



Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les cultures de lait maternel frais et la survenue d'infection chez le nouveau-né hospitalisé

Caroline Chollat-Namy

► To cite this version:

Caroline Chollat-Namy. Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les cultures de lait maternel frais et la survenue d'infection chez le nouveau-né hospitalisé. Médecine humaine et pathologie. 2021. dumas-03472226

HAL Id: dumas-03472226

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03472226v1>

Submitted on 9 Dec 2021

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.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
par

CHOLLAT-NAMY Caroline

Présentée et soutenue publiquement le 02 avril 2021

**Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les
cultures de lait maternel frais et la survenue d'infection chez le
nouveau-né hospitalisé**

Directeur de thèse : Madame POIRIER Véronique, Docteur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Président du jury : Monsieur BONNET Richard, Professeur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Membres du jury :

Madame SARRET Catherine, Professeur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Madame AUMERAND Claire, Docteur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Madame FORESTIER Christiane, Professeur, UFR de Pharmacie et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
par

CHOLLAT-NAMY Caroline

Présentée et soutenue publiquement le 02 avril 2021

**Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les
cultures de lait maternel frais et la survenue d'infection chez le
nouveau-né hospitalisé**

Directeur de thèse : Madame POIRIER Véronique, Docteur, UFR de Médecine et des Professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Président du jury : Monsieur BONNET Richard, Professeur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Membres du jury :

Madame SARRET Catherine, Professeur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Madame AUMERAND Claire, Docteur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

Madame FORESTIER Christiane, Professeur, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand.

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE D'Auvergne

: **JOYON** Louis
: **DOLY** Michel
: **TURPIN** Dominique
: **VEYRE** Annie
: **DULBECCO** Philippe
: **ESCHALIER** Alain

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE BLAISE PASCAL

: **CABANES** Pierre
: **FONTAINE** Jacques
: **BOUTIN** Christian
: **MONTEIL** Jean-Marc
: **ODOUARD** Albert
: **LAVIGNOTTE** Nadine

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT
VICE-PRESIDENT DU CONSEIL D'ADMINISTRATION
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE
VICE PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA
FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

: **BERNARD** Mathias
: **DEQUIEDT** Vianney
: **WILLIAMS** Benjamin
: **HENRARD** Pierre

: **PEYRARD** Françoise
: **PAQUIS** François



UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES

: **DETEIX** Patrice
: **CHAZAL** Jean

DOYEN
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

: **CLAVELOU** Pierre
: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BOUCHER Daniel - BOURGES Michel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques – CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard – DAUPLAT Jacques – DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - GLANDDIER Gérard - Mmes GLANDDIER Phyllis – M. JACQUETIN Bernard - LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MALPUECH Georges - MARCHEIX Jean-Claude - MICHEL Jean-Luc - MOLINA Claude - MONDIE Jean-Michel - PERI Georges - PETIT Georges - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mlle VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. - BEYTOUT Jean - BOITEUX Jean-Paul - BOMMELAER Gilles - CHAMOUX Alain - DETEIX Patrice – DUBRAY Claude - ESCHALIER Alain - IRTHUM Bernard - KEMENY Jean-Louis – LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène – MM. LEMERY Didier - LUSSON Jean-René - RIBAL Jean-Pierre

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PROFESSEURS DE CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M. AUMAITRE Olivier	Médecine Interne
M. LABBE André	Pédiatrie
M. AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M. DURIF Franck	Neurologie
M. BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M. POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M. CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M. BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M. BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M. CLAVELOU Pierre	Neurologie
M. DUBRAY Claude	Pharmacologie Clinique
M. GILAIN Laurent	O.R.L.
M. LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M. CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire

M. DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M. LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes
M. PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M. SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M. BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme DUCLOS Martine	Physiologie
M. SCHMIDT Jeannot	Thérapeutique
M. BERGER Marc	Hématologie
M. GARCIER Jean-marc	Anatomie-radiologie et Imagerie Médicale
M. ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie

**PROFESSEURS DE
1ère CLASSE**

M. CAILLAUD Denis	Pneumo-phtisiologie
M. VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M. CITRON Bernard	Cardiologie et Maladies Vasculaires
M. D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénéréologie
Mme JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
Mle BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M. GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M. TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M. MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M. RICHARD Ruddy	Physiologie
M. RUIVARD Marc	Médecine Interne
M. SAPIN Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M. COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M. ABERGEL Armando	Hépatologie
M. LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M. CHIAMBARETTA Frédéric	Ophthalmologie
M. FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M. GUY Laurent	Urologie
M. TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M. ANDRE Marc	Médecine Interne
M. BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M. CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. COSTES Frédéric	Physiologie
M. FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M. MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M. RABISCHONG Benoît	Gynécologie-Obstétrique

**PROFESSEURS DE
2ème CLASSE**

Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé

Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna
 M. TCHIRKOV Andréi
 M. CORNELIS François
 M. DESCAMPS Stéphane
 M. POMEL Christophe
 M. CANAVESE Fédérico
 M. LESENS Olivier
 M. AUTHIER Nicolas
 M. BROUSSE Georges
 M. BUC Emmanuel
 M. CHABROT Pascal
 M. LAUTRETTE Alexandre
 M. AZARNOUSH Kasra
 Mme BRUGNON Florence

Mme HENQUELL Cécile
 M. ESCHALIER Romain
 M. MERLIN Etienne
 Mme TOURNADRE Anne
 M. DURANDO Xavier
 M. DUTHEIL Frédéric
 Mme FANTINI Maria Livia
 M. SAKKA Laurent
 M. BOURDEL Nicolas
 M. GUIEZE Romain
 M. POINCLOUX Laurent
 M. SOUTEYRAND Géraud
 M. EVRARD Bertrand
 M. POIRIER Philippe

Pédiatrie
 Cytologie et Histologie
 Génétique
 Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
 Cancérologie – Chirurgie Générale
 Chirurgie Infantile
 Maladies Infectieuses et Tropicales
 Pharmacologie Médicale
 Psychiatrie Adultes/Addictologie
 Chirurgie Digestive
 Radiologie et Imagerie Médicale
 Néphrologie Réanimation Médicale
 Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
 Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
 Bactériologie Virologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Rhumatologie
 Cancérologie
 Médecine et Santé au Travail
 Neurologie
 Anatomie – Neurochirurgie
 Gynécologie-Obstétrique
 Hématologie
 Gastroentérologie
 Cardiologie
 Immunologie
 Parasitologie et Mycologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. CLEMENT Gilles	Médecine Générale
Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne	Nutrition Humaine
M. VORILHON Philippe	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme BOTTET-MAULOUBIER Anne	Médecine Générale
M. CAMBON Benoît	Médecine Générale
M. TANGUY Gilles	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

**MAITRES DE CONFERENCES
HORS CLASSE**

Mme CHAMBON Martine
Mme BOUTELOUP Corinne

Bactériologie Virologie
Nutrition

**MAITRES DE CONFERENCES DE
1ère CLASSE**

M. MORVAN Daniel
Mlle GOUMY Carole
Mme FOGLI Anne
Mlle GOUAS Laetitia
M. MARCEAU Geoffroy
Mme MINET-QUINARD Régine
M. ROBIN Frédéric
Mlle VERONESE Lauren
M. DELMAS Julien
Mlle MIRAND Andrey
M. OUCHCHANE Lemlih

M. LIBERT Frédéric
Mlle COSTE Karen
Mlle AUMERAN Claire
Mme CASSAGNES Lucie
M. LEBRETON Aurélien
M. BUISSON Anthony

Biophysique et Traitement de l'Image
Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Biochimie Biologie Moléculaire
Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Biochimie Biologie Moléculaire
Biochimie Biologie Moléculaire
Bactériologie
Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Bactériologie
Bactériologie Virologie
Biostatistiques, Informatique Médicale
et Technologies de Communication
Pharmacologie Médicale
Pédiatrie
Hygiène Hospitalière
Radiologie et Imagerie Médicale
Hématologie
Gastroentérologie

**MAITRES DE CONFERENCES DE
2ème CLASSE**

Mme PONS Hanaë
M. JABAUDON-GANDET Matthieu
M. BOUVIER Damien
M. COLL Guillaume
Mme SARRET Catherine
M. MAQDASY Salwan
Mme NOURRISSON Céline

Biologie et Médecine du Développement
et de la Reproduction
Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
Biochimie et Biologie Moléculaire
Neurochirurgie
Pédiatrie
Endocrinologie, Diabète et Maladies
Métaboliques
Parasitologie - Mycologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme VAURS-BARRIERE Catherine
M. BAILLY Jean-Luc
Mlle AUBEL Corinne
M. BLANCHON Loïc
Mlle GUILLET Christelle

Biochimie Biologie Moléculaire
Bactériologie Virologie
Oncologie Moléculaire
Biochimie Biologie Moléculaire
Nutrition Humaine

M. BIDET Yannick
M. MARCHAND Fabien
M. DALMASSO Guillaume
M. SOLER Cédric
M. GIRAUDET Fabrice
Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène
Mme LAPORTE Catherine
M. LOLIGNIER Stéphane
Mme MARTEIL Gaëlle
M. PINEL Alexandre
M. PIZON Franck

Oncogénétique
Pharmacologie Médicale
Bactériologie
Biochimie Biologie Moléculaire
Biophysique et Traitement de l'Image
Médecine Générale
Médecine Générale
Neurosciences – Neuropharmacologie
Biologie de la Reproduction
Nutrition Humaine
Santé Publique

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

M. BERNARD Pierre
Mme ESCHALIER Bénédicte
Mme RICHARD Amélie
M. TESSIERES Frédéric

Médecine Générale
Médecine Générale
Médecine Générale
Médecine Général

À notre Président du jury

Monsieur le Professeur Richard BONNET, à vous qui me faites l'honneur de présider ma thèse, je vous présente mes sincères remerciements pour votre participation et votre bienveillance à l'égard de mon travail.

À notre Directeur de thèse

Madame le Docteur Véronique POIRIER, merci infiniment de m'avoir accordée votre confiance et de m'avoir permis de mener à bien ce projet. Je vous suis très reconnaissante pour votre encadrement et votre disponibilité.

À notre Jury de thèse

Madame la Professeur Catherine SARRET, c'est un très grand plaisir pour moi de te compter parmi les membres du jury. Reçois l'expression de ma profonde estime.

Madame le Docteur Claire AUMERAN, je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de me faire l'honneur de juger ce travail. Veuillez recevoir l'expression de ma profonde gratitude.

Madame la Professeur Christiane FORESTIER, merci pour la marque d'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant d'être juge. Soyez assurée de mon très grand respect.

Pour sa participation dans ce travail, je souhaite aussi remercier Madame Céline LAMBERT, pour sa disponibilité et son aide précieuse. C'est un honneur de travailler à vos côtés.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX.....	10
LISTE DES ANNEXES.....	11
LISTE DES FIGURES.....	11
LISTE DES ABREVIATIONS.....	12
1) INTRODUCTION.....	13
2) MATERIEL ET METHODES.....	16
2.1. Population.....	16
2.2. Protocole de l'étude.....	16
2.3 Techniques microbiologiques.....	17
2.4 Analyses statistiques.....	18
3) RESULTATS.....	19
3.1 Caractéristiques de la population étudiée.....	19
3.2 Analyse des variables infection et lait maternel contaminé.....	21
3.3 Prévalence des contaminations de lait maternel.....	23
3.4 Facteurs de risque de contamination du lait maternel.....	23
3.4 Liste des bactéries retrouvées.....	25
3.5 Analyse en fonction du délai de contamination.....	27
3.5 Réponses aux questionnaires.....	29
4) DISCUSSION.....	30
5) CONCLUSION.....	36
BIBLIOGRAPHIE.....	37
ANNEXE I.....	42
ANNEXE II.....	43
ANNEXE III.....	44
ANNEXE IV.....	46
ANNEXE V.....	47

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients

Tableau II : Analyse univariée modélisant les risques de contamination du lait maternel

Tableau III : Prévalence des bactéries retrouvées dans les échantillons de lait maternel

Tableau IV : Analyse univariée en fonction du délai de contamination du lait maternel

Tableau V : Réponses aux questionnaires des mamans tirant leur lait

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Accord éthique du Comité de Protection des Personnes Sud-Est VI

Annexe II : Protocole de recueil de lait maternel

Annexe III : Questionnaire adressé aux mamans tirant leur lait

Annexe IV : Entérocolite ulcéro-nécrosante selon les critères de Bell's

Annexe V : Recommandations pour l'utilisation du lait maternel cru chez les prématurés

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Analyse des variables infection et lait maternel

Figure 2 : Coloration des bactéries retrouvées dans les échantillons de lait maternel

LISTE DES ABREVIATIONS

AG : Age Gestationnel

AM : Allaitement Maternel

AME : Aide Médicale de l'Etat

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CMU : Couverture Maladie Universelle

DBP : Dysplasie Broncho-Pulmonaire

ECBU : Examen Cyto-Bactériologique des Urines

ECUN : EntéroColite Ulcéro-Nécrosante

LM : Lait Maternel

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngé

PC : Périmètre Crânien

PL : Ponction Lombaire

PN : Poids de Naissance

SA : Semaines d'Aménorrhée

SF2H : Société Française d'Hygiène Hospitalière

TN : Taille de Naissance

UFC : Unité Formant Colonies

1) INTRODUCTION

Le lait maternel représente l'alimentation optimale pour les nouveau-nés (1). En dehors de ses qualités nutritionnelles, il joue un rôle important dans le développement du système immunitaire de l'enfant (2). Cette substance bioactive riche en immunoglobulines et en cytokines protège les nourrissons de nombreuses infections (3,4). Cet effet protecteur est dû à l'action combinée de divers facteurs de protection tels que les cellules immunocompétentes, les acides gras antimicrobiens, les polyamines, les oligosaccharides fucosylés, le lysozyme, la lactoferrine et d'autres glycoprotéines (5). Des études ont prouvé que les nourrissons recevant du lait de mère avaient moins d'infections gastro-intestinales, ORL, respiratoires, méningées et urinaires (6–8). Son apport est d'autant plus important chez les enfants prématurés, plus vulnérables et plus fragiles (9,10). Grâce à ses éléments permettant d'optimiser la maturation et l'épaississement des muqueuses digestives et pulmonaires, il protège contre les entérocrites ulcéro-nécrosantes (ECUN) et la dysplasie broncho-pulmonaire (DBP), pathologies fréquentes chez les prématurés (11–13).

Le lait maternel n'est naturellement pas stérile et contient des germes de l'environnement (14). Dès les années 1950, la présence de ces microbes était généralement considérée comme une menace potentielle pour la santé des nourrissons. Cette opinion a changé dans les années 2000 avec la publication de plusieurs articles décrivant la présence de bactéries lactiques dans le lait maternel lui conférant un rôle probiotique (15–17). Ce pouvoir bactéricide lui permet de résister à la colonisation bactérienne et protège ainsi les nouveau-nés des infections. Cette flore naturelle contribue aussi au développement et à la composition du microbiote intestinal des nourrissons. L'étude de la composition bactérienne du lait maternel suscite de plus en plus l'intérêt de nombreux groupes de recherche à travers le monde (18–21). Plusieurs études se

rejoignent en déclarant que les staphylocoques (*epidermidis*, *hominis* et *capitis*), streptocoques (*salivarius*, *mitis*, *parasanguis* et *peroris*), lactobacilles (*gasseri*, *rhamnosus*, *acidophilus*, *plantarum* et *fermentum*) et les espèces *Pseudomonas*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium* et *Acinetobacter* sont des bactéries couramment isolées dans le lait maternel qui peuvent être considérées comme faisant partie de la flore naturelle (22–28).

L'enfant né très prématurément n'a pas la capacité immédiate de s'alimenter directement au sein. Ainsi, le lait maternel doit être recueilli et parfois transporté, réfrigéré, congelé avant d'être administré. Toutes ces étapes de manipulation peuvent être source de colonisation. Il peut donc également contenir des germes potentiellement pathogènes (24), comme *Escherichia coli*, *Enterobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* (β -hémolytique), les espèces *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* et *Serratia* (22,29–32). Des protocoles d'hygiène pour la collecte, le transport et le stockage du lait maternel doivent être appliqués afin de limiter ce risque. Les lactariums assurent la pasteurisation, moyen de diminuer la charge bactérienne du lait. Les recommandations internationales via Cochrane prônent l'utilisation du lait maternel depuis 2008 pour les nouveau-nés prématurés. Comme il n'existe plus de lactarium à Clermont-Ferrand depuis la fin des années 80, nous avons promu l'utilisation du lait cru/frais dans les services accueillant des nouveau-nés afin d'être autonome. En contrepartie, par sécurité, le lait recueilli est analysé chaque semaine. D'autre part, cela permet également d'optimiser le don de lait de femme. Selon les pays et les centres, des prélèvements bactériologiques de lait maternel sont effectués dans les services de néonatalogie afin de rechercher ces germes potentiellement pathogènes.

L'effet bactéricide du lait maternel est-il suffisant pour compenser toute contamination microbienne par des organismes pathogènes ? Les enfants exposés à ces bactéries développent-ils plus d'infections ? Notre travail consacré à l'analyse de prélèvements

bactériologiques de lait maternel des mères tirant leur lait et au suivi des enfants allaités a tenté de répondre à cette question. Nous avons également recherché l'existence de facteurs de risque de contamination du lait maternel. L'objectif de cette étude est d'évaluer la pertinence de ces prélèvements dans les services de néonatalogie.

2) MATERIEL ET METHODES

Cette étude prospective, mono-centrique, observationnelle s'est déroulée du 01 mars 2019 au 31 octobre 2019 dans les services de néonatalogie, soins intensifs de néonatalogie et réanimation néonatale du CHU Estaing à Clermont-Ferrand.

2.1. Population

Tous les nouveau-nés dont les mères tirent leur lait ont été inclus, quel que soit leur terme de naissance. Le critère de non inclusion était la tétée au sein exclusive.

2.2. Protocole de l'étude

Nous nous sommes basés sur les habitudes préexistantes du service. Des échantillons de lait maternel sont collectés chaque semaine pour évaluer le nombre de colonies et identifier les espèces microbiennes. Nous avons relevé tous les prélèvements dits non satisfaisants selon les critères des hygiénistes. Nous parlerons de « lait maternel contaminé ».

Un protocole de recueil similaire est donné à chaque mère utilisant un tire-lait (*Annexe I*). Tous les enfants ayant reçu du lait recueilli ont été suivis. Les données épidémiologiques de ces patients inclus ont été étudiées : la présence d'une corticothérapie anténatale, le terme de naissance, le mode d'accouchement, le sexe de l'enfant, le poids de naissance de l'enfant et son percentile, la taille et le périmètre crânien de naissance, le score d'Apgar. Nous avons recherché s'ils avaient été opérés chirurgicalement ou par cathétérisme et s'ils avaient été atteints d'une entérococolite ulcéro-nécrosante. Cette pathologie était diagnostiquée selon les critères de Bells (*Annexe II*). Tous les agents pathogènes isolés du sang, de l'urine, du liquide céphalo-rachidien, des voies aériennes et des conjonctives du nourrisson ont été recherchés. Les facteurs de risque infectieux comme la durée de la rupture des membranes, la chorioamniotite, un prélèvement vaginal positif à streptocoque B sans antibiothérapie, un accouchement fébrile et la présence d'un liquide amniotique teinté ont été collectés.

L'ensemble des données suivantes concernant les mères a été récupéré : l'âge de la mère, la gestité et la parité, la prise de toxique et/ou tabagique durant la grossesse, un diabète maternel, la durée du travail, la présence d'une épisiotomie et de manœuvres instrumentales à l'accouchement. Les critères socio-économiques comme la présence d'un emploi, la provenance d'un pays autre que la France et la couverture par l'AME et/ou la CMU ont également été recueillis.

A l'aide d'un questionnaire distribué quotidiennement aux mamans tirant leur lait (*Annexe III*), nous avons pu identifier si elles avaient de la fièvre, des douleurs abdominales, si elles étaient sous antibiotiques, si elles avaient consulté un médecin récemment, si elles avaient des boutons (acné), un panaris et une plaie mal cicatrisée. Nous leur avons demandé si elles avaient des soucis avec leurs seins (douleur, rougeur), des crevasses, et si tirer leur lait était douloureux. Enfin, concernant l'utilisation du tire-lait, nous avons pu savoir si elles avaient reçu et lu le livret « J'allaité mon bébé hospitalisé », si elles avaient compris l'information sur les conseils d'hygiène corporelle, s'il était difficile de respecter les conseils d'hygiène pour tirer leur lait et si elles avaient des soucis pour tirer leur lait.

2.3 Techniques microbiologiques

Les échantillons de lait sont ensemencés par étalement pour numération de la flore totale aérobie, recherche et numération de *Staphylococcus* coagulase positif, des entérobactéries, des streptocoques et de *Bacillus cereus*. Des milieux de géloses différents sont utilisés pour chaque analyse : gélose au sang Columbia pour la flore totale aérobie, gélose Chapman pour le *Staphylococcus aureus*, gélose CAP sous CO₂ pour les streptocoques et gélose Compass Bacillus pour le *Bacillus cereus*. Une dilution du lait au 1/10 en eau peptonée est réalisée pour le *Bacillus cereus* et au 1/100 et 1/1000 pour les 3 autres recherches. La température d'incubation est de 30 ± 2°C pour le *Bacillus cereus* et de 36 ± 2°C pour les autres bactéries. La durée d'incubation est de 24 à 48h. Un prélèvement est dit non satisfaisant lorsque la

numération de la flore totale est supérieure à 10^5 unités-formant-colonies par millilitre (UFC/mL), celle de *Staphylococcus aureus* supérieure à 10^4 UFC/mL, celle des streptocoques et des bactéries bacilles gram négatif supérieure à 200 UFC/mL et celle de *Bacillus cereus* supérieure à 20 UFC/mL.

2.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Stata (version 15 ; StataCorp, College Station, Texas, USA), en considérant un risque d'erreur de première espèce bilatéral de 5%. L'échantillon a été décrit par des effectifs et pourcentages associés pour les variables catégorielles, et par la moyenne $\pm$ écart-type ou la médiane [intervalle interquartile] pour les variables quantitatives, au regard de leur distribution statistique. La normalité a été étudiée par le test de Shapiro-Wilk et/ou par histogramme. L'étude des facteurs associés à au moins un prélèvement contaminé a été réalisée par des tests du khi-deux ou des tests exacts de Fisher pour les variables catégorielles, et par des tests t de Student ou des tests de Mann-Whitney pour les variables quantitatives. Au regard de la possible non-indépendance des données (plusieurs enfants pour une même mère, dans le cas des jumeaux), une attention particulière a été portée à la variabilité intra-individuelle. Au sein du sous-groupe d'enfants dont les mères avaient eu au moins un prélèvement contaminé, des analyses comparatives ont été réalisées selon le délai de contamination (0-14 jours vs >14 jours) en suivant le même plan d'analyse que décrit précédemment.

3) RESULTATS

3.1 *Caractéristiques de la population étudiée*

Au cours de notre étude, les échantillons de lait ont été obtenus chez 126 mamans (âge 31.2 $\pm$ 5.6 années) de 131 enfants (poids de naissance 1960g [1272 ; 2820]). Les caractéristiques sociodémographiques et cliniques de ces patients sont présentées dans le *tableau I*.

Vingt bébés (15.3%) avaient des jumeaux et 3 (2.3%) étaient issus d'une grossesse triple. Seize enfants (12.2%) avaient une mère diabétique durant la grossesse (diabète gestationnel ou diabète préexistant) et 20 (15.3%) une mère tabagique. Une consommation de toxiques (drogue, alcool) était identifiée chez 9 mères (6.9%). Une corticothérapie anténatale a été administrée chez 58 mamans (44.3%). On observe que 58.8% des enfants provenaient d'accouchement par voie basse, 13.7% par césarienne programmée et 27.5% par césarienne en urgence. Concernant les risques infectieux, une rupture prolongée des membranes supérieure à 18h était retrouvée chez 18 patients (13.7%) et une chorioamniotite chez 11 patients (8.4%). Trois nouveau-nés (2.3%) avaient une mère avec un prélèvement vaginal positif à Streptocoque B et une administration incomplète d'antibiotique. Le pourcentage d'accouchements fébriles était de 8.4%. Un liquide amniotique teinté était présent chez 21 patients (16%). Quinze nourrissons (11.4%) étaient nés avant 28 semaines d'aménorrhée (SA), 31 (23.7%) entre 28 et 32SA, 45 (34.3%) entre 32 et 37SA et 40 (30.5%) étaient nés à terme. On note que 55.7% des enfants étaient de sexe masculin, 21.4% était hypotrophes (poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile) et 9.9% étaient macrosomes (poids de naissance supérieur au 90^{ème} percentile). La taille de naissance moyenne était de 42.7 cm $\pm$ 6.7 et le périmètre crânien de 30.7 cm $\pm$ 6.0. Trois mamans (2.3%) avaient eu une épisiotomie et 6 accouchements (4.6%) avaient nécessité une manœuvre instrumentale (ventouse ou forceps). La durée du travail était en moyenne de 3 heures [1 ; 7]. Au niveau

social, 28.2% des enfants avaient des mères provenant d'un pays étranger à la France, 68.5% avaient des mamans ayant un emploi et 20.2% une aide sociale. Lors de leur séjour hospitalier, 11 nourrissons (8.4%) ont subi une chirurgie, 4 (3.1%) ont eu un canal artériel pris en charge par cathétérisme, 8 (6.1%) une entérocolite ulcéro-nécrosante (ECUN) traitée médicalement et 4 (3.1%) une ECUN traitée chirurgicalement.

La deuxième colonne du tableau représente le descriptif des 55 enfants pour lesquels les données de leur maman ont pu être analysées par la suite dans la partie concernant les questionnaires.

Tableau I : Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients

	Total (n=131)	n=55
Age maternel (années)	31.2 ± 5.6	31.8 ± 5.7
Gestité	2 [1 ; 3]	2 [1 ; 3]
Parité	1 [1 ; 2]	1 [1 ; 2]
Nombre de fœtus		
1	108 (82.4%)	48 (87.3%)
2	20 (15.3%)	7 (12.7%)
3	3 (2.3%)	
Mère diabétique	16 (12.2%)	10 (18.2%)
Mère tabagique	20 (15.3%)	10 (18.2%)
Toxiques (drogues, alcool)	9 (6.9%)	4 (7.3%)
Corticothérapie anténatale	58 (44.3%)	22 (40.0%)
Mode d'accouchement		
Voie basse	77 (58.8%)	33 (60.0%)
Césarienne programmée	18 (13.7%)	7 (12.7%)
Césarienne en urgence	36 (27.5%)	15 (27.3%)
Rupture des membranes		
< 12h	105 (80.1%)	45 (81.8%)
Entre 12h et 18h	8 (6.1%)	1 (1.8%)
> 18h	18 (13.7%)	9 (16.3%)
Chorioamniotite	11 (8.4%)	6 (10.9%)
PVSB et antibiothérapie incomplète	3 (2.3%)	2 (3.6%)
Accouchement fébrile	11 (8.4%)	5 (9.1%)
Liquide amniotique teinté	21 (16.0%)	8 (14.5%)

Age gestationnel		
< 28 SA	15 (11.4%)	5 (9.1%)
Entre 28 et 32 SA	31 (23.7%)	10 (18.2%)
Entre 32 et 37 SA	45 (34.3%)	25 (45.5%)
> 37 SA	40 (30.5%)	15 (27.3%)
Sexe masculin	73 (55.7%)	29 (52.7%)
Poids de naissance (g)	1960 [1272 ; 2820]	2150 [1290 ; 2900]
Hypotrophie	28 (21.4%)	12 (21.8%)
Macrosomie	13 (9.9%)	6 (10.9%)
Taille de naissance (cm)	42.7 ± 6.7	43.2 ± 6.8
PC de naissance (cm)	30.7 ± 6.0	30.7 ± 3.7
Apgar		
M1	6.4 ± 3.0	6.4 ± 3.2
M5	7.9 ± 1.9	8.1 ± 1.9
M10	8.6 ± 1.6	8.8 ± 1.4
Episiotomie	3 (2.3%)	1 (1.8%)
Manœuvres instrumentales	6 (4.6%)	1 (1.8%)
Durée du travail (h)	3 [1 ; 7]	4 [1 ; 6]
Non français	37 (28.2%)	13 (23.6%)
Aide sociale	25 (20.2%)	7 (12.7%)
Emploi	89 (68.5%)	38 (69.1%)
Chirurgie chez l'enfant	11 (8.4%)	
Canal artériel opéré	4 (3.1%)	
ECUN traitée médicalement	8 (6.1%)	
ECUN traitée chirurgicalement	4 (3.1%)	

Les données sont exprimées en nombre et pourcentage (%) ou en moyenne ± écart-type.
PVSb : prélèvement vaginal à Streptocoque B. PC : périmètre crânien. ECUN : entérocolite
ulcéronécrosante.

3.2 Analyse des variables infection et lait maternel contaminé

Sur les 131 enfants, 22 ont développé une infection bactérienne documentée (16.8%) et 58 avaient une mère avec un prélèvement de lait maternel contaminé (44.3%). Dix enfants ont eu à la fois une infection bactérienne et un prélèvement de lait contaminé (*Figure 1*). Nous avons retrouvé le même germe chez 3 patients et une imputabilité chez un seul de ces patients. Ce

dernier porteur d'une myasthénie congénitale était né à terme et développera plus tard une insuffisance respiratoire chronique nécessitant une ventilation non invasive. La bactérie présente dans plusieurs prélèvements de lait de sa mère et dans une aspiration trachéale était *Klebsielle pneumoniae*. Elle n'a jamais provoqué de bactériémie et le patient n'a pas reçu d'antibiotiques. Le prélèvement trachéal a été réalisé une seule fois, après l'analyse de plusieurs échantillons de lait. Concernant les deux autres enfants chez qui nous avons retrouvé le même germe : chez le premier, *Escherichia coli* était présent chronologiquement dans des prélèvements ophtalmologiques et trachéaux puis dans le lait maternel. Il n'y avait pas de bactérie dans le lait avant la réalisation des prélèvements des yeux et de la trachée. Chez le deuxième, *Staphylococcus aureus* était identifié dans les conjonctives puis dans le lait maternel.

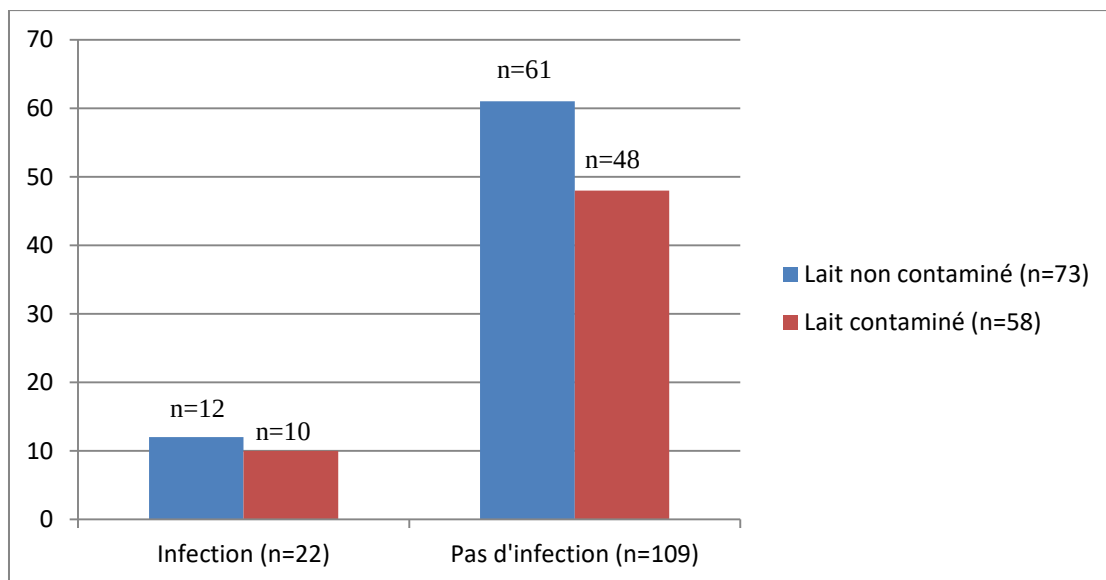


Figure 1 : Analyse des variables infection et lait maternel contaminé

3.3 Prévalence des contaminations de lait maternel

Sur les 126 mamans, le nombre médian de prélèvements par mère était de 2 [1 ; 4] (1 ; 16). Sur 364 prélèvements bactériologiques de lait maternel analysés, 108 prélèvements étaient contaminés soit 29.7%. On observe que 56.3% des mamans n'ont pas eu de prélèvements contaminés et 13.5% des mamans en ont eu 100%.

3.4 Facteurs de risque de contamination du lait maternel

L'analyse univariée (*Tableau II*) a permis d'identifier des variables associées à la contamination du lait maternel.

Tableau II : Analyse univariée modélisant les risques de contamination du lait maternel

	Lait maternel contaminé	Lait maternel non contaminé	p value
Age maternel (années)	31.8 ± 5.8	30.6 ± 5.5	0.23
Gestité	2 [2 ; 3]	2 [1 ; 3]	0.21
Parité	2 [1 ; 2]	1 [1 ; 2]	0.07
Nombre de fœtus			
1	81.0%	83.6%	0.78
2	15.5%	15.1%	
3	3.5%	1.4%	
Mère diabétique	10.3%	13.7%	0.56
Mère tabagique	12.1%	17.8%	0.36
Toxiques (drogues, alcool)	8.6%	5.5%	0.51
Corticothérapie anténatale	56.9%	34.3%	0.01
Mode d'accouchement			
Voie basse	44.8%	69.9%	0.02
Césarienne programmée	19.0%	9.6%	
Césarienne en urgence	36.2%	20.1%	
Rupture des membranes			
< 12h	81.0%	79.5%	1.00
Entre 12h et 18h	5.2%	6.9%	

> 18h	13.8%	13.7%	
Chorioamniotite	10.3%	6.9%	0.54
PVSB et antibiothérapie incomplète	0.0%	4.1%	0.25
Accouchement fébrile	10.3%	6.9%	0.54
Liquide amniotique teinté	15.5%	16.4%	0.89
Age gestationnel			
< 28 SA	17.2%	6.9%	0.04
Entre 28 et 32 SA	25.9%	21.9%	
Entre 32 et 37 SA	37.9%	31.5%	
> 37 SA	19.0%	39.7%	
Sexe masculin	53.5%	57.5%	0.64
Poids de naissance (g)	1547.5 [1180 ; 2430]	2200 [1555 ; 3170]	0.006
Hypotrophie	19.0%	23.3%	0.55
Macrosome	6.9%	12.3%	0.30
Taille de naissance (cm)	41.5 ± 5.9	43.7 ± 7.2	0.07
PC de naissance (cm)	29.4 ± 3.9	31.7 ± 7.1	0.01
Épisiotomie	1.7%	2.7%	0.09
Manœuvres instrumentales	1.7%	6.9%	0.23
Durée du travail pour voie basse (h)	1 [1 ; 6]	3.5 [1 ; 7]	0.15
Non français	36.2%	21.9%	0.07
Aide sociale	22.2%	18.6%	0.62
Emploi	65.5%	70.8%	0.52
Chirurgie chez l'enfant	6.9%	9.6%	0.75
Canal artériel opéré	3.5%	2.7%	1.00
ECUN traitée médicalement	8.6%	4.1%	0.47
ECUN traitée chirurgicalement	5.2%	1.4%	0.32

Les données sont exprimées en nombre et pourcentage (%) ou en moyenne ± écart-type. PVSB : prélèvement vaginal à Streptocoque B. PC : périmètre crânien. ECUN : entérocolite ulcéronécrosante.

Les prélèvements des mères ayant reçu une corticothérapie anténatale sont significativement plus contaminés (p=0.01). Le mode d'accouchement a un impact significatif sur la positivité des prélèvements (p=0.02) : 44.8% des accouchements par voie basse sont associés à un prélèvement contaminé et 69.9% à un échantillon satisfaisant. Les mensurations du nouveau-

né influent sur la contamination des échantillons de lait. Le poids de naissance moyen des bébés dont leur mère a une culture de lait positive est de 1547.5 g contre 2200 g pour ceux dont la culture est stérile ($p=0.006$), la taille de naissance de ceux dont le prélèvement contient une bactérie est en moyenne de 41.5 ± 5.9 cm *versus* 43.7 ± 7.2 cm ($p=0.07$) et le périmètre crânien de 29.4 ± 3.9 cm *versus* 31.7 ± 7.1 cm ($p=0.01$). Les prématurés nés entre 32 et 37SA hospitalisés aux soins intensifs sont les plus vulnérables. Nous notons que chez les enfants de moins de 28SA, 17.2% ont un prélèvement de lait contaminé et 6.9% ont un échantillon satisfaisant. La provenance d'un pays étranger à la France a une tendance significative sur la contamination des cultures de lait ($p=0.07$). Il n'y a pas de différence significative de contamination du lait si l'enfant était opéré ou atteint d'entérocolite ulcéro-nécrosante.

3.4 Liste des bactéries retrouvées

Sur 108 échantillons de lait maternel, 25 bactéries différentes ont été identifiées : 59% étaient Gram positive et 41% Gram négative (Figure 2).

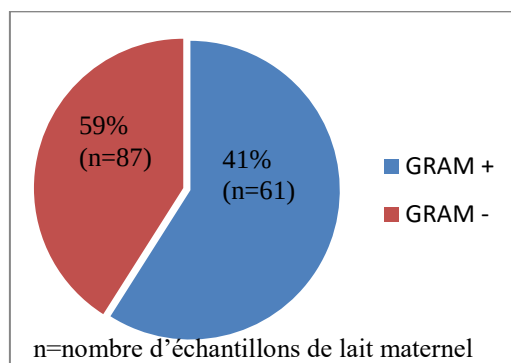


Figure 2 : Colorations des bactéries retrouvées

La bactérie retrouvée le plus fréquemment était *Staphylococcus aureus* (Tableau III). Le genre streptocoque était majoritairement présent.

Bacillus cereus est considéré comme un germe pathogène. Il a été retrouvé dans 3 prélèvements de patientes différentes et n'a pas provoqué de bactériémie ni d'infection quelconque chez le bébé. *Escherichia Coli* a été identifié dans le lait de 4 mamans : celle qui le même germe a été retrouvé dans le lait et les conjonctives du bébé et les enfants des trois autres mères n'ont eu aucune infection, ils étaient stables et n'ont pas reçu d'antibiotique.

Tableau III : Prévalence des genres et espèces des bactéries dans les échantillons de lait maternel

Genre	Prévalence n/N	Espèces	Nombre	(%)
Streptococcus	38/148	Streptococcus mitis	21	14.2
		oralis		
		Streptococcus salivarius/vestibularis	8	5.4
		Streptococcus parasanguinis	6	4.0
		Streptococcus anginosus	3	2.0
Staphylococcus	34/148	Staphylococcus aureus	34	23.0
Klebsiella	21/148	Klebsiella oxytoca	10	6.8
		Klebsiella pneumoniae	9	6.1
		Klebsiella aerogenes	1	0.7
		Klebsiella ornithilolytica	1	0.7
Enterobacter	12/148	Enterobacter cloacae complex	12	8.1
Acinetobacter	11/148	Acinetobacter baumannii	4	2.7
		Acinetobacter jejuni	4	2.7
		Acinetobacter pittii	3	2.0
Enterococcus	9/148	Enterococcus faecalis	9	6.1
Escherichia	5/148	Escherichia coli	5	3.4
Citrobacter	4/148	Citrobacter koseri	4	2.7
Bacillus	3/148	Bacillus cereus	3	2.0
Lactobacillus	3/148	Lactobacillus jensenii	2	1.3
		Lactobacillus acidophilus	1	0.7
Pseudomonas	3/148	Pseudomonas aeruginosa	2	1.3
		Pseudomonas putida	1	0.7
Aeromonas	2/148	Aeromonas caviae	2	1.3
Serratia	2/148	Serratia liquefaciens	1	0.7
		Serratia marcescens	1	0.7
Pantoea	1/148	Pantoea agglomerus	1	0.7

n=nombre de bactéries retrouvées dans les échantillons de lait maternel

3.5 Analyse en fonction du délai de contamination

Sur les 58 enfants qui avaient une mère dont au moins un prélèvement de lait était contaminé, 36 avaient leur premier prélèvement positif dans les 14 jours suivant l'accouchement et 22 après 14 jours. L'analyse univariée (*Tableau IV*) montre qu'il y a une différence significative en fonction du poids de naissance (médiane de 2130g pour le délai 0-14 jours et de 1205g pour le délai >14 jours), du périmètre crânien (médiane de 30.6cm pour le délai 0-14 jours et de 27.5cm pour le délai >14 jours) et de la taille (médiane de 43.2cm pour le délai 0-14 jours et de 38.8cm pour le délai >14 jours). Les enfants nés avant 28SA ont un délai de contamination plus long que ceux nés après 37SA. En effet, chez ceux nés avant 28SA, 11.1% ont une culture qui se positive dans les 14 premiers jours de vie contre 27.3% après 14 jours. Chez ceux nés après 37SA, 27.8% ont un prélèvement contaminé dans les 14 premiers jours de vie contre 4.6% après 14 jours. La durée du travail a une tendance significative sur le délai de contamination : la durée moyenne de travail est de 3 heures [1 ; 7] lorsque le lait se contamine dans les 14 premiers jours et de 1 heure [1 ; 4] lorsqu'il se positive après 14 jours.

Tableau IV : Analyse univariée en fonction du délai de contamination

	Délai 0-14 jours	Délai > 14 jours	p value
Age maternel (années)	31.1 ± 6.2	33.1 ± 4.9	0.17
Gestité	2 [1.5 ; 3]	2 [2 ; 3]	0.82
Parité	1.5 [1 ; 2]	2 [1 ; 2]	0.17
Nombre de fœtus			
1	77.8%	86.4%	0.53
2	19.4%	9.1%	
3	2.8%	4.6%	
Mère diabétique	13.9%	4.6%	0.39
Mère tabagique	13.9%	9.1%	0.70
Toxiques (drogues, alcool)	11.1%	4.6%	0.64

Corticothérapie anténatale	44.4%	77.3%	0.01
Mode d'accouchement			
Voie basse	52.8%	31.8%	0.10
Césarienne programmée	22.2%	13.6%	
Césarienne en urgence	25.0%	54.5%	
Rupture des membranes			
< 12h	80.6%	81.8%	0.51
Entre 12h et 18h	2.8%	9.1%	
> 18h	16.7%	9.1%	
Chorioamniotite	11.1%	9.1%	1.00
PVSB et antibiothérapie incomplète	0.0%	0.0%	1.00
Accouchement fébrile	13.9%	4.6%	0.39
Liquide amniotique teinté	11.1%	22.7%	0.28
Age gestationnel			
< 28 SA	11.1%	27.3%	0.09
Entre 28 et 32 SA	22.2%	31.8%	
Entre 32 et 37 SA	38.9%	36.4%	
> 37 SA	27.8%	4.6%	
Sexe masculin	61.1%	40.9%	0.13
Poids de naissance (g)	2130 [1335 ; 2742.5]	1205 [975 ; 1700]	0.002
Hypotrophie	13.9%	27.3%	0.30
Macrosome	5.6%	9.1%	0.63
Taille de naissance (cm)	43.2 ± 5.3	38.8 ± 6.0	0.005
PC de naissance (cm)	30.6 ± 3.4	27.5 ± 4.0	0.006
Episiotomie	2.3%	0.0%	0.22
Manœuvres instrumentales	2.8%	0.0%	1.00
Durée du travail (h)	3 [1 ; 7]	1 [1 ; 4]	0.09

Les données sont exprimées en nombre et pourcentage (%) ou en moyenne ± écart-type. PVSB : prélèvement vaginal à Streptocoque B. PC : périmètre crânien.

3.5 Réponses aux questionnaires

Quatre-vingt-neuf questionnaires ont pu être reliés à la contamination ou non d'un prélèvement. Ces questionnaires ont été obtenus chez 54 mamans (âge 31.8 ± 5.7 années) de 55 enfants (poids de naissance 2150g (560 ; 4000)) (*Tableau I*). Nous n'avons pas retrouvé de facteurs de risque de contamination du lait maternel (*Tableau V*).

Tableau V : Réponses aux questionnaires des mamans tirant leur lait et étude des facteurs associés à un prélèvement contaminé

	Lait maternel contaminé (n=23)	Lait maternel non contaminé (n=66)	P-value
ETAT GENERAL			
Fièvre	0 (0)	0 (0)	p=1
Douleur abdominale	1 (4.3)	8 (12.1)	p=0.29
Prise d'antibiotiques	2 (8.7)	2 (3.0)	p=0.34
Consultation récente chez un médecin	1 (4.3)	1 (1.5)	p=0.46
Présence de bouton/panaris	0 (0)	4 (6.1)	p=0.57
Présence de plaie mal cicatrisée	1 (4.3)	3 (4.6)	p=0.83
SEIN			
Douleur/rougeur des seins	5 (21.7)	13 (19.7)	p=0.93
Présence de crevasses	1 (4.3)	1 (1.5)	p=0.44
Douleur pour tirer le lait	2 (8.7)	10 (15.1)	p=0.38
UTILISATION DU TIRE-LAIT			
Livret lu et reçu	21 (91.3)	59 (89.4)	p=0.82
Informations sur l'hygiène corporelle comprises	22 (100)	64 (97.0)	p=1
Difficulté pour respecter les conseils d'hygiène pour tirer le lait	0 (0)	1 (1.5)	p=1
Soucis pour tirer le lait	1 (4.6)	4 (6.1)	p=0.82
Si oui, en avez-vous parlé à l'équipe paramédicale ?	1 (100)	3 (100)	

4) DISCUSSION

Notre étude montre qu'il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans le lait maternel et la survenue d'infection chez le nouveau-né hospitalisé. Dans la littérature, les avis divergent concernant la réelle pathogénicité des germes retrouvés dans le lait maternel (33,34). Le fait qu'il soit un produit biologique suscite des inquiétudes quant à sa contamination. Plusieurs rapports de cas suggèrent que celui-ci est une source d'infection pour le nouveau-né (29,35). Certains affirment que l'infection néonatale tardive à *Streptocoque du groupe B* est causée par le lait maternel (36–39). D'autres pensent que c'est le nouveau-né colonisé au niveau de la gorge qui est la source initiale de *Streptocoque B* et la glande mammaire comme site de réplication de ce germe (33). Notre travail a montré une imputabilité chez un seul patient mais il est difficile de présumer une transmission unidirectionnelle de la mère à l'enfant. Dans les années 1980, trois équipes ont déclaré qu'il n'y avait aucun effet indésirable attribuable à l'ingestion de bactéries associées au lait (40–42). Depuis, une seule étude a indiqué que les cultures de lait n'étaient pas prédictives d'infection chez le prématuré (24). Les propriétés antimicrobiennes du lait expliquent probablement cette protection (3,43). Il a été démontré que le lait maternel inhibe la croissance bactérienne (44), notamment grâce à la présence et l'importance de bactéries de type *Streptococcus* et *Staphylococcus* freinant la croissance de *S. aureus* (15). Conformément à la littérature, nous retrouvons dans notre travail que les genres staphylocoques et streptocoques dominent dans nos échantillons de lait maternel. Plusieurs études rapportent que la bactérie *Bacillus cereus* a un caractère potentiellement très pathogène (45–47). C'est pourquoi elle est particulièrement recherchée dans les cultures de lait maternel. L'équipe de Decousser JW *et al.* suggèrent que le lait maternel est responsable d'un cas d'infection à *Bacillus cereus* (48). Cependant,

d'autres études ont prouvé que des infections chez des prématurés à ce même germe provenaient de l'environnement hospitalier (49), des circuits de ventilation (46), du linge propre mais contaminé de l'hôpital (50). Sa capacité à résister aux procédures de nettoyage standard le rend très virulent. Dans notre travail, ce germe a été retrouvé dans les cultures de 3 mères et n'a pas engendré d'infections chez leurs enfants dont 2 étaient nés avant 32 SA.

Une étude a associé la survenue d'une entérocolite ulcéro-nécrosante (ECUN) chez des jumeaux prématurés avec la présence de *Staphylococcus epidermidis* dans le lait maternel (51). Ce lien de causalité est incertain. Dans notre étude, nous n'avons pas montré de corrélation entre la présence de germes dans le lait et l'apparition d'ECUN chez le nouveau-né. Plusieurs travaux soulignent l'action du lait maternel dans la protection des ECUN (13,52).

Nous avons recherché des facteurs de risque de contamination du lait maternel et avons retrouvés les suivants : corticothérapie anténatale, césarienne, grande prématurité, petit poids de naissance et provenance d'un pays étranger à la France. Les facteurs « protecteurs » identifiés ont été : naissance à terme, poids de naissance de 2200g et accouchement par voie basse. L'équipe de R. Martin *et al* a montré qu'il y avait plus d'échantillons de lait insatisfaisants lors d'accouchement par voie basse plutôt que par césarienne (27). Nous avons observé l'inverse et l'expliquons par le fait qu'une césarienne est le reflet de la population d'une grossesse pathologique et d'enfants prématurés. Nous considérons que la cicatrice de césarienne pourrait être en partie un foyer infectieux à l'origine de contamination du lait maternel. D'autre part, le microbiote vaginal est essentiel pour la colonisation de l'intestin du nouveau-né (53). Nous constatons qu'il y a plus de bactéries dans le lait des mères des nouveau-nés de plus petit poids et taille de naissance. Les travaux de Thompson M. *et al* ont aussi trouvé que les mères des nourrissons prématurés avaient un taux plus élevé de bactéries

que les mères des nourrissons nés à terme (54). Nous pouvons l'expliquer en partie par l'immatunité du système immunitaire des prématurés (55). Nous avons observé que le délai de positivité des prélèvements était plus long chez les nourrissons nés avant 28SA. Nous le justifions par une durée de séjour prolongée et par la répétition des prélèvements pour ces grands prématurés. Les mères provenant d'un pays étranger à la France avaient plus de prélèvements positifs. La possible barrière de la langue peut expliquer cette donnée d'autant plus qu'il n'y a pas de traduction du livret d'allaitement.

Les infections liées à l'ingestion de lait maternel frais ont parfois été associées à des symptômes chez la mère tels que la mammite, la fièvre et l'endométrite (56). Notre travail n'a pas retrouvé ces associations à cause du manque de puissance. L'administration de lait maternel frais aux prématurés doit être associée à une surveillance de l'état de santé de la mère. Elles doivent être informées de l'importance de signaler tout symptôme évocateur aux professionnels de santé. C'est la raison pour laquelle les questionnaires ont été mis en place à Clermont-Ferrand en accord avec les recommandations de la Société Française de Néonatalogie (SFN). Conformément au travail de Haiden *et al*, notre étude a objectivé que le taux de contamination n'était pas lié au statut socio-économique ni éducatif des mamans (57).

Nous avons constaté, en accord avec d'autres publications, que 30% des prélèvements étaient colonisés (22,24,58). De nombreuses études ont montré que le tire-lait était une importante source de contamination du lait maternel (59–61). Dans la littérature, le taux de colonisation bactérienne du lait maternel est plus fort lorsqu'il est exprimé par un tire-lait plutôt que par expression manuelle (62–64). Cela peut résulter de l'eau utilisée pour rincer les dispositifs (65), de mains non lavées, d'une utilisation de torchon ou d'un non-respect du protocole d'utilisation du tire-lait. Nos questionnaires nous laissent suggérer une sous-estimation de la compréhension et du respect des règles d'hygiène. L'étude de Jones *et al* a comparé les

pratiques d'hygiène de plusieurs centres et a constaté que le seul ayant adopté les recommandations des lactariums nord-américains pour la décontamination des tire-lait n'a eu aucune contamination à flore aérobie (66). Ce protocole recommandait un lavage soigneux des différentes pièces du tire-lait mais pas de stérilisation. Il va dans le sens des recommandations récentes sur l'entretien des tire-lait formulés par le réseau de périnatalité de la métropole lilloise ayant associé des membres de la Société française d'hygiène hospitalière (SF2H) (67). Un respect de l'hygiène du matériel de collecte et de stockage est donc probablement le moyen le plus important de garantir la qualité microbiologique du lait maternel exprimé (66,68). Il est également important que les accessoires du tire-lait soient stockés dans une boîte hermétique et propre. Les nourrissons prématurés ont la capacité d'allaiter suffisamment tôt. L'efficacité de l'allaitement doit être évaluée régulièrement afin de favoriser la tétée au sein le plus précocement possible pour limiter l'utilisation du tire-lait. Concernant l'hygiène des femmes, une publication récente a montré l'absence de différence de contamination du lait entre l'application d'un protocole d'hygiène simple en 4 étapes et celle d'un protocole strict en 10 étapes avec désinfection de la peau (57). Une toilette corporelle quotidienne à l'eau et au savon est donc recommandée, ce que stipule le protocole de Clermont-Ferrand. Un contrôle de la température durant le transport et le stockage est également primordial (69,70). Elle ne doit pas dépasser 4°C car la majorité des bactéries associées au lait poussent à 7-8°C. Le temps de réfrigération ne doit pas dépasser 48h (71). Il a été montré que le lait maternel perdait ses capacités bactéricides après 72h de réfrigération (72). Plusieurs études ont rapporté que l'expression de lait maternel à l'hôpital réduisait considérablement le risque de contamination microbienne par rapport à la collecte à domicile (22,57,62). Une des raisons peut être l'utilisation de tire-lait et de téterelles réutilisables, et donc à nettoyer, à la maison et non jetables comme à l'hôpital. Les directives

pour la collecte et la manipulation du lait maternel doivent être suivies, à la fois dans les services et à la maison (73).

Selon les pays, la législation concernant les critères bactériologiques de non-conformité du lait maternel est très variable. Ces différences reflètent clairement un manque de consensus. Plusieurs pays industrialisés ne font pas de cultures de lait, comme l'Afrique du Sud, la Suède (74) et la Suisse. En Suède, le lait d'une mère pour son propre enfant n'est ni pasteurisé, ni analysé (75). Pour le don de lait, leur seuil de tolérance est de 10^7 pour le *Staphylocoque aureus* alors qu'il est de 10^4 en France. Le lait de donneur non pasteurisé est largement utilisé dans certains pays comme la Norvège et une partie de l'Allemagne (76). Cette disparité souligne une complexité de l'interprétation de ces prélèvements de lait maternel.

Le débat sur les protocoles et la fréquence des cultures de lait est présent depuis de nombreuses années (77). Lorsque nous avons débuté notre étude, il n'existait pas de recommandations sur les prélèvements bactériologiques de lait maternel et l'utilisation de lait cru. L'équipe de JC Picaud *et al* a publié en 2018 des recommandations nationales validées par la Société Française de Néonatalogie (32). Ils ont analysé 282 articles et examiné les lignes directrices de plusieurs pays. La revue a trouvé peu de données pour déterminer les limites de l'âge gestationnel et du poids à la naissance en dessous desquelles des tests bactériologiques pourraient être recommandés plus précisément. En conséquence, les limites fixées par le groupe de travail sont cohérentes avec celles proposées pour la prévention de l'infection à cytomégalovirus. Une stratégie est donc proposée pour réduire le risque de contamination du lait et de transmission de bactéries à l'enfant, en fonction des conditions de collecte du lait et des caractéristiques du nourrisson : âge gestationnel inférieur à 28 semaines et poids corporel inférieur à 1000g (*Annexe V*).

Nous contestons la réalisation des cultures systématiques hebdomadaires à Clermont-Ferrand qui augmentent le coût, ajoutent du stress pour les mamans et diminuent l'allaitement. Les pratiques doivent être réévaluées, en prenant en compte notre éloignement de Lyon, où est situé notre lactarium. Nous pouvons appliquer les nouvelles recommandations approuvées par la Société Française de Néonatalogie. Il est également important que l'équipe soignante et les patients soient sensibilisés et informés sur les règles d'hygiène. Enfin, les professionnels de santé doivent fournir aux parents les conditions nécessaires à la mise en place de l'allaitement maternel, ainsi qu'un accompagnement spécifique et fort.

5) CONCLUSION

Le lait maternel n'est pas stérile. Sa manipulation peut favoriser une pullulation microbienne. Toutes les étapes potentiellement contaminantes nous rappellent le rôle fondamental de l'éducation des parents et de l'équipe soignante pour le recueil, le transport, le stockage ainsi que la préparation des biberons qui doit obéir à des règles strictes établies. Cette étude montre que les germes retrouvés dans le lait maternel ne sont pas source d'infection chez les nouveau-nés. Le pouvoir bactéricide du lait lui permet de résister au développement de ces microbes. A Clermont-Ferrand, nous pouvons nous questionner sur la pertinence des prélèvements bactériologiques de lait maternel et l'utilité de répéter ces examens chaque semaine. Les cultures de lait maternel sont désormais recommandées pour les enfants de moins de 1000g ou nés avant 28 semaines d'aménorrhée selon la Société Française de Néonatalogie.

**Le Doyen de l'UFR de Médecine,
Professeur Pierre CLAVELOU**

**Le Président du Jury de Thèse,
Professeur Richard BONNET**



BIBLIOGRAPHIE

1. Gartner LM, Morton J, Lawrence RA, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ, et al. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. févr 2005;115(2):496-506.
2. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr*. févr 2010;156(2 Suppl):S3-7.
3. Goldman AS. The immune system in human milk and the developing infant. *Breastfeed Med*. déc 2007;2(4):195-204.
4. Chirico G, Marzollo R, Cortinovis S, Fonte C, Gasparoni A. Antiinfective properties of human milk. *J Nutr*. sept 2008;138(9):1801S-1806S.
5. Masson E. Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère [Internet]. EM-Consulte. [cité 10 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/37672/allaitement-maternel-les-benefices-pour-la-sante-d>
6. Heinig MJ. Host defense benefits of breastfeeding for the infant. Effect of breastfeeding duration and exclusivity. *Pediatr Clin North Am*. févr 2001;48(1):105-23, ix.
7. Howie PW, Forsyth JS, Ogston SA, Clark A, Florey CD. Protective effect of breast feeding against infection. *BMJ*. 6 janv 1990;300(6716):11-6.
8. Ip S, Chung M, Raman G, Chew P, Magula N, DeVine D, et al. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*. avr 2007;(153):1-186.
9. Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, Smith EO. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics*. août 2005;116(2):400-6.
10. Boo NY, Puah CH, Lye MS. The role of expressed breastmilk and continuous positive airway pressure as predictors of survival in extremely low birthweight infants. *J Trop Pediatr*. févr 2000;46(1):15-20.
11. Jantscher-Krenn E, Zhrebtssov M, Nissan C, Goth K, Guner YS, Naidu N, et al. The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotising enterocolitis in neonatal rats. *Gut*. oct 2012;61(10):1417-25.
12. Dicky O, Ehlinger V, Montjoux N, Gremmo-Féger G, Sizun J, Rozé J-C, et al. Policy of feeding very preterm infants with their mother's own fresh expressed milk was associated with a reduced risk of bronchopulmonary dysplasia. *Acta Paediatr*. mai 2017;106(5):755-62.
13. Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawöger R, Kiechl-Kohlendorfer U, et al. An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *J Pediatr*. avr 2010;156(4):562-567.e1.
14. R M, S L, C R, E J, Ml M, M O, et al. The commensal microflora of human milk: new perspective for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in food science & technology*. 1 mars 2004;15(3-4):121-7.
15. Heikkilä MP, Saris PEJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *J Appl Microbiol*. 2003;95(3):471-8.
16. Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr*. déc 2003;143(6):754-8.
17. Lara-Villoslada F, Olivares M, Sierra S, Rodríguez JM, Boza J, Xaus J. Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk. *Br J Nutr*. oct 2007;98 Suppl 1:S96-100.
18. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*. 1 mars 2013;69(1):1-10.

19. Ojo-Okunola A, Nicol M, du Toit E. Human Breast Milk Bacteriome in Health and Disease. *Nutrients*. 3 nov 2018;10(11).
20. Collado MC, Delgado S, Maldonado A, Rodríguez JM. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Lett Appl Microbiol*. mai 2009;48(5):523-8.
21. Fernández L, Pannaraj PS, Rautava S, Rodríguez JM. The Microbiota of the Human Mammary Ecosystem. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:586667.
22. Serra VV, Teves S, López de Volder A, Ossorio F, Aguilar N, Armadans M. Comparison of the risk of microbiological contamination between samples of breast milk obtained at home and at a healthcare facility. *Arch Argent Pediatr*. avr 2013;111(2):115-9.
23. Zimmermann P, Curtis N. Breast milk microbiota: A review of the factors that influence composition. *Journal of Infection*. 1 juill 2020;81(1):17-47.
24. Schanler RJ, Fraley JK, Lau C, Hurst NM, Horvath L, Rossmann SN. Breastmilk cultures and infection in extremely premature infants. *Journal of Perinatology*. mai 2011;31(5):335-8.
25. Jiménez E, Delgado S, Maldonado A, Arroyo R, Albújar M, García N, et al. *Staphylococcus epidermidis*: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiol*. 10 sept 2008;8:143.
26. Solís G, de Los Reyes-Gavilan CG, Fernández N, Margolles A, Gueimonde M. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe*. juin 2010;16(3):307-10.
27. Martín R, Heilig HGHJ, Zoetendal ErwinG, Jiménez E, Fernández L, Smidt H, et al. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Research in Microbiology*. 1 janv 2007;158(1):31-7.
28. Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic Review of the Human Milk Microbiota. *Nutr Clin Pract*. juin 2017;32(3):354-64.
29. Behari P, Englund J, Alcasid G, Garcia-Houchins S, Weber SG. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to preterm infants through breast milk. *Infect Control Hosp Epidemiol*. sept 2004;25(9):778-80.
30. Akinbi H, Meinzen-Derr J, Auer C, Ma Y, Pullum D, Kusano R, et al. Alterations in the host defense properties of human milk following prolonged storage or pasteurization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. sept 2010;51(3):347-52.
31. Lindemann PC, Foshaugen I, Lindemann R. Characteristics of breast milk and serology of women donating breast milk to a milk bank. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. sept 2004;89(5):F440-441.
32. Picaud J, Buffin R, Gremmo-Feger G, Rigo J, Putet G, Casper C. Review concludes that specific recommendations are needed to harmonise the provision of fresh mother's milk to their preterm infants. *Acta Paediatr*. juill 2018;107(7):1145-55.
33. Nicolini G, Borellini M, Loizzo V, Creti R, Memo L, Berardi A. Group B streptococcus late-onset disease, contaminated breast milk and mothers persistently GBS negative: report of 3 cases. *BMC Pediatrics*. 5 juill 2018;18(1):214.
34. Zimmermann P, Gwee A, Curtis N. The controversial role of breast milk in GBS late-onset disease. *J Infect*. juin 2017;74 Suppl 1:S34-40.
35. Widger J, O'Connell NH, Stack T. Breast milk causing neonatal sepsis and death. *Clinical Microbiology and Infection*. 1 déc 2010;16(12):1796-8.
36. Jawa G, Hussain Z, da Silva O. Recurrent Late-Onset Group B Streptococcus Sepsis in a Preterm Infant Acquired by Expressed Breastmilk Transmission: A Case Report. *Breastfeeding Medicine*. 25 juin 2012;8(1):134-6.

37. Olver WJ, Bond DW, Boswell TC, Watkin SL. Neonatal group B streptococcal disease associated with infected breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* juill 2000;83(1):F48-49.
38. Byrne PA, Miller C, Justus K. Neonatal Group B Streptococcal Infection Related to Breast Milk. *Breastfeeding Medicine.* 1 déc 2006;1(4):263-70.
39. Gagneur A, Héry-Arnaud G, Croly-Labourdette S, Gremmo-Feger G, Vallet S, Sizun J, et al. Infected breast milk associated with late-onset and recurrent group B streptococcal infection in neonatal twins: a genetic analysis. *Eur J Pediatr.* 16 déc 2008;168(9):1155.
40. Eidelman AI, Szilagyi G. Patterns of bacterial colonization of human milk. *Obstet Gynecol.* mai 1979;53(5):550-2.
41. Björkstén B, Burman LG, De Château P, Fredrikzon B, Gothefors L, Hernell O. Collecting and banking human milk: to heat or not to heat? *Br Med J.* 20 sept 1980;281(6243):765-9.
42. Law BJ, Urias BA, Lertzman J, Robson D, Romance L. Is ingestion of milk-associated bacteria by premature infants fed raw human milk controlled by routine bacteriologic screening? *J Clin Microbiol.* juill 1989;27(7):1560-6.
43. Xanthou M. Immune protection of human milk. *Biol Neonate.* 1998;74(2):121-33.
44. Van Gysel M, Cossey V, Fieuws S, Schuermans A. Impact of pasteurization on the antibacterial properties of human milk. *Eur J Pediatr.* 1 août 2012;171(8):1231-7.
45. Lotte R, Hérisse A-L, Berrouane Y, Lotte L, Casagrande F, Landraud L, et al. Virulence Analysis of *Bacillus cereus* Isolated after Death of Preterm Neonates, Nice, France, 2013. *Emerg Infect Dis.* mai 2017;23(5):845-8.
46. Gray J, George RH, Durbin GM, Ewer AK, Hocking MD, Morgan ME. An outbreak of *Bacillus cereus* respiratory tract infections on a neonatal unit due to contaminated ventilator circuits. *J Hosp Infect.* janv 1999;41(1):19-22.
47. Colomb-Cotinat M, Soing-Altrach S, Bernet C, Bervas C, Jouzeau N, Sénéchal H, et al. Infections sévères à *Bacillus cereus* chez des nouveau-nés hospitalisés - un phénomène émergent ? 2017;6.
48. Decousser J-W, Ramarao N, Duport C, Dorval M, Bourgeois-Nicolaos N, Guinebretière M-H, et al. *Bacillus cereus* and severe intestinal infections in preterm neonates: Putative role of pooled breast milk. *Am J Infect Control.* oct 2013;41(10):918-21.
49. Lewin A, Quach C, Rigourd V, Picaud J-C, Perreault T, Frange P, et al. *Bacillus cereus* infection in neonates and the absence of evidence for the role of banked human milk: Case reports and literature review. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2019;40(7):787-93.
50. Hosein IK, Hoffman PN, Ellam S, Assees T-M, Fakokunde A, Silles J, et al. Summertime *Bacillus cereus* colonization of hospital newborns traced to contaminated, laundered linen. *J Hosp Infect.* oct 2013;85(2):149-54.
51. Ng PC, Lewindon PJ, Siu YK, Wong W, Cheung KL, Liu K. Bacterial contaminated breast milk and necrotizing enterocolitis in preterm twins. *J Hosp Infect.* oct 1995;31(2):105-10.
52. Chowning R, Radmacher P, Lewis S, Serke L, Pettit N, Adamkin DH. A retrospective analysis of the effect of human milk on prevention of necrotizing enterocolitis and postnatal growth. *J Perinatol.* mars 2016;36(3):221-4.
53. Martín R, Heilig GHJ, Zoetendal EG, Smidt H, Rodríguez JM. Diversity of the *Lactobacillus* group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *J Appl Microbiol.* déc 2007;103(6):2638-44.
54. Thompson N, Pickler RH, Munro C, Shotwell J. Contamination dans le lait maternel exprimé après le nettoyage des seins. *J Hum Lact.* 1 juin 1997;13(2):127-30.

55. Tissières P, Ochoda A, Dunn-Siegrist I, Drifte G, Morales M, Pfister R, et al. Innate immune deficiency of extremely premature neonates can be reversed by interferon- γ . *PLoS One*. 2012;7(3):e32863.
56. Amir LH. ABM Clinical Protocol #4: Mastitis, Revised March 2014. *Breastfeed Med*. 1 juin 2014;9(5):239-43.
57. Haiden N, Pimpel B, Assadian O, Binder C, Kreissl A, Repa A, et al. Comparison of bacterial counts in expressed breast milk following standard or strict infection control regimens in neonatal intensive care units: compliance of mothers does matter. *J Hosp Infect*. mars 2016;92(3):226-8.
58. Landers S, Updegrave K. Bacteriological screening of donor human milk before and after Holder pasteurization. *Breastfeed Med*. juin 2010;5(3):117-21.
59. Moloney AC, Quoraishi AH, Parry P, Hall V. A bacteriological examination of breast pumps. *J Hosp Infect*. mars 1987;9(2):169-74.
60. Knoop U, Matheis G, Schütt-Gerowitt H. [Bacterial contamination of pump-collected breast milk]. *Monatsschr Kinderheilkd*. août 1985;133(8):537-41.
61. Gransden WR, Webster M, French GL, Phillips I. An outbreak of *Serratia marcescens* transmitted by contaminated breast pumps in a special care baby unit. *J Hosp Infect*. mars 1986;7(2):149-54.
62. Boo N-Y, Nordiah AJ, Alfizah H, Nor-Rohaini AH, Lim VKE. Contamination of breast milk obtained by manual expression and breast pumps in mothers of very low birthweight infants. *Journal of Hospital Infection*. 1 déc 2001;49(4):274-81.
63. Ml M, R A, E J, A G, L F, Jm R. Cold storage of human milk: effect on its bacterial composition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1 sept 2009;49(3):343-8.
64. Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, Bode L, Goruk S, Field CJ, et al. Composition and Variation of the Human Milk Microbiota Are Influenced by Maternal and Early-Life Factors. *Cell Host Microbe*. 13 févr 2019;25(2):324-335.e4.
65. Brown SL, Bright RA, Dwyer DE, Foxman B. Breast pump adverse events: reports to the food and drug administration. *J Hum Lact*. mai 2005;21(2):169-74.
66. Jones: Best Practice for Expressing, Storing and... - Google Scholar [Internet]. [cité 10 mars 2021]. Disponible sur: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Best+Practice+for+Expressing,+Storing+and+Handling+Human+Milk+in+Hospitals,+Homes,+and+Child+Care+Settings&author=F+Jones&publication_year=2011&
67. Recueil de lait et entretien des tire-lait en néonatalogie. Recommandations professionnelles par consensus formalisé d'experts; 2013 [Internet]. Disponible sur: https://sdp.perinat-france.org/ADLF/textes_bonnes_pratiques_adlf.php.
68. Breastfeeding: A Guide for the Medical Profession - Ruth A. Lawrence, MD, Robert M. Lawrence, MD - Google Livres [Internet]. [cité 11 mars 2021]. Disponible sur: https://books.google.fr/books/about/Breastfeeding.html?id=1x7mCgAAQBAJ&redir_esc=y
69. Gurtler JB, Beuchat LR. Growth of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula as affected by composition and temperature. *J Food Prot*. sept 2007;70(9):2095-103.
70. Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett Appl Microbiol*. 2004;38(5):378-82.
71. Pardou A, Serruys E, Mascart-Lemone F, Dramaix M, Vis HL. Human milk banking: influence of storage processes and of bacterial contamination on some milk constituents. *Biol Neonate*. 1994;65(5):302-9.
72. Martínez-Costa C, Silvestre MD, López MC, Plaza A, Miranda M, Guijarro R. Effects of refrigeration on the bactericidal activity of human milk: a preliminary study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. août 2007;45(2):275-7.

73. AFSSA Recommandations d'hygiène pour la préparation et la conservation des biberons. juill 2005; Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC-Ra-BIB.pdf>.
74. [PDF] Guidelines for use of human milk and milk handling in Sweden - Free Download [Internet]. [cité 6 mars 2021]. Disponible sur: https://silo.tips/queue/guidelines-for-use-of-human-milk-and-milk-handling-in-sweden?&queue_id=-1&v=1615037218&u=OTIuMTg0LjEwMi43OA==
75. Omarsdottir S, Casper C, Akerman A, Polberger S, Vanpée M. Breastmilk handling routines for preterm infants in Sweden: a national cross-sectional study. *Breastfeed Med.* sept 2008;3(3):165-70.
76. Grøvslien AH, Grønn M. Donor milk banking and breastfeeding in Norway. *J Hum Lact.* mai 2009;25(2):206-10.
77. Boer HR, Anido G, Macdonald N. Bacterial colonization of human milk. *South Med J.* juin 1981;74(6):716-8.

ANNEXE I

Accord éthique du Comité de Protection des Personnes Sud-Est VI



Clermont Fd, le 15 février 2019

Mme Caroline CHOLLAT NAMY
Interne en Pédiatrie
CHU DE CLERMONT FERRAND

Nos Réf. : 2019 / CE 101

Madame,

Vous nous avez sollicités à propos d'un projet intitulé :

« Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les cultures de lait maternel frais et la survenue d'infection chez le nouveau-né hospitalisé »

Cette étude, observationnelle et rétrospective, souhaite évaluer la corrélation entre un prélèvement de lait contaminé par une bactérie chez la mère et la survenue d'une infection par la même bactérie chez son enfant, sans modification de la prise en charge des personnes.

Cette étude ne soulève pas de problème éthique particulier et ne relève pas du domaine d'application de la réglementation régissant les Recherches Impliquant La Personne Humaine (RIPH), au sens de l'Article L.1121-1 et des Articles R.1121-1 et R.1121-2.

Nous attirons néanmoins votre attention sur le fait que, dans ce contexte, du fait de l'enregistrement des différentes données et informations, il vous appartient de vous renseigner sur les obligations liées aux déclarations auprès de la CNIL.

Veuillez agréer, Madame, l'expression de nos salutations distinguées.

Le Président,
Pr. Jean-Etienne BAZIN

ANNEXE II

ENTEROCOLITE ULCERO-NECROSANTE SELON LES CRITERES DE BELL

Stade 1a

("préentérite")

Signes généraux: enfant "fatigué", bradycardies, apnées, instabilité thermique

Signes digestifs: résidus, vomissements, distension abdominale

ASP : normal ou simple dilatation anses

Stade 1b

Signes généraux: idem

Signes digestifs: idem + Rectorragies

ASP: idem 1a

Stade 2a

Signes généraux: idem 1b

Signes digestifs: idem 1b + absence de bruits intestinaux

ASP: distension des anses, iléus, pneumatose

Stade 2b

Signes généraux: idem + acidose et thrombopénie modérées

Signes digestifs: distension abdominale marquée, paroi inflammatoire

ASP: idem 2a + pneumatose portale

Stade 3a

Signes généraux: idem 2b + Choc, apnées-bradycardies sévères, acidose mixte sévère,

CIVD

Signes digestifs: idem 2b + signes de péritonite, distension abdominale majeure

ASP: idem 2b + ascite

Stade 3b

Signes généraux: idem 3a

Signes digestifs: idem 3a

ASP: idem 2b + Pneumopéritoine

ANNEXE III

PROTOCOLE DE RECUEIL DE LAIT MATERNEL

Dans la journée :

- Douche quotidienne des seins
- Changer de sous vêtement tous les jours
- Se laver régulièrement les mains et sécher avec une serviette propre ou du papier essuie-tout
- Ne pas mettre les doigts dans le nez
- Ongles courts et propres
- Signaler et soigner les mamelons douloureux et les crevasses : bien positionner les téterelles et diminuer la force du tire lait
- Changer les coussinets d'allaitement après chaque séance de tire-lait ou dès qu'il est humide

Bien recueillir son lait :

- Lavez-vous les mains et utilisez la solution hydro-alcoolique
- Utilisez des téterelles propres

Prélèvement effectué par la mère au domicile :

- Tire-lait et biberon doivent être posés sur un plan de travail propre (jamais sur le sol)
- Nettoyer les surfaces externes du tire lait tous les jours avec un désinfectant ou des lingettes désinfectantes
- Ne pas toucher le pas de vis du biberon et du couvercle lors de la manipulation pour le recueil du lait
- Avec un tire-lait et ses accessoires nettoyés à l'eau chaude et liquide vaisselle et stérilisés 10 minutes à l'eau bouillante (eau bouillante ou lave-vaisselle, cycle à 60°C) puis laissés sécher sur un égouttoir sans essuyer (il faudra nettoyer cet égouttoir une fois par semaine) ou sur un sopalin propre
- Verser le lait dans un biberon de recueil stérile fourni par l'hôpital avec un couvercle hermétique
- Noter la date et l'heure du recueil sur le biberon étiqueté au nom de l'enfant et préciser « D » si le biberon vient du domicile et « S » s'il vient du service
- Placer le biberon immédiatement dans un réfrigérateur entre 0 et 4°C (nettoyer le réfrigérateur une fois par semaine), un congélateur ou un sac/glacière isotherme avec des packs de glace
- Rincer immédiatement la téterelle, les accessoires démontés (joint et petites pièces) à l'eau chaude et liquide vaisselle, ou passer au lave-vaisselle (60°C)
- Laisser sécher sur du papier essuie tout propre
- Stériliser au moins une fois dans les 24 heures (vapeur ou eau bouillante)
- Le lait exprimé à domicile peut être consommé dans les 48 heures

Prélèvement effectué à l'hôpital :

- Pour chaque recueil, une double ou simple téterelle stérile est fournie par l'hôpital
- Deux systèmes proposés : système mural ou tire-lait électrique *Médéla*

- Système mural : privilégier une vitesse rapide (60 mouvements par minute environ) avec une force d'aspiration minimale (moins de 80 cm d'H₂O environ) puis à partir de l'éjection du lait, ralentir la vitesse à 30/40 mouvements par minute et augmenter la force d'aspiration selon la tolérance
- Tire-lait Médela :
- Le lait exprimé peut être donné dans un délai de 48 heures

Bien conserver son lait

- Le biberon de lait doit être conservé à l'intérieur du réfrigérateur
- Nettoyer le réfrigérateur une fois par semaine

Bien transporter son lait : respecter la chaîne du froid

- Lait réfrigéré ou congelé
- La température doit être entre 4 et 15°C maximum pendant le trajet
- Pour le transport de moins d'une heure : glacière ou sac isotherme propre avec un pack de réfrigération.
- Pour un transport de plus d'une heure : glacière isotherme électrique adaptée
- Il est déconseillé d'utiliser la glacière familiale pour transporter sur un trajet long du lait maternel congelé
- Le contenant doit être nettoyé une fois par semaine

ANNEXE IV

DATE : / /

ETIQUETTE BEBE

Vous tirez votre lait. Merci de remplir ce questionnaire tous les jours pour nous tenir au courant de votre état de santé.

ETAT GENERAL :

- | | | |
|---|------------------------------|------------------------------|
| • Avez-vous eu récemment de la fièvre ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous mal au ventre ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Etes-vous sous antibiotiques ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous consulté un médecin récemment ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous des boutons (acné) ou un panaris ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous une plaie mal cicatrisée (ex : cicatrice de césarienne) ? | ☐ OUI | ☐ NON |

SEIN :

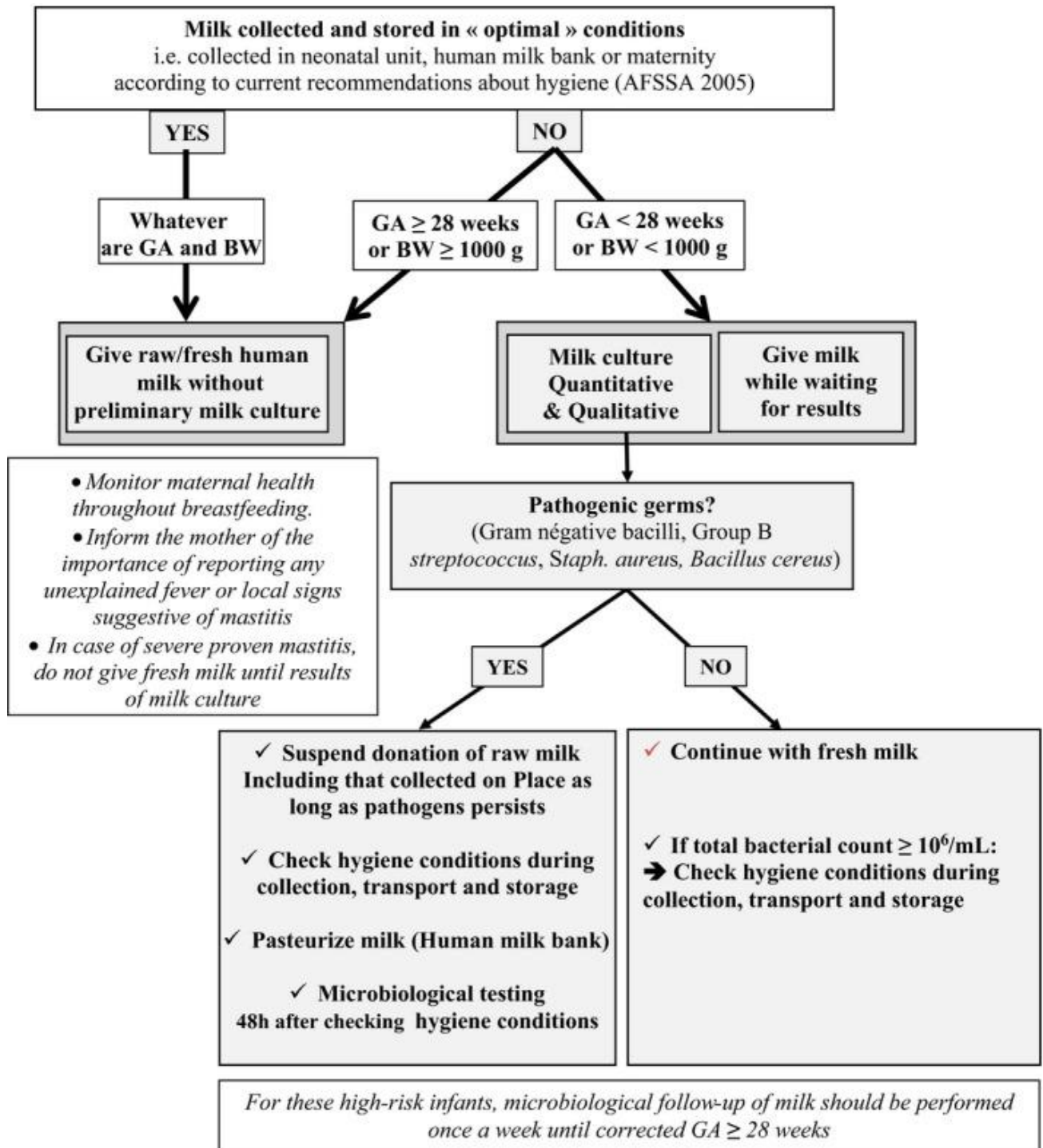
- | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|
| • Avez-vous des soucis avec vos seins (douleur, rougeur) ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous des crevasses ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Est-ce que tirer votre lait est douloureux ? | ☐ OUI | ☐ NON |

HYGIENE GENERALE :

- | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|
| • Avez-vous reçu et lu le livret « J'allaiter mon bébé hospitalisé » ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous compris l'information sur les conseils d'hygiène corporelle ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Est-ce difficile de respecter les conseils d'hygiène pour tirer votre lait ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| • Avez-vous des soucis pour tirer votre lait ? | ☐ OUI | ☐ NON |
| Si oui, avez-vous pu en parler avec l'équipe paramédicale ? | ☐ OUI | ☐ NON |

ANNEXE V

Recommandations pour l'utilisation du lait maternel cru chez les prématurés



(Conseil national de l'ordre des médecins)

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

Nom, Prénom

Signature

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTE et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les HOMMES m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'OPPROBRE et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Nom, Prénom

Signature

Il n'y a pas de corrélation entre les germes retrouvés dans les cultures de lait maternel et la survenue d'infection chez le nouveau-né hospitalisé

INTRODUCTION Le lait maternel contient de nombreuses bactéries commensales. Sa manipulation peut être source de contamination. La question de la réelle pathogénicité de la flore fait débat. Certains considèrent le lait contenant des bactéries non commensales comme une source d'infection pour les nouveau-nés incitant de multiples prélèvements bactériologiques. L'objectif de cette étude était d'évaluer la pertinence de ces cultures réalisées en néonatalogie.

METHODE Cette étude prospective, mono-centrique, observationnelle s'est déroulée du 01 mars 2019 au 31 octobre 2019 dans les services de néonatalogie, soins intensifs de néonatalogie et réanimation néonatale du CHU Estaing à Clermont-Ferrand. Nous avons inclus les mères tirant leur lait. Les variables recueillies ont été le nombre de prélèvements de lait maternel insatisfaisants selon les critères des hygiénistes, les noms des germes identifiés ainsi que la présence et le type des infections chez les nouveau-nés.

RESULTATS Nous avons inclus 126 dyades mère-enfant (126 mères, 131 enfants dont 5 paires de jumeaux). Vingt-deux nouveau-nés ont développé une infection bactérienne documentée (16.8%) et 58 avaient une mère avec un prélèvement de lait maternel contaminé (44.3%). Dix enfants ont eu simultanément une infection bactérienne et un prélèvement de lait contaminé. Nous avons retrouvé le même germe chez 3 patients et une imputabilité chez un seul de ces patients.

CONCLUSION Dans notre étude, les germes retrouvés dans le lait ne sont pas source d'infection chez les nouveau-nés. Le pouvoir bactéricide du lait lui permet de résister au développement de ces microbes. Les cultures de lait maternel sont désormais recommandées pour les enfants de moins de 1000g ou nés avant 28 semaines d'aménorrhée.

MOTS-CLES lait maternel ; infection ; culture ; enfants prématurés