of the heterogeneity. Meta-regression formally tests whether there is evidence for different effects in different subgroups of trials. Meta-regression extended the RE meta-analysis by including one or more covariates to explain heterogeneity in treatment effects.

A Bayesian hierarchical model was adopted when data were heterogeneous, especially in the meta-regression of effect size, to estimate the model parameters. The analysis was performed using Markov chain Monte Carlo methods through the Bayesian computation software Winbugs (Spiegelhalter et al., 2003). In total, 10,000 iterations were dismissed as burn-in and the following 500,000 iterations were used for parameter estimations. Satisfactory convergence of the simulated Markov chains to the target posterior distribution was assessed using the diagnostics in Winbugs. The Bayesian estimations of the overall and covariate effects were made systematically where the heterogeneity test was significant. Both regression and Bayesian methods were applied in effect size estimations; it was therefore convenient to define the phrase "significantly different from 0" to cover both the situation in which there was a 95% CI that did not include 0, and a Bayesian 95% CI that did not include 0.

Publication bias was investigated using funnel plots (Light and Pillemer, 1984). In these funnel plots, a measure of study size is shown on the horizontal axis and effect size is plotted on the vertical axis. It was expected that, in the absence of bias, the plot would resemble a symmetrical funnel on its side. If there was bias, for example, because smaller studies showing no statistically significant effects remained unpublished, the plot would be asymmetrical. In these situations, the effect calculated in the meta-analysis might have been overestimated. Unfortunately, the small number of experiments eligible for meta-analysis in this study made interpretation of funnel plots difficult. Publication bias was therefore also investigated statistically using the Egger test (Egger et al., 1997), which is more appropriate for a small sample size.

RE Regression Method. This meta-analytical approach involved the application of a regression model to all data. The meta-analytic model included pig genotype, breed, sex (discrete variables), and slaughter weight (continuous variable). Experiment was taken into account as an RE (St-Pierre, 2001).

The linear mixed model was $Y_{ijk} = \mu + S_i + a_j + bX_{ij} + e_{ijk}$, where Y_{ijk} is the independent variable; μ is the overall mean; S_i is the RE of the ith study, assumed as $\sim_{iid} N\left(0, \sigma_s^2\right)$, a_j is the fixed effect of the jth level of factor; b is the overall regression coefficient of Y on X (a fixed effect); X_{ij} is the value of the continuous predictor variable; and e_{ijk} is the residual error, assumed as $\sim_{iid} N\left(0, \sigma_e^2\right)$. The variables e_{ijk} and S_i are assumed to be independent random variables. In view of the limited number of data, interactions between different factors were not included. Covariates that were not significant at a P-value of 0.05 were removed from the model.

To account for unequal variance among studies, all variables were weighed by the reciprocal inverse of their squared SE. In addition, an unstructured variance-covariance matrix was assumed for the random part of the model. The covariance parameter was considered different from 0 if the P-value was less than 0.10. A P-value greater than the traditional $P = 0.05$ was used because accurate estimations of variances and covariances require a considerable number of observations (St-Pierre, 2001). Computation was carried out using the MIXED procedure (SAS Inst. Inc., Cary, NC). All models were evaluated for the assumptions of normality and constant variance. The test for normality used the UNIVARIATE procedure of SAS. A Levene test of the residuals ($P < 0.05$) was used to test the assumption of constant variance.

To test the robustness of the results, an analysis of interstudy variability was carried out by comparing interstudy variance with intrastudy variance. It was recommended that it be stated, before the analysis, what size of estimated variance attributable to study would be considered negligible (Sauvant et al., 2008). In our study, the proportion of the total study variance that

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Table 1. Summary of effect size, Q^2-test,[1] and I^2-statistic[2] for the halothane genotype comparisons

			Heterogeneity			
Outcome[3]	θ_i [4] (95% CI)	*P*-value	Q^2-test	df	*P*-value	I^2
NN vs. nn						
pH45	0.536 (0.377, 0.695)	<0.001	135.59	10	<0.0001	92.62
pHu	0.054 (0.007, 0.100)	<0.05	34.31	10	<0.001	70.84
L*	−3.386 (−3.996, −2.776)	<0.0001	15.29	12	>0.05	21.51
a*	−0.318 (−0.547, −0.089)	<0.05	20.8	12	>0.05	42.55
b*	−0.965 (−1.162, −0.768)	<0.001	20.41	12	>0.05	41.22
DL	−1.668 (−2.711, −0.626)	<0.01	43.05	12	<0.001	72.12
NN vs. Nn						
pH45	0.188 (0.139, 0.238)	<0.001	25.07	10	<0.01	60.10
pHu	0.029 (0.0001, 0.058)	<0.05	19.46	10	>0.05	48.61
L*	−0.732 (−1.259, −0.204)	<0.05	15.16	12	>0.05	20.87
a*	−0.136 (−0.336, 0.063)	>0.05	16.76	12	>0.05	28.39
b*	−0.467 (−0.754, −0.179)	<0.001	35.69	12	<0.001	66.38
DL	−0.389 (−1.279, 0.500)	>0.1	45.35	12	<0.001	73.54
Lean%	−0.975 (−1.248, −0.701)	<0.001	14.21	10	>0.05	29.63
Nn vs. Nn						
pH45	0.333 (0.221, 0.446)	<0.001	90.71	10	<0.001	88.97
pHu	0.015 (−0.003, 0.034)	>0.05	11.85	10	>0.05	15.68
L*	−2.497 (−3.092, −1.902)	<0.0001	20.4	12	>0.05	43.94
a*	−0.088 (−0.318, 0.140)	>0.05	18.19	12	>0.05	34.03
b*	−0.405 (−0.765, −0.045)	<0.001	45.49	12	<0.001	72.41
DL	−1.303 (−2.162, −0,444)	<0.01	33.01	12	<0.001	63.70

[1]Chi-square test of heterogeneity.
[2]Proportion of the total study variance attributable to the between-study variation.
[3]ph45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; a* = redness; b* = yellowness; DL = drip loss.
[4]Pooled effect size was estimated using a fixed effects model when the Q^2-test was not significant; conversely, the estimation was made using a random effects model when the Q^2-test was significant.

was attributable to interstudy variation was computed as

$$\rho = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \sigma_e^2},$$

following the method described by Hox and de Leeuw (2003), where σ_s^2 represents the variation between studies and σ_e^2 is the sampling variance. The variances σ_s^2 and σ_e^2 were estimated using a REML method. As in the effect size method, when the ρ-statistic exceeded 50%, a meta-regression was carried out to explain the between-study variability.

RESULTS

Effect of the Halothane Gene on pH45 and pHu

A significant effect of the halothane gene on pH45 was confirmed by both methods (Tables 1, 2, and 3), with differences between the 3 genotypes being significant. Meta-regression may better explain the effect size heterogeneity for the comparison Nn vs. nn because the difference between these 2 genotypes was partly explained by fasting duration ($P = 0.008$) when it varied between 10 and 24 h. However, the Bayesian estimation of the effect of fasting time failed to confirm the results of the meta-regression; that is, the CI of the fasting time effect estimation included 0, implying that fasting time could not be considered significant (Table 4). Unexpectedly, the regression method showed that the effect of the halothane gene on pH45 was significantly influenced by sex ($P = 0.0002$), which explained almost 78% of the variability between the combined studies (Table 2).

Based on the effect sizes derived from studies examining the effect of the halothane gene on pHu (Table 1), differences between NN and nn ($\theta = 0.054$; $P < 0.05$) and between NN and Nn ($\theta = 0.029$; $P < 0.05$) were significant. However, pHu differences between Nn and nn were not significant ($\theta = 0.015$; $P > 0.05$).

A fixed effects model was used to compare the effect size estimations of the comparisons NN vs. Nn and Nn vs. nn because the corresponding heterogeneity tests were not significant (Table 1). Posterior means, SD, and 95% CI for the overall and covariate effects for pHu and pH45 are listed in Table 4. The existing heterogeneity between effect size for the comparison between NN vs. nn was partially explained by the significant effect of slaughter weight, which explained 25% of the between-study variance of effect size between the NN and nn genotypes. Slaughter weight in the range of 85 to 125 kg had a significant negative effect on pHu differences between homozygous genotypes.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Table 2. Least squares means ± SE of the analyzed meat quality traits according to halothane genotype estimated using the random effects regression model, and *P*-values of the tested covariates for meta-regression

	Halothane genotype				*P*-value		
Outcome[1]	NN	Nn	nn	*P*-value	Breed	Sex	Slaughter wt
pH45	6.40 ± 0.06	6.24 ± 0.06	5.92 ± 0.07	0.0001	0.060	0.0002	0.520
pHu	5.63 ± 0.05	5.59 ± 0.05	5.57 ± 0.05	0.0036	0.538	0.529	0.583
L*	50.08 ± 0.72	50.69 ± 0.70	53.39 ± 0.71	0.00008	0.0002	0.300	0.990
a*	7.50 ± 0.26	7.67 ± 0.25	7.93 ± 0.26	0.1672	0.0001	0.080	0.209
b*	10.99 ± 0.4	11.42 ± 0.4	12.11 ± 0.4	0.0001	0.0001	0.310	0.510
DL	3.77 ± 0.34	4.12 ± 0.36	5.16 ± 0.42	0.0146	0.172	0.807	0.382
Lean%	57.8 ± 1.12	58.78 ± 1.12	—[2]	0.0004	0.07	0.059	0.040

[1]ph45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; a* = redness; b* = yellowness; DL = drip loss; lean% = lean percentage.
[2]Comparison was not made.

Table 3. Difference (least squares mean ± SE) of the analyzed meat quality traits according to halothane genotype estimated using the random effects regression model

Outcome[1] and genotypes compared	Difference	*P*-value	R^2, %	I^2, %
pH45			86.48	49.1
NN vs. nn	0.481 ± 0.0642	<0.0001		
NN vs. Nn	0.162 ± 0.048	<0.01		
Nn vs. nn	0.319 ± 0.063	<0.0001		
pHu			93.12	95.4
NN vs. nn	0.061 ± 0.016	0.0011		
NN vs. Nn	0.043 ± 0.015	<0.05		
Nn vs. nn	0.017 ± 0.015	>0.1		
L*			96.91	84.34
NN vs. nn	−3.315 ± 0.473	<0.0001		
NN vs. Nn	−0.607 ± 0.469	>0.1		
Nn vs. nn	−2.707 ± 0.468	<0.0001		
a*			97.71	78.58
NN vs. nn	−0.432 ± 0.220	>0.05		
NN vs. Nn	−0.170 ± 0.219	>0.1		
Nn vs. nn	−0.262 ± 0.221	>0.1		
b*			99.73	95.93
NN vs. nn	−1.120 ± 0.170	<0.0001		
NN vs. Nn	−0.430 ± 0.150	<0.01		
Nn vs. nn	−0.680 ± 0.170	<0.001		
DL			49.36	41.32
NN vs. nn	−1.388 ± 0.439	0.0042		
NN vs. Nn	−0.345 ± 0.373	>0.1		
nNn vs. nn	−1.043 ± 0.447	<0.05		
Lean%			97.92	98.53
NN vs. Nn	−0.981 ± 0.180	<0.001		

[1]ph45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; a* = redness; b* = yellowness; DL = drip loss; lean% = lean percentage.

Table 4. Summary of posterior distribution of pooled effect size and effects of significant covariates for pHu and pH45 obtained from Bayesian meta-regression

Outcome[1] and genotypes compared	Intercept (95% CI[2])	Covariate[3] coefficient (95% CI)	Between-study variance	Intrastudy variance	I^2, %
pH45					
NN vs. nn	0.536 (0.358, 0.717)		0.0817	0.0041	95.15
NN vs. Nn	0.189 (0.133, 0.247)		0.0054	0.0020	73.02
Nn vs. nn	0.341 (0.216, 0.472)	−0.064 (−0.186, 0.067)	0.0341	0.0044	88.49
pHu					
NN vs. nn	0.061 (0.016, 0.104)	−0.054 (−0.101, −0.006)	0.0033	0.0012	72.37

[1]ph45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH.
[2]CI = confidence interval.
[3]The significant covariate for pHu was the slaughter weight ($P = 0.04$), and the significant covariate for pH45 was the fasting time ($P = 0.008$).

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

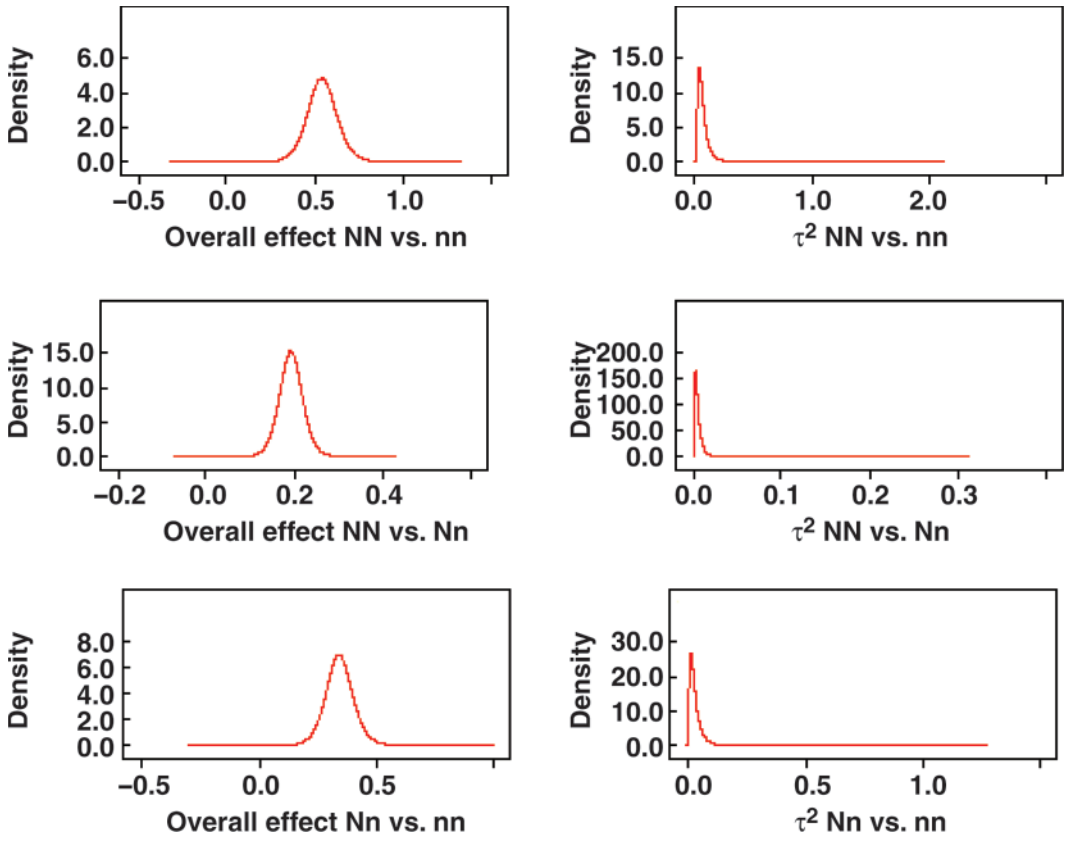


Figure 1. Posterior predictive distributions from the meta-analysis model for the overall effect and τ^2 (between-study variance) of pH at 45-min postmortem comparisons between the 3 halothane genotypes.

As demonstrated in Figures 1 and 2, the overall effect of fit of the model was satisfactory. For the pHu comparison NN vs. nn and the 3 halothane genotype comparisons for pH45, the posterior predictive distributions of the test statistics (overall effect and between-study variance) included the observed value of the statistic in areas of reasonable probability.

The results of the RE regression method showed a significant effect of the halothane gene on pHu (Table 2). The comparison of least squares mean differences between the 3 halothane genotypes showed that, as in the effect size method, differences between NN and nn and between NN and Nn were significant ($P = 0.0011$ and $P = 0.011$, respectively), whereas the difference between Nn and nn was not significant ($P = 0.24$; Table 3). None of the tested covariates was able to explain the increased heterogeneity between studies (Table 2).

Effect of the Halothane Gene on Color Coordinates: L, a*, and b**

The heterogeneity tests of effect size estimations for the attributes L* and a* were not significant; therefore, the fixed effects model was retained (Table 1). The analysis of L* effect sizes showed that halothane genotype had a significant effect on the 3 halothane genotype comparisons: NN vs. Nn, NN vs. Nn, and Nn vs. nn. However, the analysis of a* effect sizes showed that only differences between the NN and nn genotypes were significant (Table 1). With regard to the b* attribute, comparisons between the 3 halothane genotypes were all significantly different from 0 (Table 1). The estimated effect sizes of the comparisons NN vs. Nn and Nn vs. nn were heterogeneous. The effect of halothane genotype on differences between Nn and nn

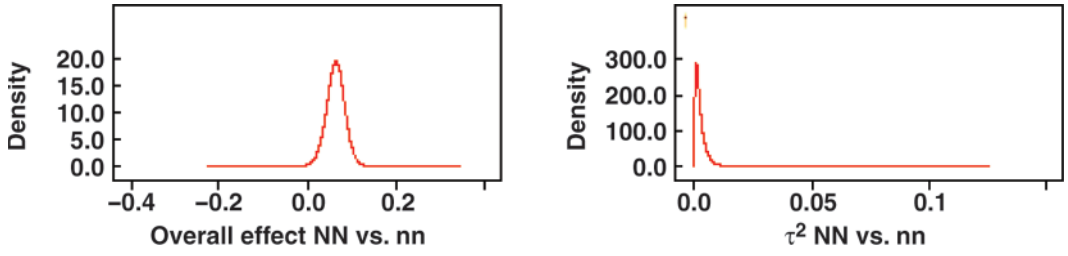


Figure 2. Posterior predictive distributions from the meta-analysis model for the overall effect and τ^2 (between-study variance) of ultimate pH comparison between the NN and nn genotypes.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

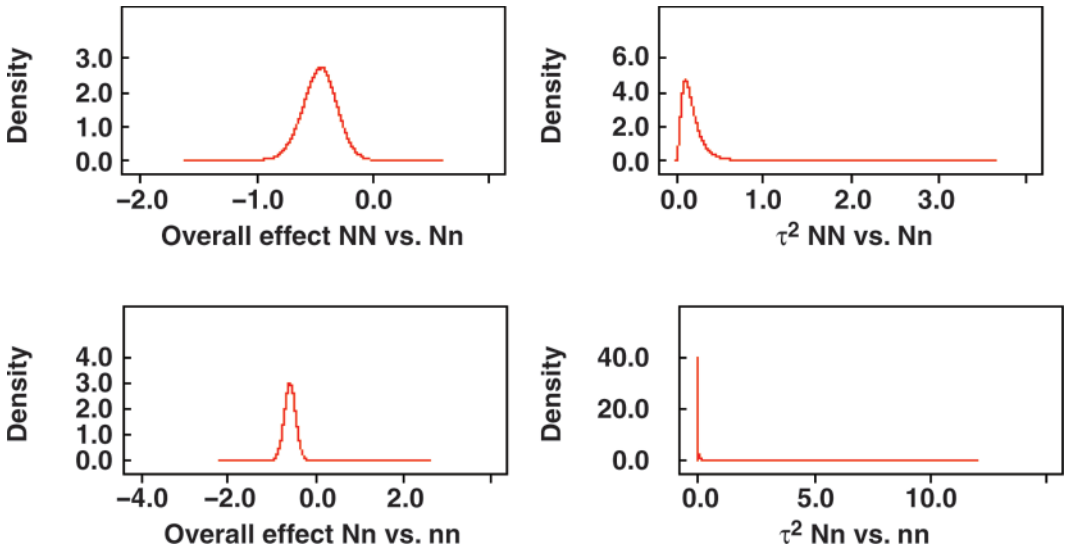


Figure 3. Posterior predictive distributions from the meta-analysis model for the overall effect and τ^2 (between-study variance) of yellowness comparisons between the genotypes NN vs. Nn and Nn vs. nn.

was associated with a significant effect of breed, which explained approximately 80% of the between-study variance (Table 2). Heterogeneity between the NN and Nn genotypes was not influenced by any of the tested covariates. Posterior means and CI of the overall effect and different breed level effects are listed in Table 5. Predictive distributions of the posterior overall effect and between-study variance for the b* comparisons NN vs. Nn and Nn vs. nn are illustrated in Figure 3.

According to the results of the regression method, the halothane gene had a significant effect on L* and b*; however, its effect on a* was not significant. The increased heterogeneity between studies was explained mainly by breed ($P = 0.0002$, $P < 0.0001$, and $P < 0.0001$, respectively, for L*, a*, and b*; Table 2).

Effect of the Halothane Gene on DL

Significant differences in DL attributable to the halothane gene effect were found for NN vs. nn and for Nn vs. nn (Table 1 and Figure 4). Because the heterogeneity test was significant for the 3 halothane genotype comparisons, meta-regression was used to explain the between-study variance, in particular for the comparisons NN vs. nn and Nn vs. nn, where the overall effect was significant ($\theta = -1.67$, $P = 0.008$, and $\theta = -1.303$, $P < 0.01$, respectively). Breed explained 79 and 73% of the between-study variability for NN vs. nn and Nn vs. nn comparisons, respectively.

The Bayesian estimation of the overall effect for the comparison NN vs. Nn did not confirm the effect size method results (Table 5 and Figure 2). The CI did not cover 0, and the null hypothesis of a zero overall effect was therefore rejected.

Drip loss data included in the model of the RE regression method were not standardized because they are weighed by the inverse of their reciprocal variance in the SAS statement. As in the RE model estimation of the effect size method, the RE regression results showed that only the differences NN vs. nn and Nn vs. nn were significant (Table 3). The proportion of between-study variance in total variability was not large in the RE regression method ($\rho < 50\%$), but the determination coefficient R^2 was very small. This apparent

Table 5. Summary of posterior distribution of pooled effect size obtained from Bayesian meta-regression by considering of breed as a covariate for b* and DL

Outcome[1] and genotypes compared	Intercept (95% CI[2])	Between-study variance	Intrastudy variance	I^2, %
b*				
NN vs. Nn	−0.461 (−0.778, −0.165)	0.184	0.093	0.664
Nn vs. nn	−0.622 (−0.894, −0.349)	0.057	0.131	0.303
DL				
NN vs. nn	−0.608 (−0.887, −0.331)	0.078	0.109	0.417
NN vs. Nn	−0.184 (−0.653, −0.264)	0.529	0.102	0.838
Nn vs. nn	−0.485 (−0.744, −0.226)	0.060	0.112	0.349

[1]b* = yellowness; DL = drip loss.
[2]CI = confidence interval.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

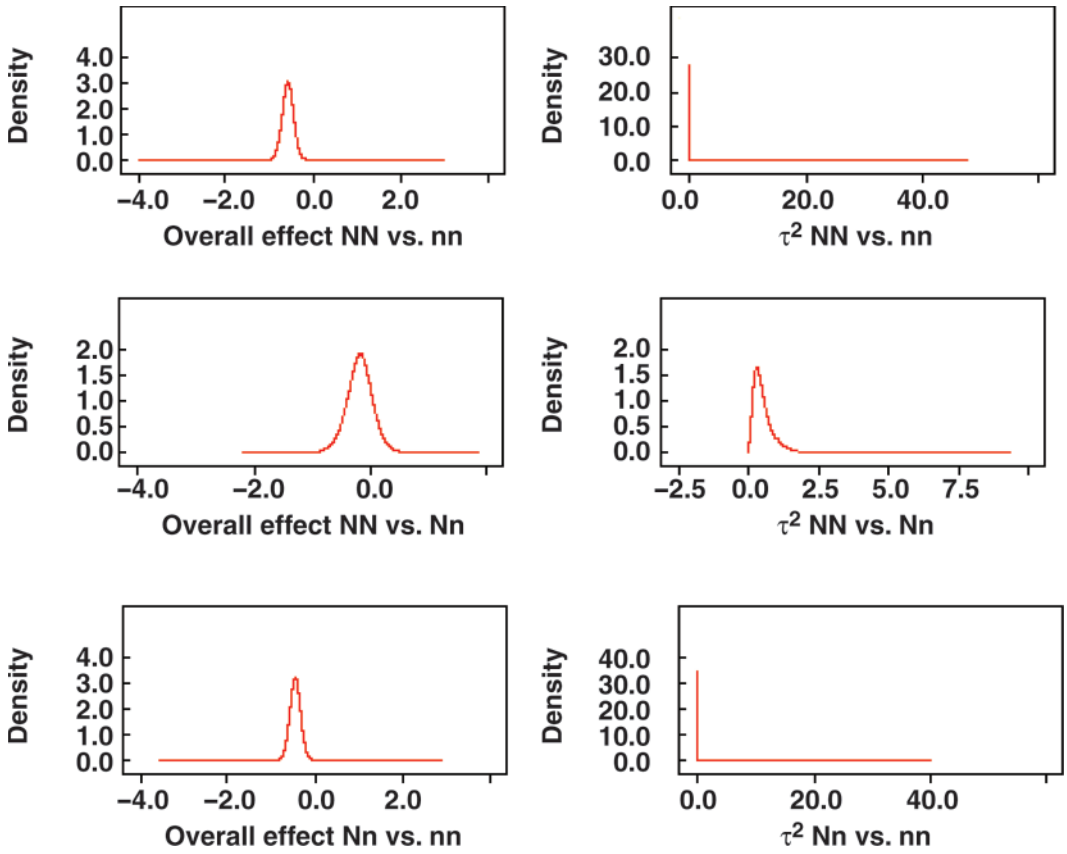


Figure 4. Posterior predictive distributions from the meta-analysis model for the overall effect and τ^2 (between-study variance) of drip loss comparisons between the 3 halothane genotypes.

contradiction could be explained by the difference in the scale of measurement in each study.

Effect of the Halothane Gene on Lean%

Only a few studies provided data related to lean% of nn pigs. Therefore, the analysis of this attribute was made only between NN and Nn pigs. In this analysis, the results obtained from both meta-analysis methods were consistent (Tables 1 and 3). As with DL, the effect size of lean% was estimated as a standardized mean difference. The heterogeneity test of effect size of the combined studies was not significant. The estimation of the overall effect following a fixed effect model showed that the halothane gene had a highly significant effect on differences between the NN and Nn genotypes ($P < 0.001$).

The combined data in the RE regression method were not standardized. Consequently, heterogeneity between studies was very high ($\rho = 99\%$). None of the tested covariates was significant (Table 2). Comparison between the effect size estimation of lean% between the NN and Nn genotypes and the least squares mean difference between these 2 genotypes revealed similar values for both methods. Indeed, the effect size estimation was −0.975 (−1.248, −0.701) and the RE estimation of the least squares mean difference was −0.983 (−1.33, −0.628). Additionally, both of these values are well within the CI of each other.

DISCUSSION

In this study, 2 meta-analytic methods were used to quantify the effect of the halothane gene on a range of key attributes of pork quality in pig populations. The synthesis of published data in the form of a meta-analysis is increasingly common in the area of animal production. It has been shown to be a useful tool for obtaining precise predictions of the response of a given phenomenon to quantitative or qualitative variations (Sauvant et al., 2008).

Our selection of analyzed attributes was made after an extensive bibliographic research, which indicated that pH45, pHu, color variables (L*, a*, and b*), and DL are the main components or predictive traits for technological and sensory pork quality, and that carcass lean% is an important predictive trait for carcass quality (Sellier, 1998). The data set used in the present study was prepared after a comprehensive search of the internationally published literature. Qualitative comparison of the literature indicated that the effect of the halothane gene on the main attributes of technological pig meat quality is controversial, especially where the 7 attributes listed above are concerned. In-

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

deed, our meta-analysis for each attribute, except for pH45 and lean%, included the results of studies with diametrically opposed conclusions (i.e., that the halothane gene had a significant and a nonsignificant effect on the analyzed traits).

Because the effect of preslaughter conditions, and of their interactions with genotype and breed, on pork quality is already known (Mormède et al., 1984; Terlouw et al., 1997; Hay and Mormède, 1998; Désautés et al., 1999), we limited our selection to studies with a similar experimental design. This helped us avoid any kind of bias in the combined results and, consequently, in the meta-analysis results. Nevertheless, characteristics that differed between studies and that could explain interstudy heterogeneity included breed, sex, slaughter weight, and fasting duration.

The synthesis of the results of the meta-analysis confirmed that the halothane gene had a significant effect on all the analyzed attributes except the color attribute a*. The results of the Egger test (Egger et al., 1997) for publication bias showed a significant bias for the comparison NN vs. Nn for color coordinates and for the comparison Nn vs. nn for pH45. Given this publication bias, the results from our meta-analysis might slightly overestimate these effects.

The effect of the halothane gene on pHu has been the subject of debate. Several studies have shown this gene to have no significant effect on pHu changes in LM (Guéblez et al., 1995; Larzul et al., 1996). Other research has shown significant differences for pHu attributable to the halothane genotype (Klont et al., 1994; Fisher et al., 2000). According to the results of our meta-analysis, the 2-by-2 comparison of pHu differences between genotypes showed that only the difference between Nn and nn was not significant, and that the NN genotype had a greater pHu than the Nn and nn genotypes. Interestingly, results of the effect size method showed that the difference between NN and nn was affected by slaughter weight. The difference between the 2 genotypes tended to decrease with slaughter weight. This can be contrasted with the results of Sather et al. (1991a,b), who found that the effect of the halothane allele in the heterozygous state depended on slaughter weight, but also that the effect of the halothane allele appeared to be recessive in lightweight pigs and became dominant in heavyweight pigs. The apparent contradiction between our results and those of Sather et al. (1991a,b) may be due to breed differences between the sets of studies. However, this halothane genotype × slaughter weight interaction was not confirmed by Garcia-Macias et al. (1996), Leach et al., (1996), and Larzul et al. (1997).

Another unresolved issue in the literature concerned the value of heterozygous animals. In keeping with a systematic review based on 13 studies conducted by Sellier (1998), our results showed that the Nn animals were positioned between NN and nn animals for most meat quality traits, although the corresponding values were closer to those of NN than to those corresponding to nn for the attributes pH45, L*, and DL. Despite their proximity, differences between NN and Nn animals were significant for all the analyzed attributes except a*.

In this paper we have compared 2 meta-analytical approaches: the conventional RE regression method based on a frequentist approach (St-Pierre, 2001; Sauvant et al., 2008) and the effect size method completed with a Bayesian approach when data were heterogeneous (Cusack et al., 1996; Wood et al., 2006). Both methods are well established in animal production research, although the first is predominantly used in cases where the numbers of data are large, whereas the effect size method tends to be used when data are limited. The effect size method therefore appeared to be better suited for our meta-analysis (with a small number of combined studies and discrete variables). However, this method allows only pairwise comparison between the analyzed factors. Our use of Bayesian methods was facilitated by Markov chain Monte Carlo algorithms, which allowed for more flexibility in the formulation of prior information and models and for a wider range of inferences and comparisons through simulation. Whatever the method, the differences estimated between genotypes for L*, a*, and lean%, and also for some comparisons of pHu (comparisons NN vs. Nn and Nn vs. nn) and b* (comparison NN vs. nn), were very close. This consistency is explained by the data homogeneity for these comparisons proved by the Cochran (1954) test of heterogeneity. In the RE regression method, heterogeneity that was due to between-study variance remained greater even after considering breed as a covariate in the models. It should be noted that the slight differences existing between the effect size estimations and the least squares mean differences between genotypes for the above-mentioned attributes were most likely because, in the effect size method, the estimation assumed a fixed effects model, whereas, in the RE regression method, estimations assumed a mixed model.

With pHu, the effect size method enabled us to reduce heterogeneity between studies. This reduction in heterogeneity was mainly due to the possibility, allowed by this method, of showing the significant effect of slaughter weight on pHu differences between the homozygous genotypes. By contrast, the RE regression method did not reveal any significant effect of the tested covariates, even though the heterogeneity between studies was very high.

With DL and lean%, the possibility of standardizing data when measurement methods were different was an advantage of the effect size method. The standardized effect size method allowed us to reduce the variability considerably between studies for DL, except for the comparison NN vs. Nn. Variability between studies for the DL comparisons NN vs. nn and Nn vs. nn was mainly explained by the significant effect of breed, which is known to be one of the most important factors influencing technological and sensory pig meat quality (Bout and Girard, 1988; Sellier and Monin, 1994).

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Discrepancies between methods were found for DL. The overall effect of the halothane gene on the DL difference between NN and Nn was not significant when considering the results from the effect size method as well as the RE regression method. Bayesian estimation of the overall effect between these 2 genotypes was significant, however. To explain this inconsistency, we should mention that in a classical, non-Bayesian approach to the effect size method using a fixed or RE model, the effect size θ and the variances σ_{ε}^2 and τ^2 are considered fixed variables and the between-study variance τ^2 is mostly estimated via an approximation proposed by DerSimonian and Laird (1986). In a general hierarchical Bayesian scheme (DuMouchel, 1990), σ_{ε}^2 and τ^2 are assumed to be random variables. The distributions of these quantities are specified a priori. It is standard practice to assume a "flat" or "uninformative" prior for θ, as was done in the present study, because even with a small number of studies, the combined data become relatively informative regarding the location of the prior distribution of the effect size (Carlin, 1992). The imposition of distributions on θ, σ_{ε}^2, and τ^2 allows a more explicit description of any underlying variability in the way the study outcomes are distributed. This in turn allows considerable flexibility in application. Moreover, it can be viewed as a Bayesian generalization of the RE model of effect size. The present study showed that there was a considerable indication of heterogeneity between studies and that moving to a Bayesian approach could provide more accurate estimates of effect size.

Meta-analysis was a useful tool with which to address existing controversies about the halothane gene effect generated by existing studies in a statistically robust way. Our study confirmed the significant effect of the halothane gene on all the analyzed attributes except a*. It also confirmed the intermediate position of Nn animals between NN and nn animals for most quality traits. By and large, the 2 methods investigated here yielded similar conclusions. However, discrepancies appeared when heterogeneity between studies was increased, which was the case with DL between the NN and Nn genotypes. In this case, the Bayesian approach, implemented in the effect size method, emerged as the most appropriate form of meta-analysis.

LITERATURE CITED

Aalhus, J. L., D. R. Best, F. Costello, and A. L. Schaefer. 1997. The effects of porcine somatotropin on muscle fibre morphology and meat quality of pigs of known stress susceptibility. Meat Sci. 45:283–295.

Apple, J. K., C. V. Maxwell, M. R. Stivarius, L. K. Rakes, and Z. B. Johnson. 2002. Effects of dietary magnesium and halothane genotype on performance and carcass traits of growing-finishing swine. Livest. Prod. Sci. 76:103–113.

Bout, J., and J. Girard. 1988. Lipides et qualités des tissues adipeux et musculaires de porc—Facteurs de variation. 2ème partie: Lipides et qualités du tissu musculaire—Facteurs de variation. J. Rech. Porcine Fr. 20:271–278.

Bridi, A. M., S. Nicolaiewsky, J. M. Rübensam, M. C. Both, and J. F. P. Lobato. 2003. Efeito do genótipo halotano e de diferentes sistemas de produção no desempenho produtivo e na qualidade da carcaça suína. R. Bras. Zootec. 32:942–950.

Carlin, J. B. 1992. Meta-analysis for 2 × 2 tables: A Bayesian approach. Stat. Med. 11:141–158.

Channon, H. A., A. M. Payne, and R. D. Warner. 2000. Halothane genotype, pre-slaughter handling and stunning method all influence pork quality. Meat Sci. 56:291–299.

CIE. 1978. Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. Suppl. 2 to CIE Publ. No. 15 (E-1.3.1) 1978, 1971/(TC-1-3). Comm. Int. de l'Eclairage, Paris, France.

Cochran, W. G. 1954. The combination of estimates from different experiments. Biometrics 10:101–129.

Cucherat, M., J. P. Boissel, and A. Leizorovicz. 2002. Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques. http://www.spc.univ-lyon1.fr/livreMA/frame.htm Accessed Sep. 1997.

Cusack, P., N. McMeniman, A. Rabiee, and I. Lean. 2009. Assessment of the effects of supplementation with vitamin E on health and production of feedlot cattle using meta-analysis. Prev. Vet. Med. 88:229–246.

Depreux, F. F. S., A. L. Grant, and D. E. Gerrard. 2002. Influence of halothane genotype and body-weight on myosin heavy chain composition in pig muscle as related to meat quality. Livest. Prod. Sci. 73:265–273.

DerSimonian, R., and N. Laird. 1986. Meta-analysis in clinical trials. Control. Clin. Trials 7:177–188.

Désautés, C., A. Sarrieau, J. C. Caritez, and P. Mormède. 1999. Behavior and pituitary-adrenal function in large white and Meishan pigs. Domest. Anim. Endocrinol. 16:193–205.

De Smet, S. M., H. Pauwels, S. De Bie, D. I. Demeyer, J. Callewier, and W. Eeckhout. 1996. Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of Belgian slaughter pigs. J. Anim. Sci. 74:1854–1863.

DuMouchel, W. H. 1990. Bayesian meta-analysis. Pages 509–529 in Statistical Methodology in the Pharmaceutical Sciences. D. A. Berry, ed. Dekker, New York, NY.

Egger, M., G. D. Smith, M. Schneider, and C. Minder. 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple graphical test. BMJ 315:629–634.

Eggert, J. M., F. F. S. Depreux, A. P. Schinckel, A. L. Grant, and D. E. Gerrard. 2002. Myosin heavy chain isoforms account for variation in pork quality. Meat Sci. 61:117–126.

Fàbrega, E., X. Manteca, J. Font, M. Gispert, D. Carrión, A. Velarde, J. L. Ruiz-de-la-Torre, and A. Diestre. 2002. Effects of halothane gene and pre-slaughter treatment on meat quality and welfare from two pig crosses. Meat Sci. 62:463–472.

Fernandez, X., E. Neyraud, T. Astruc, and V. Sante. 2002. Effects of halothane genotype and pre-slaughter treatment on pig meat quality. Part 1. Post mortem metabolism, meat quality indicators and sensory traits of m. *Longissimus lumborum.* Meat Sci. 62:429–437.

Fisher, P., F. D. Mellett, and L. C. Hoffman. 2000. Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. Meat Sci. 54:97–105.

Franco, M. M., R. C. Antunes, M. Borges, E. O. Melo, and L. R. Goulart. 2008. Influence of breed, sex and growth hormone and halothane genotypes on carcass composition and meat quality traits in pigs. J. Muscle Foods 19:34–49.

Fujii, J., K. Otsu, F. Zorzato, S. De Leon, V. K. Khanna, J. E. Weiler, P. J. O'Brien, and D. H. Maclennan. 1991. Identification of a mutation in the porcine ryanodine receptor identified with malignant hyperthermia. Science 253:448–451.

Garcia-Macias, J. A., M. Gispert, M. A. Oliver, A. Diestre, P. Alonso, A. Munoz-Luna, K. Siggens, and D. Cuthbert-Heavens. 1996. The effects of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pig carcasses. Anim. Sci. 63:487–496.

Guéblez, R., F. Paboeuf, P. Sellier, M. Bouffaud, J. Boulard, D. Brault, M. H. Le Tiran, and G. Petit. 1995. Effet du génotype

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

halothane sur les performances d'engraissement, de carcasse et de qualité de la viande du porc charcutier. J. Rech. Porcine Fr. 27:155–164.

Hanset, R., C. Dasnois, S. Scalais, C. Michaux, and L. Grobet. 1995. Génotypes au locus de sensibilité à l'halothane et caractères de croissance et de carcasse dans une F_2 Piètrain × Large White. Genet. Sel. Evol. 27:63–76.

Hay, M., and P. Mormède. 1998. Urinary excretion of catecholamines, cortisol and their metabolites in Meishan and Large White sows: Validation as a non-invasive and integrative assessment of adreno-cortical and sympathoadrenal axis activity. Vet. Res. 29:119–128.

Higgins, J. P. T., and S. G. Thompson. 2002. Quantifying heterogeneity in meta-analysis. Stat. Med. 21:1539–1558.

Hox, J. J., and E. D. de Leeuw. 2003. Multilevel models for meta-analysis. Pages 139–155 in Multilevel Modeling: Methodological Advances, Issues, and Applications. S. P. Reise and N. Duan, ed. Lawrence Erlbaum Associates, Mahwah, NJ.

Klont, R. E., and E. Lambooy. 1995a. Effects of preslaughter muscle exercise on muscle metabolism and meat quality studied in anesthetized pigs of different halothane genotypes. J. Anim. Sci. 73:108–117.

Klont, R. E., and E. Lambooy. 1995b. Influence of preslaughter muscle temperature on muscle metabolism and meat quality in anesthetized pigs of different halothane genotypes. J. Anim. Sci. 73:96–107.

Klont, R. E., E. Lambooy, and J. G. van Logtestijn. 1993. Effect of preslaughter anesthesia on muscle metabolism and meat quality of pigs of different halothane genotypes. J. Anim. Sci. 71:1477–1485.

Klont, R. E., E. Lambooy, and J. G. van Logtestijn. 1994. Effect of dantrolene treatment on muscle metabolism and meat quality of anesthetized pigs of different halothane genotypes. J. Anim. Sci. 72:2008–2016.

Kocwin-Podsiadla, M., W. Przybylska, J. Kuryl, A. Talmant, and G. Monin. 1995. Muscle glycogen level and meat quality in pigs of different halothane genotypes. Meat Sci. 40:121–125.

Kortz, J., A. Rybarczyk, A. Pietruszka, R. Czarnecki, M. Jakubowska, and T. Karamucki. 2004. Effect of hal genotype on normal and faulty meat frequency in hybrid fatteners. Pol. J. Food Nutr. Sci. 13:387–390.

Lahucky, R., L. L. Christian, L. Kovac, K. J. Stalder, and M. Bauerova. 1997. Meat quality assessed *ante-* and *post mortem* by different ryanodine receptor gene status of pigs. Meat Sci. 47:277–285.

Larzul, C., P. Le Roy, R. Guéblez, A. Talmant, J. Gogué, P. Sellier, and G. Monin. 1997. Effect of halothane genotype (NN, Nn, nn) on growth, carcass and meat quality traits of pigs slaughtered at 95 kg or 125 kg live weight. J. Anim. Breed. Genet. 114:309–320.

Larzul, C., S. Rousset-Akrim, P. Le Roy, J. Gogué, A. Talmant, P. Vernin, C. Touraille, G. Monin, and P. Sellier. 1996. Effet du génotype halothane sur la texture de la viande de porc. J. Rech. Porcine Fr. 28:39–44.

Leach, L. M., M. Ellis, D. S. Sutton, F. K. McKeith, and E. R. Wilson. 1996. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. J. Anim. Sci. 74:934–943.

Light, R. J., and D. B. Pillemer. 1984. Summing Up: The Science of Reviewing Research. Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.

Mantel, N., and W. Haenszel. 1959. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. J. Natl. Cancer Inst. 22:719–748.

McPhee, C. P., and G. R. Trout. 1995. The effects of selection for lean growth and the halothane allele on carcass and meat quality of pigs transported long and short distances to slaughter. Livest. Prod. Sci. 42:55–62.

Miller, K. D., M. Ellis, F. K. Mckeith, and E. R. Wilson. 2000. Influence of sire line and halothane genotype on growth performance, carcass characteristics, and meat quality in pigs. Can. J. Anim. Sci. 80:319–327.

Monin, G., C. Larzul, P. Le Roy, J. Culioli, J. Mourot, S. Rousset-Akrim, A. Talmant, C. Touraille, and P. Sellier. 1999. Effects of the halothane genotype and slaughter weight on texture of pork. J. Anim. Sci. 77:408–415.

Mormède, P., R. Dantzer, R. M. Bluthe, and J. C. Caritez. 1984. Differences in adaptive abilities of three breeds of Chinese pigs. Behavioural and neuroendocrine studies. Genet. Sel. Evol. 16:85–102.

Sather, A. P., S. D. M. Jones, and A. K. W. Tong. 1991a. Halothane genotype by weight interactions on lean yield from pork carcasses. Can. J. Anim. Sci. 71:633–643.

Sather, A. P., S. D. M. Jones, A. K. W. Tong, and A. C. Murray. 1991b. Halothane genotype by weight interactions on pig meat quality. Can. J. Anim. Sci. 71:645–658.

Sather, A. P., W. M. Robertson, S. D. M. Jones, and S. M. Zawadski. 1998. An evaluation of a terminal sire line for feedlot performance, carcass composition, and meat quality. Can. J. Anim. Sci. 78:561–574.

Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, and N. R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. Animal 2:1203–1214.

Searle, S. R., G. Casella, and C. E. McCulloch. 1992. Variance Components. In Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics. John Wiley and Sons, New York, NY.

Sellier, P. 1998. Genetics of meat and carcass traits. Pages 463–510 in The Genetics of the Pig. M. F. Rothschild and A. Rubinsky, ed. CAB Int., Wallingford, UK.

Sellier, P., and G. Monin. 1994. Genetics of pig meat quality. J. Muscle Foods 5:187–219.

Spiegelhalter, D., A. Thomas, N. Best, and D. Lunn. 2003. WinBUGS User Manual. Version 1.4, January 2003. http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/winbugs/manual14.pdf Accessed Jan. 2003.

St-Pierre, N. R. 2001. Invited Review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. J. Dairy Sci. 84:741–755.

Tam, L. G., E. P. Berg, D. E. Gerrard, E. B. Sheiss, F. J. Tan, M. R. Okos, and J. C. Forrest. 1998. Effect of halothane genotype on porcine meat quality and myoglobin autoxidation. Meat Sci. 49:41–53.

Terlouw, C., P. Rybarczyk, X. Fernandez, P. Blinet, and A. Talmant. 1997. Comparaison de la réactivité au stress des porcs de races Large White et Duroc. Conséquences sur des indicateurs de qualités des viandes. J. Rech. Porcine Fr. 29:383–390.

Whitehead, A. 2002. Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.

Whitehead, A., and J. Whitehead. 1991. A general parametric approach to the meta-analysis of randomised clinical trials. Stat. Med. 10:1665–1677.

Wood, I. A., G. Moser, D. L. Burrell, K. L. Mengersen, and D. J. S. Hetzel. 2006. A meta-analytic assessment of a Thyroglobulin marker for marbling in beef cattle. Genet. Sel. Evol. 38:479–494.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

APPENDIX

Table A1. Summary of the 23 references used to construct the final database

Code[1]	Reference	Halothane genotype	Pig breed[2]	Sex	Slaughter wt, kg	pHu[3]	pH45[3]	L*[3]	a*[3]	b*[3]	DL[3]	Lean%[3]
Study 1	De Smet and al. (1996)	NN	BL	Castrated and gilts	100	5.59 ± 0.013	6.25 ± 0.030	50.8 ± 0.40	7.60 ± 0.15	13.80 ± 0.11	3.80 ± 0.27	59.10 ± 0.38
		Nn	P × BL	Castrated and gilts	100	5.60s ± 0.010	6.09 ± 0.021	51.0 ± 0.29	7.40 ± 0.11	13.70 ± 0.08	4.60 ± 0.19	59.60 ± 0.31
		nn	P × BL	Castrated and gilts	100	5.57 ± 0.024	5.76 ± 0.050	54.7 ± 0.69	7.40 ± 0.26	15.00 ± 0.20	6.00 ± 0.46	61.40 ± 0.59
Study 2	Fisher et al. (2000)	NN	L × LW	Castrated and gilts	86	5.62 ± 0.032	6.22 ± 0.051	42.0 ± 0.47	5.51 ± 0.18	6.74 ± 0.20	—	67.50 ± 0.39
		Nn	L × LW	Castrated and gilts	86	5.60 ± 0.038	5.94 ± 0.061	43.5 ± 0.56	5.40 ± 0.22	6.67 ± 0.24	—	68.10 ± 0.47
		nn	L × LW	Castrated and gilts	86	5.44 ± 0.041	5.36 ± 0.066	45.6 ± 0.61	5.81 ± 0.24	7.20 ± 0.26	—	69.70 ± 0.51
Study 3	Fernandez et al. (2002), Exp. 1	NN	P × LW	Castrated	105	5.52 ± 0.03	6.52 ± 0.05	53.6 ± 1.10	5.90 ± 0.40	4.10 ± 0.20	—	—
		Nn	P × LW	Castrated	105	5.48 ± 0.01	6.19 ± 0.09	54.7 ± 0.70	6.30 ± 0.40	3.90 ± 0.20	—	—
		nn	P × LW	Castrated	105	5.46 ± 0.03	5.65 ± 0.09	60.9 ± 1.60	7.50 ± 0.60	5.70 ± 0.50	—	—
Study 4	Fernandez et al. (2002), Exp. 2	NN	P × LW	Castrated	105	—[4]	—	48.2 ± 1.10	5.70 ± 0.50	3.00 ± 0.20	—	—
		Nn	P × LW	Castrated	105	—	—	51.3 ± 1.10	7.10 ± 0.60	3.90 ± 0.20	—	—
		nn	P × LW	Castrated	105	—	—	52.6 ± 1.10	7.10 ± 1.10	4.10 ± 0.50	—	—
Study 5	Larzul et al. (1996)	NN	P × LW	Castrated and gilts	112	5.52 ± 0.02	6.36 ± 0.03	—	—	—	—	—
		Nn	P × LW	Castrated and gilts	112	5.55 ± 0.02	6.13 ± 0.03	—	—	—	—	—
		nn	P × LW	Castrated and gilts	112	5.60 ± 0.03	5.65 ± 0.04	—	—	—	—	—
Study 6	Hanset et al. (1995)	NN	P × LW	Castrated and gilts	105	6.01 ± 0.01	6.15 ± 0.02	—	—	—	—	63.17 ± 0.13
		Nn	P × LW	Castrated and gilts	105	5.96 ± 0.01	5.91 ± 0.01	—	—	—	—	63.95 ± 0.10
		nn	P × LW	Castrated and gilts	105	5.95 ± 0.01	5.80 ± 0.02	—	—	—	—	65.54 ± 0.14
Study 7	McPhee and Trout (1995), Exp. 1	NN	LW × L	Gilts	96	5.84 ± 0.07	6.40 ± 0.05	50.8 ± 0.40	7.60 ± 0.15	13.80 ± 0.11	3.80 ± 0.27	—
		Nn	LW × L	Gilts	96	5.89 ± 0.08	6.23 ± 0.05	51.0 ± 0.29	7.40 ± 0.11	13.70 ± 0.08	4.60 ± 0.19	—
		nn	LW × L	Gilts	96	5.90 ± 0.09	5.96 ± 0.06	54.7 ± 0.69	7.40 ± 0.26	15.00 ± 0.20	6.00 ± 0.46	—
Study 8	McPhee and Trout (1995), Exp. 2	NN	LW × L	Gilts	96	5.54 ± 0.05	6.41 ± 0.09	—	—	—	5.98 ± 0.57	—

Continued

Table A1 (Continued). Summary of the 23 references used to construct the final database

Code[1]	Reference	Halothane genotype	Pig breed[2]	Sex	Slaughter wt, kg	pHu[3]	pH45[3]	L*[3]	a*[3]	b*[3]	DL[3]	Lean%[3]
		Nn	LW × L	Gilts	96	5.51 ± 0.05	6.18 ± 0.08	—	—	—	6.29 ± 0.56	—
		nn	LW × L	Gilts	96	5.50 ± 0.06	5.52 ± 0.11	—	—	—	4.89 ± 0.72	—
Study 9	Klont and Lambooy (1995a)	NN	L	Castrated	82	5.59 ± 0.05	6.65 ± 0.04	55.83 ± 1.40	5.50 ± 0.35	14.64 ± 0.15	3.80 ± 0.49	—
		Nn	L × BL	Castrated	82	5.46 ± 0.05	6.38 ± 0.05	58.67 ± 0.92	5.66 ± 0.45	15.45 ± 0.37	3.70 ± 0.42	—
		nn	BL	Castrated	82	5.44 ± 0.04	6.08 ± 0.14	57.95 ± 1.18	6.10 ± 0.26	15.10 ± 0.35	8.10 ± 1.25	—
Study 10	Klont et al. (1994)	NN	L	Castrated	100	5.67 ± 0.03	6.74 ± 0.04	52.53 ± 0.98	5.45 ± 0.25	13.90 ± 0.28	2.60 ± 0.30	—
		Nn	L × BL	Castrated	100	5.56 ± 0.03	6.66 ± 0.02	55.91 ± 0.97	6.39 ± 0.22	15.33 ± 0.25	3.10 ± 0.30	—
		nn	BL	Castrated	100	5.53 ± 0.02	6.55 ± 0.05	56.97 ± 0.58	6.05 ± 0.22	15.18 ± 0.16	4.40 ± 0.50	—
Study 11	Klont et al. (1993)	NN	L	Castrated	120	5.58 ± 0.03	6.73 ± 0.04	49.83 ± 1.32	7.58 ± 0.35	14.06 ± 0.49	—	—
		Nn	L × BL	Castrated	120	5.57 ± 0.05	6.68 ± 0.05	52.63 ± 1.37	7.11 ± 0.49	14.59 ± 0.47	—	—
		nn	BL	Castrated	120	5.56 ± 0.04	6.63 ± 0.07	53.80 ± 1.34	6.64 ± 0.43	14.59 ± 0.27	—	—
Study 12	Kocwin-Podsiadla et al. (1995)	NN	PL	Castrated and gilts	100	5.51 ± 0.03	6.23 ± 0.05	—	—	—	—	—
		Nn	PL	Castrated and gilts	100	5.47 ± 0.03	6.11 ± 0.07	—	—	—	—	—
		nn	PL	Castrated and gilts	100	5.48 ± 0.03	5.71 ± 0.10	—	—	—	—	—
Study 13	Depreux et al. (2002)	NN	C1	Gilts	120	—	—	42.37 ± 0.6	10.51 ± 0.36	10.15 ± 0.25	5.68 ± 0.43	—
		Nn	C1	Gilts	120	—	—	42.56 ± 0.6	10.77 ± 0.36	10.65 ± 0.25	3.91 ± 0.43	—
		nn	C1	Gilts	120	—	—	46.24 ± 0.7	10.71 ± 0.43	11.08 ± 0.28	5.55 ± 0.51	—
Study 14	Klont and Lambooy (1995b), Exp. 1	NN	L	Castrated	115	—	—	54.80 ± 1.13	6.75 ± 0.59	14.76 ± 0.36	2.80 ± 0.40	—
		Nn	L × BL	Castrated	115	—	—	54.59 ± 0.87	7.45 ± 0.42	15.11 ± 0.29	4.20 ± 0.60	—
		nn	BL	Castrated	115	—	—	57.48 ± 1.12	6.05 ± 0.51	14.82 ± 0.31	5.90 ± 1.10	—
Study 15	Klont and Lambooy (1995b), Exp. 2	NN	L	Castrated	115	—	—	56.56 ± 1.48	5.85 ± 0.38	14.55 ± 0.30	3.60 ± 0.30	—
		Nn	L × BL	Castrated	115	—	—	58.22 ± 2.23	6.74 ± 0.64	15.16 ± 0.33	6.60 ± 1.10	—

Continued

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Table A1 (Continued). Summary of the 23 references used to construct the final database

Code[1]	Reference	Halothane genotype	Pig breed[2]	Sex	Slaughter wt, kg	pHu[3]	pH45[3]	L*[3]	a*[3]	b*[3]	DL[3]	Lean%[3]
		nn	BL	Castrated	115	—	—	58.07 ± 1.56	6.28 ± 0.56	14.89 ± 0.35	8.40 ± 1.10	—
Study 16	Tam et al. (1998), Exp. 1	NN	C2	Castrated and gilts	80	—	—	49.10 ± 0.64	10.96 ± 0.26	13.48 ± 0.21	3.24 ± 0.37	—
		Nn	C2	Castrated and gilts	80	—	—	48.68 ± 0.64	11.18 ± 0.26	14.21 ± 0.21	2.30 ± 0.37	—
		nn	C2	Castrated and gilts	80	—	—	50.11 ± 0.71	11.84 ± 0.29	15.14 ± 0.24	4.18 ± 0.41	—
Study 17	Tam et al. (1998), Exp. 2	NN	C2	Castrated and gilts	115	—	—	49.44 ± 0.67	12.81 ± 0.36	14.70 ± 0.26	5.83 ± 0.44	—
		Nn	C2	Castrated and gilts	115	—	—	49.63 ± 0.67	13.03 ± 0.36	15.51 ± 0.25	3.92 ± 0.44	—
		nn	C2	Castrated and gilts	115	—	—	52.68 ± 0.75	12.60 ± 0.41	15.70 ± 0.29	5.94 ± 0.52	—
Study 18	Lahucky et al. (1997)	NN	C3	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	4.00 ± 0.90	—
		Nn	C3	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	7.90 ± 0.70	—
		nn	C3	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	8.60 ± 0.90	—
Study 19	Aalhus et al. (1997)	NN	Lac	Castrated and gilts	106	—	—	—	—	—	3.77 ± 0.32	—
		Nn	Lac	Castrated and gilts	106	—	—	—	—	—	4.33 ± 0.32	—
		nn	Lac	Castrated and gilts	106	—	—	—	—	—	4.70 ± 0.32	—
Study 20	Franco et al. (2008)	NN	P × LW × L	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	2.08 ± 0.29	55.56 ± 0.54
		Nn	P × LW × L	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	2.76 ± 0.37	56.31 ± 0.67
		nn	P × LW × L	Castrated and gilts	90	—	—	—	—	—	3.40 ± 0.42	58.04 ± 0.77
Study 21	Leach et al. (1996)	NN	Pic405 × PicCamborough[5]	Castrated and gilts	125	—	—	—	—	—	—	53.80 ± 0.70
		Nn	Pic405 × PicCamborough	Castrated and gilts	125	—	—	—	—	—	—	55.10 ± 0.70
Study 22	Fàbrega et al. (2002)	NN	P × (L × LW)	Gilts	115	—	—	—	—	—	—	58.69 ± 0.27
		Nn	(LW × P) × (L × LW)	Gilts	115	—	—	—	—	—	—	60.85 ± 0.49
Study 23	Sather et al. (1998)	NN	L × (LW × L)	Castrated and gilts	110	—	—	—	—	—	—	55.50 ± 0.37
		Nn	L × (LW × L)	Castrated and gilts	110	—	—	—	—	—	—	56.80 ± 0.38
Study 24	Eggert et al. (2002)	NN	LW × L	Gilts	125	—	—	—	—	—	—	50.22 ± 1.32

Continued

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

Table A1 (Continued). Summary of the 23 references used to construct the final database

Code[1]	Reference	Halothane genotype	Pig breed[2]	Sex	Slaughter wt, kg	pHu[3]	pH45[3]	L*[3]	a*[3]	b*[3]	DL[3]	Lean%[3]
		Nn	LW × L	Gilts	125	—	—	—	—	—	—	50.42 ± 1.32
Study 25	Kortz et al. (2004)	NN	(P × D) × (PLW × PL)	Castrated and gilts	100	—	—	—	—	—	—	53.21 ± 0.46
		Nn	(P × D) × (PLW × PL)	Castrated and gilts	100	—	—	—	—	—	—	53.45 ± 0.36
Study 26	Apple et al. (2002)	NN	(D × H) × (Y × L)	Castrated and gilts	110	—	—	—	—	—	—	46.60 ± 2.60
		Nn	(D × H) × (Y × L)	Castrated and gilts	110	—	—	—	—	—	—	52.10 ± 2.60
Study 27	Bridi et al. (2003)	NN	Cambrough22 × AGPIC419[6]	Castrated	90	—	—	—	—	—	—	54.40 ± 0.30
		Nn	Cambrough22 × AGPIC419	Castrated	90	—	—	—	—	—	—	56.00 ± 0.29

[1]Code identification of each experiment included in the meta-analysis. This code was used in the forest plots to describe each data set.

[2]List of breeds and crosses used in each experiment. Abbreviations: BL = Belgian Landrace; P = Piétrain; L = Landrace; LW = Large White; PL = Polish Landrace; C1 = composite 1 (an American commercial breed); C2 = composite 2 (an American commercial breed); C3 = composite 3 (crosses of 4 breeds: Yorkshire, Landrace, Piétrain, and Duroc); Lac = Laconie; D = Duroc; PLW = Polish Large White; H = Hampshire; Y = Yorkshire.

[3]Mean ± SE. pHu = ultimate pH; ph45 = pH at 45 min postmortem; L* = reflectance; a* = redness; b* = yellowness; DL = drip loss; lean% = lean percentage.

[4]Data not given by the reference.

[5]Commercial crossbred from lines of Pig Improvement Company Inc. (Franklin, KY).

[6]Crossbred of Cambrough22 (commercial crossbred from lines of Pig Improvement Company, Grong Grong, New South Wales, Australia) and AGPIC419 (commercial crossbred from lines of Agroceres Company, Rio Claro-São Paulo, Brazil).

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

References This article cites 49 articles, 9 of which you can access for free at:
http://jas.fass.org/cgi/content/full/88/9/2841#BIBL

Downloaded from jas.fass.org at INRA Institut National de la Recherche Agronomique on August 16, 2010.

ONLINE supplements appendix

The following graphical representation is a common way to display the individual study results and a combined estimate of effects, which is known as a forest plot. These plots are a series of lines and symbols representing a meta-analysis.

pHu

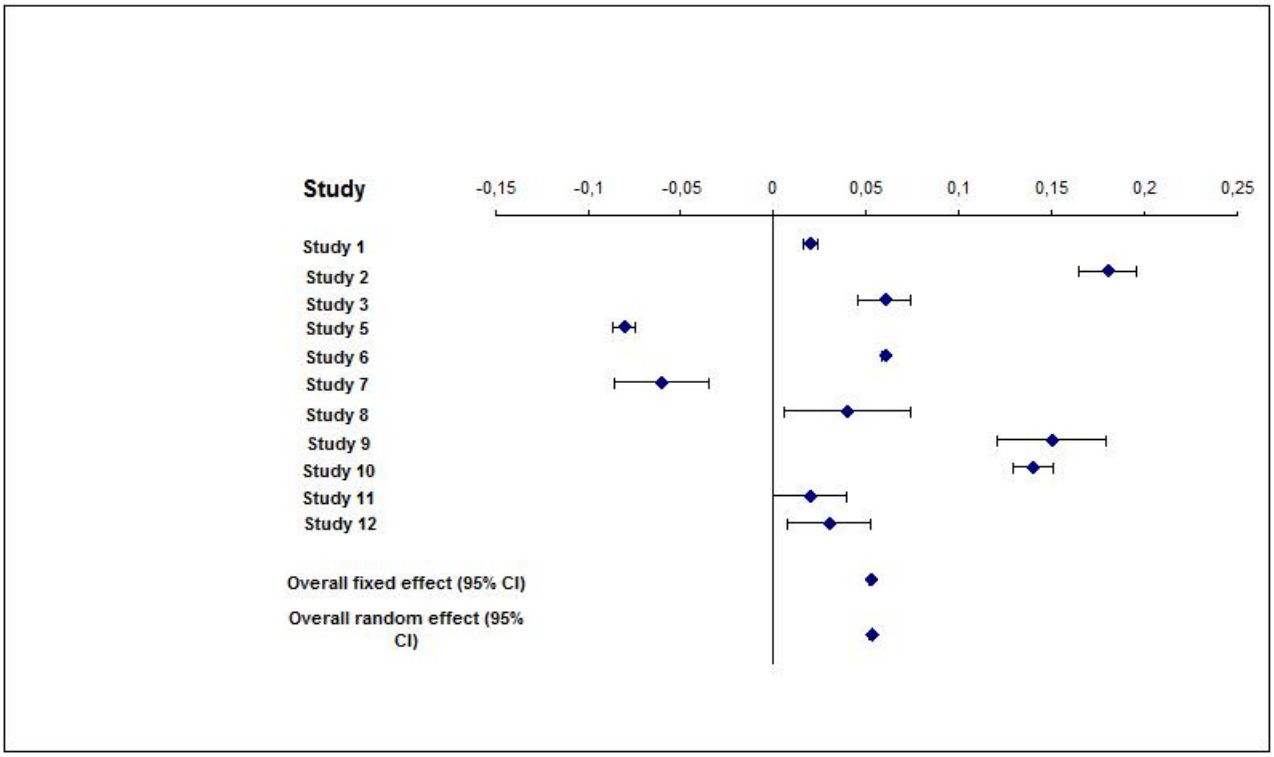


Figure1a: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pHu differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =34.31 (df = 10); overall random effect=0.054; P<0.05). Each study is represented by its code according to Table Appendix 1.

In this plot, the confidence interval (CI) for each study is represented by a horizontal line and the point estimate of the effect-size is represented by a filled diamond. The size of the diamond corresponds to the weight of the study in the meta-analysis.
The confidence interval for totals is represented by a diamond shape located at the bottom of the plot.
The scale used on the graph depends on the statistical method used for the estimation of the effect-size: mean difference, odds-ration….

Here, the effect-size estimate is the mean difference of pHu (ultimate pH) between NN and nn genotypes, i.e. the diamonds corresponds to the calculation of pHu(NN) – pHu(nn) for each study.

On other words, when the diamonds are located in the right side of the forest plot, it means that the results of the corresponding studies showed that pHu(NN) > pHu(nn). Conversely, when the diamonds are located in the opposite side, it means that the results of the corresponding studies showed that pHu(NN) < pHu(nn).

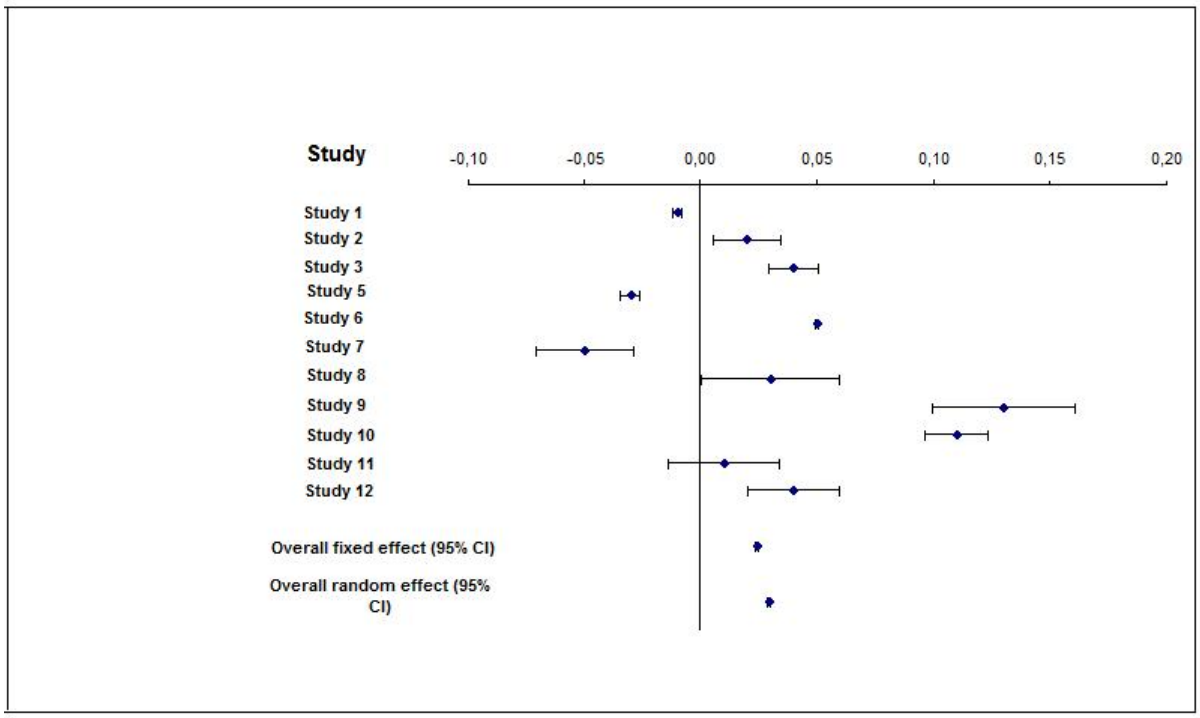


Figure1b: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pHu differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =19.46 (d.f = 10); overall random effect = 0.029 ; P<0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

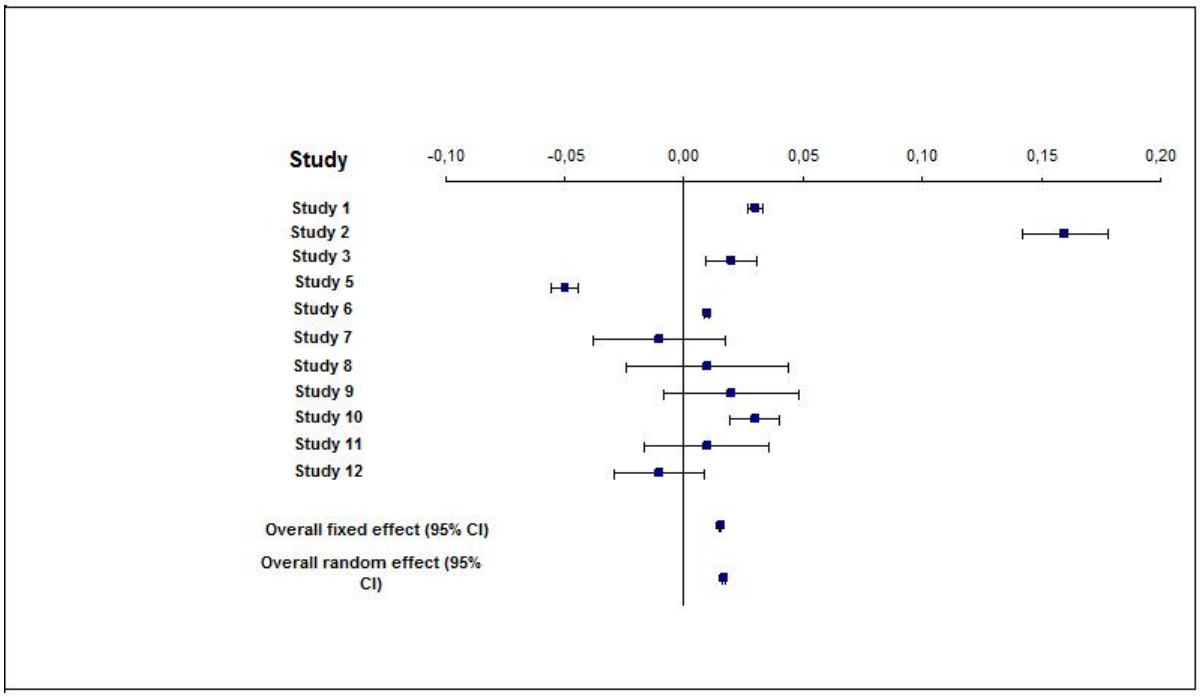


Figure1c: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pHu differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =11.85 (d.f = 10); overall random effect = 0.015; P>0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

pH45

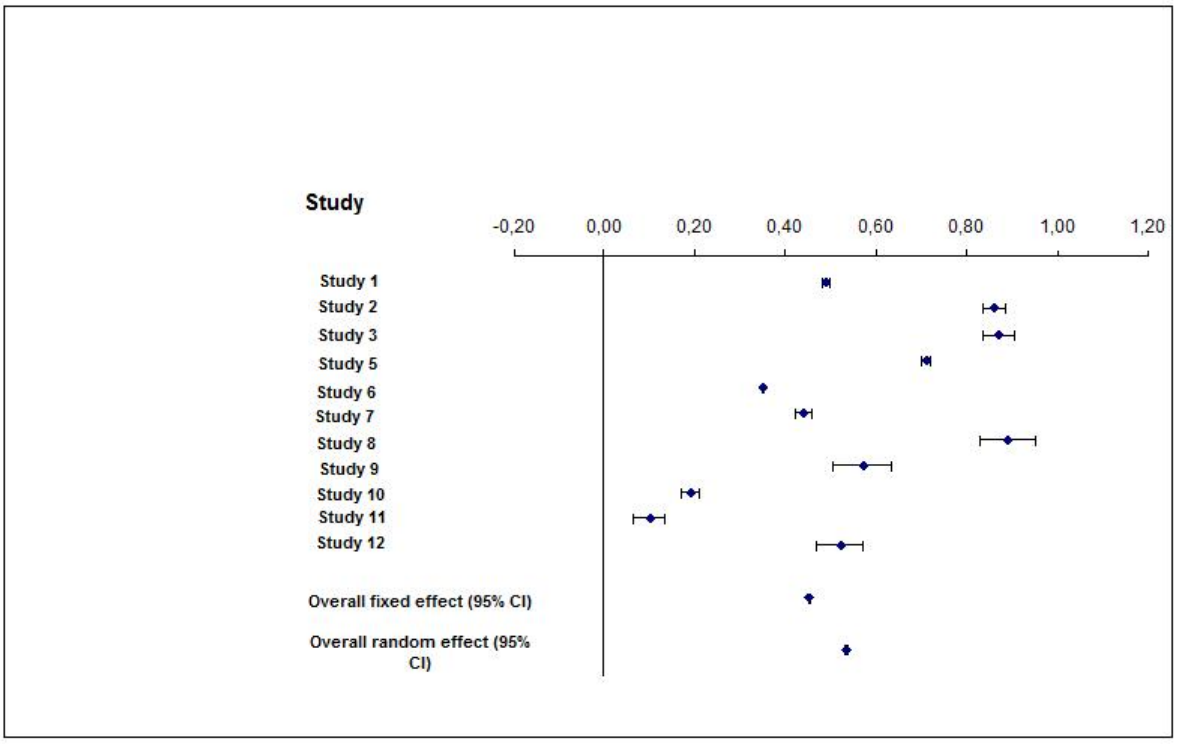


Figure2a: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pH45 differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =135.59 (d.f = 10); overall random effect = 0.536; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

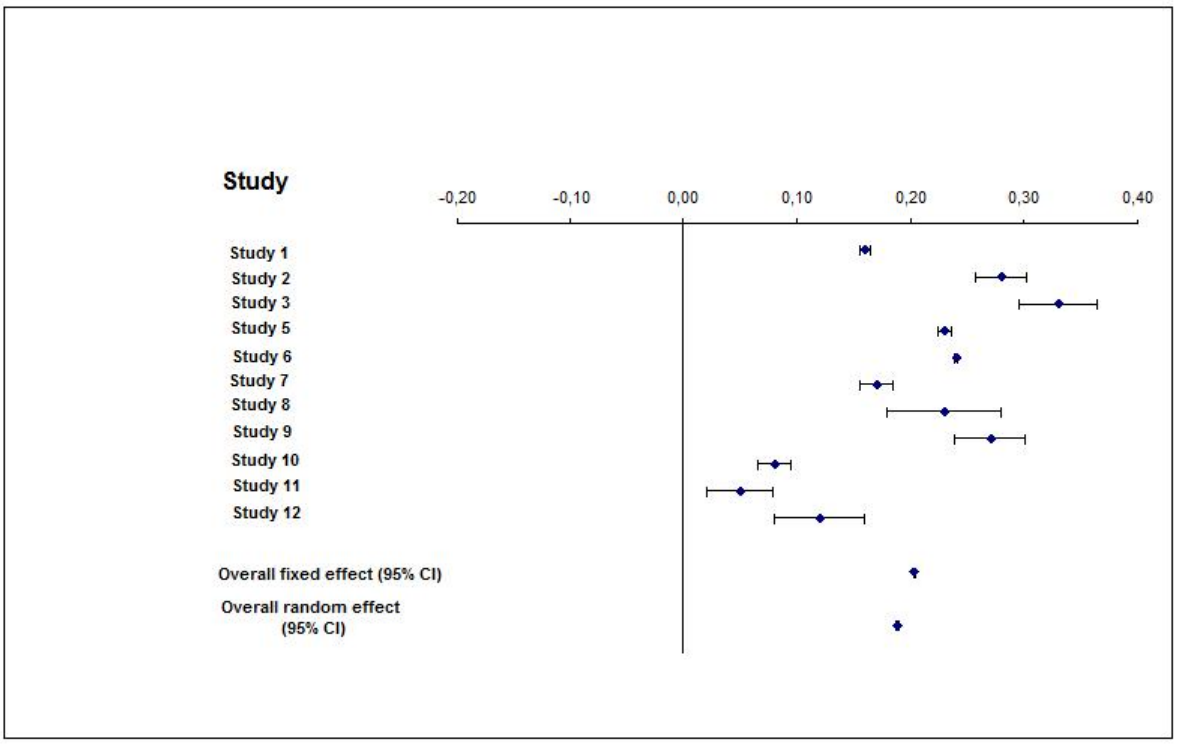


Figure2b: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pH45 differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =25.07 (d.f = 10); overall random effect = 0.188; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

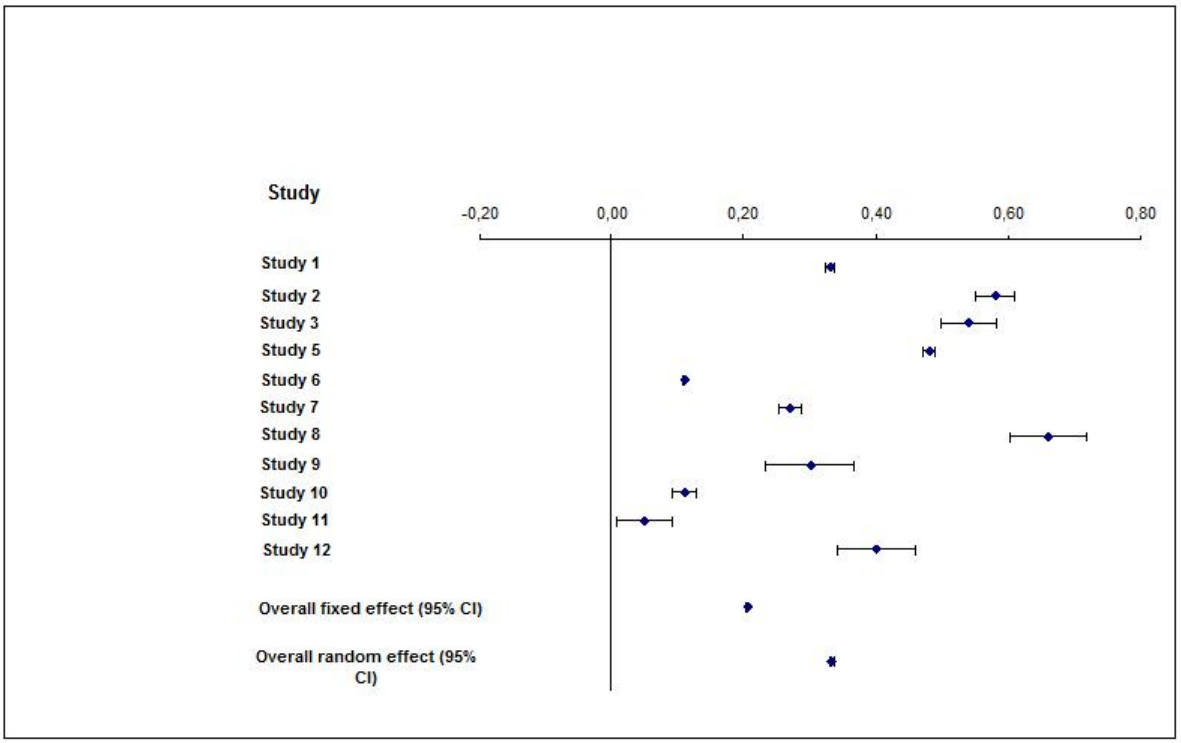


Figure2c: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on pH45 differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =90.71 (d.f = 10); overall random effect = 0.333; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

L*

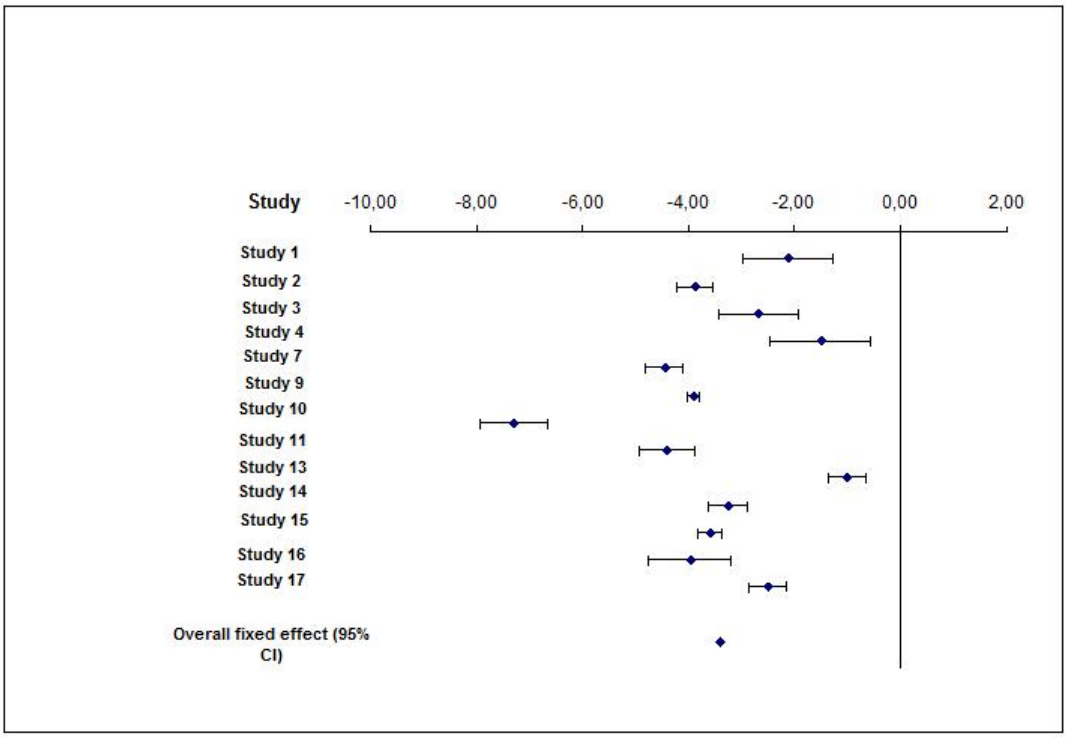


Figure3a: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on L* differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =15.29 (d.f = 12); overall fixed effect = -3.386; P<0.0001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

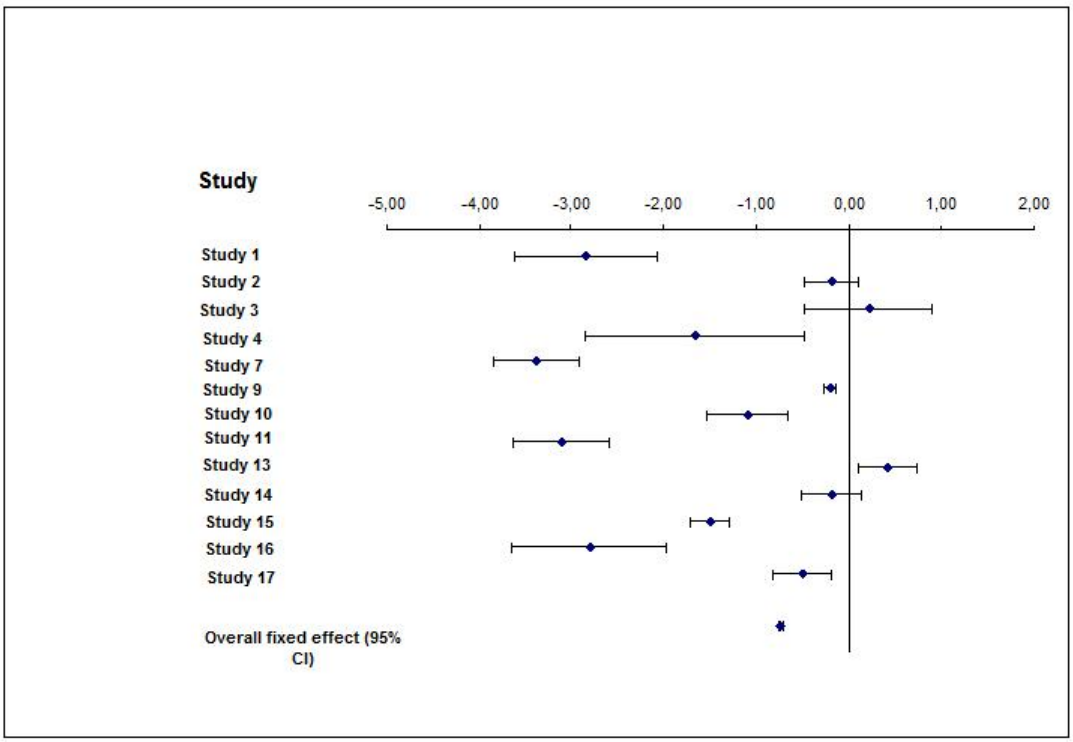


Figure3b: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on L* differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =15.16 (d.f = 12); overall fixed effect = -0.732; P<0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

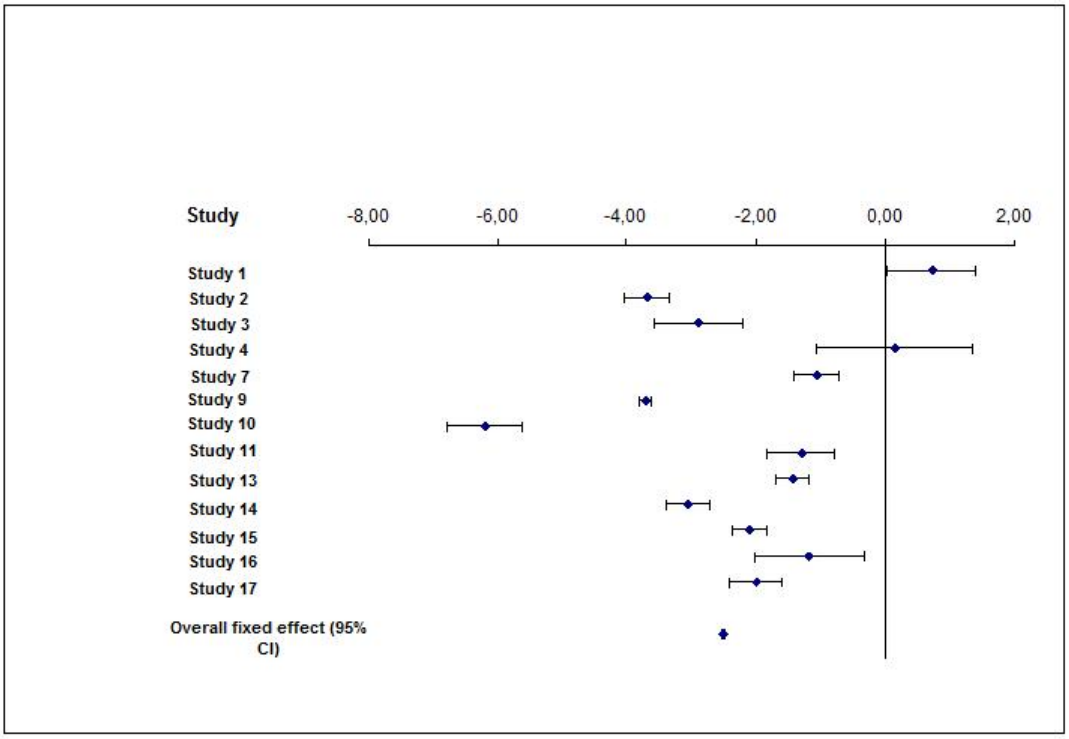


Figure3c: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on L* differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =20.4 (d.f = 12); overall fixed effect = -2.497; P<0.0001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

a*

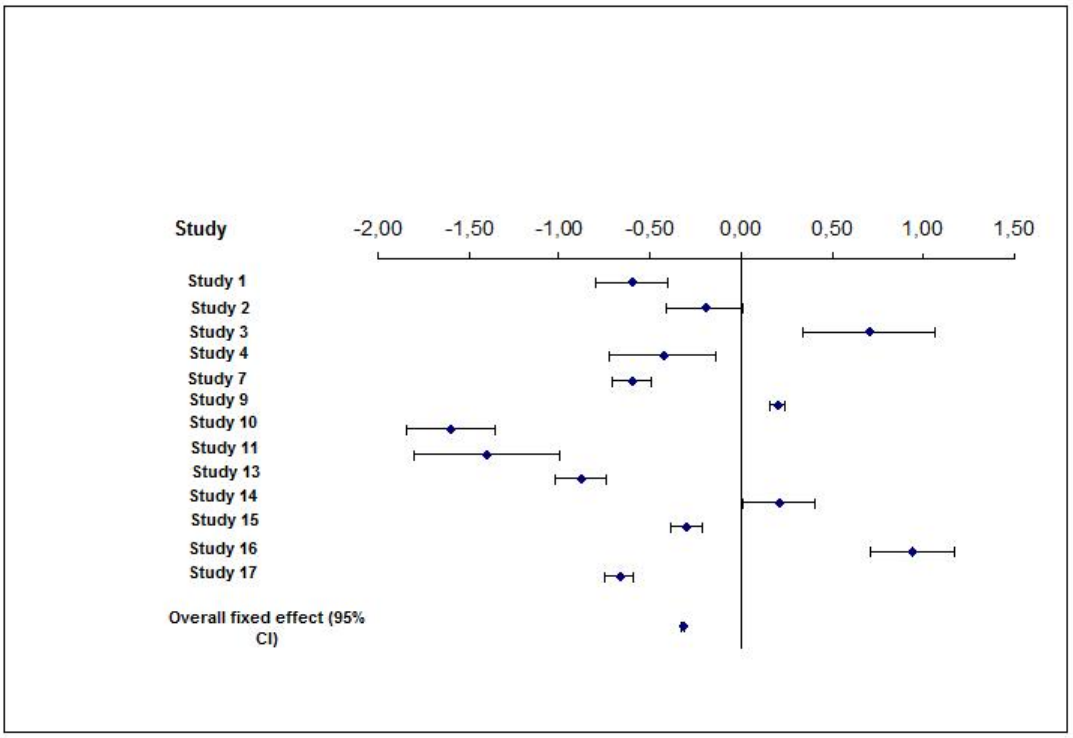


Figure4a: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on a* differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =20.8 (d.f = 12); overall fixed effect = -0.318; P<0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

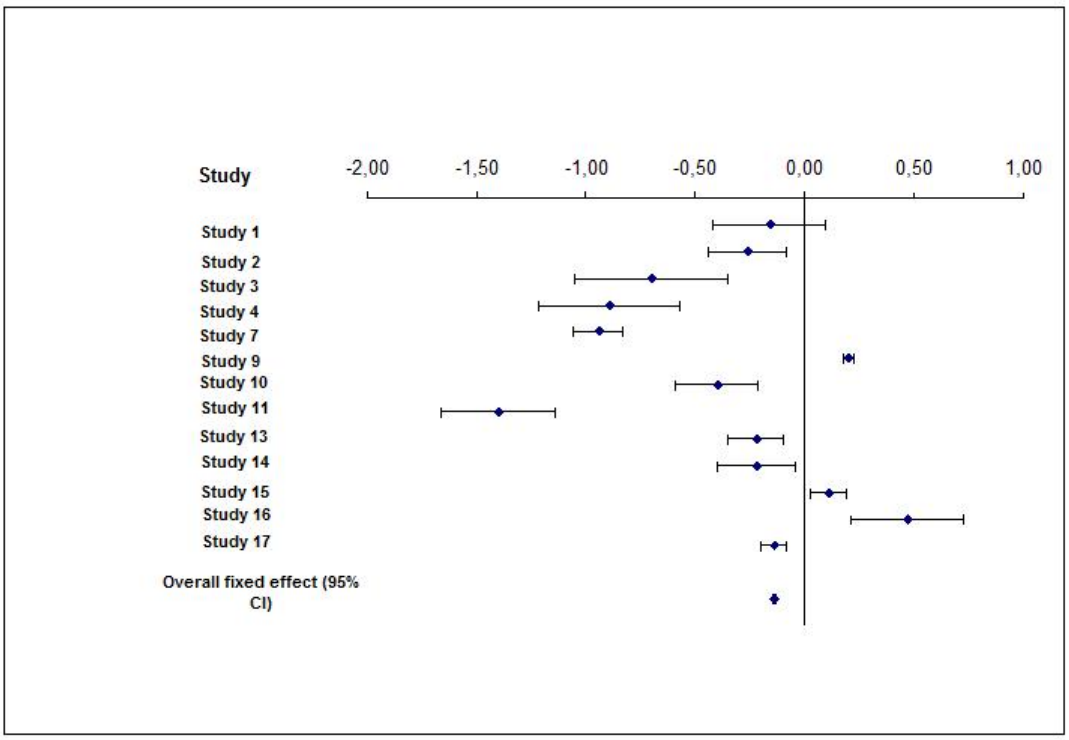


Figure4b: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on a* differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =16.76 (d.f = 12); overall fixed effect = -0.136; P>0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

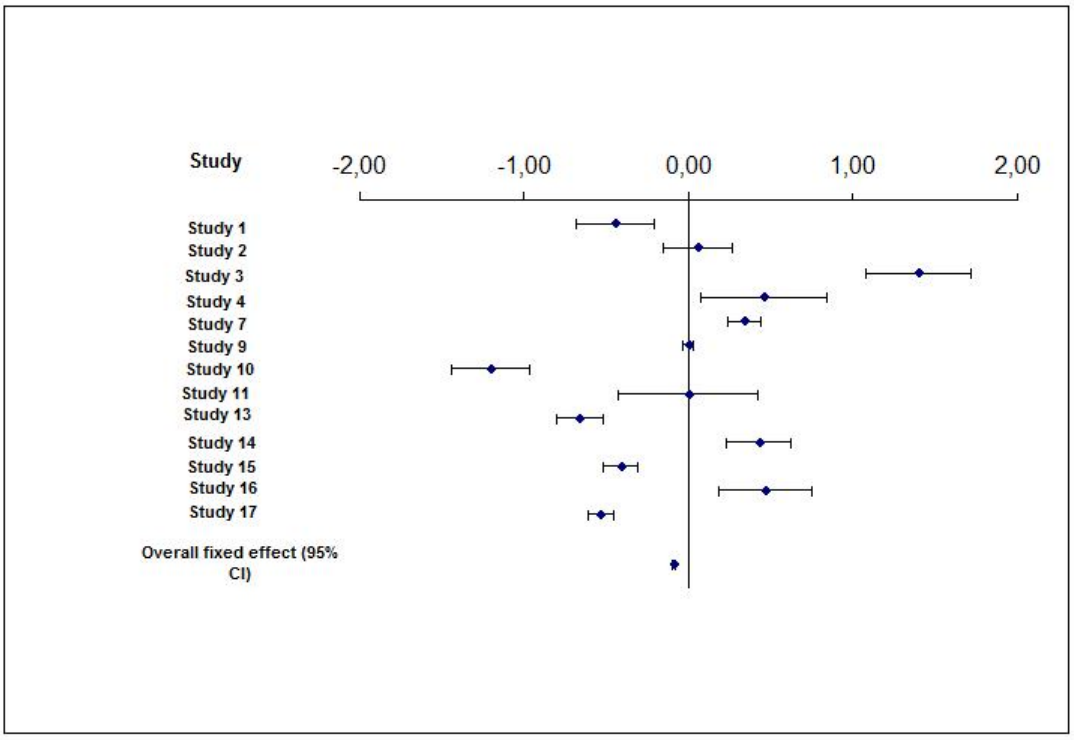


Figure4c: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on a* differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =18.19 (d.f = 12); overall fixed effect = -0.088; P>0.05). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

b*

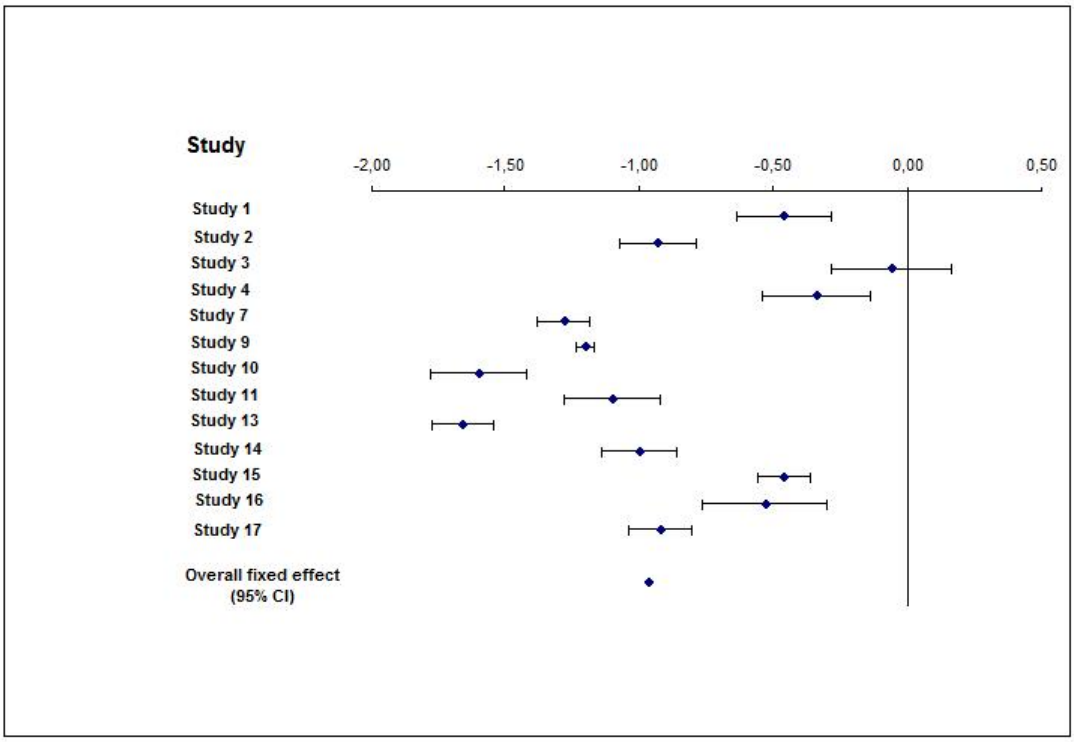


Figure5a: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on b* differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =20.41 (d.f = 12); overall fixed effect = -0.965; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

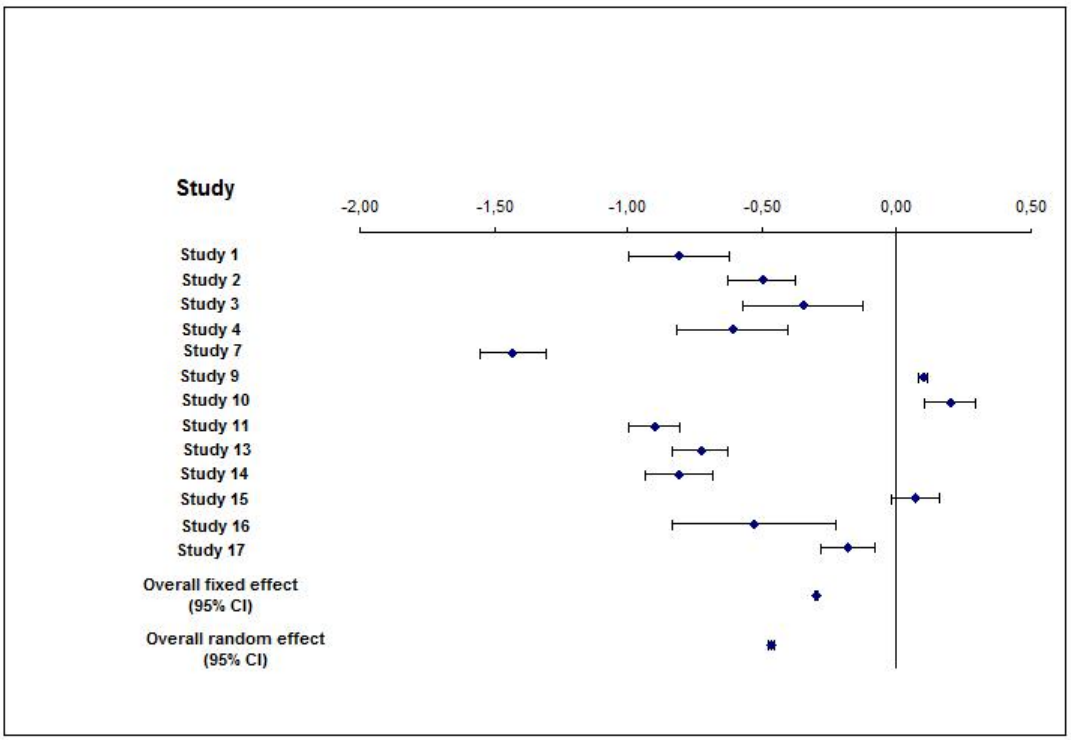


Figure5b: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on b* differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =35.69 (d.f = 12); overall random effect = -0.467; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

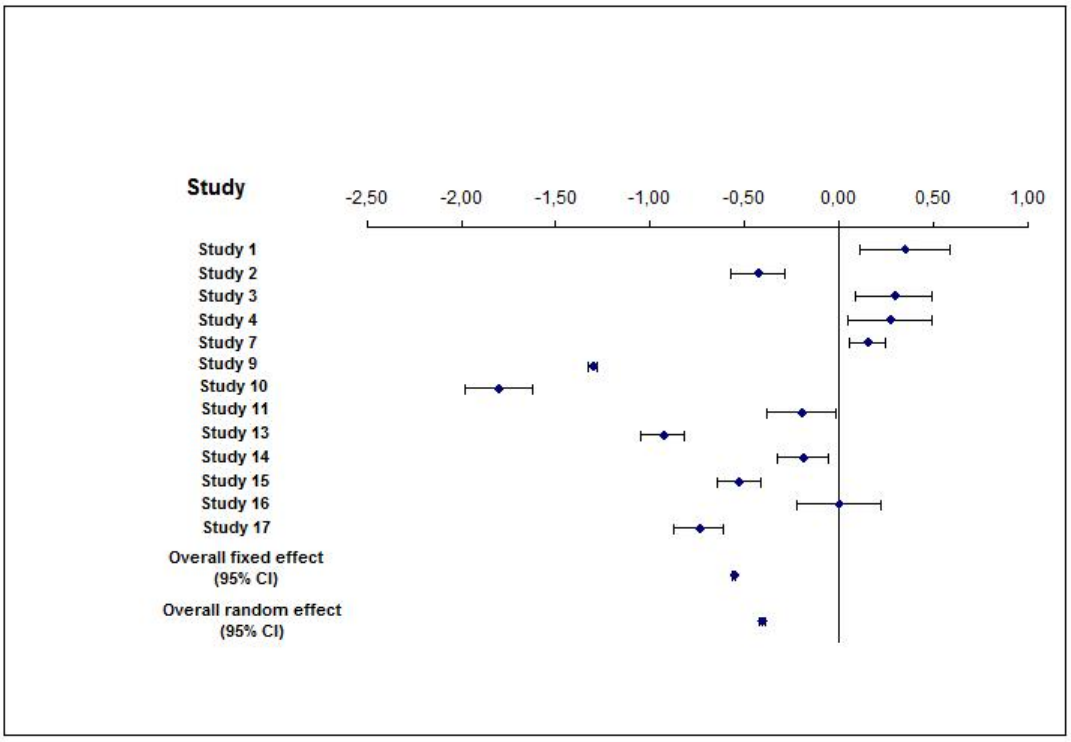


Figure5c: Individual study estimates of effect-size (mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on b* differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =45.49 (d.f = 12); overall random effect = -0.405; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

DL

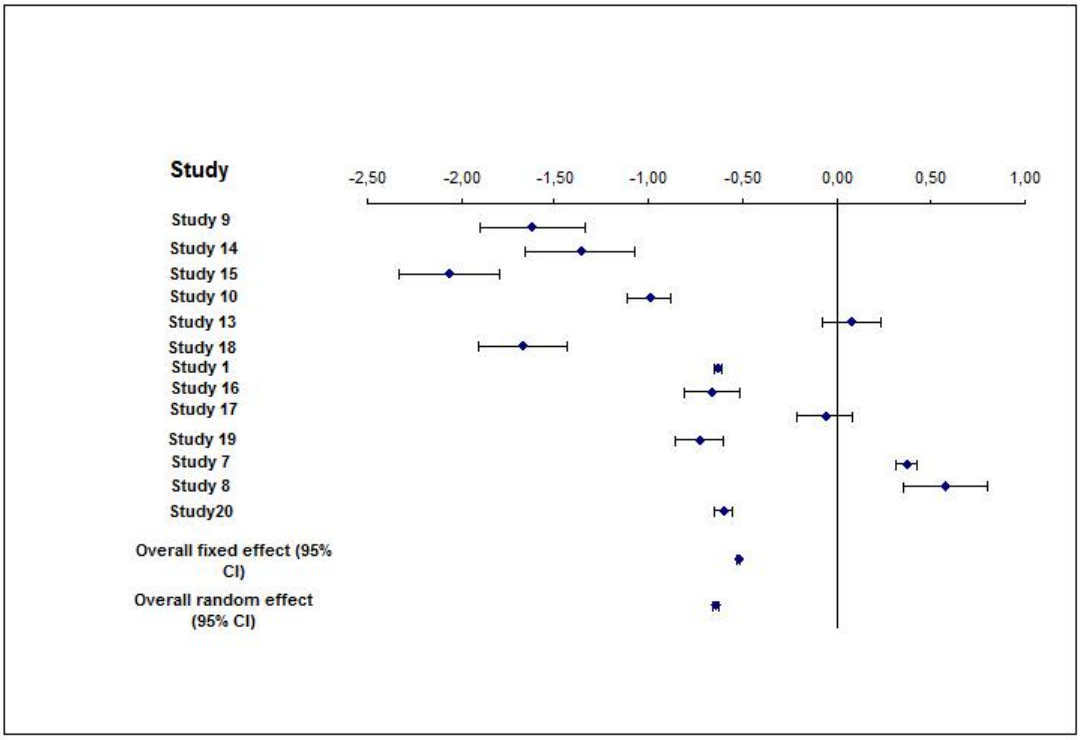


Figure6a: Individual study estimates of effect-size (standardized mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on DL differences between NN and nn genotypes (heterogeneity χ^2 =43.05 (d.f = 12); overall random effect = -1.668; P<0.01). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

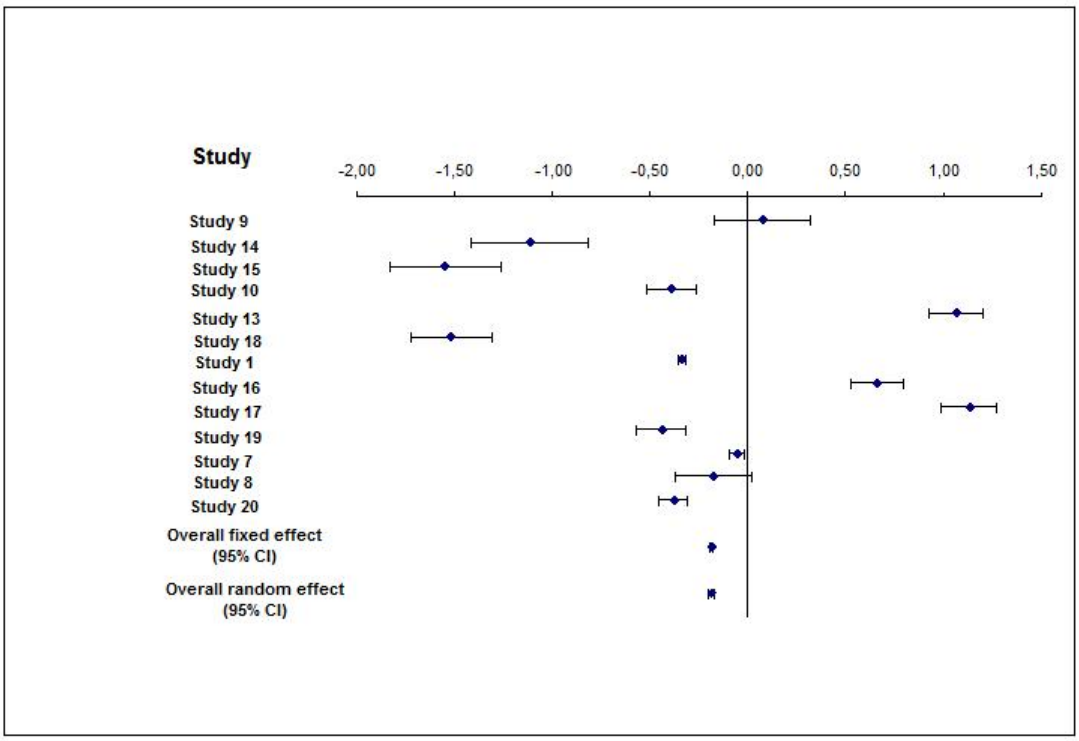


Figure6b: Idividual study estimates of effect-size (standardized mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on DL differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =45.35 (d.f = 12); overall random effect = -0.389; P=0.41). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

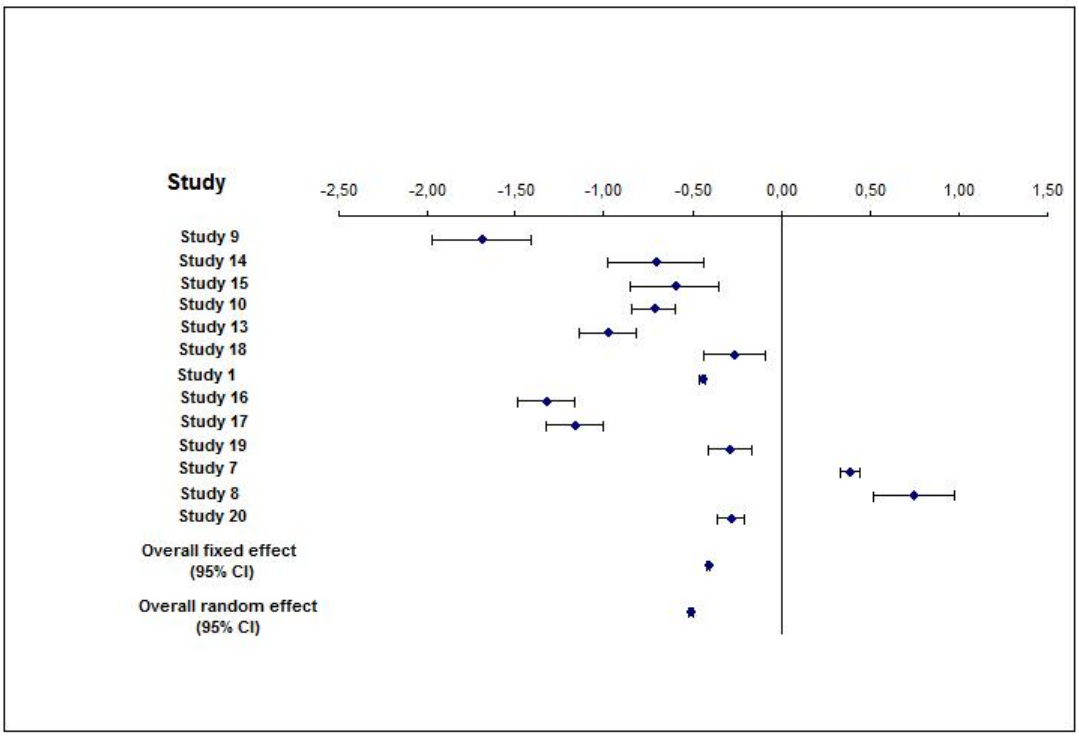


Figure6c: Individual study estimates of effect-size (standardized mean difference) and overall fixed and random effects with their 95% confidence interval on DL differences between Nn and nn genotypes (heterogeneity χ^2

=33.01 (d.f = 12); overall random effect = -1.303; P<0.01). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

Lean%

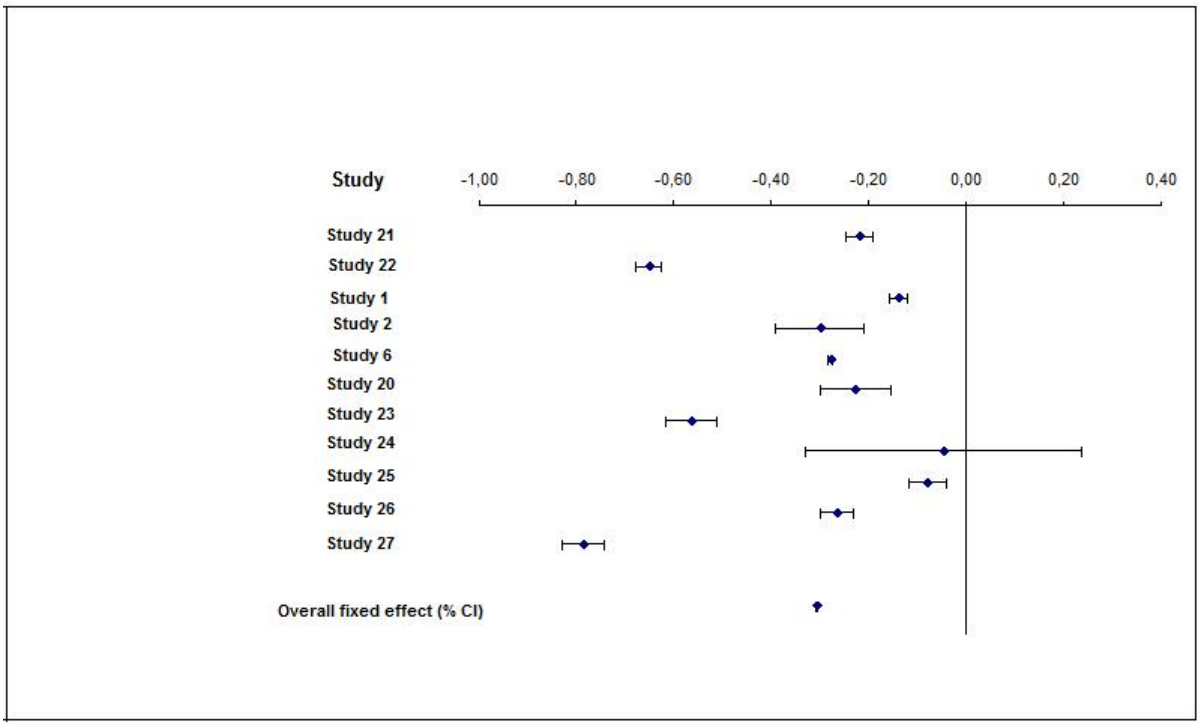


Figure7: Individual study estimates of effect-size (standardized mean difference) and overall fixed effect with their 95% confidence interval on lean% differences between NN and Nn genotypes (heterogeneity χ^2 =14.21 (d.f = 10); overall fixed effect = -0.975 ; P<0.001). Each study is represented by its code according to Appendix 1.

3. Méta-analyse de l'effet des facteurs de pré-abattage

Contexte de l'étude

La qualité des carcasses et des viandes de porc peut être améliorée par une meilleure maîtrise des conditions de pré-abattage des animaux. En effet les stress de toute nature qui surviennent au cours de ces opérations peuvent modifier le métabolisme musculaire avec des conséquences sur de nombreux critères de qualité (Bendall, 1973; Bradshaw *et al.,* 1996; Diestre, 1991; Terlouw et Rybarzcyk, 2008). Cependant, plusieurs contradictions existent dans la littérature concernant l'effet de certains facteurs de pré-abattage sur le métabolisme musculaire post-mortem. Pour une meilleure évaluation de l'effet de ces facteurs sur la qualité de viande, ces résultats doivent être objectivement et quantitativement analysés afin de mettre en évidence les lois de réponse et les relations existant entre ces facteurs et les paramètres de qualité de viande.

Ainsi, l'objet de ce deuxième article est une méta-analyse basée sur la combinaison des résultats de 27 publications correspondant à un effectif total de 6 526 animaux, et qui a pour objectif d'étudier l'effet des trois étapes clé de pré-abattage ayant un effet prononcé sur la qualité technologique de la viande de porc, il s'agit de : la durée de jeûne, du transport, de repos des animaux et de l'interaction transport x jeûne sur quatre des principaux paramètres de la qualité technologique de la viande : le pH45, le pHu, la couleur (L*) et les pertes d'exsudat (DL).

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant une approche basé sur un modèle hiérarchique bayésien qui, comparée à l'approche fréquentiste, présente l'avantage d'avoir une plus grande flexibilité car elle permet d'intégrer des informations, appelées *priors*, concernant les principaux paramètres du modèle bien avant que les données ne soient considérées afin d'améliorer les estimations de ces paramètres (Liermann et Hilborn, 1997).

La méta-analyse bayésienne présente également l'avantage de permettre une incorporation de différentes sources d'incertitude (Sutton *et al.,* 2000; Spiegelhalter *et al.,* 2004). Récemment, l'approche bayésienne hiérarchique est devenue très populaire grâce à ces avantages qui lui procurent des évaluations plus réalistes de l'incertitude concernant les paramètres à estimer (Carlin et Louis, 1996).

Résultats

Les résultats de cette méta-analyse ont montré l'effet des facteurs étudiés sur certains des paramètres étudiés. En effet, l'intervalle de crédibilité de l'estimation de l'effet du temps de jeûne sur le pHu mesuré au niveau du muscle *longissimus* n'incluait pas la valeur zéro, suggérant ainsi une probabilité de 95% à ce que le vrai effet soit différent de zéro. Nos résultats ont montré que le pHu mesuré au niveau du muscle *semimembranosus* n'est pas affecté par le temps de repos. Le transport et l'interaction transport x temps de jeûne semblaient affecter les variations de DL.

Le modèle hiérarchique bayésien qu'on a choisi pour mener cette étude est l'un des modèles hiérarchiques qui pourraient être utilisés dans le but de résoudre le problème de l'hétérogénéité entre études. Parmi les autres approches d'ajustement des modèles de méta-analyse, on cite le modèle mixte non linéaire. Le choix de l'une de ces approches doit être appuyé par des tests statistiques préliminaires.

Références

Bendall J.R., 1973. Post mortem changes in muscles. In : G.H. Bourne (ed.), The structure and function of muscle, 2nd Ed., Academic Press, New York.

Bradshaw R.H., Parrott R.F., Goode J.A., Lloyd D.M., Rodway R.G., Broom D.M., 1996. Behavioral and hormonal responses of pigs during transport: effect of mixing and duration of journey. *Journal of Animal Science*, 62, 547–554.

Carlin B.P., Louis T.A., 1996. Bayes and Empirical Bayes methods for data analysis. Monographs on Statistics and Applied Probability. Vol. 69 (Chapman and Hall, ed.), London, U.K.

Diestre A., 1991. Principal problems of pork meat quality. *In : Proceedings of the Scientific conference SEPOR'91,* Septembre, Lorca, Spain.

Liermann M., Hilborn R., 1997. Depensation in fish stocks: a hierarchic Bayesian meta-analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 1976–1985.

Spiegelhalter D.J., Abrams K.R., Myles J.P., 2004. Bayesian approaches to clinical trials and health-care evaluations, JohnWiley&Sons, Chichester, UK, 80–85.

Sutton A.J., Abrams K.R., Jones D.R., Sheldon T.A., Song F., 2000. Methods for meta-analysis. Wiley, London, UK.

Terlouw E.M.C., Rybarzcyk P., 2008. Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: The case of Large White and Duroc pigs. *Meat Science*, 79, 795-805.

Article 2 : Article paru dans Meat Science

B. Salmi, L. Trefan, L. Bünger, A. Doeschl-Wilson, J.P. Bidanel, C. Terlouw, C. Larzul. 2012

Bayesian meta–analysis of the effect of fasting, transport and lairage times on four attributes of pork meat quality

Meat Sci. 90: 584–598.

Meat Science 90 (2012) 584–598

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Bayesian meta-analysis of the effect of fasting, transport and lairage times on four attributes of pork meat quality

B. Salmi [a,*], L. Trefan [b], L. Bünger [b], A. Doeschl-Wilson [b,1], J.P. Bidanel [a], C. Terlouw [c], C. Larzul [a]

[a] INRA, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78352 Jouy-en-Josas, France; AgroparisTech, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78352 Jouy-en-Josas, France
[b] Sustainable Livestock Systems Group, Scottish Agricultural College, King's Buildings, West-Mains Road Edinburgh, EH9 3JG, UK
[c] UR 1213 Herbivores, Institut National de la Recherche Agronomique Genès, F-63122 St. Genès Champanelle, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 23 March 2011
Received in revised form 26 September 2011
Accepted 29 September 2011

Keywords:
Meta-analysis
Fasting
Transport
Lairage
Meat quality
Pig

ABSTRACT

Technological meat quality is a significant economic factor in pork production, and numerous publications have shown that it is strongly influenced both by genetic status and by rearing and slaughter conditions. The quality of meat is often described by meat pH at different times *postmortem*, as well as by color and drip loss. A meta-analysis based on a database built from 27 studies corresponding to a total of 6526 animals classified was carried out. The purpose of this meta-analysis was to study the effect of fasting, lairage and transport durations on four main attributes of the technological pork meat quality. A Bayesian hierarchical meta-regression approach was adopted.

The results of our meta-analysis showed that fasting time had a significant effect on pH measured 24 h *post-mortem* (pHu) and drip loss (DL) measured in *longissimus* muscle. While, lairage affected only the pHu in *semimembranosus* muscle. Interestingly, we found that DL was the lone attribute that was affected by transport time and its interaction with fasting time.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Durations of food withdrawal, transport and lairage during the pre-slaughter period influence the physiology and behavior of pigs which may have negative consequences for *post-mortem* muscle metabolism and consequently, pH development and other meat quality indicators (Bendall, 1973; Bradshaw et al., 1996; Diestre, 1991; Terlouw & Rybarzcyk, 2008). However, there is conflicting information regarding the exact effects of the duration of these pre-slaughter procedures on *post-mortem* muscle metabolism and, consequently, meat quality. Food withdrawal of 22 h or 33 h before slaughter had inconsistent effects on early *post-mortem* pH (Nanni Costa, Lo Fiego, Dall'Olio, Davoli, & Russo, 2002; Sterten, Oksbjerg, Frøystein, Ekker, & Kjos, 2010) while it increased ultimate pH in most (Murray & Jones, 1994; Murray, Robertson, Nattress, & Fortin, 2001; Nanni Costa et al., 2002; Sterten et al., 2010) but not all studies (De Smet et al., 1996). Shorter durations of between 4 hours and 17.5 hours gave also contrasting results on ultimate pH (Beattie, Burrows, Moss, & Weatherup, 2002; Lynch et al., 1998; Murray et al., 2001; Sterten et al., 2010). Similarly, 9 h or 23 h of lairage increased ultimate pH values in various studies (Pérez et al., 2002; Sterten et al., 2009; Warriss, Brown, Edwards, & Knowles, 1998) but shorter lairage times of 3 to 5 h could increase (Fraqueza et al., 1998) or decrease ultimate pH (Carr, Newman, Rentfrow, Keisler, & Berg, 2008), or have no effect (Aaslyng & Barton-Gade, 2001; De Smet et al., 1996). *Post-mortem* pH development is known to have an effect on muscle lightness and water holding capacity (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005; Renerre, 1990) and consequently, the above cited studies found also contrasting effects on these meat quality indicators. To control better pork quality, the results of these studies would need to be objectively and quantitatively summarized in order to obtain knowledge on general response laws on the relationships between food withdrawal and lairage durations and subsequent meat quality traits.

More consensually, early and ultimate muscle pH was found to increase with longer transport durations in various studies (Leheska, Wulf, & Maddock, 2003; Martoccia, Brambilla, Macri, Moccia, & Cosentino, 1995; Mota-Rojas et al., 2006). However, although the direction of the effect of longer transport time is rather uniform across studies, we currently lack an objective appraisal of the quantitative effect of increasing transport duration on pork quality indicators.

Meta-analysis is a method that allows to summarize quantitatively published results by combining them in a single analysis in a statistically sound way (DuMouchel, 1990). This method increases statistical power and is particularly useful to obtain more generalized results

* Corresponding author. Tel.: +33 134652833; fax: +33 134652210.
E-mail address: btissam.salmi@jouy.inra.fr (B. Salmi).
[1] Division of Genetics and Genomics, The Roslin Institute, R(D)SVS, University of Edinburgh, EH25 9PS, Roslin, Midlothian, United Kingdom.

0309-1740/$ – see front matter © 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.meatsci.2011.09.021

when those from independent studies are contradictory (Cucherat, Boissel, & Leizorovicz, 2002).

Comparing to the frequentist approach, the Bayesian approach has the advantage of its greater flexibility in utilizing other (often prior) information or relationships, and the ability to make useful probability statements on the basis of all information. Other advantages of a Bayesian meta-analysis include the straightforward way of making predictions, and the possibility of incorporating different sources of uncertainty (Spiegelhalter, Abrams, & Myles, 2004b; Sutton, Abrams, Jones, Sheldon, & Song, 2000). Recently, the hierarchical Bayesian approach has enjoyed considerable popularity because it permits estimation of a very broad class of models and may produce more realistic assessments of the uncertainty of parameter estimates (Carlin & Louis, 1996).

The aim of the present study was to use a Bayesian meta-analysis to estimate the effect of the three main components of the pre-slaughter handling affecting technological meat quality: fasting, transport, lairage and the interaction transport × fasting on four of the most important pig meat quality attributes: muscle pH measured 45 min (pH45) or 24 h (ultimate pH; pHu) *postmortem*, color coordinate of lightness (L*), and drip loss (DL). We used hierarchical Bayesian models that incorporate information from other data sets to provide improved estimates for a single data set (Liermann & Hilborn, 1997).

2. Materials and methods

Animal Care and Use Committee approval was not obtained for this study because the data were obtained from an existing database.

2.1. Data collection

A first criterion for selecting a publication was that it reported the effect of one of the three pre-defined pre-slaughter factors: fasting (in a range of 0 to 72 h), lairage (in a range of 0 to 48 h) and transport (in a range of 0 to 24 h) durations, on one or more measurements of pork quality. The pork quality measurements extracted from studies included *longissimus* or *semimembranosus* muscle pH45 (pH measured at 45 min *postmortem*), pHu (pH measured 24 h *postmortem*), objective color and lightness determined with a Minolta Chroma Meter: CIE L* (CIE, 1978) measured 24 h *postmortem*, and drip loss (DL) as a measurement of weight loss determined after 24 h (DL24) or 48 h (DL48) of storage at 4 °C and expressed as a percentage of the initial weight of a muscle sample taken in *longissimus* muscle. In addition, the selected studies had to be published as reviewed papers or conference proceedings, in English or in French. The search was conducted through the Web of Science bibliographic database (http://www.isiwebofknowledge.com/).

The database included a maximum of general information (e.g., titles, author names, dates of publication), experimental characteristics (e.g., pre-slaughter treatment, season of the experiment, feed composition, breed, sex, castrate status and slaughter process), and other quantitative data (e.g., slaughter weight, slaughter age, statistics used in the original analysis that were necessary for the present meta-analysis). A total of fifteen publications were excluded because they did not give quantitative information on the duration of the studied factors, and some of them considered the combination of two or more pre-slaughter factors as a single treatment (Brown, Warriss, Nute, Edwards, & Knowles, 1997; Gispert et al., 2000; Støier, Aaslying, Olsen, & Henckel, 2001).

Publications reporting several experiments were dealt with by assigning a specific code for each experiment. Each observation in the meta-analysis corresponded to the mean or the Least Square mean (LSmean) of each treatment group. Treatment groups were then defined as the groups of treatments within an experiment that changed only due to the dependent variable of interest (Sauvant, Schmidely, & Daudin, 2005).

The selected publications were further required to provide an indication of intra-experimental variation, expressed either as SEM (or SE) or SD, for the mean of each treatment group. Publications in which this information was missing were excluded. Using this criterion restricted the bibliographic search yield to a total of 50 studies. Further selection based on reported effects of fasting, lairage, transport and the interaction between fasting and transport on the four analyzed attributes narrowed this number down to 27 publications published between 1985 and 2010 and included a total of 94 treatment groups (see Appendix Table A1), representing 6526 pigs. In the sensitivity analysis, the influence of each individual study was evaluated by estimating the overall effect in the absence of one or more studies.

2.2. Modelling approach

A Bayesian hierarchical meta-regression approach was adopted for the meta-analysis. Hierarchical Bayesian modeling is a technique that allows the combination of data from independent sources (Carlin & Louis, 1996; Gilks, Thomas, & Spiegelhalter, 1994). Specifically, hierarchical models have the ability to combine information from the dataset with extra information from other independent datasets (Liermann & Hilborn, 1997). While these different data sets represent individual populations, hierarchical models assume that there are common aspects between members of the group on which the date set is based and attempt to model that similarity (Myers & Mertz, 1998).

The Bayesian estimation procedure combines information from two sources. The first is the statistical model of the data, y, and the unknown parameters(s), θ, in the form of a probability distribution $f(y|\theta)$. The second is the prior probability of the parameters $\pi(\theta|\eta)$, where η are the parameters of the prior distribution and are known as "hyper-parameters" (Carlin & Louis, 1996). Bayesian inference is based on the posterior distribution $p(\theta|y,\eta)$ derived using Bayes Theorem:

$$p(\theta|y,\eta) = \frac{f(y|\theta)\pi(\theta|\eta)}{\int f(y|u)\pi(u|\eta)du}$$

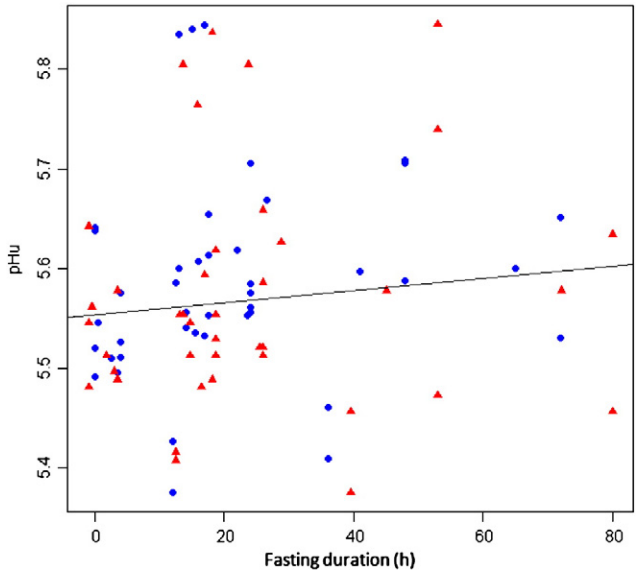


Fig. 1. Predicted changes in pHu in *M. Longissimus* (filled circles) with increasing fasting duration based on the best fitting: Bayesian hierarchical linear model (triangles symbolize the original data).

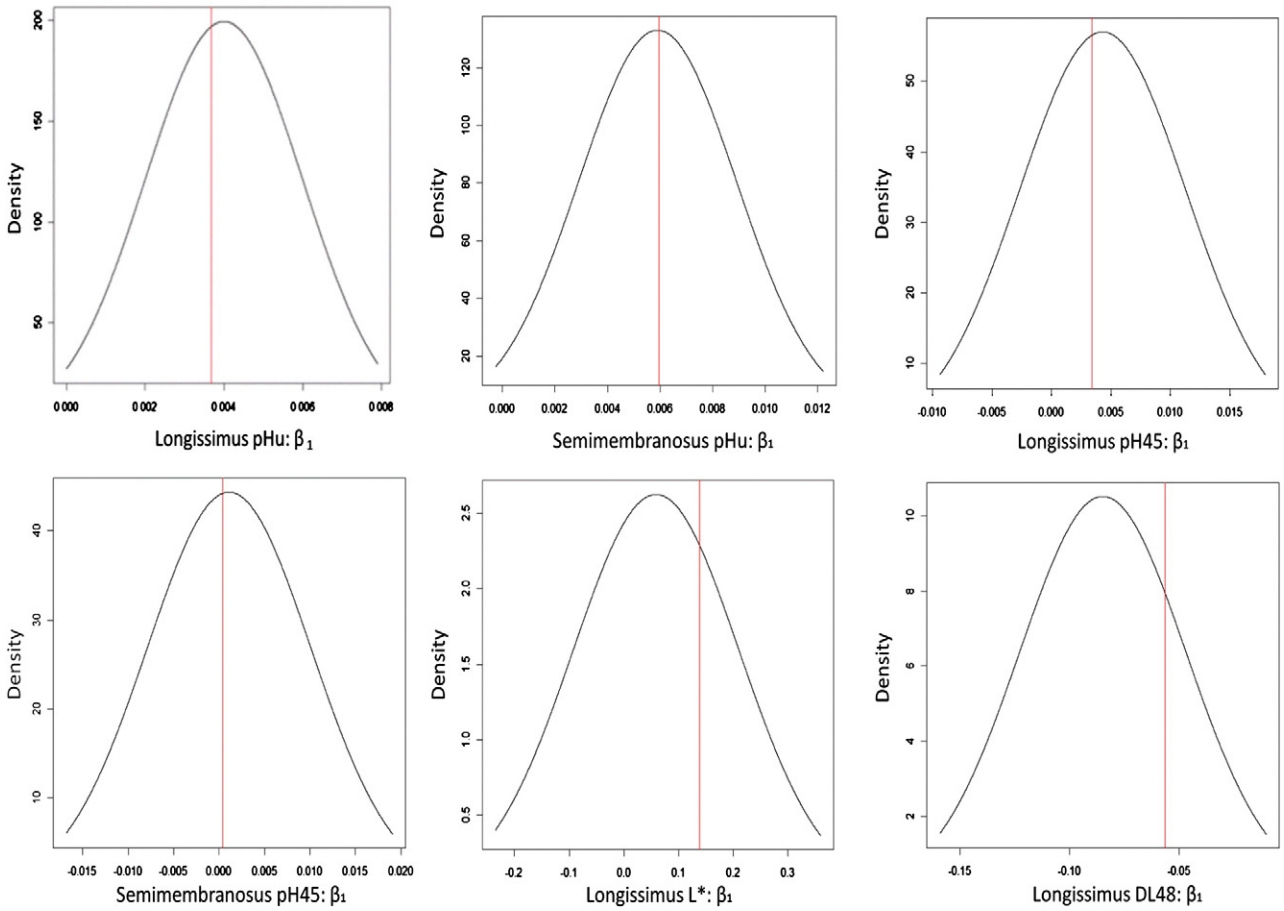


Fig. 2. Comparison of the fasting effect estimates of the observed data (vertical line) against posterior predictive distributions from the meta-analysis model (β_1 represents the regression coefficient of Y (pH45, pHu, L* or DL) on fasting time in both muscles: M. longissimus and semimembranosus).

This posterior distribution is used for Bayesian statistical inference as opposed to the frequentist approach, which uses $f(y|\theta)$ for inference.

2.2.1. Statistical analysis

Separate models were fitted to determine the effect of fasting, lairage and transport durations, considered as explanatory factors, on pHu, pH45, L* and DL considered as response variables. All data were submitted to careful graphical examination at several stages during the analysis (Sauvant, Assoumaya, Giger-Reverdin, & Aechimède, 2006).

From each trial we extracted the mean estimates Y_{ij} and their variances σ_ε^2. Each estimate Y_{ij} is considered to be drawn from a normal distribution with a mean μ_{ij} given by the *i*th study-level effect in the *j*th pre-slaughter factor-level effect. For each study, these μ_{ij} are in turn considered to be drawn from an overall effect $\mu 0$.

$$\text{Thus}: Y_{ij} = S_i + \beta_1 X_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

$$Y_{ij} \sim N\left(u_{ij}, \sigma_\varepsilon^2\right) \quad , \quad S_i \sim N\left(u_0, \sigma_s^2\right)$$

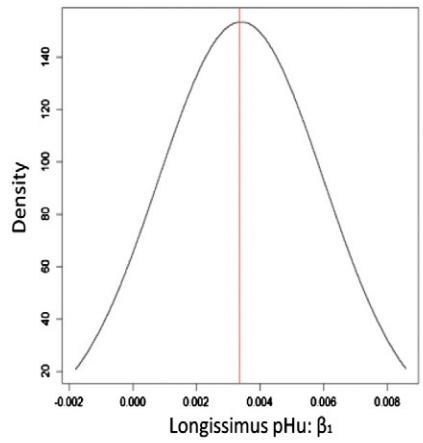
where β_1 is the overall slope of Y v. X, X_{ij} is the explanatory factor (fasting, lairage or transport) and σ_s^2 is the between-study variance. We assume that each study's random intercept S_i comes from a normal distribution centered at the population average intercept. This is known as hierarchical centring and can improve estimation.

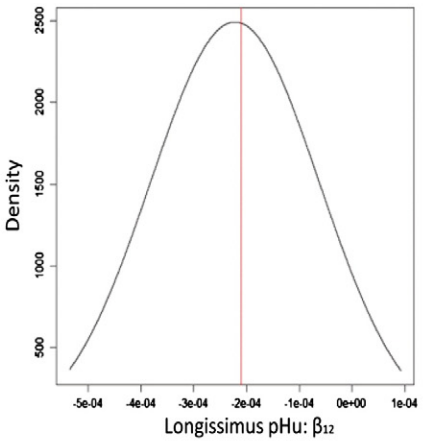
Experiments analyzing the effect of transport duration provide, at the same time, information on the fasting duration. Therefore, the regression model must include the effects of both factors and their interaction.

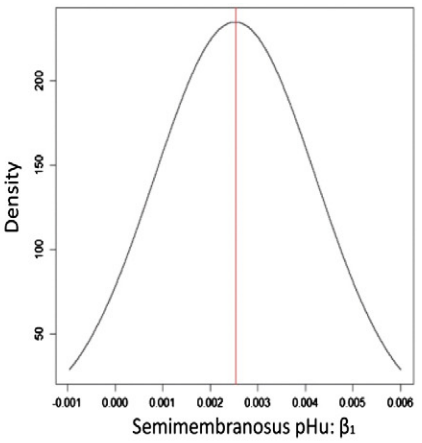
To account for unequal variance among studies, all the mean estimates Y_{ij} were weighed by the inverse of their reciprocal variance σ_ε^2.

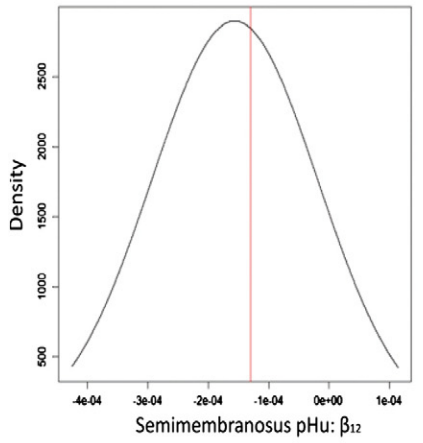
To test the robustness of results, an analysis of the interstudy variability was carried out by comparing interstudy variance with intrastudy variance. It was recommended to determine, before the analysis, what size of estimated variance attributable to study would be considered negligible (Sauvant, Schmidely, Daudin, & St-Pierre, 2008). In our study, the proportion of the total study variance that was attributable to interstudy variation was computed as: $I^2 = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_s^2 + \sigma_\varepsilon^2}$, following the method described by Hox and de Leeuw (2003),

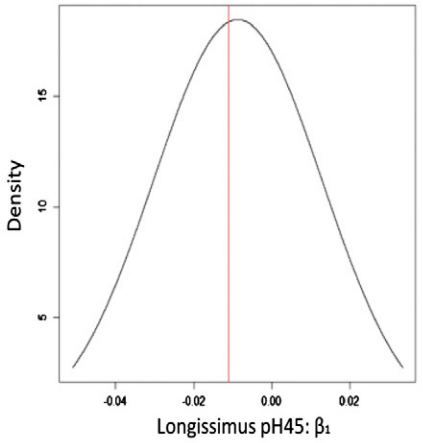
Fig. 3. Comparison of the transport effect estimates of the observed data (vertical line) against posterior predictive distributions from the meta-analysis model (β_1 and β_{12} represent the regression coefficients of Y (pH45, pHu, L* or DL) on transport time and its interaction with fasting time, respectively).

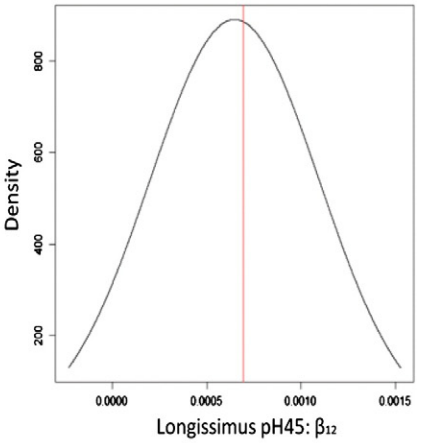

Density
Longissimus pHu: β1

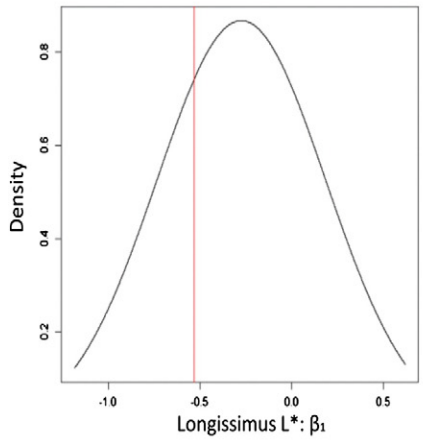

Density
Longissimus pHu: β12

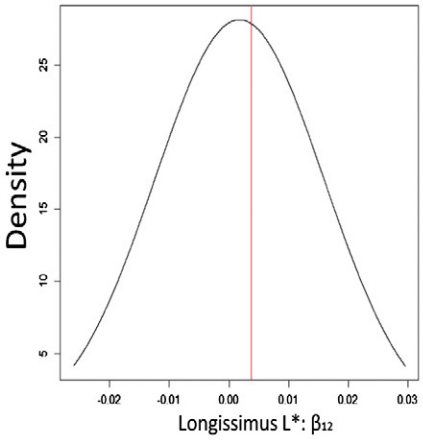

Density
Semimembranosus pHu: β1

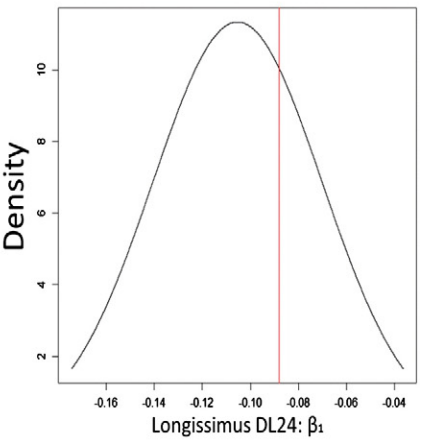

Density
Semimembranosus pHu: β12

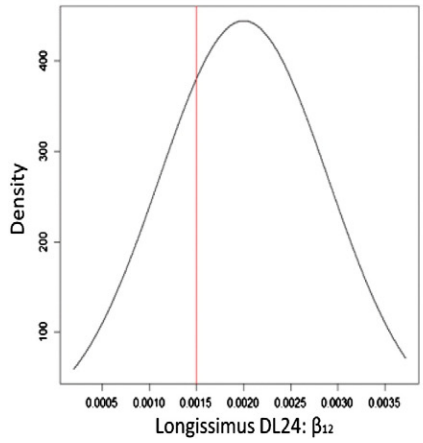

Density
Longissimus pH45: β1


Density
Longissimus pH45: β12


Density
Longissimus L*: β1


Density
Longissimus L*: β12


Density
Longissimus DL24: β1


Density
Longissimus DL24: β12

where σ_s^2 represents the variation between studies and σ_ε^2 is the sampling variance. The variances σ_s^2 and σ_ε^2 were estimated using a restricted maximum likelihood (REML) method. When the I^2-statistic exceeded 50%, a meta-regression was carried out to explain the between-study variability statistically.

2.2.2. Model fit and comparison

When preliminary investigations indicated that curvilinear relations could be derived from two distinct linear relationships (Vernet, Nozière, Sauvant, Léger, & Ortigues-Marty, 2005), quadratic ($Y_{ijk} = S_i + \beta_1 X_{ij} + \beta_2 X_{ij}^2$) and cubic ($Y_{ijk} = S_i + \beta_1 X_{ij} + \beta_2 X_{ij}^2 + \beta_3 X_{ij}^3$) models were also fitted to the data. The slope of the linear relationship between the quadratic and cubic terms and the four analyzed attributes added to different models were not significantly different from zero. Therefore, they were dropped from all models.

We assumed normal non-informative priors with a very large variance N (0, 10^4) for all location parameters (such as μ0 and β_1). Similarly, an inverse gamma prior distribution with parameters close to zero for σ_s^2 was used. Thus choices are often based on their low levels of influence on the eventual posterior (Whitehead, 2002).

We run two series of Markov chains with different initial values and we visually inspected historical plots to ensure convergence.

The fit of each model can be evaluated using the posterior mean of the Deviance Information Criterion (DIC). Comparison of different models can be accomplished by comparing DICs; low DIC values signifying a better model.

2.2.3. Computation

All the analyses were performed using Markov Chain Monte Carlo (MCMC) through the Bayesian computation software WinBUGS (Lunn, Thomas, Best, & Spiegelhalter, 2000; Spiegelhalter, Thomas, Best, & Lunn, 2003). One hundred thousand iterations were dismissed as burn-in and the following five hundred thousand iterations were used for parameter estimation.

2.2.4. Sensitivity analysis

A sensitivity analysis was performed to investigate the impact of the assumptions made in developing the model.

The first issue was the choice of prior distributions. In the absence of other distributional information, the adoption of normal prior distribution for the location parameters appears satisfactory. An alternative possibility is to use uniform priors on the standard deviations. In order to assess the impact of this choice, the model was re-analyzed, replacing the inverse gamma priors on the precisions ξ ($\xi = 1/\sigma_s^2$) with over-dispersed but proper uniform distributions on the standard deviations.

Another issue in prior modelling was the effect of weighting studies, based on intra-study variance. Thus, each data value was weighted by the inverse of its variance ($w_s = 1/\sigma_\varepsilon^2$). To assess the effect of ignoring the variance within studies, these weights were all made equal to an average common weight $\bar{w}_s$ corresponding to the mean of individual weights of included data.

An analysis of the impact of prolonged fasting durations was carried out by excluding data related to these durations using an additional meta-analysis.

Finally, the goodness of fit of the meta-analysis model was assessed using posterior predictive checks. Following Gelman, Carlin, Stern, and Rubin (2004), the means of the intercept and regression coefficient of different models were compared against the model posterior densities of the same statistics. The model is asserted to be adequate if the observed statistic is included in the body of the corresponding posterior predictive distribution.

3. Results

3.1. Quality of selected models

In meta-analysis, heterogeneity in the data set is a crucial point as it can affect the statistical model that the meta-analyst decides to apply to the meta-analysis database. One of the main results of the present study was that for all models, the part of the variability attributable to interstudy variance was less than 50%, except for the models analyzing the effect of the three pre-slaughter factors on L*. This apparent high heterogeneity related to L* could be explained by the difference in the scale of measurement in each study. Sensitivity analysis showed that the use of equal study weights and a uniform SD distribution did not significantly influence the posterior estimation of means, SD and 95% confidence interval (CI) of the different model parameters. These findings increased robustness of our results.

Thus, the hierarchical linear regression model described in Eq. (1) was chosen as the best fitting model. Fig. 1 shows the variations of *longissimus* means of pork pHu with increasing fasting duration predicted by this model and compared with the original data.

Additionally, as described in Section 2, Figs. 2, 3 and 4 show that the overall goodness of fit of the models was satisfactory. Indeed, for the regression coefficients of the three models analyzing the effects of fasting, lairage, transport and its interaction with fasting time on the four attributes, the posterior predictive distribution all include the observed values (likelihood estimates) of the corresponding statistics (indicated by a vertical line) in ranges of probability about 95%, which we considered acceptable.

3.2. Effect of fasting duration

The bibliographic search yielded 16 studies allowing to meta-analyze the effect of fasting duration on the predefined attributes of pork meat quality. These studies were based on data of 2202 animals divided into 43 treatment groups. Fasting time in the range of 0 (no fasting) to 72 h had a significant effect on pHu and DL48. Their CI did not cover zero, and the null hypothesis of non significant effect was therefore rejected. However, L*, pH45 and DL48 were not significantly affected by fasting time (Table 1 and Fig. 2).

According to the results of our meta-analysis, pHu increases with increasing fasting duration ($\beta_1 = 0.004 \pm 0.002$; CI = $(1.6 \times 10^{-6}, 0.0079)$) and decreases DL ($\beta_1 = -0.0849 \pm 0.0379$; CI = $[-0.1592, -0.0103]$) in *longissimus* muscle.

To avoid the risk of selection bias, all the analyses were repeated excluding two datasets from the study of Becker et al. (1989) which included the most prolonged fasting durations (72 h). This additional analysis did not change any of the overall posterior probability of the model parameters previously analyzed.

3.3. Effect of transport duration associated with fasting duration

The results of this section are based on 12 studies which reported simultaneously information on transport and fasting durations. This group of selected studies corresponded to a sample of 1298 animals representing 35 groups of different combinations of transport and fasting durations.

Similarly to the results previously obtained in the fasting model, significant differences in pHu in the *longissimus* muscle attributable to the fasting effect were found (Table 2, and Fig. 3). The slopes of the linear relationships between pHu and fasting duration in both models were slightly different (Tables 1 and 2). However, both of these values are well within each other's CIs: in this sense this is not a significant difference. No significant differences of pHu due to the transport duration or the interaction transport × fasting durations were detected. DL24 was the only attribute affected by the transport

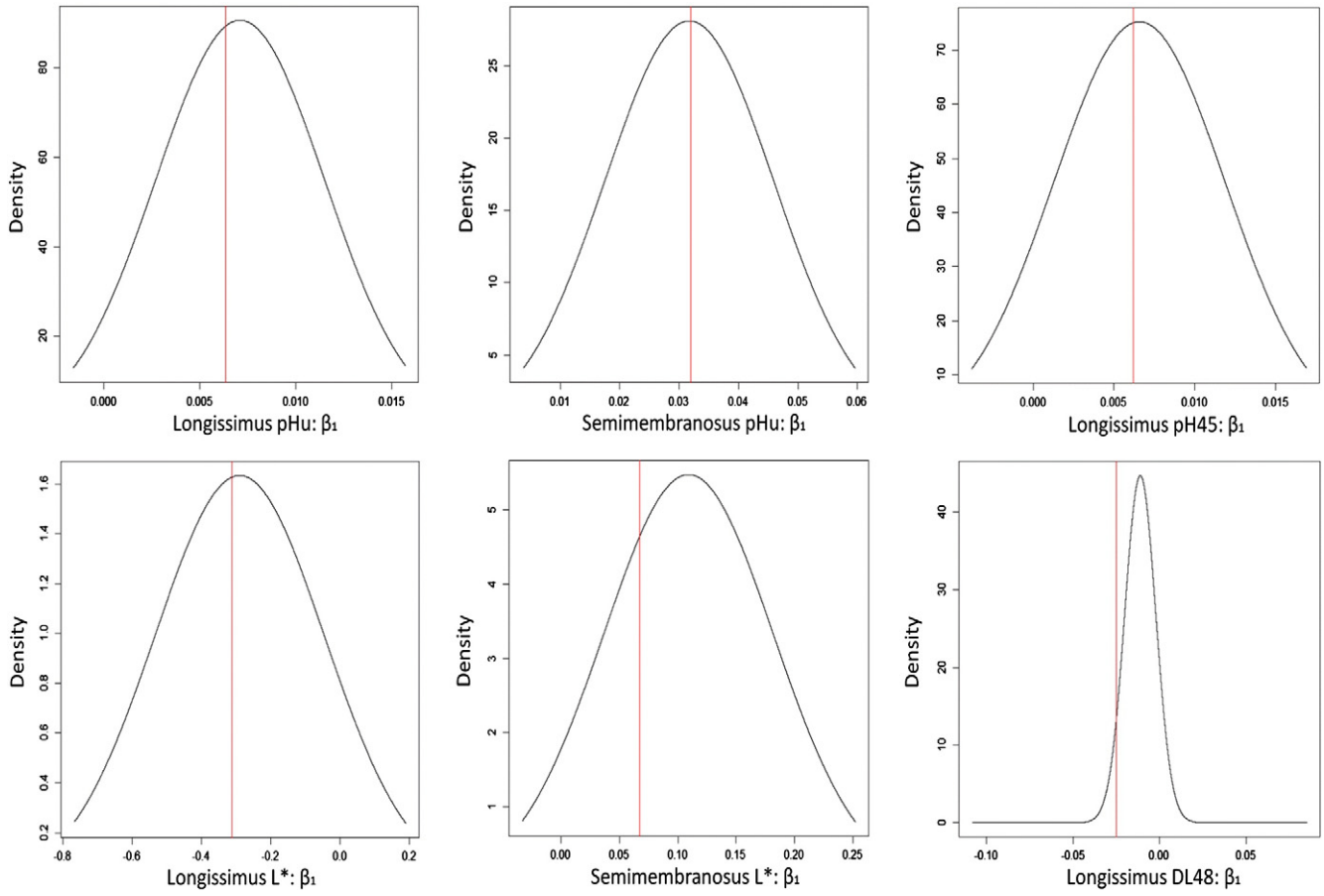


Fig. 4. Comparison of the lairage effect estimates of the observed data (vertical line) against posterior predictive distributions from the meta-analysis model (β_1 represents the regression coefficient of Y (pH45, pHu, L* or DL) on lairage time in both muscles: M. longissimus and semimembranosus).

duration and its interaction with fasting duration. According to our results, the prolonged transport periods decreased DL24 ($\beta_1 = -0.1054 \pm 0.03519$; CI = [−0.1744, −0.03637]).

In spite of the low heterogeneity between studies ($I^2 < 50\%$), we integrated slaughter weight as a covariate in different models of this section and found that slaughter weight in the range of 90 to 120 Kg was significantly negatively correlated with DL (Table 2).

3.4. Effect of the lairage duration

The analysis of the effect lairage duration on meat quality attributes was made on the basis of 13 studies, which provides 35 treatment groups, representing a total of 4602 animals. All these pigs were mixed (i.e. presence of unfamiliar pigs) during lairage period.

Table 1
Summary of posterior distribution of the model parameters analyzing the effect of fasting on pH45, pHu, L* and DL obtained from Bayesian meta-regression.

Outcome[1]	Intercept			Fasting effect (regression coefficient)			Between-study	Residual	I^2 (%)
	Mean	SD	95% CI	Mean	SD	95% CI[2]	Variance ($\sigma^2 s$)	Variance ($\sigma^2 \varepsilon$)	
pH45									
Longissimus	6.214	0.1315	(5.953, 6.471)	0.0043	0.007	(−0.009, 0.018)	0.0919	0.139	39.81
Semimembranosus	6.294	0.1745	(5.948, 6.635)	0.0011	0.009	(−0.017, 0.019)	0.09428	0.1765	34.82
pHu									
Longissimus	5.532	0.052	(5.428, 5.637)	0.004	0.002	$(1.6\times10^{-6}, 0.0079)$	0.02952	0.9926	2.89
Semimembranosus	5.615	0.098	(5.423, 5.814)	0.0059	0.003	$(-2.57\times10^{-4}, 0.012)$	0.04985	1.4262	3.38
*L**									
Longissimus	50.7	1.668	(47.44, 54.01)	0.05911	0.1519	(−0.235, 0.361)	3.062	0.201	93.84
DL48									
Longissimus	5.283	0.5254	(4.229, 6.293)	−0.0849	0.0379	(−0.159, −0.011)	0.2298	0.8	22.32

[1] pH45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; DL48 = drip loss measured 48 h postmortem.
[2] CI = confidence interval.

Table 2
Summary of posterior distribution of the model parameters analyzing the effect of transport, fasting and their interaction on pH45, pHu, L* and DL obtained from Bayesian meta-regression.

Outcome[1]	Intercept			Transport effect (regression coefficient)			Fasting effect (regression coefficient)			Interaction effect (transport×fasting)			Slaughter weight effect			I^2 (%)
	Mean	SD	95% CI	Mean	SD	95% CI[2]	Mean	SD	95% CI	Mean	SD	95% CI	Mean	SD	95% CI	
pH45																
Longissimus	6.292	0.077	(6.14, 6.444)	−0.0087	0.0216	(−0.051, 0.0335)	−0.0016	0.0027	(−0.007, 0.0037)	0.00065	0.0004	$(-2.32\times10^{-4}, 0.0015)$	0.2895	0.098	(−0.094, 0.488)	29
pHu																
Longissimus	5.54	0.0475	(5.447, 5.634)	0.0034	0.0026	(−0.002, 0.008)	0.0057	0.0027	$(3.5\times10^{-4}, 0.011)$	−0.0002	1.61×10^{-4}	$(-5.35\times10^{-4}, 9.28\times10^{-5})$	0.0728	0.068	(−0.064, 0.205)	6.044
Semimembranosus	5.589	0.0546	(5.483, 5.697)	0.0025	0.0017	$(-9.69\times10^{-4}, 0.006)$	0.0036	0.0025	(−0.0015, 0.0086)	−0.00015	1.37×10^{-4}	$(-4.25\times10^{-4}, 1.14\times10^{-4})$	0.0894	0.07	(−0.0815, 0.261)	17.16
*L**																
Longissimus	49.91	1.463	(47.11, 52.85)	−0.2756	0.4603	(−1.186, 0.619)	0.01016	0.0944	(−0.1697, 0.2027)	0.00176	0.0142	(−0.026, 0.0295)	1.344	0.986	(−0.588, 3.276)	97.98
DL24																
Longissimus	1.669	0.199	(1.287, 2.069)	−0.1054	0.03519	(−0.1744, −0.0364)	−0.0058	0.0097	(−0.0254, 0.0135)	0.002	0.0008	$(1.94\times10^{-4}, 0.0038)$	−0.651	0.2096	(−1.058, -0.231)	35.48

[1] pH45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; DL48 = drip loss measured 48 h postmortem.
[2] CI = confidence interval.

In the range of 0 (animals slaughtered within 15 min after arrival) and 24 h of lairage, the analyzed attributes in both muscles were not affected by the lairage duration, except the pHu in *semimembranosus* muscle ($\beta_1 = 0.0317 \pm 0.0142$; CI = [0.0038 , 0.0596]) (Table 3, Fig. 4).

According to the literature, 48 h of lairage is not a common practice. In order to avoid any bias due to the inclusion of certain studies in our analysis, we excluded data from the study by Jones et al. (1985) as it is based on 48 h of lairage.

Despite the nonsignificant effect of lairage on DL48, the estimate of the slope of its linear relationship with lairage was slightly different from zero ($\beta_1 = -0.01121 \pm 0.00492$; CI = [−0.1082, 0.085]) (Table 3, Fig. 4).

4. Discussion

Meta-analyses have been found a useful tool to synthesize quantitatively and objectively, published data. Meta-analysis allows increasing the statistical power of several small or inconclusive studies, obtaining more precise estimates of response laws, and identifying itineraries for future research. Although originally much used in epidemiology and evidence-based medicine, the technique has recently been used in the area of animal production (Sauvant et al., 2008). For example, they were used to evaluate quantitatively the effect of the halothane gene (Salmi et al., 2010) and the vitamin E administration on various pork quality aspects (Trefan et al., 2011).

The present study used the meta-analysis technique to summarize the effects of the duration of various pre-slaughter procedures on pork quality indicators.

Transport, fasting and lairage durations may have pronounced effects on meat quality. A fasting period before slaughter is often considered unavoidable as it is associated with the transport and lairage period. A period of fasting avoids sickness of the pigs and facilitates the evisceration process at slaughter (Gregory, 1998; Miller, Carr, Bawcom, Ramsey, & Thompson, 1997; Tarrant, 1989). The fasting period contributes to the reduction of the muscle glycogen reserves. Increased durations of transport or lairage, independently of their association with fasting may increase energy demands or psychological stress, for example to maintain balance during transport, or due to fighting during lairage (Kim, Woo, & Lee, 2004; Terlouw & Rybarzcyk, 2008).

In the present study, we used hierarchical Bayesian meta-analysis rather than the traditional fixed effects analysis (Bermingham et al., 2007; Sauvant et al., 2008; St-Pierre, 2001) to quantify the effects of the three predefined factors. Hierarchical Bayesian modeling approach is appropriate when data are derived from limited populations. This approach has been used by a number of authors to overcome the problem of uninformative data in the estimation of productivity parameters (Liermann & Hilborn, 1997; Michielsens & McAllister, 2004; Su, Peterman, & Haeseker, 2004). Hierarchical Bayesian meta-analysis has the advantage of reducing uncertainty in parameter estimates from limited populations by incorporating data from multiple similar populations simultaneously (Gelman et al., 1995).

We treated each pre-slaughter factor/studies combination as a random factor in a hierarchical model. This provides a more reliable estimator under a wide range of conditions (Robinson, 1991). Also, in this approach, the estimates are consistent, while in the fixed-effect model, they are not. Kiefer and Wolfowitz (1956) noted that in estimation situations where the number of parameters increases to infinity, maximum likelihood parameter estimates are not consistent, but by treating parameters as coming from a distribution, i.e., as random effects, consistency could be obtained.

Table 3
Summary of posterior distribution of the model parameters analyzing the effect of lairage on pH45, pHu, L* and DL obtained from Bayesian meta-regression.

Outcome[1]	Intercept			Lairage effect (regression coefficient)			Between-study	Residual	I^2 (%)
	Mean	SD	95% CI	Mean	SD	95% CI[2]	Variance ($\sigma^2 s$)	Variance ($\sigma^2 \varepsilon$)	
pH45									
Longissimus	6.252	0.112	(6.03, 6.475)	0.00658	0.0053	(−0.0038, 0.0169)	0.089	0.1203	42.79
pHu									
Longissimus	5.551	0.0568	(5.44, 5.665)	0.0071	0.0044	(−0.0016, 0.0157)	0.027	0.154	14.74
Semimembranosus	5.614	0.1189	(5.375, 5.848)	0.0317	0.0142	(0.0038, 0.0596)	0.058	2.031	2.81
*L**									
Longissimus	50.05	1.059	(47.96, 52.15)	−0.2897	0.2441	(−0.7661, 0.1897)	2.608	0.149	94.59
Semimembranosus	47.76	1.863	(44.31, 51.66)	0.1091	0.0728	(−0.0333, 0.2523)	10.22	66.765	13.28
DL48									
Longissimus	3.392	0.3831	(2.668, 4.175)	−0.01121	0.00492	(−0.1082, 0.085)	0.181	0.142	55.89

[1] pH45 = pH at 45 min postmortem; pHu = ultimate pH; L* = reflectance; DL48 = drip loss measured 48 h postmortem.
[2] CI = confidence interval.

Bayesian methods involve a formal combination of a prior probability distribution that reflects a prior belief of the possible values of the pooled effect with a likelihood distribution of the pooled effect based on the observed data to obtain a posterior probability distribution of the pooled effect (Sutton et al., 2000). The likelihood informs us about the extent to which different values for the parameter of interest is supported by the data. Frequentists use the sampling distribution as the basis of statistical inference that is proportional to the likelihood function (Spiegelhalter, Abrams, & Myles, 2004a). The posterior distribution (as obtained with the Bayesian approach) can be interpreted in terms of probabilities, which allows for a more intuitive interpretation. This is in contrast to findings with a conventional frequentist approach. Another major advantage of the Bayesian approach is that the method naturally leads into a decision framework to support decision-making (Luce & Claxton, 1999; Spiegelhalter et al., 2004b; Sutton et al., 2000).

Other advantages of a Bayesian meta-analysis include the straightforward way of making predictions, and the possibility of incorporating different sources of uncertainty (Spiegelhalter et al., 2004b; Sutton et al., 2000). In a general hierarchical Bayesian scheme (DuMouchel, 1990), σ_ε^2 and σ_s^2 are assumed to be random variables. The distributions of these quantities are specified a priori. In order not to influence the observed results by the prior distribution, an often heard critique on the Bayesian approach, a "flat" or "noninformative" prior distribution can be assumed for the pooled treatment effect, as was done in the present study, because even with a small number of studies, the combined data become relatively informative regarding the location of the prior distribution of the effect size (Carlin, 1992).

Indeed, with such a "flat" prior, it is assumed that before seeing the data, any value for the pooled effect is equally likely to occur. As a consequence, posterior results are not influenced by the prior distribution but totally driven by the data as with a conventional frequentist meta-analysis. The imposition of distributions on the model parameters as on σ_ε^2 and σ_s^2 allows a more explicit description of any underlying variability in the way the study outcomes are distributed. This in turn allows considerable flexibility in application.

The model presented here is sufficiently flexible to allow structural changes related to sensitivity analyses, such as non-normal distributional assumptions, proportional representation of treatment groups, and additional subgroups. Such changes were accommodated through the distribution of likelihood or priors, weights w_s and the hierarchical structure, respectively.

The meta-analysis in the present study using published results of 16 independent studies provided a significant effect of the duration of food withdrawal on pHu and DL in *longissimus* muscle. The pHu increased with fasting time, while DL decreased with the prolongation of feed withdrawal.

Sensitivity analysis, in which two datasets reporting data related to 72 h of fasting were excluded, found no change in any of the results previously obtained, indicating that the significance of the models did not depend on the including of these studies with very long fasting times (Becker et al., 1989).

Regarding the duration of transportation, in general it is thought that long-distance transportation causes greater depletion of muscular glycogen, which causes an increase in final pH (pHu) (Pedauyé, 1993).

The selected studies of our meta-analysis reported simultaneously transport and fasting durations, allowing the analysis of their interactions. Results suggest that despite the significant effect of transport duration on the four analyzed attributes reported in the literature (Martoccia et al., 1995; Pedauyé, 1993), only DL was affected by this factor and only due to its interaction with fasting duration. The lack of effect of transport on pH and color was consistent with the findings of Warriss, Brown, Franklin, and Kestin (1990) cited by Álvarez et al. (2009) which found that there is no evidence that the long transport periods affected the incidence of potentially PSE meat based on measures of pH (no increase in muscular pH24), color or DL. However, our conclusions were in contrast with other authors which found that pigs transported over long distance showed a significant increase in pH45 and pHu, and gave darker meat than those transported over short distance (Martoccia et al., 1995; Yu et al., 2009).

The rest period of animals prior to slaughter allows them to recover the physiological condition lost during transportation; muscular glycogen returns to normal level, and the animals are more likely to relax. According to our bibliographic research, it seems that pigs slaughtered in the first few hours of penning (<2 h), when aggressiveness is more pronounced, suffer greater physical and physiological stress (Grandin, 1991), as a result of which there is more metabolic activity, lower muscular pH (Enfalt, Lundström, & Engstrand, 1993), higher body temperature, and reduced meat quality (Pérez et al., 2002). Interestingly, on the basis of our meta-analysis, only the pHu in *semimembranosus* muscle was affected by the lairage time. These findings were consistent with De Smet

Appendix A

Table A1
Summary of the 27 references used to construct the final database.

Code [1]	Reference	Muscle	Sample	Fasting	Lairage	Transport	Pig breed [2]	Salughter weight (kg)	pH45[3] (mean ± SE)	pHu[3] (mean ± SE)	L*[3] (mean ± SE)	DL48[3] (mean ± SE)	DL24[3] (mean ± SE)
Study 1	Pérez et al. (2002)	Longissimus muscle	50	13	0	1	LW × L	115		5.58 ± 0.06			
		Semimembranosus	50	13	0	1	LW × L	115		5.54 ± 0.06			
		Longissimus muscle	50	16	3	1	LW × L	115		5.63 ± 0.06			
		Semimembranosus	50	16	3	1	LW × L	115		5.59 ± 0.06			
		Longissimus muscle	50	22	9	1	LW × L	115		5.89 ± 0.08			
		Semimembranosus	50	22	9	1	LW × L	115		5.83 ± 0.08			
Study 2	De Smet et al. (1996)	Longissimus muscle	190	0.5	NA	30	BL/P × BL	NA[4]	6.01 ± 0.039	5.59 ± 0.02	51.7 ± 0.56	4.7 ± 0.38	
	Exp. 1	Semimembranosus	190	0.5	NA	30	BL/P × BL	NA	6.09 ± 0.04	5.72 ± 0.028			
		Longissimus muscle	232	12.5	NA	30	BL/P × BL	NA	6.05 ± 0.03	5.58 ± 0.013	52.7 ± 0.38	4.8 ± 0.26	
		Semimembranosus	232	12.5	NA	30	BL/P × BL	NA	6.18 ± 0.029	5.68 ± 0.019			
Study 3	De Smet et al. (1996)	Longissimus muscle	140	NA	0.5	30	BL/P × BL	NA	5.98 ± 0.026	5.59 ± 0.012	53 ± 0.34	5.2 ± 0.23	
	Exp. 2	Semimembranosus	140	NA	0.5	30	BL/P × BL	NA	6.1 ± 0.027	5.69 ± 0.017			
		Longissimus muscle	140	NA	2.5	30	BL/P × BL	NA	6.04 ± 0.025	5.58 ± 0.012	51.8 ± 0.35	4.7 ± 0.23	
		Semimembranosus	140	NA	2.5	30	BL/P × BL	NA	6.16 ± 0.026	5.71 ± 0.017			
		Longissimus muscle	142	NA	4.5	30	BL/P × BL	NA	6.08 ± 0.023	5.59 ± 0.011	51.8 ± 0.3	4.5 ± 0.23	
		Semimembranosus	142	NA	4.5	30	BL/P × BL	NA	6.15 ± 0.023	5.68 ± 0.015			
Study 4	Faucitano et al. (2006)	Longissimus_muscle	12	4	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.49 ± 0.1	5.5 ± 0.03	54.37 ± 1.1	5.72 ± 0.7	
	Exp. 1	Semimembranosus	12	4	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.24 ± 0.09	5.54 ± 0.04			
		Longissimus_muscle	12	14	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.47 ± 0.1	5.53 ± 0.03	54.35 ± 1.1	4.88 ± 0.7	
		Semimembranosus	12	14	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.37 ± 0.09	5.6 ± 0.04			
		Longissimus_muscle	12	24	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.53 ± 0.1	5.62 ± 0.03	52.1 ± 1.1	3.2 ± 0.7	
		Semimembranosus	12	24	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.34 ± 0.09	5.74 ± 0.04			
Study 5	Faucitano et al. (2006)	Longissimus_muscle	12	4	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.34 ± 0.1	5.5 ± 0.03	53.7 ± 1.1	5.88 ± 0.7	
	Exp. 2	Semimembranosus	12	4	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.2 ± 0.09	5.51 ± 0.04			
		Longissimus_muscle	12	14	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.57 ± 0.1	5.57 ± 0.03	53.06 ± 1.1	4.34 ± 0.7	
		Semimembranosus	12	14	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.31 ± 0.09	5.64 ± 0.04			
		Longissimus_muscle	12	24	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.47 ± 0.1	5.53 ± 0.03	54.43 ± 1.1	5.19 ± 0.7	
		Semimembranosus	12	24	3.5	NA	D × (L × LW)	116	6.29 ± 0.09	5.6 ± 0.04			
Study 6	Leheska et al. (2003)	Longissimus muscle	76	0	2	NA	NA	116		5.69 ± 0.023	53.49 ± 0.35		
	Exp. 1	Semimembranosus	76	0	2	NA	NA	116		5.95 ± 0.033			
		Longissimus muscle	79	48	2	NA	NA	116		5.81 ± 0.022	52.19 ± 0.34		
		Semimembranosus	79	48	2	NA	NA	116		5.95 ± 0.032			
Study 7	Leheska et al. (2003)	Longissimus_lumborum	25	0	2	0.5	NA	116.4		5.57 ± 0.02	55.94 ± 0.61		0.93 ± 0.035
	Exp. 2	Semimembranosus	25	0	2	0.5	NA	116.4		5.69 ± 0.015			
		Longissimus_lumborum	28	2.5	2	2.5	NA	116.4		5.67 ± 0.02	53.87 ± 0.57		0.72 ± 0.031
		Semimembranosus	28	2.5	2	2.5	NA	116.4		6.02 ± 0.015			
		Longissimus_lumborum	27	8	2	8	NA	116.4		5.83 ± 0.02	50.66 ± 0.58		0.74 ± 0.033
		Semimembranosus	27	8	2	8	NA	116.4		6.13 ± 0.015			
Study 8	Leheska et al. (2003)	Longissimus_lumborum	25	48	2	0.5	NA	116.4		5.73 ± 0.02	53.27 ± 0.61		0.7 ± 0.035
	Exp. 3	Semimembranosus	25	48	2	0.5	NA	116.4		5.95 ± 0.015			
		Longissimus_lumborum	23	50.5	2	2.5	NA	116.4		5.81 ± 0.02	52.37 ± 0.64		0.71 ± 0.036
		Semimembranosus	23	50.5	2	2.5	NA	116.4		5.91 ± 0.015			
		Longissimus_lumborum	32	56	2	8	NA	116.4		5.9 ± 0.02	50.94 ± 0.54		0.71 ± 0.030
		Semimembranosus	32	56	2	8	NA	116.4		5.99 ± 0.015			
Study 9	Beattie et al. (2002)	Longissimus muscle	180	3.5	2	NA	NA	105		5.51 ± 0.011	56.2 ± 0.36	5.21 ± 0.21	
		Longissimus muscle	180	15.5	2	NA	NA	105		5.49 ± 0.011	55.5 ± 0.36	5.43 ± 0.21	
		Longissimus muscle	180	23.5	2	NA	NA	105		5.54 ± 0.011	55.8 ± 0.36	4.99 ± 0.21	
Study 10	Chai et al. (2010)	Longissimus muscle	24	13	0	0.67	L × LW	100	6.65 ± 0.07	5.89 ± 0.02			2.08 ± 0.17
		Semimembranosus	24	13	0	0.67	L × LW	100	6.76 ± 0.04	5.77 ± 0.06			
		Longissimus muscle	24	15	0	3	L × LW	100	6.55 ± 0.06	5.84 ± 0.02			1.57 ± 0.2
		Semimembranosus	24	15	0	3	L × LW	100	6.66 ± 0.04	5.91 ± 0.06			

		Longissimus muscle	24	17	0	5	L×LW	100	6.72±0.04	5.93±0.03			1.42±0.12
		Semimembranosus	24	17	0	5	L×LW	100	6.69±0.04	5.88±0.06			
Study 11	Sterten et al. (2010)	Longissimus muscle	24	4	1.5	1	(NL∗D)∗(NL∗Y)	NA	6.59±0.03	5.61±0.01	45.6±0.24	4.22±0.2	
	Exp. 1	Longissimus muscle	24	17.5	1.5	1	(NL∗D)∗(NL∗Y)	NA	6.53±0.03	5.58±0.01	48±0.23	4.05±0.2	
Study 12	Sterten et al. (2010)	Longissimus muscle	24	17.5	23	1	(NL∗D)∗(NL∗Y)	NA	6.54±0.03	5.66±0.01	46.1±0.24	3.58±0.21	
	Exp. 2	Longissimus muscle	24	26.5	23	1	(NL∗D)∗(NL∗Y)	NA	6.54±0.03	5.67±0.01	45.2±0.24	2.82±0.21	
Study 13	Becker et al. (1989)	Longissimus muscle	7	0	NA	0	NA	NA	5.8±0.09	5.57±0.03			
	Exp. 1	Semimembranosus	7	0	NA	0	NA	NA	6.18±0.09	5.59±0.03			
		Longissimus muscle	7	24	NA	0	NA	NA	5.91±0.09	5.54±0.03			
		Semimembranosus	7	24	NA	0	NA	NA	5.95±0.09	5.54±0.03			
		Longissimus muscle	7	48	NA	0	NA	NA	5.96±0.09	5.94±0.03			
		Semimembranosus	7	48	NA	0	NA	NA	6.08±0.09	5.96±0.03			
		Longissimus muscle	7	72	NA	0	NA	NA	5.82±0.09	5.68±0.03			
		Semimembranosus	7	72	NA	0	NA	NA	5.92±0.09	5.69±0.03			
Study 14	Becker et al. (1989)	Longissimus muscle	7	0	NA	11	NA	NA	5.8±0.09	5.57±0.03			
	Exp. 2	Semimembranosus	7	0	NA	11	NA	NA	6.18±0.09	5.59±0.03			
		Longissimus muscle	7	24	NA	11	NA	NA	6.03±0.09	5.71±0.03			
		Semimembranosus	7	24	NA	11	NA	NA	6.1±0.09	5.64±0.03			
		Longissimus muscle	7	48	NA	11	NA	NA	6.12±0.09	5.48±0.03			
		Semimembranosus	7	48	NA	11	NA	NA	6.35±0.09	5.5±0.03			
		Longissimus muscle	7	72	NA	11	NA	NA	6.31±0.09	5.46±0.03			
		Semimembranosus	7	72	NA	11	NA	NA	6.28±0.09	5.43±0.03			
Study 15	Becker et al. (1989)	Longissimus_thoracis	7	0		0	NA	NA	5.8±0.09	5.57±0.03			
	Exp. 3	Semimembranosus	7	0		0	NA	NA	6.18±0.09	5.59±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	24		0	NA	NA	5.91±0.09	5.54±0.03			
		Semimembranosus	7	24		0	NA	NA	5.95±0.09	5.54±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	48		0	NA	NA	5.96±0.09	5.94±0.03			
		Semimembranosus	7	48		0	NA	NA	6.08±0.09	5.96±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	72		0	NA	NA	5.82±0.09	5.68±0.03			
		Semimembranosus	7	72		0	NA	NA	5.92±0.09	5.69±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	24		11	NA	NA	6.03±0.09	5.71±0.03			
		Semimembranosus	7	24		11	NA	NA	6.1±0.09	5.64±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	48		11	NA	NA	6.12±0.09	5.48±0.03			
		Semimembranosus	7	48		11	NA	NA	6.35±0.09	5.5±0.03			
		Longissimus_thoracis	7	72		11	NA	NA	6.31±0.09	5.46±0.03			
		Semimembranosus	7	72		11	NA	NA	6.28±0.09	5.43±0.03			
Study 16	Murray et al. (2001)	Longissimus muscle	54	2.5	0	2.5	NA	NA	6.19±0.02	5.53±0.01	53.2±0.33	3.8±0.21	
		Longissimus muscle	54	17.5	15	2.5	NA	NA	6.15±0.02	5.53±0.01	53±0.33	4.1±0.21	
		Longissimus muscle	54	17.5	0	2.5	NA	NA	6.19±0.02	5.55±0.01	51.8±0.33	3.6±0.21	
Study 17	Murray and Jones (1994)	Longissimus_muscle	117	0	1	0.1	NA	100	5.82±0.04	5.49±0.01	51.4±0.35	3.01±0.2	
		Longissimus_muscle	112	24	1	0.1	NA	100	5.82±0.04	5.54±0.01	51.2±0.35	2.79±0.2	
Study 18	Jones et al. (1985)	Longissimus_muscle	40	17	0	0.25	L×Y	90	6.07±0.03	5.5±0.01		2.91±0.1	
		Longissimus_muscle	40	41	24	0.25	L×Y	90	6.13±0.03	5.61±0.01		2.61±0.1	
		Longissimus_muscle	40	65	48	0.25	L×Y	90	6.19±0.03	5.61±0.01		1.88±0.1	
Study 19	Bidner et al. (2004)	Longissimus_muscle	32	12	NA	6	NA	106		5.41±0.01			
		Longissimus_muscle	32	36	NA	6	NA	106		5.46±0.01			
Study 20	Bidner et al. (2004)	Longissimus_muscle	32	12	NA	6	NA	106		5.4±0.01			
		Longissimus_muscle	32	36	NA	6	NA	106		5.36±0.01			
Study 21	Hambrecht, Eissen, Newman, Smits, Den Hartog, et al. (2005)	Longissimus_muscle	179	16	3	NA	Y×(LW×L)	NA	6.49±0.027	5.54±0.019	54.3±0.017	3.89 ±	
	Exp. 1	Longissimus_muscle	179	16	0.75	NA	Y×(LW×L)	NA	6.48±0.027	5.57±0.019	53.3±0.017	4.08 ±	
Study 22	Hambrecht, Eissen, Newman, Smits, Den Hartog, et al. (2005)	Longissimus_muscle	174	16.84	NA	0.84	Y∗(LW∗L)	90	6.51±0.027	5.55±0.019	53.9±0.23		1.96±0.12
	Exp. 2	Longissimus_muscle	184	19	NA	3	Y∗(LW∗L)	90	6.46±0.027	5.55±0.019	53.7±0.23		2.01±0.12
Study 23	Aaslyng et al. (2001)	Longissimus_dorsi	90	NA	0.5	1.16	D∗(L∗LW)	NA	6.64±0.018	5.59±0.014	48.4±0.32	3.6±0.1	

(continued on next page)

Table A1 (*continued*)

Code [1]	Reference	Muscle	Sample	Fasting	Lairage	Transport	Pig breed [2]	Salughter weight (kg)	pH45[3] (mean ± SE)	pHu[3] (mean ± SE)	L*[3] (mean ± SE)	DL48[3] (mean ± SE)	DL24[3] (mean ± SE)
		Semimembranosus	90	NA	0.5	1.16	D∗(L∗LW)	NA		5.59 ± 0.012		2.9 ± 0.07	
		Longissimus_dorsi	90	NA	1.5	1.16	D∗(L∗LW)	NA	6.62 ± 0.018	5.6 ± 0.014	49.3 ± 0.32	3.6 ± 0.1	
		Semimembranosus	90	NA	1.5	1.16	D∗(L∗LW)	NA		5.6 ± 0.012		2.8 ± 0.07	
		Longissimus_dorsi	90	NA	2.83333	1.16	D∗(L∗LW)	NA	6.63 ± 0.018	5.58 ± 0.014	50.3 ± 0.32	3.4 ± 0.1	
		Semimembranosus	90	NA	2.83333	1.16	D∗(L∗LW)	NA		5.61 ± 0.012		2.7 ± 0.07	
Study 24	Santos et al. (1997)	Semimembranosus	406	36.5	0.5	1	(P∗D∗H)∗(BL∗BLW)	100	5.91 ± 0.001	5.59 ± 0.001	52.4 ± 0.022		
		Longissimus_dorsi	406	36.5	0.5	1	(P∗D∗H)∗(BL∗BLW)	100	5.93 ± 0.0005	5.52 ± 0.001	54.5 ± 0.019		
		Semimembranosus	595	39	3	1	(P∗D∗H)∗(BL∗BLW)	100	5.95 ± 0.001	5.65 ± 0.001	53.3 ± 0.018		
		Longissimus_dorsi	595	39	3	1	(P∗D∗H)∗(BL∗BLW)	100	5.95 ± 0.0005	5.57 ± 0.001	53.7 ± 0.016		
Study 25	Nanni Costa et al. (2002)	Longissimus_thoracis	100	11	2	1	D∗(L∗LW)	170	6.05 ± 0.026	5.48 ± 0.01	50.5 ± 0.32		
		Semimembranosus	100	11	2	1	D∗(L∗LW)	170	6.06 ± 0.024	5.49 ± 0.02	51.4 ± 0.32		
		Longissimus_thoracis	99	33	22	1	D∗(L∗LW)	170	6.11 ± 0.026	5.5 ± 0.01	49.4 ± 0.32		
		Semimembranosus	99	33	22	1	D∗(L∗LW)	170	6.25 ± 0.024	5.54 ± 0.02	48.9 ± 0.32		
Study 26	Hambrecht, Eissen, Newman, Smits, Verstegen, et al. (2005)	Longissimus_muscle	179	16.75	0.75	2	Y∗(LW∗L)	NA		5.85 ± 0.025	45.7 ± 0.01		
	Exp. 1	Longissimus_muscle	179	19	3	2	Y∗(LW∗L)	NA		5.82 ± 0.025	46.8 ± 0.01		
Study 27	Hambrecht, Eissen, Newman, Smits, Verstegen, et al. (2005)	Longissimus_muscle	48	16.84	NA	0.84	Y∗(LW∗L)	90		5.82 ± 0.02	46.4 ± 0.12		
	Exp. 2	Longissimus_muscle	48	19	NA	3	Y∗(LW∗L)	90		5.85 ± 0.02	46.1 ± 0.12		
Study 28	Milligan et al. (1998)	Longissimus_dorsi	30	NA	0	NA	NA	123		5.45 ± 0.026	51.2 ± 0.48		
		Longissimus_dorsi	30	NA	1	NA	NA	123		5.52 ± 0.026	50 ± 0.48		
		Longissimus_dorsi	30	NA	2	NA	NA	123		5.46 ± 0.026	48.9 ± 0.48		
		Longissimus_dorsi	30	NA	3	NA	NA	123		5.43 ± 0.026	49 ± 0.48		
		Semimembranosus	30	NA	0	NA	NA	123			52.4 ± 0.48		
		Semimembranosus	30	NA	1	NA	NA	123			51.2 ± 0.48		
		Semimembranosus	30	NA	2	NA	NA	123			50.5 ± 0.48		
		Semimembranosus	30	NA	3	NA	NA	123			53.6 ± 0.48		
Study 29	Warriss, Brown, Edwards, and Knowles (1998)	Longissimus_dorsi	456	NA	1	NA	NA	90		5.55 ± 0.007			
		Semimembranosus	456	NA	1	NA	NA	90		5.61 ± 0.007			
		Longissimus_dorsi	459	NA	3	NA	NA	90		5.59 ± 0.007			
		Semimembranosus	459	NA	3	NA	NA	90		5.65 ± 0.007			
		Longissimus_dorsi	473	NA	12	NA	NA	90		5.61 ± 0.007			
		Semimembranosus	473	NA	12	NA	NA	90		5.7 ± 0.007			
Study 30	Owen et al. (2000)	Longissimus_muscle	30	NA	0	NA	NA	NA	6.06 ± 0.04	5.54 ± 0.03	48.9 ± 0.64		
		Longissimus_muscle	30	NA	1	NA	NA	NA	6.29 ± 0.04	5.6 ± 0.03	46 ± 0.64		
		Longissimus_muscle	30	NA	2	NA	NA	NA	6.11 ± 0.04	5.56 ± 0.03	47 ± 0.64		
		Longissimus_muscle	30	NA	3	NA	NA	NA	6.16 ± 0.04	5.43 ± 0.03	47.2 ± 0.64		
		Semimembranosus	30	NA	0	NA	NA	NA			46 ± 0.95		
		Semimembranosus	30	NA	1	NA	NA	NA			43.6 ± 0.95		

		Semimembranosus	30	NA	2	NA	NA	NA			45 ± 0.95	
		Semimembranosus	30	NA	3	NA	NA	NA			48.5 ± 0.95	
Study 31	Pérez et al. (2002)	Longissimus_thoracis	70	12.25	0	0.25	L∗LW	115		5.37 ± 0.03		1.66 ± 0.18
		Semimembranosus	70	12.25	0	0.25	L∗LW	115		5.45 ± 0.02		
		Longissimus_thoracis	68	15	0	3	L∗LW	115		5.46 ± 0.03		1.24 ± 0.18
		Semimembranosus	68	15	0	3	L∗LW	115		5.51 ± 0.03		
Study 32	Tang et al. (2009)	Longissimus_thoracis	6	0	NA	0	D∗LW∗Y	90	6.3 ± 0.21	5.42 ± 0.12	49.19 ± 2.48	1.82 ± 0.67
		Semimembranosus	6	0	NA	0	D∗LW∗Y	90	6.31 ± 0.16	5.48 ± 0.1	49.32 ± 1.85	
		Longissimus_thoracis	6	1.5	NA	1.5	D∗LW∗Y	90	6.43 ± 0.19	5.48 ± 0.13	48.54 ± 2.62	1.58 ± 0.27
		Semimembranosus	6	1.5	NA	1.5	D∗LW∗Y	90	6.53 ± 0.19	5.58 ± 0.13	45.66 ± 1.19	
Study 33	Tang et al. (2009)	Longissimus_thoracis	6	0	NA	0	D∗LW∗Y	90	6.38 ± 0.18	5.5 ± 0.05	47.29 ± 2.18	1.43 ± 0.66
		Semimembranosus	6	0	NA	0	D∗LW∗Y	90	6.47 ± 0.14	5.56 ± 0.11	45.46 ± 1.86	
		Longissimus_thoracis	6	1.5	NA	1.5	D∗LW∗Y	90	6.54 ± 0.23	5.54 ± 0.12	47.76 ± 2.82	1.47 ± 0.12
		Semimembranosus	6	1.5	NA	1.5	D∗LW∗Y	90	6.57 ± 0.12	5.6 ± 0.17	45.56 ± 2.68	
Study 34	Yu et al. (2009)	Longissimus_dorsi	5	0	0.34	0	P∗Erhualian	50	5.83 ± 0.062	5.543 ± 0.092	48.726 ± 2.248	1.913 ± 0.408
		Longissimus_dorsi	5	1	0.34	1	P∗Erhualian	50	5.604 ± 0.045	5.418 ± 0.051	52.148 ± 2.32	2.672 ± 0.278
		Longissimus_dorsi	5	2	0.34	2	P∗Erhualian	50	5.188 ± 0.103	5.088 ± 0.057	52.548 ± 2.15	3.04 ± 0.402
		Longissimus_dorsi	5	4	0.34	4	P∗Erhualian	50	5.684 ± 0.127	5.472 ± 0.083	49.66 ± 2.857	1.986 ± 0.359
Study 35	Apple et al. (2005)	Longissimus_muscle	18	15	NA	0	Y × L	102		5.74 ± 0.029		
		Longissimus_muscle	18	18	NA	3	Y × L	102		5.85 ± 0.029		
Study 36	Brown et al. (1999)	Longissimus_dorsi	12	0	0	0	LW	90		5.42 ± 0.0167		
		Semimembranosus	12	0	0	0	LW	90		5.47 ± 0.0145		
		Longissimus_dorsi	12	4	4	0	LW	90		5.42 ± 0.0179		
		Semimembranosus	12	4	4	0	LW	90		5.46 ± 0.0144		
		Longissimus_dorsi	12	0	0	8	LW	90		5.48 ± 0.0167		
		Semimembranosus	12	0	0	8	LW	90		5.5 ± 0.0145		
		Longissimus_dorsi	12	12	4	8	LW	90		5.48 ± 0.0179		
		Semimembranosus	12	12	4	8	LW	90		5.5 ± 0.0144		
		Longissimus_dorsi	12	0	0	16	LW	90		5.49 ± 0.0167		
		Semimembranosus	12	0	0	16	LW	90		5.49 ± 0.0145		
		Longissimus_dorsi	12	20	4	16	LW	90		5.49 ± 0.0179		
		Semimembranosus	12	20	4	16	LW	90		5.52 ± 0.0144		
		Longissimus_dorsi	12	0	0	24	LW	90		5.49 ± 0.0167		
		Semimembranosus	12	0	0	24	LW	90		5.51 ± 0.0145		
		Longissimus_dorsi	12	28	4	24	LW	90		5.49 ± 0.0179		
		Semimembranosus	12	28	4	24	LW	90		5.52 ± 0.0144		

BLW: Belgian Large White.

[1] Code identification of each experiment included in the meta-analysis.

[2] List of breeds and crosses used in each experiment. Abreviations: LW: Large White; L: Landrace; BL: Belgian Landrace; P: Piétrain; D: Duroc; NL: Norwegian Landrace; Y: Yorkshire; H: Hampshire;

[3] Mean ± SE. pHu = ultimate pHu; pH45 = pH at 45 min *post-mortem*; L^* = lightness; DL24 = Drip loss at 24 h ; DL48 = Drip loss at 48 h.

[4] Data not given by the reference.

et al. (1996) and Milligan et al. (1998). Conversely, they were in contrast with Aaslyng and Barton-Gade (2001), Sterten et al. (2009) and Sterten et al. (2010) which found that lairage affected significantly pHu, pH45 and DL.

The lairage effect on technological meat quality is often associated to some factors other than the resting time, such as mixing of unfamiliar animals, the intensity of the stress experienced by the pig during transport (Rosenvold & Anderson, 2003), and the fluctuating environment (temperature and relative humidity) during lairage which may have an additional effect on pig homeostasis and meat quality (Honkavaara, 1989; Roseiro et al., 1996; Warriss, 1991). All the animals considered in our analysis were mixed during lairage. However, the information about transport and lairage environment conditions were not reported by the authors of the combined studies. Consequently, it was not possible to consider these aspects in our analysis. Mixing unfamiliar pigs during lairage can induce stress either psychologically or physically, which adversely affect the quality of pork (Callow, 1936 cited by Fernandes, Smith, & Armstrong, 1979). This induced stress could alter the effect of lairage on the analyzed attributes, which may explain the inability of our models to detect any effect of lairage, except on pHu in *semimembranosus* muscle.

The pH is a major meat quality trait. It is known that *post-mortem* pH and temperature kinetics influence the rate and extent of protein denaturation, oxidation and proteolysis, lipid oxidation which in turn influence color characteristics, water holding capacity and sensory aspects of meat (Bee, Anderson, Lonergan, & Huff-Lonergan, 2007; Rosenvold & Anderson, 2003). The rate of pH decline depends on muscle metabolic activity (mainly ATPase activity) at slaughter, while the extent of pH decline depends mainly on muscle glycogen reserves (Bendall, 1973; Hambrecht, Eissen, Newman, Smits, Verstegen, et al., 2005). It is currently admitted that muscle glycogen reserves may be partly depleted due to food deprivation and physical activity during the pre-slaughter period (Bendall, 1973; Terlouw & Rybarzcyk, 2008). Psychological stress, such as fear during fighting, may increase the secretion of hormones that exacerbate the effects of muscular activity on muscular glycogen depletion (Febbraio, Lambert, Starkie, Proietto, & Hargreaves, 1998; Fernández, Meunier-Salaün, Ecolan, & Mormède, 1995; Terlouw & Rybarzcyk, 2008). Consequently, exercise and/or stress any time during the pre-slaughter period, due to fighting or walking down races, caused net glycogen depletion and higher ultimate pH (Terlouw & Rybarzcyk, 2008; Warriss, 1995). Stress or exercise immediately before slaughter, due to use of a prod (D'Souza, Dunshea, Warner, & Leury, 1998), treadmill exercise (Rosenvold & Anderson, 2003), or fighting (Karlsson & Lundström, 1992) resulted in higher muscle temperature and lactic acid content and faster pH decline.

Oversimplification considering only transport, fasting or lairage durations might not be accurate to control pH and meat quality. Conditions in which preslaughter procedures are conducted need more accurate description to be pertinent.

4.1. Comparison with previous work

As this is the first study to estimate the effects of pre-slaughter conditions on technological meat quality, there are no other estimates that we can compare our results with.

4.2. Robustness and further work

All the checking tests and sensitivity analyses proved the accuracy of our results. However, even though that a number of different sources of uncertainty have been included in our analysis, there are additional sources of uncertainty that warrant consideration. First, most of the data were obtained in experimental designs where only one parameter was considered. However, according to the literature, there are potential synergistic effects between the analyzed factors and other pre-slaughter components. To illustrate this kind of relationships, we chose as example the transport factor which depends on another components than the length of journey, such as the transport vehicles (Fischer, 1996), load density (Berg, 1998; English, Fowler, Baxter, & Smith, 1988; Lambooij & Engel, 1991; Warriss, Brown, Knowles, et al., 1998), and environmental conditions during journey (Grandin, 1994). Unfortunately, these information were not reported in the studies including in our analysis. Consequently, they were not considered in the transport models. We suggest that future analyses focus on these potential synergistic effects.

Second, hierarchical Bayesian meta-analysis rests on the assumption that the different populations in the analysis are exchangeable with respect to the key estimated parameter, i.e., knowing the identity and the associated properties of a given population tells us nothing about the possible value of the parameter for that population (Gelman et al., 1995). Some authors suggested that the best approach for transferring information from data-rich to data-sparse populations would be to use a meta-analysis that includes one or more covariates (e.g., latitude, natural mortality rate, species) to help predict the parameter of interest (Helser & Lai, 2004; Helser, Stewart, & Lai, 2007; Prévost et al., 2003).

In light of the lack of information about potential covariates affecting meat quality (e.g. breed, sex), and the low heterogeneity between studies suggesting that there is no need to include covariates in the models in order to avoid the risk of overestimating some effects, we did not take this approach in the current analysis but recognize that it could be a useful extension of this work.

5. Conclusion

Meta-analysis was a useful tool with which to address existing controversies about the pre-slaughter handling effect generated by existing studies in a statistically robust way. Our study confirmed the significant effect of fasting, transport and lairage durations on some of the analyzed attributes.

We considered hierarchical Bayesian models, which are only one of a family of hierarchical modeling techniques that could be used in this problem. The nonlinear mixed effects model represents a frequentist approach that uses maximum likelihood type methods for the estimation of the parameters of the random effects distribution (Lindstrom & Bates, 1990). Neither of these approaches is without its weaknesses. While Bayesian methods often rely heavily on prior specifications and require convergence of the Metropolis–Hastings algorithm to obtain accurate estimates of the posterior distributions (Searle, Casella, & McCulloch, 1992). Further analyses could be performed to compare the performance of these approaches under different circumstances (i.e., the number of data sets and quality of the data in each group). Thus, several extensions to our approach are possible, which would probably give improved results.

Acknowledgment

The authors gratefully acknowledge from the European Community financial participation under the Sixth Framework Programme for Research, Technological Development and Demonstration Activities, for the Integrated Project Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245.

The views expressed in this publication are the sole responsibility of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the European Commission. Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for the use, which might be made of the information.

References

Aaslyng, M. D., & Barton-Gade, P. (2001). Low stress pre-slaughter handling: effect of lairage time on the meat quality of pork. *Meat Science*, *57*, 87–92.

Álvarez, D., Garrido, M. D., & Bañón, S. (2009). Influence of pre-slaughter process on pork quality: an overview. *Food Reviews International*, *25*, 233–250.

Apple, J. K., Kegley, E. B., Maxwell, C. V., Rakes, L. K., Galloway, D., & Wistuba, T. J. (2005). Effects of dietary magnesium and short-duration transportation on stress response, postmortem muscle metabolism, and meat quality of finishing swine. *Journal of Animal Science*, *83*, 1633–1645.

Beattie, V. E., Burrows, M. S., Moss, B. W., & Weatherup, R. N. (2002). The effect of food deprivation prior to slaughter on performance, behavior and meat quality. *Meat Science*, *62*, 413–418.

Becker, B. A., Mayes, H. F., Hahn, G. L., Nienaber, J. A., Jesse, G. W., Anderson, M. E., et al. (1989). Effect of fasting and transportation on various physiological parameters and meat quality of slaughter hogs. *Journal of Animal Science*, *67*, 334–341.

Bee, G., Anderson, A. L., Lonergan, S. M., & Huff-Lonergan, E. (2007). Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water holding capacity in pork. *Meat Science*, *76*, 359–365.

Bendall, J. R. (1973). Post mortem changes in muscle. In G. H. Bourne (Ed.), *Structure and Function of Muscle* (pp. 244–309). New York: Academic Press.

Berg, E. P. (1998). Critical points affecting fresh pork quality within the packing plant. *Facts: National Pork Producers Council* (pp. 1–8). Iowa, USA: Des Moines.

Bermingham, E. N., Nozière, P., Vernet, J., Lapierre, H., Léger, S., Sauvant, D., et al. (2007). The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, *143*, 27–58.

Bidner, B. S., Ellis, M., Witte, D. P., Carr, S. N., & McKeith, F. K. (2004). Influence of dietary lysine level, pre-slaughter fasting, and rendement napole genotype on fresh pork quality. *Meat Science*, *68*, 53–60.

Bradshaw, R. H., Parrott, R. F., Goode, J. A., Lloyd, D. M., Rodway, R. G., & Broom, D. M. (1996). Behavioral and hormonal responses of pigs during transport: Effect of mixing and duration of journey. *Animal Science*, *62*, 547–554.

Brown, S. N., Knowles, T. G., Edwards, J. E., & Warriss, P. D. (1999). Behavioural and physiological responses of pigs to being transported up to 24 hours followed by six hours recovery in lairage. *Veterinary Record*, *145*, 421–426.

Brown, S. N., Warriss, P. D., Nute, G. R., Edwards, J. E., & Knowles, T. G. (1997). Meat quality in pigs subjected to minimal preslaughter stress. *Meat Science*, *49*, 257–265.

Carlin, J. B. (1992). Meta-analysis for 2×2 tables: A Bayesian approach. *Statistics in Medicine*, *11*, 141–158.

Carlin, B. P., & Louis, T. A. (1996). Bayes and Empirical Bayes methods for data analysis. *Monographs on Statistics and Applied Probability*, *Vol. 69*, London, U.K.: Chapman and Hall.

Carr, C. C., Newman, D. J., Rentfrow, G. K., Keisler, D. H., & Berg, E. P. (2008). Effects of slaughter date, on-farm handling, transport stocking density, and time in lairage on digestive tract temperature, serum cortisol concentrations and pork lean quality of market Hogs. *The Professional Animal Scientist*, *24*, 208–218.

Chai, J., Xiong, Q., Zhang, C. X., Miao, W., Li, F. E., Zheng, R., et al. (2010). Effect of pre-slaughter transport plant on blood constituents and meat quality in halothane genotype of NN Large White×Landrace pigs. *Livestock Science*, *127*, 211–217.

CIE (1978). *Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. Suppl. 2 to CIE Publ. No. 15 (E-1.3.1) 1978, 1971/(TC-1-3)*. Paris, France: Comm. Int. de l'Eclairage.

Cucherat, M., Boissel, J. P., & Leizorovicz, A. (2002). Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques. http://www.spc.univ-lyon1.fr/livreMA/frame.htm Accessed Sep. 1997

D'Souza, D. N., Dunshea, F. R., Warner, R. D., & Leury, B. J. (1998). The effect of pre-slaughter handling and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. *Meat Science*, *50*, 429–437.

De Smet, S. M., Pauwels, H., De Bie, S., Demeyer, D. I., Callewier, J., & Eeckhout, W. (1996). Effect of halothane genotype, breed, feed withdrawal, and lairage on pork quality of belgian slaughter pigs. *Journal of Animal Science*, *74*, 1854–1863.

Diestre, A. (1991). Principal problems of pork meat quality. *Proceedings of the Scientific conference SEPOR'91. 17–18 Septembre, Lorca*.

DuMouchel, W. H. (1990). Bayesian meta-analysis. In D. A. Berry (Ed.), *Statistical Methodology in the Pharmaceutical Sciences* (pp. 509–529). New York: Dekker.

Enfalt, A. C., Lundström, K., & Engstrand, U. (1993). Early post mortem pH decrease in porcine M. Longissimus dorsi of PSE, normal and DFD quality. *Meat Science*, *34*, 131–143.

English, P. R., Fowler, V. R., Baxter, S., & Smith, B. (1988). *The growing and finishing pig: Improving Efficiency* (pp. 27–430). Ipswich, UK: Farming Press Books.

Faucitano, L., Saucier, L., Correa, J. A., Méthot, S., Giguère, A., Foury, A., et al. (2006). Effect of feed texture, meal frequency and pre-slaughter fasting on carcass and meat quality, and urinary cortisol in pigs. *Meat Science*, *74*, 697–703.

Febbraio, M. A., Lambert, D. L., Starkie, R. L., Proietto, J., & Hargreaves, M. (1998). Effect of epinephrine in trained men. *Journal of Applied Physiology*, *84*, 465–470.

Fernandes, T. H., Smith, W. C., & Armstrong, D. G. (1979). The administration of sugar solutions to pigs immediately prior to slaughter. I. Effect on carcass yield and some muscle and liver characteristics. *Animal Production*, *29*, 213–221.

Fernández, X., Meunier-Salaün, M. C., Ecolan, P., & Mormède, P. (1995). Interactive effect of food deprivation and agonistic behavior on blood parameters and muscle glycogen in pigs. *Physiology and Behavior*, *58*, 337–345.

Fischer, K. (1996). Transport of slaughter animals. Effects, weaknesses measures. *Fleischwirtschaft*, *76*, 521–526.

Fraqueza, M. J., Roseiro, L. C., Almeida, J., Matias, E., Santos, C., & Randall, J. M. (1998). Effects of lairage temperature and holding time on pig behaviour and on carcass and meat quality. *Applied Animal Behaviour Science*, *60*, 317–330.

Gelman, A., Carlin, J. B., Stern, H. S., & Rubin, D. B. (2004). *Bayesian data analysis* (2nd edn.). Boca Raton: Chapman & Hall.

Gelman, A., Carlin, J. B., Stern, H. S., & Rubin, D. B. (1995). Bayesian data analysis. Chapman & Hall, New York: Oxford University Press.

Gilks, W. R., Thomas, A., & Spiegelhalter, D. J. (1994). A language and program for complex Bayesian modelling. *Statistician*, *43*, 169–178.

Gispert, M., Faucitano, L., Oliver, M. A., Guàrdia, M. D., Coll, C., Siggens, K., et al. (2000). A survey of pre-slaughter conditions, halothane gene frequency, and carcass and meat quality in five Spanish pig commercial abattoirs. *Meat Science*, *55*, 97–106.

Grandin, T. (1991). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*, *75*, 249–257.

Grandin, T. (1994). Methods to reduce PSE and Bloodsplash. *Proceedings of the Allen D. Leman Swine Conference*, *21*. (pp. 206–209): University of Minnesota.

Gregory, N. G. (1998). *Animal welfare and meat science*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.

Hambrecht, E., Eissen, J. J., Newman, D. J., Smits, C. H. M., Den Hartog, L. A., & Verstegen, M. W. A. (2005). Negative effects of stress immediately before slaughter on pork quality are aggravated by suboptimal transport and lairage conditions. *Journal of Animal Science*, *83*, 440–448.

Hambrecht, E., Eissen, J. J., Newman, D. J., Smits, C. H. M., Verstegen, M. W. A., & den Hartog, L. A. (2005). Preslaughter handling effects on pork quality and glycolytic potential in two muscles differing in fiber type composition. *Journal of Animal Science*, *83*, 900–907.

Helser, T. E., & Lai, H. L. (2004). A Bayesian hierarchical meta-analysis of fish growth: with an example for North American largemouth bass, Micropterus salmoides. *Ecological Modelling*, *178*, 399–416.

Helser, T. E., Stewart, I. J., & Lai, H. (2007). A Bayesian hierarchical meta-analysis of growth for the genus Sebastes in the eastern Pacific Ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *64*, 470–485.

Honkavaara, M. (1989). Influence of lairage on blood composition of pig and on the development of PSE pork. *Journal of Agricultural Science in Finland*, *61*, 425–432.

Hox, J. J., & de Leeuw, E. D. (2003). Multilevel models for meta-analysis. In S. P. Reise, & N. Duan (Eds.), *Multilevel Modeling: Methodological Advances, Issues, and Applications* (pp. 139–155). Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water holding capacity in meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, *71*, 194–204.

Jones, S. D. M., Rompala, R. E., & Haworth, C. R. (1985). Effects of fasting and water restriction on carcass shrink and pork quality. *Canadian Journal of Animal Science*, *65*, 613–618.

Karlsson, A., & Lundström, K. (1992). Meat quality in pigs reared in groups kept as a unit during the fattening period and slaughter. *Animal Production*, *54*, 421–426.

Kiefer, J., & Wolfowitz, J. (1956). Consistency of the maximum likelihood estimator in the presence of infinitely many incidental parameters. *Annals of Mathematical Statistics*, *27*, 887–906.

Kim, D. H., Woo, J. H., & Lee, C. Y. (2004). Effects of stocking density and transportation time of market pigs on their behaviour, plasma concentrations of glucose and stress-associated enzymes and carcass quality. Asian-Aust. *Journal of Animal Science*, *17*, 116–121.

Lambooij, E., & Engel, B. (1991). Transport of slaughter pigs by truck over a long distance: some aspects of loading density and ventilation. *Livestock Production Science*, *28*, 163–174.

Leheska, J. M., Wulf, D. M., & Maddock, R. J. (2003). Effects of fasting and transportation on pork quality development and extent of postmortem metabolism. *Journal of Animal Science*, *81*, 3194–3202.

Liermann, M., & Hilborn, R. (1997). Depensation in fish stocks: A hierarchic Bayesian meta- analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *54*, 1976–1985.

Lindstrom, M. J., & Bates, D. M. (1990). Nonlinear mixed effects models for repeated measures data. *Biometrics*, *46*, 673–687.

Luce, B. R., & Claxton, K. (1999). Redefining the analytical approach to pharmacoeconomics. *Health Economics*, *8*, 187–189.

Lunn, D. J., Thomas, A., Best, N., & Spiegelhalter, D. (2000). WINBUGS — A bayesian modeling framework: Concepts, structure and extensibility. *Statistics and Computing*, *10*, 325–337.

Lynch, P. B., Lawlor, P. G., Davis, D., Kerry, J. P., Buckley, D. J., & Walsh, L. (1998). *Studies on pre-slaughter handling of pigs and its relationship to meat quality (4130)*. : Teagasc Pig Production Department Moorepark Research Centre.

Martoccia, L., Brambilla, G., Macri, A., Moccia, G., & Cosentino, E. (1995). The effect of transport on some metabolic parameters and meat quality in pigs. *Meat Science*, *40*, 271–277.

Michielsens, C. G. J., & McAllister, M. K. (2004). A Bayesian hierarchical analysis of stock–recruit data: quantifying structural and parameter uncertainties. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *61*, 1032–1047.

Miller, M. F., Carr, M. A., Bawcom, D. A., Ramsey, C. B., & Thompson, L. D. (1997). Microbiology of pork carcasses from pigs with differing origins and feed withdrawal times. *Journal of Food Protection*, *60*, 242–245.

Milligan, S. D., Ramsey, C. D., Miller, M. F., Kaster, C. S., & Thompson, L. D. (1998). Resting of pigs and hot-fat trimming and accelerated chilling of carcasses to improve pork quality. *Journal of Animal Science*, *76*, 74–86.

Mota-Rojas, D., Becerril-Herrera, M., Lemus, C., Sánchez, P., González, M., Olmos, A., et al. (2006). Effects of midi-summer transport duration on pre- and post-slaughter performance and pork quality in Mexico. *Meat Science*, *73*, 404–412.

Murray, A. C., & Jones, S. D. M. (1994). The effect of mixing, feed restriction and genotype with respect to stress susceptibility on pork carcass and meat quality. *Canadian Journal of Animal Science*, *74*, 587–594.

Murray, A., Robertson, W., Nattress, F., & Fortin, A. (2001). Effect of pre-slaughter overnight feed withdrawal on pig carcass and muscle quality. *Canadian Journal of Animal Science*, *81*, 89–97.

Myers, R. A., & Mertz, G. (1998). Reducing uncertainty in the biological basis of fisheries management by meta-analysis of data from many populations; a synthesis. *Fisheries Research*, *37*, 51–61.
Nanni Costa, L., Lo Fiego, D. P., Dall'Olio, S., Davoli, R., & Russo, V. (2002). Combined effects of pre-slaughter treatments and lairage time on carcass and meat quality in pigs of different halothane genotype. *Meat Science*, *61*, 41–47.
Owen, B. L., Montgomery, J. L., Ramsey, C. B., & Miller, M. F. (2000). Preslaughter resting and hot-fat trimming effects on the incidence of pale, soft and exudative (PSE) pork and ham processing characteristics. *Meat Science*, *54*, 221–229.
Pedauyé, J.J. (1993). Evaluación objetiva de la calidad de la carne porcina en diferentes condiciones de sacrificio. Tesis Doctoral. Faculty of Veterinary Science University of Murcia, Murcia, Spain.
Pérez, M. P., Palacio, J., Santolaria, M. P., Aceña, M. C., Chacón, G., Verde, M. T., et al. (2002). Influence of lairage time on some welfare and meat quality parameters in pigs. *Veterinary Research*, *33*, 239–250.
Prévost, E., Parent, E., Crozier, W., Davidson, I., Dumas, J., Gudbergsson, G., et al. (2003). Setting biological reference points for Atlantic salmon stocks: transfer of information from data-rich to sparse-data situations by Bayesian hierarchical modelling. *ICES Journal of Marine Science*, *60*, 1177–1193.
Renerre, M. (1990). Review: Factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science and Technology*, *25*, 613–630.
Robinson, G. K. (1991). That BLUP is a good thing: The estimation of random effects. *Statistical Science*, *6*, 15–51.
Roseiro, L. C., Fraqueza, M. J., Almeida, J., Matias, E., Santos, C., & Sardinha, L. (1996). Influence of lairage temperature and time on postural attitude in pigs. *Proceedings of the 42nd International Congress on Meat Science and Technology* (pp. 442–443). Norway: Lillehammer.
Rosenvold, K., & Anderson, H. J. (2003). Factors of significance for pork quality—a review. *Meat Science*, *64*, 219–237.
Salmi, B., Trefan, L., Bloom-Hansen, J., Bidanel, J. P., Doeschel-Wilson, A., & Larzul, C. (2010). Meta-analysis of the effect of the halothane gene on six parameters of pig meat quality and on carcass leanness. *Journal of Animal Science*, *88*, 2841–2855.
Santos, C., Almeida, J. M., Matias, E. C., Fraqueza, M. J., Roseiro, C., & Sardinah, L. (1997). Influence of lairage environmental conditions and resting time on meat quality in pigs. *Meat Science*, *45*, 253–262.
Sauvant, D., Assoumaya, C., Giger-Reverdin, S., & Aechimède, H. (2006). Comparative study of ways of expressing the feeding level in ruminants. *Rencontres Recherches Ruminants*, *13*, 103.
Sauvant, D., Schmidely, P., & Daudin, J. J. (2005). **Les** méta-analyses des données expérimentales: Applications en nutrition animale. *INRA Productions Animales*, *18*, 63–73.
Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J. J., & St-Pierre, N. R. (2008). Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal*, *2*, 1203–1214.
Searle, S. R., Casella, G., & McCulloch, C. E. (1992). *Variance components.* New York: John Wiley & Sons.
Spiegelhalter, D. J., Abrams, K. R., & Myles, J. P. (2004). Bayesian approaches to clinical trials and health-care evaluations. Chichester, UK: JohnWiley&Sons.
Spiegelhalter, D. J., Abrams, K. R., & Myles, J. P. (2004). *Bayesian approaches to clinical trials and health-care evaluations* (pp. 80–85). Chichester, UK: JohnWiley&Sons.
Spiegelhalter, D., Thomas, A., Best, N., & Lunn, D. (2003). WinBUGS User Manual. Version 1.4, January 2003. http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/winbugs/manual14.pdf (consulted: 27 June 2010)
Sterten, H., Frøystein, T., Oksbjerg, N., Rehnberg, A. C., Ekker, A. S., & Kjos, N. P. (2009). Effects of fasting prior to slaughter on technological and sensory properties of the loin muscle (M. longissimus dorsi) of pigs. *Meat Science*, *83*, 351–357.
Sterten, H., Oksbjerg, N., Frøystein, T., Ekker, A. S., & Kjos, N. P. (2010). Effects of fasting prior to slaughter on pH development and energy metabolism post-mortem in *M. longissimus dorsi* of pigs. *Meat Science*, *84*, 93–100.
Støier, S., Aaslying, M. D., Olsen, E. V., & Henckel, P. (2001). The effect of stress during lairage and stunning on muscle metabolism and drip loss in Danish pork. *Meat Science*, *59*, 127–131.
St-Pierre, N. R. (2001). Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science*, *84*, 741–755.
Su, Z., Peterman, R. M., & Haeseker, S. L. (2004). Spatial hierarchical Bayesian models for stock recruitment analysis of pink salmon (*Onchorhynchus gorbuscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *61*, 2471–2486.
Sutton, A. J., Abrams, K. R., Jones, D. R., Sheldon, T. A., & Song, F. (2000). *Methods for meta-analysis.* London, UK: Wiley.
Tang, R., Yu, B., Zhang, K., & Chen, D. (2009). Effects of supplemental magnesium aspartate and short-duration transportation on postmortem meat quality and gene expression of μ-calpain and calpastatin of finishing pigs. *Livestock Science*, *121*, 50–550.
Tarrant, P. V. (1989). The effects of handling, transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs. A review. *Irish Journal of Food Science and Technology*, *13*, 79–107.
Terlouw, E. M. C., & Rybarzcyk, P. (2008). Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: The case of Large White and Duroc pigs. *Meat Science*, *79*, 795–805.
Trefan, L., Bünger, L., Bloom-Hansen, J., Rooke, J. A., Salmi, B., Larzul, C., et al. (2011). Meta-analysis of the effects of the vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. *Meat Science*, *87*, 305–314.
Vernet, J., Nozière, P., Sauvant, D., Léger, S., & Ortigues-Marty, I. (2005). Regulation of hepatic blood flow by feeding conditions in sheep: A meta-analysis. *Second International Seminar of the Sub-Network FAO-CIHEAMon Sheep and Goat Nutrition* (pp. 132).
Warriss, P. D. (1991). A note on the influence of ambient temperature at slaughter on pig meat quality. *Proceedings of the 37th International Congress on Meat Science and Technology* (pp. 301–304). Germany: Kulmbach.
Warriss, P. D. (1995). Pig handling—guidelines for the handling of pigs antemortem. *Meat Focus International*, *4*, 491–494.
Warriss, P. D., Brown, S. N., Edwards, J. E., & Knowles, T. G. (1998). Effect of lairage time on levels of stress and meat quality in pigs. *Animal Science*, *66*, 255–261.
Warriss, P. D., Brown, S. N., Franklin, J. G., & Kestin, S. C. (1990). The thickness and quality of backfat in various pig breeds and their relationship to intramuscular fat and setting of joints from the carcasses. *Meat Science*, *28*, 21–29.
Warriss, P. D., Brown, S. N., Knowles, T. G., Edwards, J. E., Kettlewell, P. J., & Guise, H. J. (1998). The effect of stocking density in transit on the carcass quality and welfare of slaughter pigs: 2. Results from the analysis of blood and meat samples. *Meat Science*, *50*, 447–456.
Whitehead, A. (2002). *Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials.* Chichester, UK: John Wiley and Sons Ltd.
Yu, J., Tang, S., Bao, E., Zhang, M., Hao, Q., & Yue, Z. (2009). The effect of transportation on the expression of heat shock proteins and meat quality of *M. longissimus dorsi* in pigs. *Meat Science*, *83*, 474–478.

Chapitre 4

Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système d'élevage

Motivation

Les avancées technologiques permettent aujourd'hui de générer des données issues de plateformes différentes. Ainsi l'analyse de données interdisciplinaires visant à mieux comprendre et maîtriser les différentes fonctions biologiques à tous les niveaux d'intégration auxquels elles se manifestent au niveau du même système biologique est maintenant possible. Cette approche analytique globale, appelée biologie intégrative, a pour but d'étudier un ou des organismes en intégrant des données de sources multiples, et ainsi de mieux appréhender les différents processus cellulaires très complexes inhérents au système.

Les objectifs d'une telle analyse intégrative sont les suivants (Steinfath *et al.,* 2008) :

1. comprendre les interactions entre variables de même type ;
2. relier ces variables de même type au phénotype (ensemble de caractéristiques observables caractérisant un être vivant) ;
3. comprendre les relations entre des variables de types différents.

Ces objectifs rendent l'analyse statistique peu aisée compte tenu du nombre limité d'échantillons et du grand nombre de variables mesurées.

Les méthodes appliquées pour résoudre ces problèmes d'intégration de multiples données biologiques sont très souvent des méthodes classiques de projection multivariées, puisqu'elles permettent de projeter les données dans des espaces de dimension plus petite. Le biologiste peut alors plus facilement interpréter les résultats grâce à des représentations graphiques résumant l'information.

Méthodes d'analyse multivariées

Il existe de nombreuses méthodes dites d'analyse multivariées : analyse en composantes principales (ACP), analyse factorielle des correspondances (AFC), analyse des correspondances multiples, analyse factorielle multiples (AFM)…Le lecteur pourra se référer à Escofier et Pagès (1988 et 1998) pour une description de ces approches.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes principalement focalisés sur deux approches.

La méthode d'analyse à un tableau : ACP

L'Analyse en Composantes Principales (Jolliffe, 2002) est la méthode de projection multivariée la plus connue. En général elle ne s'applique que sur un seul tableau X de taille n x p où le vecteur x^j représente les mesures des variables j de type X pour chaque échantillon.

L'ACP est utilisée comme un outil préliminaire pour visualiser de façon rapide si les échantillons biologiques peuvent être séparés au niveau de l'expression des variables suivant les conditions biologiques mesurées lors de l'expérience (Steinfath *et al.,* 2008).

Rappelons que le but de l'ACP est de trouver des combinaisons linéaires des variables initiales appelées composantes principales, qui maximisent la variance du jeu de données. Les composantes principales sont orthogonales entre elles et représentent de nouvelles variables artificielles non corrélées. Ainsi, nous recherchons les vecteurs unitaires $v_1 \ldots v_H$ tels que :

$$\arg\max_{v'_h v_h=1} \mathrm{var}(Xv_h)$$

où les v_h, h = 1…H, H < p, sont les vecteurs appelés facteurs principaux ou « loadings » et les composantes principales associées sont les Xv_h. La plus grande partie de la variance est, par construction, expliquée par les premières composantes principales H. Notons une propriété très utile des facteurs principaux qui est la correspondance directe entre leur coordonnées et l'importance des variables dans le modèle, dans le cas de variables homogènes ou réduites.

Une limite de l'ACP lorsque l'on dispose de données de grande dimension est l'interprétabilité et le manque de lisibilité des résultats lorsque le nombre de variables devient trop grand.

Dans le cadre de données à très grandes dimensions, nous nous sommes inspirés d'une variante dite sparse PCA qui permet de réduire le nombre de variables en fixant des simple seuillages, et qui consiste, de manière empirique, à annuler les coefficients des variables dont les valeurs absolues sont inférieures à un seuil donné (Cadima et Joliffe, 1995). Dans le cadre de notre travail, l'approche sparse PCA choisie était celle proposée par Zou *et al.* (2006) : sparse PCA Elastic Net.

L'analyse factorielle multiple : AFM

Dans le cadre de l'AFM les données sont constituées d'un ensemble d'individus, {*i* ; *i*=1, *I*}, décrits par plusieurs groupes de variables. Ces données peuvent être regroupées sous forme d'un tableau unique structuré en sous-tableaux (Figure 4.1). On note :

X : le tableau complet ;

K : l'ensemble des variables ;

J : l'ensemble des sous-tableaux ;

Kj : l'ensemble des variables du groupe *j* ;

Xj : le tableau associé au groupe *j*.

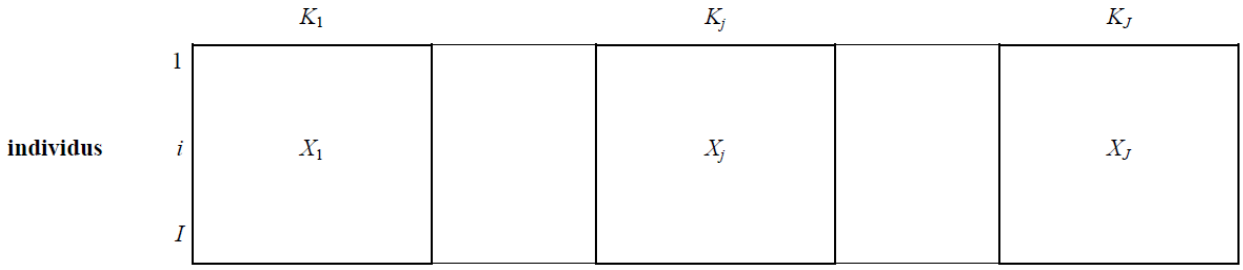


Figure 4.1 - Structure des données dans le cadre d'une AFM

Au tableau *X* correspond le nuage des individus, N_I, situé dans l'espace R^K. A chaque groupe de variables, correspond un nuage d'individus, dit partiel et noté N_i^j, situé dans un espace de dimension K_j.

Si l'on plonge le nuage N_I^j dans l'espace R^K les coordonnées de chacun des individus de ce nuage se trouvent au sein du tableau, noté $\tilde{X}_j$, de dimension (I, K), dans lequel X_j est complété par des 0.

L'AFM propose une représentation superposée des nuages partiels. Le cœur de cette analyse est constitué par une ACP effectuée sur le tableau complet *X*, dont les variables sont pondérées. La pondération utilisée consiste à diviser le poids initial de chaque variable du groupe *j* par λ_i^j (en notant λ_i^j l'inertie projetée sur le premier axe de l'analyse séparée du groupe *j*). On obtient ainsi une représentation du nuage N_I , comme dans toute ACP. A cette représentation, on superpose les nuages N_I^j en introduisant les tableaux $\tilde{X}_j$ en

supplémentaires dans l'ACP du tableau complet *X*. Cette représentation a au moins deux propriétés intéressantes :
- elle s'inscrit dans une méthode générale qui fournit de nombreux points de vue sur l'analyse simultanée de plusieurs tableaux en particulier de nombreuses aides à l'interprétation ;
- il existe pour cette représentation des relations de transition dites partielles.

Objectifs de l'étude

Afin de générer la variabilité nécessaire pour étudier les relations entre un très grand nombre de variables habituellement utilisées pour l'évaluation de la qualité de viande de porc, un dispositif expérimental incluant 50 animaux provenant de deux races contrastées a été utilisé : une race classique (Large White, LW), et une race locale (basque, B) du sud-ouest de la France qui est génétiquement éloignés des autres races européennes (Laval *et al.,* 2000). Les animaux ont été élevés dans trois systèmes d'élevage différents : le système conventionnel, alternatif et extensif. Ces systèmes sont connus par leur impact sur les paramètre de la qualité de viande (Guéblez *et al.,* 2002; Alfonso *et al.,* 2005; Lebret *et al.,* 2006).

Notre objectif était d'identifier la structure des corrélations entre un très grand nombre de variables de mesure de la qualité de viande (~ 255 variables) classées dans 9 sous groupes distincts : transcriptomiques, protéomiques, chimiques, composition d'acides gras, protéolyse, fibres et de réactivité à l'abattage.

Les analyses multivariées, notamment l'ACP et l'AFM, semblent les plus appropriées pour explorer les relations existant entre ces variables tout en considérant l'ensemble des données simultanément. Ainsi, et après avoir analysé les corrélations entre les groupes de variables de manière globale par le biais de l'ACP, nous nous sommes concentrés sur cette structure des corrélations qui discriminent les classes de race x système d'élevage, indépendamment de la variance résiduelle en considérant les moyennes des classes. Enfin, nous avons cherché à identifier quels sont les groupes de variables qui expliquent la variabilité intra-classes en appliquant une AFM sur les résidus.

Résultats et discussion

Nos résultats ont montré que les variables discriminant les cinq classes de race x système d'élevage étaient les mêmes que celles qui discriminaient les individus entre eux, en l'occurrence les variables transcriptomiques, chimiques, technologiques et celles de mesure des acides gras. Le groupe composé des variables relatives à la réactivité à l'abattage discriminaient principalement les systèmes d'élevage, en particulier la classe des porcs basques élevés dans le système extensif.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude confirment l'intérêt de ce genre d'analyses pour l'exploitation et l'exploration de grands volumes de données.

Aujourd'hui, une grande quantité d'information est recueillie et généralement stockées dans des bases, et qui peuvent être organisées selon une hiérarchie. Avec l'AFM, les structures dans lesquelles s'inscrivent ces données peuvent être fructueusement étudiés. Ainsi, l'AFM peut être considérée comme un outil de «data-mining». Sa principale caractéristique consiste en sa capacité à fournir:

- ✓ Une représentation graphique résumant l'ensemble des données ;
- ✓ Des représentations partielles qui reflètent les variables impliquées dans les différentes classes des individus ;
- ✓ Un aperçu graphique montrant comment ces différentes classes sont reliées les unes aux autres.

Les analyses multivariées peuvent être considérées comme des analyses préliminaires mettant en évidence les principales relations entre les groupes de variables, et qui peuvent être complétées par des analyses quantitatives de ces relations par d'autres méthodes statistiques, telles que l'analyse de variance (ANOVA) ou l'analyse de variance multivariée (MANOVA).

Références

Alfonso L., Mourot J., Insausti K., Mendizabal J.A., Arana A., 2005. Comparative description of growth, fat deposition, carcass and meat quality characteristics of Basque and Large White pigs. *Animal Research*, 54, 33-42.

Cadima J.F.C.L., Jolliffe I.T., 1995. Loadings and Correlations in the interpretation of Principal Components. *Journal of Applied Statistics*, 22, 203-214.

Escofier B., Pagès J., 1988-1998. Analyses factorielles simples et multiples: objectifs, méthodes et interprétation. Dunod, Paris.

Guéblez R., Labroue F., Mercat M.J., 2002. Performances de croissance, carcasse et qualité de viande de quatre races locales. Techniporc, 25, 5-15.

Joliffe I., 2002. Principal Component Analysis. 2nd Edition, Springer-Verlag, New York.

Laval G., Iannuccellia N., Legault C., Milana D., Groenen M.A.M., Giuffrad E., Anderssond L., Nissene P.H., Jârgensene C.B., Beeckmann P., Geldermann H., Foulley J.L., Chevaleta C., Ollivier L., 2000.Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genetics Selection Evolution*, 32, 187–203.

Lebret B., Meunier-Salaün M.C., Foury A., Mormède P., Dransfield E., Dourmad J.Y., 2006. Influence of rearing conditions on performance, behavioral, and physiological responses of pigs to preslaughter handling, carcass traits, and meat quality. *Journal of Animal Science,* 84, 2436–2447.

Steinfath M., Grith D., Lisec J., Selbig J., 2008. Metabolite profile analysis: from raw data to regression and classification. *Physiologia Plantarum*, 132, 150–161.

Zou H., Hastie T., Tibshirani R., 2006. Sparse principal component analysis. *Journal of Computational and Graphical Statistics,* 15, 265-286.

Article 3 : Article soumis au journal Animal

B. Salmi, C. Larzul, M. Damon, L. Lefaucheur, J. Mourot, E. Laville, P. Gatellier, K. Méteau, D. Laloë and B. Lebret

A multivariate analysis comparing pig meat quality traits according to breed and rearing system

A multivariate analysis comparing pig meat quality traits according to breed and rearing system

B. Salmi[†,*], C. Larzul[†], M. Damon[‡], L. Lefaucheur[‡], J. Mourot[‡], E. Laville[§], P. Gatellier[§], K. Méteau[¥], D. Laloë[†] and B. Lebret[‡]

[†] INRA, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78352 Jouy-en-Josas, France ;

[*] AgroparisTech, UMR 1313 Unité de Génétique Animale et Biologie Intégrative, 78352 Jouy-en-Josas, France ;

[‡] Inra, UMR Systèmes d'Elevage, Nutrition Animale et Humaine, F-35590 Saint-Gilles, France ;

[§] INRA, UR QuAPA, Theix, 63122 St-Genès – Champanelle, France ;

[¥] INRA, EASM, Le Magneraud, 17700 Surgères, France.

Abstract

Meat quality traits covering a large range of biological features were recorded in 50 castrated Large White and Basque pigs raised in three rearing systems: conventional, alternative and extensive (the last only containing Basque animals). Five classes were then defined by breed x rearing system. Traits were classified into nine groups: transcriptomic and proteomic data, sensorial, technological, chemical, fatty acids, muscle fibre, lipid and protein oxidation, and slaughter reactivity traits. Multivariate analysis, and in particular Multiple Factor Analysis (MFA), was performed on all traits. An extension of MFA in which data are organized into a hierarchical structure is discussed. This method of analysis balances the role of the groups of variables at each level of the hierarchy and provides outputs that can be interpreted from an overall perspective (overall hierarchical structure) and from perspectives relating to both the various levels of the hierarchy (i.e. between-class analysis) and individual variability (i.e. within-class analysis).

Our results showed that the variables which discriminated the five classes were the same as those discriminating individuals. Indeed a first group composed of transcriptomic, chemical and technological variables discriminated breeds. Slaughter reactivity variables discriminated rearing systems, especially the Basque pigs reared in the extensive system.

Key words: pork, meat quality, multiple factor analysis, sparse principal component analysis, rearing system, breeds.

1. Introduction

The quality of pig meat depends on several interactive effects including genetic background (Sellier and Monin, 1994), rearing conditions (Lebret et al., 2006), pre-slaughter handling (Álvarez et al., 2009) and carcass- or meat-processing. However, the biological characteristics associated with sensory quality have not yet been clearly identified. To improve that quality we need a better understanding of which biological phenomena govern tissue characteristics and the way those phenomena impact on quality. The attributes that define the quality of meat have become very diverse, and today many definitions of meat quality can be found in literature: proposed definitions have focused on palatability, on technological aspects, and on safety (Mullen, 2002). Hoffman (1990) described meat quality as the sum of all quality factors in meat, including sensory, nutritive, hygienic and toxicological and technological properties (Aaslyng, 2002).

To introduce the variability needed to investigate relationships between the large number of variables usually used for pork meat quality assessment, an experimental design using two contrasting breeds was used. The breeds were: a conventional breed (Large White, LW); and a local breed (Basque, B) from the south west of France which is genetically distant from the other European breeds (Laval et al., 2000) and gives high eating quality in fresh pork and other pork products (Promeyrat et al, 2011). The animals were reared in three different rearing systems which are known to affect meat quality (Guéblez et al., 2002; Alfonso et al., 2005; Lebret et al., 2006, 2008).

Our aim was to identify the 'correlation structure' within a very large range of variables of meat quality by grouping those variables and considering all data sets in a global Multiple Factor Analysis (MFA). We subsequently focused on this correlation structure between classes of breed x rearing systems independently of the residual variance by working on the mean averages of each class. Finally, we studied the groups of variables explaining the intra-class variability by working on residuals.

Today MFA is a well established method (for a brief introduction, see Escofier and Pagès (1988, 1998)). It has been applied to data of various kinds — in particular, sensory profiling data (Pagès and Husson, 2001; Le Dien and Pagès, 2003), omics data (Tayrac et al., 2008), and, in pork husbandry, sow farrowing data (Canario et al., 2009). Its main features are twofold: first, the balancing of sets of variables; and second, outputs specific to the partition

of the variables in different sets — mainly, the superimposed representations of individuals and categories, and the group's representation.

2. Material and methods

2.1. Animals and rearing systems

A total of 50 pigs were used for the experiment: 20 LW and 30 B finishing castrated boars. Of these, 10 pigs of each breed were reared in a conventional system (C: slatted floor, 1.0 m^2/pig) and a further 10 of each breed were reared in an alternative system (A: bedding with free access to an outdoor area, 2.4 m^2/pig) at the French National Institute for Agricultural Research (INRA) experimental farm (Saint-Gilles, France). Moreover, 10 Basque pigs were reared in the extensive (E: free range) production system of B pigs (south west of France). Thus, we distinguish five classes of breed x rearing system:

	Conventional system	Alternative system	Extensive system
Basque	BC	BA	BE
Large White	LWC	LWA	

In order to standardize the period to animal slaughter, and taking into account differences in growth rates between the breeds and systems estimated by Guéblez et al. (2002) and Alfonso et al. (2005), the BE animals were 3 months older at slaughter than the BAs and BCs, and the LWA and LWC animals were two months younger at slaughter than the BAs and BCs.
All animals were slaughtered at an average live weight of 150 kg, according to standard procedures followed in the INRA experimental slaughterhouse; they were fasted for 36 h prior to slaughter (a Basque industry practice) and stunned with low voltage electricity.

2.2. Groups of variables

2.2.1.Slaughter reactivity

Blood temperature was recorded after slaughter (Thermometer JTEK, Cole Parmer Instrument Company, Chicago, IL). The blood was collected in EDTA tubes, centrifuged immediately, and stored at −20°C until plasma ACTH could be determined using a 2-site ^{125}I immunoradiometric assay (Nichols Diagnostic Institute, San Juan Capistrano, CA). The quantification limit of the assay was 6 pg/mL of plasma, and the intra- and inter-assay CVs were 3.0 and 7.8%, respectively, at 35 pg/mL. Blood was also collected in heparinized tubes, immediately centrifuged, and stored at −20°C until plasma cortisol could be determined using a competitive ^{125}I RIA kit (Immunotech, 13276 Marseille, France). The quantification limit of the assay was 8 ng/mL of plasma, and the intra- and inter-assay CVs were 4.2 and 10.0%, respectively, at 71 ng/mL.

Plasma concentrations of glucose and lactate (bioMerieux kits, Marcy l'Etoile, France) and FFA (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany), as well as creatine kinase activity (bioMerieux kit), were all determined on the blood samples collected in heparinized tubes using a multichannel spectrophotometric analyzer (Cobas Mira, Hoffmann-LaRoche, Basel, Switzerland).

2.2.2.Lipid and protein oxidation

Lipid and protein changes were measured in *Longissimus lumborum* pig muscles 24 h after animal slaughter, after 3 days of subsequent refrigerated storage at 4°C, and after 30 min of cooking at 100°C. All biochemical measurements were performed in duplicate.

Lipid oxidation was evaluated by measuring the ThioBarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) according to the method described by Mercier et al. (1998). The results were expressed as mg of malondialdehyde (MDA) per kg of meat (TBA units).

Basic amino acids oxidation was evaluated by measuring protein carbonyl groups according to the method first described by Oliver et al. (1987) and then modified for measurements in meat samples by Mercier et al. (1998). Carbonyl groups were detected by reactivity with 2,4 dinitrophenylhydrazine (DNPH) to form protein hydrazones. The results were expressed as nanomoles of DNPH fixed per milligram of protein.

Thiol oxidation was measured with a modification of Ellman's method using 2,2'-dithiobis (5-nitropyridine) DTNP (Morzel et al., 2006). The results were expressed as nanomoles of free thiol per milligram of protein.

Aromatic amino acids (tryptophan, and tyrosine) were determined using the method described by Gatellier et al. (2008) using second-derivative UV spectroscopy on meat extracts prepared in guanidine. The values were expressed as percentage of amino acid in meat (g/100g of meat).

Protein surface hydrophobicity was determined on myofibrillar proteins with a hydrophobic probe (bromophenol blue, BPB) according to the method proposed by Chelh et al. (2006). The results were expressed as micrograms of BPB bound to proteins.

Protein aggregation was determined on myofibrillar proteins using the method suggested by Long et al. (2008). Fluorescence light scattering was measured for the same excitation and emission wavelengths (λex and λem = 300 nm) on a PERKIN ELMER, Luminescence Spectrometer LS 50 B. The values were expressed in arbitrary units.

2.2.3.Sensory analysis

The day after slaughter a piece of the right loin of each carcass lying between the 2^{nd} / 3^{rd} and 9^{th} /10^{th} vertebrae was trimmed of external fat, kept at 4°C for 3 subsequent days, put under vacuum, and frozen at −20°C until sensory analyses could be performed at INRA-EASM (Le Magneraud, France). So the frozen loins were cut into chops, individually vacuum packaged, and stored frozen. After thawing (for 48 h at 4°C) a slice was taken for visual assessment of the intensity and homogeneity of red coloration and the marbling of the raw meat on a scale from 0 (absent) to 10 (high). The remaining chops were grilled with a double-contact grill at 250°C for 10 min. Samples comprising a third of the muscle part of the deboned chop with the remaining external fat (3–5 mm depth) were assessed by a 12-member, trained taste panel for odour (normal and abnormal odours of lean and fat), marbling, tenderness, juiciness, fibreness, and typical and abnormal flavours on a scale from 0 (absent) to 10 (high). The samples were served in daylight. Panellists were served water and bread to rinse their palates between samples. Individual panellist scores were averaged, and the mean scores from each sample were used in the subsequent statistical analysis.

2.2.4. Technological/Chemical

The internal temperature of *longissimus muscle* (LM) was recorded (temperature probe Pt1000, Knick, Berlin, Germany) 30 min after slaughter, and samples of this muscle were taken, frozen immediately in liquid nitrogen, and stored at −80°C until determinations of pH 30 min post-mortem (pH1) and glycolytic potential (GP), as described by Lebret et al. (2006), could be made. The pH1 was determined after the homogenization of 2 g of muscle in 18 mL

of 5 mM Na iodoacetate, pH 7.0 (Ingold Xerolyte electrode, Knick pH-meter, Berlin, Germany).
The following day, transverse sections of LM were taken for direct determination of ultimate pH (pHu) using the same apparatus as described above. Colour was also evaluated on these muscle samples through the value determination of coordinates CIE L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness) and c* (chroma) and h° (hue angle); the average of 3 different determinations per sample, using a chromameter Minolta CR 300 (Osaka, Japan) with a D65 illuminant and a 1-cm diameter aperture, was calculated.
Muscle slices were then trimmed of external fat, minced, and freeze-dried; following this their intramuscular lipid content (Lebret et al., 2006) was determined. A second part of the meat sample was lyophilized and minced to determine its total collagen content and the thermosolubility of the collagen as described by Lebret et al. (2001).
On the same day, 3 slices (1.5 cm depth) of LM muscle were taken at the level of the last rib, trimmed of external fat and perimysium, weighed, and kept at 4°C in plastic bags until drip loss at 2 and 4 days post-mortem (Honikel, 1998) could be determined.

The day after slaughter a piece of the left loin of each carcass lying between $2^{nd}/3^{rd}$ and $6^{th}/7^{th}$ (LW pigs) or $7^{th}/8^{th}$ (B pigs) vertebrae was removed, trimmed and kept for ageing at 4°C for 3 days. On the fourth day this section was vacuum packaged, frozen and kept at –20°C for objective texture assessment (INRA-QuaPA). Measurements of cooking loss and shear force were determined in the way recommended by Honikel (1998).
Muscle lactate content was determined using the method previously described in connection with plasma lactate. Muscle glycogen content was determined from glucose determination after hydrolysis by amyloglucosidase, as described by Talmant et al. (1989). For muscle GP determinations, samples from 1 replicate were analyzed in a single assay. Lactate, free glucose, and glucose-6-phosphate, together with glucose from glycogen hydrolysis, were expressed as micromoles per gram of wet tissue; GP was expressed as micromoles of equivalent lactate per gram of wet tissue.

The activities of lactate dehydrogenase (LDH), citrate synthase (CS), and β-hydroxy-acyl-CoA dehydrogenase (HAD) were determined on LM samples taken at 30 min post-mortem as described previously (Lebret et al., 1999). These enzymes were chosen so as to assess the glycolytic pathway, Krebs cycle activity, and fatty acid β-oxidation potential, respectively.

Activities were measured at 30°C and expressed as micromoles of substrate degraded per minute per gram of fresh tissue.

2.2.5. Transcriptomic

LM samples were taken 30 min after exsanguination, frozen immediately in liquid nitrogen and stored at −80°C until the RNA could be isolated. Total RNA was extracted from LM samples (Chomczynski and Sacci (1987)) and purified using RNeasy MinElute Kit (Qiagen, Hilden, Germany). The RNA concentration was evaluated by ND-1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE), and RNA quality was assessed using an Agilent Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies, Santa-Clara, CA).

The RNA samples and the reference (pool of an equal amount of the 50 LM RNA) were labelled according to Agilent manual with Cy3 and Cy5 dye, respectively. The samples were hybridized to the Agilent custom 15K microarray designed for muscle tissue and washed according to Agilent procedure.

Hybridized microarrays were scanned at 5 µm/pixel resolution on a DNA Microarray scanner (Agilent Technologies, Santa-Clara, CA). Image analyses were performed with Agilent Feature Extraction Software (v9.5). The intensities of selected spots were transformed into log(Cy3/Cy5), and data were normalized, by both spot and chip, by the weighted linear regression (LOWESS) method, using the microarray software package GeneSpring GX 7.3.

After processing, 11429 probe sets were retained for further analysis.

2.2.6.Fatty acid composition

The fatty acid composition of lipid fractions was determined by gas-liquid chromatography of methyl esters (Morrison and Smith, 1964). Fatty acid composition was expressed as % total fatty acids. The following parameters were calculated from fatty acid composition: i) the sum of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids; ii) the ratio of polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids; iii) the unsaturation coefficient defined as the average number of double bounds of unsaturated fatty acids; iv) the chain length coefficient calculated using the formula $\Sigma p_i c_i/100$ where p_i and c_i are, respectively, the percentage and the number of carbon atoms of each fatty acid i; v) the ratio of n-6 fatty acids to n-3 fatty acids.

2.2.7.Proteomics

The two-dimensional gel electrophoresis method was used to individualize and quantify separately the relative amount of muscle proteins. Analysis was performed on the

Longissimus lumbrum samples taken 30 min post-mortem. The soluble protein extraction and the two-dimensional gel electrophoresis were performed in the way described by Promeyrat et al. (2011).

A 2-D gel from each animal (n = 50) was analyzed. Gel images were acquired using a GS-800 imaging densitometer (BioRad). Digitalized images of stained gels were aligned and protein spots were detected and quantified following the method described by Promeyrat et al. (2011). Spot volumes, relative to total spot density, were used as quantitative data.

The protein identification was made by spectrometry in the way described by Promeyrat et al. (2011).

2.2.8.Fibre measurements

Histological measurements were performed on 10-µm-thick serial transverse sections cut on a cryostat (2800 frigocut N, Reichert-Jung, Heidelberg, Germany) at −20°C. Histoenzymology was undertaken on both biopsies and 30-min post-mortem samples of LM. The identification of types I, IIA, and IIB fibre, together with a further fibre type, was processed for succino-dehydrogenase in order to identify red oxidative (R) and white glycolytic (W) fibres, as described previously (Lefaucheur et al., 2004). Both I and IIA fibres are oxidative (type R), whereas IIB fibres can be either moderately oxidative (type R) or not oxidative (type W). Myofibres were classified as types I, IIA, IIBR, and IIBW as a result of both stains (Larzul et al., 1997). For an accurate estimation of the proportions of type I, IIA, IIBR and IIBW fibres several entire bundles of myofibres from 30-min post-mortem samples were selected in 3 random fields to obtain a total of at least 1,000 fibres that were counted using a projection microscope (Visopan, Reichert, Heidelberg, Germany).

A total of 500 fibres from 3 random fields were used to evaluate the cross-sectional area (CSA) of the different fibre types classified by histoenzymology, or immunocytochemistry, or both, on biopsies and 30 min post-mortem samples of LM.

2.3. Statistical analysis

The analysis of a high-dimensional data, partitioned in different groups of variable, and in different classes of individual, leads to relevant questions: (a) What variables are the most important in describing the variability? (b) How is the variability structured according to classes of individuals? (c) How is the variability structured according to the groups of

variables? We propose to answer these questions from within the general framework of factorial multivariable methods on the basis of the following procedures:

2.3.1. Selecting the most influential variables, and facilitating the interpretation of results: sparse principal components analysis (SPCA)

We feel it is desirable to reduce both the dimensionality and size of explicitly used variables by selecting a subset of influential variables contributing most to the overall variability of the animals. We adopt the *elastic net* approach proposed by Zou and Hastie (2003), which is a variable selection technique simultaneously producing accurate and sparse models. Sparse principal component analysis (SPCA) uses the *elastic net* to produce modified principal components with sparse loadings. The SPCA function of the *elasticnet* package (R-software) makes it possible to estimate the sparse principal components and the number of variables to keep per axis by using an alternating minimization algorithm to minimize the SPCA criterion. In the case of transcriptomic and proteomic variable groups, we limited our selection to the first five principal components with a constraint of 12 variables per axis. Thus, we retained a total of 60 data sets for both groups. We obtained a data table in which a single set of individuals (50 animals) is described by nine groups of variables: transcriptomic (60 variables), proteomic (60 variables), slaughter reactivity (7 variables), sensorial (12 variables), technological (18 variables), chemical (19 variables), fatty acid composition (29 variables), protein and lipid oxidation (21 variables) and muscle fibre (type and sizes, 29 variables).

2.3.2. Studying the different groups of variables: MFA

Multiple factor analysis (MFA) (Escofier and Pagès, 1988-1998; Pagès, 2002, Tayrac et al., 2008)) can be used to analyze several groups of variables which describe the same samples. At the core of MFA is a principal component analysis (PCA) applied to the whole set of variables in which each group of variables is weighted; this makes it possible to analyze different points of view by taking them equally into account. We consider the merged data set: $K = [K_1, K_2, \ldots, K_9]$, where each Kj (j=1, …, 9) corresponds to the data table of one of the groups of variables.

First, separate analyses are performed by PCA on each group *j* of variables. Secondly, a global analysis is carried out: each variable belonging to a group *j* is weighted by $1/\lambda_1^j$, where λ_1^j denotes the largest eigenvalue of the matrix of variance-covariance associated with each data table K*j*. The first dimension's variance relative to each data table is then equal to one. The rationale of the scaling is that, through it, information that is common to the data tables emerges. Besides, no data table can generate the first dimension of the global analysis by itself. In this way MFA provides a balanced representation of each individual according to the joint data table *K*, but also a partial representation of each individual according to each group *j* of variables. The corresponding graphical displays (Individual Factor Map and Variables Representation) are read as they are in PCA. The partial individual $i^{[j]}$ is on the side of the variables of the group *j* for which it takes high values, and on the opposite side of the variables of the group *j* for which it takes low values. Partial representations of one and the same individual are all the more close that they do express the same information. And, the balanced representation of an individual *i* is located in the exact barycentre of its partial points corresponding to the groups of variables.
MFA also provides a representation of each matrix of variables (Groups Representation) which allows specific and common structures to be visualized. Consequently, it is possible to get an overall picture of the common structure emerging from the entire dataset.

This representation of the groups is presented as a graphical display of the groups of variables as points in a scatter plot. It has to be read as follows: the closer the coordinate of a given group is all the more close to 1 than the more correlated variables of this group are highly correlated with the dimension issued from the MFA (either positively or negatively).Hence, two groups are all the more close than the structures they induce on the observations are close.

2.3.3. Studying the different classes of individuals: Between-class and within-class analyses

When classes of samples are involved, between-class analysis can be seen simply as the MFA of the table of class means. Its aim is to highlight differences between classes, and row scores maximize the between-class variance. Within-class analysis is the reverse of between-class analysis: it is the MFA of the residuals between initial data and class means. It removes the effect of the grouping variable and analyses the remaining variability.

In the present study we applied these methods to analyze the effect of the five classes of breed (LW and B) x rearing system (C, A and E). Initially, a within-class MFA — i.e. an MFA on data expressed as a deviation from class means — was carried out to estimate within-class variability and to identify the correlation structure between variable groups when the effect of breed x rearing system had been excluded. Next, a between-class MFA was performed to investigate the differences according to the correlation structure between classes, to estimate between-class variability, and to classify the main variable groups involved in these differences by decreasing order of magnitude. The influence of each class could then be investigated by comparing the results of the between-MFA with those from the global MFA performed on the pooled data set.

All of the multivariate analyses were performed with the ade4 package of the R software (R Development Core Team, 2008; Chessel et al., 2004; Dray et al., 2007). In all the analyses the number of components retained was determined by a scree test (Cattell, 1966).

3. Results and discussion

3.1. Total Multiple Factor Analysis

Between-class and a within-class PCAs of breed x rearing system were performed on the whole data set. Most of the variability (73%) was found to have within-class origin. However, the between-class variability was not negligible (27%).

Projection of the first two components of the between-class PCAs on the first two axes of the standard PCA of the whole data set showed that there was a strong pairwise correlation between the first two components (0,98 and 0,95, respectively). The correlation between the first axes of the within-class PCA and those of the standard PCA was very low (0.42 and 0.13, respectively, between the principal axes 1 and 2). These results show that the variables which discriminated the five classes were the same as those discriminating individuals. The variables explaining the residual variability were different, however.

To have displayed all 253 variables on the basis of the same plot would have been impractical. It was more effective to use the MFA to overcome the problem of structuring of variables into separate groups.

Figure 1 shows the projected inertia; it also shows the links between the nine groups of variables and the reference plane defined by the first two principal components of the MFA compromise. Notice that the first component of the MFA compromise (52% of the total inertia) is mainly composed of the groups of transcriptomic, chemical, technological and fatty acids variables. The slaughter reactivity variables differ from the other groups of variables and are mostly responsible for the second component of the compromise. We can distinguish an intermediate group composed of sensorial, fibre and oxidation variables which are moderately correlated with the first axis. The correlation coefficients between the nine groups of variables and the first two components of the MFA compromise are cited in Table 1. Interestingly, in our analysis, proteomic variables were located near the origin of this reference plane (Figure 1), suggesting that they did not discriminate the animals. A recent study, made by Promeyrat et al. (2011) on the same animals, disclosed a relation between the muscle proteome and the protein oxidation during ageing and cooking. These results are inconsistent with our conclusions, which suggest that, from an overall point of view, proteomic variables are not correlated with the oxidation variables which are correlated with the first axis of the compromise. However, the Promeyrat study correlated only one oxidation parameter (carbonyls) with proteome; in the present study oxidation is described by 21 variables.

The superimposed representation of the partial projection of individuals represented as partial clouds of individuals belonging to the same class of breed x rearing system is depicted in Figure 2. This representation allows for the precise comparison of clouds N_I^J (I=1,...,5; J=1,…,9). Figure 2 suggests that the first axis of the compromise discriminated breeds. It opposed LW and Basque animals. The second axis discriminated rearing systems. In other words, transcriptomic, chemical, technological and fatty acids variables discriminate mainly LW and B animals, when the slaughter reactivity variables opposed the rearing systems, especially, the extensive system where only the B animals were reared.

These findings are in line with those of Lebret et al. (2011), who found that the plasma concentrations of ACTH, cortisol and creatine kinase hormones, reflecting levels of stress in the animals they investigated, were significantly different in BE animals as compared with the other classes (BA, BC, LWA and LWC), despite maximum standardization of the slaughter conditions on two sites (they used an experimental site for animals reared in alternative and conventional systems and an industrial site for the animals reared in the extensive system.)

The authors explain this important distinction of the BE (Figure 2 and Figure 3) by referring to the pre-slaughter conditions. In the case of industrial slaughter, aggression and fights during pre-slaughter could explain the variation in hormonal concentrations, and especially the creatine kinase hormone concentration in the BE animals. The variation would reflect a high physical activity for this group.

Proteomic variables are located near the origin, which corroborates our previous suggestions regarding their limited importance in discriminating between breed and rearing system.

It is worth noting that, within the same breed, there was no notable distinction between the conventional and alternative rearing systems. Indeed projections of the barycentres of both systems within the same breed were very close (Figure 2). These results were similar to those of Lebret et al. (2011), who concluded that there was no significant difference between conventional and alternative systems, and that both systems were significantly different from the extensive system.

3.2. Between-class structure

This approach was applied to the mean averages of the five classes of breed x rearing system for all the variables to highlight the groups of variables discriminating the classes after residual variability had been excluded. Figure 3 superimposes the partial projections of the five classes on the factorial plan of between-MFA. There are numerous similarities in the results of the total MFA (Figure 2) and the between-class MFA (Figure 3): notice, for example, the high levels of discrimination between breeds on the first component of both of their compromises, and the second axis, which is mainly composed of slaughter reactivity variables that discriminate rearing systems. Figure 4 illustrates the projected inertia; it also shows the links between the nine groups of variables and the reference plane defined by the first two principal components of the between-class MFA compromise.

In the total MFA some groups of variables, such as proteomic and sensorial groups of variables, did not distinguish the classes of breed x rearing system; by contrast, in the between-class MFA all groups of variables except slaughter reactivity were highly linked with the first axis, i.e. all of the groups of variables except one contributed equally to the discrimination of breeds.

Between-class variability explains most of the total variance in the group of sensorial variables, and especially the breed differences, as a result of the high correlation of this group with the first factorial axes of the total and between-class MFA analyses discriminating most

strongly between breeds. Performance differences between LW and B animals regarding sensorial attributes have been highlighted by several studies (Guéblez et al., 2002; Alfonso et al., 2005; Lebret et al., 2011).

The correlation between transcriptomic data sets and drip loss as a technological attribute was investigated by Wyszynska et al. (2009), using data from the same experiment as our study. They found a significant correlation between the expression of CAV3 (Caveolin-3, a gene encoding the sodium channel regulator activity protein) and PGM1 (a gene encoding phosphoglucomutase 1, an enzyme which catalyzes the isomerization of glucose 1-phosphate to glucose 6-phosphate). The authors speculate that these gene expressions could affect drip loss by indirectly influencing muscle lactate production. The Wyszynska study also showed that drip loss is weakly correlated with pHu. These findings highlight the potential connection between transcriptomic, chemical and technological groups of variables.

The most important contrast between total MFA and between-MFA analyses concerns the proteomic variables. These variables are highly correlated with the first two components of the compromise of the between-MFA (with correlation coefficients of 0.86 and 0.98, respectively). The results of the partial PCA of the proteomic variables imply that the between-variance represents only 10% of the total of this group of variables. Given these findings, we suggest that the discriminatory power of proteomic data was hidden by the residual variability. Moreover, the high correlation between slaughter reactivity and proteomic groups of variables could be explained by the fact that both groups contain variables measured immediately after slaughter: after all, this timing would ensure that both groups of variables reflect the level of stress suffered by animals during this step. The link between slaughter reactivity and proteomic variables could be also explained by the findings of Boles et al. (1992). These findings suggest that pH drop, which is more pronounced when animals are stressed, is associated with high muscle temperature denatured proteins which become insoluble.

3.3. Within-class structure

In this section we address the following question: Which groups of variables scatter the animals whatever class of breed x rearing system is considered? Figure 5 illustrates the projected inertia; it also shows the links between the nine groups of variables and the

reference plane defined by the first two principal components of the within-class MFA compromise.

Our results suggest that individual variability is explained chiefly by chemical and fatty acids variables which are highly correlated with the first principal component of the compromise of the within-class MFA. The slaughter reactivity variables and proteomic variables are responsible for the second axis. According to Terlouw (2005), differences in stress responses exist not only between animals of different breeds or rearing systems: pigs of a similar genetic type (but different genetic make-up) and the same rearing unit (but different social and other experiences) display different stress reactivities. Generally, individuals are showing a certain consistency in their reaction to stress.

Technological measurements are also correlated with the second axis, i.e. they are highly correlated with slaughter reactivity. This result is consistent with the findings of earlier studies, which found a correlation between the reactivity of animals to slaughter, expressed by plasma hormone concentrations, such as lactate and cortisol, on the one hand, and technological attributes, represented by pH decline, colour and drip loss, on the other (Hemsworth et al., 2002; Terlouw, 2005; Terlouw and Rybarczyc, 2008).

The correlation between slaughter reactivity, proteome, oxidation and technological groups of variables on the second axis (Figure 5) accords with the findings of Foury et al. (2005), whose account of the relationship between levels of stress hormone and carcass composition and muscle quality allows that relationship to be explained by the action of these hormones on energy and protein metabolism.

The lack of individual variations related to transcriptomic group of variables prevented us from establishing a relationship between the molecular genetic markers and other groups of variables. However, it has been established that genetic factors influence individual variations in stress behavioural responses (Mormède et al., 2002). This discrepancy suggests that there is a need for further investigations in which the number of animals is increased in order to establish a link between individual variations and genetic factors.

Unlike the transcriptomic data, the proteomic data contained individual variations that will make further analyses, in which proteomic markers are identified in order to predict the biological mechanisms involved in meat quality, possible. This is in keeping with the

conclusions of Pomeyrat et al. (2011), who report that there is a significant relationship between post-mortem modifications of the muscle proteome and protein oxidation during ageing and cooking. On the basis of these results, we suggest that the proteomic approach should be extended to other targets, and that this will lead to better control of pork quality.

Conclusion

Nowadays, a large amount of information is gathered and generally stored in databases which can be organized into a hierarchy. With MFA, the structures into which these data fit can be fruitfully investigated. MFA can be seen as a tool for 'data mining'. The main value of MFA consists in its ability to provide:

- ✓ An overall graphical display representing the whole data set
- ✓ Partial representations that reflect the variables involved in the various nodes
- ✓ A graphical display showing how the various nodes are related to each other.

The method of analysis illustrated here, in which large numbers of data sets were structured into groups, allowed existing correlations between these groups to be assessed by taking into account all the information simultaneously. The multivariate analyses are perhaps best regarded as preliminary investigations highlighting the main relationships between groups of variables. With complementary statistical methods, such as ANOVA (Analysis of Variance) and MANOVA (Multivariate Analysis of Variance), it should be possible to advance beyond these initial investigations and quantify the relationships.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge financial assistance provided by the European Community under the Sixth Framework Programme for Research, Technological Development and Demonstration Activities (Brussels, Belgium) for the Integrated Project Q-PORKCHAINS FOOD-CT-2007-036245. The views expressed in this publication are the sole responsibility of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the European Commission. Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for any use that might be made of the information.

References

Aaslyng MD 2002. Quality indicators of raw meat. In Meat processing: improving quality. Pages 157-166. Kerry, J., Kerry, J., and Ledward, D. CRC Press; Cambridge, England: Woodhead Pub.

Alfonso L, Mourot J, Insausti K, Mendizabal JA and Arana A 2005. Comparative description of growth, fat deposition, carcass and meat quality characteristics of Basque and Large White pigs. Animal Research, 54: 33-42.

Álvarez D, Garrido MD and Bañón S 2009. Influence of pre-slaughter process on pork quality: an overview. Food Reviews International, 25, 233–250.

Boles JA, Parrish FC, Huiatt TW and Robson RM 1992. Effect of porcine stress syndrome on the solubility and degradation of myofibrillar cytoskeletal proteins. Journal of Animal Science, 70, 454–464.

Canario L, Billon Y, Caritez JC, Bidanel JP and Laloë D 2009. Comparison of sow farrowing characteristics between a Chinese breed and three French breeds. Livestock Science, 125, 132-140.

Catell RB 1966. The scree test for the number of factors. Multivariate Behavioral Research, 1, 245–276.

Chelh I, Gatellier P and Santé-Lhoutellier V 2006. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination. Meat Science, 74, 681-684.

Chessel D, Dufour AB and Thioulouse J 2004. The ade4 package – I : One-table methods. R-news, 4, 5-10.

Chomczynski P and Sacchi N 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenolchloroform extraction. Analytical Biochemistry, 162, 156-159.

Dray S, Dufour AB and Chessel D 2007. The ade4 package – II: two-table and K-table methods. R News, 7, 47-52.

Escofier B and Pagès J 1988-1998. Analyses factorielles simples et multiples: objectifs, méthodes et interprétation. Dunod, Paris.

Foury A, Devillers N, Sanchez MP, Griffon H, Le Roy P and Mormède P 2005. Stress hormones, carcass composition and meat quality in Large White X Duroc pigs. Meat Science, 69, 703-707.

Gatellier P, Kondjoyan A, Portanguen S, Grève E, Yoon K and Santé-Lhoutellier V 2008. Determination of aromatic amino acid content in cooked meat by derivative spectrophotometry: implication in nutritional quality of meat. Food Chemistry, 114, 1074-1078.

Guéblez R, Labroue F and Mercat MJ 2002. Performances de croissance, carcasse et qualité de viande de quatre races locales. Techniporc, 25, 5-15.

Hemsworth PH, Barnett JL, Hofmeyer C, Coleman GJ, Dowling S and Boyce J 2002. The effects
of fear of humans and pre-slaughter handling on the meat quality of pigs. Australian Journal of Agricultural Research, 53, 493-501.

Hoffman K 1990. Definition and measurement of meat quality. In Proceedings 36th International Congress of Meat Science and Technology, Pages 941–954. Havanna, Cuba.
Honikel KO 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. Meat Science, 49:447–457.

Larzul C, Lefaucheur L, Ecolan P, Gogue J, Talmant A, Sellier P, Le Roy P and Monin G 1997. Phenotypic and genetic parameters for longissimus muscle fiber characteristics in relation to growth, carcass, and meat quality traits in Large White pigs. Journal of Animal Science, 75:3126–3137.

Laval G, Iannuccellia N, Legault C, Milana D, Groenen MAM, Giuffrad E, Anderssond L,Nissene PH, Jârgensene CB, Beeckmann P, Geldermann H, Foulley JL, Chevaleta C and Ollivier L 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. Genetics Selection Evolution, 32, 187–203.

Lebret B, Lefaucheur L and Mourot J 1999. La qualité de la viande de porc. Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire. Productions Animales, 12:11–28.

Lebret B, Juin H, Noblet J and Bonneau M 2001. The effects of two methods of increasing age at slaughter on carcass and muscle traits and meat sensory quality in pigs. Animal Science, 72, 87–94.

Lebret B, Meunier-Salaün MC, Foury A, Mormède P, Dransfield E and Dourmad JY 2006. Influence of rearing conditions on performance, behavioral, and physiological responses of pigs to preslaughter handling, carcass traits, and meat quality. Journal of Animal Science, 84, 2436-2447.

Lebret B, Damon M, Gondret F, Lefaucheur L, Louveau I, Prunier A, Bonhomme N, Ecolan P,
Wyszynska-Koko J, Lepetit J, Meteau K, Barthelemy S, Pollet PY and Dourmad JY 2011. Variation de la qualité de la viande de porc selon la race : Basque ou Large White et le système d'élevage : conventionnel, alternatif ou extensif. Journées de la Recherche Porcine, 43, 39-46.

Le Dien S and Pagès J 2003. Hierarchical Multiple Factor Analysis: application to the comparison of sensory profiles. Food Quality and Preference, 14, 397-403.

Lefaucheur L, Milan D, Ecolan P and Le Callennec C 2004. Myosin heavy chain composition of different skeletal muscles in Large White and Meishan pigs. Journal of Animal Science, 82:1931–1941.

Long X, Zang C, Cheng J and Bi S 2008. A novel method for study of the aggregation of protein induced by metal ion aluminum (III) using resonance Rayleigh scattering technique. Spectrochimica. Acta Part A, 69, 71–77, Molecule Biomolecule Spectroscopy.

Mercier Y, Gatellier P, Viau M, Remignon H and Renerre M 1998. Effect of dietary fat and vitamin E on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. Meat Science, 48, 301-317.

Mormède P, Courvoisier H, Ramos A, Marissal-Arvy N, Ousova O, Désautés C, Duclos M, Chaouloff F and Moisan MP 2002. Molecular genetic approaches to investigate individual variations in behavioral and neuroendocrine stress responses. Psychoneuroendocrinology, 27, 563-583.

Morrison WR and Smith LM 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-metanol. Journal of Lipid Research, 3: 600-608.

Morzel M, Gatellier P, Sayd T, Renerre M and Laville E 2006. Chemical oxidation decreases proteolytic susceptibility of skeletal muscle proteins. Meat Science, 73, 536-543.

Mullen AM 2002. New techniques for analyzing raw meat quality. In Meat processing: improving quality. Pages 398-408. Kerry, J., Kerry, J., and Ledward, D. CRC Press; Cambridge, England: Woodhead Pub.

Oliver CN, Alin BW, Moerman EJ, Goldstein S and Stadtman ER 1987. Age-related changes in oxidized proteins. Journal of Biological Chemistry, 262, 5488-5491.

Pagès J 2002. Analyse factorielle multiple appliquée aux variables qualitatives et aux données mixtes. Revue de Statistique Appliquée, 50, 5-37.

Pagès J and Husson F 2001. Inter-laboratory comparison of sensory profiles. Methodology and results. Food Quality and Preference, 12, 297-309.

Promeyrat A, Sayd T, Laville E, Chambon C, Lebret B and Gatellier PH 2011. Early post-mortem sarcoplasmic proteome of porcine muscle related to protein oxidation. Food Chemistry, doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.108

R Development Core Team, 2008. R: A Language and Environment for Statistical Computing. http://www.R-Project.org.

Sellier P and Monin G 1994. Genetics of pig meat quality. Journal of Muscle Foods, 5:187–219.

Talmant A, Fernandez X, Sellier P and Monin G 1989. Glycolytic potential in longissimus muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. Page 1129, In Proceedings 35th International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark.

Tayrac M, Lê S, Aubry M, Mosser J and Husson F 2008. Simultaneous analysis of distinct Omics data sets with integration of biological knowledge: Multiple Factor Analysis Approach. BMC Genomics, doi:10.1186/1471-2164-10-32

Terlouw EMC 2005. Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience: A brief review of recent findings. Livestock Production, 94, 125-135.

Terlouw EMC and Rybarczyc P 2008. Explaining and predicting differences in meat quality through stress reactions at slaughter: the case of Large White and Duroc pigs. Meat Science, 79, 795-805.

Wyszynska-Koko J, Damon M and Lebret B 2009. Transcriptomic analysis of Longissimus muscle to select genes correlated to drip loss in porc. In Proceedings 55th International Congress of Meat Science and Technology, 16-21 August 2009, Copenhagen, Denmark.

Zou H and Hastie T 2003. Regularization and Variable Selection via the Elastic Net. Technical Report. Department of Statistics, Stanford University.

Table 1. The correlation coefficients between the nine groups of variables and the first two components of the total-MFA compromise.

Groups of variables	Factorial axis 1	Factorial axis 2
Transcriptomic	0.82	0.29
Proteomic	0.21	0.15
slaughter reactivity	0.05	0.61
Sensorial	0.55	0.17
Fatty acids	0.78	0.27
Fiber	0.49	0.25
Proteolysis	0.46	0.37
Technological	0.78	0.36
Chemical	0.88	0.29

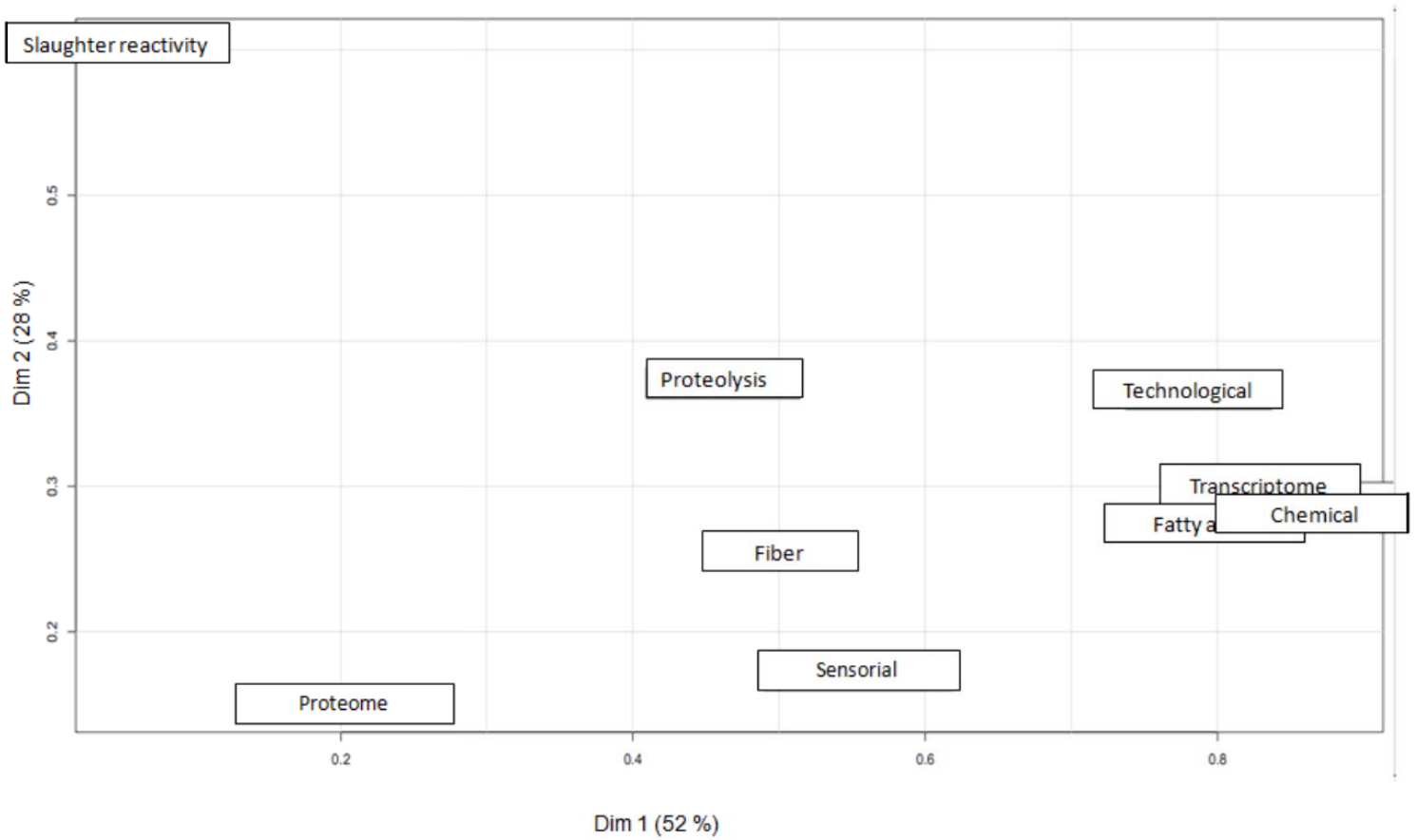


Figure 1 . Plot of the links between the projected inertia of the 9 groups of variables and the reference plan composed of the first two principal components of the compromise of the total-MFA .

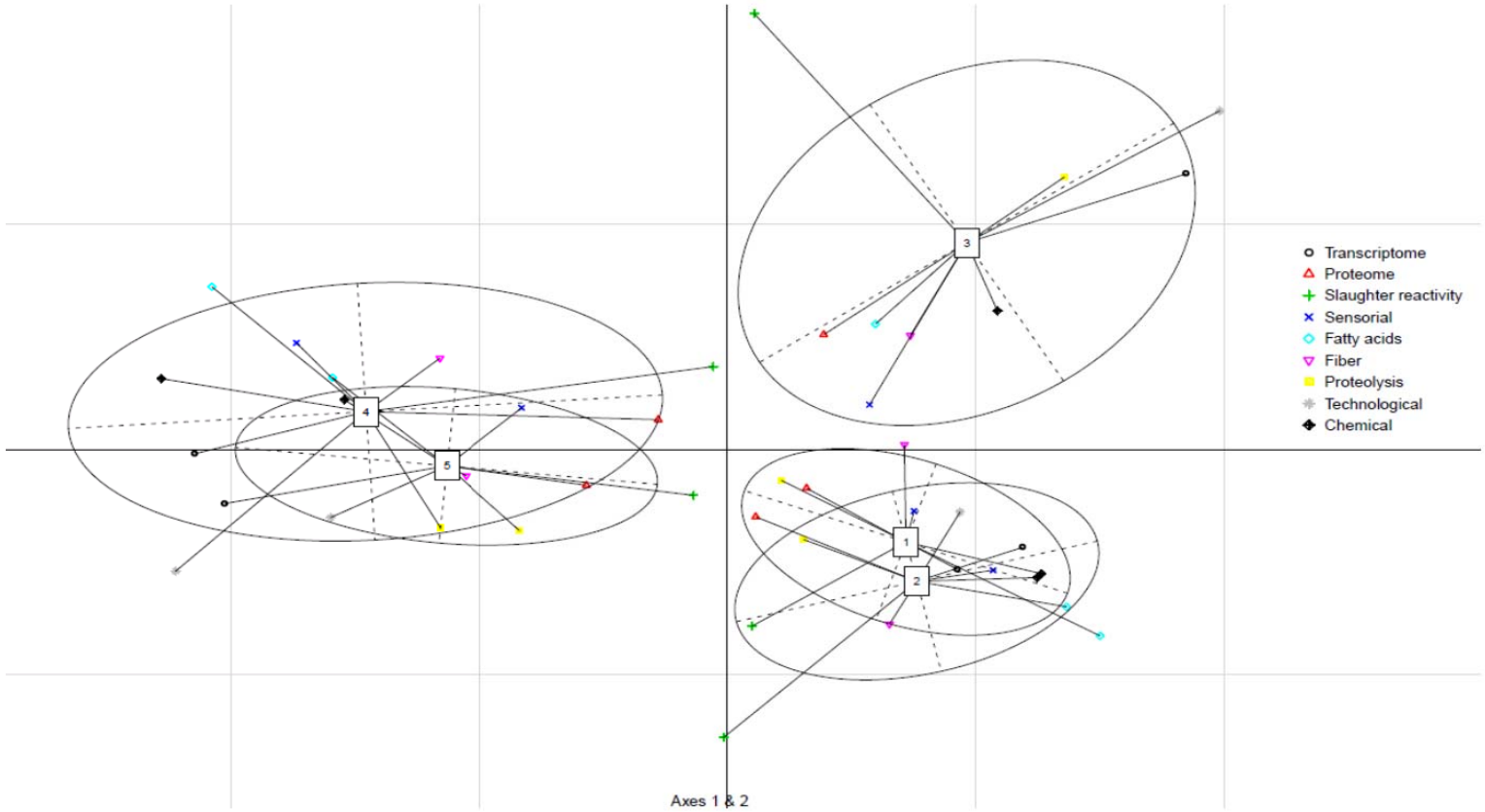


Figure 2. Total-MFA scatterplot (Axis 1 and 2). Consensus and partial representations of the five clouds of breed x rearing system classes according to the nine variable groups (B conventional (1), B alternative (2), B extensive (3), LW indoor (4), LW alternative (5)).

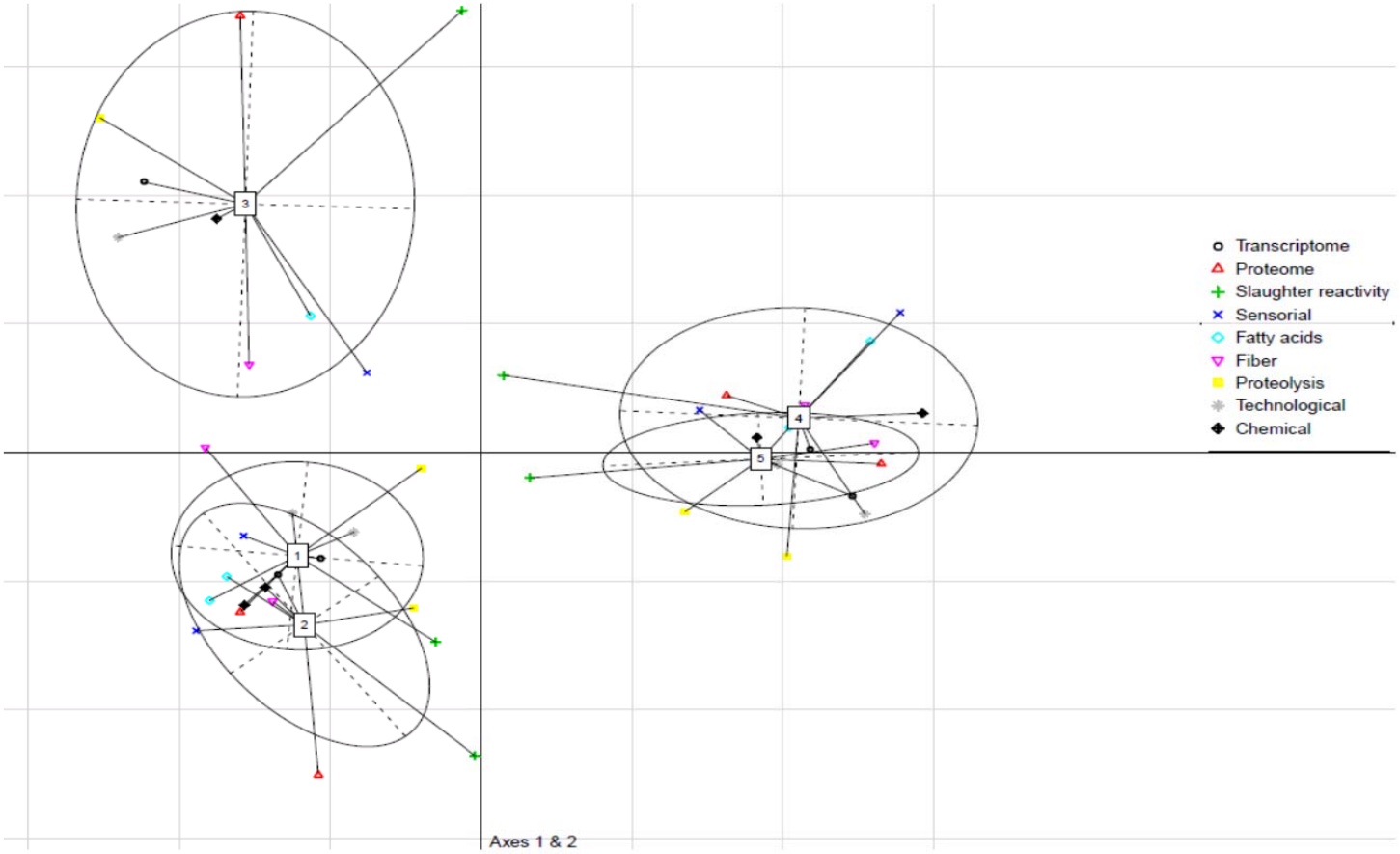


Figure 3. Between-MFA scatterplot (Axis 1 and 2). Consensus and partial representations of the five clouds of breed x rearing system classes according to the nine variable groups (B conventional (1), B alternative (2), B extensive (3), LW indoor (4), LW alternative (5)).

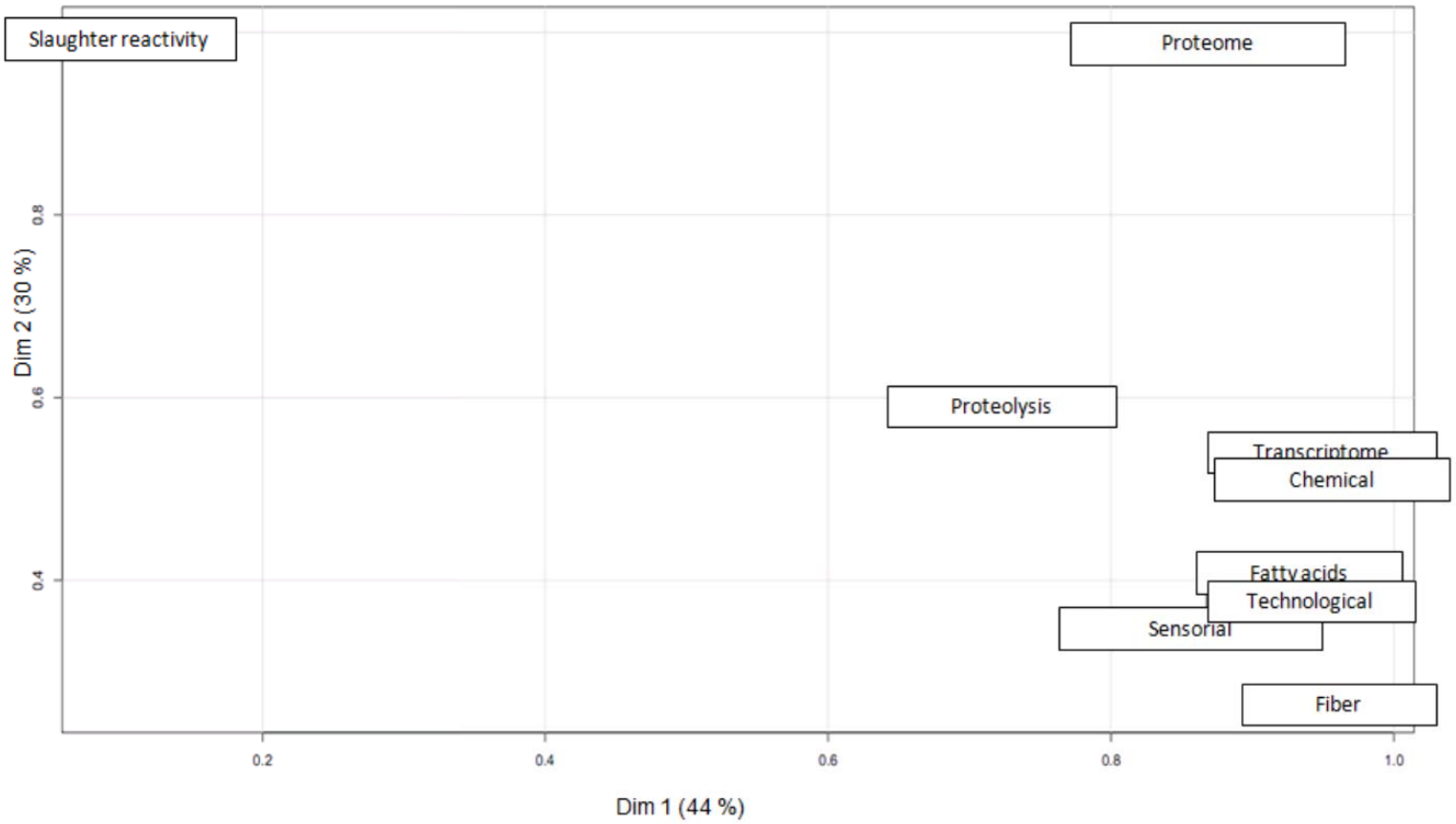


Figure 4 . Plot of the links between the projected inertia of the 9 groups of variables and the reference plan composed of the first two principal components of the compromise of the between-MFA .

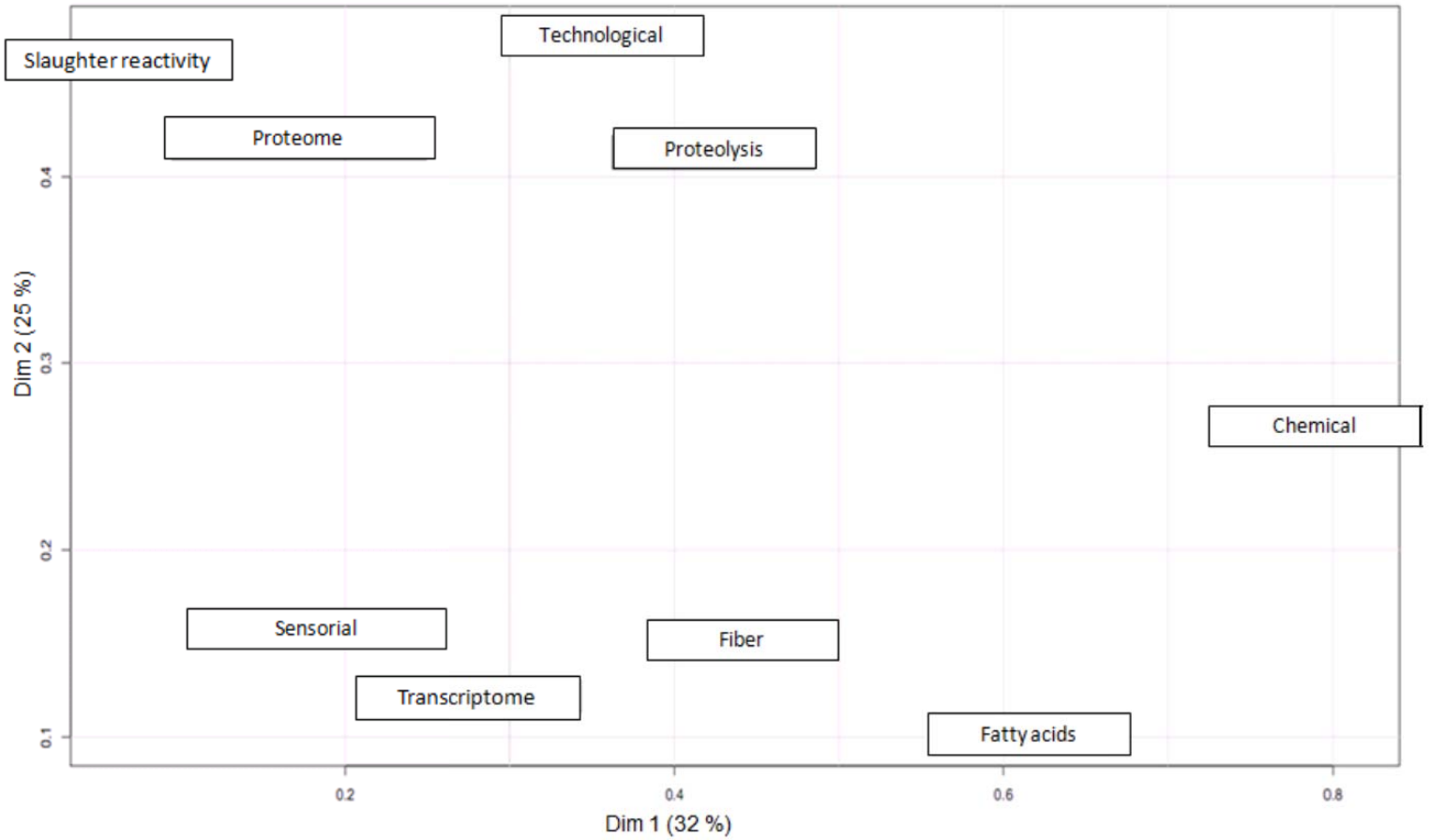


Figure 5 . Plot of the links between the projected inertia of the 9 groups of variables and the reference plan composed of the first two principal components of the compromise of the within-MFA .

Discussion générale

Dans le cadre de cette thèse, plusieurs approches méthodologiques ont été utilisées pour répondre à notre objectif principal, celui d'intégrer l'ensemble des données expérimentales relatives aux principaux facteurs influençant la qualité de la viande de porc. La discussion générale est donc principalement focalisée sur les aspects de ces méthodes statistiques utilisées, leurs similarités et leurs différences.



De nos jours, l'accès à l'information est devenu de plus en plus facile grâce à l'émergence des nouvelles technologies concernant le transfert, l'analyse et le stockage de données dans des bases de données. La science entame, actuellement, le 4ème paradigme de son évolution : elle se construit à partir de données planétaires, traitées ensemble et mises à la disposition de tous les scientifiques. Les données s'enrichissent par interactions entre elles et plus uniquement par le jeu d'algorithmes. Le développement des interconnexions des bases de données entre elles permet aujourd'hui de mesurer l'expression de plusieurs types de données. Dans ce contexte de biologie systémique, le but est d'identifier des relations entre ces données issues de niveaux fonctionnels différents et de comprendre les interactions souvent complexes entre ces différents composants.

Le volume et la spécificité des jeux de données ainsi constitués conduisent à des traitements faisant appel à tout l'éventail méthodologique statistique, tels que l'exploration des données (ACP, AFM, …), la modélisation (modèle linéaire, modèle mixte), les méta-analyses (maximum de vraisemblance, approche bayésienne), afin d'extraire des informations pertinentes pour le biologiste.

L'objectif de ce travail est d'analyser deux situations complexes qui sont relativement opposées : la première est celle où le nombre d'expériences (ou observations) est limité par rapport aux facteurs à analyser, alors que la deuxième concerne la situation où le nombre de variables est très largement supérieur au nombre d'observations. Les approches utilisées pour ces deux situations sont la méta-analyse pour la première et les analyses d'exploration multivariée des données, en l'occurrence l'ACP et l'AFM, pour la deuxième.

1. Méta-analyse des données expérimentales

Dans les sciences du vivant en général et en production animale en particulier, les progrès de la connaissance procèdent d'une série d'expérimentations. Cependant, les fluctuations d'échantillonnage et la variation des conditions d'expérimentation engendrent une variabilité dans les résultats, pouvant aboutir dans certains cas à des résultats contradictoires. Comment prendre en compte l'ensemble de ces résultats pour en tirer une conclusion unique ? C'est pour répondre à cette interrogation que les chercheurs en psychologie et en sciences de l'éducation ont inventé la méta-analyse en 1970.

Il convient de discuter certains aspects liés à la méthodologie de l'approche que nous avons choisie pour analyser la littérature. En effet, certains considèrent que les méta-analyses basées sur les données individuelles des animaux inclus dans les études doivent être préférées à celles basées sur les publications. Il s'agit en fait de deux approches différentes.
Une revue systématique de littérature est une analyse de la littérature avec une méthodologie adéquate. Cette approche est uniquement basée sur les études publiées et permet une analyse exhaustive et critique du sujet avec agrégation des résultats. Les méta-analyses des données individuelles sont quant à elles des études prenant en compte tous les travaux sur le sujet qu'ils soient publiés ou non et avec une mise à jour des données individuelles des individus par le méta-analyste.

Plusieurs travaux ont comparé les résultats obtenus à partir des données individuelles à ceux obtenus avec les données de la littérature (Stewart et Parmar, 1993 ; Jeng *et al.,* 1995). Ces comparaisons montrent que les différences observées entre les méta-analyses sur données de la littérature et celles sur données individuelles sont principalement une matérialisation du biais de publication et ne sont pas directement liées à l'utilisation de données résumées à la place de données individuelles. Il est très vraisemblable qu'une méta-analyse sur données résumées qui contrôlerait au maximum les potentiels biais de publication donnerait des résultats assez proches de ceux de la méta-analyse sur données.
Bien que la méta-analyse sur données individuelles présente de nombreux intérêts, cet argument ne peut pas être utilisé pour invalider la méta-analyse sur données résumées qui, lorsqu'elle est correctement conduite, représente une technique performante (fiabilité statistique et relative facilité de mise en œuvre) de synthèse des données pour la recherche de l'effet d'un traitement.

Au début de ce travail, il a été envisagé de comparer ces deux approches méta-analytiques afin de vérifier l'hypothèse attribuée à la méta-analyse sur données individuelles concernant son avantage par rapport à la réduction de l'hétérogénéité entre études. Plusieurs auteurs proposent des tutoriels décrivant les différentes étapes pour une méta-analyse de données individuelles (Whitehead, 2002 ; Simmonds *et al.,* 2005). Malheureusement, nos efforts concernant la collecte de données individuelles se rapportant à l'effet des facteurs étudiés sur les paramètres de qualité de viande de porc n'ont pas été fructueux.

Ainsi, nos analyses ont été réalisées en agrégeant uniquement les résultats résumés des publications disponibles dans la littérature. Concernant l'approche statistique, deux méthodes ont été comparées : la méthode de l'addition des effectifs et celle de la mesure de la taille de l'effet, afin d'identifier celle qui permettrait de réduire l'hétérogénéité entre études et, par conséquent, d'obtenir une meilleure estimation de l'effet du facteur étudié.

Les résultats obtenus ont montré que la méthode de mesure de la taille de l'effet « effect-size » est la méthode la plus appropriée, surtout lorsque le nombre d'études incluses dans la méta-analyse est limité, ce qui est le cas dans le cadre de ce travail. Un deuxième résultat important a été mis en évidence, il s'agit de l'avantage de l'approche bayésienne dans la réduction du biais de sélection et la possibilité qu'offre cette approche d'une meilleure estimation des paramètres du modèle grâce à ses avantages. On peut notamment travailler de façon exacte sur des échantillons de très petite taille. Par ailleurs, et d'un point de vue pratique, la méta-analyse bayésienne est caractérisée par une plus grande flexibilité liée au fait qu'elle permet d'intégrer des informations concernant les principaux paramètres du modèle bien avant que les données ne soient considérées. En outre, il est important que les distributions a priori soient modifiées de manière à prendre en considération les informations concernant les études, leur variabilité, et les valeurs plausibles des paramètres du modèle à estimer (effet traitement commun et variance inter-études,…).

2. Exploration multivariée des données

Nous avons procédé dans cette partie à une analyse de données structurées dans 9 groupes de variables résumées dans des matrices X_i (1 =1, …,9) de taille n x p_i tels que n est le nombre d'individus et p_i le nombre de variables de type X où $\Sigma\ p_i >> n$. Ces neufs groupes sont ceux des variables : transcriptomiques (micro-réseau muscle 15k Agilent), protéomiques,

sensorielles (flaveur, jutosité, …), technologiques (pH, couleur, force de cisaillement, …), chimiques (teneur en lipides, protéines), composition en acides gras, protéolyse, propriétés des fibres musculaires (type et taille des fibres) et réactivité à l'abattage (teneurs plasmatiques en ACTH et cortisol). L'ensemble de ces variables sont issues de différentes approches de mesure et qui visent toutes à décrire les caractéristiques musculaires en relation avec la qualité de viande de porc mais qui sont mesurées sur un effectif limité.

Les méthodes d'analyse multivariées telles que l'ACP et l'AFM, sont particulièrement bien adaptées à l'exploration de grands tableaux numériques : leur avantage est de fournir un nouveau jeu de données plus compact, et une représentation superposée de nuages de points qui peuvent être interprétés par une simple approche visuelle. Mais elles ne suffisent pas toujours à fournir une vue satisfaisante de l'ensemble des données lorsque le nombre de variables analysée est très important. Non seulement les visualisations ne véhiculent qu'une partie de l'information, mais elles sont parfois elles-mêmes trop complexes pour être interprétées facilement.

Dans ces circonstances, des techniques de sélection de variables peuvent être utilisées pour réduire le nombre de variables à considérer afin d'avoir une meilleure lisibilité des projections des variables et des individus et une meilleure interprétation des résultats concernant les relations qui existent entre les groupes de variables.

Il n'est pas rare, dans l'analyse de tableaux de type individus × variables, de rencontrer une structure en partition sur les variables, comme ici dans notre dispositif. Plusieurs méthodes existent, qui permettent l'analyse de ce type de tableau, dont l'AFM. Il arrive également que l'on veuille prendre en compte non pas une partition sur les variables mais une hiérarchie des individus: c'est le cas ici de la répartition des animaux dans 5 classes de croisement races (Large White et Basque) et systèmes d'élevage (conventionnel, alternatif et extensif).

Dans le cadre de ce travail, et additionnellement aux approches classiques d'analyses multivariées et de sélection de variables, une méthode qui généralise l'AFM en prenant en compte cette structure sur les variables et les individus a été utilisée. Cette méthode équilibre (au sens de l'AFM) pour chaque nœud de la hiérarchie, les groupes de variables constituant ce nœud. Elle fournit des sorties analogues à celles de l'AFM mais aussi des aides à

l'interprétation spécifiques, telle que la représentation de chacun des nœuds d'une part et la représentation des individus décrits par chacun des nœuds, d'autre part.

Nous avons montré, également, qu'une approche basée sur une extension de l'AFM vers une analyse inter-classes de race x système d'élevage (AFM des moyennes des classes) et intra-classes (AFM des résidus) répond à la question du biologiste dans un tel contexte d'intégration de variables de classes différentes.

A l'issu de nos analyses, les projections graphiques des variables sélectionnées ont permis d'identifier les relations connues et inconnues entre les variables et les groupes de variables, offrant ainsi la possibilité d'orienter les futures recherches vers des analyses quantitatives des relations qui semblent plus fortes comparativement à d'autres. L'une des relations les plus importantes était celle qui liait les variables transcriptomiques, chimiques, technologiques et celles de mesure des acides gras qui contribuaient principalement à la discrimination des races. Cependant, le groupe composé des variables relatives à la réactivité à l'abattage discriminaient principalement les systèmes d'élevage, en particulier la classe des porcs basques élevés dans le système extensif.

Aujourd'hui, les méta-analyses de QTL représentent une technique naissante dont le principe consiste à combiner les deux approches qui ont été détaillées dans le cadre de ce travail, en l'occurrence, la méta-analyse et l'une des méthodes d'analyses multivariées : l'ACP.
Généralement, l'étude du déterminisme génétique de caractères quantitatifs s'articule autour de trois étapes : 1/ déterminer les principaux locus impliqués dans la variation observée (dénommés QTL pour « Quantitative Trait Loci »), 2/ identifier les gènes en cause, 3/ discriminer les principales formes alléliques de ces gènes et évaluer leurs effets.

L'avènement des marqueurs moléculaires et de la génomique au cours des vingt dernières années a facilité la mise en œuvre de dispositifs expérimentaux de cartographie de QTL en génétique animale. Il est désormais possible d'avoir accès, via les bases de données publiques, à une masse importante de résultats de détection de QTL.

Dans ce contexte, l'objectif de la méta-analyse est d'optimiser le croisement entre les données de QTL et celles issues de la génomique, dans le but de faciliter la recherche de

gènes candidat, alors que les méthodes d'analyses multivariées, notamment l'ACP, interviennent dans l'exploration des corrélations entre les variables génétiques et identifier, d'une part, les individus qui capturent la plus grande diversité génétique au sein de la population, et d'autre part, les marqueurs qui capturent la plus grande partie de la diversité dans la région considérée.

En conclusion, nous constatons que le grand flux de données dont disposent les scientifiques aujourd'hui, est accompagné d'une évolution continue des méthodes adaptées servant à l'exploitation de ces données, sauf que ses progrès seuls sans l'intervention de l'expertise scientifique pour interpréter les résultats obtenus sont insuffisants car cette dernière est essentielle pour orienter ses analyses et apporter un jugement aux résultats à différents niveaux des études expérimentales.

Références

Jeng G.T., Scott J.R., Burmeister L.F., 1995. A comparison of meta-analytic results using literature vs individual patient data. Paternal cell immunization for recurrent miscarriage. *Journal of American Medical Association*, 274, 830–836.

Simmonds M.C., Higgins J.P.T., Stewart L.A., Tierney J.F., Clarke M.J., Thompson S.G., 2005. Meta-analysis of individual patient data from randomized trials: a review of methods used in practice. Clinical Trials, 2, 209-217.

Stewart L.A., Parmar M.K.B., 1993. Meta-analysis of the literature or meta-analysis of individual patient data - is there a difference? *The Lancet*, 341, 418–422.

Whitehead A., 2002. Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, UK.

Annexes

Annexe A :

Méta-analyse de l'effet de la vitamine E

Contexte de l'étude

La nature des lipides ingérés a des effets majeurs sur les caractéristiques des tissus adipeux chez le porc (Mourot *et al.,* 1991). Un régime riche en acides gras insaturés conduit à la production de tissus gras mous et sensibles à l'oxydation. Cependant les lipides d'origine végétale, qui contiennent beaucoup d'acides gras polyinsaturés, sont toujours largement utilisés en alimentation animale pour des raisons économiques. Pour limiter l'oxydation de ces acides gras, une supplémentation de la ration par un antioxydant naturel, comme la vitamine E, peut être préconisée (Mourot *et al.,* 1992). Comme pour les lipides du tissus adipeux externe, la supplémentation en vitamine E permet de limiter l'oxydation des acides gras polyinsaturés au cours de la conservation des viandes (Dirinck et de Winne, 1995). Selon Cheah *et al.* (1995), cette supplémentation permettrait même de diminuer les pertes en eau de 54% du muscle long dorsal. Une analyse sensorielle montre une différence significative en faveur des viandes d'animaux ayant reçu de la vitamine E pour le goût frais, la tendreté et la jutosité (Dirinck et de Winne, 1995).

Bien que plusieurs études aient mis en évidence l'effet favorable de l'administration de la vitamine E alimentaire sur les paramètres de la qualité de viande de porc ainsi que sur les membranes intracellulaires (mitochondries, microsomes) (Asghar *et al.,* 1991; Buckley *et al.,* 1989; Monahan *et al.,* 1994) sous certaines conditions expérimentales, il existe très peu d'études ayant combiné quantitativement ces divers résultats (Apple, 2007). Cependant, quelques revues bibliographiques concernant ce sujet existent dans la littérature (Buckley *et al.*, 1995; Dikeman, 2007; Dunshea *et al.*, 2005). Ces études représentent une compilation des données existantes et fournissent, ainsi, une documentation pertinente et un bon aperçu qualitatif sur le sujet sans établir de résultats quantitatifs.

Cette partie est constituée de deux articles :

- ✓ L'objectif du premier article est la méta-analyse des relations entre la dose et la durée de l'administration de la vitamine E dans la ration alimentaire des porcs et, d'une part, son accumulation dans le muscle sous forme d'alpha-tocophérol, et d'autre part, l'évolution des processus d'oxydation des lipides au cours de la conservation de la viande. L'évaluation de l'importance de l'oxydation des lipides est effectuée par la mesure de la concentration du TBARS (2-thiobarbituric acide-reactive substances).

- ✓ Le deuxième article a pour objectif d'utiliser la méta-analyse afin de quantifier l'effet de différents niveaux d'incorporation de la vitamine E, et des conditions de conservation de la viande (durée et lumière) sur les variations de la couleur de la viande, et plus précisément sur l'indice de rouge (a*) (CIE, 1978).

Résultats

De manière générale, les résultats obtenus ont montré que :

- La valeur maximale d'alpha-tocophérol accumulé est de l'ordre de 6.4 µg / g de tissu. Cette valeur correspond à une dose administrée de 700 UI de vitamine E / kg de ration. En effet, une augmentation maximale de 0.024 µg / g de tissu est associée à une supplémentation en vitamine E située entre 39 et 80 UI de / kg de ration.
- Il faut au minimum une dose de 100 UI de vitamine E administrée /kg de ration pour obtenir une baisse significative du niveau d'oxydation des lipides ou TBARS. Par ailleurs, une augmentation de 1 µg / g de tissu d'alpha-tocophérol réduit le niveau de TBARS de 0.05 au niveau du muscle longissimus.
- La vitamine E accumulée dans le muscle sous forme d'alpha-tocophérol influence significativement l'indice de rouge (a*). En effet, 1 µg d'alpha-tocophérol accumulée dans le muscle contribuerait à une augmentation de 0.11 de a*.
- Par rapport à l'effet des conditions de conservation, il s'est avéré que la durée de conservation de la viande et la lumière aient un effet significatif sur a*.

Il faut noter que d'un point de vue statistique, la relation entre la supplémentation en vitamine E et l'accumulation de l'alpha-tocophérol au niveau du muscle et celle entre la durée de conservation de viande et a* sont non linéaire, alors que la relation entre la dose de vitamine e administrée et le niveau de TBARS est linéaire, tout comme celle reliant l'alpha-tocophérol accumulé et a*.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude suggèrent également un effet significatif de l'interaction entre la vitamine E administrée et la durée de conservation de la viande sur le processus d'oxydation de lipides. Mais ces résultats doivent être validés par de futures analyses qui offrent la possibilité de standardiser les données afin de résoudre le

problème des différences des méthodes de mesure entre les études. Cette contrainte pourrait être résolue en utilisant la méthode de mesure de la taille de l'effet, ou « effect-size », standardisé.

Références

Apple J.K., 2007. Effects of nutritional modifications on the water-holding capacity of fresh pork: Review. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, 43-58.

Asghar A., Gray J.I., Booren A.M., Gomaa E.A., Abouzied M.M., Miller, E.R., 1991. Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of alpha-tocopherol in the muscle and pork quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57, 31-41.

Buckley D.J., Gray J.I., Asghar A., Price J.F., Crackel R.L., Booren A.M., Pearson A.M., Miller E.R., 1989. Effects of dietary antioxidants and oxidized oil on membranal lipid stability and pork product quality. *Journal of Food Science*, 54, 1193-1197.

Buckley D.J., Morissey P.A., Grey J.I., 1995. Influence of dietary vitamin E on oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73, 3122-3130.

Cheah K.S., Cheah A.M., Krausgrill D.I., 1995. Effect on dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. Meat Science, 39, 255-264.

CIE., 1978. Recommendations on uniform color spaces-color difference equations, psychometric color terms. Suppl. 2 to CIE Publ. No. 15 (E-1.3.1) 1978, 1971/(TC-1-3). Commission International de l'Eclairage, Paris, France.

Dikeman M.E., 2007. Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. *Meat Science,* 77, 121-135.

Dirinck P., de Winne A., 1995. Effet des taux élevés de supplémentation en vitamine E sur la qualité sensorielle des viandes de porc. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 27, 323-328.

Dunshea F.R., D'Souza D.N., Pethick D.W., Harper G.S., Warner R.D., 2005. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, 71, 8-38.

Monahan F.J., Gray J.I., Asghar A., Haug A., Strasburg G.M., Buckley D.J., Morrissey P.A., 1994. Influence of diet on lipid oxidation and membrane structure in porcine muscle microsomes. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 42, 59-63.

Mourot J., Aumaitre A., Mounier A., 1992. Interaction entre vitamine E et acide linoléique alimentaires : effet sur la composition de la carcasse, la qualité et la conservation des lipides de la viande chez le porc. *Sciences des Aliments*, 12, 743-755.

Mourot J., Chauvel J., Le Denmat M., Mounier A., Peiniau P., 1991. Variations du taux d'acide linoléique dans le régime du porc : effets sur les dépôts adipeux et sur l'oxydation du C18:2 au cours de la conservation de la viande. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 23, 357-364.

Article 4 : Article paru dans le journal Meat Science

L. Trefan, L. Bünger, J. Bloom-Hansen, J.A. Rooke, B. Salmi, C. Larzul, C. Terlouw, A. Doeschl-Wilson. 2011.

Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork
Meat Sci. 87: 305-314.

Meat Science 87 (2011) 305–314

Contents lists available at ScienceDirect

Meat Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/meatsci

Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork

L. Trefan [a,*], L. Bünger [a], J. Bloom-Hansen [b], J.A. Rooke [a], B. Salmi [c], C. Larzul [c], C. Terlouw [d], A. Doeschl-Wilson [a]

[a] Sustainable Livestock Systems Group, Scottish Agricultural College, King's Buildings, Edinburgh, EH9 3JG, UK
[b] Danish Meat Research Institute, Maglegaardsvej 2, DK-4000 Roskilde, Denmark
[c] Station de Génétique Quantitative et Appliquée, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Jouy-en-Josas, France
[d] UR 1213 Herbivores, Institut National de la Recherche Agronomique Genès, F-63122 St. Genés Champanelle, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 12 February 2010
Received in revised form 2 November 2010
Accepted 4 November 2010

Keywords:
Vitamin E
α-Tocopherol
Lipid oxidation
Pork quality
TBARS
Meta-analysis

ABSTRACT

Meta-analyses have been carried out to quantify the effect of dietary vitamin E on α-tocopherol accumulation and on lipid oxidation in porcine *M. longissimus*. Published results of 13 (vitamin E accumulation) and 10 (lipid oxidation) experiments respectively were used for the analyses. After a number of standardization procedures, a nonlinear relationship was found between the supplementary vitamin E and the accumulation of α-tocopherol in pork which approached a maximum value of 6.4 μg/g tissue. Pork lipid oxidation levels were described in terms of Thiobarbituric Acid Reacting Substances (TBARS) values. The statistical analysis revealed significant effect of vitamin E dose, muscle α-tocopherol concentration and supplementation time on TBARS, resulting in two prediction models for lipid oxidation.

Meta-analysis has proven to be a valuable tool for combining results from previous studies to quantify the effects of dietary vitamin E. Further studies, carried out with standardized experimental protocols would be beneficial for model validation and to increase the predictive power of the derived models.

© 2010 The American Meat Science Association. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Oxidation of lipids is a major cause of deterioration in the quality of muscle foods. Once oxidation is initiated, it continues as free radicals catalyse additional free-radical generating reactions (Abuja & Albertini, 2001; Jadhav, Nimbalkar, Kulkarni, & Madhavi, 1996). These oxidative processes lead to the deterioration of flavour, odour and colour of meat (Faustman & Cassens, 1990; Liu, Lanari, & Schaefer, 1995). Many studies have therefore aimed to delay the initiation of oxidation and subsequent loss of quality. In contrast to most synthetic antioxidants, dietary vitamin E can be directly fed to the animals and absorbed by the tissues (Buckley & Conolly, 1980). The role of vitamin E in particular, as a major lipid-soluble antioxidant, has been investigated for several decades and shown to stabilize animal products as far back as 1946 (Tsai, Wellington, & Pond, 1978). The stabilizing effect of vitamin E on flavor, color, texture and nutritive value has since been confirmed for chicken meat, beef and pork (Buckley & Conolly, 1980; Gray, Gomaa, & Buckley, 1996).

While there is a substantial amount of literature that investigates the effects of dietary vitamin E on pork quality traits and on subcellular membranes (mitochondria, microsomes) (Asghar et al., 1991; Buckley et al., 1989; Monahan et al., 1994) under specific experimental conditions, there have been few attempts (Apple, 2007) to unify diverse experimental findings in a statistically robust way. Review articles (Buckley, Morissey, & Grey, 1995; Dikeman, 2007; Dunshea, D'Souza, Pethick, Harper, & Warner, 2005; Pettigrew & Esnaola, 2001) have compiled relevant literature data providing thereby a good qualitative overview, but do not offer quantitative relationships.

Meta-analysis has been established as a useful statistical tool to overcome the difficulty of extrapolating general response equations from single experiments and to gain statistically reliable, robust response laws for animal science (Phillips, 2005; Sauvant, Schmidely, Daudin, & St Pierre, 2008; St-Pierre, 2001). The benefits of the meta-analytic approach are that response rates can be quantified over a range of experimental conditions, thus limiting the bias that differences in experimental conditions may cause for the derivation of prediction equations (Vernet et al., 2005). Whereas meta-analysis is commonly used in medical and genetic studies, its use in animal science is relatively recent with the main focus on metabolic processes in ruminants (Bermingham et al., 2008; Dragomir, Sauvant, Peyraud, Giger-Reverdin, & Michalet-Doreau, 2008; Eugène, Archimède, & Sauvant, 2004; Schmidely, Glasser, Doreau, & Sauvant, 2008) or pigs (Schulin-Zeuten et al., 2007). In contrast, meta-analysis for meat quality traits has been relatively sparse (Dunshea et al., 2005).

The aims of this paper were to use meta-analysis to establish quantitative relationships between different dietary vitamin E levels

* Corresponding author. Sustainable Livestock Systems, Scottish Agricultural College, Penicuik, EH26 0PH, UK. Tel.: +44 131 535 3058; fax: +44 131 535 3212.
E-mail address: Laszlo.Trefan@sac.ac.uk (L. Trefan).

0309-1740/$ – see front matter © 2010 The American Meat Science Association. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.meatsci.2010.11.002

and their accumulation in pork in the form of α-tocopherol and to quantify the effect of dietary vitamin E supplementation on lipid oxidation in pork, which is a fundamental process for determining shelf life (Gray et al., 1996).

2. Materials and methods

2.1. Data sourcing

A list of potential studies for use in the meta-analysis was established by search of journals, conference proceedings, book articles and abstracts from various electronic databases. Indices used in the search were combinations of the terms 'vitamin E,' 'alpha-tocopherol,' 'α-tocopherol,' 'pork,' 'dietary,' 'pig,' 'swine,' 'hog' and any plurals thereof. In the search published information written in English from all over the world from 1970 to 2009 was included. Relevant additional information on experimental procedures and results was sometimes obtained by personal communication with the authors of the original studies and specialists in the field.

The literature search resulted in the identification initially of 60 references, which described the effect of dietary vitamin E supplementation on pork and pigs. Some of these examined aspects of vitamin E utilization (e.g. blood α-tocopherol concentration) or pork quality related issues at a cell or lower level (e.g. mitochondrial lipid changes), which were not of interest in our analysis. As a conceptual base, 40 references remained, which studied how different amounts of dietary vitamin E affected various pork quality traits (e.g. pH 45 min post slaughter, ultimate pH, color, taste panel scores, saturated/unsaturated fatty acid ratio changes) in various muscles (*M. longissimus dorsi*, *M. psoas major*, ham, shoulder etc.) under different storage conditions (storage light, storage temperature, sample packaging). Among these references there were studies in which diets contained fat higher than 5% on a dry matter (DM) base in various fat supplements. This amount of fat supplementation might change the saturated and unsaturated fatty acid ratio in the pork, made it more susceptible to oxidation (Buckley et al., 1995). In some experiments additional antioxidants (e.g. vitamin C) were supplied or minerals (Se, Cu) added, which could interact with vitamin E utilization in meat. Since this study focused on the pure antioxidant effect of vitamin E, we excluded all references that, to our knowledge, used treatments that could interfere or modify the effect of the vitamin.

These selection criteria together with the standardization criteria outlined in the next section generated 13 references for the relationship between dietary vitamin E and α-tocopherol accumulation in pork and 10 references for pork lipid oxidation. Tables 1 and 2 respectively show these references, including the main experimental details. There were 6 references among the chosen studies which studied both relationships.

2.2. Database

The first prerequisite to generate robust relationships was to establish a comprehensive database, which satisfied certain conceptual and structural requirements outlined by Vernet and Ortigues-Marty (2005). The database includes a detailed description of each reference (e.g. type, name and date of publication, title, author names), animals used in the experiments (e.g. gender, breed, beginning or slaughter weight), diet (e.g. gross energy, crude protein, fat content), rearing conditions (e.g. indoor/outdoor, group size), slaughter processes (e.g. stunning method), pork quality traits studied in the experiment, sample size and treatment (e.g. storage temperature) as well as results from statistical analyses performed on the datasets from individual experiments.

2.3. Dose definition for expressing vitamin E supplementation

Vitamin E is a generic term for eight chemical compounds, namely α-, β-, γ-, δ-tocopherol, and α-, β-, γ-, δ-tocotrienol (Lauridsen, Engel, Craig, & Traber, 2002) and the biological activity of each can be expressed on α-tocopherol base (Debier & Larondelle, 2005; Jensen, Hakkarainen, Lindholm, & Jönsson, 1988). α-tocopherol was used as the unified measure for vitamin E concentration in the present study. Therefore in one reference (Rosenvold et al., 2002) where supplementary vitamin E was analysed and published as fed α- and γ-tocopherol, bioactivity of the latter was converted to its α-tocopherol equivalent. The base of this conversion was that 1 mg all-rac-α-tocopheryl (DL-α-tocopheryl) acetate, which is an equimolar mixture of eight synthetic α-tocopherol stereoisomers (Lauridsen et al., 2002) in acetate form, has bioactivity conversion factor 1.0 and defines 1 International Unit (IU) of α-tocopherol. Furthermore, all-rac-α-tocopheryl (DL-α-tocopheryl) acetate is the industrial form of vitamin E supplementation and this was the form of supplementation used in all references. For the three different terminologies referring to α-tocopherol that had been used in these references to define vitamin E administration, i.e. vitamin E (e.g. Buckley et al., 1989), α-tocopherol (e.g. Hoving-Bolink et al., 1998) or analysed fed α-tocopherol (e.g. Lanari et al., 1995), the amount of supplementation could thus be expressed in IU of α-tocopherol.

In some studies (e.g. Monahan, Buckley, Morissey, et al., 1990) different amount of vitamin E were fed for different time periods throughout the period of dietary supplementation. In these cases we defined the administrated amount of vitamin E (in IU) by calculating weighted averages with the individual time periods as weighting factors.

Table 1
References used for meta-analysis of the effect of dietary vitamin E supplementation on pork α-tocopherol concentration.

No. of pigs/ supplementation level	Vitamin E levels (IU)[a]	Pig breed	Gender	Length of supplementation (days) prior to slaughter	Reference
8/8/8	0/100/200	Not published	Barrow and gilt	98	Asghar et al. (1991)
15/15	0/100	Hybrid	Barrow and gilt	84	Cannon et al. (1996)
5/6	0/500	BL×LW	Not published	46	Cheah, Cheah, and Krausgrill (1995)
8/8/8	50/100/300	Hybrid	Barrow and gilt	60	Corino, Oriani, Pantaleo, Pastorelli, and Salvatori (1999)
16/16/16/16/16	0/100/150/300/600	Hybrid	Barrow and gilt	42	Hasty, Heugten, and See (2002)
20/20/20	100/200/700	DL	Boar and gilt	105	Jensen, Hakkarainen, Lindholm, and Jönsson (1997)
4/4/4/4	0/50/200/250	0.5D×0.25 LW×0.25 L	Gilt	105	Lanari, Schaefer, and Scheller (1995)
12/12	50/200	L×LW	Boar and gilt	14	Monahan, Buckley, Gray, et al. (1990)
16/16	0/200	L×LW	Not published	122.5	Monahan, Buckley, Morissey, Lynch, and Gray (1990)
29/28/29	0/100/300	LW	Barrow and gilt	61	Niculita, Popa, Ghidurus, and Turtoi (2007)
9/9	0/200	Pix(PixHa)	Gilt	107	Nuernberg et al. (2002)
38/35	50/200	Hybrid	Barrow and gilt	62	Pfalzgraf, Frigg, and Steinhart (1995)
14/14	50/400	D×(DL×DY)	Gilt	22	Rosenvold et al. (2002)

BL×L: British Landrace×large white; DL: Danish Landrace; 0.5D×0.25 LW×0.25 L: composite breed of 50% Duroc×25% large white×25% Landrace; L×LW: Landrace×large white; LW: large white; Pix(PixHa): published in this form, no further information is available; D×(DL×DY): Duroc×(Danish Landrace×Danish Yorkshire).

[a] Supplementary vitamin E rounded and expressed as IU.

Table 2
References used for meta-analysis of pork lipid oxidation.

No. of pigs/ supplementation level	Vitamin E levels (IU)[a]	Pig breed	Gender	Length of supplementation (days) prior to slaughter	Reference
6/6[b]	0/200	Not published	Barrow and gilt	28	Buckley et al. (1989)
6/6[b]	0/200	Not published	Barrow and gilt	70	Buckley et al. (1989)
15/15	0/100	Hybrid	Barrow and gilt	84	Cannon et al. (1996)
8/8/8	50/100/300	Hybrid	Barrow and gilt	60	Corino et al. (1999)
36/35	0/200	Y × (FL × DuL)	Barrow and gilt	84	Hoving-Bolink, Eikelenboom, van Diepen, Jongbloed, and Houben (1998)
4/4/8	0/50/200	0.5D × 0.25 LW × 0.25L	Gilt	105	Lanari et al. (1995)
12/12	50/200	L × LW	Boar and gilt	14	Monahan, Buckley, Gray, et al., (1990)
16/16	0/200	L × LW	Not published	122.5	Monahan, Buckley, Morissey, et al. (1990)
29/28/29	0/100/300	LW	Barrow and gilt	61	Niculita et al. (2007)
12/12/12	0/50/100	PIC crossbreed	Barrow and gilt	84.4	Waylan et al. (2002)

Y × (FL × DuL): Yorkshire × (Finnish Landrace × Dutch Landrace); 0.5D × 0.25LW × 0.25 L: composite breed of 50% Duroc × 25% large white × 25% Landrace; L × LW: Landrace × large white; LW: large white; PIC crossbreed: L326/327 boars × C22 sow of PIC, Franklin, KY.
[a] Supplementary vitamin E rounded and expressed as IU.
[b] In (Buckley et al., 1989) different animals were supplemented with vitamin E for different supplementation time. They were considered here as two different experiments.

The different experiments varied in their definition of control vitamin E levels and in the accuracy with which supplementary vitamin E concentrations were reported. To minimise the potential bias introduced by this variation, we rounded administrated vitamin E in units of 50 IU/kg feed e.g. 25 IU/kg feed was defined as vitamin E dose 0 IU/kg feed, 35 IU/kg feed was defined as vitamin E dose 50 IU/kg feed etc. Henceforth the rounded measure is denoted as *vitamin E dose*.

2.4. Standardization procedures

A prerequisite for meta-analysis is that the factors considered in the statistical analysis are uniform across the experiments (Vernet & Ortigues-Marty, 2005). This was achieved by applying the standardization procedures described in the discussions that follow.

2.4.1. Standardization procedures related to pork α-tocopherol concentration

In describing the origin of the samples used to measure accumulated α-tocopherol concentration, authors used either general terms like 'ham,' 'shoulder' or provided the exact muscle such as *M. longissimus lumborum, M. longissimus thoracis, M. longissimus dorsi*. Since 95% of the samples analysed for muscle α-tocopherol concentration were obtained from one part of the *M. longissimus* (i.e. *M. longissimus lumborum, M. longissimus thoracis* or *M. longissimus dorsi*) only data originating from this group of muscles were included in our analysis and a common term *M. longissimus* was used.

All α-tocopherol measurements in the original studies were taken between carcass chilling times of 24 and 48 h after slaughter, or from frozen samples, and there was little variation in other storage conditions between experiments. There was no evidence in the literature that suggested these differences in chilling time and storage conditions would have a significant influence on the measured α-tocopherol levels.

Further, all the experiments considered used the same method to measure muscle α-tocopherol concentration, in which α-tocopherol was extracted from the meat sample, saponified, separated by high performance liquid chromatography and quantified with reference to an α-tocopherol standard (e.g. Buttris & Diplock, 1984).

2.4.2. Analytical and standardization procedures related to pork lipid oxidation

In the experiments contributing to this meta-analysis lipid oxidation was measured as Thiobarbituric Acid Reacting Substances (TBARS) (Raharjo, Sofos, & Schmidt, 1993; Tarladgis, Pearson, & Dugan, 1964; Tarladgis, Watts, Younathan, & Dugan, 1960; Vyncke, 1975; Witte, Krause, & Bailey, 1970), which expressed lipid oxidation as milligram malonaldehyde (MA) equivalent/kg tissue or muscle (TBARS values). Two different TBARS methods were present in the different experiments, i.e. the distillation or the cold extraction methods. Although it is known that TBARS values obtained by cold extraction methods are approximately 0.6 of values of those obtained by distillation (Dr R. I. Richardson personal communication), a precise conversion formula does not exist. Therefore only publications where TBARS values were measured by distillation (Tarladgis et al., 1960; Witte et al., 1970) were included in meta-analysis. This method was used by 90% of the references. As in the case of pork α-tocopherol concentration, only TBARS values from *M. longissimus dorsi* were considered, which was provided in 90% of our data sources.

Since storage conditions may affect the rate of lipid oxidation process (Dunshea et al., 2005) we selected only data where samples were: a) kept in the dark or under natural light or where based on the storage description we could assume that samples were not exposed to fluorescent light; b) stored at 4 °C or based on the description we could assume that this temperature was not lower than 0 °C or higher than 5 °C; and c) wrapped in oxygen permeable material (PVC) or based on the description of storage conditions we could assume that samples were not wrapped at all.

In addition, it was necessary to standardize the time scales provided in different experiments to a uniform scale. We considered the starting point of the storage time as the time of slaughter, and expressed the storage time in units of days post slaughter, counting the day of slaughter as day zero.

2.5. Statistical analysis

The inputs for meta-analysis were results of the statistical models used in the original publications in the form of least square (LS) means or means (if LS means were not provided) and corresponding standard errors of LS means (SEM) or standard deviations (SD) where SEM were not provided.

2.6. Statistical analysis of *M. longissimus* α-tocopherol concentration

Visual inspection of the published α-tocopherol concentrations in *M. longissimus* indicated a nonlinear relationship between vitamin E dose and α-tocopherol concentration in *M. longissimus* (Fig. 1).

Three nonlinear functions, i.e. Gompertz, logistic and exponential, commonly used to describe biological (often growth) processes that approach an asymptotic behaviour (Lambe, Navajas, Simm, & Bünger, 2006) were fitted to the data using the PROC NLMIXED procedure of SAS (SAS, 2000). The mathematical models and the interpretations of their parameters are shown in Table 3. Experiment-specific random effects were added to the initial fixed effects models as linear perturbations of

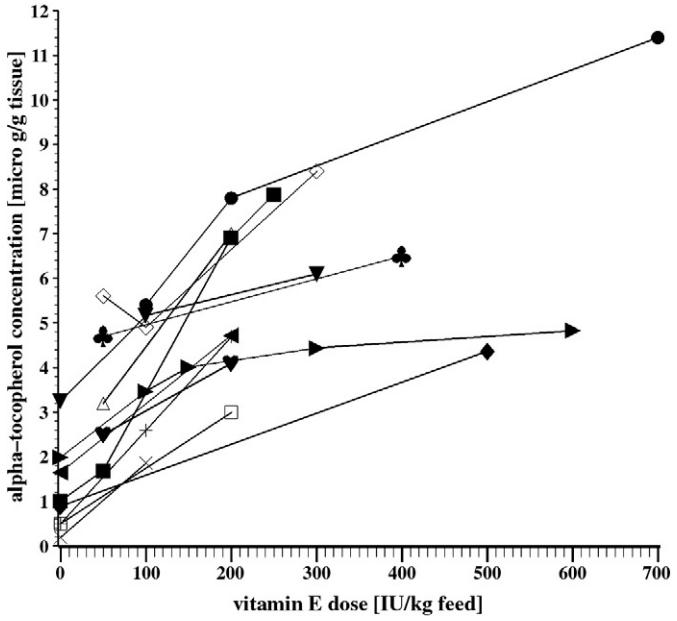


Fig. 1. Changes in concentrations of α-tocopherol in *M. longissimus* in response to dietary vitamin E doses. Data from 13 different studies: Asghar et al., 1991 (+); Cannon et al., 1996 (X); Cheah et al., 1995 (♦); Corino et al., 1999 (◊); Hasty et al., 2002 ( ); Jensen et al., 1997(●); Lanari et al., 1995 (■); Monahan, Buckley, Gray, et al., 1990 (Δ); Monahan, Buckley, Morissey, et al., 1990 (◄); Niculita et al., 2007 (▼); Nuernberg et al., 2002 (□); Pfalzgraf et al., 1995 (♥); and Rosenvold et al., 2002 (♣).

one of the model parameters at a time or a combination of model parameters. Distribution of random effects was assumed to be normal. All three mathematical functions require three parameters and were expressed in a form that provides a biological interpretation for each model parameter (Table 3, Lambe et al., 2006).

For the Gompertz- and logistic models the estimated parameters and their respective interpretation were A: estimated final α-tocopherol concentration (μg/g tissue); B: maximum α-tocopherol concentration increase (μg/g tissue)/vitamin E dose (IU/kg feed); C: vitamin E dose at maximum α-tocopherol concentration increase (IU/kg feed).

For the exponential model the estimated parameters can be described as A: estimated final α-tocopherol concentration (μg/g tissue); B_E: maximum α-tocopherol concentration increase (μg/g tissue) at vitamin E dose 0 (IU/kg feed); C_E: initial α-tocopherol concentration (μg/g tissue).

To compare the accuracy of fit of the models Akaike's information criteria (AIC) (SAS, 2000), Pearson's correlation (R) between the predicted and observed values (i.e. LS means of original experiments), RSD (residual standard deviation) and CD (coefficient of determination) were calculated. RSD was calculated as $[\Sigma\Sigma(\varepsilon_{ij})^2/(n-p)]^{1/2}$ where ε_{ij} is the residual value of *i*th experiment at *j*th dose level, n is the number of observations and p is the number of parameters in the model. CD was calculated as $\Sigma\Sigma(\varepsilon_{ij})^2/(\Sigma\Sigma(Y_{ij})^2$ where ε_{ij} is the same as in RSD and Y_{ij} is the predicted value *i*th experiment at *j*th dose level

Table 3
Models used to describe the relationship between *M. longissmus* α-tocopherol concentration and vitamin E dose.

Function name	Estimated parameter	Nonlinear function
Gompertz	A, B, C	$A\exp\{-\exp[Be^1(C\text{-}Dose)/A]\}$
Logistic	A, B, C	$A\{1+\exp[4B(C\text{-}Dose)/A]\}^{-1}$
Exponential	A, B_E, C_E	$A-(A-C_E)\exp((-B_E*Dose)/(A-C_E))$

e^1 = Euler's number (=2.7182818). A: estimated final α-tocopherol concentration (μg/g tissue); B: maximum α-tocopherol concentration increase/vitamin E dose (μg/g tissue/IU); C: vitamin E dose at maximum α-tocopherol concentration increase (IU); B_E: maximum α-tocopherol concentration increase (μg/g tissue) at vitamin E dose 0 (IU); C_E: initial α-tocopherol concentration (μg/g tissue) (Lambe et al., 2006).

(Bünger & Herrendörfer, 1994). In addition visual analysis of predicted values and normality test of residuals were carried out.

2.7. Statistical analysis of effect of vitamin E on lipid oxidation in M. longissimus dorsi

After visual inspection of the data one outlier with an extremely high TBARS value: of 1.6 mg MA/kg tissue (Monahan, Buckley, Gray, et al., 1990) was removed. Fig. 2 shows how the remaining TBARS values of *M. longissimus dorsi* changed over time in the 10 selected experiments for different doses of vitamin E.

For meta-analysis of changes in TBARS LS means with time the PROC MIXED procedure of SAS (SAS, 2000) was used where autocorrelation between repeated measurements could be taken into account (Verbeke & Molenberghs, 1997; Whitehead, 2002). The maximum fitted model contained a general intercept, α-tocopherol concentration of *M. longissimus* and vitamin E supplementation time as covariates, as well as breed, gender, vitamin E dose and storage time as fixed effects, and interaction terms between fixed effects and between covariates and fixed effects. The random experimental effect was included as a random intercept. For those studies that did not provide measures of muscle α-tocopherol concentration we used the predicted LS mean value derived from the best fitting, nonlinear model described earlier. Autocorrelations between repeated measurements were examined using the repeat statement of PROC MIXED, where vitamin E dose was nested within experiment identifier and various residual covariance matrix structures (SAS, 2000) were explored (e.g. AR[1] — first-order autoregressive; SP(EXP) — exponential spatial covariance; UNR — unstructured correlated; VC — standard variance components). A stepwise approach was adopted, starting from a model that included all the fixed effects and covariates described earlier together with their interactions, followed by stepwise removal of statistically non-significant factors.

Comparisons of the different models were based on the quantities AIC, R, RSD and CD defined earlier for effects of vitamin E dose on pork α-tocopherol concentration. In addition, for each model normality

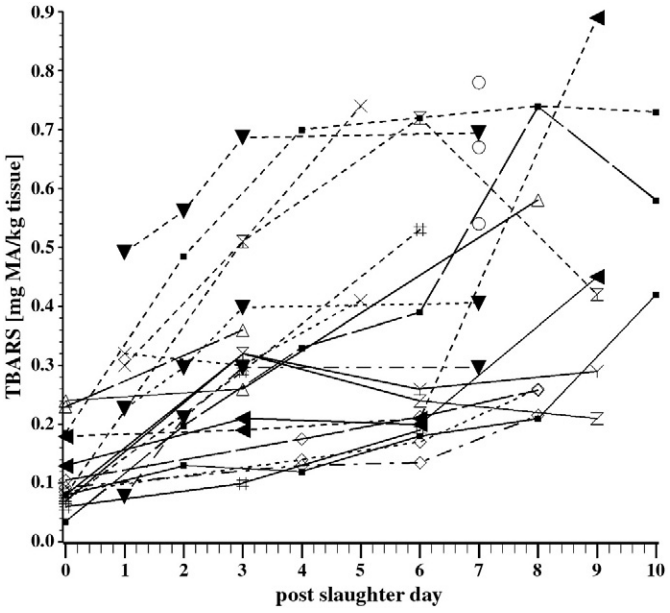


Fig. 2. Changes in lipid oxidation (TBARS) in *M. longissimus dorsi* with storage time for various supplementary vitamin E doses from 10 different studies: Buckley et al., 1989 (Y)*; Buckley et al., 1989 (Z)*; Cannon et al., 1996 (X); Corino et al., 1999 (◊); Hoving-Bolink et al., 1998 (#); Lanari et al., 1995 (■); Monahan, Buckley, Gray, et al., 1990 (Δ); Monahan, Buckley, Morissey, et al., 1990 (◄); Niculita et al., 2007 (▼); and Waylan et al., 2002 (○);vitamin E dose levels (IU): 0:.....; 50:____ ____; 100:__ __ __; 200:_____; and 300:____ _. *Different animals were supplemented with vitamin E over time periods of different duration. These were considered here as two experiments.

Table 4
Comparison of goodness-of-fit indicators for each nonlinear model for *M. longissmus* α-tocopherol concentration and vitamin E dose without and with one random effect, including Akaike's information criteria values (AIC), Pearson's correlation between predicted and observed values (R), residual standard deviation (RSD) and coefficient of determination (CD).

Nonlinear model name	AIC	R	RSD	CD
Gompertz	141.7	0.76	2.92	0.889
Logistic	142.4	0.76	2.97	0.888
Exponential	141	0.77	2.86	0.893
Gompertz-random effect in parameter A	125	0.96	0.54	0.983
Logistic-random effect in parameter C	144.3	0.76	2.97	0.889
Exponential-random effect in parameter A	129.5	0.95	0.67	0.980

tests of residuals and visual examinations of the residuals and predicted values (Sauvant et al., 2008) were carried out.

No weighting of individual experiments could be applied here, because optimal weighting of the observation would require identical expression of the variability of the studied parameters (Schmidely et al., 2008). Unfortunately, this was not the case in our studies: variability was expressed either as standard error of LS means (SEM), or standard deviation (SD) for the mean of each treatment group, or SD of the difference between means; in some publications variations were not even reported.

3. Results

3.1. Effect of dietary vitamin E on M. longissimus α-tocopherol concentration

There was little difference (Table 4) in the goodness-of-fit measures between the three nonlinear models for *M. longissimus* α-tocopherol concentration when differences between experiments were not included as random effects. For the Gompertz and exponential functions, the goodness-of-fit increased when experiments were included as random effects in one of the model parameters, whereas for the logistic model, inclusion of a random experimental effect did not improve the goodness-of-fit (Table 4). Using more than one random effect in the parameters did not lead to convergence. The model producing the best goodness-of-fit based on all indicators (AIC, R, RSD and CD) was the Gompertz function, although the measures were similar to those corresponding to the exponential function, i.e. AIC values for Gompertz and exponential function, respectively, were 125 compared to 129.5, R was 0.96 compared to 0.95, RSD was 0.54 compared to 0.67 and CD was 0.98 compared to 0.97 (Table 4).

There was also little difference (Table 5) between the three nonlinear functions for the estimate of the α-tocopherol asymptote A with the random exponential model giving the smallest estimates (6.25 μg/g tissue) and both the fixed and random effect logistic models the largest (6.78 μg/g tissue). Inclusion of a random experimental effect in the parameter A resulted in slightly lower estimates of LS means (i.e. 6.44 vs. 6.91 for the Gompertz model and 6.25 vs. 7.28 for the exponential function, Table 5). In addition, the estimates of parameter B (maximum α-tocopherol concentration increase/vitamin E dose) differed little between the Gompertz and logistic models. The logistic model however provided larger values for the parameter C (vitamin E dose at maximum increase α-tocopherol concentration) than the Gompertz model (i.e. C = 79.75 μg/g tissue for the random logistic model compared to C = 40.07 μg/g tissue for the random Gompertz model). The estimates for the parameters B_E (maximum α-tocopherol concentration increase at dose 0) and C_E (initial α-tocopherol concentration) of the exponential model cannot be compared with the other two models due to their different biological meanings. However, the estimates for both fixed and random effects models were biologically realistic.

Finally, taking all the criteria mentioned into account, the Gompertz model with one random effect (in its parameter A) was chosen as the best fitting model. Fig. 3 shows LS means of pork α-tocopherol concentrations predicted by this model.

The lengths of vitamin E supplementation ranged from 14 to 122.5 days prior to slaughter (Table 1). A possible dependence of parameters on these times was studied using the best fitting Gompertz model. Lengths of supplementation were split up into two (<70 and >70 days prior to slaughter) in the first or three (<50, >50 and <100, >100 days prior to slaughter) supplementation intervals in the second analysis. Comparisons of the parameters relating to the different supplementation intervals within one analysis were made using the NLMIXED procedure of SAS. Both analyses resulted in similar estimates for A (asymptotic α-tocopherol concentration), 5.78–7.64 and B (maximum α-tocopherol concentration increase/vitamin E dose), 0.016–0.031 with (the best fitting) original Gompertz model. Comparisons of these parameters showed no significant differences between the different lengths of supplementation time categories. For parameter C (vitamin E dose at maximum α-tocopherol concentration increase) both analyses yielded higher estimates for longer supplementation times (>70 and >100 days) than the original model, 82.44 and 73.61, respectively vs. 28.27, and only these estimates were significantly different from zero at 95% confidence level. Comparisons

Table 5
Estimated parameters of Gompertz-, logistic- and exponential models.

Estimated parameters	Gompertz		Logistic		Exponential	
	Estimation (SE)	*P*-value	Estimation (SE)	*P*-value	Estimation (SE)	*P*-value
A	6.91 (0.87)	<0.0001	6.78 (0.79)	<0.0001	7.28 (1.13)	<0.0001
B	0.025 (0.008)	0.003	0.023 (0.007)	0.002		
C	40.07 (21.12)	0.0661	79.59 (29.13)	0.0098		
B_E					0.036 (0.014)	0.0129
C_E					1.41 (0.55)	0.0148
ε_{ij}	2.67 (0.64)	0.0002	2.72 (0.65)	0.0002	2.67 (0.63)	0.0002
^{x}A	6.44 (0.86)	<0.0001	6.78 (0.81)	<0.0001	6.25 (0.87)	<0.0001
B	0.024 (0.005)	0.0002	0.023 (0.007)	0.0006		
^{y}C	28.27 (12.78)	0.0471	79.75 (30.14)	0.0213		
B_E					0.052 (0.009)	0.0002
C_E					1.24 (0.32)	0.002
ε_{ij}	0.73 (0.23)	0.0068	2.70 (0.88)	0.0097	0.91 (0.29)	0.0092
u_{ij}	6.15 (2.96)	0.0597	10.41 (1461.6)	0.9946	6.60 (3.48)	0.082

A: estimated final α-tocopherol concentration (μg/g tissue); B: maximum α-tocopherol concentration increase/vitamin E dose (μg/g tissue/IU); C: vitamin E dose at maximum α-tocopherol concentration increase (IU); B_E: maximum α-tocopherol concentration increase (μg/g tissue) at dose 0 (IU); C_E: initial α-tocopherol concentration (μg/g tissue). SE: standard error of estimation; ε_{ij}: the residual value of *i*th experiment at *j*th dose level; u_{ij}: variance of random effect of *i*th experiment at *j*th dose level. ^{x} random effect in parameter A; ^{y} random effect in parameter C.

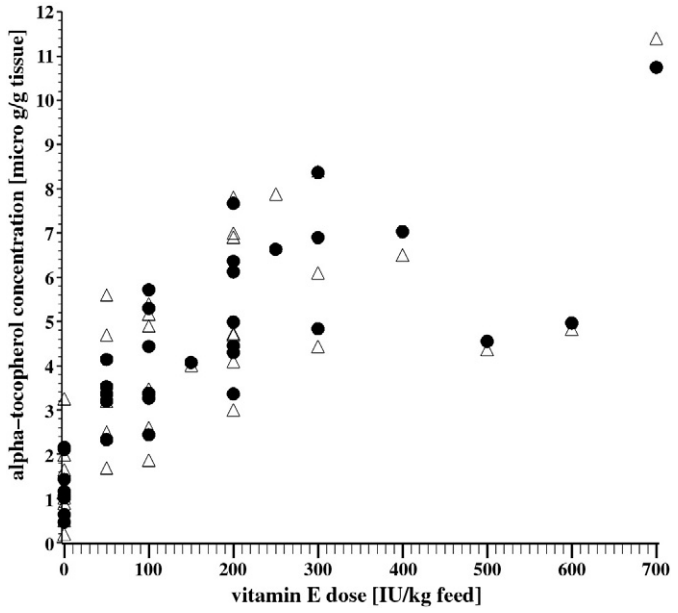


Fig. 3. Predicted changes in α-tocopherol concentrations in *M. longissimus* (filled circles) with increasing dietary vitamin E doses based on the best fitting, Gompertz model (triangles symbolize the original data).

showed significant difference between these parameters belonged to higher (>70 or >100 days) and lower (<70 or <50 days) lengths of supplementation, respectively (Table 6).

3.2. Effect of dietary vitamin E on time trend of TBARS measures of M. longissimus dorsi

Stepwise removal of non-significant factors from the statistical model for TBARS led to two models, (D.1) and (D.2), with the lowest AIC (−59.1, −75.2), and highest correlation between the predicted and observed values (R), 0.82, 0.84 and coefficients of determination (CD) 0.93, 0.90, respectively. In these models either the combination of muscle α-tocopherol concentration at slaughter and vitamin E supplementation time or vitamin E dose alone had a significant effect on change in TBARS over time. Model (D.1) described the change of TBARS over time including muscle α-tocopherol concentration (at slaughter) and length of supplementation as covariates:

$$TBARS_{ijk} = \beta_1 TOC_cont_{ij} + \beta_2 Tsupp_{ij} + Time_k + a_i + e_{ijk} \quad (D.1)$$

where $TBARS_{ijk}$: TBARS values of *i*th experiment of *j*th dose level at the *k*th storage time point; TOC_cont_{ij}: α-tocopherol concentration of *M. longissimus* of the *i*th experiment of *j*th dose level and β_1 its slope; $Tsupp_{ij}$: supplementation time of the *i*th experiment of *j*th dose level and β_2 its slope; $Time_k$: effect of time at *k*th storage time point; a_i: the random effect ("random intercept") of the *i*th experiment and e_{ijk}: denotes the residuals. There were no significant interactions between the different factors.

The slopes β_1 and β_2 for muscle α-tocopherol concentration and supplementation time, respectively, were both significantly different from zero ($p<0.0001$ and $p<0.042$, respectively) and negative ($\beta_1 = -0.0477(0.0073)$ and $\beta_2 = -0.00178$ (0.0008)). Tests and comparisons of the different covariate structures of e_{ijk} residuals showed no indication of autocorrelation within the data and the best fitting covariate structure was found to be the standard variance components (VC) structure, which assigns equal variance for each experiment.

Table 7 shows the results of least square (LS) means of TBARS values estimated from models (D.1) and (D.2).

Predicted LS means of TBARS (Table 7) increased from 0.15 (0.04) to 0.46 (0.10) over the first 5 days post slaughter, after which they remained approximately stable until day 8 before they again increased. Except for storage day 9, with a very high estimate for TBARS of 0.73, there was no significant difference between TBARS measures corresponding to two or often more consecutive days (Table 7). However, as indicated by the superscripts in Table 7, TBARS LS means corresponding to few storage days are significantly lower than TBARS LS means corresponding to storage of a period of a week or longer.

Model (D.2) describes the impact of dietary vitamin E dose and time on TBARS values:

$$TBARS_{lmn} = Dose_m + Time_n + a_l + e_{lmn} \quad (D.2)$$

where $TBARS_{lmn}$: TBARS values of *l*th experiment of *m*th dose level at the *n*th time point; $Dose_m$: effect of *m*th level of dose; $Time_n$: effect of time at *n*th storage time point; a_l: the random effect ("random intercept") of the *l*th experiment and e_{lmn} denotes the residuals. No interaction terms were statistically significant. As for model (D.1), there was no indication of autocorrelation between values of TBARS on successive days and the standard variance components (VC) structure was used.

Considering the dose (model (D.2), Table 7), predicted LS means of TBARS gradually decrease as vitamin E doses increase. For a dose of 0 IU, predicted LS mean of TBARS is 0.52 (0.03) whereas it is less than half of that (i.e. 0.23 (0.05)) for dose 300 IU. There were significant differences for lipid oxidation between dose 0 IU and all higher doses and between dose 50 and doses 200, 300 IU (Table 7). However, no significant differences between LS means for TBARS were found between any of the doses equal or above 100 IU (Table 7).

The estimated changes with time for LS means of TBARS corresponding to model (D.2) were similar to that described by (D.1) with TBARS generally increasing over the first 5 storage days post slaughter and fluctuating between 0.33 and 0.52 thereafter. In contrast to model (D.1), model (D.2) did not produce higher predicted TBARS LS means for 9 and 10 storage days (Table 7). Multiple comparisons of LS means of TBARS between the different storage days generally showed no significant differences between successive storage days, but significant differences between the estimates

Table 6
Parameters and their comparisons estimated by best fitting Gompertz model for different categories of vitamin E supplementation time.

	Length of vitamin E supplementation (prior to slaughter) in days		Length of vitamin E supplementation (prior to slaughter) in days		
	<70	>70	<50	>50 and <100	>100
Estimated parameters	Estimation (SE)	Estimation (SE)	Estimation (SE)	Estimation (SE)	Estimation (SE)
A-random effect in parameter	6.44 (1.11)[a]	6.96 (1.23)[a]	5.78 (1.43)[a]	6.62 (1.89)[a]	7.64 (1.52)[a]
B	0.021 (0.007)[a]	0.031 (0.005)[a]	0.027 (0.013)[a]	0.016 (0.005)[a]	0.031 (0.005)[a]
C	***−8.49 (15.18)[a]	82.44 (14.81)[b]	***−0.71 (18.59)[a]	***19.43 (36.11)[a,b]	73.61 (17.69)[b]

SE: standard error of estimation. *** Estimated parameter is significantly not different from zero ($p<0.05$). a, b: common characters in the superscripts refer to no significant differences ($p<0.05$); comparisons between estimates of the same parameter belong to different vitamin E supplementation times (days prior to slaughter) within a model.

Table 7
Least squares (LS) means of TBARS and their comparisons, based on models (D.1) and (D.2).

Effect		Model (D.1)	Model (D.2)
		LS mean (SEM)	LS mean (SEM)
Vitamin E dose (IU)	0		0.52 (0.03)^{a}
	50		0.39 (0.04)^{b}
	100		0.33 (0.04)^{b,c}
	200		0.29 (0.03)^{c}
	300		0.23 (0.05)^{c}
Storage time (days post slaughter)	0	0.15 (0.04)^{a}	0.09 (0.04)^{a}
	1	0.22 (0.06)^{a,b}	0.24 (0.06)^{b}
	2	0.28 (0.06)^{b,c}	0.27 (0.05)^{b}
	3	0.29 (0.04)^{b,c}	0.31 (0.04)^{b,c}
	4	0.32 (0.06)^{b,c,d}	0.27 (0.05)^{b}
	5	0.46 (0.10)^{c,d,e}	0.50 (0.10)^{c,e}
	6	0.34 (0.04)^{b,d}	0.33 (0.04)^{b,d}
	7	0.46 (0.06)^{d,e,}	0.51 (0.05)^{e}
	8	0.48 (0.05)^{e}	0.44 (0.05)^{d,e}
	9	0.73 (0.10)^{f}	0.40 (0.06)^{b,e}
	10	0.56 (0.08)^{e,f}	0.52 (0.08)^{e}

SEM: standard error of LS means. a, b, c, d, e, f: common characters in the superscripts refer to no significant differences ($p<0.05$); comparisons between different vitamin E doses/post slaughter days within a model.

corresponding to short (i.e. 4 days or less) and long (above a week) storage (Table 7).

Both models (D.1) and (D.2) indicated that both dietary vitamin E dose and supplementation time affect TBARS values at different storage times, but do not explain how TBARS progress over time (i.e. corresponding interactions with storage time were not significant). However, in model (D.2) the interaction between dose and storage time approached statistical significance ($p=0.0667$). To test the hypothesis that this lack of interaction could be due to the relatively low number of data points compared to the number of levels of each factor, the following simplifications were carried out: a) combination of post slaughter storage times into intervals comprising 2–3 days with medians of corresponding TBARS values of each experiment for each storage time interval; and b) combination of several doses to one category (e.g. 0 and 50 IU, or all doses >100 IU). Following this simplification interactions between dose and storage time became marginally significant ($p=0.055$), allowing several interesting observations in this framework.

As illustrated in Fig. 4, a consistent effect of vitamin E dose on TBARS values (higher vitamin E doses led to lower TBARS values) only occurred after 4 days post slaughter storage. There were significant differences between estimated LS means of TBARS for dose 0 and doses ≥100 IU/kg feed from the second interval (2–3 days post slaughter) onward. There was no significant difference between estimated TBARS LS means for doses 50 and 100 IU/kg feed, for any storage time interval, between doses 0 and 50 IU/kg feed with the exception of interval 2–3 and 4–5 days post slaughter.

4. Discussion

In this study meta-analyses were performed to determine relationships between dose and duration of vitamin E supplementation and evolution of oxidative processes in post slaughter muscle of pigs. We analysed both the effects on vitamin E accumulation in muscle tissue, and on TBARS values, a much used indicator of lipid oxidation.

The first meta-analysis determined quantitative relationships between dietary vitamin E and its accumulation in muscle and estimates for biologically relevant parameters were given. The relationship found was nonlinear and an asymptotic value for vitamin E accumulation in muscle, estimates for maximum possible α-tocopherol accumulation per unit dose and for the vitamin E dose range associated with maximum accumulation could be obtained.

The second meta-analysis quantitatively established relationships between changes over time in lipid oxidation and factors influencing it. These have been represented by two different models describing the influence of different factors on lipid oxidation. The first model described how pork lipid oxidation was affected by α-tocopherol accumulated in pork, the period over which vitamin E was fed and by pork storage time. Beside supplementation- and storage time, this model established a direct relationship between the pork α-tocopherol concentration as antioxidant and the oxidation process. The second model described how dietary vitamin E and storage time affected lipid oxidation. Besides storage time this model described the effect of the daily dose of vitamin E fed on the oxidation process. Regarding changes with time, both models predicted a general increase of TBARS over the first 5 storage days post slaughter and some fluctuation thereafter. Interactions between accumulated α-tocopherol, supplementation time and dietary vitamin E with storage time were found to be not significant within the original data set. A simplification of levels of data was required to get marginally significant interactions between simplified vitamin E doses and storage time intervals.

4.1. Pork α-tocopherol concentration

Several studies (e.g. Cannon et al., 1996; Cheah et al., 1995; Corino et al., 1999) reported an increase in muscle α-tocopherol

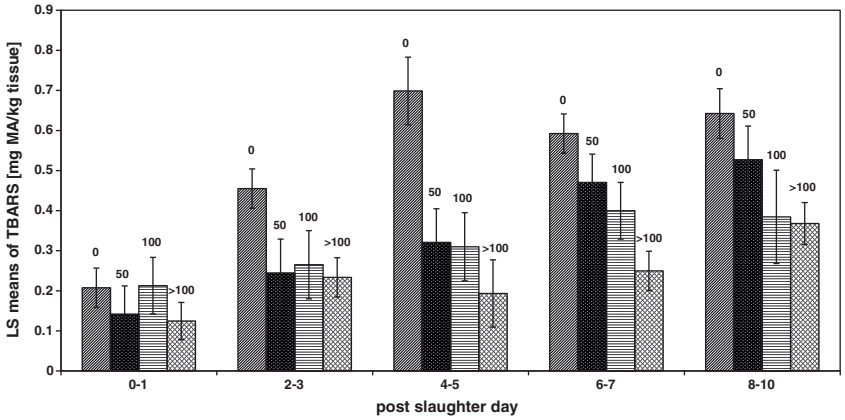


Fig. 4. Estimated least square means for TBARS of dose category*storage time interaction in *M. longissimus* for different supplementary dose categories at different storage time intervals after slaughter according to model (D.2) with interaction term included.

concentration with increasing daily vitamin E dose, but an exact relationship between these measures had not been established. Hasty et al. (2002) reported a linear relationship between pork α-tocopherol and fed vitamin E. In contrast, Jensen et al. (1997) and Hoppe et al. (1993) reported a linear relationship between α-tocopherol concentration and logarithm of daily vitamin E dose. The meta-analysis presented in this study showed a nonlinear relationship between supplementary vitamin E and muscle α-tocopherol accumulation in *M. longissimus* with an asymptotic limit ca. 6.4 μg α-tocopherol/g tissue, implying a maximum capacity for α-tocopherol accumulation. The nonlinear functions used to describe the relationship between vitamin E dose and *M. longissimus* α-tocopherol concentration are some of those most commonly used for describing animal growth (Lambe et al., 2006) and as indicated by the model fit criteria, describe correctly this relationship. The present study used summary statistics and aimed to establish response laws and consequently, simple models were preferred. Therefore other possible candidate functions, such as Richards, Bridges, Brody, and Michaelis–Menten models have not been used as they contain either more parameters or lacked direct biological interpretations for the model parameters (Lambe et al., 2006; Lorenzo Bermejo, Roehe, Rave, & Kalm, 2003).

The tested models gave similar, biologically realistic estimates for the α-tocopherol asymptote A, which implied that *M. longissimus* has a maximum capacity for α-tocopherol accumulation, between 6.3 and 7.3 α-tocopherol μg/g tissue for supplementary vitamin E doses between 0 and 700 IU/kg feed.

Both, the Gompertz and logistic models provided similar estimates for (B) the maximum α-tocopherol accumulation per unit dose (μg/g tissue/IU) suggesting a highest possible α-tocopherol accumulation in *M. longissimus* under this vitamin E supplementation form (dietary and α-tocopheryl acetate) was between 0.023 and 0.025 (±0.008) μg/g tissue/IU.

The logistic model produced larger estimates than the Gompertz model for the vitamin E dose associated with the maximum accumulation of α-tocopherol in muscle (i.e. estimated value for parameter C in the logistic and Gompertz models were 79.8 and 28.3 IU/kg feed, respectively). However these differences are largely due to the fact that the inflection point of logistic model is fixed at A/2, whereas the Gompertz model fixes this value at A/e (e = Euler number, 2.718281818) (Lambe et al., 2006). Therefore this difference is an artefact of the mathematical model and not of biological origin.

For the exponential model, the estimate for the α-tocopherol concentration corresponding to dose 0 (IU/kg feed) was significantly greater than zero, i.e. $C_E = 0.052$ for the model with random experimental effect on the asymptote A. This may be due to the fact that diets with vitamin E dose classified as 0 IU/kg feed referred to diets containing 8–25 mg/kg of vitamin E, that is, those satisfied the minimum requirements of (NRC, 1998), 8–15 mg vitamin E/kg feed, and those containing levels up to 25 mg/kg feed before rounding.

Comparisons of the parameters considered for different lengths of vitamin E supplementation, estimated by the best fitting Gompertz model showed no significant differences for the maximum α-tocopherol concentration (A) and maximum α-tocopherol accumulation per unit dose (B). Significant differences were only found for the Gompertz parameter C, i.e. vitamin E dose associated with the maximum accumulation of α-tocopherol, with significantly different estimates corresponding to long (>70 or >100 days) and short (<70 or <50 days) lengths of supplementation, respectively. However the estimations for corresponding to the short supplementation duration did not differ significantly from zero at the 95% confidence level. These results thus suggest that when vitamin E supplementation occurs over a shorter time period, the strongest difference in α-tocopherol accumulation occurs between no supplementation and small doses of vitamin E. In contrast, if supplementation occurs over a longer time period, the actual supplementation dose appears to matter more. This albeit weak effect of supplementation time on the actual α-tocopherol accumulation (i.e. Gompertz parameters A and B) could be explained by earlier studies which showed that blood α-tocopherol concentration of pigs stabilised after 2 weeks vitamin E supplementation and there was a positive linear relationship between blood- and tissue α-tocopherol concentration at slaughter (Hoppe et al., 1993). The duration of vitamin E supplementation was equal to or longer than 14 days pre-slaughter in all references used for this meta-analysis (Table 1). Thus tissue α-tocopherol concentrations might have reached equilibrium with vitamin E supply, which might explain why the contribution of supplementation time was significant only to one parameter of the best fitting model.

A meta-analysis was also carried out using those references that provided fed α-tocopherol levels. The same nonlinear relationships were found and the estimated parameters of the models were in good agreement with the model parameters discussed earlier, confirming reliability of our results.

The present meta-analysis was based on the results obtained on a specific muscle, *M. longissimus*. To the best of our knowledge only Tsai et al. (1978), Jensen et al. (1997) and Cheah et al. (1995) have published meat α-tocopherol concentration of other muscles e.g. *M. triceps*, *M. psoas major* and *M. masseter* respectively. Although there are too few data to conduct a meta-analysis, the results obtained on the *M. triceps*, *M. psoas major* show also nonlinear trends for α-tocopherol accumulation for several doses and α-tocopherol concentration published for *M. triceps* and for *M. masseter* are within the range of predicted values by our nonlinear model.

4.2. Pork lipid oxidation

The present study started with the use of a general model to take into account effects of all available factors and interaction terms on lipid oxidation. A stepwise simplification approach was subsequently adopted because models with many parameters (e.g. due to non-significant interaction terms) did not converge or some of the less relevant factors (e.g. gender) were not significant. During the simplification procedure vitamin E dose was found to be influential as fixed factor to such an extent that when included in the model, apart from storage time, no other factor was significant. The fact that vitamin E dose and accumulated α-tocopherol were not simultaneously significant in the statistical models could be explained by the collinear relationship between vitamin E dose and accumulated α-tocopherol, which has been established in this study.

The meta-analysis models of pork lipid oxidation considered a time period between 0 and 10 days storage post slaughter. Several authors (Boler et al., 2009; Pfalzgraf et al., 1995) reported a sharp increase in pork TBARS after 7 days storage post slaughter in a high oxygen (80% O_2/20%CO_2), modified atmosphere package. Similar results were reported for beef TBARS after 9 days storage post slaughter (Campo et al., 2006) under similar packaging conditions. These results indicate that after a certain storage time, lipid oxidation process accelerates. This is coherent with the knowledge that once oxidation is initiated, it continues as free radicals catalyse additional free-radical generating reactions (Abuja & Albertini, 2001; Jadhav et al., 1996). All the TBARS data analysed in the present paper were derived from samples stored at atmospheric oxygen levels and not with artificially elevated oxygen levels. Although most data used in the present study did not reach this acceleration point, a few experiments showed a larger increase at days 8 and 9 post slaughter (Fig. 2).

Buckley et al. (1995) reported that rate and extent of lipid oxidation in pork depend on the α-tocopherol concentration in tissues, but did not quantify this relationship. In contrast, Corino et al. (1999) found a linear (negative) relationship between TBARS α-tocopherol concentration in *M. longissimus dorsi* (TBARS = 0.21875 − 0.00757*α-tocopherol) and a correlation between muscle α-tocopherol concentration and TBARS of −0.44 ($p = 0.0328$) on day 6 post slaughter and no correlation on day

8 post slaughter. Model (D.1) described a general linear relationship between TBARS and muscle α-tocopherol concentration and predicted a higher negative slope value −0.0477 than that suggested by Corino et al. (1999).

Dunshea et al. (2005) reported that vitamin E supplementation at doses of 200 IU/kg provided over 84 to 130 days pre-slaughter and higher doses of 700–800 IU/kg for shorter periods of 14 days prior to slaughter significantly reduced muscle lipid oxidation in pork and pork products, but no time relationship was quantified. Model (D.1) described a general linear relationship between TBARS and supplementation time for doses ranging from 0 to 300 IU/kg feed and predicted a negative slope −0.00178 for this relationship. Since the highest dose in our analysis was 300 IU, model (D.1) does not describe time dependence for high doses of 700–800 IU/kg feed.

Our analysis did not provide exact estimates for the minimum required dose of vitamin E for which a significant difference in TBARS can be observed. Model (D.2) would suggest a dose between 50 and 100 IU/kg feed. This is in agreement with the results of the models quantifying the relationship between dietary vitamin E dose and α-tocopherol, which estimated the dose corresponding to highest accumulation of α-tocopherol to be between 39 and 80 IU/kg feed.

The predicted time trends for LS means of TBARS corresponding to both models were found to be similar i.e. modelled LS means of TBARS generally increased over the first 5 storage days post slaughter and fluctuated between 0.33 and 0.52 thereafter. The fluctuation was likely rather due to variable numbers of data points belonging to the different storage time points than to the progress of the oxidation process.

In the mixed models (D.1) and (D.2) no time autocorrelation was found. When autocorrelation terms were included into these models, we assumed that TBARS values of an experiment at the same dose level (at different time points) are derived from the same piece of muscle. Thorough examination of experimental descriptions of the studies showed that in many experiments different sides (right/left) of carcasses, but the same type of muscle from different animals might have been used as samples for TBARS measurement at a certain dose level for different time points, so these TBARS values could not have produced strong longitudinal data, which would explain the lack of autocorrelation.

Furthermore random intercepts were found not to be significant, implying that experimental conditions of the individual studies as random effects statistically did not give significant contribution to the modelled values.

Again, the present results refer to one particular muscle *M. longissimus dorsi*. To the best of our knowledge just a few individual references (Guo et al., 2006; Houben, Eikelenboom, & Hoving-Bolink, 1998; Philips et al., 2001; Tsai et al., 1978) published TBARS of *M. triceps*, Boston-butt, shoulder, ham, respectively and only two (Buckley & Conolly, 1980; Jensen et al., 1997) for *M. psoas major* — the latter one in logarithmically transformed form. Although this low number of references is insufficient for meta-analysis of vitamin E effect on lipid oxidation in muscles other than *M. longissimus dorsi*, results of these studies showed similar effects and tendencies to those discussed in the present study.

Information about breeds in most of the experiments were available (Tables 1 and 2), but breed effects could not be assessed in this study, because different cross breeds were used with insufficient replicates.

In meta-analysis of pork α-tocopherol concentration it seemed also relevant to investigate the effects of certain genotypes, but only two studies investigated this aspect, Rosenvold et al. (2002) used halothane gene free (NN) and Cheah et al. (1995) halothane heterozygote animals (Nn), the latter for the particular experiment which we used for our analysis. However segregation of this allele in other experiments could not be excluded, and accounting for it was not possible due to lack of the relevant information.

5. Conclusion

This study found meta-analysis a powerful tool for establishing quantitative relationships between dietary vitamin E and its accumulation in pork and its effects on pork lipid oxidation. For α-tocopherol accumulation an asymptotic value of ca. 6.4 μg α-tocopherol/g tissue was established as the maximum capacity for α-tocopherol accumulation. This level could be reached in *M. longissimus* of hybrid crossbreeds under diet regimes which contain less than 5% fat (on DM base) and 0–700 IU supplementary vitamin E/kg feed. The maximum increase for α-tocopherol accumulation, which is ca. 0.024 μg α-tocopherol/g tissue/IU for this particular muscle, could be reached by supplementation between 39 and 80 IU supplementary vitamin E/kg feed. The duration of supplementation only affects the vitamin E dose associated with maximum α-tocopherol increase, with the greatest increase occurring at low doses when supplementation times were short and greatest increase occurring at higher doses for longer supplementation times.

In the second meta-analysis the effect of vitamin E supplementation on lipid oxidation was studied. Based on this meta-analysis accumulated α-tocopherol, supplementation time, vitamin E dose and storage time were all found to be important factors affecting lipid oxidation and thus determine various pork quality characteristics. The results also indicated that at least 100 IU vitamin E/kg feed is required to gain a significant decrease of lipid oxidation and every 1 μg α-tocopherol/g tissue decreases lipid oxidation by ca. 0.05 TBARS values in *M. longissimus dorsi*. The magnitude of the effect of length of vitamin E supplementation is lower than the magnitude of the accumulated α-tocopherol. Under the described storage conditions this meta-analysis found gradually increased lipid oxidation for a few (3–4) days storage post slaughter and then its stabilisation for the remaining storage time up to the 10th day post slaughter. The present analysis suggests that administrated vitamin E dose and storage time interact i.e. the actual vitamin E dose affects how lipid oxidation changes over time, but more data is required to confirm this interaction. Further studies are required, using standardized methods to confirm findings of these meta-analyses and to extend results to other muscles.

Acknowledgements

Financial support for this research was received from the EU Sixth Framework Programme Priority Food-2005-T5.4.1.1, 'Improving the quality of pork and pork products for the consumer' and the Scottish Agricultural College.

The views expressed in this publication are the sole responsibility of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the European Commission. Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the commission is responsible for the use, which might be made of the information.

References

Abuja, P. M., & Albertini, R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, *306*, 1−17.

Apple, J. K. (2007). Effects of nutritional modifications on the water-holding capacity of fresh pork: Review. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *124*, 43−58.

Asghar, A., Gray, J. I., Booren, A. M., Gomaa, E. A., Abouzied, M. M., & Miller, E. R. (1991). Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of alpha-tocopherol in the muscle and pork quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *57*, 31−41.

Bermingham, E. N., Nozière, P., Vernet, J., Lapierre, H., Léger, S., Sauvant, D., et al. (2008). The relationships between intake and net portal fluxes of energy metabolites in ruminants: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology*, *143*, 27−58.

Boler, D. D., Gabriel, S. R., Yang, H., Balsbaugh, R., Mahan, D. C., Brewer, M. S., et al. (2009). Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Science*, *83*, 723−730.

Buckley, J., & Conolly, J. F. (1980). Influence of alpha-tocopherol (vitamin E) on storage stability of raw pork and bacon. *Journal of Food Protection*, *43*, 265−267.

Buckley, D. J., Gray, J. I., Pearson, A. M., Asghar, A., Price, J. F., Crackel, R. L., et al. (1989). Effects of dietary antioxidants and oxidized oil on membranal lipid stability and pork product quality. *Journal of Food Science*, *54*, 1193−1197.

Buckley, D. J., Morissey, P. A., & Grey, J. I. (1995). Influence of dietary vitamin E on oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, *73*, 3122−3130.

Bünger, L., & Herrendörfer, G. (1994). Analysis of a long-term selection experiment with an exponential model. *Journal of Animal Breeding in Genetics*, *111*, 1−13.

Buttris, J. L., & Diplock, A. T. (1984). High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. *Methods Enzymol*, *105*, 131−138.

Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, *72*, 303−311.

Cannon, J. E., Morgan, J. B., Schmidt, G. R., Tatum, J. D., Sofos, J. N., Smith, G. C., et al. (1996). Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E. *Journal of Animal Science*, *74*, 98−105.

Cheah, K. S., Cheah, A. M., & Krausgrill, D. I. (1995). Effect of dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. *Meat Science*, *39*, 255−264.

Corino, C., Oriani, G., Pantaleo, L., Pastorelli, G., & Salvatori, G. (1999). Influence of dietary vitamin E supplementation on heavy pig carcass characteristics, meat quality, and vitamin E status. *Journal of Animal Science*, *77*, 1755−1761.

Debier, C., & Larondelle, Y. (2005). Vitamins A and E: Metabolism, roles and transfer to offspring. *British Journal of Nutrition*, *93*, 153−174.

Dikeman, M. E. (2007). Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. *Meat Science*, *77*, 121−135.

Dragomir, C., Sauvant, D., Peyraud, J. L., Giger-Reverdin, S., & Michalet-Doreau, B. (2008). Meta-analysis of 0 to 8 h post-prandial evolution of ruminal pH. *Animal*, *2*, 1437−1448.

Dunshea, F. R., D'Souza, D. N., Pethick, D. W., Harper, G. S., & Warner, R. D. (2005). Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, *71*, 38.

Eugène, M., Archimède, H., & Sauvant, D. (2004). Quantitative meta-analysis on the effect of defaunation of the rumen growth, intake and digestion in ruminants. *Livestock Production Science*, *85*, 81−97.

Faustman, C., & Cassens, R. G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, *1*, 217−243.

Gray, J. I., Gomaa, E. A., & Buckley, D. J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, *43*, S111−S123.

Guo, Q., Richert, B. T., Burgess, J. R., Webel, D. M., Orr, D. E., Blair, M., et al. (2006). Effect of dietary vitamin E supplementation and feeding period on pork quality. *Journal of Animal Science*, *84*, 3071−3078.

Hasty, J. L., Heugten, E. V., & See, M. T. (2002). Effect of vitamin E on improving fresh pork quality in Berkshire- and Hampshire-sired pigs. *Journal of Animal Science*, *80*, 3230−3237.

Hoppe, P. P., Schöner, F. J., Wiesche, H., Stahler-Geyer, A., Kammer, J., & Hochadel, H. (1993). Effect of graded dietary alpha-tocopherol supplementation on concentrations in plasma and selected tissues of pigs from weaning to slaughter. *Journal of Veterinary Medicine: Series A*, *40*, 219−228.

Houben, J. H., Eikelenboom, G., & Hoving-Bolink, A. H. (1998). Effect of the dietary supplementation with vitamin E on colour stability and lipid oxidation in packaged, minced pork. *Meat Science*, *48*, 265−273.

Hoving-Bolink, A. H., Eikelenboom, G., van Diepen, J. T., Jongbloed, A. W., & Houben, J. H. (1998). Effect of dietary vitamin E supplementation on pork quality. *Meat Science*, *49*, 205−212.

Jadhav, S. J., Nimbalkar, A. D., Kulkarni, A. D., & Madhavi, D. L. (1996). Lipid oxidation in biological and food systems. In S. S., S. S., & D. K. (Eds.), *Food antioxidants: Technological, toxicological, and health perspectives* (pp. 5−64). New York: Marcel Dekker.

Jensen, C., Guidera, J., Skovgaard, I. M., Staun, H., Skibsted, L. H., Jensen, S. K., et al. (1997). Effects of dietary alpha-tocopheryl acetate supplementation on alpha-tocopherol deposition in porcine *M. psoas major* and *M. longissimus dorsi* and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork meat. *Meat Science*, *45*, 491−500.

Jensen, M., Hakkarainen, J., Lindholm, A., & Jönsson, L. (1988). Vitamin E requirement of growing swine. *Journal of Animal Science*, *66*, 3101−3111.

Lambe, N. R., Navajas, E. A., Simm, G., & Bünger, L. (2006). A genetic investigation of various growth models to describe growth of lambs of two contrasting breeds. *Journal of Animal Science*, *84*, 2642−2654.

Lanari, M. C., Schaefer, D. M., & Scheller, K. K. (1995). Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. *Meat Science*, *41*, 237−250.

Lauridsen, C., Engel, H., Craig, A. M., & Traber, M. G. (2002). Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E. *Journal of Animal Science*, *80*, 702−707.

Liu, Q., Lanari, M. C., & Schaefer, D. M. (1995). A review of dietary vitamin-E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, *73*, 3131−3140.

Lorenzo Bermejo, J., Roehe, R., Rave, G., & Kalm, E. (2003). Comparison of linear and nonlinear functions and covariance structures to estimate feed intake pattern in growing pigs. *Livestock Production Science*, *82*, 15−26.

Monahan, F. J., Buckley, D. J., Gray, J. I., Morrissey, P. A., Asghar, A., Hanrahan, T. J., et al. (1990). Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Science*, *27*, 99−108.

Monahan, F. J., Buckley, D. J., Morissey, P. A., Lynch, P. B., & Gray, J. I. (1990). Effect of dietary alpha-tocopherol supplementation on alpha-tocopherol levels in porcine tissues and susceptibility to lipid peroxidation. *Food Science and Nutrition*, *42F*, 203−212.

Monahan, F. J., Gray, J. I., Asghar, A., Haug, A., Strasburg, G. M., Buckley, D. J., et al. (1994). Influence of diet on lipid oxidation and membrane structure in porcine muscle microsomes. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, *42*, 59−63.

Niculita, P., Popa, M. E., Ghidurus, M., & Turtoi, M. (2007). Effect of vitamin E in swine diet on animal growth performance and meat quality parameters. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *57*, 125−130.

NRC (1998). *Nutrient requirements of swine* (Ed Tenth Revised Edition). Washington D. C: National Academy Press.

Nuernberg, K., Kuechenmeister, U., Kuhn, G., Nuernberg, G., Winnefeld, K., Ender, K., et al. (2002). Influence of dietary vitamin E and selenium on muscle fatty acid composition in pigs. *Food Research International*, *35*, 505−510.

Pettigrew, J. E., & Esnaola, M. A. (2001). Swine nutrition and pork quality: A review. *Journal of Animal Science*, *79*, 316−342.

Pfalzgraf, A., Frigg, M., & Steinhart, H. (1995). a-Tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*, 1339−1342.

Philips, A. L., Fustman, C., Lynch, M. P., Govoni, K. E., Hoagland, T. A., & Zinn, S. A. (2001). Effect of dietary alpha-tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Science*, *58*, 389−393.

Phillips, C. J. C. (2005). Meta-analysis — A systematic and quantitative review of animal experiments to maximise the information derived. *Animal Welfare*, *14*, 333−338.

Raharjo, S., Sofos, J. N., & Schmidt, G. R. (1993). Solid-phase acid extraction improves thiobarbituric acid method to determine lipid oxidation. *Journal of Food Science*, *58*, 921−924.

Rosenvold, K., Lærke, H. N., Jensen, S. K., Karlsson, A. H., Lundström, K., & Andersen, H. J. (2002). Manipulation of critical quality indicators and attributes in pork through vitamin E supplementation, muscle glycogen reducing finishing feeding and pre-slaughter stress. *Meat Science*, *62*, 485−496.

SAS (2000). *SAS/STAT user's guide (release 8)*. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J. J., & St Pierre, N. R. (2008). Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal*, *2*, 1203−1214.

Schmidely, P., Glasser, F., Doreau, M., & Sauvant, D. (2008). Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal*, *2*, 677−690.

Schulin-Zeuten, M., Kebreab, E., Gerrits, W. J. J., Lopez, S., Fan, M. Z., Dias, R. S., et al. (2007). Meta-analysis of phosphorus balance data from growing pigs. *Journal of Animal Science*, *85*, 1953−1961.

St-Pierre, N. R. (2001). Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science*, *84*, 741−755.

Tarladgis, B. G., Pearson, A. M., & Dugan, L. R., Jr. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II.— Formation of TBA-malonaldehyde complex without acid–heat treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *15*, 602−607.

Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., & Dugan, L. R., Jr. (1960). A distillation method for quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of American Oil Chemists' Society*, *37*, 44−48.

Tsai, T. C., Wellington, G. H., & Pond, W. G. (1978). Improvement in the oxidative stability of pork of swine rations. *Journal of Food Science*, *43*, 193−196.

Verbeke, G., & Molenberghs, G. (1997). *Linear mixed models in practice: A SAS-oriented approach*. New York: Springer-Verlag.

Vernet, J., Lapierre, H., Nozière, P., Sauvant, D., Léger, S., & Ortigues-Marty, I. (2005). Prediction of blood nutrient supply to tissues of economical interest in ruminants: A first step with the prediction of portal blood flow. *Open International Conference on Modelling and Simulation* (pp. 163−173).

Vernet, J., & Ortigues-Marty, I. (2005). Conception and development of bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: Data gathering management prior to meta-analysis. *Reprod. Nutr. Dev.*, *5*, 527−546.

Vyncke, W. (1975). Evaluation of the direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Fette, Seifen und Anstrichm*, *77*, 239−240.

Waylan, A. T., O'Quinn, P. R., Unruh, J. A., Nelssen, J. L., Goodband, R. D., Woodworth, J. C., et al. (2002). Effects of modified tall oil and vitamin E on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, *80*, 1575−1585.

Whitehead, A. (2002). Dealing with non-standard data sets. In A. (Ed.), *Meta-analysis of controlled clinical trials* (pp. 215−240). England: John Wiley & Sons.

Witte, V. C., Krause, G. F., & Bailey, M. E. (1970). A new extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, *35*, 582−585.

Article 5 : Article paru dans le journal Archiv Tierzucht

L. Trefan, L. Bünger, J.A. Rooke, J. Bloom-Hansen, B. Salmi, C. Larzul, C. Terlouw, A. Doeschl-Wilson. 2011.

Meta-analysis of effects of dietary vitamin E and post slaughter storage conditions on changes of redness (a*) of pork
Archiv Tierzucht, 5: 564-577.

Archiv Tierzucht 53 (2010) 5, 564-577, ISSN 0003-9438
© Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany

Meta-analysis of effects of dietary vitamin E and post slaughter storage conditions on changes of redness (a*) of pork

LASZLO TREFAN[1], LUTZ BÜNGER[1], JOHN ROOKE[1], JESPER BLOM-HANSEN[2], BTISSAM SALMI[3], CATHERINE LARZUL[3], CLAUDIA TERLOUW[4] and ANDREA DOESCHL-WILSON[5]

[1]Sustainable Livestock Systems Group, Scottish Agricultural College, King's Buildings, Edinburgh, UK, [2]Danish Meat Research Institute, Roskilde, Denmark, [3]Station de Génétique Quantitative et Appliquée, Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas, France, [4]UR 1213 Herbivores, Institut National de la Recherche Agronomique Genès, St. Genés Champanelle, France, [5]The Roslin Institute, University of Edinburgh, UK

Abstract

A meta-analysis was carried out to quantify the effects of dietary vitamin E and storage conditions on colour changes of pork from *M. longissimus dorsi*. After standardisation procedures, redness of pork (CIE colour specification a*), one of the most important objective colour attributes, was used as an indicator for colour changes in this analysis. The analysis was based on results from five experiments, which met selection criteria. Analysis of changes of other objective colour attributes, lightness (L*) and yellowness (b*) was not possible due to lack of published data.

The statistical analysis (using mixed models) found significant effects of tissue α-tocopherol concentration in *M. longissimus dorsi*, simplified supplemented vitamin E levels as well as storage time and storage light on redness of pork and its changes over time. The relationship between redness and α-tocopherol concentration was found to be linear, and between redness and storage time was non-linear (third degree polynomial) in one model. This model suggested that an increase of 1 µg of α-tocopherol in the muscle led to an expected increase a* value of 0.11. Another model identified significant interactions about 0.28 between α-tocopherol concentration and storage time in late storage periods. A third model found a significant difference of -0.48 between predicted a* values at lower (≤50 IU/kg feed) and higher supplemented vitamin E levels (≥100 IU/kg feed). The models predicted an initial increase for 3 days, a stable period for 5 days and then a decrease for a* values over storage time. The a* values were significantly lower by about 1.4 when samples were exposed to light in the models, the effect of light found to be constant over time.

Further studies, carried out with standardized methods, are needed to increase the predictive power of the derived models and to validate the models for other muscles.

Keywords: pig, Vitamin E, α-tocopherol, colour, redness, pork quality, meta analysis

Zusammenfassung

Metaanalyse zur Prüfung des Einflusses von Vitamin E Futterzusatz und Fleischlagerung auf die Veränderung der Fleischfarbe beim Schwein

Um die Effekte von Vitamin E als Futterzusatz und der Lagerungsbedingungen auf die Farbstabilität von Schweinefleisch (*M. longissimus dorsi*) zu bewerten, wurde eine Metaanalyse durchgeführt. Nach der notwendigen Datenstandardisierung wurde die Fleischfarbe (a*) als eine der wichtigsten objektiv messbaren Fleischeigenschaften ausgewählt und der Metaanalyse unterzogen. Die Analyse basierte auf Ergebnissen von fünf Experimenten, die gewisse Auswahlskriterien erfüllten. Die Analyse der Veränderung anderer objektiver Fleischfarbmerkmale wie Helligkeit (L*) und Gelbverfärbung (b*) war auf Grund mangelnder Daten nicht möglich.

Die statistische Analyse mit dem Mixed Modell zeigte signifikante Effecte der akkumulierten α-tocopherol Konzentration im Fleisch, der zugeführten Vitamin E Dosierung, sowie der Lagerzeit und der Lichtintensität während der Lagerung auf die Dynamik der Veränderung der Fleischfarbe. Die Abhängigkeit von der α-tocopherol Konzentration war linear und die von der Lagerzeit war nicht-linear (beschrieben durch ein Polynom dritten Grades). Laut dieses Modells entspricht eine α-tocopherol Erhöhung von 1 µg einer Erhöhung des a* Wertes um 0.11. Ein weiteres Modell identifizierte signifikante Interaktionen zwischen der α-tocopherol Konzentration und der Lagerzeit. Ein drittes Modell fand einen signifikanten Unterschied von −0.48 in den a*-Modellwerten, entsprechend einer niedrigen (≤50 IU/kg feed) oder einer hohen (≥100 IU/kg feed) Dosierung von Vitamin E Zusatz. Die Modelle berechneten eine Erhöhung des a*-Wertes in den ersten drei Tagen nach der Schlachtung, gefolgt von einer stabilen Periode für etwa fünf Tage, und einer Verringerung über den restlichen Zeitraum.

Lichtverhältnisses während der Lagerung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Fleischfarbe (a*). Lagerung bei Licht reduzierte a* um ca. 1.4. Die zeitliche Veränderung war nicht beeinflusst. Weitere Untersuchungen mit standardisierten Methoden wären von großem Nutzen für die Modell Validierung und um die Schätzgenauigkeit der abgeleiteten Modelle zu erhöhen.

Schlüsselwörter: Schwein, Vitamin E, α-tocopherol, Fleischfarbe, Röte, Schweinefleischqualität, Meta-Analyse

Introduction

Visual appearance is an important characteristic of meat quality, as it strongly influences the consumer's purchase decision. From the various factors which contribute to the visual appearance of meat, colour is the main factor that affects the acceptability of meat products (FAUSTMAN and CASSENS 1990). The rate of discolouration of meat is related to several factors including ultimate pH, storage temperature, lipid oxidation and illumination (FAUSTMAN and CASSENS 1990). To maintain acceptable fresh meat colour over prolonged periods of time, it is necessary to delay pigment oxidation and/or enhance reduction of oxidized myoglobin (GRAY *et al.* 1996). The supplementation of feed with vitamin E, a well known antioxidant was found to significantly reduce the oxidation process (BUCKLEY *et al.* 1995). For beef, vitamin E

supplementation resulted in an extension of retail display life from 1.6 to 5 days without compromising microbiological quality and similar trends have been reported for pork products (GRAY *et al.* 1996). There is strong evidence from various studies and review papers that dietary vitamin E supplementation decreases lipid oxidation in pork (BUCKLEY *et al.* 1995, LAHUCKY *et al.* 2000, PETTIGREW and ESNAOLA 2001, ROSENVOLD and ANDERSEN 2003, DUNSHEA *et al.* 2005, LAHUCKY *et al.* 2005, DIKEMAN 2007). However, results from individual studies on the effect of vitamin E on pork colour changes are ambiguous (ROSENVOLD and ANDERSEN 2003). While some papers have reported improved colour stability with vitamin E supplementation (e.g. ASGHAR *et al.* 1991, MONAHAN *et al.* 1992), several others found no significant effect (e.g. CANNON *et al.* 1996, JENSEN *et al.* 1997, PHILLIPS *et al.* 2001, KRSKA *et al.* 2001). To resolve this ambiguity and to determine quantitatively whether vitamin E influences colour changes in pork using a cross-experimental approach, meta-analysis may be used.

In animal science, meta-analysis has recently been described as a useful statistical tool to objectively integrate the results of individual experiments and to establish general response laws that are valid over a range of conditions (ST-PIERRE 2001, PHILLIPS 2005 and SAUVANT *et al.* 2008).

The aim of this paper was to use meta-analysis to quantify the effects of different dietary vitamin E levels and post slaughter storage conditions (e.g. storage time, storage light) on the changes of pork colour during storage. This paper focuses on the analysis of redness (a*) as an attribute of objective colour measurement of pork using the CIE L*,a*,b* colour system (CIE 1976).

Material and methods

Data sourcing and construction of meta-analysis datasets

The literature search used published information written in English from 1970 to 2009, from various scientific sources including journals, conference proceedings, book articles and abstracts from various electronic databases. Indices used in the search were combinations of the terms ›vitamin E‹, ›alpha-tocopherol‹, ›α-tocopherol‹, ›pork‹, ›dietary‹, ›pig‹, ›swine‹, ›hog‹ and plurals of these. In some cases, authors were contacted directly to complete missing information.

The literature research identified 60 initial references, related to the effect of dietary vitamin E supplementation on pork and pigs. Some studies reported aspects of dietary vitamin E utilization (e.g. blood α-tocopherol concentration), which were not relevant to the analysis and were therefore excluded. Since this study focused purely on the antioxidant effect of vitamin E, references using additional treatments which could possibly interfere with or modify the antioxidant effect of the vitamin E were also excluded. This was the case for experiments using diets with a fat to dry matter (DM) ratio of more than 5 %, as this may change saturated and unsaturated fatty acid ratio in pork making it more susceptible to oxidation (BUCKLEY *et al.* 1995). Experiments using diets containing in addition to vitamin E other antioxidants (e.g. vitamin C) or minerals (e.g. Se) above the normal maintenance level, which may interact with the vitamin E (OLDFIELD 2003), were also excluded. These selection criteria together with the standardisation criteria outlined below led to a drastic reduction of

acceptable studies and the following references remained for inclusion in the meta-analysis (LANARI *et al.* 1995, DIRINCK *et al.* 1996, HOVING-BOLINK *et al.* 1998, PHILLIPS *et al.* 2001 and VAN HEUGTEN *et al.* 2002). Table 1 summarizes experimental details of these studies.

Table 1
References used for meta-analysis of changes of redness (a*) of pork
Literaturquellen, die für die Meta-Analyse der Veränderung der Fleischfarbe (a) verwendet wurden*

No. of pigs/ treatment group	Vitamin E levels (IU)*	Pig breed	Gender	Length of supplem., days prior to slaughter	Reference
24	50/200	Danis	gilt	105	DIRINCK *et al.* 1996
36/35	0/200	Y×(FL×DuL)	barrow & gilt	84	HOVING-BOLINK *et al.* 1998
4/4	0/200	0.5D×0.25LW×0.25L	gilt	105	LANARI *et al.* 1995
10	50/200	Y×Y	boar & gilt	42	PHILLIPS *et al.* 2001
48	0/100/150/300/600	Hybrid	barrow & gilt	42	VAN HEUGTEN *et al.* 2002

*Supplementary vitamin E levels rounded and expressed in IU/kg feed, Danis published in this form, no further information is available, Y×(FL×DuL) Yorkshire × (Finnish Landrace × Dutch Landrace), 0.5D×0.25LW×0.25L composite breed of 50 % Duroc × 25 % Large White × 25 % Landrace, Y×Y Yorkshire crossbred

Experimental data were entered into a database that had been constructed according to the conceptual and structural requirements for meta-analysis outlined by VERNET and ORTIGUES-MARTY 2005. The database includes a detailed description of all relevant references (e.g. type, name and date of publication, title, author names), animals used in the experiments (e.g. gender, breed, beginning or slaughter weight), diet (e.g. gross energy, crude protein, fat concentration), rearing conditions (e.g. indoor/outdoor, group size), slaughter processes (e.g. stunning method), pork quality traits studied, sample size and treatment (e.g. storage temperature) as well as results from statistical analyses performed on the datasets from individual experiments.

Dose definition and storage time standardiation

All experiments used in the analysis supplied vitamin E in form of all-rac-α-tocopheryl (DL-α-tocopheryl) acetate, which is an equimolar mixture of eight synthetic α-tocopherol stereoisomers in acetate form (LAURIDSEN *et al.* 2002). 1mg of this chemical compound has a bioactivity conversion factor of 1.0 and corresponds to 1 International Unit (IU) of α-tocopherol. For the three different terminologies referring to α-tocopherol that had been used in the studies to define vitamin E administration, i.e. vitamin E (e.g. HOVING-BOLINK *et al.* 1998) , α-tocopherol (e.g. DIRINCK *et al.* 1996) or analysed fed α-tocopherol (e.g. LANARI *et al.* 1995) the amount of supplementation could thus be expressed in IU of α-tocopherol.

In one study (PHILLIPS *et al.* 2001) different amounts of vitamin E had been administrated for different time periods throughout the supplementation time. We defined the administrated vitamin E (in IU) in this case by calculating weighted averages with the individual time periods as weighting factors.

Furthermore the different experiments varied in their definition of control or treatment vitamin E levels and in the accuracy of the provided vitamin E measures. To minimise the potential bias introduced by this variation, we rounded administrated vitamin E in units of 50 IU/kg feed. For example amounts of supplementation below 25 IU/kg feed were defined as vitamin E dose 0 IU/kg feed, and supplementations between 25 and 75 IU/kg feed were defined as vitamin E dose 50 IU/kg feed. Henceforth the rounded measure is denoted as vitamin E dose.

Standardization procedures related to colour of pork

Objective colour parameters of meat based on reflectance method can be given in different systems, e.g. HUNTERLAB (2008) or CIE (1976). All references used in the present study provided pork colour in term of the CIE colour system, which describes colour by three parameters: lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*) (CIE 1976). However only the redness (a*) parameter of this colour system was assessed in this paper, because of lack of sufficient data for the other two colour attributes. The value as a* value of this colour parameter is going to be equally referred as redness of pork in this paper.

The muscles used in the studies referred to *M. longissimus dorsi, M. longissimus lumborum* or *M. psoas major*. Pork redness data were available from *M. longissimus dorsi/M. longissimus lumborum* in all five references, whereas less data were available for the other muscle. Since *M. longissimus lumborum* is part of *M. longissimus dorsi*, the present study uses the term *M. longissimus dorsi* for both *M. longissimus dorsi* and *M. longissimus lumborum*.

As storage conditions affect the rate of colour changes (FAUSTMAN and CASSENS 1990) redness data were considered from studies in which samples were: (i) stored at 4-7 °C; (ii) wrapped in oxygen permeable material (PVC, plastic foil); and (iii) stored under atmospheric conditions i.e. non oxygen/carbon-dioxide elevated or vacuumed storage environment. If samples were exposed to illumination, redness data received the attribute ›light‹ and if samples were kept either in dark or where the description of storage conditions demonstrated that samples were not exposed to light, they received the attribute ›no-light‹ in the meta-analysis database.

In addition, it was necessary to standardize the time scales provided in different experiments to a uniform scale. The time of slaughter was considered as the starting point of storage (day 0) and expressed the storage time in units of days post slaughter.

Statistical analysis

The aim of this meta-analysis was to derive statistical models which describe how redness of pork changes over time, and how the trend is affected by factors e.g. dietary vitamin E dose, storage conditions.

The inputs for the meta-analysis were the results of the statistical models used in the original publications in the form of least square (LS) means or means (if LS means were not provided) and the corresponding standard errors of LS means (SEM) or standard deviations (SD) where SEM were not provided.

Meta-analysis was performed using the PROC MIXED procedure of SAS (SAS 2000) where the effects of different covariates and fixed effects as well as individual study effects and

autocorrelation between repeated measurements could be taken into account (VERBEKE and MOLENBERGHS 1997, WHITEHEAD 2002). The fitted models contained α-tocopherol concentration of *M. longissimus dorsi* as covariate, vitamin E dose, vitamin E supplementation time and storage light as fixed effects, as well as interaction terms between covariates and fixed effects. Effect of storage time was examined separately in the models either as covariate or as fixed effect. Including storage time in the model as a continuous covariate provides a description of the time trend of redness, whereas inclusion as a fixed effect lends itself better to the statistical comparison of redness associated with different stages during storage and of interactions between storage time and other factors influencing it. The random experimental effect was included as a »random intercept«. For one study (DIRINCK *et al.* 1996) that did not report muscle α-tocopherol concentrations, LS means predicted from a nonlinear model (TREFAN *et al.* 2010) were used. Autocorrelations between repeated measurements were examined using the repeat statement of PROC MIXED, where vitamin E dose was nested within experiment identifier and various residual covariance matrix structures (SAS 2000) were explored.

To compare the models, the following model fitting criteria were used: correlation between the predicted and observed values through Pearson correlation R; Akaike's information criteria (AIC) (SAS 2000); RSD (residual standard deviation)

$$RSD = [\Sigma\Sigma(\varepsilon_{ij})^2/(n\text{-}p)]^{1/2} \quad (1)$$

where ε_{ij} is the residual value of *i*-th experiment at *j*-th dose level, *n* is the number of observations and *p* is the number of parameters in the model; CD (coefficient of determination)

$$CD = 1 - \Sigma\Sigma(\varepsilon_{ij})^2/(\Sigma\Sigma(Y_{ij})^2 \quad (2)$$

where ε_{ij} is the same as in RSD and Y_{ij} is the predicted value *i*-th experiment at *j*-th dose level (BÜNGER and HERRENDÖRFER 1994). In addition, visual inspection of predicted values, residuals and normality tests of residuals were carried out (SAUVANT *et al.* 2008).

Since research designs and accuracy varied across studies, weighting factors based on the published experimental errors were included in the models. The weighting factor was the inverse of the square of these errors divided by their mean value (ST-PIERRE 2001). In one study (DIRINCK *et al.* 1996) neither SEM nor SD were published, and error terms were estimated based on the coefficient of variations of the other experiments. Weighting of models was performed using the WEIGHT statement of PROC MIXED procedure of SAS (SAS 2000).

Results

After stepwise removal of statistically non-significant factors influencing redness and comparison of different assumptions for storage time dependence (i.e. linear, quadratic, cubic), the statistical model (1) provided the best fit out of all models where storage time was a continuous variable (AIC: 227.8, R: 0.85, RSD: 0.96, CD: 0.99). According to this model accumulated α-tocopherol concentration in pork (at slaughter), storage time and storage light have significant effects on redness of pork:

$$a^*_{ijkl} = ß_0 TOC_cont_{ij} + ß_1 Time_{ijk} + ß_2 Time^2_{ijk} + ß_3 Time^3_{ijk} + StoreLight_l + b_i + e_{ijkl} \quad (3)$$

where a^*_{ijkl} is the a* value of *i*-th experiment of *j*-th dose level at the *k*-th storage time point under *l*-th storage light condition; TOC_cont_{ij} is the α-tocopherol concentration in *M. longissimus dorsi* of the *i*-th experiment of *j*-th dose level and $ß_0$ its slope; $Time_{ijk}$, $Time^2_{ijk}$, $Time^3_{ijk}$ are the storage time, square and cube of *k*-th storage time point of the *i*-th experiment of *j*-th dose level, respectively, $ß_1$, $ß_2$ and $ß_3$ their corresponding coefficients; $StoreLight_l$ is the effect of storage light (l=0 refers to ›no light‹ and l=1 refers to ›light‹); b_i is the random effect (»random intercept«) of the *i*-th experiment and e_{ijkl} denotes the residuals. There were no significant interactions between the different factors.

The slope $ß_0$ for muscle α-tocopherol concentration and the coefficients $ß_1$, $ß_2$ and $ß_3$ for linear, quadratic and cubic storage time terms as continuous variables were significantly different from zero ($P<0.0309$, $P<0.0001$, $P<0.0001$ and $P<0.0011$, respectively). Muscle α-tocopherol concentration was found to have a positive effect on redness with a slope value $ß_0=0.11$ (SE: 0.05). The linear, quadratic and cubic storage time coefficients $ß_1$, $ß_2$ and $ß_3$, respectively were $ß_1=1.04$ (0.21), $ß_2=-0.13$ (0.03) and $ß_3=0.004$ (0.001). A significant difference of 1.35 (SEM: 0.23) ($P<0.0001$) was found for the predicted redness with lower a* values when light was present during storage.

Figure 1 shows the (LS) means of redness (a*) measured in *M. longissimus* dorsi at different storage time points from the 5 selected experiments for the various doses of supplementary vitamin E.

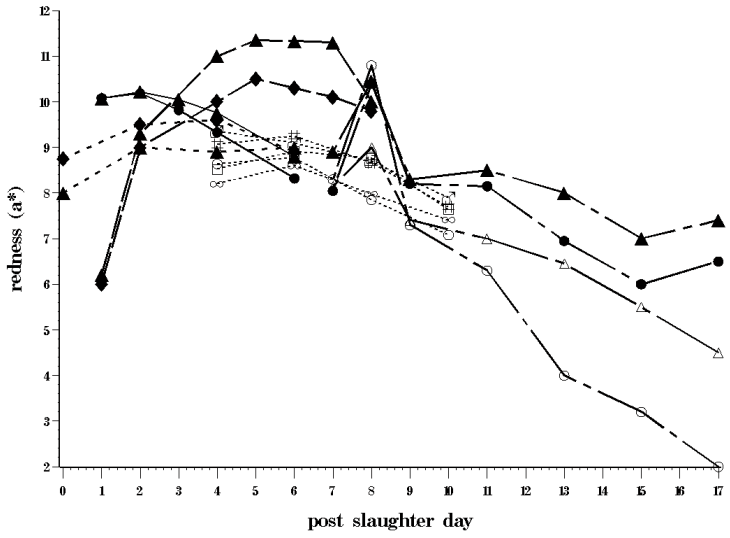


Figure 1

Changes in redness (a*) in *M. longissimus dorsi* with storage time for various supplementary vitamin E doses from 5 different studies. Vitamin E dose levels: 0 IU (○/●), 50 IU (♦), 100 IU (□), 150 IU (♂), 200 IU (Δ/▲), 300 IU (#), 600 IU (∞). Open and closed symbols refer to storage conditions in which samples were exposed to illumination ('light'), or kept in darkness ('no light'), respectively. *Veränderungen der Fleisch-Röte (a*) im M. longissimus dorsi in Abhängigkeit von der Lagerungszeit für verschiedene Dosierungen von Vitamin E als Futterzusatz, basierend auf 5 verschiedenen Studien. Vitamin E Dosierungen: 0 IU (○/●), 50 IU (♦), 100 IU (□), 150 IU (♂), 200 IU (Δ/▲), 300 IU (#), 600 IU (∞). Gefüllte Symbole (●,♦,▲) beziehen sich auf Schätzwerte für Fleischproben, die im Dunkeln gelagert wurden, während sich helle Symbole (○,□,♂,Δ,#,∞) auf Lagerung im Hellen beziehen.*

Figure 2 shows the least square (LS) mean values for redness (a*) estimated from model (1) for different vitamin E doses, storage conditions and storage times.

Confidence intervals of the individual predicted a* values ranged from 0.34 to 0.92. Distribution of the residuals was uniform over storage time.

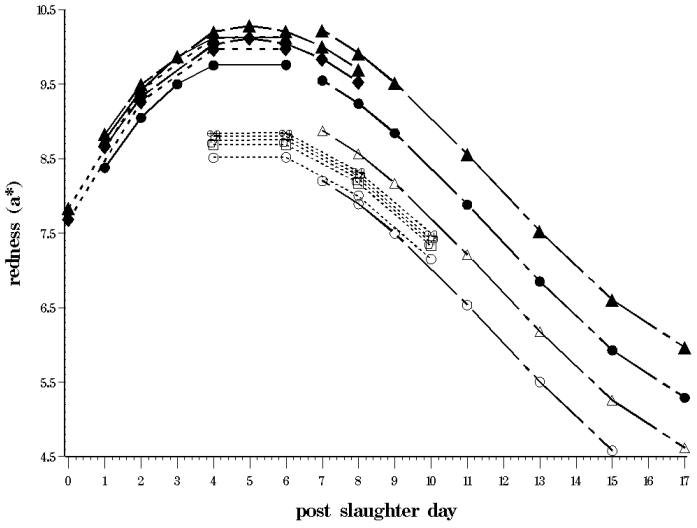


Figure 2
Model (1) predicted redness (a*) in *M. longissimus dorsi* for different supplementary vitamin E doses and storage light conditions. Vitamin E dose levels: 0 IU (○/●), 50 IU (♦), 100 IU (□), 150 IU (♂), 200 IU (Δ/▲), 300 IU (#); 600 IU (∞).The predicted values are presented according to whether pork samples were stored in dark (●,♦,▲) or exposed to illumination (○,□,♂,Δ,#,∞). *Schätzwerte von Modell (1) für Fleischröte-Werte (a*) im M. longissimus dorsi für verschiedene Vitamin E Dosierungen und Lagerungslicht-Bedingungen. Vitamin E Dosierungen: 0 IU (○/●), 50 IU (♦), 100 IU (□), 150 IU (♂), 200 IU (Δ /▲), 300 IU (#); 600 IU (∞). Gefüllte Symbole (●,♦,▲) beziehen sich auf Schätzwerte für Fleischproben, die im Dunkeln gelagert wurden, während sich helle Symbole (○,□,♂,Δ,#,∞) auf Lagerung im Hellen beziehen.*

In model (1) storage time was considered as a continuous variable. This provided a quantitative description for the change in redness of pork with time, but did not allow statistical comparisons of predicted redness between different storage time points. Therefore an alternative model was applied to the data where storage time was considered as a fixed effect. The resulting best fit model (AIC: 238.7, R: 0.91, RSD: 0.95, CD: 0.99) was

$$a^*_{mnpq} = (TOC_cont^*StoreTime)_{mnp} + StoreTime_p + StoreLight_q + b_m + e_{mnpq} \quad (4)$$

where a^*_{mnpq} is the *a** value of *m*-th experiment of *n*-th dose level at the *p*-th storage time point under *q*-th type storage light condition; $TOC_cont^*StoreTime_{mnp}$ is the interaction between α-tocopherol concentration of *M. longissimus dorsi* of the *m*-th experiment of *n*-th dose level and *p*-th storage time point; $StoreTime_p$ is the effect of time at *p*-th storage time point; $StoreLight_q$ is the effect of storage light (q=0 refers to ›no light‹ and q=1 refers to ›light‹); b_m is the random effect, as random intercept of the m-th experiment and e_{mnpq} denotes the residuals. Detailed analysis of the $TOC_cont^*StoreTime_{mnp}$ interaction at individual storage

times showed that the interaction was significant at 1, 6 and the last 3 days post slaughter storage times and their LS means were −0.70 (0.25), 0.39 (0.19), 0.30 (0.12), 0.28 (0.12), 0.28 (0.12), respectively, implying that α-tocopherol concentrations at slaughter affect the change in redness at rather later stages of the oxidation process. This coincides with the period in which redness changes most as LS means of a* values estimated from model (2) increased from 7.58 (0.54) to 9.30 (0.63) over the first 3 days post slaughter, after which values remained approximately stable until day 8 after which they gradually decreased to 5.05 (0.37). Multiple comparisons of LS means of redness between the different storage days generally showed no significant differences between successive storage days, but significant differences were found between estimates corresponding to short (i.e. four days or less) and long (above a week) storage. As in the case of model (1) a significant difference of 1.43 (0.19) (P<0.0001) was found for predicted redness with lower a* values when illumination was present during storage. Confidence intervals of the individual predicted redness varied between 0.47 and 1.47. Distribution of the residuals was uniform over storage time.

In the derivation of the statistical models vitamin E dose as a multi-level fixed effect as well as its accumulation in the form of α-tocopherol were introduced into the models. However, α-tocopherol concentration was found to be the better predictor for redness, and the effect of vitamin E was not significant at the 95 % confidence limit and hence not included in these models. In order to answer the question whether supplementation of vitamin E has a direct effect on the change of redness of pork, a further model was tested in which vitamin E dose was attributed to one of two dose categories corresponding to doses either equal to or less than 50 IU/kg feed (control) or greater than or equal to 100 IU/kg feed (supplementation), respectively. The statistical model applied to the data contained the two simplified dose categories, storage time and storage light as fixed effects. Although the fit of the model did not improve (AIC: 232.7, R: 0.88, RSD: 0.97, CD: 0.99), the model was:

$$a^*_{rstv} = simpDose_{rs} + StoreTime_t + StoreLight_v + b_r + e_{rstv} \quad (5)$$

where a^*_{rstv} is the a^* value of r-th experiment of s-th simplified dose level at the t-th storage time point under v-th type storage light condition; $simpDose_{rs}$ effect of s-th evel of simplified vitamin E dose of r-th experiment; $StoreTime_t$ is the effect of time at t-th storage time point; $StoreLight_v$ is the effect of storage light (v=0 refers to ›no light‹ and v=1 refers to ›light‹); b_r is the random effect, as random intercept of the r-th experiment and e_{rstv} denotes the residuals. All fixed effects were found to be significant, and interactions between fixed effects were found to be non-significant at the 95 % confidence limit. Model (3) gave similar estimation for changes of LS means of redness over time as model (2) e.g. estimated a* values increased from 7.64 (0.60) to 9.20 (0.60) on the first 3 days post slaughter, after which values remained approximately stable until day 8 after which they gradually decreased to 5.10 (0.42). Furthermore multiple comparisons of estimated redness between the different storage days showed the same patterns as in the case of model (2) and a significant difference of 1.47 (0.22) (P<0.0001) with the same magnitude of model (1) & (2) was found between light and dark storage conditions. In particular a significant difference of -0.48 (0.19) (P<0.0162) was found between predicted redness at lower (≤50 IU/kg feed) and higher vitamin E doses (≥100 IU/kg feed). Confidence intervals of the individual predicted a*values varied between 0.55 and 1.20. Distribution of the residuals was uniform over storage time.

Random intercepts were found to be not significant in either model, implying that experimental conditions of the individual studies did not contribute to the modelled values.

Weighting did not improve the fitting of the models, nor did it change general tendencies in results and only marginally modified predicted values. Hence, weighting factors were excluded from the final models.

The present meta-analysis was based on the period between days 0 and 17 post slaughter. However, data between days 11 and 17 originated from a single reference (LANARI *et al.* 1995). To test for potential bias in the statistical results caused by this single reference for later storage times, the meta-analysis was also carried out using only data from the period between days 0 and 11 post slaughter. Removal of the data referring to the later storage times was however found to have only negligible influence on the statistical model results.

Discussion

In this study a meta-analysis was performed to determine the effects of dietary vitamin E as an antioxidant on the changes of redness of pork during storage.

The meta-analysis combined results from five independent studies to establish quantitative relationships between the changes in pork redness with time and influencing factors of significant importance. To the best of the authors' knowledge this study is the first to quantitatively describe the time dependence of the discolouration process of pork when related to dietary vitamin E and storage in different light conditions.

Model (1) revealed a significant influence of accumulated α-tocopherol concentration in *M. longissimus dorsi*, as well as storage time and storage light on redness and its change over time. The relationship between redness and α-tocopherol concentration was linear, whereas the change of redness with storage time was best described by a third order polynomial. The moderate but positive slope value associated with α-tocopherol concentration in model (1) suggested that an increase of 1 µg of α-tocopherol in the muscle as a result of dietary vitamin E led to an expected increase of 0.11 in redness across all storage times.

A second model was derived using storage time as a fixed effect. Model (2) found an interaction between α-tocopherol concentration of *M. longissimus dorsi* and storage time, indicating that muscle α-tocopherol concentration (and hence vitamin E supplementation) affects the evolution of redness over time. This influence was more frequent after 6 days of storage. Model (2) further shows that redness decreases only slowly over time, and that differences become significant only after about a week of storage.

A third model was developed to establish quantitative relationship between supplemented vitamin E dose, storage conditions and changes in redness. In model (3) definition of dose categories was required to quantify the effect of dose. This simplification may have been due to the relatively low number of data points (80) from 5 references compared to the available number of vitamin E dose levels (7), however this model predicted the changes of redness over time as model (2).

Considering redness changes over time the initial increase in redness during storage is coherent with findings of earlier studies unrelated to the effects of vitamin E (LINDAHL *et al.* 2006, LI *et al.* 2009). While these two studies found that after the initial increase, redness remained stable, other studies found a decrease in redness over several days of storage

(JUNCHER *et al.* 2001, TIKK *et al.* 2008), which is in accordance with the results of this meta-analysis.

To correctly predict redness, all models needed to take into account whether samples were exposed to illumination. This result is a good agreement with the existing literature (FAUSTMAN and CASSENS 1990, HONIKEL 1998) which shows that redness of pork and pork products decrease during exposure to light (CALKINS *et al.* 1986), (ANDERSEN *et al.* 1988). Storage light was found to have a significant influence on redness of pork with a difference of about 1.4 between light and dark storage conditions and this effect was found constant over all storage time by this meta-analysis.

Several other factors that may influence the relationship between vitamin E and colour changes could not be assessed in the present analysis. The length of time supplementary vitamin E was fed was identified as a non-significant factor in the models. Earlier studies established that blood α-tocopherol concentration of pigs stabilise after more than 2 weeks of vitamin E supplementation and a linear relationship was found between blood- and tissue α-tocopherol concentration at slaughter (HOPPE *et al.* 1993). The duration of vitamin E supplementation was considerably longer than 14 days pre slaughter in all references used for the present meta-analysis (Table 1). Thus tissue α-tocopherol concentrations may have reached equilibrium with vitamin E supply, which might explain why supplementation times did not significantly contribute to the models. Furthermore, although studies included in the meta-analysis gave information on the breeds used, mainly modern crossbreds (Table 1), any breed effect could not be assessed. The reason is that pigment (myoglobin) content of muscle fibres is primarily responsible for meat colour (HEDRICK *et al.* 1994, FAUSTMAN and CASSENS 1990) and no marked difference in muscle fibre numbers and size of the *longissimus* muscle were apparent between modern meat-type pig breeds and crosses (PAS 2004). Similarly, the present meta-analysis concerns only redness of a specific muscle, *M. longissimus dorsi*. Among the references used in this analysis only two (HOVING-BOLINK *et al.* 1998, PHILLIPS *et al.* 2001) published changes of a* values of *M. psoas major* over time. This dataset was too small to carry out a meta-analysis for this muscle. Finally among the references, which satisfied our selection criteria, only 2 references (DIRINCK *et al.* 1996, VAN HEUGTEN *et al.* 2002) contained information on time dependent changes in lightness (L*) and only one (VAN HEUGTEN *et al.* 2002) on time dependent changes in yellowness (b*) following the different amounts of vitamin E administration. In summary the present study used meta-analysis based on a small number of carefully selected experiments to establish quantitative relationships for the effect of dietary vitamin E supplementation on change of redness of pork under different storage conditions.

In conclusion, the three statistical models together suggest that vitamin E supplementation affects redness of pork, but only when supplementation of dose exceeds 100 IU/kg and after 6 days post slaughter.

The number of experiments included in this meta-analysis was small, as the aim was to produce statistically robust estimates rather than less reliable estimates based on a larger number of studies but inconsistent experimental conditions.

Further studies would be necessary to confirm the results, to establish and validate the found relationships for other muscles and colour attributes.

Acknowledgements

Financial support for this research was received from EU Sixth Framework Programme Priority Food-2005-T5.4.1.1, ›Improving the quality of pork and pork products for the consumer‹ and Scottish Agricultural College.

The views expressed in this publication are the sole responsibility of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the European Commission. Neither the European Commission nor any person acting on behalf of the Commission is responsible for the use, which might be made of the information.

References

Andersen HJ, Bertelsen G, Boegh-Soerensen L, Shek CK, Skibsted LH (1988) Effect of light and packaging conditions on the colour stability of sliced ham. Meat Sci 22, 283-92

Asghar A, Gray JI, Booren AM, Gomaa EA, Abouzied MM, Miller ER (1991) Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of alpha-tocopherol in the muscle and pork quality. J Sci Food Agric 57, 31-41

Buckley DJ, Morissey PA, Grey JI (1995) Influence of dietary vitamin E on oxidative stability and quality of pig meat. J Anim Sci 73, 3122-30

Bünger L, Herrendörfer G (1994) Analysis of a long-term selection experiment with an exponential model. J Anim Breed Genet 111, 1-13

Calkins CR, Goll SJ, Mandigo RW (1986) Retail display lighting type and fresh pork color. J Food Sci 51, 1141-5

Cannon JE, Morgan JB, Schmidt GR, Tatum JD, Sofos JN, Smith GC, Delmore RJ, Williams SN (1996) Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemeneted with Vitamin E. J Anim Sci 74, 98-105

CIE (1976). CIE (Comission International de l'Eclairage) 18th Session. CIE Publication 36, London, England

Dikeman ME (2007) Effects of metabolic modifiers on carcass traits and meat quality. Meat Sci 77, 121-35

Dirinck P, De Winne A, Casteels M, Frigg M (1996) Studies on Vitamin E and Meat Quality. 1. Effect of feeding high vitamin E levels on time-related pork quality. J Agric Food Chem 44, 65-8

Dunshea FR, D'Souza DN, Pethick DW, Harper GS, Warner RD (2005) Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. Meat Sci 71, 38

Faustman C, Cassens RG (1990) The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A Review. J Muscle Foods 1, 217-43

Gray JI, Gomaa EA, Buckley DJ (1996) Oxidative quality and shelf life of meats. Meat Sci 43, 111-23

Hedrick BH, Forrest CJ, Judge DM, Merkel AR (1994) Principles of Meat Science. 3rd edition, Kendal/Hunt Publishing Company, Dubuque, USA

Honikel KO (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. Meat Sci 49, 447-57

Hoppe PP, Schöner FJ, Wiesche H, Stahler-Geyer A, Kammer J, Hochadel H (1993) Effect of graded dietary alpha-tocopherol supplementation on concentrations in plasma and selected tissues of pigs from weaning to slaughter. J Vet Med A 40, 219-28

Hoving-Bolink AH, Eikelenboom G, van Diepen JT, Jongbloed AW, Houben JH (1998) Effect of dietary vitamin E supplementation on pork quality. Meat Sci 49, 205-12

HunterLab (2008) Hunter L, a, b Color Scale. http://www.hunterlab.com/appnotes/an08_96a.pdf [last accessed 28.09.2010]

Jensen C, Guidera J, Skovgaard IM, Staun H, Skibsted LH, Jensen SK, Moller AJ, Buckley J, Bertelsen G (1997) Effects of dietary alpha-tocopheryl acetate supplementation on alpha-tocopherol deposition in porcine m. psoas major and m. longissimus dorsi and on drip loss, colour stability and oxidative stability of pork Meat. Meat Sci 45, 491-500

Juncher D, Ronn B, Mortensen ET, Henckel P, Karlsson A, Skibsted LH, Bertelen G (2001) Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork. Meat Sci 58, 347-57

Krska P, Lahucky R, Küchenmeister U, Nürnberg K, Palanska O, Bahelka I, Kuhn G, Ender K (2001) Effects of dietary organic selenium and vitamin E supplementation on post mortem oxidative deterioration in muscles of pigs. Arch Tierz 44, 193-201

Lahucky R, Krska P, Küchenmeister U, Nürnberg K, Bahelka I, Demo P, Ender K (2000) Effect of vitamin E on changes in phosphorus compounds assessed by 31P NMR spectroscopy and ATPase from post mortem muscle samples and meat quality of pigs. Arch Tierz 43, 487-97

Lahucky R, Kuechenmeister U, Bahelka I, Novotna K, Vasickova K, Ender K (2005) Effects of vitamin E by dietary supplementation and of calcium ascorbate by post mortem injection in muscle on the antioxidative status and meat quality of pigs. Arch Tierz 48, 592-600

Lanari MC, Schaefer DM, Scheller KK (1995) Dietary Vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. Meat Sci 41, 237-50

Lauridsen C, Engel H, Craig AM, Traber MG (2002) Relative bioactivity of dietary RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetates in swine assessed with deuterium-labeled vitamin E. J Anim Sci 80, 702-7

Li C, Wu J, Zhang N, Zhang S, Liu J, Li J, Li H, Feng X, Han Y, Zhu Z, Xu X, Zhou G (2009) Effects of boning method and postmortem aging on meat quality characteristics of pork loin. Anim Sci J 80, 591-6

Lindahl G, Karlsson AH, Lundström K, Andersen HJ (2006) Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds. Meat Sci 72, 603-12

Monahan FJ, Gray JI, Asghar A, Booren MA, Miller RE, Buckley DJ, Morissey PA, Gomaa AE (1992) Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. J Agric Food Chem 40, 1310-5

Oldfield JE (2003) Some recollection of early swine research with selenium and vitamin E. J Anim Sci 81 (E. suppl. 2), E145-8

te Pas MFW (2004). Muscle development of livestock animals (Physiology, Genetics and Meat Quality). 1st edition, CABI Publishing, Wallingford, UK

Pettigrew JE, Esnaola MA (2001) Swine nutrition and pork quality: A review. J Anim Sci 79, 316-42

Phillips AL, Fustman C, Lynch MP, Govoni KE, Hoagland TA, Zinn SA (2001) Effect of dietary alpha-tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. Meat Sci 58, 389-93

Phillips CJC (2005) Meta-analysis - a systematic and quantitative review of animal experiments to maximise the information derived. Anim Welf 14, 333-8

Rosenvold K, Andersen HJ (2003) Factors of significance for pork quality-a review. Meat Sci 64, 219-37

SAS (2000) SAS/STAT User's Guide (Release 8). SAS Institue Inc, Cary, NC, USA

Sauvant D, Schmidely P, Daudin JJ, St Pierre NR (2008) Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. Animal 2, 1203-14

St-Pierre NR (2001) Invited Review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. J Dairy Sci 84, 741-55

Tikk K, Lindahl G, Karlsson AH, Andersen HJ (2008) The significance of diet, slaughter weight and aging time on pork colour and colour stability. Meat Sci 79, 806-16

Trefan L, Bünger L, Bloom-Hansen J, Rooke JA, Salmi B, Larzul C, Terlouw C, Doeschl-Wilson A (2010) Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E supplementation on alpha-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. Meat Science (submitted)

van Heugten E, Hasty JL, See MT, Larick DK (2002) Storage stability of pork from berkshire and hampshire sired pigs following dietary supplementation with vitamin E. J Muscle Foods 14, 67-80

Verbeke G, Molenberghs G (1997) Linear mixed models in practice: A SAS-Oriented Approach. Springer-Verlag, New York, USA

Vernet J, Ortigues-Marty I (2005) Conception and development of bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants: data gathering management prior to meta-analysis. Reprod Nutr Dev 5, 527-46

Whitehead A (2002) A Meta-Analysis of controlled clinical trials. John Wiley and Sons, UK, 215-40

Received 21 April 2010, accepted 20 July 2010.

Corresponding author:

LASZLO TREFAN
email: laszlo.trefan@sac.ac.uk

Sustainable Livestock Systems, Scottish Agricultural College, Penicuik, EH26 0PH, United Kingdom

Annexe B :

Communications - Posters

43ème Journées de la Recherche Porcine, 15 – 16 février 2011.

Analyse multivariée de la variabilité de la qualité de viande de porc selon la race et le système.

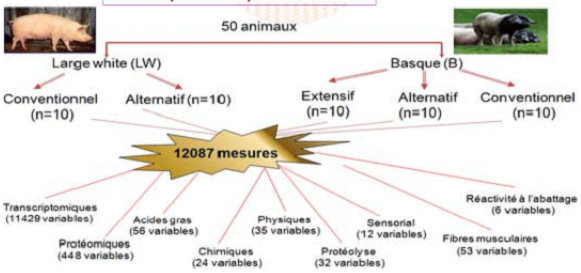
Btissam SALMI (1), Catherine LARZUL (1), Marie DAMON (2), Louis LEFAUCHEUR (2), Jacques MOUROT (2), Elisabeth LAVILLE (3), Philippe GATELLIER (3), Karine METEAU (4), Denis LALOË (1), Bénédicte LEBRET (2).
(1) INRA, UMR1313, GABI; AgroParisTech, UMR1313, GABI; 78352 Jouy-en-Josas, France ; (2) INRA, UMR1079 SENAH, 35590 Saint-Gilles, France; (3) INRA, UR QuAPA, Theix, 63122 St-Genès-Champanelle, France; (4) INRA, EASM, Le Magneraud, 17700 Surgères, France.

Objectif

La qualité de viande de porc présente une variabilité importante liée à l'effet de plusieurs facteurs et de leur interaction. L'amélioration de la qualité de viande implique une meilleure connaissance des phénomènes biologiques qui régissent cette qualité. L'objectif de cette étude est de relier les caractéristiques phénotypiques avec l'expression des gènes et des protéines en analysant les variations existant entre deux races et trois systèmes d'élevage.

Matériel & Méthodes

Dispositif expérimental

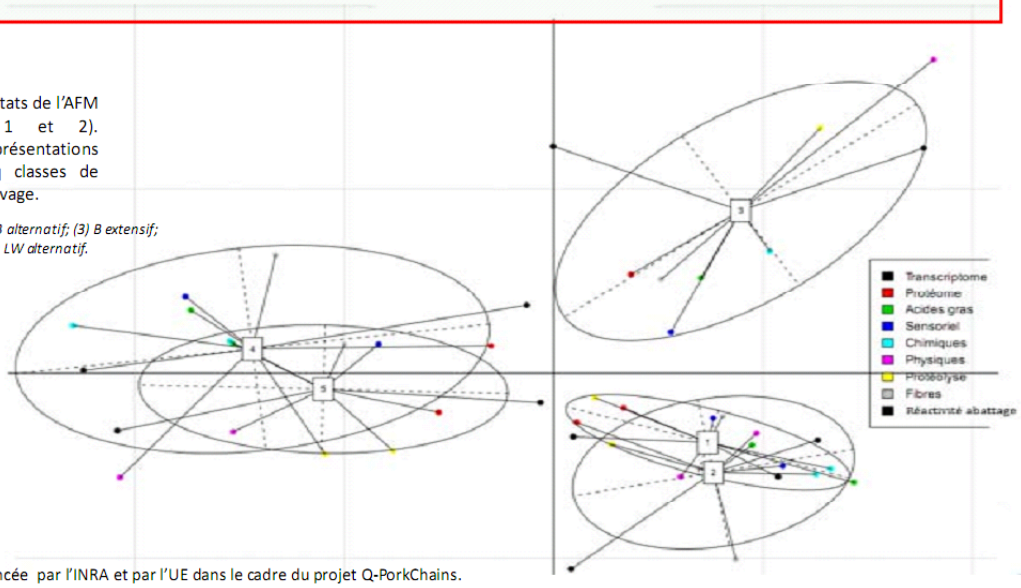


Analyses statistiques

- **ACP** (analyse en composantes principales): étude globale des corrélations entre l'ensemble des variables intra- et inter-classes (race x système d'élevage).
- **AFM** (analyse factorielle multiple): analyse des relations existant entre les groupes de variables.

Résultats

- Variabilité importante entre les 5 classes de race x système d'élevage (33% de la variabilité totale).
- **ACP globale**: les variables discriminant les cinq classes (transcriptomiques, technologiques et de composition en acides gras) discriminent également l'ensemble des individus.
- **AFM**: le premier axe composé des variables transcriptomiques, technologiques et de composition en acides gras discriminent les races, alors que les variables de réactivité à l'abattage (deuxième axe) discriminent les systèmes d'élevage.



Graphique des résultats de l'AFM (axes factoriels 1 et 2). Consensus et représentations partielles des cinq classes de race x système d'élevage.

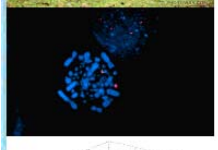
(1) B conventionnel; (2) B alternatif; (3) B extensif; (4) LW conventionnel; (5) LW alternatif.

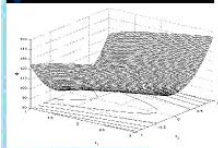
Cette étude est co-financée par l'INRA et par l'UE dans le cadre du projet Q-PorkChains.

Une approche méta-analytique pour comprendre et prédire la qualité de la viande de porc

Btissam SALMI
Encadrants: Catherine LARZUL , Jean-Pierre BIDANEL
INRA SGQA – Domaine de Vilvert, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France.







Parcours

- Ingénieur agronome de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II – Maroc.
- Master 2 Recherche « Élaboration de la Qualité et Sécurité Alimentaire » de l'ENSAT – Toulouse.

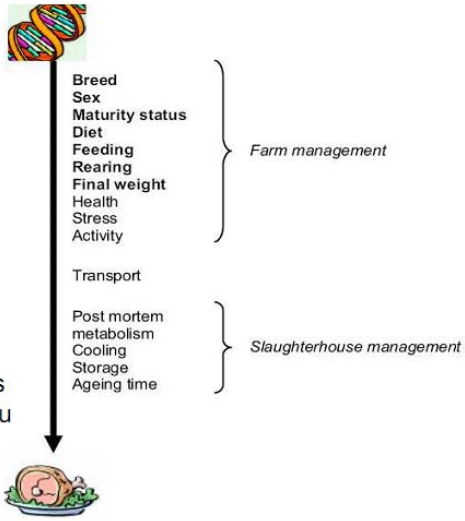
Objectif

Le but de la thèse est d'intégrer des connaissances existantes et d'autres à venir afin de construire un modèle de prédiction des qualités technologiques et sensorielles de la viande de porc, à partir de données se rapportant à l'animal, ainsi qu'aux conditions d'élevage et d'abattage.

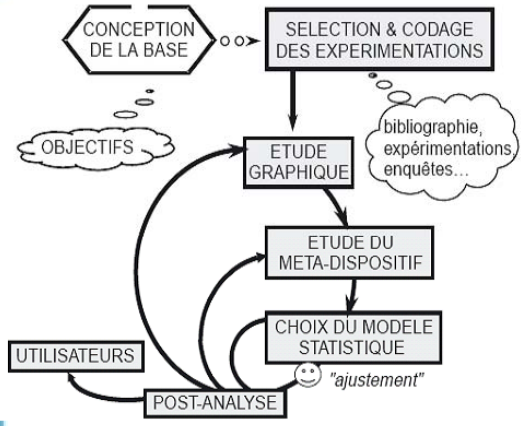


Contexte

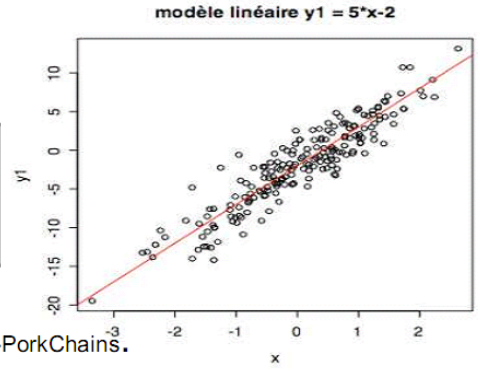
Ce sujet s'intègre dans le cadre du projet européen multidisciplinaire Q-PORKCHAINS qui cherche à appliquer les dernières avancées de la génétique et de la biologie dans un contexte défini par les préférences du consommateur et du citoyen afin de renforcer la position de l'EUROPE dans le marché mondial de la viande porcine.



Déroulement et Méthodologie



1ère étape: Une revue de la littérature (identification et sélection des études éligibles, y compris des revues et des résumés et le codage des traitements) et le développement d'une méta-database pour établir une méta-analyse préliminaire permettant d'établir une information qualitative concernant les liens entre l'animal, la production, l'abattage et les aspects technologiques de la qualité de la viande.



2ème étape Déterminer les lois de réponse pour créer et valider un modèle prédictif qu'on pourra ajuster par la suite à l'aide des données existantes.

Financement de la thèse

Cette thèse est financée à 100% par l'UE dans le cadre du projet Q-PorkChains.