

APPLICATION DE LA THROMBÉLASTOGRAPHIE DE HARTERT A L'ÉTUDE DE LA COAGULATION DU LAIT (1)

par

R. FRENTZ

avec la collaboration technique de
Mlle DREUILHE

Chaque jour, l'industrie fromagère provoque la coagulation de centaines de milliers d'hectolitres de lait sous l'action d'enzymes ou de ferments. N'est-il pas surprenant que ce phénomène, à la fois énorme et quotidien, dont dépendent la qualité d'innombrables tonnes de matières alimentaires et le sort de capitaux considérables, ne soit connu, dans son déroulement physique, que d'une façon très approximative et empirique ?

Certes, le fromager sait, d'une façon souvent remarquable, doser la présure, prévoir le temps de coagulation, apprécier à la vue ou au toucher les caractéristiques d'un caillé et conduire sa fabrication en conséquence, mais il n'est pas moins vrai qu'une telle manière de procéder dépend étroitement de la compétence et de l'expérience d'un individu, qu'elle comporte donc une bonne part de subjectivité et de variabilité.

L'absence, jusqu'à ce jour, d'une méthode objective, d'un appareillage fidèle permettant d'observer, de concrétiser et de mesurer par des paramètres précis les différentes étapes de la formation et de la rétraction d'un coagulum de paracaséine, paraît donc regrettable.

La mise au point de telles méthodes serait au contraire pleine de promesses.

Dans le cadre de recherches fondamentales, elle permettrait d'abord de mieux connaître et comprendre le mécanisme intime de la formation du caillé, de mesurer avec rigueur l'influence des nombreux facteurs qui régissent la vitesse de coagulation et les propriétés rhéologiques du produit obtenu, de faire une liaison entre ce que l'on sait déjà du processus chimique de ces transformations et leur aspect physique.

En une seconde étape de recherches appliquées, elle rendrait ensuite sans doute possible un meilleur contrôle de la technologie

(1) Mémoire reçu le 1^{er} juin 1965.

fromagère en déterminant à l'avance l'aptitude à la coagulation d'un lait donné, en assurant la maîtrise de tous les facteurs susceptibles de modifier cette aptitude en vue de l'obtention d'un caillé aux propriétés nettement définies.

Devant de telles perspectives, nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'adapter à l'étude de la coagulation du lait une technique existante qui, depuis plus de quinze ans déjà, donne des résultats remarquables dans un domaine où la coagulation a également une importance primordiale : celui de la coagulation sanguine. Cette technique est celle de la thrombélastographie de Hartert, encore appelée thrombodynamographie.

Après deux années d'essais préliminaires, nous sommes arrivé à la conclusion qu'une telle adaptation est parfaitement possible et souhaitable, ainsi que le montreront les premiers résultats. Avant d'exposer ceux-ci, il est sans doute indiqué de décrire le principe de cette technique encore inconnue en recherche laitière.

I. — Principe de la thrombélastographie

Mise au point en 1948 par H. Hartert [1], la thrombélastographie se pratique à l'aide d'un thrombélastographe (fig. 1), (1),

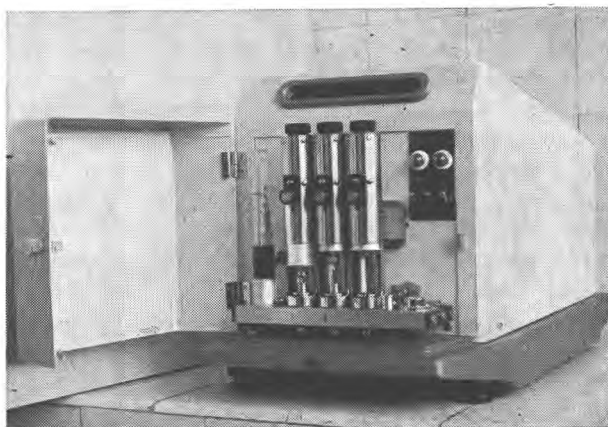


Fig. 1. — Thrombélastographe Hellige, type D. Vue d'ensemble.

appareil automatique et de haute précision, qui rend possible l'observation visuelle continue et l'enregistrement photographique de toutes les phases de la formation d'un coagulum.

(1) Fabriqué par Fritz Hellige & Co GmbH, 78 Freiburg im Breisgau, Postfach 728 (Allemagne fédérale) ; distribué par Hellige-France, 88, route de Bischwiller, Strasbourg-Schiltigheim (Bas-Rhin).

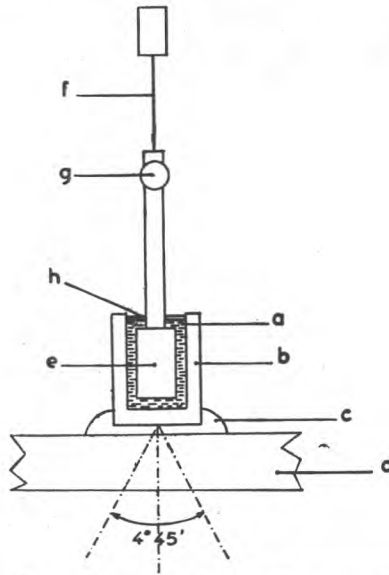


Fig. 2. — Schéma de principe du thrombélustographe de Hartert.
(Légende dans le texte.)

Le liquide à coaguler (fig. 2 a) est placé dans une cuve cylindrique (fig. 2 b) de 8 mm de diamètre intérieur et de 12 mm de profondeur, en acier poli non mouillable V2A, maintenue à la température constante de 37°.

Cette cuve, fixée dans une douille d'entraînement (fig. 2 c) de la table thermostatique (fig. 2 d), subit un mouvement d'oscillation périodique autour de son axe vertical. Chaque oscillation, d'une amplitude de 4°45', dure 9 secondes, y compris un arrêt de 1 seconde à chaque extrémité.

Dans le liquide coagulable, on immerge un cylindre explorateur (fig. 2 e) de 6 mm de diamètre, également en acier poli et parfaitement centré par rapport à la cuve. Ce cylindre est suspendu à un fil de torsion (fig. 2 f), aux normes mécaniques rigoureusement définies, lequel porte un petit miroir concave (fig. 2 g) susceptible de réfléchir un faisceau lumineux par un montage optique approprié, à la fois sur une échelle millimétrique apparente et sur un papier photographique qu'un kymographe déroule à la vitesse constante de 2 mm par minute.

Tant que le liquide de la cuve reste fluide, le moment d'inertie du fil de torsion est suffisant pour que les oscillations de la cuve ne soient pas transmises au cylindre explorateur : miroir et spot lumineux restent donc immobiles et sur le papier photographique s'inscrit une ligne droite.

Dès qu'une structure solide apparaît dans le liquide, elle crée une solidarité croissante entre les parois de la cuve et le cylindre,

ce dernier étant alors entraîné dans le même mouvement d'oscillation. Miroir et spot lumineux commencent à se déplacer, balayant l'échelle et le papier photosensible avec une amplitude qui est fonction des propriétés mécaniques propres du coagulum en voie de formation et d'évolution. L'intensité de la lumière et la sensibilité de l'émulsion sont calculées pour que le papier soit uniquement impressionné aux extrémités du déplacement, c'est-à-dire pendant l'arrêt de 1 seconde du mouvement oscillatoire. La ligne, droite et unique au début du phénomène, se dédouble progressivement en deux lignes courbes qui s'écartent de plus en plus et dont l'espacement est fonction des propriétés mécaniques du caillot. Le diagramme prend généralement une silhouette en diapason (fig. 3) dont l'allure renseigne à première vue sur l'aptitude

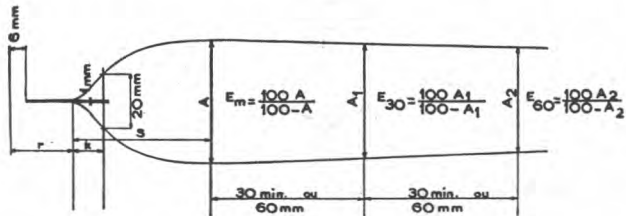


Fig. 3. — Thrombodynamogramme type avec ses principaux paramètres. (Explications dans le texte.)

à la coagulation du liquide étudié. Par exemple, en ce qui concerne le sang humain, une courbe anormalement large et évasée exprimera une aptitude à la thrombose, alors qu'un tracé aigu en « flûte de champagne » marquera une tendance à l'hémophilie (fig. 4).

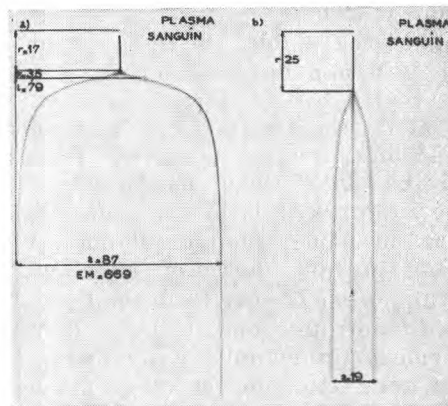


Fig. 4. — Thrombodynamogrammes de deux plasmas humains. a) Plasma hypercoagulable ; b) Plasma hypocoagulable.

Ainsi, de façon automatique, précise et parfaitement reproductible, on obtient une expression graphique du temps de coagulation et des propriétés dynamiques du coagulum.

Chaque appareil comporte trois unités de mesure (fig. 5) semblables à celle qui vient d'être décrite, de sorte que trois essais peuvent être enregistrés simultanément.

Chaque courbe obtenue est caractérisée par un certain nombre de paramètres thrombodynamographiques.

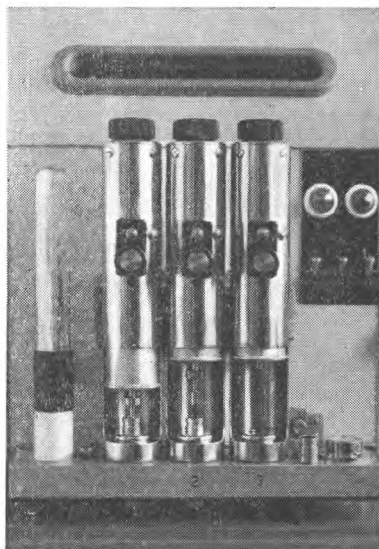


Fig. 5. — Thrombélastographe Hellige, type D.
Vue des trois unités mécaniques d'exploration.

II. — Paramètres thrombodynamographiques

Avec H. Hartert [1], G. Marchal, M.E. Leroux et M. Samama [2], nous distinguerons les paramètres de coagulation et les paramètres de rétraction (fig. 3).

A. — Paramètres de coagulation

En coagulation sanguine, un certain nombre de paramètres principaux semblent universellement adoptés. Ils peuvent présenter un intérêt analogue en laiterie.

1) Paramètre « r »

C'est un paramètre longitudinal, donc chronométrique, qui mesure en millimètres la longueur de la partie rectiligne du tracé,

jusqu'à l'endroit où son dédoublement atteint un écart transversal conventionnel de 1 mm, longueur qui doit être augmentée à son origine d'un nombre de millimètres double du nombre de minutes écoulées depuis la mise en route du phénomène (addition de présure par exemple) jusqu'à son enregistrement effectif.

Comme le papier se déroule à raison de 2 mm par minute, la valeur $r/2$ exprime en minutes le temps écoulé depuis l'addition de l'agent coagulant jusqu'à l'instant où apparaissent dans le liquide des structures suffisantes pour vaincre l'inertie du fil de torsion.

2) Paramètre « k »

Egalement chronométrique, il est arbitrairement défini comme étant la distance mesurée en millimètres entre la fin de « r » et l'axe transversal du tracé sur lequel l'écartement des deux branches atteint 20 mm.

Ce paramètre est en quelque sorte une expression de la vitesse avec laquelle le coagulum atteint une consistance donnée. Si celui-ci se forme rapidement, « k » sera faible ; si, en revanche, il n'évolue qu'avec lenteur, « k » sera très grand.

3) Paramètre « r + k »

Somme arithmétique des deux précédents, il est l'expression du temps global nécessaire à l'obtention d'un caillot à propriétés mécaniques définies. On peut le considérer comme une certaine forme du temps de coagulation.

4) Paramètres « Am » et « Em »

« Am » correspond à la mesure en millimètres de l'écartement maximum des deux branches de la courbe. C'est donc l'expression numérique de l'amplitude maxima de l'oscillation du cylindre et, en conséquence, une fonction directe des propriétés dynamiques maxima du coagulum.

Hartert a donné de ces mêmes propriétés une autre expression plus sensible dont la formule est :

$$E m = \frac{100 \text{ Am}}{100 - \text{Am}}$$

D'après lui, cette valeur rend compte de la relation mathématique idéale existant entre « Am » et la propriété mécanique maxima responsable de la transmission des oscillations de la cuve au cylindre explorateur.

5) Paramètre « S »

C'est la distance millimétrique de la fin de « r » à l'axe transversal « Am ». Sa demi-valeur représente le nombre de minutes écoulées depuis l'apparition des propriétés dynamiques du caillot jusqu'à l'instant où elles atteignent leur maximum.

b) Paramètres de rétraction

Au-delà de l'amplitude maxima, au bout d'un certain temps et dans certaines conditions, les deux branches du thrombodynamogramme peuvent progressivement converger. Sans entrer pour l'instant dans le détail des interprétations possibles de ce phénomène, on peut le considérer comme l'expression de la rétraction du coagulum.

Cette rétraction pourra être mesurée par des indices semi-horaires ou horaires de rétraction. Par exemple, l'indice semi-horaire « Ir_{30} » sera égal au rapport A_m/A_{30} , A_{30} étant l'amplitude mesurée 30 minutes après qu'ait été atteinte l'amplitude maxima.

III. — Adaptation du thrombélastographe au substrat lait

L'ingéniosité de la méthode thrombélastographique et la qualité des renseignements qu'elle fournit l'ont fait adopter dans la plupart des pays du monde pour l'étude de la coagulation sanguine, si bien qu'actuellement quelque 1 500 appareils fonctionnent dans tous les continents et que, périodiquement, se réunissent des colloques de thrombélastographie qui donnent aux différents utilisateurs l'occasion de confronter leurs résultats.

Ayant eu l'occasion de connaître les premiers appareils importés en France et d'en apprécier toutes les possibilités, nous avons pensé, par la suite, qu'aucune raison sérieuse ne devait s'opposer à leur utilisation en laiterie.

Les premiers essais, réalisés au début de 1963, montrèrent que la coagulation du lait par la présure donnait effectivement un thrombélastogramme analogue à celui du plasma sanguin, mais d'une amplitude beaucoup moindre, donc d'une sensibilité trop faible pour rendre compte de variations minimes. (fig. 6).

Des essais semblables avaient d'ailleurs déjà été entrepris dès 1953 par le professeur Schwarz de l'Institut de Technologie agricole de Hohenheim (Allemagne fédérale) (1), mais abandonnés par la suite en raison de l'insuffisance des résultats obtenus.

Nous avons cependant pensé que le manque d'amplitude observé ne devait pas être un obstacle insurmontable. Dès décembre 1963, nous avons demandé au constructeur de l'appareil une modification du modèle commercial pour en accroître la sensibilité en agissant sur le fil de torsion. Après les inévitables délais dus aux difficultés techniques d'une telle opération (2), nous disposons actuellement

(1) Communication orale de la Société Hellige.

(2) Nous tenons à remercier très vivement M. Ch. HAASER, de Hellige-France pour la remarquable compréhension qu'il a toujours manifestée pour ce problème. Nous rendons également hommage à la Société Hellige de Fribourg et en particulier à M. le Docteur KRAUT, dont la haute compétence a rendu possible une modification de l'appareil dans le sens désiré.



Fig. 6. — Thrombodynamogrammes d'un même lait de vache écrémé, cru, coagulé par la présure. Courbes obtenues avec l'appareil non modifié.

d'un thrombélastographe modifié qui comporte une unité de mesure de sensibilité normale, une unité de sensibilité accrue et une troisième unité plus sensible encore que la précédente. La figure 7 illustre de façon très expressive ces différences de sensi-

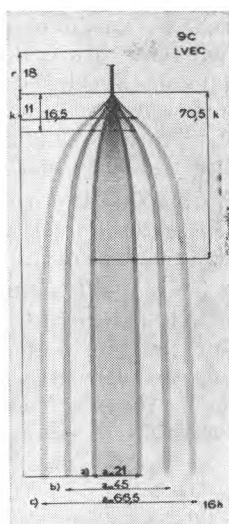


Fig. 7. — Thrombodynamogrammes d'un même lait de vache écrémé, cru, coagulé par la présure. Courbes obtenues avec l'appareil modifié. a) Sensibilité normale ; b) Sensibilité intermédiaire ; c) haute sensibilité.

bilité en superposant les trois thrombodynamogrammes obtenus à partir d'un même lait de vache, cru, écrémé, emprésuré et lu par les trois unités de mesure de notre appareil. En fin de tracé, l'amplitude de la courbe intermédiaire est 2,14 fois celle de la courbe la plus étroite. Celle de la courbe la plus large correspond à 3,16 fois celle de la courbe étroite. On notera que les « K » sont également très différents.

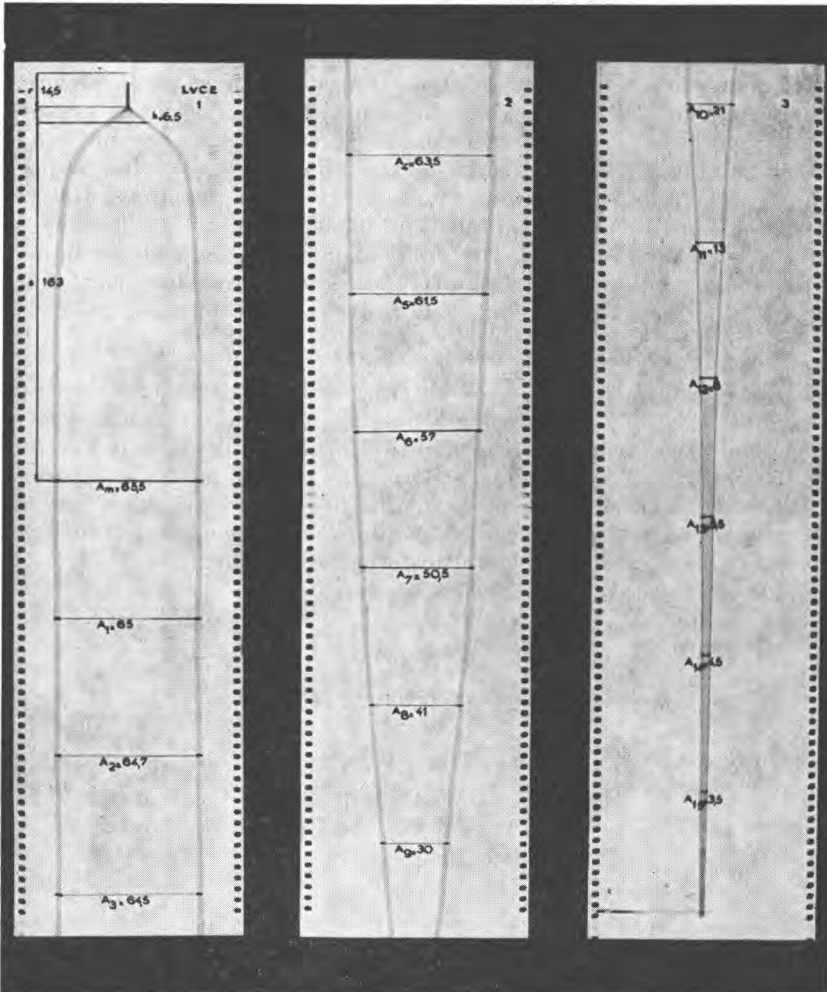


Fig. 8. — Thrombodynamogramme-type d'une coagulation par la présure. Lait de vache cru, écrémé, 18°5 Dornic ; 1 ml de présure 1/1000 + 100 ml de lait ; $t^{\circ} = 37^{\circ}$. (En raison de la longueur, le tracé a été fragmenté en trois parties.)

IV. — Premiers résultats

A. — Mode opératoire

Nous ne reprendrons pas en détail la mise en route d'un examen thrombélastographique amplement décrite dans les travaux de H. Hartert [1], dans la notice d'emploi qui accompagne les appareils et dans l'excellent ouvrage trilingue de G. Marchal, M.E. Leroux et M. Samama [2].

Mentionnons simplement que si, pour l'étude de la coagulation du plasma humain, matériel relativement rare et précieux, l'addition de l'agent coagulant se fait en général dans la cuve, ce souci d'économie n'est plus justifié dans le cas du lait et de la présure. Bien qu'ayant fait des essais réussis en ajoutant 0,06 ml de présure à 0,30 ml de lait directement dans la cuve, nous pensons qu'il est plus simple et plus précis de travailler sur des volumes plus importants (par exemple en ajoutant 1 ml de présure à 100 ml de lait), quitte à prélever ensuite 0,35 ml du mélange pour le transférer dans l'appareil. Une fois en place, ce mélange est immédiatement recouvert de 4 gouttes d'huile de vaseline (fig. 2 h), ce qui le met à l'abri de l'air et de toute évaporation.

B. — Thrombodynamogramme-type d'une coagulation par la présure

Le tracé de la figure 8 a été obtenu par l'enregistrement continu, pendant 9 h 26', de la coagulation d'un lait de vache de petit mélange, cru, écrémé, d'une acidité Dornic de 18^o5, sous l'action de la présure. A cet effet, 1 ml de présure au millième (présure concentrée Hauser diluée à l'eau distillée) a été ajouté à 100 ml de lait au bain-marie à 37°, et 0,35 ml du mélange ont été transférés dans l'unité la plus sensible du thrombélastographe.

Les paramètres mesurés sont les suivants :

$$\begin{array}{lll} r = 14,5 \text{ mm} & k = 6,5 \text{ mm} & r + k = 20,5 \text{ mm} \\ S = 169,5 \text{ mm} & A_m = 65,5 \text{ mm} & E_m = 189 \end{array}$$

INDICES SEMI-HORAIRES DE RÉTRACTION

<i>Temps en heure depuis Am</i>	<i>Ir</i>	<i>Temps en heure depuis Am</i>	<i>Ir</i>
1/2	1,0077	4	1,597
1	1,0123	4 1/2	2,183
1 1/2	1,0155	5	3,119
2	1,031	5 1/2	5,038
2 1/2	1,065	6	8,187
3	1,149	6 1/2	11,909
3 1/2	1,297	7	14,555
		7 1/2	18,714

Traduits en langage concret, ces chiffres signifient que, dans les conditions expérimentales choisies :

— la première modification des propriétés physiques perçues par l'appareil (début de la coagulation) est intervenue 7'30" (soit $r/2$) après l'emprésurage ;

— l'évolution des propriétés mécaniques du coagulum a été rapide puisque 3'3" (soit $k/2$) plus tard une amplitude de 20 mm est déjà atteinte (ou encore 10'30" après l'emprésurage, soit $\frac{r+k}{2}$) ;

— ces propriétés mécaniques atteignent leur maximum 80'45" (soit $S/2$) après leur apparition (fin de r) ;

— elles diminuent ensuite de façon presque imperceptible pendant environ 2 heures, puis de plus en plus rapidement pour devenir presque nulles 7 h 30' après Am, ou environ 9 heures après l'emprésurage.

Dans son ensemble, le thrombodynamogramme d'une coagulation de lait de vache cru, écrémé, à 37°, présente donc une silhouette « en carotte » très allongée.

L'examen attentif des bords de la courbe montre deux particularités qui la différencient d'un thrombodynamogramme sanguin. D'une part, ces bords sont formés par une bande large de plus de 2 mm alors que pour le sang ils mesurent à peine 0,5 mm. et sont constitués uniquement par le spot à l'arrêt ; d'autre part, cette bande est ondulée suivant une périodicité régulière alors que dans la coagulation sanguine le tracé est pratiquement rectiligne. (Voir fig. 4).

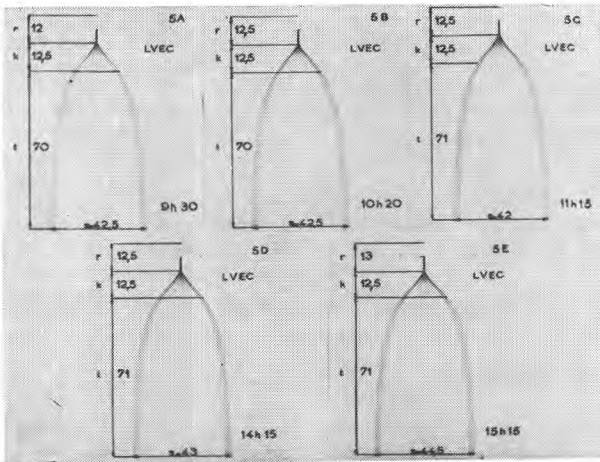


Fig. 9. — Essai de reproductibilité : 5 thrombodynamogrammes partiels d'un même lait de vache cru, écrémé, coagulé par la présure dans une même journée.

C. — *Reproductibilité des résultats*

La figure 9 reproduit les 5 thrombodynamogrammes partiels obtenus avec un même lait de vache cru, écrémé, dans le courant d'une même journée, après addition de 4 ml de présure au 1/200^e (2 ml de présure Hauser au 1/10 000^e + 98 ml d'eau distillée) à 20 ml de lait à 37°.

La comparaison des paramètres respectifs montre que leur reproductibilité est très satisfaisante malgré l'évolution de l'acidité que le lait a pu subir au fil des heures.

r ne varie que d'un millimètre, ce qui correspond à 30'' seulement dans l'appréciation du temps de coagulation.

k reste absolument inchangé.

L'amplitude atteinte en fin de tracé, et qui n'est pas ici l'amplitude maxima, est également bien reproductible.

D. — *Comparaison de laits différemment traités*

La figure 10 reproduit les thrombodynamogrammes partiels d'un même lait de vache cru avant (6 B) et après (6 A) écrémage, coagulé par la présure.

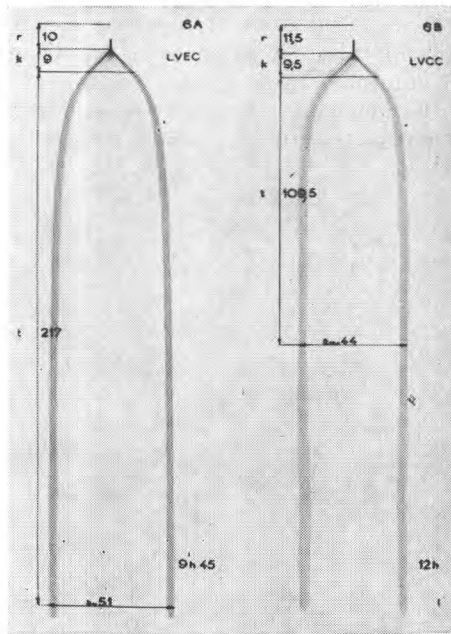


Fig. 10. — Thrombodynamogrammes partiels d'un même lait de vache cru avant (6B) et après (6A) écrémage, coagulé par la présure.

de ce lait ont été emprésurés à 37° avec 4 ml de présure au 1/100^e (1 ml de présure Hauser au 1/10 000^e + 99 ml d'eau distillée).

On notera que r et k sont légèrement plus longs pour le lait complet qui coagule donc un peu plus tardivement et qui atteint une amplitude maxima au bout de 65'30" après emprésurage, alors qu'avec le lait écrémé les mêmes propriétés mécaniques du caillé sont déjà atteintes au bout de 28', puis largement dépassées ($A = 51$). On constate également que le coagulum du lait complet subit déjà un début de rétraction à un moment où celui du lait écrémé est loin d'avoir atteint sa consistance maxima.

La figure 11 présente les courbes obtenues avec les deux mêmes laits que précédemment dans les mêmes conditions d'emprésu-

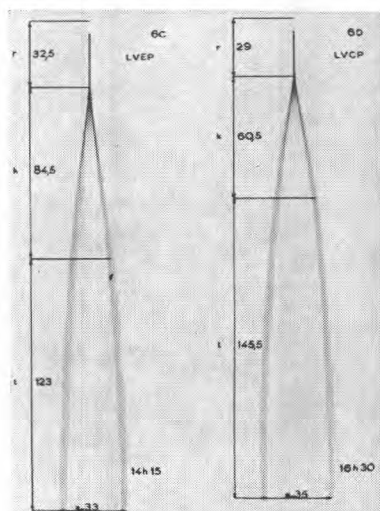


Fig. 11. — Thrombodynamogrammes partiels des laits de la figure 10 après pasteurisation à 90°.

rage, mais après pasteurisation à 90°. Les différences sont flagrantes et illustrent de façon concrète et mesurable l'action du traitement thermique sur ces laits : le début de la coagulation est fortement retardé, les propriétés mécaniques du caillé évoluent beaucoup moins vite et leur maximum est nettement affaibli dans les conditions de temps considérées.

Sous réserve de vérifications ultérieures, il semble aussi que le lait complet soit moins sensible à cette action de la chaleur que le lait écrémé.

E. — *Thrombodynamographie d'une coagulation lactique*

Elle a été réalisée en sensibilité intermédiaire sur un lait écrémé pasteurisé, ensemencé à 1 p. 100 par des ferments lactiques à 20°. La platine thermostatique de l'appareil ayant été débranchée,

tout l'enregistrement s'est effectué à la température ambiante maintenue aux environs de 20°. Il a été poursuivi pendant 21 h 45'.

La courbe, qui mesure plus de 2,50 m de long, ne peut être reproduite sous forme de figure qu'après segmentation (fig. 12).

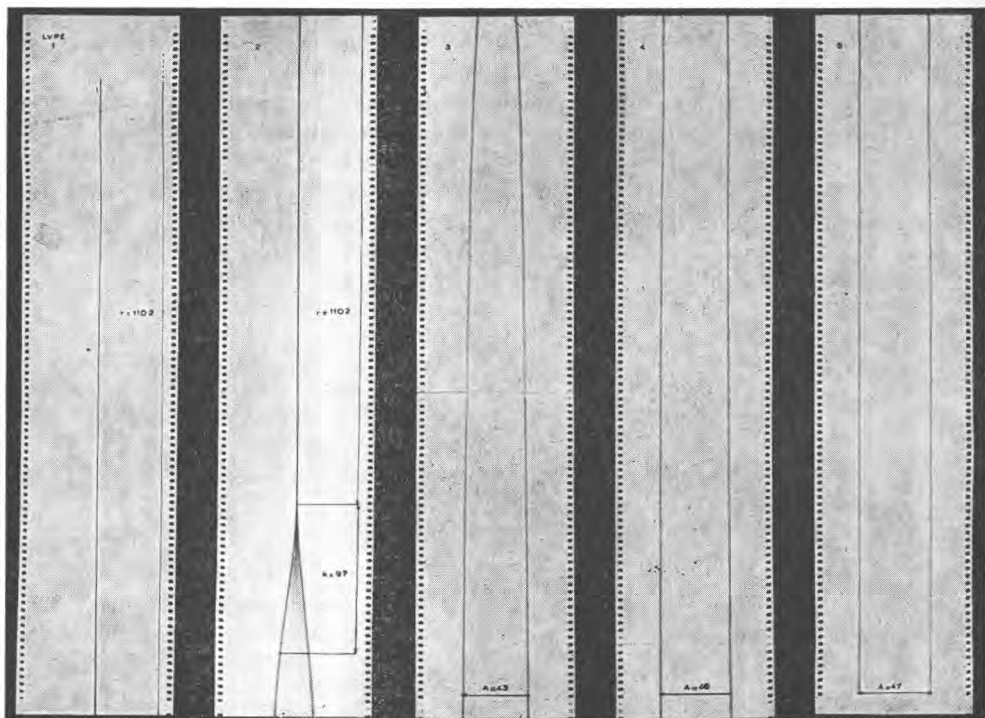


Fig. 12. — Thrombodynamogramme d'une coagulation lactique. Lait de vache écrémé, pasteurisé, ensemencé à 1% par ferments lactiques à 20° (sensibilité intermédiaire).

Ses caractéristiques essentielles sont les suivantes : la coagulation a débuté 9 h 11' après l'ensemencement ($r = 1\ 102$) avec un $k = 97$; le début de la courbe a la forme en « flûte de champagne » propre au lait pasteurisé et elle ne s'évase que très progressivement, atteignant en fin d'expérience une amplitude de 47 mm (qui serait sans doute de 69 mm en haute sensibilité). A cet instant, aucun signe de rétraction n'est encore perceptible, ce qui n'autorise cependant pas une comparaison avec les coagulations - présure précédentes, la température n'ayant pas été la même.

Il est intéressant aussi de noter que les bords du tracé ne présentent plus les ondulations périodiques signalées plus haut et que la largeur des bandes est nettement moindre : 1,5 mm environ.

F. — *Thrombodynamographie d'une coagulation mixte présure-ferments*

Cet essai s'est révélé particulièrement intéressant par les renseignements qu'il a fournis.

100 l de lait écrémé pasteurisé, ont été emprésurés avec 5 ml de présure concentrée Hauser (1/10 000) et 1 l de ferments lactiques à 20°. La coagulation d'un échantillon du mélange a été suivie au thrombélastographe à sensibilité intermédiaire, à une température voisine de 20° pendant 16 h 15'.

Le thrombodynamogramme obtenu révèle (fig. 13) :

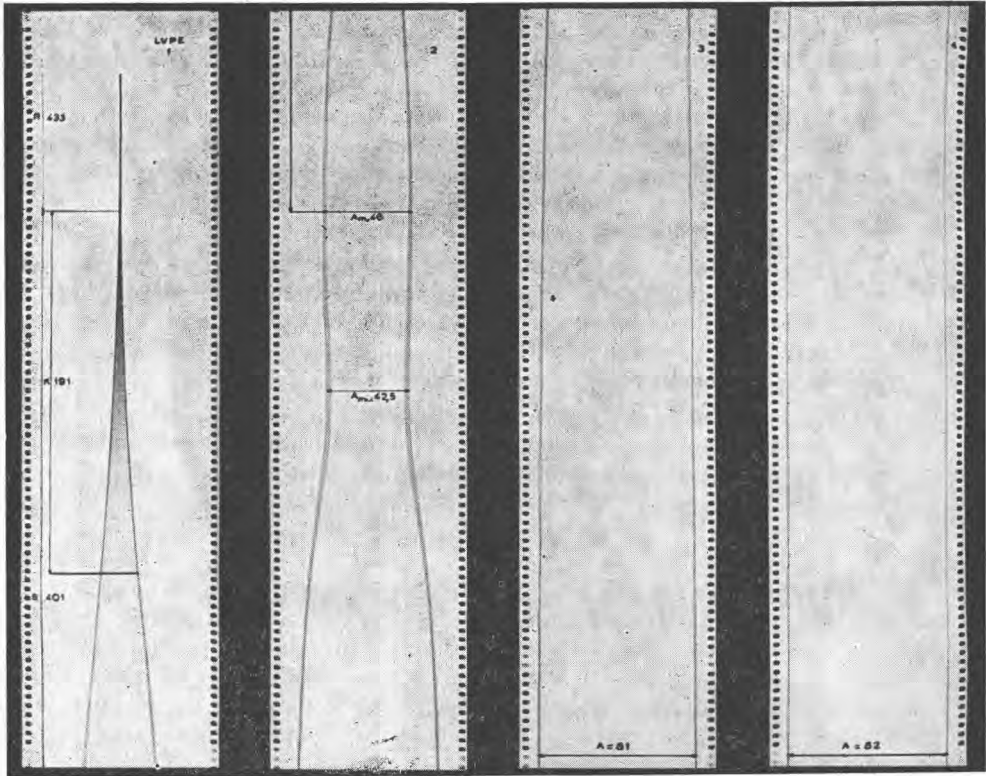


Fig. 13. — Thrombodynamogramme d'une coagulation mixte présure-ferments. 100 litres de lait de vache écrémé pasteurisé + 5 ml de présure au 1/10 000^e + 1 litre de ferments lactiques à 20° (sensibilité intermédiaire).

— que la coagulation a commencé 3 h 36' 30'' après l'ensemencement ($r = 433$) ;

— qu'elle s'est ensuite développée très progressivement pour atteindre une amplitude de 20 mm en 1 h 35' 30'' ($k = 191$) et une première amplitude maxima de 46 mm en 3 h 20' 30'' ($S = 401$).

— qu'à partir de cet instant a commencé une légère rétraction jusqu'à une amplitude minima de 42,5 mm atteinte 47' 30'' plus tard ;

— qu'ensuite l'amplitude de la courbe s'est de nouveau accrue progressivement pour atteindre la valeur de 81 mm en fin d'expérience sans qu'aucune rétraction ne soit amorcée à ce stade.

L'interprétation d'une telle courbe est apparemment la suivante : environ 3 h 30' après la préparation du mélange s'est déclenchée la coagulation-présure avec sa silhouette habituelle en « flûte de champagne » caractéristique du lait pasteurisé ; ce caillé-présure a atteint ses propriétés mécaniques maxima 3 h 20' plus tard, puis il a commencé sa rétraction ; 47' 30'' plus tard, soit 7 h 44' 30'' après le début de l'essai, les ferments lactiques sont entrés en jeu, ont d'abord compensé la rétraction du caillé-présure pour augmenter ensuite ses propriétés mécaniques bien au-delà de leur valeur première et sans laisser place à aucune rétraction spontanée dans les délais de l'expérience.

Il est intéressant aussi de noter que les bords de la courbe, qui s'inscrivaient sous forme de bandes larges de plus de 2 mm pendant la coagulation-présure, se rétrécissent rapidement à 1 mm après l'intervention des ferments lactiques, ce qui est une autre indication de propriétés très différentes pour les deux types de caillé.

De la sorte, et pour la première fois, la thrombodynamographie a permis de dissocier de façon visuelle et mesurable la succession de deux phases distinctes dans la formation d'un caillé mixte.

V. — Discussion

L'adoption, pour ces essais préliminaires, des principaux paramètres usuels en coagulation sanguine, n'a rien de définitif ni d'irréversible. Une fois que sera mieux connu le comportement thrombélastographique du lait, il n'est pas exclu que l'on soit amené à abandonner certains de ces paramètres pour en définir d'autres qui exprimeraient des caractéristiques plus importantes pour la coagulation du lait.

Il est probable cependant que le paramètre « r » se maintiendra dans sa définition actuelle. Certes, on pourra discuter pour savoir s'il s'agit d'un temps de floculation ou d'un temps de coagulation. C'est là question de convention car nous pensons qu'en fait il ne s'agit ni de l'un, ni de l'autre, au sens habituel des termes, mais plutôt d'une valeur propre inhérente à la sensibilité de l'appareil comme l'acuité visuelle ou tactile l'est au fromager, valeur qui mesure simplement le temps nécessaire pour que s'installe dans

la phase liquide une structure solide, créant entre la cuve et le cylindre explorateur une solidarité suffisante pour vaincre l'inertie du fil de torsion.

Le paramètre « k » pourra, au contraire, être sujet à révision. L'amplitude de 20 mm qui sert à le définir est naturellement arbitraire et dépend de la sensibilité de l'unité de mesure. Il devra donc être défini pour chaque sensibilité et en fonction de l'amplitude maxima atteinte avec l'unité de mesure correspondante dans le cas d'un lait normal.

L'interprétation physique de A_m , c'est-à-dire de l'amplitude maxima, est un point délicat et discuté qui méritera une étude approfondie. Le sujet a déjà été vivement controversé dans le domaine de la coagulation sanguine. Au début, la propriété physique maxima du coagulum, exprimée par A_m , a été assimilée à son élasticité. Or, il est évident que cela ne peut être le cas, puisque cette élasticité, c'est-à-dire l'aptitude à un allongement réversible de la structure fibreuse ou réticulée du caillot, devrait au contraire atténuer la solidarité entre cuve et cylindre, donc abaisser l'amplitude des oscillations du fil de torsion. En d'autres termes, plus le caillot serait élastique, moins il devrait entraîner le cylindre. Il a donc fallu réviser cette notion et M. Leroux [3] a proposé une théorie valable du comportement thrombélastographique d'un coagulum. Selon lui, les concepts physiques rigoureux d'élasticité, de résistance mécanique ou de solidité qui ne s'appliquent déjà que de façon approximative aux solides homogènes et isotropes, ne peuvent plus servir à interpréter le comportement de la structure tridimensionnelle complexe, hétérogène et anisotrope qu'est un caillot. Un tel caillot doit plutôt être considéré comme un ensemble physique en évolution continue qui fournit un certain travail (l'entraînement du cylindre) dont l'intensité est une fonction inverse de ses propres capacités de déformation, capacités qui sont, à leur tour, liées à la structure réticulée en voie de transformation. Du point de vue physique, l'amplitude du thrombodynamogramme serait donc, toujours d'après M. Leroux, une fonction directe de l'aptitude du caillot à accomplir un certain travail et la courbe enregistrée par l'appareil ne serait autre chose que l'expression graphique de l'évolution de cette aptitude.

Quoi qu'il en soit et quelle que soit l'interprétation théorique définitive qui sera adoptée, on peut dire, en termes simples, et sans grand risque d'erreur, que l'amplitude thrombodynamographique est une fonction directe des propriétés mécaniques du coagulum.

Sous ce rapport, il est intéressant de noter aussi que dès les premiers essais il s'est avéré qu'un coagulum de caséine était très différent d'un coagulum de fibrine. Cette différence est matérialisée d'une part par l'amplitude beaucoup moindre dans le cas

d'un caillé lactique et, d'autre part, par l'élargissement de la bande qui constitue les deux bords de la courbe. De la première constatation, il découle qu'un caillé-présure de lait a des propriétés mécaniques beaucoup moins prononcées qu'un caillot sanguin. Un caillé de lait est certainement moins consistant, plus déformable, plus élastique que celui du sang. La deuxième constatation reste, pour l'instant, difficile à interpréter. Dans le thrombodynamogramme d'un plasma, les deux branches de la courbe en diapason sont formées par une succession de traits individuels qui correspondent à l'impression du papier photographique par le spot lumineux chaque fois que celui-ci arrive en fin d'oscillation et s'arrête pendant une seconde, comme le veut la programmation mécanique du système. Ces traits sont fort courts et mesurent moins de 1 mm. Il n'en est plus de même dans le cas d'un thrombodynamogramme d'une coagulation-présure d'un lait. Les traits latéraux sont ici beaucoup plus longs et peuvent atteindre jusqu'à 2 mm, de sorte que les bras de la courbe deviennent de véritables rubans dont la genèse est facilement saisie lors de l'observation visuelle du spot lumineux sur l'échelle millimétrique. Après son arrêt normal, le spot « traîne » encore un certain temps en bordure, puis semble soudain se « décoller » pour reprendre une vitesse normale et rejoindre l'autre extrême de son oscillation où le même phénomène se reproduit. Pour l'instant, aucune interprétation satisfaisante ne peut encore être donnée de ce phénomène qui est d'autant plus curieux qu'il semble surtout caractéristique d'un caillé-présure, alors qu'il disparaît ou s'atténue au cours de la phase lactique d'une coagulation mixte présure-ferments.

Une autre observation intéressante concerne l'aspect légèrement ondulé des branches d'un thrombodynamogramme de lait emprésuré à 37°. Ces ondulations n'existent pas dans le cas d'une coagulation sanguine. Nous avons pu montrer très facilement que cet aspect particulier du tracé était lié au « battement thermostatique » de la platine chauffante. Cette variation est de quelques dixièmes de degré centigrade. Il suffit en effet de débrancher le système de chauffage de la platine pour que les ondulations disparaissent et que le tracé devienne rectiligne. Ceci prouve que les propriétés mécaniques d'un coagulum de caséine sont, dans certaines conditions, très sensibles aux variations de température alors que cela n'est pas le cas pour un caillot de fibrine.

Ajoutons enfin que, parmi les paramètres thrombodynamographiques usuels, l'indice de rétraction aura certainement une importance particulière dans le domaine fromager car il pourra donner des indications sur une plus ou moins grande aptitude à l'exsudation du sérum. Des essais en cours montrent déjà d'une façon saisissante l'influence de la température et de l'acidité sur cet indice de rétraction.

VI. — Conclusion

Les quelques résultats qui viennent d'être décrits montrent de façon évidente que la thrombélastographie est parfaitement applicable à l'étude de la coagulation du lait et qu'elle apporte enfin une méthode précise et objective pour étudier le déroulement physique du phénomène.

Lors de la rédaction de ces lignes, nous avons pris connaissance d'essais analogues effectués indépendamment par J. Jacquet et Mlle Marçais [4] à l'aide d'un thrombélastographe non modifié. Les auteurs soulignent, eux aussi, l'intérêt de la méthode, mais concluent que le thrombélastographe de Hartert n'est pas du tout adapté à des recherches sur la coagulation du lait. Ils souhaitent l'élaboration d'un appareil de conception différente.

Nous ne partageons pas cet avis. Nous pensons avoir montré qu'après une simple augmentation de sa sensibilité, l'appareil classique donne d'excellents résultats. Le fait qu'il permette de travailler sur des quantités minimales de produit ne doit pas être considéré comme un défaut, mais plutôt comme une preuve de sa remarquable sensibilité et de sa précision. L'examen au microscope de n'importe quelle lame bactériologique n'est-il pas, lui aussi, une observation sur de faibles quantités ?

D'autre part, l'argument d'une « température d'incubation irrémédiablement fixée à 37° » est de peu de poids puisque le constructeur a toujours proposé, sur demande, une platine à température réglable. Par ailleurs, il est très facile d'installer soi-même, comme nous l'avons fait, un tel dispositif de réglage sur la platine d'origine.

A notre avis, un thrombélastographe de recherche devra être équipé de trois unités de mesure de sensibilités différentes, comme cela est le cas pour celui dont nous disposons. La sensibilité la plus élevée permet d'étudier avec finesse la coagulation-présure d'un lait normal, ainsi que tous les facteurs qui peuvent abaisser les propriétés mécaniques du coagulum. La sensibilité intermédiaire est nécessaire pour l'analyse des caillés mixtes et des facteurs qui n'amplifient que moyennement l'amplitude. La sensibilité faible (celle de l'appareil standard) peut être conservée pour mettre en évidence les facteurs qui augmentent considérablement les propriétés coagulantes du lait : addition de calcium, de magnésium, etc.

En conclusion, les premiers essais réalisés nous paraissent des plus encourageants. Ils ne doivent être considérés que comme les premiers pas d'un travail de longue haleine qui permettra d'analyser l'incidence de tous les facteurs qui interviennent dans l'élaboration d'un caillé de fromagerie avec l'espoir d'en contrôler un jour, de façon plus scientifique, la formation.

Summary

Hartet's thrombelastograph proves — after an increase of its sensitiveness — to be perfectly adapted to an precise physical study of milk clotting. The first experiments proved the reproducibility of results and their validity for the investigation of rennet-clotting, of lactic clotting and of mixt-coagulation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] H. HARTERT. — Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. *Klin. Wochenschr.*, 1948, **26**, 577-583.
- [2] G. MARCHAL, M. E. LEROUX, M. SAMAMA. — Atlas de thrombodynamographie. Ed. : Service de Propagande, Edition, Information, Paris, 1962.
- [3] M. E. LEROUX. — La thrombélastographie (thrombodynamographie). Etudes théoriques, techniques, expérimentales et cliniques sur la thrombélastographie et sur quelques problèmes connexes liés à la biologie de la coagulation sanguine. Thèse Doc. Médecine, Paris, 1957, 407 p. (impr.).
- [4] J. JACQUET, Mlle MARCAIS. — Enregistrement graphique de la coagulation du lait. *C. R. Acad. Agric. France*, 1964, **50**, n° 17, 1272-1280 ;
M^{lle} MARCAIS. — Emploi de la thrombélastographie pour l'étude de la coagulation du lait. *Le Lait*, 1965, 241.

Ecole de Laiterie de Nancy,
Directeur : A. Veillet.