



HAL
open science

Le fonctionnement du lactarium Rhône-Alpes : influence de la pasteurisation sur la teneur en vitamines

Pierre-Yves Bret

► To cite this version:

Pierre-Yves Bret. Le fonctionnement du lactarium Rhône-Alpes : influence de la pasteurisation sur la teneur en vitamines. Sciences pharmaceutiques. 1989. dumas-01627029

HAL Id: dumas-01627029

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01627029>

Submitted on 31 Oct 2017

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.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

1^{er} exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE: 1989

N° D'ORDRE 7043

LE FONCTIONNEMENT DU LACTARIUM RHONE-ALPES

INFLUENCE DE LA PASTEURISATION SUR LA TENEUR EN VITAMINES

THESE

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I

pour obtenir le grade de : **DOCTEUR EN PHARMACIE.**

par **Monsieur BRET Pierre-Yves**

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 27 Novembre 1989

Devant Mlle le Professeur J. ALARY, Président du Jury

et

Mme A. RAVEL, Maître de Conférences

Mme C. CHARPENTIER, Pharmacien



ERRATUM

Corriger:

- p. 75 paru (t)
p. 87 dessiccation
p. 100 RESULTATS
p. 108 permis
p. 43 tryptophane

Lire:

- p. 41 nourries (nutries)
p. 43 Cystéine = Acide aminé essentiel
Tyrosine = Acide aminé essentiel
p. 46 activée (inactivée)
p. 70 (microgrammes par litre)
p. 78 dans 100 ml (d'eau distillée) de solution d'acide
métaphosphorique à 3%.
p. 95 sont significativement différentes. (comparables.)

Ajouter:

- p. 78 (soit 5 µg/ml). La totalité de la solution est ensuite
traitée par un gramme de norite pendant 5 minutes.
p. 80 0-1-2-3-4-5 µg/ml d'acide ascorbique.

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE :

N° D'ORDRE :

LE FONCTIONNEMENT DU LACTARIUM RHONE-ALPES

INFLUENCE DE LA PASTEURISATION SUR LA TENEUR EN VITAMINES



THESE

115 005480 5

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I

pour obtenir le grade de : **DOCTEUR EN PHARMACIE.**

par **Monsieur BRET Pierre-Yves**

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le 27 Novembre 1989

Devant Mlle le Professeur J. ALARY, Président du Jury

et

Mme A. RAVEL, Maître de Conférences

Mme C. CHARPENTIER, Pharmacien

A mon épouse, Nathalie.

A notre Président de Thèse,
Mademoiselle le Professeur J. ALARY,

Qu'à travers ce travail, elle soit remerciée
pour son aide, sa gentillesse et ses compétences qu'elle
a su mettre à notre service.

A Madame A. RAVEL,

Pour son dévouement, sa patience et ses conseils.

A Madame C. CHARPENTIER,

Qui a accepté avec gentillesse de juger cette thèse.

A Monsieur le Professeur B. SALLE,

Nous le remercions d'avoir aimablement mis à notre disposition
tous les échantillons de lait maternel dont nous avons eu besoin.

A Madame FAGOT et toute l'équipe du lactarium de Lyon,

Pour l'accueil et le soutien qu'ils nous ont exprimés.

A Madame PAUGAM,

Ses explications nous ont été très utiles.

A mes parents,

A Louise,

A nos parrain et marraine,

A Céline, Nadège et leurs parents,

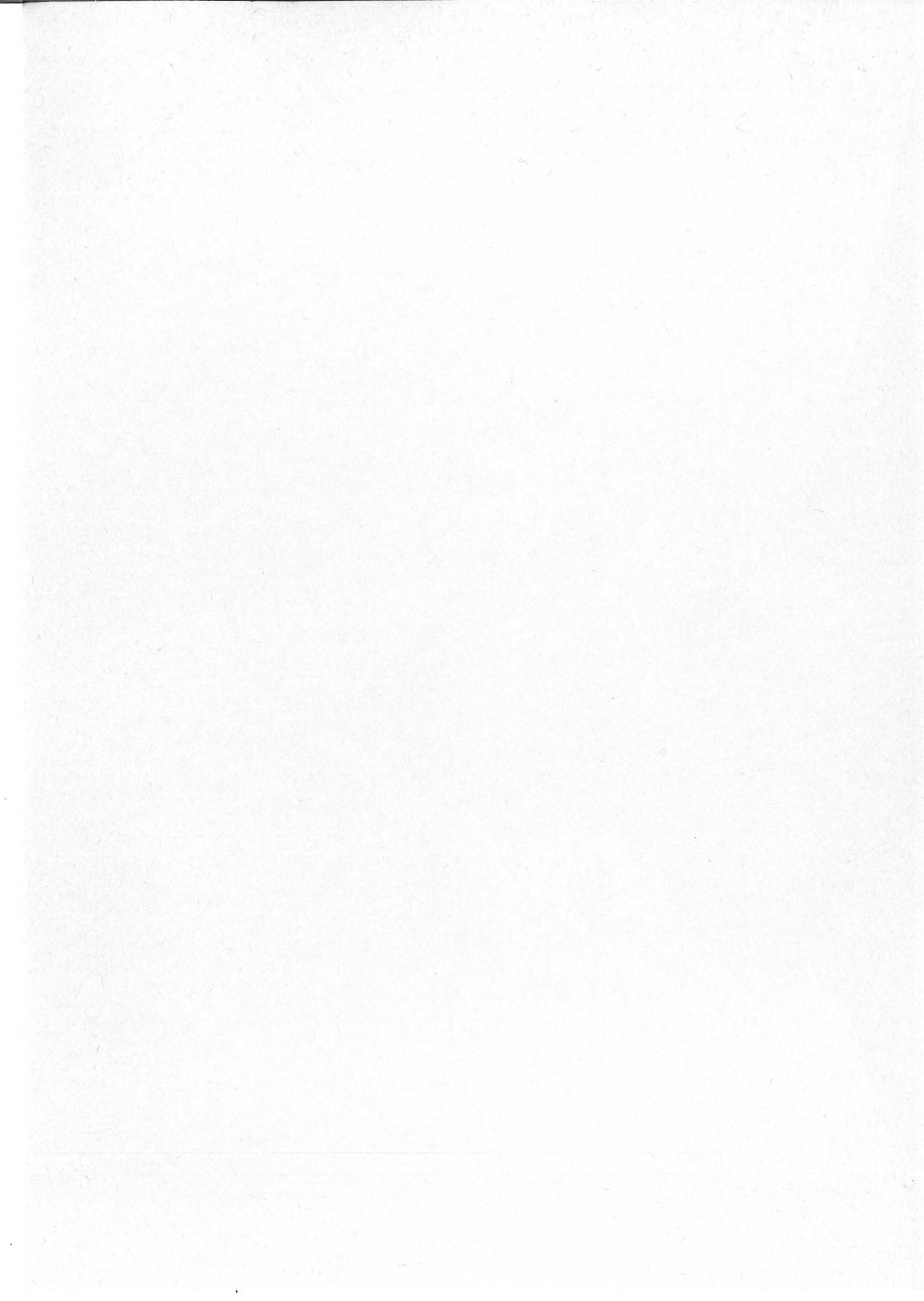
A Christophe et Caroline,

A notre oncle Henri,

A toute notre famille de Saint Cyprien,

A tous les membres de notre belle-famille,

Qu'ils reçoivent notre plus grand amour et nos sincères remerciements.



I- LE LACTARIUM DE LYON

I-1- <u>HISTORIQUE</u>	Page 15
I-2- <u>STATUTS</u>	16
I-2-1- <u>L'arrêté du 9 Août 1954</u>	16
I-2-2- <u>L'arrêté du 18 Août 1983</u>	17
I-3- <u>FONCTIONNEMENT DU LACTARIUM RHONE-ALPES</u>	17
I-3-1- <u>Le personnel</u>	17
I-3-2- <u>La collecte</u>	18
I-3-2-1- Recrutement et contrôle médical des donneuses.....	18
I-3-2-2- Visite chez la donneuse.....	19
I-3-3- <u>Le don du lait et les donneuses</u>	20
I-3-3-1- Evolution de 1952 à 1988.....	20
a/ Production annuelle de lait.....	20
- lait personnalisé	
- lait féminin	
b/ Nombre de donneuses par an.....	21
c/ Déductions.....	21
I-3-3-2- Facteurs humains et allaitement.....	21
a/ Age.....	21
b/ Durée du don.....	23
c/ Quantité du don.....	23
d/ Origine géoadministrative.....	23
I-3-3-3- Profil de la donneuse.....	24
I-3-4- <u>Le contrôle du lait</u>	24
I-3-4-1- La recherche de fraudes.....	24
a/ Fraude par addition de lait de vache.....	27
b/ Fraude par mouillage.....	27

I-3-4-2- Bactériologie.....	Page 28
a/ L'acidité titrable.....	28
b/ La numération des germes totaux.....	28
I-3-5- <u>La stérilisation du lait</u>	30
I-3-5-1- La tyndallisation.....	30
I-3-5-2- La pasteurisation haute.....	30
I-3-5-3- La pasteurisation basse.....	31
I-3-6- <u>Le stockage du lait féminin</u>	32
I-3-7- <u>La distribution</u>	32

II- COMPOSITION DU LAIT MATERNEL

II-1- <u>LES PROTIDES</u>	35
II-1-1- <u>Les caséines</u>	37
II-1-1-1- Le composé majeur: la β -caséine.....	37
II-1-1-2- Le composé mineur: l' α -caséine.....	37
II-1-1-3- Le 3ème composé: la caséine Kappa..	37
II-1-2- <u>Les protéines du lactosérum</u>	39
a/ Absence de bêta-lactoglobuline.....	39
b/ Richesse en alpha-lactalbumine.....	39
c/ Richesse en lactotransferrine.....	39
d/ Richesse en immunoglobulines.....	40
e/ Présence de quelques protéines.....	41
II-2- <u>LES ACIDES AMINES</u>	42
II-3- <u>LES ENZYMES</u>	44
II-3-1- <u>Le lysozyme ou N-acétylmuramidase</u>	44
II-3-2- <u>La lactoperoxydase</u>	44

II-3-3- <u>Les lipases</u>	Page 44
a/ La lipoprotéine lipase.....	46
b/ La lipase inactive.....	46
II-3-4- <u>La lactosynthétase</u>	46
II-4- <u>LES GLUCIDES</u>	47
II-4-1- <u>Le lactose</u>	47
II-4-2- <u>Les oligosaccharides du lait</u>	47
II-4-3- <u>Le facteur bifidus</u>	47
II-5- <u>LES LIPIDES</u>	48
II-5-1- <u>Les triglycérides dans le lait de femme selon <u>BRACCO-BAUER</u></u>	49
II-5-1-1- Les acides gras insaturés.....	49
II-5-1-2- Les acides gras saturés.....	51
II-5-2- <u>L'insaponifiable</u>	51
a/ Le cholestérol.....	51
b/ L'alpha-tocophérol.....	51
c/ Les caroténoïdes.....	51
II-6- <u>LES SELS MINERAUX ET LES OLIGOELEMENTS</u>	53
II-6-1- <u>Les sels minéraux</u>	53
II-6-2- <u>Les oligoéléments</u>	53
II-7- <u>LES HORMONES</u>	55
II-8- <u>LES CELLULES</u>	55

III- LES VITAMINES DU LAIT DE FEMME:
CONSERVATION AU COURS DE LA CONGELATION-
DECONGELATION

III-1- <u>LES VITAMINES HYDROSOLUBLES</u>	Page 58
III-1-1- <u>Vitamines du groupe B:</u>	58
* Vitamine B1 ou Thiamine ou Aneurine.....	58
* Vitamine B2 ou Riboflavine.....	61
* Vitamine B3 ou PP ou Niacine.....	62
* Vitamine B5 ou Acide Panthoténique.....	63
* Vitamine B6 ou Pyridoxine.....	63
* Vitamine B8 ou H ou Biotine.....	64
* Vitamine B9 ou Acide Folique.....	65
* Vitamine B12 ou Cobalamine.....	66
III-1-2- <u>Vitamine C ou Acide Ascorbique</u>	67
III-2- <u>LES VITAMINES LIPOSOLUBLES</u>	68
III-2-1- <u>Vitamine A ou Rétinol</u>	68
III-2-2- <u>Vitamines du groupe D:</u>	69
* Vitamine D2 ou Ergocalciférol.....	69
* Vitamine D3 ou Cholécalférol.....	69
III-2-3- <u>Vitamine E ou Tocophérol</u>	71
III-2-4- <u>Vitamine K1 ou Phytoménadione ou</u> <u>Phylloquinone</u>	72
III-3- <u>CONCLUSION</u>	73

IV- ETUDE DE LA TENEUR VITAMINIQUE
DU LAIT FEMININ AVANT ET APRES PASTEURISATION

IV-1- <u>PRESENTATION DES CONDITIONS D'EXPERIMENTATION</u>	Page 75
IV-2- <u>DOSAGE DES VITAMINES</u>	76
IV-2-1- <u>Vitamine C</u>	76
* Principe de la méthode	77
- Extraction de la vitamine C.....	77
- Dosage de la vitamine C.....	77
* Technique	78
- Gamme étalon.....	78
- Essais.....	80
- Témoins négatifs.....	81
* Critique du protocole utilisé	82
IV-2-2- <u>Les vitamines liposolubles</u>	82
* Description de la méthode	82
- Extraction éthéroacétique des matières grasses.....	82
- Dosage des vitamines A, D3 et E.....	85
* Calcul des résultats	86
* Critiques concernant la méthode	87
IV-3- <u>RESULTATS</u>	87
IV-3-1- <u>Vitamine C</u>	87
a/ Lecture des résultats	87
b/ Résultats et commentaires	90
c/ Conclusion sur le dosage de la vitamine C	95

IV-3-2- Vitamines liposolubles	Page 95
a/ Lecture des résultats	95
b/ Résultats et commentaires	98
c/ Conclusion sur les vitamines A et E	104

<u>V- CONCLUSION</u>	107
-----------------------------------	-----

<u>ANNEXES</u>	110
-----------------------------	-----

* Annexe 1.....	110
* Annexe 2.....	111
* Annexe 3.....	113
* Annexe 4.....	115
* Annexe 5.....	118
* Annexe 6.....	119

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	122
-----------------------------------	-----

I- LE LACTARIUM DE LYON

I-1- HISTORIQUE

Depuis plusieurs siècles, déjà, l'allaitement maternel a une valeur reconnue par tous. Ceci permettait aux mères qui ne pouvaient allaiter d'avoir recours à des nourrices afin que l'enfant ne soit pas nourri de lait animal dès les premiers jours de sa courte vie.

Notons quelques dates importantes telles que 1908 où MAYERHOFFER et PRIBAM pensèrent à recueillir le lait de femme dans les cliniques d'accouchement et 1910, année de création du premier lactarium du monde, le "Breast Milk Directory" grâce à TALBOT.

De 1924 à 1947 furent admises, à l'hôpital des Enfants Assistés de Paris, des femmes-mères dont l'excédent de lait, récupéré par simples massages manuels ou à l'aide d'un tire-lait, était administré aux nourrissons malades. Ainsi déboucha-t-on en 1947 sur la création du premier lactarium en France à l'institut de Puériculture de Paris par le professeur LELONG et Madame BERTRAND.

A l'heure actuelle, la France est dotée d'un réseau de 19 lactariums: ils recueillent plus de cent six mille litres de lait de femme par an et sont groupés au sein de l'Association des Lactariums de France* créée en 1981 par le professeur SATGE. Les buts de cette association sont les suivants:

- information et promotion de l'allaitement maternel,
- collecte de l'excédent en vue du don,
- analyses bactériologique, immunologique et biochimique de ce lait humain,

* A. L. D. F., 26 boulevard Brune, 75014 PARIS

- affinement des techniques de traitement de ce lait,
- centralisation des données sur la collecte et les besoins de chaque lactarium.

Bien que certains hôpitaux, ayant un service de néonatalogie et une maternité, récoltent du lait pour leur usage interne, il n'en reste pas moins que des lactariums aident les hôpitaux dans cette démarche et notamment en ce qui concerne le C. H. R. de Grenoble et son antenne située à la protection de l'enfance, reliée au lactarium de Lyon**, dont la création remonte à 1951 (Annexe 1).

Le don direct de lait maternel étant interdit par circulaire du ministère des affaires sociales et de l'emploi (20 Mars 1987) pour des raisons épidémiologiques, tous les laits maternels doivent être recueillis et analysés dans les lactariums de France avant leur redistribution.

I-2- STATUTS

Datant déjà du 9 Août 1954, les statuts ont été remaniés le 18 Août 1983 quant aux conditions d'installation et de fonctionnement à remplir par les lactariums (33,34).

I-2-1- L'Arrêté du 9 Août 1954 (Annexe 2)

Il précise:

- l'objet des lactariums,
- l'aménagement de leurs locaux,
- les contrôles de santé des donneuses et des nourrissons,

** Lactarium Rhône-Alpes, 37 rue Bossuet, 69006 LYON

- les contrôles et traitements du lait,
- le stockage,
- la distribution,
- les qualités du personnel responsable,
- les dispositions administratives.

I-2-2- L'Arrêté du 18 Août 1983 (Annexe 3)

Il abroge celui d'Août 1954 par les améliorations suivantes:

- **Article 5:** la recherche de la souillure du lait se fait par une numération des germes totaux et du *Staphylococcus aureus* et non plus par le titrage de l'acidité Dornic.

- **Article 6:** la stérilisation peut se faire par tyndallisation, pasteurisation à haute température ou pasteurisation à basse température.

I-3- FONCTIONNEMENT DU LACTARIUM RHONE-ALPES

I-3-1- Le personnel

Actuellement, il est composé:

- d'un Médecin Directeur, Monsieur le Professeur B. SALLE, chef du service de néonatalogie de l'Hôpital Edouard Herriot,
- d'une directrice, Madame FAGOT, infirmière diplômée de l'école des cadres,
- de deux laborantines,

- de deux collectrices auxiliaires de puériculture, à Lyon, et d'une collectrice, Madame PAUGAM, à Grenoble,
- d'une personne à mi-temps pour l'entretien,
- d'un directeur administratif et financier, commissaire aux comptes

I-3-2- La collecte

I-3-2-1- Recrutement et contrôle médical des donneuses

Le recrutement des donneuses se fait:

- à partir du carnet de santé de l'enfant délivré à la naissance,
- grâce aux affiches placées dans les maternités et les centres de Protection Maternelle et Infantile,
- par un entretien entre les puéricultrices et les mères qui allaitent dans les maternités,
- enfin, par la distribution, au chevet des jeunes accouchées, de tracts avec un slogan: "Mamans! Un peu de votre lait peut sauver un enfant!", l'adresse des centres de Lyon et de Grenoble, et terminés par un mot du Médecin Directeur du lactarium. (Annexe 4)

Pour devenir donneuses, les mamans constituent un dossier comprenant:

- un certificat médical d'aptitude au don du lait délivré par le médecin traitant après examen clinique approfondi (sérologie de la syphilis, radiographie du thorax, etc...) et de garantie que l'enfant est nourri sans inconvénient (Article 3 de l'Annexe 3),

- une fiche d'inscription médico-sociale où sont notées les antécédents, le déroulement de la grossesse et les traitements éventuellement suivis,

- une fiche de conseils d'hygiène pour recueillir le lait, le conserver et stériliser le tire-lait manuel ou électrique.

Le don commence dès la maternité: ce recueil permet de collecter du colostrum riche en anticorps. Il se poursuit en moyenne pendant 8 à 10 jours. Une durée supérieure nécessite un contrôle médical de la mère tous les mois aboutissant à l'édification d'un certificat.

I-3-2-2- Visite chez la donneuse

Les trois collectrices sillonnent cinq départements au volant de leur véhicule: l'Ain, le Rhône, l'Isère, la Savoie et la Haute-Savoie. En ce qui concerne l'antenne du lactarium à Grenoble, Madame PAUGAM collecte les régions de Grenoble, Chambéry et Annecy à l'aide de containers isothermes.

Chez la donneuse, le lait doit être conservé dans le réfrigérateur à +4°C ou lorsque le biberon contient environ 220 grammes, dans le congélateur.

Le ramassage du lait est quotidien dans les services de maternité des grands hôpitaux, hebdomadaire pour les mères d'enfants hospitalisés voire tous les quinze jours pour les donneuses ayant un congélateur.

I-3-3- Le don de lait et les donneuses

I-3-3-1- Evolution de 1952 à 1988

a/ Production annuelle de lait:

* Le lait personnalisé

Traité à partir de 1955, ce lait est nominatif c'est à dire fourni par les mères dont les enfants sont hospitalisés en service de néonatalogie. Ce lait passe par le lactarium avant d'être administré au bébé.

On constate que ce "lait personnalisé" a de nombreux avantages outre le fait qu'il représentait 41,6 % du lait distribué par le lactarium en 1987: ce lait, gratuit, est souvent excédentaire par rapport à la consommation de ces bébés. Cet excédent va constituer une part du "lait féminin".

Ce "lait personnalisé" a eu une progression tempérée par la chute de la natalité donc des nourrices en 1975 et en 1983 par rapport aux deux ou trois années antérieures. Actuellement, son taux s'est stabilisé aux environs de 3400 litres par an (3407 litres pour 1987 et 3422 litres pour 1988).

* Le lait féminin

Récolté dès l'ouverture du lactarium de Lyon (3200 litres annuels en 1952), ce lait est obtenu par le mélange de plusieurs laits:

- celui de nourrices excédentaires collecté à titre onéreux de 35 Francs par litre de lait utilisable (70,9% pour 1987)
- dons de nourrices excédentaires (5,5% pour 1987)

- dons des maternités (10,3% pour 1987)
- dons par excédent du " lait personnalisé" (13,3% pour 1987)

Liée aussi à l'évolution du nombre de nourrices, cette collecte a atteint 4686 litres annuels en 1987 et 4679 litres en 1988 après un maximum de 6800 litres pour 1980.

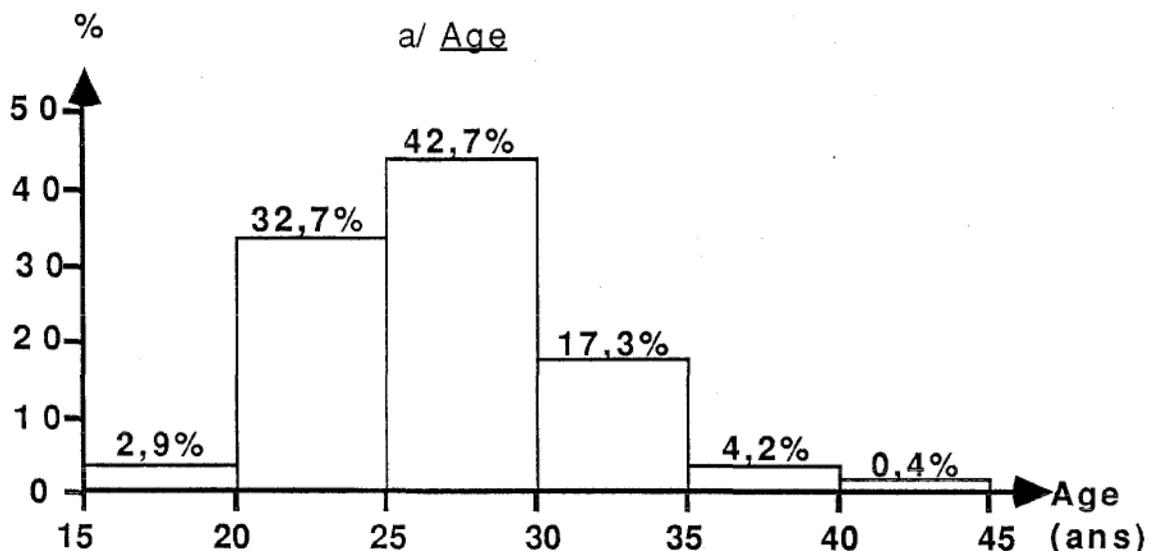
b/ Nombre de donneuses par an

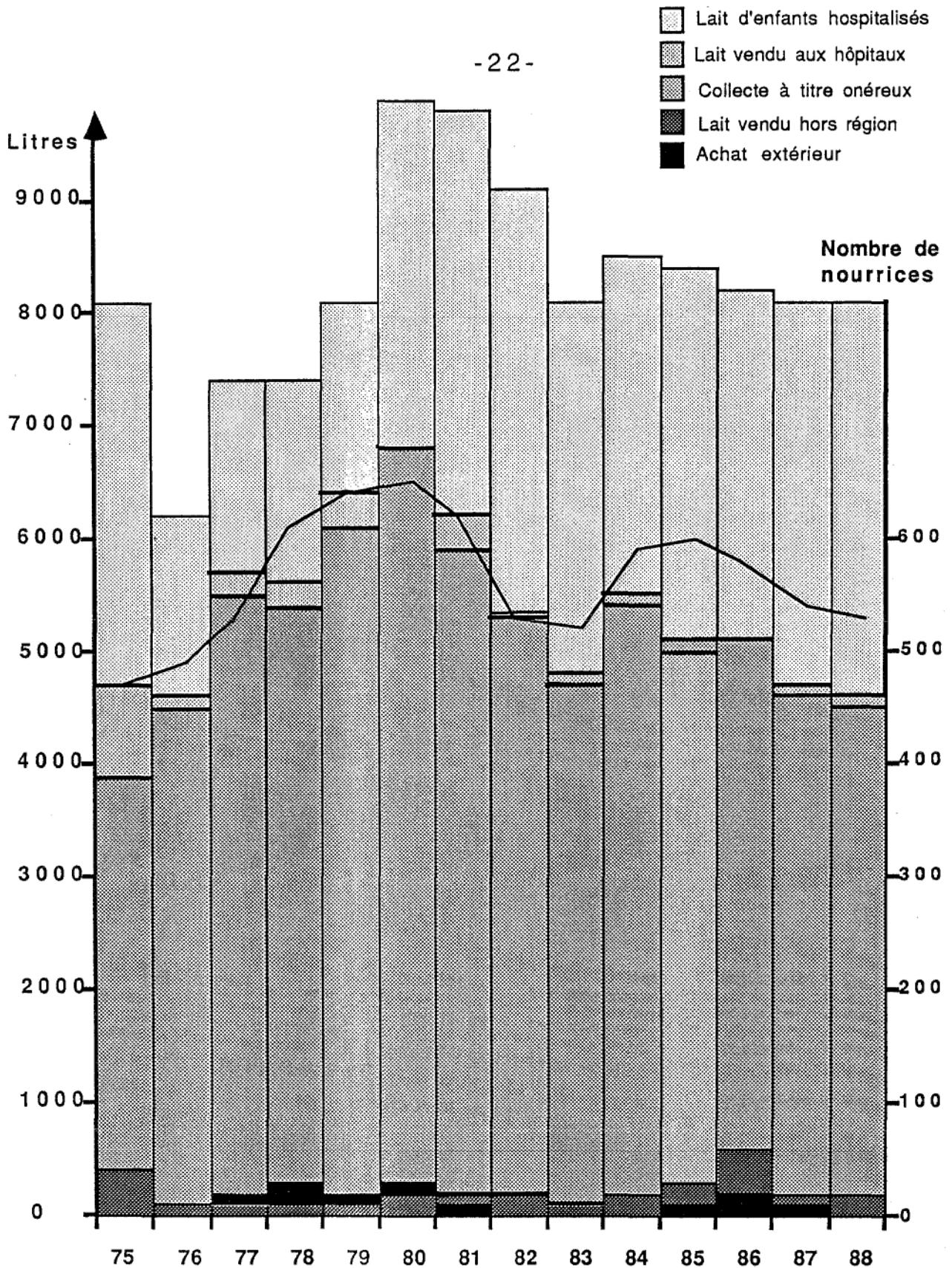
Comme le montre la figure 1, après des valeurs maximales de 600 nourrices annuelles pour 1972 et 1985, et de 650 nourrices annuelles pour 1980, on dénombre actuellement environ 525 nourrices pour 1988.

c/ Déductions

Globalement, l'activité du lactarium de Lyon ces deux dernières années, 1987 et 1988, reste stable après l'activité exceptionnelle de 1980 à 1982. On notera une chute des achats à l'extérieur (50 litres en 1987 contre 0 en 1988), signe d'une bonne autonomie de fonctionnement pour 1988.

I-3-3-2- Facteurs humains et allaitement

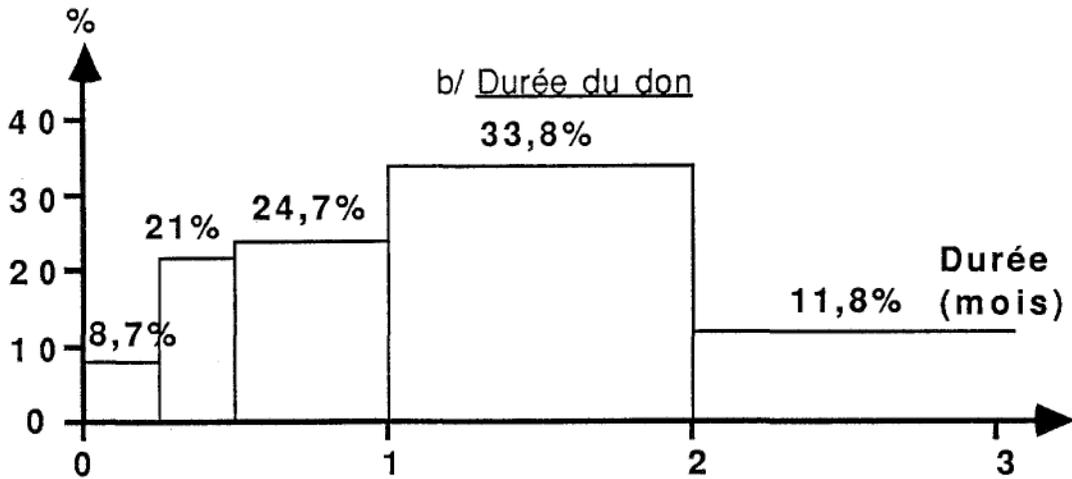




EVOLUTION DE LA PRODUCTION DU LAIT DE FEMME ET DU NOMBRE DE NOURRICES DE 1975 A 1988

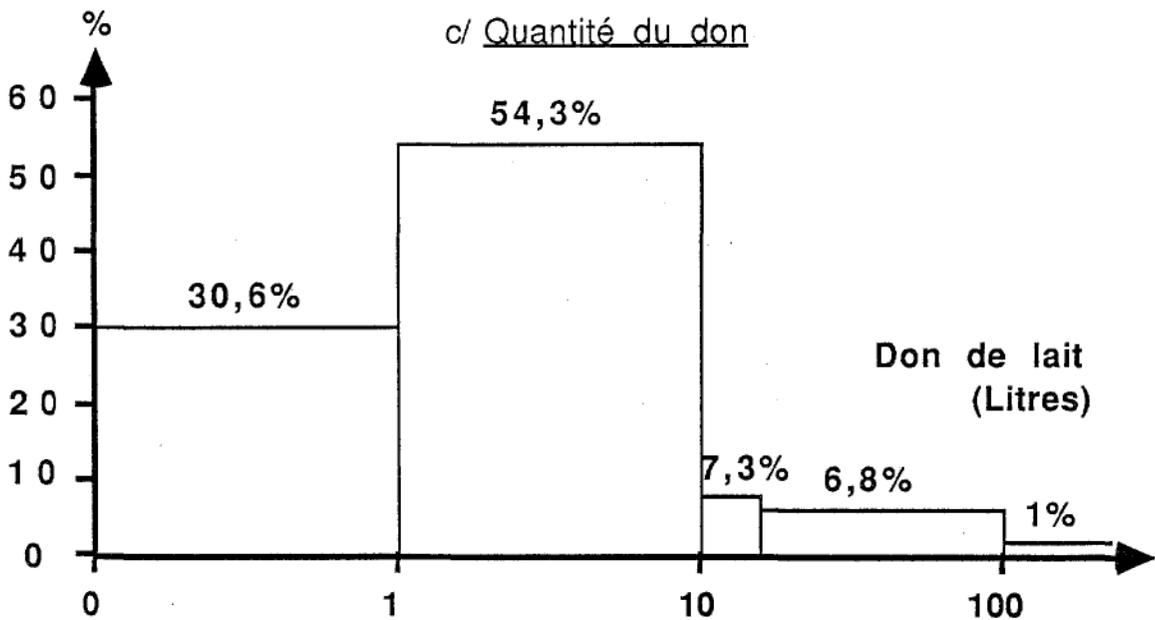
(FIGURE 1)

L'âge moyen est de 21 à 35 ans.



Elle varie de 1 à 2 mois en moyenne.

A l'origine des lactariums, on notait une nette supériorité concernant les dons de plus de trois mois.



De 1 à 10 litres en moyenne.

d/ Origine géoadministrative

65 % dans les grandes villes et banlieues

35 % dans les petites villes ou en campagne

I-3-3-3- Profil de la donneuse

La donneuse est une femme de 19 à 40 ans, habitant la plupart du temps dans les zones périphériques des grandes villes telles que Lyon, Grenoble, Chambéry ou Annecy. On peut noter, d'après Madame Paugam, que le don est d'autant plus important que la nourrice a déjà eu un ou deux enfants. La durée du don varie alors de quelques jours dans le cas de jeunes femmes qui ont fait appel au lactarium à cause de douleurs aux seins dues à un excès de lait, à plusieurs mois pour une donneuse régulière.

I-3-4- Le contrôle du lait (Figures 2 et 3)(14)

Vu l'importance de la bonne qualité du lait pour l'allaitement des bébés, il est nécessaire de procéder à quelques vérifications élémentaires avant d'effectuer les traitements successifs. A l'issue de la collecte, le lait provenant des maternités et des donneuses est mélangé pour faire un lot ou pool de deux litres puis réparti en biberons de 200 ml.

Auparavant, les pools étaient de huit litres mais les pertes étaient en conséquence.

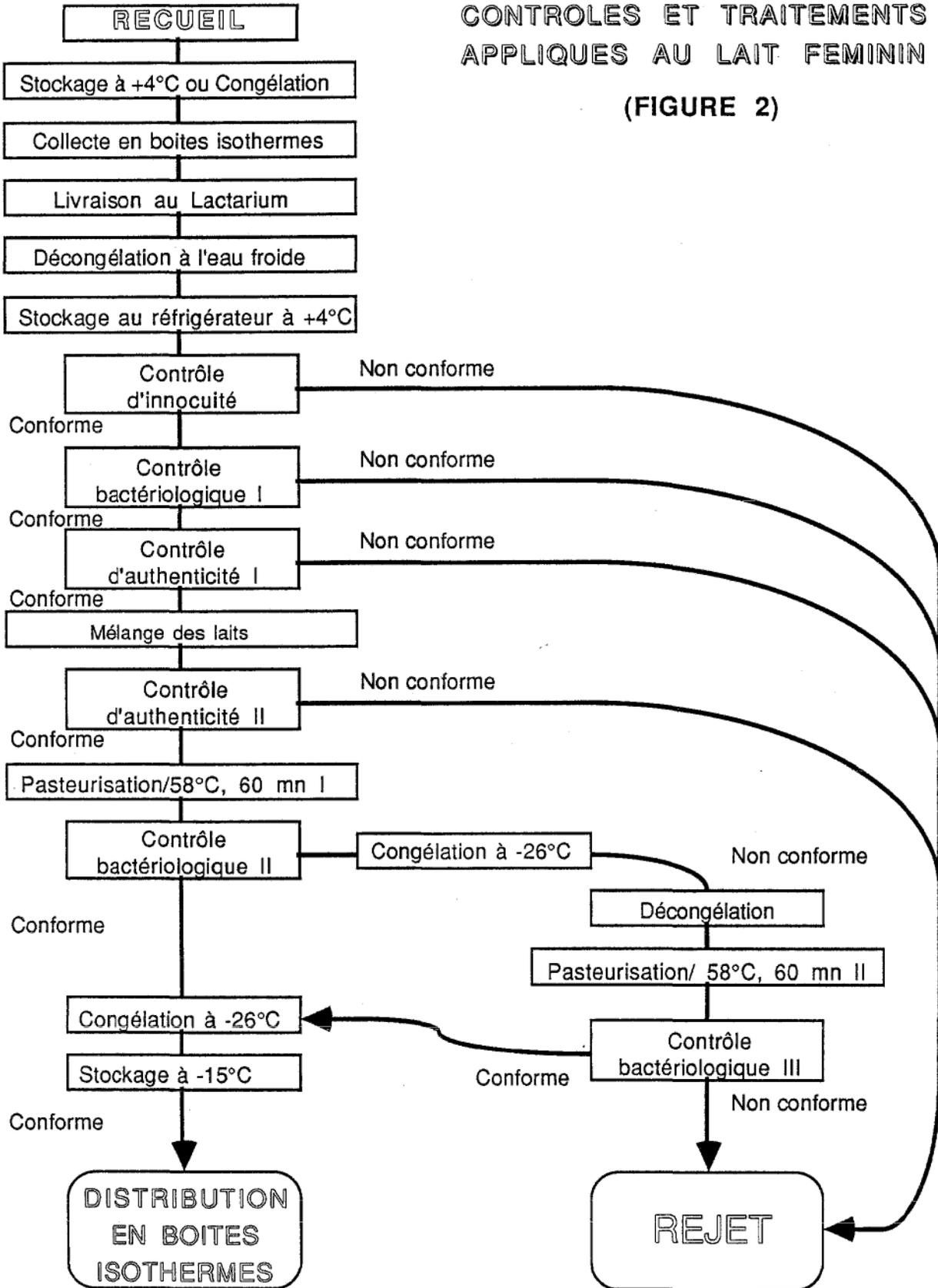
Sur ces pools de deux litres sont effectués le contrôle de la propreté du lait (tolérance $< 10^5$ staphylocoques par ml pour chaque nouvelle donneuse) et la recherche de fraudes éventuelles.

I-3-4-1- La recherche de fraude

Souvent rémunéré, le don de lait doit être systématiquement contrôlé. Cette recherche se fait d'après la mesure de la densité, comprise entre 1,027 et 1,035, à température ambiante de $+ 15^{\circ}$ C. Cette densité

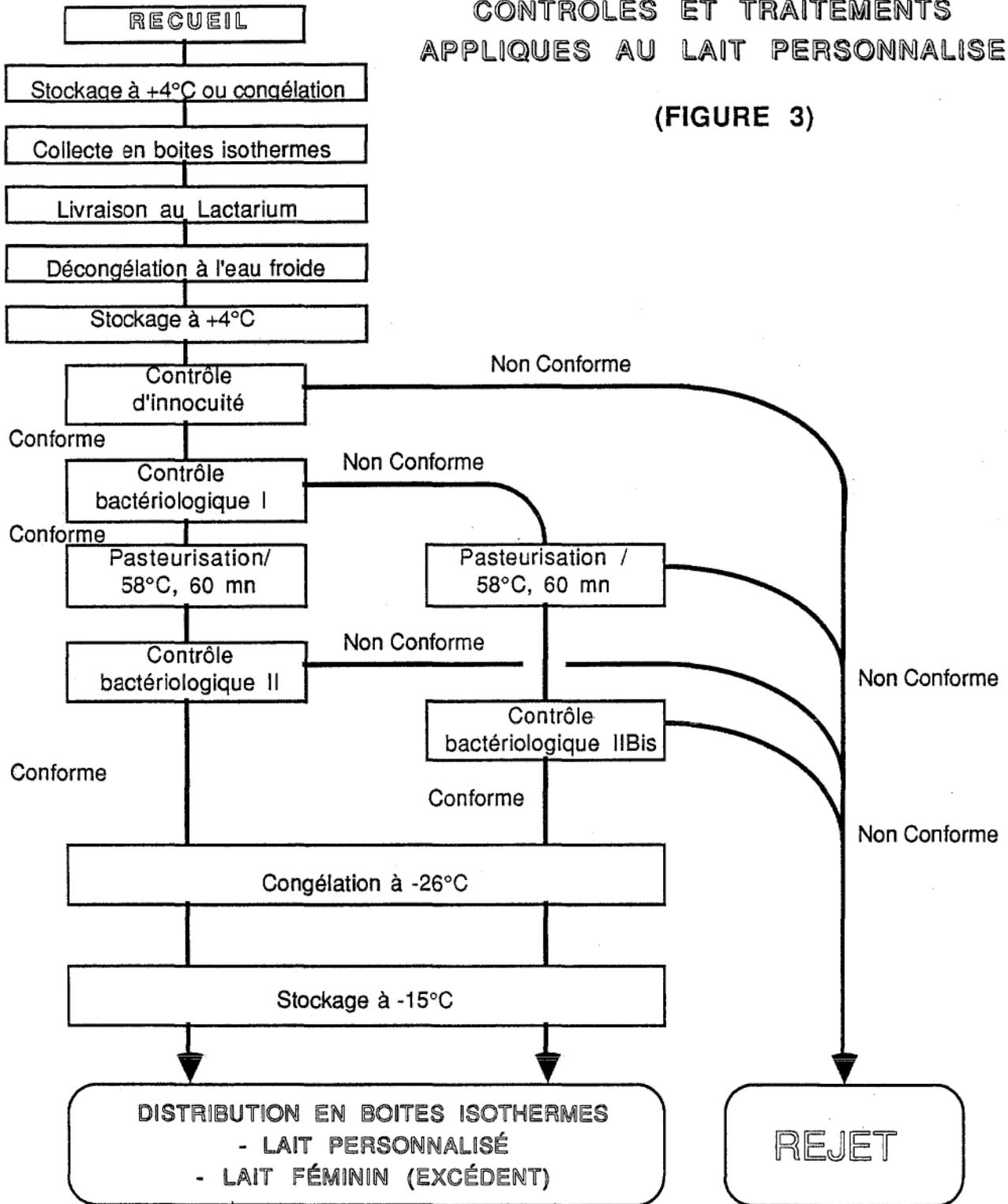
CONTROLES ET TRAITEMENTS APPLIQUES AU LAIT FEMININ

(FIGURE 2)



CONTROLES ET TRAITEMENTS APPLIQUES AU LAIT PERSONNALISE

(FIGURE 3)



varie en fonction de la teneur en matière grasse du lait: au cours de la têtée, la teneur en matière grasse augmente; faible au début, elle croît pour atteindre un maximum en fin de têtée.

C'est pourquoi une densité inférieure à 1,027 laisse suspecter une fraude par mouillage.

a/ Fraude par addition de lait de vache

Cette recherche s'effectue par exposition à la lumière de Wood (abandonnée aujourd'hui) ou par un test d'agglutination spécifique au sérum de lapin. Pour cela, on mélange sur une lame porte—objet une goutte du lait suspect et une goutte de sérum de lapin immunisé c'est à dire obtenu après saignée d'un lapin auquel on a administré pendant quelques jours des doses croissantes de lait de vache écrémé.

S'il y a fraude par addition de lait de vache, on observe une agglutination à l'oeil nu. Actuellement, ces fraudes sont très rares.

b/ Fraude par mouillage

L'addition d'eau est mise en évidence par lecture au lactodensimètre de QUEVENNE de la densité du lait versé dans une éprouvette.

Il faut noter cependant qu'un lait riche en matière grasse a une faible densité. Pour remédier à ce problème, on calcule l'extrait sec dégraissé en dosant la matière grasse par la méthode butyrométrique de GERBER.

Si le taux de matière grasse est supérieur ou égal à 80 grammes par litre, le lait est dit "normal". En dessous de 76 grammes par litre, il y a fraude. Entre ces deux valeurs, une nouvelle recherche est effectuée.

I-3-4-2- Bactériologie

Deux méthodes sont utilisées afin de contrôler la propreté du lait:

- mesure de l'acidité titrable selon l'arrêté du 9 Août 1954.

- numération des germes totaux et recherche de Staphylocoques et d'Entérobactéries obligatoire depuis l'arrêté du 2 Septembre 1983.

a/ L'acidité titrable

Dans ce cas, il s'agit d'un titrage par alcalimétrie: en présence de phénolphtaléine comme indicateur, incolore en milieu acide, on neutralise par de la soude N/9 jusqu'au virage de l'indicateur au rose.

Cette acidité s'exprime en degré DORNIC c'est à dire le nombre de millilitres de soude N/9 nécessaire pour neutraliser 10 ml de lait:

- Si l'acidité est inférieure à 8° DORNIC, l'échantillon sera acceptable après tyndallisation et distribution de ce lait après un à deux jours de stockage à +4° C.

- Si l'acidité varie de 8 à 12° DORNIC, l'échantillon doit être utilisé dans les 24 heures après tyndallisation.

- Si l'acidité est supérieure à 13° DORNIC, l'échantillon est rejeté.

b/ La numération des germes totaux (22)

Effectuée par le Laboratoire du Service d'Hygiène et de Santé de Lyon sous la direction des Docteurs RICKER et PAYEN, cette numération

concerne 180 à 200 analyses mensuelles.

Après pasteurisation, cette numération des germes totaux est associée à deux autres recherches menées en parallèle: la numération des Staphylocoques et celle des Entérobactéries. Tous ces résultats doivent être inférieurs à 10 germes par millilitre.

Dans le cas où leur taux est supérieur à 10 germes par millilitre, le laboratoire effectue alors une recherche plus précise de l'agent responsable de la contamination.

Tous ces résultats sont rassemblés sur une fiche d'analyse bactériologique numérotée (Annexe 5) comportant:

- le nom du service demandeur,
- la date de l'analyse,
- la date de l'échantillon,
- un tableau où sont mentionnés le numéro du pool analysé, la date, le litrage en ml, le nombre de Staphylocoques par ml et le nombre de germes totaux par ml.

- un tableau pour les mères donneuses mentionnant leur nom, le nom de l'hôpital, le code de l'échantillon, le nombre de Staphylocoques par ml, le nombre d' Entérobactéries et le nombre de germes totaux.

On remarque sur l'Annexe 5 à la quatrième ligne du premier tableau qu'il a été effectué une mise en évidence d'Acinetobacter calcoaceticus suite à une présence excessive d'Entérobactéries.

Toutes ces fiches sont authentifiées par la signature du Docteur PAYEN, médecin directeur du laboratoire de microbiologie.

I-3-5- La stérilisation du lait

Malgré les nombreux conseils prodigués pour le prélèvement du lait à domicile (Annexe 6), il arrive parfois que le lait soit souillé et devienne alors un véritable bouillon de culture s'il n'est pas rapidement traité par la chaleur.

Ce traitement est d'autant plus efficace que la contamination bactérienne est moindre.

Dans les lactariums, trois procédés de stérilisation sont autorisés:

- la tyndallisation
- la pasteurisation haute
- la pasteurisation basse

I-3-5-1- La tyndallisation

Cette stérilisation était faite sur des pools de lait répartis en flacons de 200 ml, exposés à 65° C pendant 30 minutes, ceci trois fois à 24 heures d'intervalle. On note que ce mode de stérilisation est toujours usité dans l'industrie laitière mais abandonné depuis 1983 au lactarium de Lyon car un seul chauffage, ou deux à la rigueur, suffisent à détruire les germes pathogènes.

L'abandon de ce mode de stérilisation semble en accord avec une meilleure conservation des vitamines naturelles dans le lait maternel.

I-3-5-2- La pasteurisation haute

Elle consiste à exposer les flacons de 200 ml à la température de 72° C pendant 15 secondes et à les refroidir rapidement à +4° C.

Trop onéreux, ce procédé n'est pas utilisé en France malgré les bons résultats obtenus lorsque le taux initial de bactéries pathogènes est faible.

I-3-5-3- La pasteurisation basse

Utilisée au lactarium de Lyon depuis 1983, cette stérilisation peut se faire à l'aide de trois types d'appareils:

- **Le KULA:** les biberons de 200 ml réfrigérés ou congelés sont réchauffés dans un bain-marie pendant 30 minutes pour ceux réfrigérés et 40 minutes pour ceux congelés.

La température stabilisée à 65° C est maintenue pendant 20 minutes puis les biberons sont refroidis rapidement à +4° C. L'inconvénient de l'utilisation de cet appareil réside dans la fluctuation de la température de 63 à 70° C par manque de précision du thermostat.

Cet appareil n'est pas utilisé au lactarium de Lyon.

- **Le COLGATE** utilise le même procédé avec une température du bain-marie de 62,5° C et une durée de chauffage de 30 minutes après stabilisation. Ces données étant invariables, cet appareil n'est pas utilisé non plus au lactarium de Lyon.

- **Le SUBTIL-CREPIEUX** effectue une pasteurisation à basse température. Ce mode de stérilisation employé au lactarium Rhône-Alpes en 1983 à une température de 63° C pendant 30 minutes, a été modifié pour arriver à 58° C pendant 60 minutes afin d'optimiser les résultats.

I-3-6- Le stockage du lait féminin

Dès le prélèvement chez la nourrice, le lait est transvasé dans des biberons stériles fournis par le lactarium, bouchés immédiatement et mis dans le réfrigérateur à +4° C.

Notons qu'il est possible de rajouter du lait dans ce même biberon à condition qu'il y ait identité des températures avant le mélange.

Quand le biberon atteint 220 grammes, il est alors congelé à domicile pendant 24 à 48 heures en moyenne, avant d'être récupéré et acheminé congelé par les bons soins de la collectrice jusqu'au lactarium de Lyon. La chaîne du froid ne doit pas être interrompue.

Les critères de stockage sont très stricts: après stérilisation, la conservation est de dix jours au maximum à +4° C (Arrêté du 18 Août 1983)(Annexe 3).

Le stockage peut se faire sous forme liquide à une température inférieure ou égale à +4° C ou sous forme congelée, ou encore sous forme lyophilisée.

La durée peut aller jusqu'à trois mois maximum au congélateur à -20° C pour un lait frais ayant moins de 10^6 germes par millilitre et moins de 10^4 Staphylococcus aureus par millilitre, qui s'est avéré stérile après pasteurisation (la congélation se fait alors en huit à dix minutes à une température de -40° C).

I-3-7- La distribution

Le lait doit être propre. Délivré exclusivement sur prescription médicale, le lait maternel est distribué à des particuliers, à des maternités, des hôpitaux ou à d'autres lactariums. Le lait féminin est remboursé à 100% par la Sécurité Sociale.

Au cas où les quantités prescrites dépassent la capacité de fourniture du lactarium, le médecin responsable fait passer en priorité les prématurés, les enfants de moins de trois kilogrammes, les enfants de moins de trois mois intolérants au lait de vache puis les enfants de plus de trois mois (Arrêté du 9 Août 1954)(Annexe 2).

En 1987, 4769 litres de lait féminin et 3407 litres de lait personnalisé ont été distribués par le lactarium régional de Lyon soit 8176 litres au total.

En 1988, 7980 litres de lait ont été vendus, soit une diminution de 2,4% par rapport à l'année précédente.

Cette distribution se fait sur les cinq départements collectés, Ain, Rhône, Isère, Savoie et Haute-Savoie ainsi que la Drôme, la Loire, la Saône-et-Loire et la région parisienne.

II- COMPOSITION DU LAIT MATERNEL

Très spécifique du genre humain, le lait maternel a une composition connue depuis des années, avec plus de cent constituants dont les proportions et la composition sont bien différents de celle des laits des autres mammifères comme le lait de vache (Tableau I)(13).

La variabilité d'une nourrice à l'autre ainsi qu'au cours de la tétée, de la lactation, du mode et du moment du prélèvement empêchent de fixer des valeurs exactes dites "normales". C'est pourquoi nous nous contenterons simplement d'indiquer des moyennes pouvant être sujettes à de larges variations.

II-1- LES PROTIDES

Le taux de protéines totales de 10 à 12 g/l en moyenne, varie peu en fonction du régime. L'azote protéique se répartit entre l'azote de la caséine et l'azote des protéines du lactosérum.

L'azote non protéique représente dans le lait de femme le quart de l'azote total (dans le lait de vache, sa part est de 1/20^{ième}). Dans ce groupe figurent les acides aminés, les polypeptides à chaîne courte.

On remarque que:

- le colostrum a une concentration en protéines plus élevée (19 g/l) mais moindre en caséine.

- le lait de vache contient trois fois plus de protéines que le lait de femme et cinq fois plus de caséine.

**COMPARAISON DES COMPOSITIONS DU LAIT DE
FEMME ET DU LAIT DE VACHE
(TABLEAU I)**

	Lait de Femme (g/l)	Lait de Vache (g/l)
Glucides Totaux	70	50
a- Lactose	60	50
b- Oligosaccharides	10	traces
Protéines Totales	10	35
a- Caséine	4	29
b- Protéines du lactosérum	6	6
Béta-lactoglobuline	0	3,7
Alpha-lactoglobuline	3,5	1,5-1,8
* Lactotransferrine	1-2	0,2-0,5
* Globines immunes	1-2	0,5
Lipides	40	35
Sels Minéraux	2-2,5	7,5-8
Apport Energétique	680 Kcal	655 Kcal

II-1-1- Les caséines (Tableau II)

Elles représentent 30 à 40% des protéines totales soit 5 g/l, et sont au nombre de trois: alpha, bêta et kappa. Ce sont des phosphoprotéines polymorphes, thermorésistantes, précipitant à pH inférieur à 4,5.

II-1-1-1-Composé majeur: la β -caséine(64%)

Son poids moléculaire est de 25 000. Séparée par électrophorèse sur gel d'amidon, la bêta-caséine se sépare en six bandes (A, B, C, D, E et F) de teneur croissante en phosphore: bêta-A ne contient pas de phosphore alors que bêta-F contient 5 atomes de phosphore.

De plus, en présence de calcium, les fractions A, B, C, D précipitent alors que E et F restent solubles.

II-1-1-2- Composé mineur: l' α -caséine (9%)

Dans ce cas, on peut observer trois bandes A, B et C après séparation par électrophorèse sur gel d'amidon.

II-1-1-3- Le troisième composé: la caséine Kappa (20-27%)

La kappa-caséine a un poids moléculaire de 19 000 et une teneur en hydrates de carbone de 4,4 à 8,8% (galactose, N-acétylgalactosamine, acide sialique).

Dans le lait féminin, ces trois caséines sont réunies en micelles c'est à dire en agrégats plus ou moins sphériques, contenant du calcium et du phosphore.

COMPOSITION DES LAITS DE FEMME ET DE VACHE EN AZOTE
EVALUEE EN GRAMME D'AZOTE PAR LITRE

(TABLEAU II)

	Lait de Femme	Lait de Vache
AZOTE TOTAL	1,93	5,31
Azote Protéique	1,43 (8,9)	5,03 (31,4)
* Caséine	0,40 (2,5)	4,37 (27,3)
* Protéines du lactosérum	1,03 (6,4)	0,93 (5,8)
Alpha-lactalbumine	0,42 (2,6)	0,17 (1,1)
Béta-lactoglobuline	-	0,57 (3,6)
Lactoferrine	0,27 (1,7)	traces
Lyzosyme	0,08 (0,5)	traces
Sérumalbumine	0,08 (0,5)	0,07 (0,4)
Ig A	0,16 (1)	0,005 (0,03)
Ig G	0,005 (0,03)	0,096 (0,6)
Ig M	0,003 (0,02)	0,005 (0,03)
Azote Non Protéique	0,50	0,28
Urée	0,25	0,13
Créatinine	0,035	0,003
Créatine	0,037	0,009
Acide Urique	0,005	0,008
Glucosamine	0,047	?
Acides Aminés Libres	0,13	0,048
NH ₃	0,002	0,006
Autres Composés	?	0,074

SELON HAMBRAEUS (18)

REMARQUE: Les chiffres entre parenthèses représentent la concentration en grammes de protéines par litre de lait.

Sous l'action enzymatique, un pont peptidique de la kappa-caséine se rompt, libérant une grosse fraction insoluble, la parakappa-caséine qui induit la précipitation des autres caséines, et une petite fraction soluble: le caséinopeptide.

II-1-2- Les protéines du lactosérum (38)

Leur concentration dans le lait de femme est de 6 g/l. On constate:

a/ Une absence de bêta-lactoglobuline

On observe l'absence de bêta-lactoglobuline (cette protéine, majeure dans le lait de vache, est responsable des allergies et intolérances au lait de vache).

b/ Une richesse en alpha-lactalbumine

L'alpha-lactalbumine humaine est deux fois plus importante que dans le lait de vache. Cette protéine est constituée d'une seule chaîne à 123 acides aminés dont certaines zones présentent des analogies de structure peptidique avec d'autres protéines telles que le lysozyme humain, le blanc d'oeuf ou d'autres alpha-lactalbumines.

On remarquera cependant que l'alpha-lactalbumine humaine catalyse la synthèse de liaisons bêta-1,4 glycosidiques alors que le lysozyme catalyse leur hydrolyse.

c/ Une richesse en lactotransferrine

Découverte en 1951 par SCHUFER, cette glycoprotéine a un poids

moléculaire de 78 000; elle est capable de fixer réversiblement deux atomes de fer II par molécule. Sa concentration est supérieure dans le colostrum par rapport au lait de femme, soit 4,2 mg/ml à 1 mg/ml selon REDDY (32).

Sous l'action du pH gastrique acide du nourrisson, la lactotransferrine perd son fer et transite sous forme "apo" dans la lumière intestinale où elle capte alors le fer indispensable à la croissance de la flore bactérienne pathogène. Cette action bactériostatique a été mise en évidence par BULLEN et collaborateurs (5).

d/ Une richesse en immunoglobulines

Le lait humain et plus particulièrement le colostrum sont très riches en immunoglobulines dont la principale est du type A sécrétoire (Ig As), de poids moléculaire égal à 420 000.

Dans le colostrum, la concentration en Ig As est de 50 mg/ml puis chute à 1-2 mg/ml, valeur qui reste constante tout au long de la lactation.

Ces Ig As vont tapisser la muqueuse du tube digestif du nourrisson, neutralisant du même coup l'action des virus et des toxines bactériennes.

D'autre part, on distingue aussi:

- des Ig M en taux légèrement supérieur dans le colostrum que dans le lait définitif (32) (15 à 17 mg/100 ml dans le colostrum contre 3 à 6 mg/ 100 ml dans le lait définitif selon REDDY);
- des Ig G dont le taux est faible (0,7 à 2,7 mg/100 ml de lait);
- des Ig E à un taux très faible mais douées d'un grand rôle antiparasitaire.

e/ Une présence de quelques protéines

* la sérumalbumine humaine dont le taux élevé dans le colostrum diminue au cours des dix premières semaines de lactation pour augmenter ensuite,

* l'orosmucoïde

* le complément dont la fraction C3 est la plus importante:

	Taux C3 en g/l Femmes bien nutries
Colostrum 1 ^{er} au 5 ^{ème} jour	0,33 + 0,02
Lait de transition 6 ^{ème} au 30 ^{ème} jour	0,22 + 0,01
Lait définitif 30 ^{ème} jour et plus	0,16 + 0,001

* les ligands de l'acide folique

de la vitamine B 12

du cortisol et des corticoïdes

* la galactothermine

II-2- LES ACIDES AMINES (Tableau III)

Le taux d'acides aminés a été évalué par dosage de l'azote non protéique (3):

Lait de vache	5,3%
Colostrum humain	22,3%
Lait féminin définitif	18,5%

On notera l'importance de l'écart par rapport au lait de vache.

D'après l'étude effectuée par FOMON (12), on constate la nette différence de concentration des différents acides aminés essentiels ou non, en faveur du lait de vache. Cependant, en raison:

- de taux faibles en acides aminés aromatiques (Tyrosine, Phénylalanine),
- d'un rapport Méthionine/Cystéine = 1,
- d'un rapport acides aminés soufrés/autres acides aminés essentiels élevé,

il ressort que le lait de femme a une valeur nutritionnelle protéique plus élevée que celle du lait de vache.

COMPOSITION EN ACIDES AMINES (g/l) DU LAIT HUMAIN
DEFINITIF ET DU LAIT DE VACHE

(TABLEAU III)

	Lait de Femme	Lait de Vache
ACIDES AMINES ESSENTIELS		
Histidine	0,22	0,95
Isoleucine	0,68	2,28
Leucine	1,0	3,50
Lysine	0,73	2,77
Méthionine	0,25	0,88
Phénylalanine	0,48	1,72
Thréonine	0,50	1,64
Tryptophanne	0,18	0,49
Valine	0,70	2,45
ACIDES AMINES NON ESSENTIELS		
Arginine	0,45	1,29
Alanine	0,35	0,75
Acide Aspartique	1,16	1,66
Acide Glutamique	2,30	6,80
Cystéine	0,22	0,32
Glycocolle	0	0,11
Proline	0,80	2,50
Sérine	0,69	1,60
Tyrosine	0,61	1,79

II-3- LES ENZYMES (Tableau IV)

Suite aux travaux de MONTREUIL (28) en 1977, il a été décrit une activité enzymatique égale ou nettement supérieure par rapport au lait de vache, excepté pour les phosphatases alcalines.

Parmi toutes celles citées, trois enzymes jouent un grand rôle anti-infectieux et anti-allergique:

II-3-1- Le lysozyme ou N-acétylmuramidase

Cette enzyme a beaucoup d'analogies structurales avec l'alpha-lactalbumine: PM = 14 400, chaîne unique de 130 acides aminés.

Pratiquement inexistant dans le lait de vache, le lysozyme a un taux de 14 mg/100 ml dans le colostrum et 24 à 42 mg/100 ml dans le lait définitif selon REDDY (32); son taux est maximum à douze mois de lactation.

On note une action bactériolytique sur Escherichia coli en présence de peroxyde d'hydrogène et d'acide ascorbique.

II-3-2- La lactoperoxydase

De concentration et d'activité faible par rapport au lait de vache, la lactoperoxydase du lait humain est stable en milieu acide; elle a une action bactéricide en présence de peroxyde d'hydrogène et de thiocyanates.

II-3-3- Les lipases

On peut distinguer deux formes de lipases, une active et l'autre inactive:

TENEURS COMPAREES EN ENZYMES

(TABLEAU IV)

ENZYMES	Lait de Femme	Lait de Vache
Transaminases GP	400	1
Transaminases GO	10	1
Amylase	40	1
ATPase	25	1
Lactose synthétase	10	1
Catalase	10	1
Pseudocholinestérase	10	1
Lipase	8	1
Aldolase	5	1
Protéinase	3	1
Phosphatases acides	1	1
Phosphatases alcalines	1	40
Lysozyme	+	0
Inhibiteur trypsique	1	1

D'APRES MONTREUIL J. EN 1977 (28)

a/ **La lipoprotéine lipase** facilite la synthèse, à partir des lipoprotéines plasmatiques, d'acides gras triglycériques à l'origine de la formation des lipides du lait. Très instable à pH inférieur à 5, son rôle dans la digestion intestinale des graisses est peu probable.

b/ **La lipase inactive** dans le lait féminin, est inactivée par les sels biliaires du nourrisson; elle hydrolyse rapidement les lipides et accroît l'efficacité d'absorption des graisses du lait. Cette lipase est détruite par la pasteurisation.

II-3-4- La lactosynthétase

Constituée de deux fractions protéiques dissociables, A et B, cette enzyme permet la synthèse du lactose à partir de glucose et de l'UDP-Galactose:

- la fraction **A** ou **galactosyltransférase** catalyse la réaction:



- la fraction **B** est l'**alpha-lactalbumine**, qui, en présence de la fraction A, augmente son affinité pour le glucose d'où la réaction:



La synthèse de l'alpha-lactalbumine est donc l'étape limitante dans la formation du lactose. On remarque que l'excès de galactose n'est pas stocké mais utilisé:

- sous forme d'acide glucuronique comme détoxifiant (cas de la bilirubine chez le nouveau né),
- dans la synthèse des galactocérebrosides.

II-4- LES GLUCIDES

A une concentration de 70 g/l dans le lait humain contre 50 g/l pour le lait de vache, les glucides sont représentés par:

II-4-1- Le lactose (60 g/l)

Diholoside formé de glucose et de galactose grâce à l'action de la lactosynthétase. Arrivé au niveau intestinal, le lactose se transforme en acides lactique et acétique abaissant, par ce fait, le pH intestinal du nouveau-né.

II-4-2- Les oligosaccharides (10 g/l dans le lait définitif et 23 g/l dans le colostrum selon GRIMMONPREZ (17))

Très nombreux (environ cinquante), ils sont surtout constitués de proportions variables de galactose, glucose, fucose, N-acétylglucosamine et parfois d'acide sialique. Leur rôle reste encore inconnu.

II-4-3- Les facteurs bifidus (31)

Une observation de TISSIER en 1900 a montré que la flore intestinale de nouveau-nés nourris au sein est riche en une bactérie anaérobie: le *Lactobacillus bifidus*, ceci en comparaison aux nouveau-nés nourris au lait de vache. Cette flore transforme ainsi le lactose en acides lactique et acétique d'où, comme nous l'avons déjà remarqué, un abaissement du pH intestinal.

Cette richesse en *Lactobacillus* est attribuée à la présence, dans le lait maternel, de trois facteurs de croissance:

- Le facteur **bifidus I**, oside azoté
- Le facteur **bifidus II** de nature peptidique ou glycopeptidique
- Le facteur **bifidus III** ou **lactulose** favorisant l'implantation du *Lactobacillus bifidus* dans l'intestin du nouveau-né nourri au lait maternisé.

Le mécanisme d'action de ces facteurs est encore controversé; néanmoins, il semble qu'ils s'opposent à la prolifération microbienne pathogène.

Le *Lactobacillus bifidus* est d'ailleurs utilisé actuellement pour la fabrication de nouveaux types de laits fermentés qui semblent avoir un effet bénéfique supérieur à celui des yaourts classiques.

II-5- LES LIPIDES

Dans le lait féminin, les lipides se présentent sous la forme de globules de 3 à 6 micromètres constitués:

- d'un noyau de triacylglycérol (acides gras + glycérol)
- d'une membrane globulaire formée de deux couches:
 - * une couche comportant des lipides polaires (phospholipides + stérols)

des lipides de polarité
intermédiaire (cholestérol et vitamine A)

- des triglycérides
- * une autre couche comportant des micelles de caséine chargées de calcium ionique ayant pour rôle de maintenir électriquement la stabilité de l'émulsion des globules dans la phase aqueuse.

On remarque que le taux de lipides varie entre les femmes en fonction du régime alimentaire, du stade de lactation, de l'heure de la journée (les taux sont maximum entre 10 et 14 heures, et minimum aux premières heures de la matinée) et au cours de la tétée (les 20% de lait restant dans la glande après la tétée contiennent 50 g/l de lipides).

On peut cependant considérer que leur taux est de $33,3 \pm 5,7$ g/l en moyenne, étant représentés par:

- 98% de triglycérides différents de ceux du lait de vache;
- 2% de composés non glycériques (phospholipides, cholestérol, lécithines).

II-5-1- Les triglycérides dans le lait de femme selon BRACCO-BAUER (4) (Tableau V)

Le rapport acides gras saturés/acides gras insaturés est de 1 contre 3 pour le lait de vache.

II-5-1-1- Les acides gras insaturés

On distingue:

- les acides gras mono-insaturés tels que l'acide lauroléique, l'acide palmitoléique et l'acide oléique.
- les acides di-insaturés dont les représentants essentiels sont l'acide linoléique (C18) et ses isomères, à l'origine de la synthèse de l'acide arachidonique (C20) important pour l'édification des prostaglandines notamment, et des structures neuronales.

COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES TRIGLYCERIDES DU LAIT
DE FEMME (EN POURCENTAGE MOLAIRES)

(TABLEAU V)

% des Lipides Totaux	Globule lipidique	Membrane globulaire	Liés à la caséine
<u>SATURES</u>			
inférieurs à C10	3,1	2,5	1,6
myristique	8,3	8,6	7,3
palmitique	24,6	29,2	28,4
stéaritique	8,5	9,9	14,2
arachidique	0,3	0,6	1,8
supérieurs à C20	0,2	0,3	0,5
<u>MONO-INSATURES</u>			
lauroléique	0,1	0,1	0,1
palmitoléique	5,9	4,2	0,6
oléique	33,3	35,6	24,5
<u>DI-INSATURES</u>			
linoléiques et isomères	6,7	6,5	9,8
<u>ACIDES GRAS ISO</u>			
inférieurs à C10	0,1	0,2	2,2
diMéthyltridécanoïque	traces	0,1	0,1
diMéthylpentadécanoïque	0,1	0,2	0,7
diMéthylheptadécanoïque	traces	< 0,1	0,6
diMéthylnonadécanoïque	0,1	traces	0,4
tétraMe-hexadécanoïque	0,1	< 0,1	0,1
supérieurs à C20	0,1	0,1	0,1

II-5-1-2- Les acides gras saturés

La proportion d'acide palmitique (C16) est comparable dans le lait de femme et celui de vache. L'estérification du glycérol en C2 permet une meilleure absorption des graisses du lait humain étant plus facilement solubilisé dans les micelles de sels biliaires.

II-5-2- L'insaponifiable (Tableau VI)

Parmi ces substances, nous n'étudierons que le cholestérol, composé fondamental qu'un nouveau-né ne peut fabriquer, l'alpha-tocophérol et les caroténoïdes.

a/ Le cholestérol a un taux de 11,8 mg/100 ml de lait féminin définitif en moyenne (De 28 mg/100 ml dans le colostrum, il passe à 13,9 mg/100 ml dans le lait mature à 21 jours). Sa concentration dans le lait est indépendante du régime alimentaire de la nourrice et de son taux plasmatique.

b/ L'alpha-tocophérol ou vitamine E anti-oxydante, présente à un taux de 14 à 91 microgrammes pour cent millilitres de lait féminin; n'étant pas liée à la caséine, elle représente 16% des lipides totaux de la membrane globulaire et 14% des lipides totaux des globules lipidiques selon BRACCO et BAUER (4).

c/ Les caroténoïdes, toujours selon BRACCO et BAUER (4), ne sont pas liés à la caséine et représentent une faible partie des globules lipidiques (0,8%) et de la membrane globulaire (2,2%).

COMPOSES NON GLYCERIQUES
(TABLEAU VI)

% des Lipides Totaux	Globule lipidique	Membrane globulaire	Liés à la caséine
Phosphatidyléthanoléine	-	36,6+10	5+10
Phosphatidylcholine	-	29,7+10	5+10
Phosphatidylinositol	-	4,6+15	70+10
Sphingomyéline	-	26,2+10	15+10
Lysolécithine	-	1,9+15	-
Phosphatidylsérine	-	1+15	5+10
(en mg/100 g de lipides)			
Cholestérol	248	653	710
Déhydro-7 Cholestérol	6	19	32
Squalène	6	9	8
Alpha-Tocophérol	14	16	n.c.
Caroténoïdes	0,8	2,2	n.c.

D'APRES BAUER ET BRACCO (4)

Ces deux composés alpha-tocophérol et caroténoïdes seront étudiés ultérieurement plus en détail quant à leur taux et leur fonction au sein du lait maternel.

II-6- LES SELS MINÉRAUX ET LES OLIGOÉLEMENTS

Pour ce paragraphe, nous nous attacherons aux travaux effectués par FOMON (12) et ceux du COMMITTEE ON NUTRITION (9) (Tableau VII):

II-6-1- Les sels minéraux

Le lait de femme est pauvre en sels minéraux (0,2% du poids) par comparaison au lait de vache (0,7% du poids).

La répartition de chaque élément se fait en fonction de son affinité pour la phase lipidique ou aqueuse et des propriétés du milieu: le calcium, le magnésium et le phosphore se concentrent dans la phase colloïdale alors que la phase aqueuse est riche en potassium, sodium et chlore.

On peut alors faire un parallèle entre les faibles teneurs du lait maternel en sodium, chlore et potassium et l'élimination rénale du sodium encore restreinte chez le nourrisson. (Avec le lait de vache, il y a un risque de rétention d'eau chez le nouveau-né et d'hypertension artérielle).

II-6-2- Les oligo-éléments

Indispensables co-facteurs des enzymes, les oligo-éléments sont en concentrations comparables entre le lait de vache et le lait de femme excepté pour: - le **chrome** dont la concentration dans le lait de femme est le double de celle du lait de vache,

COMPOSITION EN SELS MINERAUX ET EN
OLIGOELEMENTS DES LAITS DE FEMME ET DE VACHE
(TABLEAU VII)

Teneur par litre	Lait de femme	Lait de vache
Chlore (mg)	300-500	1100-1300
Sodium (mg)	100-200	350-500
Potassium (mg)	400-500	1300-1500
Magnésium (mg)	40	120
Calcium (mg)	330	1250
Phosphore (mg)	150	960
Ca/P	2,2	1,3
Soufre (mg)	140	300
Cuivre (microg)	400	300
Zinc (mg)	3	5
Iode (ug)	30	47
Manganèse (µg)	7-15	20-40
Sélénium (µg)	13-50	5-50
Fer (mg)	0,5	0,5

(COMMITTEE ON NUTRITION (9) et FOMON (12))

- **le fluor** légèrement inférieur dans le lait de femme,

- **le zinc**, bien qu'à des concentrations comparables, bénéficie d'un ligand de faible poids moléculaire dans le lait de femme donc d'une absorption supérieure au zinc du lait de vache.

On remarque que la teneur en fer du lait maternel est identique à celle du lait de vache. Cependant, la présence élevée de cuivre, de vitamine C, d'acide folique et de vitamine B12 dans le lait de femme permet une absorption nettement supérieure du fer du lait maternel.

II-7- LES HORMONES

Peu connues encore dans le lait maternel, on peut distinguer:

- des cortico-stéroïdes (1 mg/ml)
- des prostaglandines
- des hormones thyroïdiennes dont T4 (jusqu'à 40 mg de T4 libre)

II-8- LES CELLULES

Leur présence dans le lait maternel est connue depuis longtemps.

Dans le colostrum tout d'abord, les cellules au nombre de 500 à 10 000 par mm³ sont représentées par:

- 60-70% de corpuscules de **DONNE** (grands macrophages à cytoplasme rempli de graisse) et de macrophages contenant des vacuoles lipidiques et des granulations,
- 20-22% de polynucléaires neutrophiles riches en lobules gras,

- 11% de petits et de grands lymphocytes des lignées B et T,
- 1 à 2% de cellules épithéliales.

Au cours de la lactation, la concentration cellulaire chute mais reste compensée par une augmentation du volume de la sécrétion lactée.

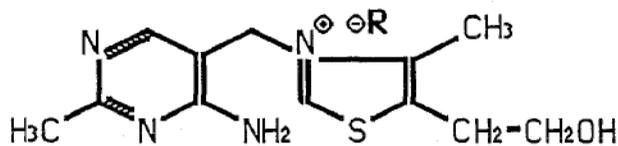
III- LES VITAMINES DU LAIT DE FEMME: CONSERVATION, INFLUENCE DE LA CONGELATION-DECONGELATION

Suite aux nombreuses contraintes que subit le lait maternel avant d'être consommé, il nous a paru important d'évoquer quelques unes des vitamines du lait féminin afin d'étudier leur devenir.

III-1- LES VITAMINES HYDROSOLUBLES (24)

III-1-1- Les vitamines du groupe B

* La vitamine B1 ou Thiamine ou Aneurine



R = NO₃[⊖] Mononitrate

R = Cl[⊖] Chlorhydrate

Présente à un taux de 14 microgrammes pour 100 ml de lait selon FOMON (12) (tableau IX), la thiamine peut varier en quantité dans le lait maternel selon le régime alimentaire de la nourrice.

Par phosphorylation, la thiamine se transforme en pyrophosphate de thiamine (TPP) ou co-carboxylase, active, ayant un rôle de groupement prosthétique pour de nombreuses enzymes qui interviennent notamment dans le métabolisme des hydrates de carbone.

COMPARAISON DES TENEURS VITAMINIQUES DU LAIT DE FEMME ET DU LAIT DE VACHE ET BESOINS VITAMINIQUES CHEZ LE NOURRISSON DE MOINS DE SIX MOIS

(TABLEAU IX)

VITAMINES HYDROSOLUBLES	Lait de femme (µg/100 ml)	Lait de vache (µg/100ml)	Besoins
Thiamine (B1)	14 (5-20)	37 (30-55)	0,3 mg/j
Riboflavine (B2)	41 (24-58)	18 (14-22)	0,4 mg/j
Nicotinamide (PP ou B3)	170 (160-180)	90 (70-110)	6 mg/j
Ac. Panthothénique (B5)	210 (190-250)	350 (280-420)	2 mg/j
Pyridoxine (B6)	11 (4-18)	46 (22-70)	0,3mg/j
Biotine (H ou B8)	0,6 (0,4-0,8)	3,5 (2-5)	35 µg/j
Ac. Folique (B9)	170 (140-210)	- (0,3-6,8)	30 µg/j
Cobalamine (B12)	30 -	0,42 (0,3-0,76)	0,5 µg/j
Ac. Ascorbique (C)	4100 (3400-5400)	1700 (100-2400)	35 mg/j

D'APRES FOMON (12) ET LE CNRS/CNERNA (26)

(TABLEAU IX) Suite

VITAMINES LIPOSOLUBLES	Lait de Femme (µg/100 ml)	Lait de Vache (µg/100 ml)	Besoins
Vitamine A	30 (27-34)	54 -	1400 UI*/j
Carotène	18 (14-22)	21 (16-38)	
Vitamine D	63 (20-90)	23 (10-35)	400 UI**/j
Vitamine E	54 (14-91)	88 (41-100)	3 mg/j
Vitamine K	15 (17-40)	17 (0-33)	12 µg/j

REMARQUE:

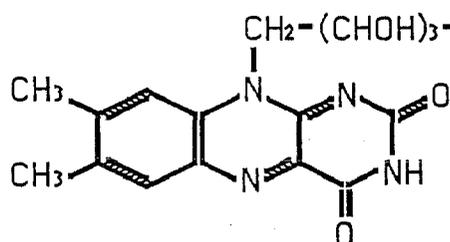
* 1UI = 0,3 Equivalent Rétinol
= 0,3 µg de Rétinol
= 1,8 µg de Béta-Carotène

** 1UI = 0,025 µg de Vitamine D2 ou Vitamine D3

Nécessaire à la dose quotidienne de 0,3 mg chez le nourrisson selon le CNRS/CNERNA (26), la thiamine subit une forte dégradation au cours des traitements de congélation, décongélation et pasteurisation effectués en lactarium, ne persistant qu'à une teneur résiduelle de 36,5% par rapport à la teneur initiale, selon ERB et collaborateurs (11). On notera cependant que d'après LE GRUSSE (26), la thiamine semble bien résister à la congélation et à un milieu acide (pH 4) (24).

Si l'on compare au lait de vache où le taux moyen de vitamine B1 atteint 37 microgrammes pour 100 ml, on ne peut que conclure à la relative pauvreté en thiamine du lait maternel, ne couvrant guère les besoins du nourrisson.

* La vitamine B2 ou Riboflavine



R = OH Riboflavine

R = OPO₃HNa Phosphate ou FMN

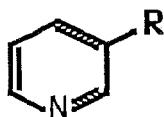
R = O-P-P-Ribose-Adénine ou FAD

Très active sous forme FMN ou FAD au sein de nombreuses déshydrogénases et oxydases de la chaîne respiratoire, du métabolisme des acides gras, des purines ou des acides aminés, la vitamine B2 apparaît assez résistante à la chaleur mais très sensible à la lumière (la destruction peut atteindre 85% dans du lait exposé deux heures au soleil).(26)

Son taux moyen dans le lait maternel de 41 microgrammes pour 100 ml (12), tout comme la thiamine, varie avec le régime alimentaire de la maman mais suffit pratiquement aux besoins recommandés par le CNRS/CNERNA chez le nourrisson soit 0,4 mg/jour. Il ressort que l'hypervitaminose B2 n'existe pas.

Afin de limiter au mieux toute destruction excessive en riboflavine, dans le cadre du lactarium, la conservation des biberons se fait à l'obscurité, en réfrigérateur ou congélateur.

* La vitamine PP ou B3 ou Niacine



R = COOH Acide Nicotinique

R = CONH₂ Nicotinamide dont:

NAD = Nicotinamide-Ribose-P-P-Ribose-Adénine

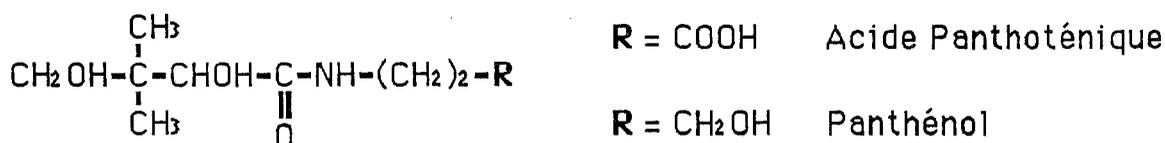
NADP = Nicotinamide-Ribose-P-P-Ribose-Adénine
Phosphate

Précurseur du NAD (Nicotine Adénine Dinucléotide) et du NADP (Nicotine Adénine Dinucléotide Phosphate), la vitamine PP est la moins fragile des vitamines hydrosolubles. Ces deux co-enzymes, en liaison avec des apoprotéines spécifiques, interviennent à différents stades de la dégradation ou de la synthèse des hydrates de carbone, des acides gras, des acides aminés et bien d'autres substances.

Sa concentration de 170 microgrammes pour 100 ml (12) dans le lait féminin ne permet pas une couverture suffisante des besoins quotidiens conseillés par le CNRS/CNERNA (26) (6 mg de vitamine PP par jour pour un nourrisson).

Toutefois, sa teneur résiduelle après passage au lactarium reste nettement supérieure à celle des autres vitamines (plus de 57% par rapport au lait initial) (11).

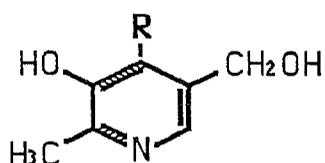
* La vitamine B5 ou Acide Panthoténique



La vitamine B5, souvent liée au calcium ou au sodium, n'entraîne pas d'hypervitaminose reconnue. Sa teneur dans le lait féminin avoisine 210 microgrammes pour 100 ml et permet de couvrir approximativement les besoins recommandés de 2 mg/jour par le CNRS/CNERNA (26). Comme la plupart des vitamines, l'acide panthoténique est sensible à la chaleur mais d'après les travaux effectués par KON et THOMSON (20), il semblerait que la teneur du lait en vitamine B5 ne soit pas modifiée par la pasteurisation (19,20).

L'acide panthoténique est utilisé pour la formation du co-enzyme "A", important dans les métabolismes des hydrates de carbone, des lipides et des acides aminés.

* La vitamine B6 ou Pyridoxine



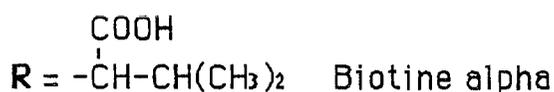
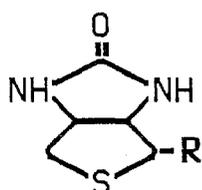
- | | |
|-------------------------------------|--------------|
| R = CH ₂ OH | Pyridoxine |
| R = CHO | Pyridoxal |
| R = CH ₂ NH ₂ | Pyridoxamine |

Ces trois formes de vitamine se regroupent autour d'un pivot réactionnel: le pyridoxal-5 phosphate qui réagit comme co-enzyme de nombreuses enzymes telles que transaminases, décarboxylases, désaminases, transulfurases et désulphhydrases. On notera aussi l'intervention de la vitamine B6 dans:

- le métabolisme des tryptophanes en vitamine PP ou amide nicotinique (au niveau de la transformation de l'hydroxycynurénine en acide hydroxy-anthranilique);
- la synthèse du GABA (acide gamma-aminobutyrique) à partir de l'acide alpha-cétoglutarique;
- le métabolisme de l'acide oxalique.

Son taux dans le lait féminin de 11 microgrammes pour 100 ml (12), ne permet pas de garantir les besoins quotidiens du nourrisson, identiques à ceux en vitamine B1.

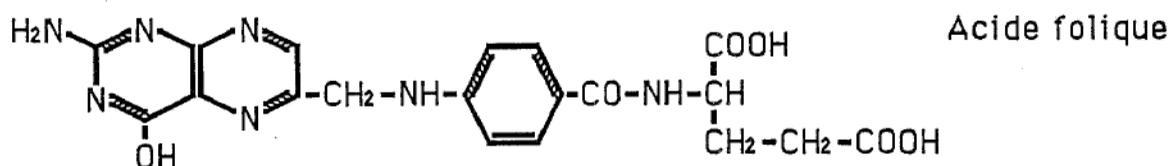
* La vitamine H ou B8 ou Biotine



Une fois encore, la teneur du lait féminin en vitamine H (12) est trop faible pour combler les besoins quotidiens évalués à 35 microgrammes pour le nourrisson. On note cependant qu'une partie de la biotine peut être synthétisée par la flore intestinale.

La biotine fait fonction de co-enzyme spécialisé dans le transport du CO₂, fondamental pour les réactions de carboxylation et de transcarboxylation.

*** La vitamine B9 ou acide folique**

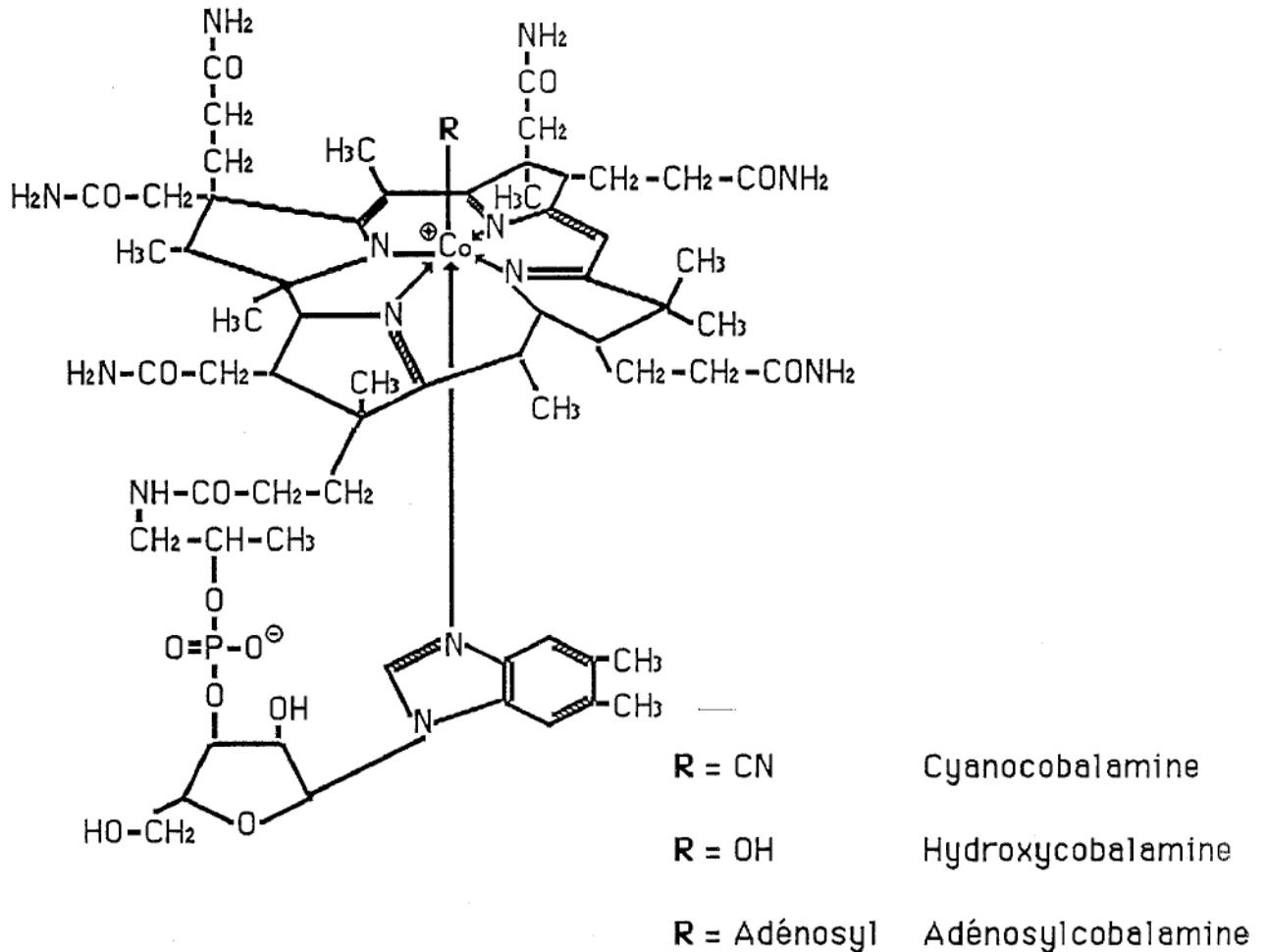


Très étudiée, la vitamine B9 est sensible à la chaleur, la lumière, aux acides, aux bases ainsi qu'aux oxydants et aux réducteurs ce qui peut laisser supposer des pertes conséquentes au cours des traitements effectués au lactarium.

Le CNRS/CNERNA (26) conseille un apport quotidien de 30 microgrammes pour un nouveau-né, largement couvert par le lait maternel; il n'existe pas d'hypervitaminose B9.

L'acide folique se transforme dans l'organisme humain en THF (tétrahydrofolate) en présence d'acide ascorbique, intervenant dans le métabolisme d'acides aminés (catabolisme de l'histidine, interconversion sérine-glycocolle, formation de méthionine), dans la formation des purines et des pyrimidines d'où son importance sur les lignées sanguines et plus particulièrement les érythroblastes.

* La vitamine B12 ou Cobalamine



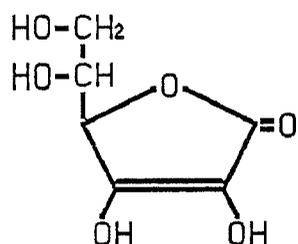
Son taux de 30 microgrammes pour 100 ml de lait féminin garantit au nouveau-né un apport quotidien plus que suffisant: là non plus, il n'existe pas d'hypervitaminose B12. La cobalamine est décomposée par les agents réducteurs, les acides et les bases, effet accentué par la lumière et l'humidité.

Bien qu'incomplètement élucidé, le rôle de la vitamine B12 est de se transformer en deux co-enzymes actifs:

- la méthyl-cobalamine intervenant dans la conversion de l'homocystéine en méthionine couplée au métabolisme des folates vu précédemment.

- la 5-désoxyadénosyl-cobalamine dont l'action se situe au niveau de l'oxydation des corps gras (conversion méthyl-malonyl co-enzyme A en succinyl co-enzyme A) à nombre impair de carbones et d'acides aminés (valine, isoleucine, norleucine, thréonine).

III-1-2- La vitamine C ou Acide Ascorbique



Acide L-Ascorbique

Réputée très fragile notamment face à l'oxydation, à la chaleur et à la lumière, la vitamine C du lait féminin permet de couvrir en grande partie les besoins naturels du nourrisson.

En équilibre avec la forme oxydée, l'acide L-Ascorbique est un élément essentiel:

- dans la régulation du potentiel d'oxydoréduction cellulaire. Elle participe notamment aux métabolismes du collagène, du fer, de la tyrosine et des substances d'origine exogène par l'intermédiaire du cytochrome P450 dans ce dernier cas,
- à la synthèse d'anticorps dans le cas d'infection bactérienne,
- à la résistance aux infections virales.

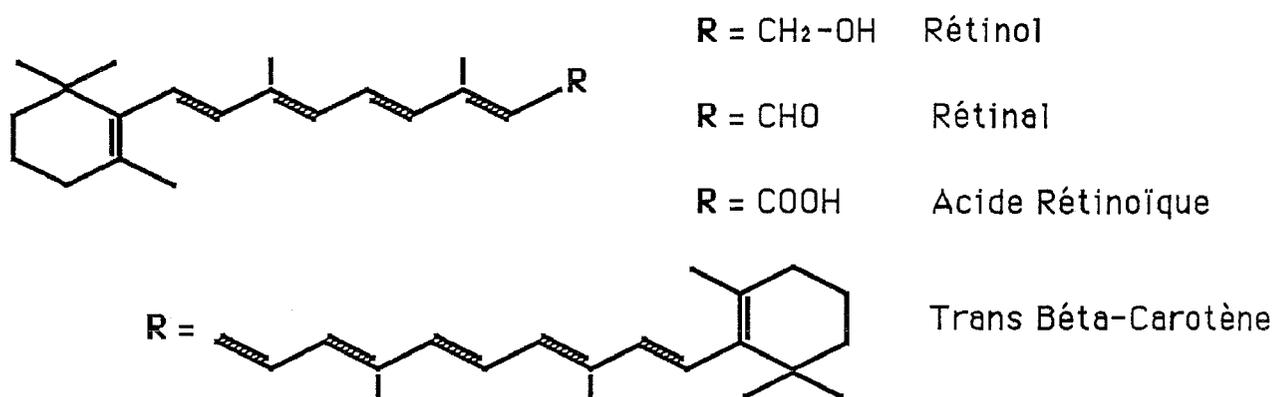
Selon GARZA (16), la conservation de la vitamine C dans le lait de femme apparaît assez mauvaise: chutant de 40% en 24 heures à une température de +4°C, cette destruction atteint 65% après 48 heures de stockage à cette même température.

D'autre part, d'après les dosages effectués par ERB et collaborateurs (11) sur un lait de lactarium, il ressort que les pertes après 24 heures de stockage en congélateur à -25°C soient nettement plus faible (-14%). On retrouve alors un taux résiduel de 43 % soit une perte de 57 % dans un lait de mélange, pasteurisé et congelé un mois!

Enfin, on notera que les taux de vitamine C dans le lait féminin sont susceptibles de varier en fonction du régime alimentaire de la nourrice (12).

III-2- LES VITAMINES LIPOSOLUBLES (25)

III-2-1- La vitamine A ou Rétinol



La présence dans le lait féminin d'une provitamine A, le bêta-carotène, entraîne une libération de deux vitamines A par molécule de bêta-carotène.

Globalement, d'après FOMON (12), nous pouvons dire que les besoins du nourrisson ne sont pas couverts.

La vitamine A participe:

- à la formation du pourpre rétinien (rhodopsine), récepteur de la lumière lors de la vision crépusculaire,

- au maintient de l'intégrité des épithéliums en favorisant la synthèse de mucopolysaccharides et la sécrétion de mucus.

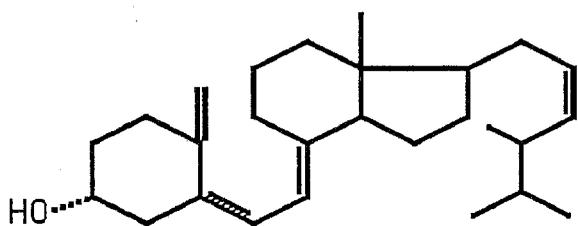
Sa sensibilité à l'oxydation, à la lumière et à la chaleur est connue depuis longtemps.

Cependant, d'après les travaux de GARZA (16), ce dernier a constaté une bonne stabilité de la vitamine A pendant 24 heures à une température de +4°C.

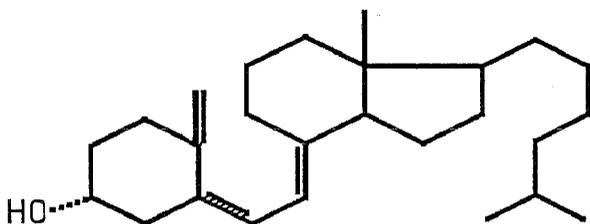
Un peu plus complets, les travaux de ERB et collaborateurs (11) font ressortir un taux en vitamine A de 65 microgrammes pour 100 ml de lait de lactarium et de 300 UI/ml concernant l'activité vitaminique A c'est à dire Vitamine A + Carotène. Après 24 heures de congélation, il ressort une perte de 20% dans chacun des cas (Vitamine A et Activité Vitaminique A) et de 26 à 29% en ce qui concerne un lait de mélange pasteurisé. Dans ce cas de figure, les besoins naturels du nourrisson en vitamine A (et/ou bêta-carotène) sont largement couverts.

On devra cependant remarquer que les taux en vitamine A et bêta-carotène sont liés au régime alimentaire de la nourrice.

III-2-2- Les vitamines du groupe D



Vitamine D2 ou Ergocalciférol



Vitamine D3 ou Cholécalférol

Aux taux mesurés dans le lait féminin par FOMON (12), la vitamine D sous forme D₂ ou D₃, suffit à assurer les 400 UI par jour nécessaires au nourrisson.

Cette vitamine D joue un rôle fondamental dans le métabolisme phosphocalcique, c'est à dire augmente le pool phosphocalcique disponible pour la minéralisation de l'os. On peut mettre en évidence deux métabolites: le 25-OH D₃ et le 1,25-diOH D₃.

Comme la plupart des autres vitamines, la vitamine D craint l'oxydation, la lumière et la chaleur.

Des études (21,23) ont permis de définir les variations de taux de vitamine D dans le lait de femme au cours de la lactation et dans le lait de lactarium.

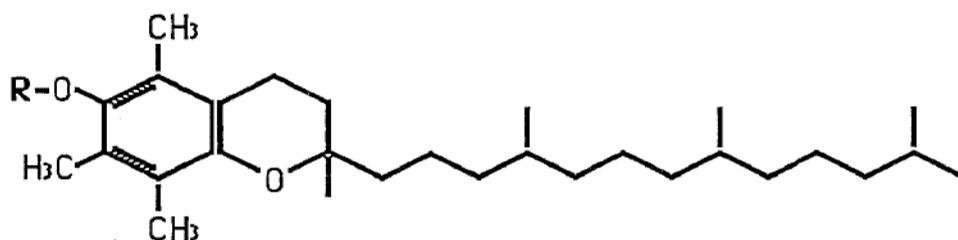
Lait de Femme	LACKDAWALA et collaborateurs (21) (microgrammes)	LE BLOUCH et collaborateurs (23) (microgrammes)
de 3 à 5 jours	17,8 + 3,9	
de 6 à 8 jours	10,0 + 2,9	
de 29 à 42 jours	9,1 + 4	
au lactarium		10
Lait de vache	1,5	4,4

En 1967, SAHASHI (36) avait montré que la vitamine D dans le lait de femme se présentait sous deux formes:

- la vitamine D liposoluble, antirachitique,

- la vitamine D hydrosoluble à un taux de 10 microgrammes par litre soit 400 UI par litre du 6^{ème} au 24^{ème} jour de lactation. On ignore si cette fraction hydrosoluble a la même activité antirachitique que la fraction liposoluble.

III-2-3- La vitamine E ou Tocophérol



R = H

Alpha-Tocophérol

R = CO-CH₃

Acétate de di-Alpha-Tocophérol

Bien qu'il existe de nombreuses formes de tocophérols (bêta, oméga, delta, ...), l'alpha-tocophérol a la meilleure activité vitaminique:

- il a une action antioxydante vis à vis des radicaux libres

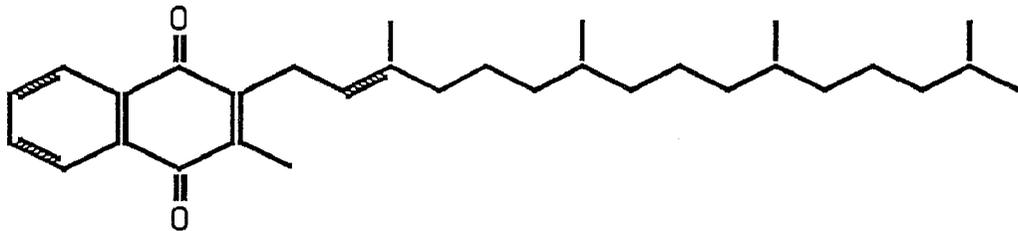
- il protège la vitamine A de l'oxydation ainsi que les carotènes. Elle joue un rôle dans la "stabilisation des lipides membranaires".

- il permet la synthèse de l'hème et des protéines hémiques.

Malgré son taux exprimé par FOMON (12), on constate que les besoins du nouveau-né peuvent être couverts avec un lait de mélange frais de lactarium, d'après les travaux de ERB et collaborateurs (11). Cependant, suite à la congélation et à la pasteurisation, les pertes enregistrées laissent supposer que les besoins quotidiens recommandés par le CNRS/CNERNA (26) chez le nourrisson ne sont plus couverts.

Détruits par l'oxygène et les oxydants, les tocophérols sont sensibles à la lumière; ils seraient apparemment plus stables sous forme d'esters. De plus, suite à la pasteurisation, une congélation à -25°C d'un mois laisse entrevoir des pertes supplémentaires de 26,5%.

III-2-4- La vitamine K1 ou Phytoménadione ou Phylloquinone



Phytoménadione ou Phylloquinone

Indispensable à l'activation par le foie de certains facteurs de la coagulation qui sont la prothrombine (facteur II), la proconvertine (facteur VII), le facteur antihémophilique B ou facteur Christmas ou Plasma Thromboplastin Component (PTC ou facteur IX) et le facteur Stuart (facteur X), la vitamine K est présente dans le lait maternel à un taux de 15 microgrammes pour 100 ml, couvrant les besoins quotidiens du nourrisson.

On notera cependant que les nouveau-nés présentent une hypoprothrombinémie persistant quelques jours après la naissance, laquelle, non compensée par le lait maternel, devra l'être par un apport extérieur de vitamine K₁ (phylloquinone) à des doses de 1 à 4 mg/jour ou 1 à 4 gouttes/jour.

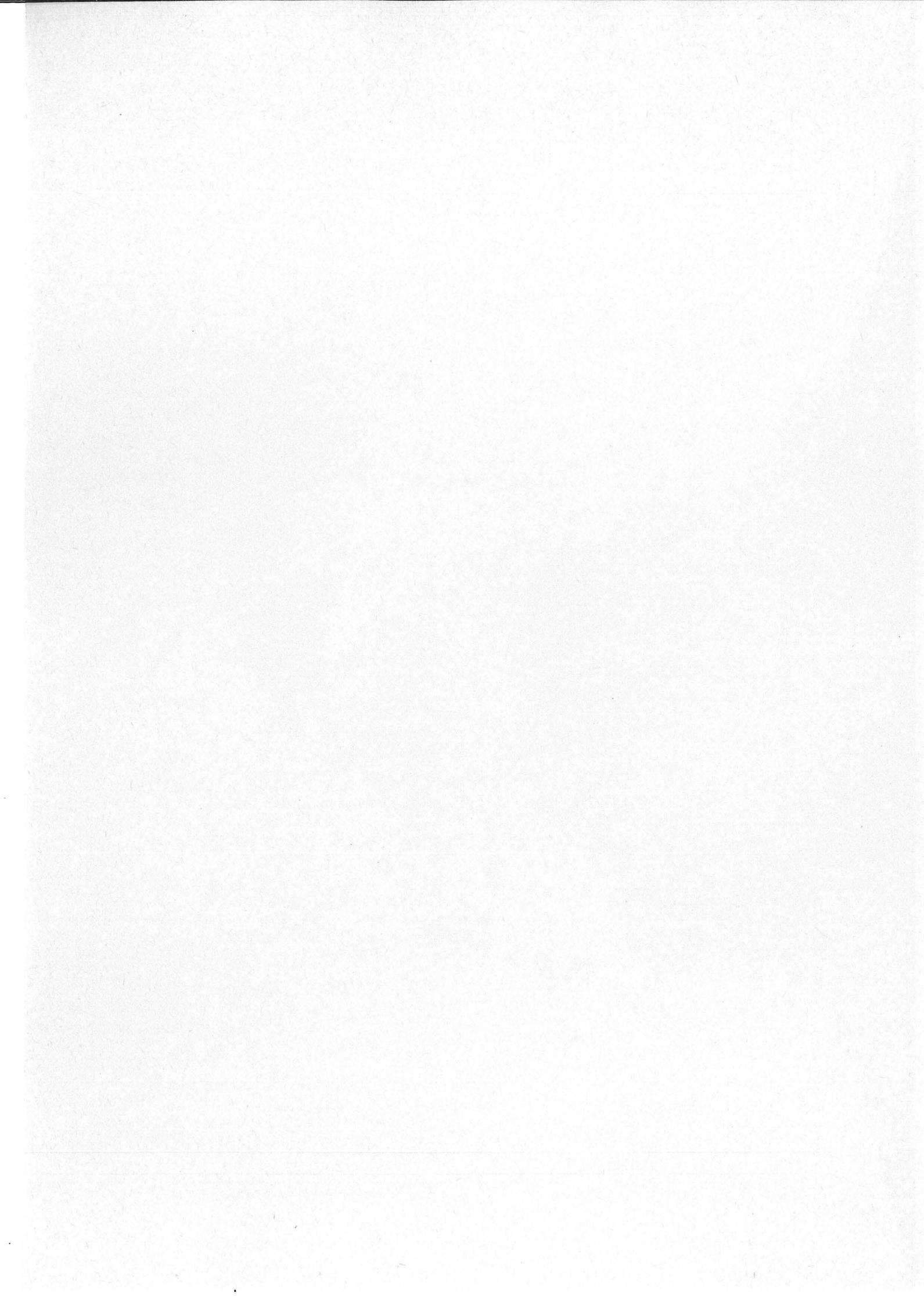
La phytoménadione est sensible à la lumière, aux oxydants et aux milieux basiques.

III-3- CONCLUSION

D'après les travaux effectués par FOMON (12), il nous apparaît que le lait maternel ne couvre guère tous les besoins en vitamines d'un nouveau-né.

De plus, les recherches de l'équipe ERB et collaborateurs sur quelques vitamines A, A + carotène, B₁, B₂, C et PP ont permis de constater que chaque étape de pasteurisation ou congélation-décongélation entraîne des pertes de 20 à 30%; bien que ceci soit confirmé par les travaux de GARZA (16), il nous faut noter que la pasteurisation employée (11) (78°C pendant dix minutes) n'implique pas les mêmes conditions qu'au lactarium régional Rhône-Alpes (58°C pendant ~~vingt~~ 60 minutes).

En fait, une diminution de 5 à 7°C de la température de pasteurisation réduit les pertes en vitamines de 5 à 10%, même pour un temps de pasteurisation deux fois plus important. On pourra aussi atténuer ces pertes par un stockage plus court, afin d'obtenir des taux résiduels de l'ordre de 60% par rapport aux vitamines initiales.



IV- ETUDE DE LA TENEUR
VITAMINIQUE DU LAIT FEMININ AVANT ET APRES
PASTEURISATION

Comme le lait féminin présente une très grande valeur pour un nourrisson, il nous était difficile de nous procurer des échantillons nominatifs et en quantité suffisante pour mener à bien cette recherche.

Face à ce problème et étant donnée la variation de la composition du lait maternel au cours de la tétée (donc de la teneur vitaminique), le lactarium Rhône-Alpes a aimablement mis à notre disposition une série d'échantillons avant et après pasteurisation, afin de suivre l'évolution de la teneur vitaminique d'un même lot.

IV-1-PRESENTATION DES CONDITIONS D'EXPERIMENTATION

Afin de réaliser des dosages les plus fiables possibles, il nous a paru important de calquer les conditions de transport du lait féminin sur le lactarium Rhône-Alpes jusqu'à son utilisation.

Nous sommes allés à Lyon, au 31 rue Bossuet, récupérer les groupes d'échantillons préparés par Madame FAGOT et son équipe, c'est à dire deux à trois biberons de 50 millilitres avant pasteurisation et deux à trois biberons du même lot pris après pasteurisation.

Toujours pour coller au mieux avec une conservation optimale des vitamines, le lait à étudier était placé à l'obscurité dans une glacière munie de blocs de réfrigération de manière à éviter toute décongélation au cours du transport en voiture (Durée: une heure).

A l'arrivée au laboratoire de Chimie Analytique de la faculté de pharmacie de Grenoble, les échantillons étaient décongelés rapidement

dans un bain d'eau froide, pour amener le lait féminin à une température de +15°C environ.

Avant toute prise d'essai, le lait était réhomogénéisé par simple agitation manuelle pendant quelques secondes.

N.B: De manière à respecter la répartition des vitamines hydro et liposolubles, il est indispensable d'attendre suffisamment afin d'obtenir une température homogène dans tout l'échantillon.

IV-2- DOSAGE DES VITAMINES

Etant donné le grand nombre de vitamines présentes dans le lait maternel et le faible volume de lait dont nous disposions, nous avons dû nous limiter au dosage de certaines vitamines.

Nous les avons choisies en fonction de leur fragilité, donc du risque de dégradation lors de la pasteurisation et également en fonction de leur caractère indispensable pour le nourrisson.

IV-2-1- Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique, vitamine hydrosoluble, est théoriquement présente dans le lait féminin à un taux de 4 mg/100 ml.

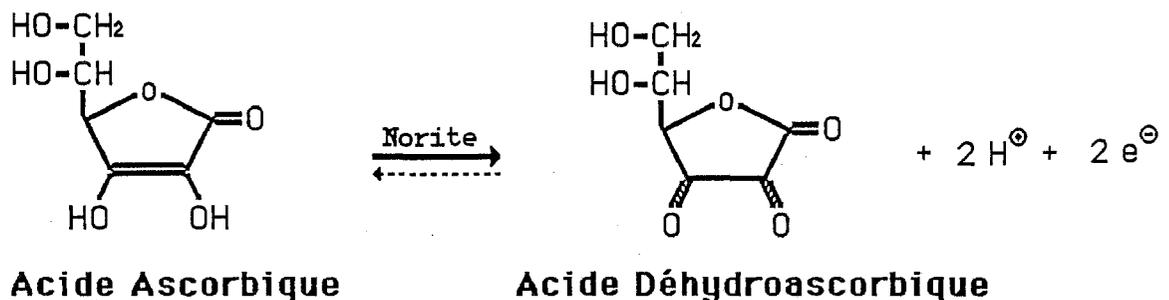
Pour la doser, nous avons choisi une technique fluorimétrique. Après oxydation préalable en acide déhydroascorbique, la condensation avec l'orthophénylènediamine donne en effet un produit fluorescent.

* Principe de la méthode (39)

- Extraction de la vitamine C

Elle est réalisée par une solution d'acide métaphosphorique à 3%* qui joue un double rôle: complexation des métaux qui pourraient catalyser la dégradation oxydative de l'acide ascorbique et défécation des protéines du lait.

L'acide ascorbique reste donc en phase aqueuse acide. Il est oxydé en acide déhydroascorbique par addition de norite**:

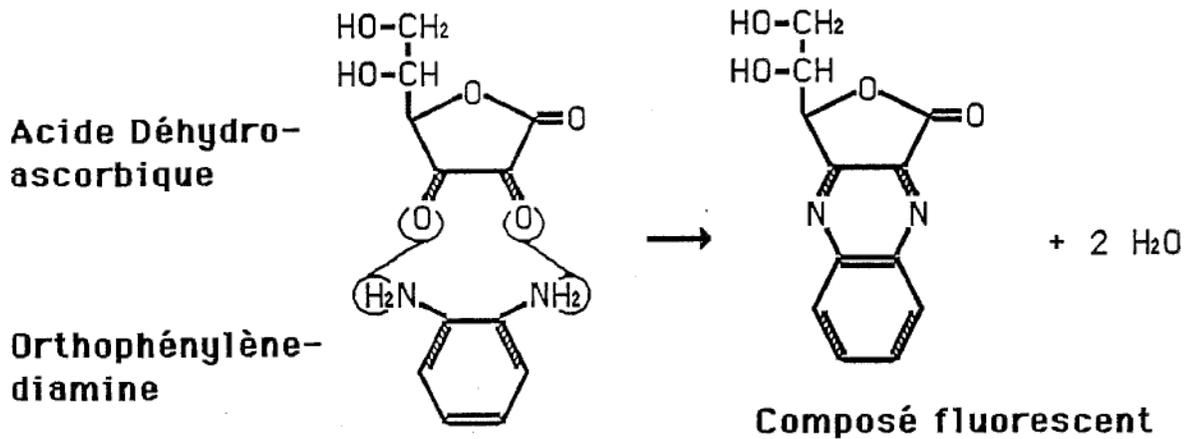


- Dosage de la vitamine C

L'acide déhydroascorbique ainsi obtenu pourra alors se combiner avec l'orthophénylènediamine pour former un produit fluorescent:

N.B: *Acide Métaphosphorique à 3% = 3 g. Acide Métaphosphorique + 8 ml Acide Acétique pur + Eau Distillée Q.S.P. 100 ml.

** Norite = charbon végétal activé en milieu acide par HCl à 10% (T°= 100°C) puis rincé et séché.



Cette condensation se produit en présence d'acétate de sodium qui tamponne l'acidité du milieu réactionnel.

Pour éliminer les fluorescences parasites, des témoins sont réalisés parallèlement aux essais. Dans ces témoins, l'acide ascorbique est bloqué par l'acide borique ce qui annule la réaction avec l'orthophénylènediamine.

La fluorescence éventuelle mesurée, provenant des substances interférentes, sera déduite de celle des essais.

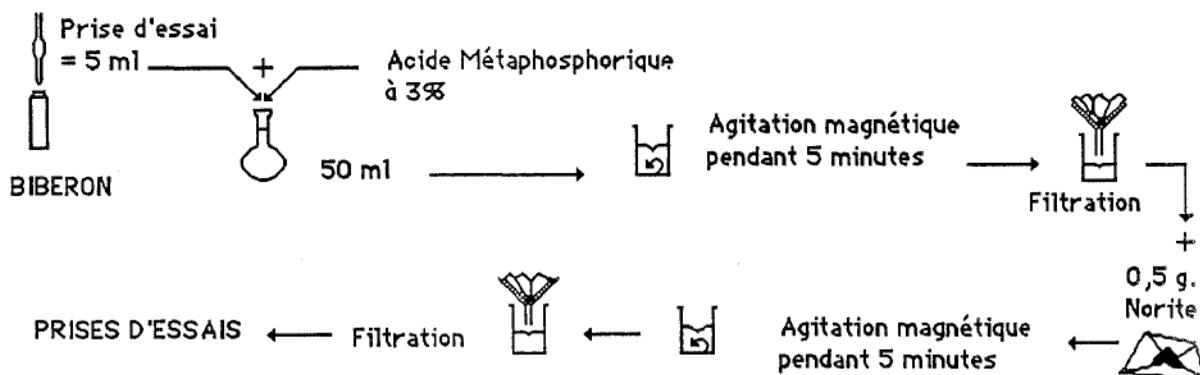
* Technique (Figure 4)

- Gamme étalon

Cette gamme comporte six points. Pour des raisons de commodité, nous avons réalisé une "prégamme" préalable. Pour cela, nous avons préparé une solution d'acide ascorbique à 50 mg dans 100 ml d'eau distillée. Cette solution est diluée deux fois successivement au 1/10^{ème}. La dernière solution a donc une concentration de 0,50 mg/100 ml (soit 5 µg/ml).

EXTRACTION DE LA VITAMINE C

(FIGURE 4)

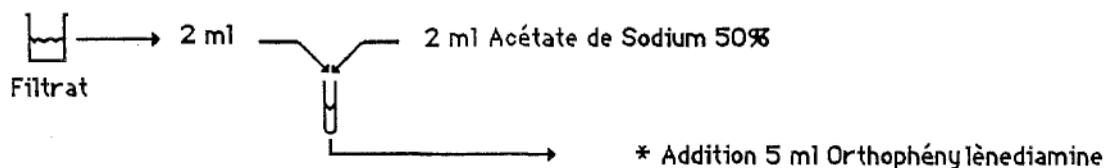


DOSAGE DE LA VITAMINE C

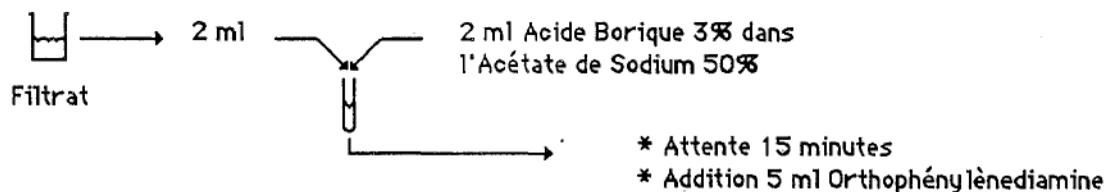
* Gamme Etalon

- <u>Prégamme</u>	+	0	1	2	3	4	5	ml de solution de Vitamine C Fille II
		5	4	3	2	1	0	ml d'Acide Métaphosphorique 3%
		↓	↓	↓	↓	↓	↓	
- <u>Gamme</u>	+	2	2	2	2	2	2	ml de chaque tube de la prégame
	+	2	2	2	2	2	2	ml d'Acétate de Sodium 50%
	+	5	5	5	5	5	5	ml d'Orthophénylènediamine

* Essais



* Témoins négatifs



* Attente 30 à 35 minutes à l'obscurité

* Lecture au spectrofluorimètre à 430 nm

Dans des tubes à essais, nous introduisons 0-1-2-3-4-5 ml de cette solution diluée et respectivement 5-4-3-2-1-0 ml de la solution d'acide métaphosphorique à 3%.

Ces tubes renferment donc respectivement 0-1-2-3-4-5 µg d'acide ascorbique.

Après une soigneuse agitation, 2 ml de chaque solution sont prélevés et additionnés de 2 ml de solution aqueuse d'acétate de sodium à 50% puis de 5 ml de solution aqueuse d'orthophénylènediamine à 12 mg/100ml.

La mesure de l'intensité de fluorescence est faite après 30 minutes de repos à l'obscurité, dans les conditions suivantes:

- Spectrofluorimètre à réseau JOBIN et YVON type J4 3D
- Longueur d'onde d'excitation = 360 nm
- Longueur d'onde d'émission = 430 nm
- Fentes = 4 nm
- Gain = 100

Le premier tube sert à faire le zéro de l'appareil. Les intensités de fluorescence des autres tubes sont mesurées et permettent de tracer la courbe d'étalonnage.

- Essais

Deux dosages sont faits en parallèle sur chaque prise d'essai.

Une prise d'essai de lait de 5 ml est introduite dans un ballon jaugé de 50 ml qui est complété au volume à l'aide de la solution aqueuse d'acide métaphosphorique à 3%.

L'ensemble est soumis à une agitation magnétique durant cinq minutes afin d'optimiser le contact du lait féminin avec l'acide métaphosphorique donc la défécation des protéines.

La solution est filtrée sur filtre plissé de manière à recueillir le filtrat limpide contenant la vitamine C sous forme "acide ascorbique".

On ajoute alors 0,5 g de Norite pour oxyder l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique.

Après une nouvelle agitation magnétique pendant cinq minutes, puis une filtration sur filtre plissé, on obtient alors le filtrat sur lequel seront effectués les dosages.

A 2 ml de filtrat sont ajoutés, comme pour la gamme:

- 2 ml de solution aqueuse d'acétate de sodium à 50%
- 5 ml de solution aqueuse d'orthophénylènediamine à 12

mg/100ml.

Les mesures sont faites dans les mêmes conditions que pour la gamme étalon.

- Témoins négatifs

A 2 ml de filtrat sont ajoutés 2 ml de solution d'acide borique à 3% dans la solution aqueuse d'acétate de sodium à 50%. Ce réactif est préparé extemporanément.

Après un temps de contact de 15 minutes, on ajoute 5 ml de solution d'orthophénylènediamine. La mesure de la fluorescence parasite est alors effectuée.

Elle sera déduite de la fluorescence des essais correspondants.

*** Critique du protocole utilisé**

- Comme nous l'avons décrit dans le paragraphe III-1-2, la destruction assez importante de la vitamine C au cours du stockage pourra entraîner des variations de résultats indépendantes des conditions expérimentales.

- Malgré toutes les précautions prises pour le dosage, l'influence de la lumière aussi infime soit-elle existe, pouvant minorer aussi les teneurs en vitamine C par photodégradation de nos échantillons.

- La méthode est rapide (quelques heures) et facile à mettre en oeuvre.

IV-2-2- Les vitamines liposolubles

Dans ce cas, nous nous sommes limités à l'étude de trois vitamines courantes: la vitamine A (Rétinol et Acétate de Rétinol), la vitamine D₃ (ou Cholécalférol) et la vitamine E (Tocophérol et Acétate de Tocophérol).

Le dosage est réalisé sur la phase lipidique extraite par la technique éthéroacétique (méthode officielle pour le dosage de la matière grasse dans le lait).

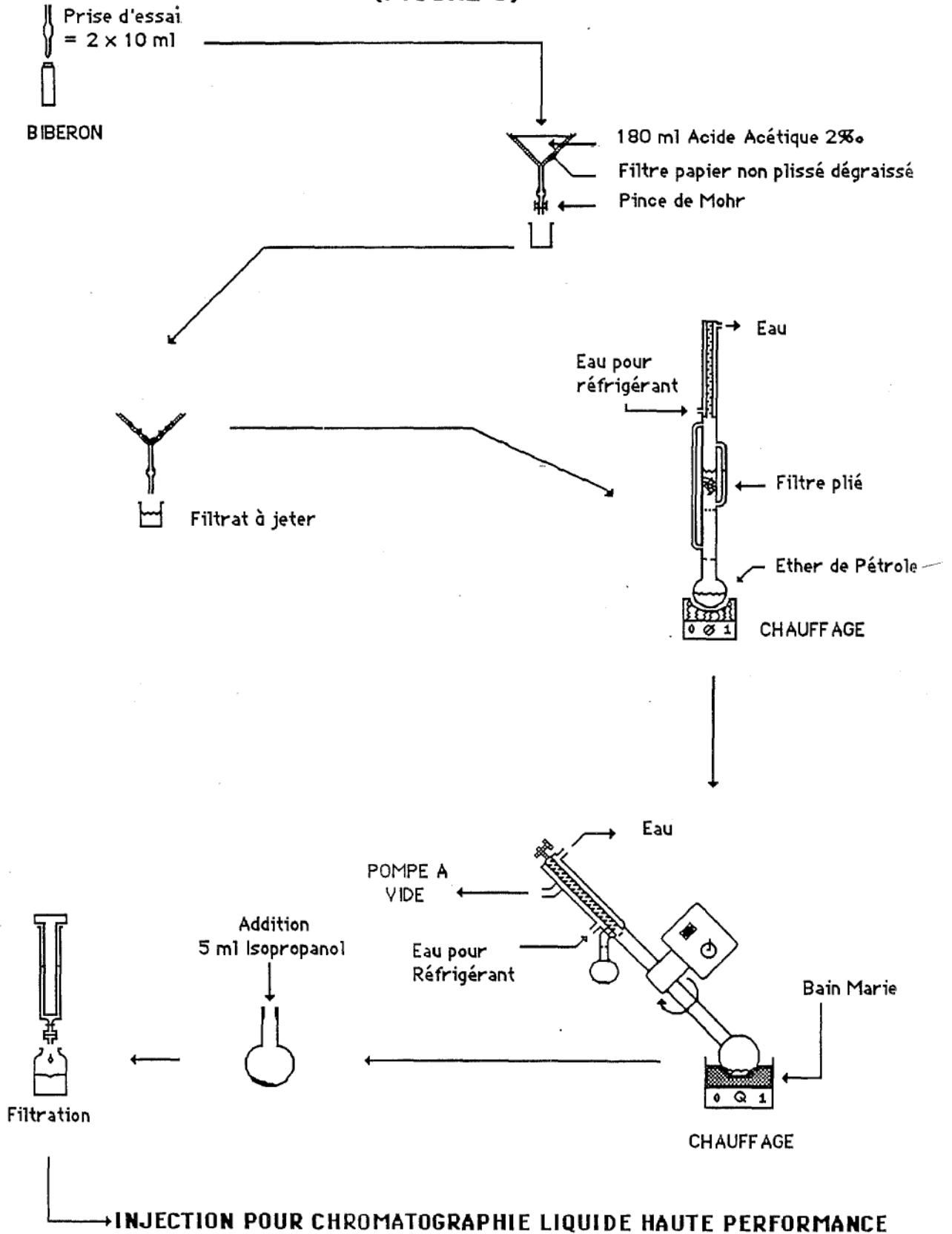
La technique de dosage est la chromatographie liquide haute performance.

*** Description de la méthode (7,10)**

- Extraction éthéroacétique des matières grasses (Figure 5)

EXTRACTION DES MATIERES GRASSES D'APRES LA METHODE OFFICIELLE

(FIGURE 5)



Dans un entonnoir de 250 ml environ, prolongé par un tube de caoutchouc obturé par une pince de Mohr, on dispose un filtre non plissé dégraissé puis on verse 180 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique à 2 pour mille*.

Quand le filtre est totalement imbibé, nous ajoutons goutte à goutte avec une pipette à lait notre prise d'essai de deux fois 10 ml de lait féminin répartie sur toute la surface du liquide: au contact de l'acide acétique, on observe une précipitation des protéines du lait sous forme d'un coagulum de caséine englobant les matières grasses.

Après quelques minutes de contact, nous ouvrons la pince de Mohr: le filtrat ainsi obtenu doit être repassé sur le filtre jusqu'à l'obtention d'un filtrat limpide.

Une fois égoutté, le filtre est abandonné pour qu'il sèche spontanément à l'air pendant toute la nuit (10 à 12 heures environ).

Le lendemain, le filtre, couvert de matières grasses jaunâtres, est introduit dans l'extracteur d'un appareil de Soxhlet et épuisé en continu par l'éther de pétrole durant sept heures environ: la totalité des matières grasses renfermant les vitamines A, D₃ et E passe en solution dans l'éther de pétrole.

L'éther de pétrole est recueilli puis évaporé sous vide à l'aide d'un appareil type Rotavapor (Température de 20 à 25°C) jusqu'à obtenir un résidu plus ou moins visqueux de matières grasses totales qui est repris par 5 ml d'isopropanol.

A ce niveau, il nous faut noter que certains échantillons ont été congelés dans le but de minimiser la destruction des vitamines au cours du stockage avant l'injection en C.L.H.P.

N.B: * Acide acétique à 2 pour mille = 2 ml d'acide acétique pur cristallisable + eau du robinet QSP 1000ml.

Dernière étape de l'extraction des vitamines liposolubles: la filtration de l'échantillon sur filtre organique afin d'éliminer toute impureté résiduelle de l'extraction. Le filtrat obtenu est introduit dans un petit flacon de verre teinté, protégeant ainsi les vitamines des rayonnements lumineux et conservé au congélateur jusqu'au jour d'injection.

- Dosage des vitamines A, D3 et E:

Ce dosage s'effectue par chromatographie liquide Haute Performance à l'aide de l'appareillage suivant:

- pompe haute pression type CHROMATEM 380
- programmeur type CHROMATEM 800 régulant le débit à 0,85 ml/mn et la pression aux alentours de 130 bars.
- détecteur U.V. SHIMATZU type SPD 6 AV
- intégrateur type SHIMATZU C-R6A Chromatopac
- colonne type CHROMATEM C14 5 μ , longueur 25 cm.

Chaque filtrat obtenu après extraction sera injecté deux fois et analysé à deux atténuations différentes soit quatre graphiques par filtrat et huit graphiques correspondant à chaque échantillon initial.

Le solvant utilisé pour l'analyse est composé de 96% de Méthanol et de 4% d'eau distillée, le méthanol et l'eau étant filtrés respectivement sur filtre organique et sur filtre aqueux spéciaux pour C.L.H.P.

L'injection d'un volume constant est obtenue par l'intermédiaire d'un injecteur à boucle de 20 microlitres.

Grâce à l'intégrateur, les temps de rétention et les surfaces des pics peuvent être mesurés.

En parallèle, toutes les deux ou trois injections, un témoin contenant les vitamines recherchées (Rétinol, Rétinol Acétate, Cholécalférol, Tocophérol et Tocophérol Acétate) doit être injecté de manière à obtenir les temps de rétention et les concentrations.

La durée des enregistrements est de 25 minutes, couvrant largement les temps de rétention des trois vitamines étudiées: dans l'ordre sortent le Rétinol (TR = 4,18), l'Acétate de Rétinol (TR = 5,55), le Cholécalférol (TR = 11,05), le Tocophérol (TR = 13,80) et l'Acétate de Tocophérol (TR = 17,69).

*** Calcul des résultats**

Etant donné que notre prise d'essai de lait est de 20 millilitres (2x10 ml) et que le résidu obtenu est repris par 5 millilitres d'isopropanol avant l'injection en C.L.H.P., la concentration lue en $\mu\text{g/ml}$ sur la courbe d'étalonnage établie par injections de solutions témoins d'acétate de rétinol et de tocophérol, devra être multipliée par 5 pour connaître la quantité réellement présente dans les 5 millilitres d'isopropanol, c'est à dire la quantité qui correspond à notre prise d'essai de 20 ml.

Nous exprimerons nos résultats en $\mu\text{g}/100$ ml de lait féminin après avoir multiplié par 5 la quantité précédemment calculée.

En résumé, pour connaître la concentration de vitamines liposolubles en $\mu\text{g}/100$ ml dans le lait féminin, il suffira de multiplier par 25 les résultats lus sur les courbes d'étalonnage en acétate de rétinol et en tocophérol.

* Critiques de la méthode

- Outre les aspects déjà signalés dans les critiques de la méthode de dosage de la vitamine C et qui se retrouvent identiques dans cette méthode, il nous faut remarquer plusieurs points délicats:

a/ au cours de l'extraction des matières grasses par la méthode officielle du laboratoire municipal de la préfecture de police, le filtre est laissé à l'air libre jusqu'à dessiccation totale d'où un risque de destruction des vitamines par l'action des radiations lumineuses et de dénaturation par oxydation à l'air;

b/ au niveau de l'extraction éthéroacétique des matières grasses, la température de l'ordre de 50°C à laquelle sont soumises les vitamines durant sept heures peut aussi avoir une influence sur leur bonne conservation.

c/ de plus, l'alternance de congélation-décongélation est susceptible de modifier la teneur et l'état de ces vitamines.

- C'est une méthode longue et lourde (36 heures au minimum).

IV-3- RESULTATS

IV-3-1- Vitamine C

a/ Lecture des résultats

D'après les conditions décrites dans le paragraphe IV-2-1, nous avons effectués les lectures au spectrofluorimètre à 430 nm, avec une longueur d'onde d'excitation de 360nm.

Prenons pour exemple les échantillons 7 AV, 7 AP, 8 AV et 8 AP: après établissement de la courbe d'étalonnage, nous avons pu obtenir les concentrations en vitamine C en mg/100 ml avant et après pasteurisation (Figure 6).

GAMME ETALON

Tubes	0	1	2	3	4	5
Fluorescence à 430 nm	0	0,057	0,110	0,165	0,210	0,256

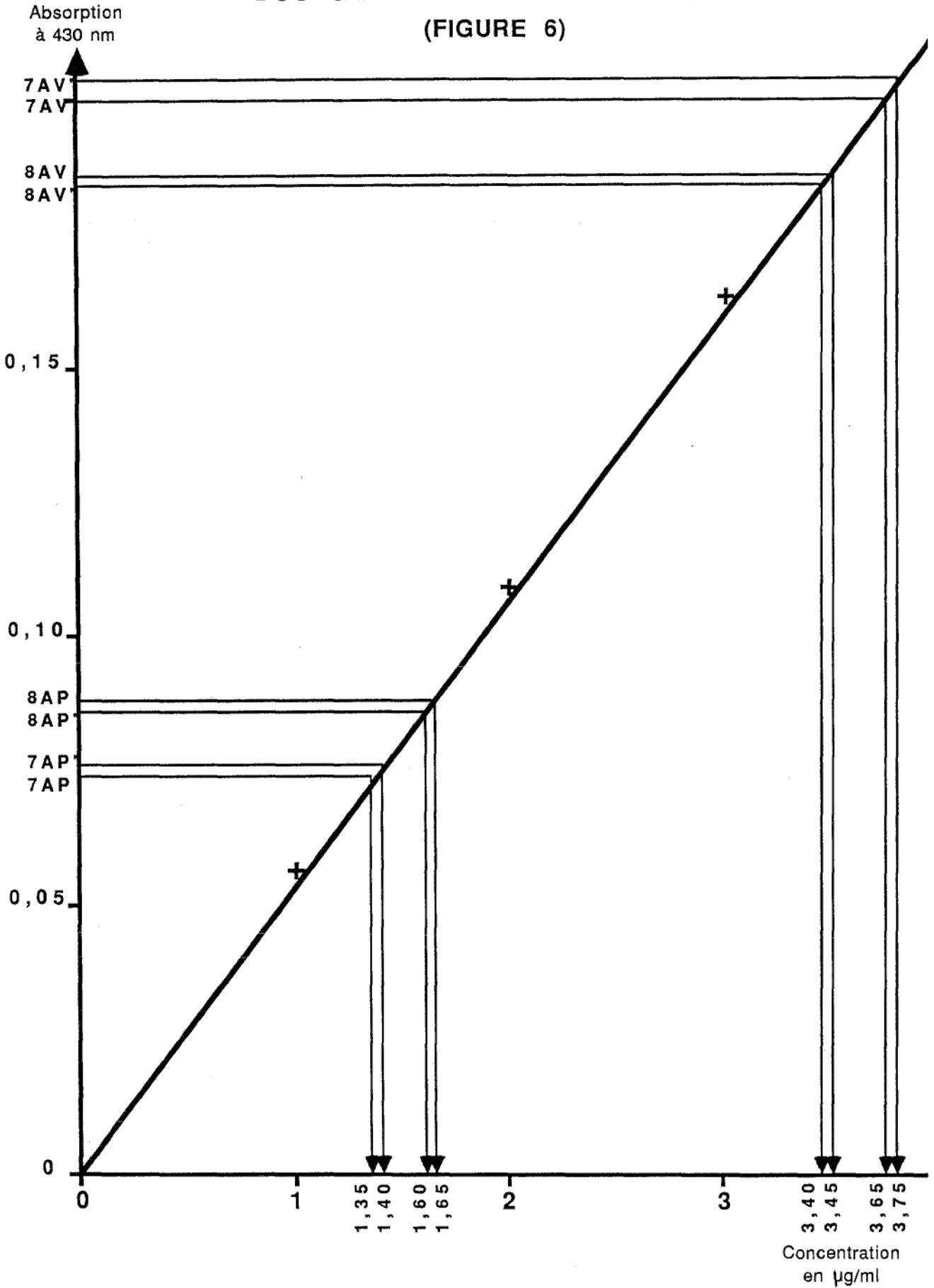
ESSAIS

Tubes	7AV	7AV'	7AP	7AP'	8AV	8AV'	8AP	8AP'
Fluorescence à 430 nm	0,200	0,204	0,073	0,076	0,186	0,184	0,088	0,086
Concentration (µg/ml)	3,65	3,75	1,35	1,40	3,45	3,40	1,65	1,60
(mg/100 ml de lait féminin)	3,65	3,75	1,35	1,40	3,45	3,40	1,65	1,60

Tous les échantillons étudiés ont été traités de la même manière le jour de leur arrivée dans le laboratoire de Chimie Analytique à la faculté de Pharmacie de Grenoble, les résultats sont rassemblés dans le tableau VIII.

Il faut noter que les trois premiers échantillons E_a, E_b et E_c ont été pris avant pasteurisation, afin de mettre au point la méthode analytique. Leurs résultats ne seront mentionnés qu'à titre indicatif.

DOSAGE DE L'ACIDE ASCORBIQUE (FIGURE 6)



b/ Résultats et commentaires

*** Echantillons Ea, Eb et Ec**

En ce qui concerne les trois premiers échantillons Ea, Eb et Ec, nous constatons une grande disparité dans les résultats entre Ea = 3,115 mg/100 ml, et Eb et Ec (= 1,68 et 1,90 mg/100 ml). Ceci peut s'expliquer de la manière suivante: les trois échantillons datant du 17.07.89, l'analyse de Ea a été faite le 18.07.89 et celles de Eb et Ec le 20.07.89 soit une différence de 48 heures entre les deux analyses, entraînant des pertes de l'ordre de 39 à 46%.

Nous pouvons remarquer que les trois échantillons ont été décongelés simultanément puis conservés, tous trois, en réfrigérateur à +4°C à l'obscurité. Bien que peu significative vu le nombre d'échantillons, ces pertes dues au stockage sont en accord avec les travaux effectués par GARZA et son équipe (16).

*** Echantillons 1 à 11**

Rassemblés dans le tableau VIII et dans la figure 7, les résultats sont exprimés en mg/100 ml avant (= AV) et après pasteurisation (= AP).

Là encore, nous constatons une grande variabilité dans les taux de vitamine C dans le lait féminin avant la pasteurisation: comme nous l'avions décrit dans le chapitre I-3-2-2 (ramassage du lait de femme par Madame PAUGAM), il ressort que la collecte du lait maternel n'est pas faite systématiquement tous les jours, allant du jour même à toutes les deux semaines pour les régions les plus éloignées. De plus, parmi les échantillons suivis, nous devons tenir compte du temps de latence entre le jour de notre ramassage et le jour de l'analyse:

**RESULTATS DES DOSAGES DE LA VITAMINE C
(TABLEAU VIII)**

	Essais		Pertes en vitamine C	
	avant pasteurisation (mg/100 ml)	après pasteurisation (mg/100 ml)	par pasteurisation (mg/100 ml)	(%)
Ea	3,115	-	-	-
Eb	1,68	-	-	-
Ec	1,90	-	-	-
1	2,18	0,75	1,43	65,6
2	2,40	0,91	1,49	62,1
3	2,43	0,86	1,57	64,6
4	2,88	0,89	1,99	69,1
5	2,92	0,76	2,16	74,0
6	2,18	0,68	1,50	68,8
7	3,70	1,375	2,325	62,8
8	3,425	1,625	1,80	52,6
9	4,088	2,20	1,888	46,2
10	2,763	0,725	2,038	73,8
11	3,563	0,938	2,625	73,7
M	2,957 ±0,206	1,065 ±0,151	1,892	64,0

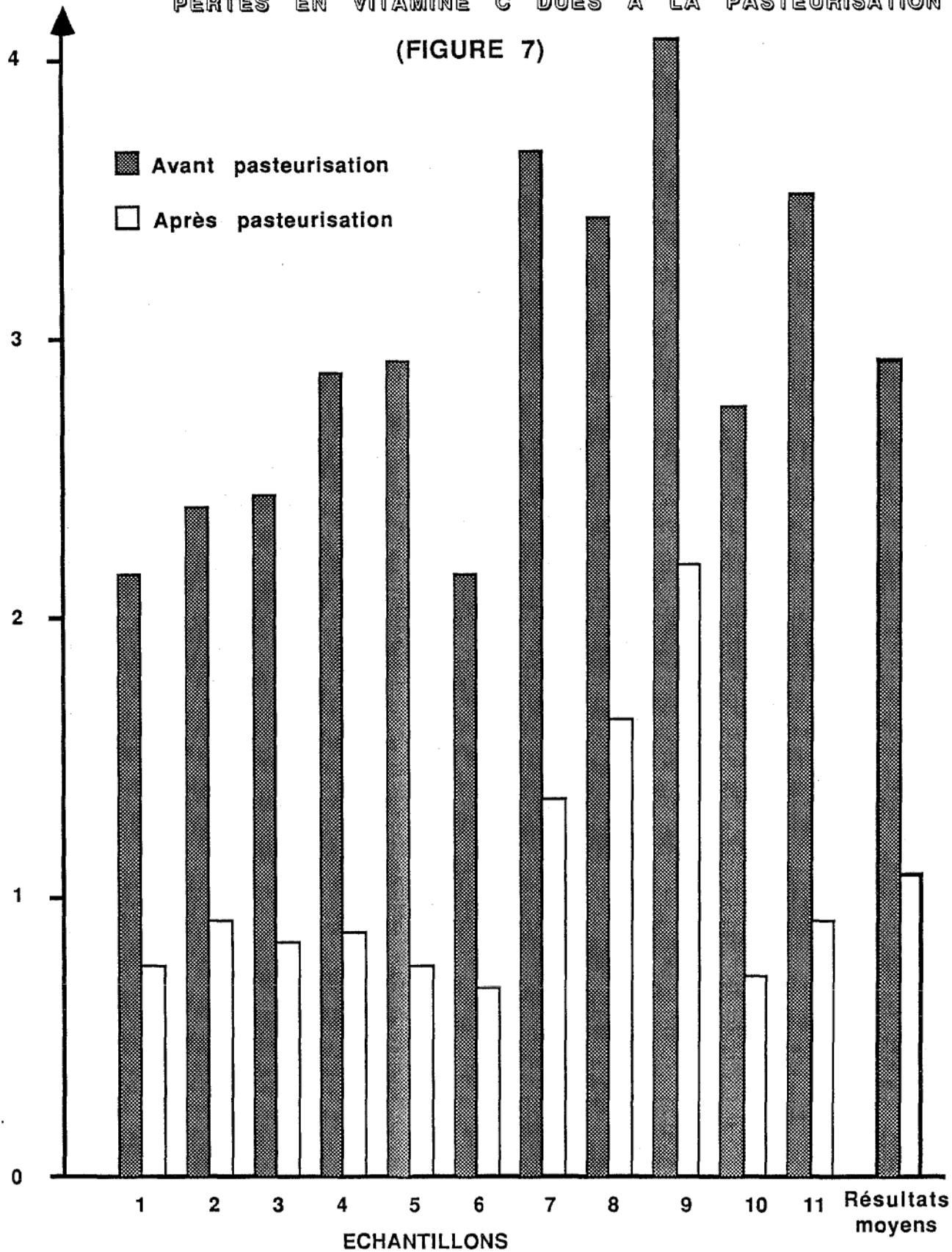
avec M = Teneurs moyennes des essais

Remarque: Les chiffres indiqués correspondent à la moyenne de plusieurs résultats concordants

Concentration
en mg/100 ml

PERTES EN VITAMINE C DUES A LA PASTEURISATION

(FIGURE 7)



- pour les échantillons 4 AV, 5 AV et AP, 7 à 11 AV et AP, l'analyse a été effectuée le jour même du ramassage.

- pour les échantillons 1, 2 et 3 AV et AP, 4 AP et 6 AV et AP, le délai a été de 24 heures, expliquant en partie des teneurs assez faibles en vitamine C. Cependant, nous noterons qu'au cours du dosage de l'échantillon 4 AP, l'imprécision du résultat obtenu le jour même du ramassage de l'échantillon, nous a contraint à effectuer un nouveau dosage le lendemain (d'où une latence de 24 heures par rapport au 4 AV). Malgré ce contre-temps, nous avons obtenu des résultats plus précis, compris dans la fourchette de ceux de la veille, l'influence du stockage pendant 24 au réfrigérateur semble faible.

Nous remarquerons aussi que les échantillons 6 AV et 6 AP sont des échantillons "maison": constitués de 50 ml d'un sixième échantillon fourni par le lactarium de Lyon, nous leur avons ajouté respectivement 20 ml de 4 AV et 20 ml de 5 AV dans le sixième échantillon initial avant pasteurisation, et 20 ml de 4 AP plus 20 ml de 5 AP dans le sixième échantillon après pasteurisation, ceci afin d'obtenir un plus grand volume qui nous sera nécessaire pour d'autres dosages. (cf IV-3-2).

Compte tenu de ces quelques modifications, nous pouvons quand même constater une nette différence des taux de vitamine C dans le lait maternel avant et après pasteurisation, cette chute n'étant due qu'à la pasteurisation. Ces pertes s'échelonnent de 1,43 mg à 2,625 mg/100 ml en pertes brutes (échantillons 1 AV-1 AP et 11 AV-11 AP) qui, rapportées à leur teneur initiale, ne sont pas les écarts les plus importants constatés.

En effet, si l'on regarde les pertes moyennes en vitamine C dues à la pasteurisation, par rapport à leur teneur initiale, nous remarquons que ces pertes sont comprises entre 46,2% pour les échantillons 9 AV-9 AP, qui semblent avoir bien résistés à la pasteurisation, et 74,0% pour les

échantillons 5 AV-5 AP qui, eux, ont beaucoup souffert de cette pasteurisation, soit en moyenne 1,892 mg/100 ml de vitamine C perdue ou plus exactement une perte moyenne pour tous nos échantillons chiffrée à 64,0% par rapport aux teneurs initiales en vitamine C, ces résultats étant nettement supérieurs aux pertes annoncées par l'équipe ERB (11).

* Comparaison des moyennes avant et après pasteurisation par le test F (37)

Dans chaque lot d'échantillons, nous calculons:

- la moyenne

$$\bar{AV} = \frac{\sum AV_i}{n_{AV}} \quad \bar{AP} = \frac{\sum AP_i}{n_{AP}}$$

- la variance

$$s_{AV}^2 = \frac{\sum (AV_i - \bar{AV})^2}{n_{AV} - 1} \quad s_{AP}^2 = \frac{\sum (AP_i - \bar{AP})^2}{n_{AP} - 1}$$

A partir de cette variance, nous obtenons l'écart-type et la s.e.m.

$$\sigma = \sqrt{\text{Variance}} \quad \text{s.e.m.} = \frac{\text{écart-type}}{\sqrt{n_{AV}}}$$

De là, nous pouvons calculer la valeur F telle que:

$$F = \frac{(\bar{AV} - \bar{AP})^2}{\left[\frac{(n_{AV}-1) \cdot s_{AV}^2 + (n_{AP}-1) \cdot s_{AP}^2}{n_{AV} + n_{AP} - 2} \right] \times \left[\frac{n_{AV} + n_{AP}}{n_{AV} \cdot n_{AP}} \right]}$$

Nous avons donc $v = n_{AV} + n_{AP} - 2$ degrés de liberté.

Nous reportons cette valeur "F" expérimentale dans une table de SNEDECOR où se trouve une valeur $F_{1, n_{AV} + n_{AP} - 2}$ et qui nous donnera une valeur "p1". D'où $p = 1 - p_1$ utilisé pour l'interprétation des résultats précédents.

	Moyenne (mg/100ml)	Ecart-type (mg/100ml)	s.e.m. (mg/100ml)	F	p
AV (n = 11)	2,957	0,6220	0,206	65,22	<0,001
AP (n = 11)	1,065	0,4540	0,151		

c/ Conclusion sur le dosage de la vitamine C

La valeur de $p < 0,001$ ainsi obtenue par le Test "F" prouve que les teneurs moyennes en vitamine C de nos échantillons avant et après pasteurisation sont bien comparables.

Malgré quelques critiques et autres problèmes énoncés précédemment, nous pouvons conclure à une perte en vitamine C, due uniquement à la pasteurisation, échelonnée de 46,2% à 74,0% par rapport à la teneur initiale de nos échantillons, avec une perte moyenne de 64%.

Sur nos onze échantillons, nous avons pu doser la vitamine C à des taux de $2,957 \pm 0,206$ mg/100 ml de lait féminin avant pasteurisation et de $1,065 \pm 0,151$ mg/100 ml après pasteurisation soit une perte nette de 1,892 mg/100 ml en moyenne due à la pasteurisation.

IV-3-2- Les vitamines liposolubles

a/ Lecture des résultats

Suivant les conditions décrites dans le paragraphe IV-2-2, nous avons pu obtenir des enregistrements tels que celui présenté dans la figure 8: l'échantillon 8 AV a donc été enregistré, comme tous les autres échantillons, à deux atténuations différentes soit "Atténuation 2" et "Atténuation 3". (Dans le cas de la figure 8, nous sommes à l'atténuation 3)

Nous avons pu constater une saturation de l'enregistreur pour des temps de rétention proches de 3 à 4 minutes, ceci étant dû vraisemblablement à la présence d'acides gras en quantité importante dans nos échantillons.

Ce pic masque du reste le pic du rétinol libre. Cependant, pour éliminer l'interférence due aux matières grasses, il aurait fallu saponifier l'échantillon, puis éliminer les acides gras (sous forme de savon) par extraction aqueuse. Cette opération aurait entraîné un risque de dégradation préjudiciable aux autres déterminations. C'est la raison pour laquelle nous avons préféré ne considérer que l'acétate de rétinol et non le rétinol libre dans notre étude.

Sur le chromatogramme, par comparaison avec les temps de rétention des témoins, nous pouvons identifier l'acétate de rétinol ($TR = 5,54$ mn) et le tocophérol libre ($TR = 14,88$ mn). Par contre, nous n'avons pas observé d'acétate de tocophérol, ni de vitamine D.

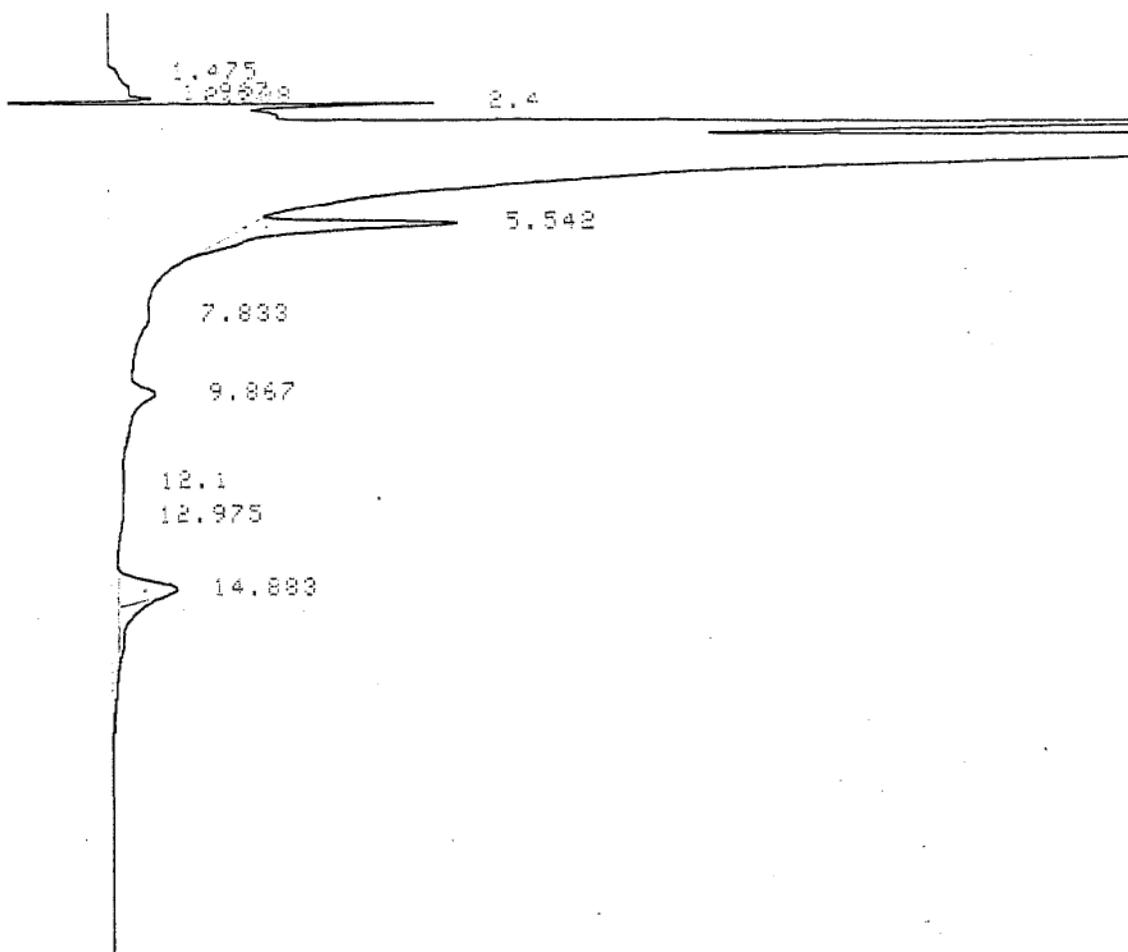
A partir de ce chromatogramme, nous avons dû exploiter le pic de l'acétate de rétinol de façon manuelle et non pas tenir compte des données de l'intégrateur. En effet, ces dernières étaient entachées d'erreur, du fait du non-retour à la ligne de base.

C'est pourquoi nous avons essayé de retracer une ligne de base théorique sachant que la droite qui joint le début et la fin de l'enregistrement ne peut ici servir de ligne de base. Les valeurs que nous obtiendrons par cette construction ne seront malheureusement pas exactes mais seront tout à fait comparables en ce qui concerne un même échantillon pris avant et après pasteurisation.

Pour des raisons de commodité, nous exploiterons les résultats obtenus à l'atténuation 2, sachant qu'il existe un rapport de 2 entre l'atténuation 2 et l'atténuation 3 (Hauteur du pic à atténuation 2 = hauteur du même pic à atténuation 3 multipliée par deux).

8 RV

ATTENTION#0
ANAL



0000
0000
0000
0000

CHROMATOPAC C-36A
SAMPLE NO 0
REPORT NO 323

FILE 1
METHOD 41

PKNO	TIME	AREA	PK	IDNO	CONC	NAME
1	1.475	4142			0.246	
2	1.967	27400	V		1.6274	
3	2.208	11491	V		0.6825	
4	2.4	37141			2.206	
5	3.075	250160	V		14.8582	
6	3.433	310520	V		18.4433	
7	3.892	483892	V		28.7407	
8	5.542	239492	V		14.2246	
9	7.833	98624	V		5.8577	
10	9.867	106426	V		6.3212	
11	12.1	28725	V		1.7861	
12	12.975	33059	V		1.9635	
13	14.883	52577	V		3.1228	
TOTAL		1683649			100	

De plus, les pics étant suffisamment étroits, nous pourrions nous contenter de mesurer uniquement la hauteur de ces pics, celle-ci étant pratiquement proportionnelle à la concentration.

Comme pour la vitamine C, nous avons établi une courbe d'étalonnage par injection de différentes solutions témoins des vitamines étudiées prises séparément et à des concentrations croissantes.

A partir de ces gammes d'étalonnage (Figures 9 et 10), en mesurant la hauteur des pics, nous obtenons les concentrations en acétate de rétinol et en tocophérol dans le filtrat (en microgrammes par millilitre). Sachant que le volume final de filtrat obtenu est de 5 ml et que la prise d'essai de lait initiale est de 20 ml (2 x 10 ml), nous devons multiplier par 25 le résultat obtenu précédemment afin de connaître la concentration en acétate de rétinol et en tocophérol dans le lait maternel (microgrammes pour cent millilitres).

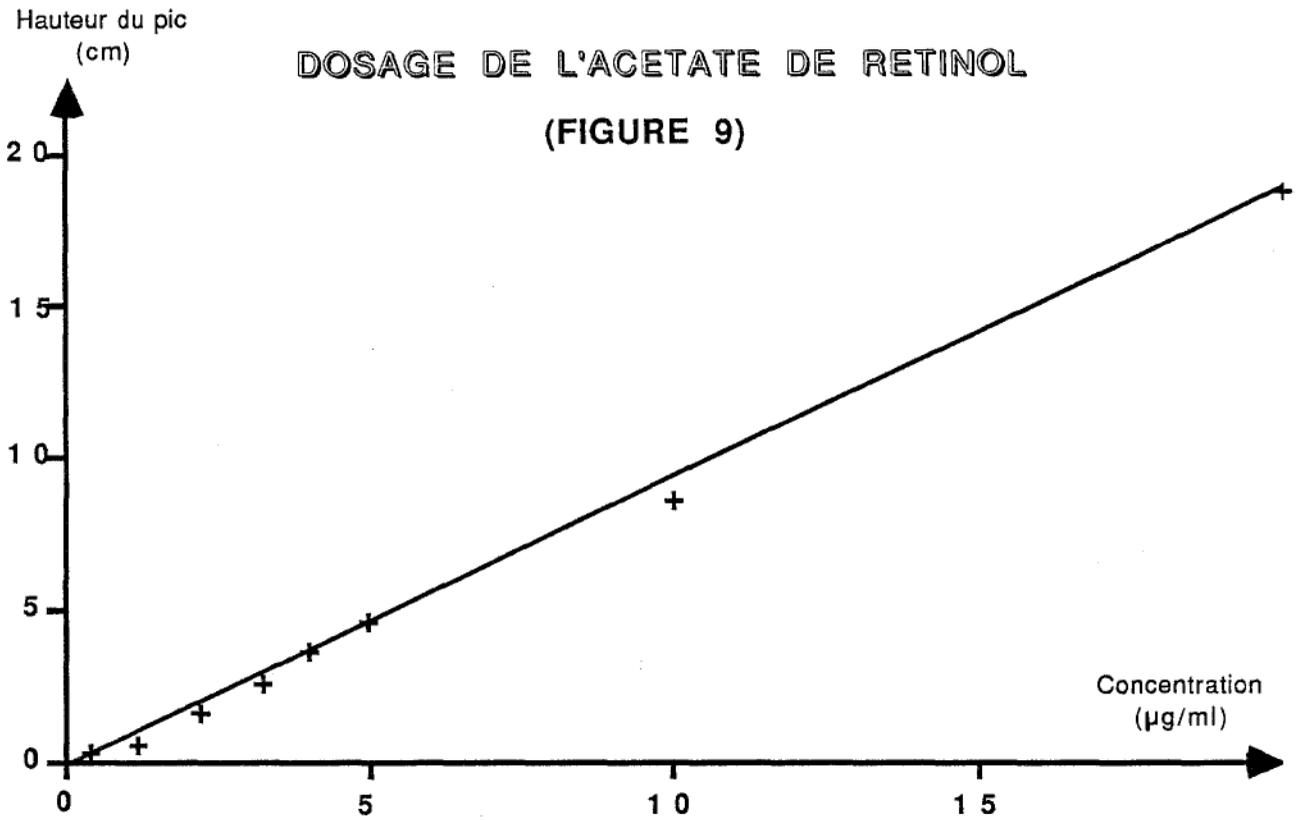
b/ Résultats et commentaires

*** Echantillons Ea, Eb et Ec**

Comme pour la vitamine C, ces trois échantillons ont servi pour la mise au point de la méthode (7,10) et n'auront qu'une valeur indicative en ce qui concerne les taux d'acétate de rétinol et de tocophérol avant la pasteurisation (Tableau IX, X et Figure 11). Là encore, nous notons une nette chute des taux de tocophérol entre l'échantillon Ea et les échantillons Eb et Ec, pouvant être due à une dégradation des échantillons.

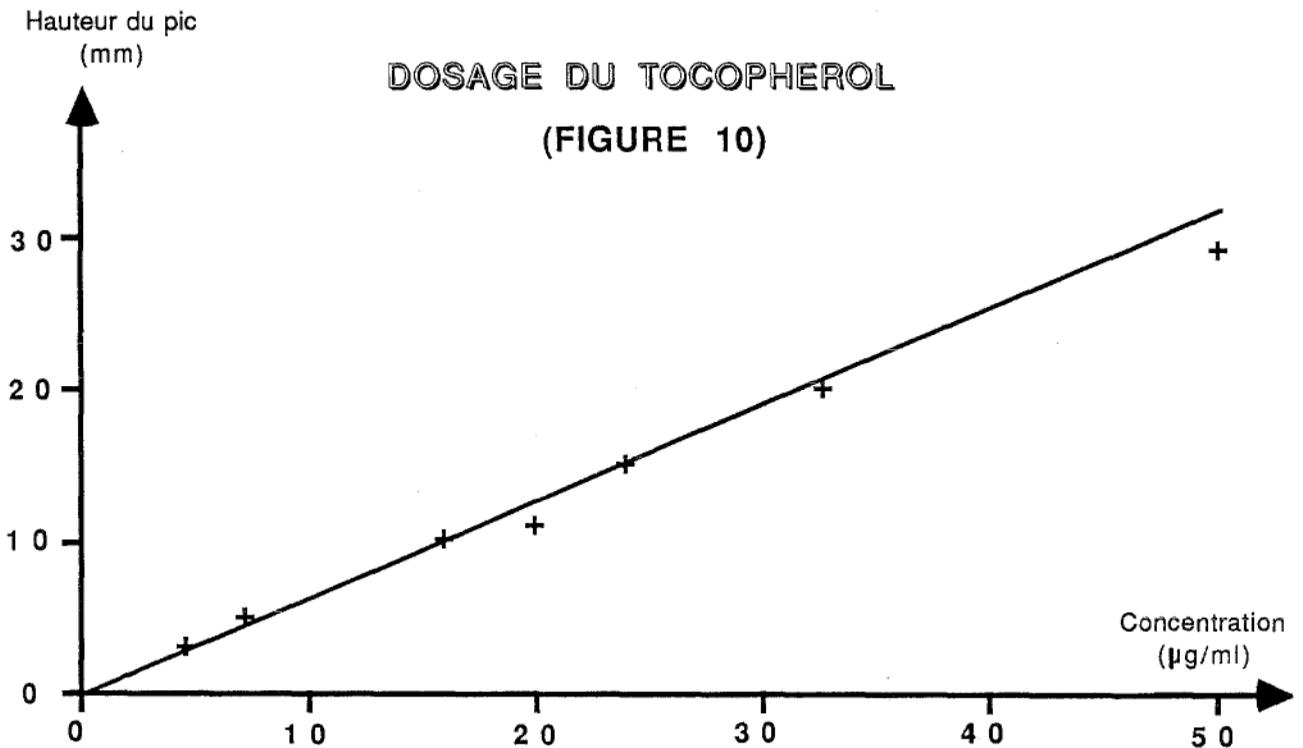
DOSAGE DE L'ACETATE DE RETINOL

(FIGURE 9)



DOSAGE DU TOCOPHEROL

(FIGURE 10)



RESULTAS DES DOSAGES DE L'ACETATE DE RETINOL
(TABLEAU IX)

	Concentration des essais		Variations en acétate de rétinol par pasteurisation	
	avant pasteurisation (µg/100 ml)	après pasteurisation (µg/100 ml)	(µg/100 ml)	(%)
Ea	168,37	-	-	-
Eb	165,82	-	-	-
Ec	170,92	-	-	-
1 *	221,94	224,49	+ 2,55	+ 1,15
2	121,81	154,35	+ 32,53	+26,70
3 *	128,83	163,26	+ 34,43	+26,73
4 *	119,90	112,24	+ 7,66	+ 6,38
5 *	181,12	52,30	-128,82	-71,12
6 *	100,77	73,34	- 27,43	-27,22
7	146,68	127,55	- 19,13	-13,04
8	143,49	130,10	- 13,39	- 9,33
9	66,96	38,90	- 28,06	-41,91
10	79,08	87,37	+ 8,29	+10,48
11	93,75	31,89	- 61,86	-66,00
M	127,55	103,25	- 24,30	-19,05

avec M = teneurs moyennes des essais

Remarque: Les chiffres indiqués correspondent à la moyenne de plusieurs résultats concordants mesurés à atténuation 2 (sans *) ou 3 (avec *).

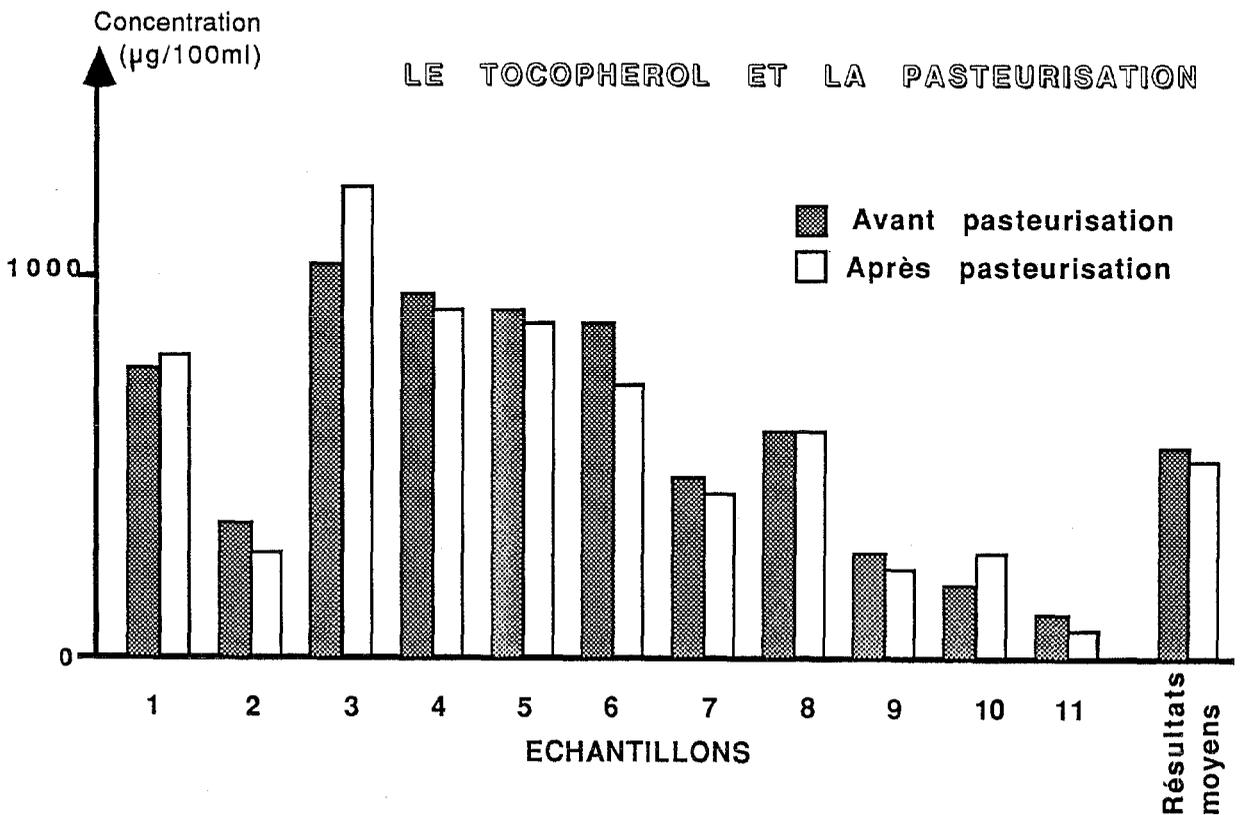
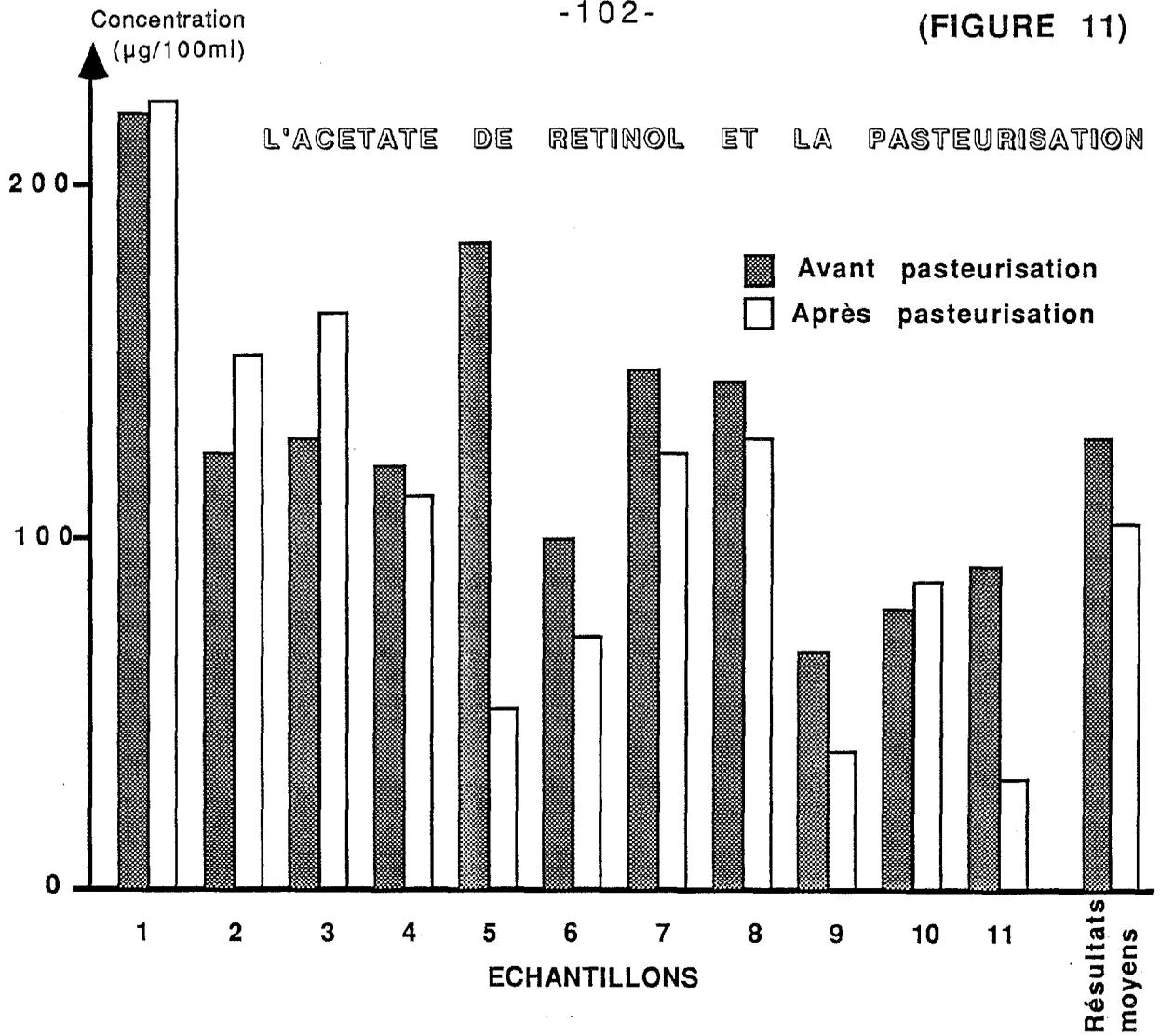
RESULTATS DU DOSAGE DU TOCOPHEROL
(TABLEAU X)

	Concentration des essais		Variations en tocophérol	
	avant pasteurisation ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	après pasteurisation ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	par pasteurisation ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	(%)
Ea	970,45	-	-	-
Eb	330,79	-	-	-
Ec	122,87	-	-	-
1	775,00	822,26	+ 47,26	+ 6,10
2	368,60	292,99	- 75,61	-20,51
3	1077,4	1247,6	+170,20	+15,79
4	964,02	945,12	- 18,90	- 1,96
5	954,57	935,67	- 18,90	- 1,98
6	935,67	746,65	-189,02	-20,20
7	482,01	453,66	- 28,35	- 5,88
8	595,53	604,88	+ 9,45	+ 1,59
9	255,18	236,28	- 18,90	- 7,41
10	189,02	255,18	+ 66,16	+35,00
11	94,51	75,61	- 18,90	-20,00
M	561,40	536,83	- 24,57	- 4,38

avec M = teneurs moyennes des essais

Remarque: Les chiffres indiqués correspondent à la moyenne de plusieurs résultats concordants mesurés à atténuation 2.

(FIGURE 11)



Cependant, malgré ces observations, il nous faut noter des taux relativement stables en acétate de rétinol sur l'ensemble des trois échantillons Ea, Eb et Ec.

* Echantillons 1 à 11

Comme le montrent les tableaux IX, X et la figure 11, nous ne pouvons pas constater de pertes importantes en acétate de rétinol et en tocophérol:

- en ce qui concerne le tocophérol,

nous notons pour les échantillons 3 et 10 une hausse assez nette du taux après pasteurisation.

Pour six échantillons (1, 4, 5, 7, 8 et 9), la variation de leur teneur en tocophérol ne nous paraît pas assez importante pour pouvoir invoquer une perte réelle due à la pasteurisation, compte tenu des nombreuses manipulations effectuées pour leur analyse.

Quant aux autres échantillons, ils subissent des pertes comprises entre 20,0 et 37,8% par rapport à leur teneur initiale en tocophérol.

Il faut noter aussi que les injections de solutions témoins qui devraient normalement être faites entre chaque essai n'ont pas été très fréquentes, pénalisant du même coup une interprétation plus précise de tous ces résultats.

Nous pouvons émettre l'hypothèse que la pasteurisation pourrait stabiliser certains processus de dégradation enzymatique de la vitamine E ce qui entraînerait par là-même, une dégradation plus poussée du tocophérol dans les échantillons non pasteurisés avant l'analyse, d'où une faible différence du taux en tocophérol dans les échantillons après pasteurisation. Mais rien ne peut être encore affirmé à ce niveau.

Remarque: Nous avons éliminé l'échantillon 3 de l'interprétation suite à une surchauffe du "3 avant pasteurisation" lors de l'extraction des matières grasses ce qui a causé une perte en tocophérol.

- en ce qui concerne l'acétate de rétinol, on notera tout de suite que les échantillons 10 et 11 avant pasteurisation présentaient 2 pics coalescents pouvant correspondre à deux formes très proches de rétinol. C'est pourquoi, dans notre interprétation des résultats, nous ferons la somme des 2 pics afin d'obtenir une vraie grandeur attribuée au rétinol.

Comme pour le tocophérol, nous notons que quelques échantillons ont des taux d'acétate de rétinol plus élevés après pasteurisation qu'avant: il s'agit des échantillons 2 et 10. Là encore, nous éliminerons volontairement l'échantillon 3 de notre interprétation par suite des pertes en acétate de rétinol dans l'échantillon 3 avant pasteurisation à cause d'une surchauffe au cours de l'extraction des matières grasses.

En résumé, sur l'ensemble de nos échantillons (excepté le 3), on observe une diminution de 4,38% de la teneur en tocophérol due à la pasteurisation et de 19,05% en acétate de rétinol.

c/ Conclusion sur les vitamines A et E

L'ensemble de nos essais nous a donc permis de trouver une teneur moyenne avant pasteurisation de 127,55 µg d'acétate de rétinol/100 ml de lait féminin avec des écarts de valeurs assez importants échelonnés de 66,96 à 221,94 µg d'acétate de rétinol/100 ml. De même, après pasteurisation, la teneur moyenne est de 103,25 µg d'acétate de rétinol/100 ml avec un étalement des valeurs de 31,89 à 224,49 µg

d'acétate de rétinol/100 ml de lait féminin encore plus important que pour les dosages avant pasteurisation.

Le tocophérol, dans les échantillons avant pasteurisation, est présent à des taux de 94,51 à 1077,4 $\mu\text{g}/100$ ml de lait féminin soit en moyenne 561,40 $\mu\text{g}/100$ ml et, après pasteurisation, à des taux de 75,61 à 1247,6 $\mu\text{g}/100$ ml soit une teneur moyenne de 536,83 $\mu\text{g}/100$ ml.

Notons cependant, comme nous l'avions déjà signalé dans le chapitre III, que le régime de la nourrice influe fortement sur la teneur en vitamines du lait maternel. Ceci pourra expliquer en partie les écarts obtenus entre deux échantillons.

L'influence des congelations et décongélations ne peut être ignorée et entraîne aussi des écarts entre les résultats.

De plus, nous signalerons que la présence d'hypochlorites (ClO^-) dans les récipients contenant du lait peut entraîner une dégradation rapide de l'acétate de rétinol et du tocophérol. Cette présence d'hypochlorites résulterait d'une stérilisation du matériel pour tirer et récolter le lait, par des produits type SOLUSTERIL[®] ou MILTON[®] mal rincés (40).

Bien que nous observions quelques écarts dans les résultats, nous pouvons conclure à une perte de 19,05% en acétate de rétinol due à la pasteurisation et une bonne conservation du tocophérol dans les échantillons que nous avons étudiés sous toutes les réserves d'hypothèses que nous avons émises dans le paragraphe précédent et en tenant compte du protocole utilisé. En effet, la présence d'un pic d'acides gras polyinsaturés, précédant l'acétate de rétinol, nuit à l'enregistrement de ce dernier, montrant la nécessité d'éliminer ces acides gras avant l'injection finale.

V- CONCLUSION

Malgré l'évolution des recherches en ce qui concerne les nouveaux laits maternisés, nous constatons l'importance que revêt l'alimentation d'un nouveau-né par du lait féminin. Ce dernier, comparé au lait de vache, démontre une grande richesse en glucides (notamment en oligosaccharides), un rapport Ca/P optimal pour l'absorption du calcium par le nouveau-né, la présence d'immunoglobulines dont l'Ig A du type sécrétoire qui est très importante pour la défense immunitaire de l'enfant, des taux d'acides gras polyinsaturés et de vitamines intéressants.

L'effort du Lactarium de Lyon pour traiter, contrôler et redistribuer ce lait est très important malgré des moyens limités. La collecte régulière de lait pour constituer le "lait féminin" (préparé par mélange de lait de nourrices "excédentaires" collecté à titre onéreux, de dons de nourrices "excédentaires", de dons de maternités et de dons de l'excédent du "lait personnalisé") reste parfois insuffisante par rapport à la demande, obligeant le médecin prescripteur à sélectionner les enfants qui ont besoin de cette alimentation. En cas de forte nécessité, l'Association des Lactariums de France permet une bonne coordination entre les lactariums dans le but d'assurer à chacun d'eux la quantité indispensable aux nourrissons de la région.

Pour les donneuses, un tire-lait est mis gratuitement à leur disposition pendant toute la durée du don. Il nous paraît important de remarquer que le don est un acte libre, laissant la possibilité à chaque donneuse de s'arrêter quand elle le désire.

Signalons que chaque biberon qui passe par le Lactarium de Lyon, est contrôlé bactériologiquement par le Service d'Hygiène et de Santé de Lyon, et subit, au sein même du lactarium, un contrôle de densité, une

recherche de mouillage au lait de vache (Test d'agglutination spécifique au sérum de lapin) ainsi qu'une pasteurisation (58°C pendant 60 minutes).

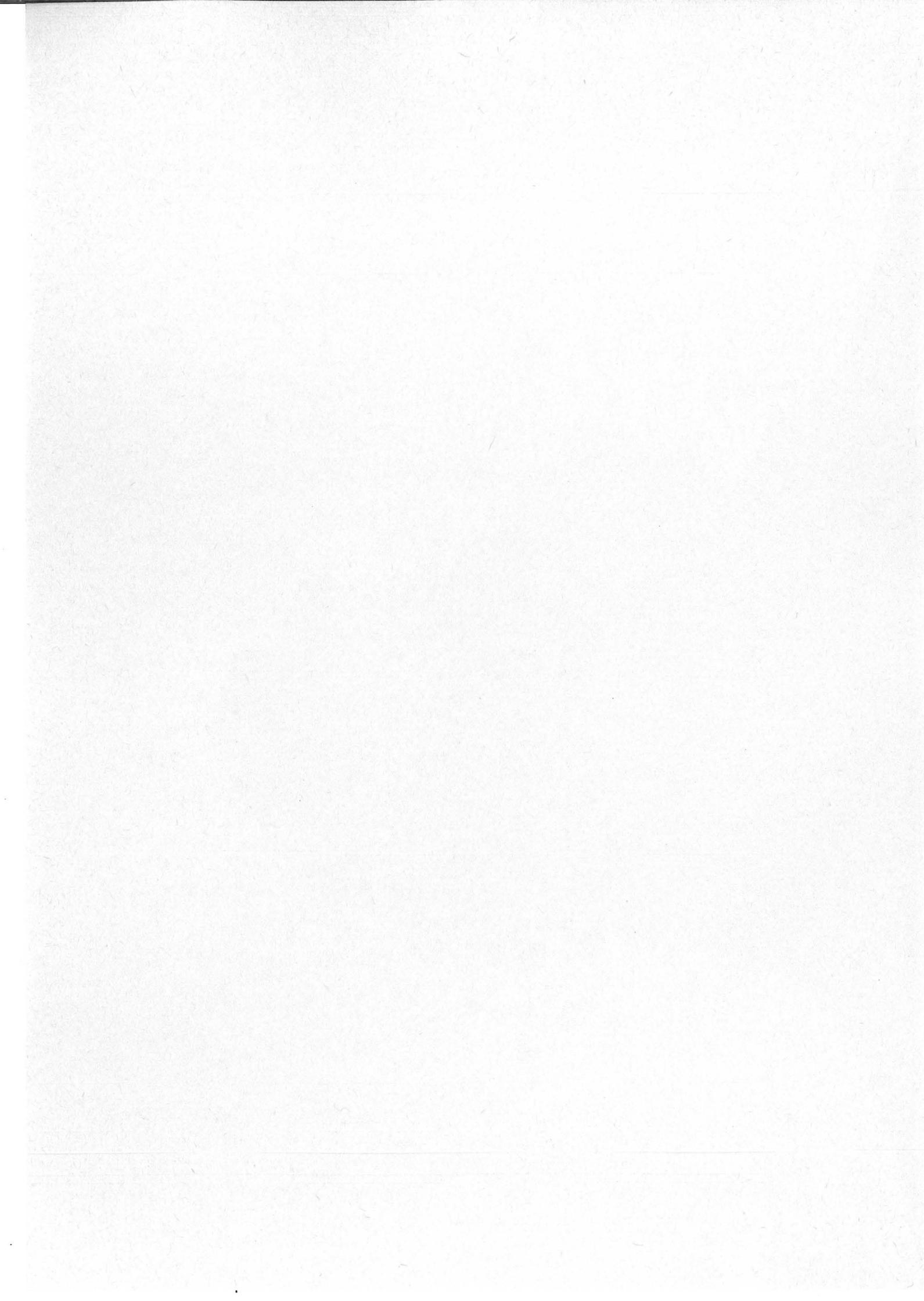
L'influence de la pasteurisation, d'après notre étude, apparaît très importante en ce qui concerne la vitamine C soit une perte de l'ordre de 64% en moyenne sur l'ensemble des échantillons analysés ($p < 0,001$).

La vitamine D, à un taux très faible dans le lait féminin, n'a pas pu être dosée avec les autres vitamines liposolubles.

Quant à ces dernières, le suivi des vitamines A et E sous forme Rétinol Acétate et Tocophérol dans le lait féminin, n'a pas permis de montrer une nette dégradation du tocophérol dans nos échantillons au cours de la pasteurisation (-4,38%) mais laisse entrevoir une perte de l'ordre de 19,05% en acétate de rétinol.

En conclusion, les taux mesurés dans nos échantillons ne permettent pas de couvrir totalement les besoins du nouveau-né en vitamines. La pasteurisation, dont le but principal est la propreté bactériologique du lait, détruit une grande part des vitamines notamment 19,05% de la vitamine A et 64% de la vitamine C initialement présentes, sans tenir compte d'une simple destruction liée aux agressions extérieures telles que la durée du stockage, la lumière ou l'influence des congélations et décongélations.

Quoiqu'il en soit, le lait féminin présente, outre les vitamines que l'on peut compléter, d'autres richesses dont l'importance est résumée à travers ce slogan: "Mamans! Un peu de votre lait peut sauver un enfant!"



ANNEXES

(ANNEXE 1)

**PRÉFECTURE
DU RHÔNE**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE.
LIBERTÉ - ÉGALITÉ - FRATERNITÉ

1^{re} Division - 1^{er} Bureau

Le PRÉFET du RHONE

ASSOCIATIONS

Officier de la Légion d'Honneur

Vu les § 2 et 3 de l'article 5 de la loi du 1^{er} Juillet 1901,

Donne récépissé à M. le Professeur MOURIQUAND
Georges
demeurant à Lyon, 18 Place Bellecour
de la déclaration en date du 14 novembre 1952 parvenue dans les
bureaux de la Préfecture le même jour, par laquelle il fait
connaître, en qualité de Président
qu'une association vient de se constituer sous le titre de :

"Le Lactarium de Lyon"

Cette association a pour objet l'assistance dans la région
sanitaire de Lyon, par la collecte du lait de
femme sous contrôle médical et sa distribution
aux hôpitaux publics ou privés ou aux particu-
liers pour des enfants du premier âge déficients
Son siège social est fixé à ou atteints de troubles digestifs
ou infectieux
Lyon, Place d'Arsonval

Énumération des pièces annexées à la déclaration

- 1° Liste des Membres du Conseil d'Administration.
(Nom, prénoms, domicile)
- 2° Deux exemplaires des statuts.

Fait à Lyon; le 21 NOV 1952

Le Préfet du Rhône

LE PRÉFET DU RHONE:

Chef de Bureau délégué



NOTA. - Aux termes de l'article 1^{er}, § 2 du décret d'administration publique du 16 Août 1901, rendu pour l'exécution de la loi du 1^{er} Juillet 1901, la déclaration prescrite doit, dans le délai d'un mois, être rendue publique par les soins des administrateurs ou directeurs au moyen de l'insertion au Journal Officiel, d'un extrait contenant la date de la déclaration, le titre et l'objet de l'association, ainsi que l'indication de son siège social.

Un exemplaire du Journal Officiel devra être remis à la Préfecture.
(1^{re} Division - 1^{er} Bureau - Associations)

N° 1649 - 2000-1-52

(ANNEXE 2)

**MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
ET DE LA POPULATION**

**Conditions d'installation et de fonctionnement
que doivent remplir les lactariums.**

Le ministre de la santé publique et de la population,
Vu le livre II, titre 1^{er}, du code de la santé, et notamment ses articles 149 et 180 ;
Vu l'avis du conseil permanent d'hygiène sociale (commission de la protection sanitaire de l'enfance) ;
Sur proposition du directeur de l'hygiène sociale,

Arrête :

Art. 1^{er}. — Les lactariums sont des établissements autonomes ou des services d'hôpitaux qui ont pour objet :

- La collecte du lait de femme ;
- Le contrôle de l'authenticité et de la propreté bactériologique du lait ainsi recueilli ;
- Sa conservation et son stockage ;
- Sa distribution sur prescription médicale.

Locaux.

Art. 2. — Les locaux d'un lactarium doivent comprendre au moins trois pièces aménagées de façon à pouvoir disposer d'emplacements destinés :

- A la réception du lait ;
- Au contrôle et au traitement prévus aux articles 6 et 7 ci-après ;
- Au stockage du lait ;
- A la distribution des biberons.

Une des pièces, réservée à la distribution, doit être indépendante des autres.

Contrôle de la santé des donneuses et de leurs nourrissons.

Art. 3. — Toute femme susceptible de fournir du lait au lactarium doit, au moment de son inscription comme donneuse, présenter un certificat médical établi soit par le médecin responsable du lactarium, soit par un médecin des services de protection maternelle et infantile, agréé par le directeur départemental de la santé.

Ce certificat doit attester :

- 1^o En ce qui concerne la femme :
 - a) Qu'elle est en bonne santé et notamment indemne de tuberculose ;
 - b) Que l'image radioscopique, et au besoin radiographique, de ses poumons est normale ;
 - c) Qu'elle ne présente aucun signe cutané ou muqueux de syphilis et qu'un examen sérologique pratiqué en vue de la recherche de la syphilis, au cours de la grossesse qui a précédé, a été négatif. En cas de suspicion de syphilis, un nouvel examen sérologique doit être effectué ;

d) Qu'elle peut nourrir son enfant et donner, sans inconvénient, du lait au lactarium;

2° En ce qui concerne l'enfant, qu'il est en bonne santé.

Art. 4. — Les examens de la mère et de l'enfant, sauf l'examen sérologique, doivent être répétés une fois par mois et faire l'objet chaque fois d'un certificat.

Art. 5. — Le lait est recueilli au moins une fois par jour.

Chaque flacon livré doit porter toutes indications permettant d'identifier la donneuse qui l'a fourni.

Le lactarium veille à ce que soient enseignées à chaque donneuse les précautions à prendre en vue de recueillir et de conserver le lait dans les meilleures conditions.

Contrôle et traitement du lait.

Art. 6. — Les contrôles suivants doivent être pratiqués quotidiennement:

Contrôle de l'acidité, sur chaque échantillon de lait. Tout échantillon ayant une acidité supérieure à 13 degrés Dornic est impropre à la consommation;

Epreuve de l'illumination par les rayons ultra-violet sur chaque échantillon. Cette épreuve peut être contrôlée par celle de l'agglutination avec un sérum spécifique ou une épreuve de précipitation;

Epreuve densimétrique, dosage butyreux et dosage de l'extrait sec, sur le tiers du lait reçu, de façon à ce que le lait de chaque donneuse soit contrôlé au moins deux fois par semaine par ces épreuves. Un taux d'extrait sec inférieur à 8 grammes par litre doit faire considérer le lait comme suspect de mouillage.

Art. 7. — Le lait doit être traité dès sa réception. Les opérations de contrôle sont effectuées avant la stérilisation. Celle-ci se fait par chauffage à 65° pendant vingt minutes au plus, suivi de refroidissement brusque; cette opération est répétée trois jours consécutifs.

Stockage.

Art. 8. — Le lait peut être stocké soit sous forme liquide à une température inférieure ou égale à plus 4°, soit sous forme congelée, soit sous forme desséchée.

Distribution.

Art. 9. — Le lait distribué pour la consommation ne doit pas contenir de colibacilles, ni de bacilles, coliformes ou indologènes décelables, dans 1 cm³. Le nombre des germes banaux ne doit pas dépasser 1.000 par cm³.

Art. 10. — Le lait du lactarium est distribué en biberons portant un cachet de garanti du lactarium. Il est délivré exclusivement sur prescription médicale. Aucune prescription n'est valable pour plus de dix jours, la prescription peut être renouvelée.

Dans le cas où les quantités prescrites dépasseraient les possibilités de fourniture de l'établissement, le médecin responsable du lactarium doit assurer la priorité aux catégories suivantes:

- 1° Nouveau-nés prématurés;
- 2° Enfants pesant moins de 3 kg;
- 3° Enfants de moins de trois mois et présentant des troubles attribuables à l'intolérance au lait de vache;
- 4° Enfants de plus de trois mois atteints ou convalescents de toxicoses.

Personnel.

Art. 11. — Tout lactarium doit être placé sous le contrôle d'un médecin responsable, pédiatre agréé par le directeur départemental de la santé.

Art. 12. — L'effectif du personnel doit être suffisant pour que soient correctement appliquées les dispositions du présent arrêté.

Ce personnel comprendra, au minimum, outre le personnel auxiliaire:

- 1° Une directrice gestionnaire, ou si le lactarium est un service hospitalier, une personne responsable du fonctionnement du service;
- 2° Une laborantine;
- 3° Une ou plusieurs puéricultrices, titulaires du diplôme d'Etat de puériculture (ou à défaut, une ou plusieurs assistantes sociales), chargées du recrutement et de la surveillance à domicile des donneuses et de leurs nourrissons;
- 4° Une des puéricultrices peut être chargée de la responsabilité du fonctionnement du lactarium.

Dispositions administratives.

Art. 13. — Les pièces suivantes doivent être tenues à jour et mises à l'abri de toute indiscretion:

1° Un répertoire des nourrissons bénéficiaires des distributions, indiquant pour chacun de ces nourrissons, le nom et l'adresse, la qualité, le cas échéant, du bénéficiaire de la sécurité sociale ou d'assisté;

Le nom du médecin ayant formulé la prescription ainsi que son adresse ou celle du service hospitalier où la prescription a été faite, la quantité de lait prescrite, la date et la durée de la prescription;

2° Un registre journal des donneuses, indiquant pour chaque donneuse, son nom et son adresse et chaque jour la quantité de lait fourni;

3° Un fichier médico-social des donneuses portant entre autre, pour chaque donneuse, les indications suivantes: les dates et les résultats des examens de santé périodiques subis par elle-même et par son nourrisson;

4° Un registre de laboratoire portant chaque jour...

Art. 14. — Les lactariums sont soumis au contrôle du directeur départemental de la santé au point de vue médical et technique à celui du directeur départemental de la population et de l'environnement social au point de vue administratif et financier, conformément à prescriptions de l'article 130 du code de la santé publique.

Art. 15. — Le directeur de l'hygiène sociale au ministère de la santé publique et de la population est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 9 août 1951.

LOUIS-PAUL AUCOULT.

(ANNEXE 3)

2 Septembre 1983

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANÇAISE

N. C. 8061

Conditions d'installation et de fonctionnement des lactariums.

Le secrétaire d'Etat auprès du ministre des affaires sociales et de la solidarité nationale, chargé de la santé,

Vu le livre II, titre I^{er}, du code de la santé, et notamment ses articles 149 et 180 ;

Sur proposition du directeur général de la santé,

Arrête :

Art. 1^{er}. — Les lactariums sont des établissements publics ou privés qui ont pour objet :

- La collecte du lait de femme ;
- Le contrôle de son authenticité et de sa qualité ;
- Son traitement ;
- Son stockage ;
- Se distribution sur prescription médicale.

Art. 2. — Tout lactarium comprend un certain nombre de locaux regroupés en une unité, adaptés et exclusivement affectés aux tâches énumérées à l'article 1^{er}.

Art. 3. — Toute femme se proposant de donner son lait à un lactarium doit, au moment de son inscription, présenter un certificat médical.

Ce certificat doit attester que le don du lait n'est pas susceptible de nuire à la santé de la donneuse ou à celle de l'enfant.

Lorsque le don du lait est effectué pendant plus de quatre mois, le lactarium doit procéder ou faire procéder à une surveillance médicale régulière de la donneuse.

Art. 4. — Le lactarium indique à chaque donneuse les précautions à prendre en vue de recueillir et de conserver le lait dans les meilleures conditions.

Quel que soit le matériel utilisé pour tirer le lait, tous les éléments doivent être fournis stériles à la donneuse.

Le lait doit être recueilli chaque jour dans un flacon vide stérilisé. Chaque flacon doit porter toutes les indications permettant d'identifier la donneuse qui l'a fourni. Il doit porter les nom et prénom de la donneuse, la date du recueil du lait, l'indication des médicaments ou toxiques ou contaminants qui rendraient contre-indiqué le don du lait.

Le délai entre le recueil et la collecte ne doit pas dépasser quarante-huit heures si le lait est conservé à 4°C. Au-delà, le lait doit être congelé suivant les conseils donnés par le lactarium.

Le transport du lait doit être assuré sans interruption de la chaîne du froid.

Art. 5. — Un certain nombre de contrôles physico-chimiques et bactériologiques sont pratiqués systématiquement sur le lait recueilli. D'autres contrôles microbiologiques et pharmacologiques peuvent, le cas échéant, être demandés. Les méthodes à employer sont définies à l'annexe I du présent arrêté.

Art. 6. — Le lait doit être traité, après résultats bactériologiques, par tyndallisation ou pasteurisation dans les conditions définies à l'annexe II du présent arrêté. Le résultat de ce traitement doit être vérifié sur le plan bactériologique.

Art. 7. — Le lait, après traitement, ne peut être conservé sous forme liquide que pour une durée définie à l'annexe II. Au-delà, il doit être congelé ou lyophilisé.

Art. 8. — Le lait du lactarium est distribué dans des flacons portant la garantie du lactarium et la date de la tyndallisation ou de la pasteurisation.

Dans le cas où les quantités prescrites dépassent les possibilités de fourniture du lactarium, le médecin responsable établit un ordre de priorité.

Art. 9. — Le lactarium doit être placé sous le contrôle technique d'un médecin pédiatre agréé par le directeur départemental des affaires sanitaires et sociales.

Lorsque le lactarium est autonome, la direction administrative et financière peut être confiée à un médecin ou à une autre personne agréée par le directeur départemental des affaires sanitaires et sociales.

Art. 10. — Les agents techniques doivent être en nombre suffisant pour que soient correctement appliquées les dispositions du présent arrêté.

Ce personnel peut être commun avec un autre service ; dans ce cas, le lactarium participera aux dépenses du personnel au prorata du temps passé.

Chaque lactarium comprend au minimum une laborantine.

Art. 11. — Les documents suivants doivent être tenus à jour et mis à l'abri de toute indiscretion :

Un registre-journal des donneuses indiquant pour chacune d'elles ses nom, prénom, adresse et la quantité de lait fourni chaque jour ;

Un dossier individuel pour chaque donneuse ;

Un registre de laboratoire portant les résultats des analyses pratiquées ;

Un registre de sortie du lait avec indication du service bénéficiaire ou de l'enfant bénéficiaire quand il s'agit de particuliers.

Art. 12. — Le contrôle médical, technique, administratif et financier des lactariums est assuré par le directeur départemental des affaires sanitaires et sociales.

Art. 13. — L'arrêté du 9 août 1954 fixant les conditions d'installation et de fonctionnement des lactariums est abrogé.

Art. 14. — Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 18 août 1983.

EDMOND HERVÉ.

ANNEXE I

DIFFÉRENTS EXAMENS A PRATIQUER AVANT STÉRILISATION

A. — Examens physico-chimiques.

Pour dépister une fraude au lait de vache, effectuer un test à la lumière de Wood sur le lait reçu, confirmer éventuellement ce test par immuno-précipitation avec un sérum de lapin immunisé au lait de vache.

B. — Examens microbiologiques.

Le premier jour du don, réaliser les examens bactériologiques du lait de la donneuse en groupant tous ses biberons dans un même lot numéroté. Si les résultats ne sont pas satisfaisants, des analyses individuelles de cette mère seront réalisées tout au long du don.

Lors des prochains dons, on regroupera en fonction des résultats tous les biberons de plusieurs mères connues bactériologiquement propres et des examens seront réalisés systématiquement sur chacun des lots numérotés. Si le lot est contaminé on recherchera l'origine de cette contamination lors des prochains dons.

Méthodes :

1. Evaluation de la flore totale poussant en aérobie à 37 °C à partir d'une dilution de lait à un centième en soluté physiologique, ensemercer une gélose au sang ou un milieu P. C. A. (Plate Count Agar), par étalement de 0,1 ml de la dilution obtenue sur la boîte de gélose, incuber pendant vingt-quatre heures à 37 °C pour la gélose au sang et à 30 °C pour la P. C. A. Au bout de ce temps, dénombrer les colonies apparues sur la boîte (N). Le nombre de bactéries par millilitre de lait pur sera égal à N x 1000.

2. Recherche de staphylococcus aureus :

A partir d'une dilution de lait au un dixième en soluté physiologique, ensemercer par étalement de 0,1 ml de la dilution au un dixième en milieu gélosé sélectif du staphylococcus aureus (Chapman ou Baird-Parker), incuber à 37 °C pendant vingt-quatre heures et dénombrer les colonies de staphylococcus aureus (N). Calculer le nombre de staphylococcus aureus par millilitre de lait (N x 100). Confirmer l'identification des staphylococcus aureus par les tests biochimiques habituels (coagulase, D. N. A. S. E., etc.).

D'autres examens bactériologiques et virologiques pourront être prescrits.

C. — Examen pharmacologique.

Des examens pourront être pratiqués sur des échantillons de lait en provenance d'une donneuse traitée par des médicaments dont la nocivité ou l'innocuité n'est pas établie de façon certaine.

CONCLUSION

Le lait est à rejeter :

Si la flore mésophile aérobie totale est supérieure à 10⁶ germes par millilitre ;

Si le nombre de staphylococcus aureus est supérieur à 10⁴ germes par millilitre ;

Si la donneuse reçoit des médicaments dont l'innocuité n'est pas certaine, ou consomme en quantité excessive des boissons alcool-

ANNEXE II

A. — STÉRILISATION

L'un des trois procédés suivants pourra être utilisé :

1. La tyndallisation : le lait est chauffé en biberon, à 85 °C pendant vingt minutes, trois jours de suite, suivies d'un refroidissement brutal ;

2. La pasteurisation à haute température : le lait est chauffé par passage en continu dans une tubulure portée entre 70 °C et 74 °C pendant quatorze à dix-sept secondes. Le lait est ensuite refroidi brutalement ;

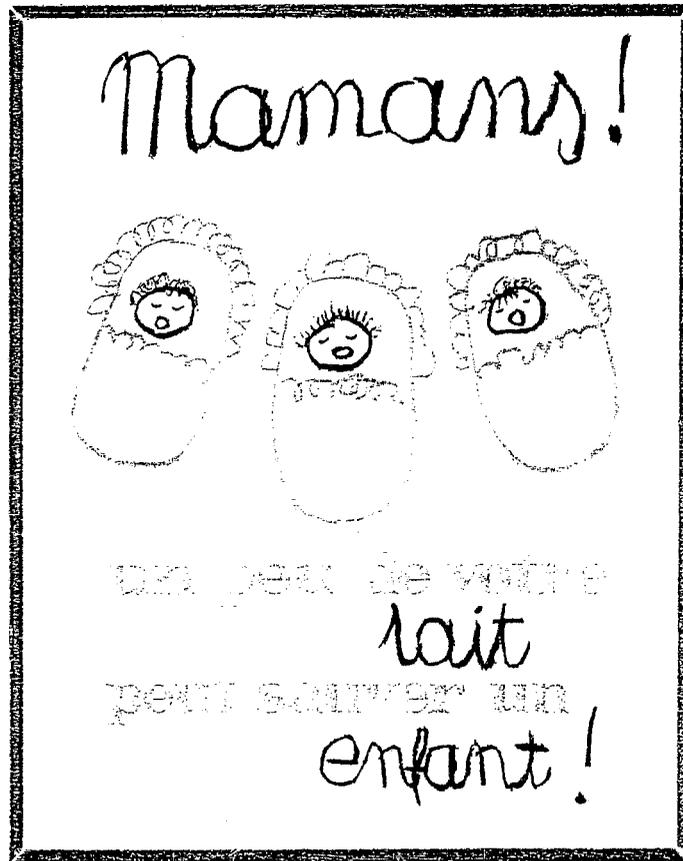
3. Pasteurisation à basse température : le lait est chauffé dans des biberons de verre ou de plastique d'un volume de 100 ml à 250 ml par immersion pendant trente minutes dans un bain-marie à 63 °C. Le lait est ensuite refroidi brutalement.

B. — CONTRÔLE BACTÉRIOLOGIQUE APRÈS STÉRILISATION

Ensemencer deux géloses au sang par étalement de 0,1 ml de lait. Incuber l'un de ces milieux à 37 °C en aérobie pendant vingt-quatre heures et l'autre à 37 °C en anaérobie pendant quarante-huit heures. Si la stérilisation est satisfaisante, on ne doit déceler aucune colonie sur chacun des milieux.

C. — CONSERVATION DU LAIT APRÈS STÉRILISATION

Dix jours maximum à plus 4 °C.



Pour le lactarium régional Rhône-Alpes

collecte de lait maternel

LYON : 37, rue Bossuet - 69006 - ☎ 78.24.77.46
GRENOBLE : Protection de l'enfance - ☎ 76.42.51.45
Chemin Duhamel - La TRONCHE

En 1983 le **LACTARIUM** de **LYON** a dû fournir 9000 litres de lait humain aux centres de Néonatalogie et de Pédiatrie de la région Rhône-Alpes. Cette même année nous n'avons pu récolter que 8000 litres de lait avec difficultés.

Sur environ 60 maternités de la région Rhône-Alpes, la moitié connaissent l'existence du **LACTARIUM** de **LYON**, et nous ont fourni 5000 litres de lait.

Si nous voulons cette année encore pouvoir satisfaire les besoins des services spécialisés nous avons absolument besoin de votre aide et de votre soutien.

C'est la raison pour laquelle nous vous remettons ce dépliant qui, nous l'espérons, facilitera votre tâche.

Etant donné que ce lait est réservé à des enfants de poids de naissance inférieur à 2000 grammes ou à des enfants présentant une pathologie grave, la **QUALITÉ** du lait distribué doit être rigoureuse. C'est la raison pour laquelle nous insisterons sur **L'HYGIÈNE** du **RECUEIL** du lait.

POURQUOI ?

Quelques informations :

Le degré de contamination bactérienne de chaque échantillon de lait, conditionne le degré de pasteurisation du lait.

Exemple 1 : Si un échantillon de lait contient **PLUS** de 100 000 germes par ml, il faut chauffer le lait à **63°** pendant 30 mn pour obtenir un lait stérile. A cette température **30% seulement** des propriétés immunologiques sont conservées.

Exemple 2 : Si un échantillon de lait contient 1000 germes par ml, il suffit de le chauffer à **58°** pendant 60 mn pour obtenir un lait stérile. A cette température **+ de 80%** des propriétés immunologiques sont conservées.

LA QUALITÉ du lait distribué aux prématurés est donc **DIRECTEMENT** liée à la **MANIÈRE** dont vous prélèverez votre lait.

COMMENT ?

* **AVANT prélèvement = quelques mesures d'hygiène**

A) Au niveau*CORPOREL

- Se laver les mains
- Laver les seins à l'eau et au savon et les rincer largement.
Essuyer avec une serviette réservée à cet usage, en commençant par le bout du mamelon et en remontant vers l'aisselle.
- Passer de l'eau bouillie (ou eau d'**EVIAN** en bouteille de verre), sur le mamelon.
L'emploi de désinfectant type alcool glycérolé n'est pas nécessaire.

B) Le MATÉRIEL

- Faire bouillir la cloche et le petit flacon 2 à 3 mn dans un grand récipient plein d'eau, ou mieux (si possible) stériliser le matériel à la vapeur dans une cocotte minute, durant 10 mn sifflet tournant.
- Les biberons que nous fournissons sont stériles. Si vous utilisez des récipients supplémentaires, stérilisez-les par ébullition durant 20 mn.

* APRÈS prélèvement = conservation du lait.

Le lait prélevé est transvasé dans les biberons stériles fournis par le lactarium.

- Boucher soigneusement le flacon et le mettre **IMMÉDIATEMENT** en haut du réfrigérateur à côté du freezer à 4°

Il est possible de mettre dans le même flacon le lait tiré en plusieurs fois mais il faut cependant attendre que le lait rajouté soit lui aussi à 4°. Il ne faut pas mélanger deux laits de température différente.

- Lorsque le flacon est plein à 220 grammes le mettre au congélateur si possible, sinon impérativement dans le freezer.
Aucun biberon ne doit stagner plus de 48 h. dans un réfrigérateur.

Quelque soit le volume de lait récolté, un agent du lactarium passera prendre les biberons à raison d'une à deux fois par semaine en fonction de vos possibilités de conservation.

N'HÉSITEZ PAS À NOUS APPELER

Nous restons à votre disposition pour toutes informations complémentaires et vous remercions par avance.

De 8 h. à 16 h. 30 tous les jours sauf le Samedi et le Dimanche.

*Professeur B. SALLE
Médecin Directeur du Lactarium.*

service d'hygiène et de santé

60 rue de sèze 69006
tél. 78521324

Lyon, le 04 AOÛT 1982

SERVICE DEMANDEUR :

(ANNEXE 5)

LACTARIUM DE LYON

Réception des laits, le 31-07-82

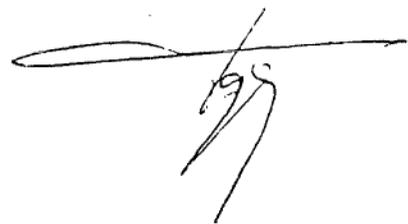
FICHE D'ANALYSE BACTERIOLOGIQUE N° 89.147

Pool : (flore mésophile totale, incubation 24 heures à 37°C)

POOL	DATE	LITRAGE	STAPHYLOCOQUES /ml	ENTERO /ml	GERMES TOTAUX
P 1	31-07	2000	< 10	< 10	< 10
P 2	31-07	2200	< 10	< 10	< 10
upast. p1 P A 26-07	31-07	2000	< 10	< 10	< 10
upast. p2 P B 26-07	31-07	2000	< 10	120	← <i>Hiinetobacter</i> (a?e?e?e?) 610 - ticus
upast. p3 P C 26-07	31-07	2000	< 10	< 10	< 10
upast. p4 P D 26-07	31-07	1200	< 10	< 10	< 10

Mères Donneuses :

NOM	HOPITAL	CODE	STA. PATHOGENES (germes/ml)	ENTEROBACTERIES (germes/ml)	IDENTIFICATION GT
Thollot	St E	M 1	< 10	< 10	< 10
Buisson	J	M 2	< 10	< 10	< 10

P/ LE DIRECTEUR DU LABORATOIRE
DE MICROBIOLOGIE


LACTARIUM REGIONAL

37 rue Bossuet

69006 LYON

Ouverture du Lundi au Vendredi
de 8h00 à 16h30

- 119 - Tél. 78-24-77-46

(ANNEXE 6)

AUCUNE DONNEUSE DE LAIT NE DOIT PRIVER SON ENFANT DU LAIT MATERNEL AUQUEL IL A DROIT ; C'EST L'EXCEDENT DE SON LAIT QU'ELLE RESERVE AU LACTARIUM.

CONSEILS D'HYGIENE POUR RECUEILLIR LE LAIT MATERNEL :

- Se laver les mains avant de mettre le bébé au sein
- Nettoyer le téton et l'aréole (dans un rayon de 5 cm) avec un tampon d'eau bouillie, après la prise de lait procéder au même nettoyage et bien sécher
- Entre les têtées, protéger les seins au moyen d'une compresse stérile glissée dans le soutien gorge
- Pour recueillir le lait, utiliser les biberons stériles fournis par le lactarium ou à défaut, flacons ou récipients que vous stérilisez vous-même.

CONSEILS POUR LA CONSERVATION DU LAIT :

Pour assurer une bonne conservation du lait jusqu'au passage des collectrices, et éviter ainsi qu'il ne devienne acide, surtout en période chaude, il est absolument indispensable de suivre les directives ci-après :

- Respecter les conseils d'hygiène
- Refroidir le lait dès qu'il est recueilli :
 - 1°) en le plaçant aussitôt au réfrigérateur
 - 2°) ne pas mélanger le lait venant d'être prélevé avec du lait déjà froid, attendre qu'il soit à la même température
 - 3°) après 24 heures ou plus rapidement si possible, le congeler en le plaçant au freezer du réfrigérateur ou au mieux dans un congélateur
 - 4°) ne mettre que 220 CC dans les biberons, ceci pour éviter l'éclatement des biberons dû à l'augmentation du volume du lait à la congélation.

Le lait subit un contrôle (acidité, bactériologie), il ne sera pas tenu compte des portions de lait qui seraient trouvées altérées.

EN CAS D'UN TRAITEMENT MEDICAL : CONSERVEZ LE LAIT :

Dès le début de la prise de médicaments, ne pas jeter le lait et en informer la collectrice.

Bien préciser le ou les médicaments absorbés, les quantités, la voie d'administration (par voie buccale, par piqûres, etc...).

POUR UNE BONNE LACTATION, IL EST NECESSAIRE D'AVOIR UNE ALIMENTATION EQUILIBREE ET VARIEE :

- Ce qui est conseillé :

Tous les féculents : pain, pâtes, riz, semoule, pomme de terre, légumes secs (en particulier les lentilles), les légumes verts (le fenouil est recommandé ainsi que le cumin et le curry), les viandes (rouges ou blanches), les abats, la morue et tous les poissons, les produits laitiers (yaourts, fromages, laitages), les fruits secs, les fruits frais crus ou cuits.

Boire beaucoup entre les repas pour compenser la sécrétion lactée (eau, jus de fruits, lait, anis étoilé en tisane, etc...).

- Eviter d'accumuler au même repas :

Artichaut, céleri, melon, asperge, choux fleur, ail, oignon, (aliments donnant un goût au lait). Tomate, orange, salade vinaigrée, et crudités en général (qui peuvent augmenter l'acidité du lait).

- Il est préférable de proscrire :

Citrouille, choux, boissons gazeuses et en particulier le persil.

Enfin, il sera prudent de limiter l'absorption d'excitants pouvant occasionner de l'agitation chez le nourrisson tels que le thé, le café, le tabac et naturellement l'alcool.

- GALACTOGIL (granulés) : 2 à 3 cuillerées à soupe par jour favorisent l'entretien de la lactation.

POSSIBLE ! **MAIS SURTOUT MENEZ UNE VIE AUSSI DETENDUE QUE**

BIBLIOGRAPHIE

(1) - BARROIS V., LAROUZE V., JUNOD M.

Organisation d'un lactarium en 1982: Etude critique et perspectives
Ann. Pédiat., 1982, 29, 489-493

(2) - BENTEGEAT, BOISSEAU

Problème d'ordre psychologique et moral chez les donneuses de lait
Premier congrès européen des lactariums, 1964, 1, 63-73

(3) - BISERTE G., BRETON A., FONTAINE G.

Les protides du lait
Ann. Pédiat., 1955, 31, 393-404

(4) - BRACCO U., BAUER R.

Les lipides du lait humain et les problèmes que pose leur remplacement
Lipides et nutrition, Ann. Nestlé, 1978, 73, 55-81

(5) - BULLEN, ROGERS and LEIGH

Iron binding proteins in milk resistance to Escherichia coli infections in infants
Brit. Med. J., 1972, 1, 69-75

(6) - BUSIN M., MORANGE-BUSIN F.

Le lait maternel: son origine et son devenir au Lactarium de Bordeaux
Th. Méd. Bordeaux, 1984, 29-53

**(7) - CATIGNANI G.L., BIERI J.G., DRISKELL W.J., BASHOR M.M.,
TURLEY C.P., BREWSTER M.A.**

Simultaneous determination of retinol and alpha-tocopherol in serum or plasma by
liquid chromatography
Clinical Chemistry, 1983, 29, 708-712

- (8) - **CAUSERET J., LHUISSIER M., HUGOT D.**
Les vitamines dans les produits laitiers: lait en nature, crème, beurre, fromages
Ann. Nutr. Alim., 1970, 24, B169-B200
- (9) - **COMMITTEE on NUTRITION**
Composition of milk
Pediatrics, 1960, 26, 1039-1049
- (10) - **DRISKELL W.J., NEESE J.W., BRYANT C.C., BASHOR M.M.**
Measurement of vitamin A and vitamin E in human serum by High-Performance
Liquid Chromatography
Journal of Chromatography, 1982, 231, 439-444
- (11) - **ERB F., BRICE A., LHOPITault J.C., ASSYSEKA N.**
Evolution de la teneur vitaminique du lait maternel au cours des traitements de
pasteurisation et de congélation pratiqués en lactarium
Ann. Fals. Exp. Chim., Février 1981, 74, 794, 105-118
- (12) - **FOMON S.J.**
Infant nutrition, 2^{ème} édition, Saunders Cpy, Philadelphie, 1974
- (13) - **FONTAINE G.**
Le lait humain
La médecine infantile, 1978, 6, 649-681
- (14) - **FREMAUX-MAZERAN F.**
Lait de femme: recueil, contrôle et traitement au Lactarium Régional Rhône-Alpes
Th. Méd. Lyon, 1987, 54-82
- (15) - **GARNIER**
Bilan d'activité (connue) de l'A.L.D.F. en 1988
Fonctionnement des lactariums de France, Ed. A.L.D.F.

(16) - GARZA C.

Effects of methods of collection and storage on nutrients in human milk
Early Human Development, 1982, 6, 295-303

(17) - GRIMMONPREZ L.

Les glucides du lait de femme
Med. Nutr., 1977, 13, 343-348

(18) - HAMBRAEUS L.

Proprietary milk versus human breast milk in infant feeding.
A critical appraisal from the nutritional point of view
Pediat. Clin. Nth. Amer., 1977, 24, 17-36

(19) - KON S.K.

Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine
Et. Nutrition F.A.D., 1959, 17

(20) - KON S.K., THOMPSON S.Y.

Milchwissench, 1957, 12, 166

(21) - LAKDAWALA

Vitamin D in human milk
Lancet, 1977, 1, 167-168

(22) - LAURENT A.M., GARDETTE R., OUDOT C.

Contrôle sanitaire des produits de l'alimentation
Le Service d'Hygiène et de Santé de la Ville de Lyon, Juillet 1987

(23) - LE BLOUCH

Dérivés de la vitamine D3 des laits de femme et de vache: ester sulfate de
cholécalférol, hydroxy-25 cholécalférol
J. Vit. Nutri. Res., 1974, 44, 167-179

(24) -LEBOULANGER J.

Les vitamines hydrosolubles

Les vitamines, Ed. Hoffman la Roche et Cie, 1984, 73-164

(25) - LEBOULANGER J.

Les vitamines liposolubles

Les vitamines, Ed. Hoffman la Roche et Cie, 1984, 31-72

(26) - LE GRUSSE J.

L'essentiel sur les vitamines

Vitascope (C.E.I.V.), Mars 1989, 1599

(27) - MARTINET J., HOUDEBLINE L. M.

La lactation

La Recherche, 1982, 131, 300-310

(28) - MONTREUIL J.

Composition chimique du lait de femme

Médecine périnatale, VII^{ème} journées nationales d'Aix les Bains, 1977, Arnette Ed.,
Paris, 1978

(29) - PIERRE A.

La conservation du lait de femme par réfrigération ou congélation

Méd. et Nut., 1988, 24, 2

(30) - POLONOVSKI M., LESPAGNOL A.

Nouvelles acquisitions sur les composés glucidiques du lait de femme

Bull. Soc. Chim. Biol., 1933, 5, 320-349

(31) - RAYNAUD M.

Le facteur bifidus

Ann. de pédiatrie, Janvier 1959, 4, 240-253

(32) - REDDY V.

Antimicrobial factors in human milk
Acta. Pediat. Scand., 1977, 66, 229

(33) - REPUBLIQUE FRANCAISE

Arrêté du 9 Août 1954
J. O. de la République Française, 27 Août 1954, 199, 8327-8328

(34) - REPUBLIQUE FRANCAISE

Arrêté du 18 Août 1983
J. O. de la République Française, 2 Septembre 1983, 203, 8061-8062

(35) - RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G.

Composition du lait humain
L'alimentation du nouveau-né et du prématuré (SALLE B., PUTET G.)
DOIN Ed. Paris, 1986, 3-21

(36) - SAHASHI

Metabolism of vitamin D in animal v. isolation of vitamin D sulfate
J. Vitaminol, 1967, 13, 33-40

(37) - SAPORTA G.

Théories et méthodes de la statistique
Ed. Technip. France, 1978

(38) - SOUILLET G., SANN L., FROBERT Y., CLERC M.

Fonctions immunitaires du lait maternel
Pédiatrie, 1979, 34, 8, 863-867

(39) - UDENFRIEND S.

Ascorbic Acid
Fluorescence Assay in Biology and Medecine, Ed. Academic Press, 1962,1,262-263

(40) - VIDAL

Dictionnaire

Paris, 1989, 65^{ème} édition



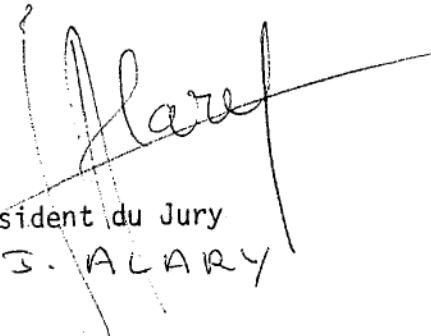
AUTORISATION D'IMPRESSION

De la Thèse dont l'intitulé est :

CANDIDAT : Monsieur BRET

VU

GRENOBLE, le 25-09-89


Le Président du Jury

P. J. ALARY

VU

GRENOBLE, le 3 octobre 1989

Le Président de l'Université
Joseph FOURIER GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

