N° d'ordre…

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENS
EIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
Département de Biologie

THESE DE DOCTORAT

Présentée par :

M^{elle} : Naima KHELOUF
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Étude des variations de la composition nutritionnelle du lait maternel pour les deux sexes au cours de la lactation dans une population Algérienne

Soutenue le : 10/ 07 / 2023

Devant l'honorable jury composé de :

Pr MENADI Noureddine	**Président**	**UDL Sidi Bel Abbès**
Pr DIAF Mustapha	**Examinateur**	**UDL Sidi Bel Abbès**
Pr BENSAHLA TALET Lotfi	**Examinateur**	**Université d'Oran**
Pr HAOUD Khadidja	**Directrice de thèse**	**UDL Sidi Bel Abbès**
Pr MEZIANI Samira	**Co-Directrice de thèse**	**UDL Sidi Bel Abbès**

Année universitaire 2022 - 2023

Remerciements

Louange à Allah, seigneur de l'univers, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bienfaits, je lui rends grâce. C'est grâce à ***Dieu*** *que j'en suis là.*

Tout d'abord, je tiens à adresser mes Très chaleureux remerciements à ***mes parents,*** *grâce à vous, j'ai pu réaliser mes envies et choisir librement mon parcours de ma vie. Merci pour votre soutien, votre confiance, vos encouragements. Vous êtes les meilleurs !*

J'adresse mes sincères remerciements à ma directrice de thèse professeur ***Haoud Khadidja,*** *Co-Directrice de thèse* ***Meziani Samira .****Pour leur encadrement attentif. Ce fut un honneur et un immense plaisir d'avoir travaillé avec vous.*

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté de participer et d'apporter leur expérience dans l'évaluation de ce travail :

Je remercie le Professeur ***Menadi*** **Noureddine** *pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse. Je remercie également le Professeur* ***Diaf*** **Mustapha**,*le Professeur* ***Bensahla*** **Lotfi** *pour avoir accepté de faire partie du jury de thèse.*

Je tiens à remercier tous ceux qui ont ouvert leurs portes pour me recevoir au sein de leurs laboratoires, ce qui a été fondamental à ma formation et à l'avancement de mon travail. Un grand merci à tous ceux qui ont fait partie de mon projet.

Mes plus chaleureux remerciements s'adressent également, à mes camarades du laboratoire en particulier à mes amis ***Naci Wassila, Nedjmaoui Aicha, Mme Mellal H, Mme KebitiN*** *Je ne saurai trouver des mots assez forts pour exprimer toute ma gratitude pour votre aide et votre gentillesse.*

Je voudrais remercier, infiniment, mon enseignante Mme ***Ghomari F.N et à Meriem Fezir, et*** *Mme* ***Kadi.N.*** *Mes sincères remerciements vont également à messieurs* ***le Professeur Khaled Meghit Boumediene*** *et à l'ingénieur de l'informatique* ***Mr Yacine*** *Pour leurs immenses gentillesses et pour l'apport de leurs aides précieuses.*

*J'exprime mon appréciation pour les opportunités offertes par "****Mme Kheira Rebbah****" ingénieur au laboratoire de recherche Bio-toxicologie à l'université DjillaliLiabes de Sidi Bel Abbes je nous saurais trop vous remercier pour votre soutien continu et votre encouragement*

Un grand merci aux membres de ***l'équipe CRAPC****, Je suis extrêmement reconnaissante au* ***Dr Chibout****, Dr* ***Fouad Mekhalef*** *et les ingénieurs* ***Nadia Lkhel****,* ***Belgacem Tadjer, Touati Souad, Hadji Mohamed, Abou Mostapha Mohamed*** *du CRAPC. Pour tous les conseils trés constructifs et d'avoir contribuer à ma formation en tant que scientifique.*

Je saisis également l'occasion pour adresser mes remerciements au ***Dr Abdellah Zibouch,*** *et à son personnel médical «* ***M. Yacine Mohammed Amar*** *», et l'ingénieur biochimiste* ***« Mis Fatima Boutra*** *».*

Enfin, Je ne terminerai pas sans remercier très sincèrement ***toutes les mamans*** *de la Wilaya de Ain-Defla qui ont gentiment accepté de participer à notre étude, et à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de l'élaboration de ce travail, trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.*

NAIMA KHELOUF

Dédicaces

Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :
A

Mes Plus chers parents, pour tout leur amour, leur soutien et leur stimulante fierté, et pour leur sacrifice. Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments,
Ce travail est le fruit des longs sacrifices qu'ils ont fait pour moi. Que DIEU leur donne une santé et leur prolonge la vie pour qu'ils puissent continuer à éclairer ma lanterne,

A

MesAnges:
Adem, Islem, Nouh, Idris, Abdellah, Hossem, El Hassen, El houssaine,Abderrahmane, Ilyes, Nada, Hala, Myriam, Yumna aitre el Jana, Sara, Mira,

A
Mes chères sœurs et frères, qui m'ont beaucoup soutenu et encouragé,

A
Toutes les personnes que j'aime : mes oncles, mes tantes et mes beaux-frères chacun son nom.

A
Ceux dont je ne peux oublier le soutien, mes chères amies : Aicha N, et Wasssila.

A
Tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant cette année de formation

A
Tous mes enseignants et Toute la promotion Doctorat BBA2017/2022

NAIMA

Résumé

Cette étude a été menée pour étudier l'effet du sexe du nourrisson sur la variation de la composition biochimique, calorique, et en minérale du lait maternel des femmes Algériennes et évaluer ses principales propriétés physico-chimiques, déterminer les variations selon le sexe des nourrissons et à mettre en évidence les associations inter-nutriments au cours de différentes périodes de lactation. Cent vingt-cinq (n = 125) échantillons de lait maternel des femmes allaitant exclusivement au sein les deux sexes ont été fournis au cours des trois périodes de lactation : le colostrum, le lait de transition et le lait mature. Les données de l'anthropométrie maternelle ont été collectées à l'aide d'un questionnaire et les concentrations des macro – micronutriments du LM ont été déterminées. Les résultats ont montré que (1) la teneur en lipides dans LM mature destiné pour les mâles (LMDM) était significativement plus élevée (P= 0,01) que LM pour les femelles(LMDF). Avec une différence très significatives (P<0,001). Cependant, les concentrations de cholestérol du LM destiné pour les deux sexes ne présentaient aucune différence significative tout au long de la période de lactation. (2) La concentration des glucides et du lactose dans le colostrum et le lait mature des femelles était plus élevée (P = 0,03) avec des différences significatives dans lait maternel pour les deux sexes (P< 0,001)tout au long de la période de lactation, les concentrations de glucose dans le lait mature destiné pour les femelles ont été plus élevées 0,18 ± 0,11g/l que pour les LMDM 0,13 ± 0,08 g/l, avec des différences significatives (P = 0,03).(3) Aucune différence significative dans les protéines totales, les protéines du lactosérum et la caséine entre les LMDM et LMDF (P> 0,05) à chaque période de lactation. Par contre, à toutes les périodes de lactation présentaient une différence significative élevées dans le LM des deux sexes (P<0,001). (4)La valeur énergétique du LMDM était significativement plus élevées (P<0,001) à long les périodes de lactation que pour LMDF.(5)Total minérales ainsi que les concentrations de Na, K, Ca et Mg dans le lait maternel des deux sexes étaient plus élevés dans le colostrum que dans le lait mature. À toutes les périodes de lactation, la teneur totale en minéraux a montré une signification plus élevée dans le LMDM, mais en ce qui concerne le sodium, le potassium et le calcium, la teneur dans le LMDF était plus élevée avec des différences hautement significatives en sodium et potassium (P< 0,001).La teneur biochimique et énergétique ainsi que la composition minérale du lait maternel des mères allaitantes à toutes les périodes de lactation ont été affectées par le sexe des nourrissons.

Mots clés: lait maternel, composition biochimiques, minéraux essentiels, sexe nourrissons, les périodes de lactation.

الملخص

أجريت هذه الدراسة حول تأثير جنس الرضيع على التباين في التركيبة البيوكيميائية، السعرات الحرارية، وكذا التركيبة المعدنيةفي حليب الثدي للمرأة الجزائرية وتقييم خصائصه الفيزيائية -الكيميائية الرئيسية وتحديد الاختلافات حسب جنس الرضع وتسليط الضوء على الارتباطات بين المغذيات خلال فترات الرضاعة المختلفة.

تم توفير مائة وخمس وعشرين (ن = 125) عينة من حليب الثدي من النساء المرضعات حصريًا لكلا الجنسين خلال فترات الرضاعة الثلاث: اللبأ والحليب الانتقالي والحليب الناضج، تم تحديد تركيزات المغذيات الكلية -الدقيقة لحليب الأم(LM)،وتم جمع البيانات للأمهات والرضع باستخدام استبيان.

أظهرت النتائج أن (1) محتوى الدهون في حليب الثدي الناضج للذكور (MDDM) كان أعلى بكثير ($P = 0.01$) من LM للإناث (DFLM). مع وجود فرق كبير جدا ($P< 0.001$). ومع ذلك، لا توجد اختلافات كبيرة في مستويات الكوليسترول في حليب الثدي لكلا الجنسين طوال فترة الرضاعة. (2) كان تركيز الكربوهيدرات واللاكتوز في اللبأ والحليب الناضج للإناث (DFLM)أعلى منه في الذكور. بالنسبة لمجموع تركيزات اللاكتوز كانت أعلى في LMDFمع اختلافات ذات دلالة إحصائية في حليب الثدي لكلا الجنسين ($P< 0.001$) طوال فترة الرضاعة، كانت تركيزات الجلوكوز في الحليب الناضج الموجهة للإناث أعلى بمقدار 0.18 ±0.11غرام/لتر من الذكور 0.13 ±0.08غرام/لتر، مع اختلافات كبيرة ($P = 0.03$)بالإضافة إلى ذلك، كانت أعلى بكثير ($P< 0.01$) طوال فترة الرضاعة.(3) لا توجد اختلافات كبيرة في إجمالي البروتين وبروتين مصل اللبن والكازين بين LMDMوLMDFخلال فترات الرضاعة($P > 0.05$). في المقابل، لوحظ اختلاف ذو دلالة إحصائية في إجمالي البروتين وبروتين مصل اللبن والكازين ($P 0.001$) في كلا الجنسين طوال فترة الرضاعة. كانت قيمة الطاقة في LMDM أعلى بكثير ($P< 0.001$) خلال فترات الرضاعة مقارنة بـLMDF للإناث(5) كان إجمالي المعادن وكذلك تركيزات NAو KوCAو MG في حليب الثدي من كلا الجنسين أعلى في اللبأ منه في الحليب الناضج. في جميع فترات الرضاعة، أظهر إجمالي المحتوى المعدني أهمية أكبر في LMDM، ولكن بالنسبة للصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم، كان محتوى LMDF أعلى مع اختلافات كبيرة في الصوديوم والبوتاسيوم ($P< 0.001$).تأثر المحتوى البيو كيميائية والسعرات الحرارية وكذلك التركيب المعدني لحليب الثدي للأمهات المرضعات بجنس الرضع في جميع فترات الرضاعة.

الكلمات المفتاحية: حليب الثدي، التركيب الكيميائي الحيوي، المعادن الأساسية، جنس الرضيع، فترات الرضاعة.

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of the sex of infants on the variation on biochemical, caloric, and mineral composition in the breast-milk of Algerian women, to evaluate its main physicochemical properties, to determine the variations according to the sex of the infants and to highlight the associations between nutrients during different periods of lactation.

One hundred and twenty-five (n = 125) breast milk samples from breastfeeding women exclusively of both sexes were provided during the three lactation periods: colostrum, transition milk and mature milk. Maternal anthropometry data were collected using a questionnaire and Concentrations of macro-micronutrients of BM were determined.

The results showed that: **(1)** the lipid content in mature breast-milk for males (BMM) was significantly higher (P= 0.01) than BM for females (BMF). With a very significant difference (P<0.001). However, concentrations of cholesterol between breast-milk intended for both sexes show no significant difference throughout the lactation period.**(2)**Carbohydrate and lactose for BMF in colostrum, and mature milk were higher (P = 0.03).As lactation progresses lactose for BMF were higher with significant differences in breast-milk for both sexes (P< 0.001).Glucose for BMF in mature milk intended were higher at 0.18 ±0.11g/l than at the 0.13± 0.08 g/l BMM, with significant differences (P = 0.03).**(3)** No significant difference in total protein, whey protein and casein between BMM and BMF (P> 0.05) at each lactation periods. In contrast, a significant difference in total protein, whey protein and casein concentrations for both sexes was observed at all lactation periods (P<0.001).**(4)** The energy value of BMM was significantly higher (P<0.001) over the lactation periods than for BMF. **(5)** Total mineral as well as concentrations of Na, K, Ca and Mg in breast-milk of both sexes were higher in colostrum than in mature milk. At all lactation periods, the total mineral content showed a higher significance in the BMM, but for sodium, potassium and calcium, the BMF content was higher with highly significant differences in sodium and potassium (P< 0.001). The biochemical and energetic content as well as the mineral composition of breast-milk of lactating mothers were affected by the sex of the infants as lactation progresses.

Keywords: breast-milk, biochemical composition, essential minerals, sex infants, lactation periods.

Table des Matières

Table des Matières

Remerciements
Résumé
الملخص
Abstract
Liste des abréviations

Introduction …….. **1**

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre I : Physiologie de la lactation

I.	Anatomie du sein ……	**3**
I.1.	Tissu glandulaire…….	**3**
I.2.	Systèmes sanguin et lymphatique ……..	**5**
I.3.	Tissu adipeux et tissu conjonctif ……	**5**
I.4.	Innervation / Nerfs ……..	**6**
I.5.	Mamelon ……	**6**
I.6.	Aréole ……	**6**
II.	Etapes de développement de la glande mammaire ……	**7**
III.	Physiologie de la lactation …….	**8**
III.1.	Mécanismes cellulaires de la synthèse et de sécrétion du lait maternel : Origine des constituants du lait ……..	**8**
IV.	Principales hormones de la lactation ……...	**15**
V.	Mécanismes de régulation et de contrôle de la production du lait maternel ……..	**17**
V.1.	La régulation de l'apport énergétique pendant la lactation …….	**17**
V.2.	Mécanisme de contrôle endocrine …….	**18**
V.3.	Mécanisme de contrôle autocrine……	**20**

Chapitre II : Composants et les propriétés nutritionnelles du lait maternel

I.	Macronutriments du lait maternel et les apports nutritionnels……..…..	**22**
I.1.	Eau : Importance hydriques / Rôle …….	**23**
I.2.	Les lipides : Importance pour le nourrisson……	**23**
I.2.1.	Les triglycérides et les acides gras du lait maternel……	**24**
I.2.2.	Le Cholestérol et son importance pour le nourrisson…….	**25**
I.3.	Les glucides du lait maternel……..	**26**
I.4.	Les Protéines du lait maternel……	**29**
I.5.	Valeur énergétique et les apports conseillés……...	**35**
II.	Micronutriments du lait maternel …….	**36**
II.1.	Minéraux : Importance et l'apport nutritionnels ……..	**37**
II.2.	Les oligo-éléments : Importance et l'apport nutritionnels……	**40**

II.3. Les Vitamines : Importance et l'apport nutritionnel …… **44**
III. La digestion des macronutriments du lait maternel…… **47**

Chapitre III : Variations du lait maternel et l'importance d'allaitement

I. Variations de la composition du lait maternel …… **50**
I.1. Variations de la composition du lait maternel au cours des différents stades de la lactation …….. **51**
I.2. La variation de la composition du lait maternel au cours de la tétée ……. **52**
I.3. Les facteurs infantiles influant la composition du lait maternel …… **53**
I.3.1. Différences entre les sexes du nourrisson dans la nutrition et le métabolisme …….. **53**
I.3.2. Facteurs infantiles affectant la production et le transfert de lait maternel... **54**
I.4. Impact des facteurs maternels sur la variation de la composition du lait maternel ……. **54**
II. L'importance d'une lactation prolongée de l'allaitement …….. **60**
III. Avantage du lait maternel ……. **61**
IV. Les facteurs influant sur la durée de l'exclusivité allaitement maternel……. **64**
V. Contre-indication à l'allaitement…… **65**
VI. Type d'aliments restreints pendant l'allaitement…… **66**

Partie Expérimentale

Partie I : Matériel et Méthodes

I. Étude de la population ……... **67**
I.1. Mode de recrutement de la population étudié …… **67**
I.2. Collecte d'échantillons de lait maternel ……. **67**
I.3. Mesures anthropométriques des mères allaitantes des nouveau-nés / nourrissons mâles et femelles …… **68**
I.3.1. Critères d'inclusion ……... **69**
I.3.2. Critères d'exclusion …….. **69**
I.4. Réactifs et Matériels utilisés ……. **70**
I.5. Traitement des échantillons de lait maternel …….. ……... **70**
I.6. Méthodes d'analyses ……. **72**
I.6.1. Analyses physico-chimiques du lait maternel (LMDM & LMDF)……. **74**
I.6.2. Analyse biochimique des macronutriments lait maternel (LMDM & LMDF) …….. **77**
I.6.3. Estimation de l'apport énergétique du lait maternel……... **83**
I.6.4. Détermination des minéraux du lait maternel : Na, K, Ca et Mg……... **87**
I.7. Analyses statistiques ……. **86**

Partie II : Résultats et discussions

I. **Résultats**…… **87**
.

I.1. Répartition des échantillons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation ……. **87**

I.2. Caractéristiques et mesure anthropométrique de la population d'étude… **88**

I.3. La composition physico-chimique du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différentes périodes de lactation……. **91**

I.4. Composition biochimique en macronutriments du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différentes périodes de lactation…… **94**

I.5. Estimation de l'apport énergétique du lait maternel …….. **100**

I.6. Dosage des minéraux …….……..……... **101**

I.7. Associations entre la composition biochimique du LMDM / LMDF et les trois périodes de lactation « Test post hoc » ……. **104**

I.8. Associations entre la composition minérales du LMDM / LMDF et les trois périodes de lactation « Test post hoc »…….. **105**

I.9. Corrélation entre la composition biochimique du LMDM et LMDF et la lactation……..… **105**

I.10. Corrélation entre les minéraux du LMDM et LMDF et la lactation…….. **109**

II. **Discussion**…….. **112**

II.1. Composition physico-chimique du lait humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation……..... **112**

II.2. Variation de la composition biochimique du lait humain selon le sexe du nourrisson au cours des différentes périodes de lactation ……..…… **113**

II.3. Différences d'énergie du lait maternel pour les nourrissons de sexe féminin et masculin …….…….. **119**

II.4. Différences dans La teneur minérale totale et les concentrations des minéraux « Na, K, Ca, Mg » …….…… **120**

II.5. Corrélation entre la composition biochimique du lait maternel des nourrissons mâle et femelle dans les périodes de lactation …….…….. **125**

II.6. Corrélation entre les minéraux du LM des deux sexes dans la période de maturité ……. **125**

II.7. Corrélations entre la composition minérale des LMDM et des LMDF tout au long de la période de lactation « 24 mois » …….. **126**

Conclusion générale…… **127**

Perspectif ……. **129**

Références bibliographiques……... **130**

Annexes

Publication

Liste des tableaux

Tableau 01	Etapes de développement de la glande mammaire ……..……	**8**
Tableau 02	Analyse de la teneur en macronutriments et en énergie du lait maternel frais, réfrigéré et congelé……..	**59**
Tableau 03	Caractéristiques générales, influence des minéraux sur la croissance et le développement de l'enfant. ……..….	**63**
Tableau 04	Répartition des échantillons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation……	**68**
Tableau 05	Les caractéristiques anthropométriques des nourrissons……	**88**
Tableau 06	Moyenne ± ET de la composition biochimique des macronutriments du lait maternel selon le sexe du nourrisson durant les différentes périodes lactation…….	**95**
Tableau 07	Comparaison des concentrations des éléments minéraux du lait maternel humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation……..	**101**
Tableau 08	Corrélation entre la composition biochimique du LM des deux sexes des nourrissons au cours les trois périodes de la lactation….	**106**

Liste des figures

Figure 1	Représentation de l'anatomie du sein…….....	**3**
Figure 2	Schéma simplifié d'une glande mammaire en lactation ……..…..	**4**
Figure 3	Développement de la glande mammaire …….....	**7**
Figure 4	Illustration de la structure de glande mammaire, alvéoles et cellule épithéliale spécialisée du lait (aide à l'expression du lait)…….....	**9**
Figure 5	Les Voies cellulaires de la sécrétion du lait……..	**11**
Figure 6	Schéma de la production et du transfert des enzymes dans le lait dans la glande mammaire en lactation ……..	**12**
Figure 7	La régulation de l'apport énergétique pendant la lactation ……..	**18**
Figure 8	Régulation hormonale de la lactation ……..	**19**
Figure 9	Composants du lait maternel en macro et micronutriments, composants du système immunitaire et autres composants ……..	**21**
Figure 10	Globules de matière grasse du lait maternel et membrane des globules de matière grasse du lait maternel …….	**23**
Figure 11	La composition corporelle du nourrisson au cours des 12 premiers mois de vie…….	**27**
Figure 12	Transfert des facteurs de croissance maternels par le lait maternel et leurs effets trophiques sur la croissance et la maturation des organes et systèmes néonataux ……..	**32**
Figure 13	Structure d'une micelle de caséine…….....	**34**
Figure 14	Les fonctions des HMO dans l'intestin ……..	**48**
Figure 15	Facteurs infantiles et maternels influents la composition du lait maternel.....	**50**
Figure 16	Etapes pour la préparation du lactosérum ……	**71**
Figure 17	Plan général de la démarche expérimentale……..	**73**
Figure 18	Schéma récapitulatif d'extraction des lipides du lait maternel par la méthode de Folch …….	**78**
Figure 19	Schéma d'un appareil de spectrométrie d'absorption atomique……..	**84**
Figure 20	Répartition des échantillons du lait maternel selon sexe du nourrisson et la période de lactation (jours)……	**87**
Figure 21	Répartition des nourrissons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation……	**87**

Liste des figures

Figure 22 Distribution l'âge maternel selon le sexe au cours les trois périodes de la lactation……..... **89**

Figure 23 Distribution de l'IMC des mères selon le sexe au cours les trois périodes de la lactation…….. **90**

Figure 24 Distribution de l'Age gestationnel des mères selon le sexe au cours les trois périodes de la lactation…… **91**

Figure 25 Le PH du lait maternel pendant les trois périodes de lactation……. **92**

Figure 26 La composition en Eau, matière sèche et cendre du lait maternel des deux sexes……. **93**

Figure 27 Composition biochimique et énergie des LM entre les mères allaitantes mâles et celles des nourrissons femelles pendant trois périodes de lactation…… **97**

Figure 28 Composition en substances azotées non protéiques « NPN» du lait maternel humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation…… **100**

Figure 29 Composition en minéraux du lait maternel destiné aux nourrissons mâles, femelles pendant trois périodes de lactation…….. **103**

Figure 30 Régression linéaire de la composition en matières grasses LM et lactose, teneur en protéines totales entre la composition énergétique LM et la teneur en matières grasses et en lactose……..... **107**

Figure 31 Régression linéaire des protéines totales, des protéines de lactosérum et de la teneur en caséine du LM dans toutes les périodes de lactation……. **108**

Figure 32 Régression linéaire entre les teneurs en minéraux, sodium, potassium et magnésium, et entre magnésium et sodium dans les LM DM, entre le potassium et le magnésium dans les LM DF à la période du colostrum…. **109**

Figure 33 Régression linéaire entre les teneurs en sodique et en minéraux, potassium et magnésium, et entre le calcium et le magnésium dans LMDM, période transition…… **110**

Figure 34 Régression linéaire des teneurs en minéraux et sodium. Sodium et potassium, et entre les teneurs en calcium et magnésium pour LMDM et celles LMDF toutes la période de la lactation…… **111**

Liste d'abréviation

AA_r	Acide Arachidonique
AA	Acide Aminé
AM	Allaitement maternel
ANOVA	Analysis Of Variance (Analyse de Variance)
EPA	Acide EicosaPentaénoïque.
ESD	Extrait Sec Dégraissé
EST	Extrait Sec Total
ET	Ecart Type
BC	Body Composition
BEE	Endosome précoce Basolatéral
BHT	Butyl-Hydroxy Toluene
BSSL	Lipase Stimulée par les Sels biliaires
(C)	Colostrum « période clostrale »
C°	Le *degré* Celsius
CDI	Calculated Daily Intakes (apports quotidiens calculés)
CER	Compartiment de Recyclage des Endosomes
CLD	Gouttelettes Lipidiques Cytoplasmiques
CRAPC	Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques
DHA	Acide DocosaHexaénoïque
EPA	Acide EicosaPentaénoïque
FAO	Food and Agriculture Organization
FADS	FattyAcidDe-Saturase (Les acides gras insaturés)
Fig.	Figure
GC	Complexe de Golgi
HMO	Human Milk Oligosaccharid (oligosaccharides du lait maternel)
IgA	Immunoglobuline A
IMC	Indice de Masse Corporelle
JT	Jonctions Serrées
LCPUFA	Long-Chain Poly-UnsaturatedFattyAcid
LM	Lait Maternel
LMDM	Lait Maternel Destiné aux nourrissons Mâles
LMDF	Lait Maternel Destiné aux nourrissons Femelles
LPL	La Lipoprotéine Lipase

Liste d'abréviation

(M)	Mature « période de maturité »
ME	Cellules Myo Epithéliales
MEC	Cellules Epithéliales Mammaires spécialisées
MFG	Milk Fat Globules (Globules de graisse du lait)
MFGM	Milk Fat Globules Membrane (membranaires des globules gras du lait)
MG	Matière Grasse
MST	Matière Solide Totale « matière sèche »
µm	Microgrammes
Na Cl	Chlorure de Sodium
NEFA	Fatty Acids Not Esterified (Acides gras non estérifiés)
NC	Non Corrélé
NGF	Nerve Growth Factor (Facteur de croissance nerveuse)
NPN	Azote Non Protéique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PE	Phosphatidyl Ethanol amine
PC	Phosphatidyl Choline
PIF	Prolactine Inhibiting Factor
PI	Phosphatidyl Inositol
PL	Phospholipides
PRL	Prolactine
PS	Phosphatidyl Sérine
RE	Réticulum Endoplasmique
rpm	nombre de **r**otations **p**ar **m**inute
SAAF	Spectrométrie Absorption Atomique à Flamme
SC	Composant Sécrétoire
SG	Granules de Sécrétion
SM	Sphingo Myéline
SPSS	Statistic Package for Social Sciences
(T)	Transition « période transitionnel »
TG	Tri-Glycérides
TCH	Total Carbo- Hydrate (glucides totaux)
T3	Tri-iode-thyronine
T4	Thyroxine

UNICEF Le Fonds des Nations Unies pour l'Enfance

INTRODUCTION

Introduction

Le lait maternel (LM) humain est un fluide biologique extrêmement complexe avec sa combinaison unique de tous les nutriments essentiels, pour la nutrition infantile à terme. Il est caractérisé par son adaptation optimale aux besoins changeants du nourrisson en fournissant des facteurs nutritionnels et bioactifs (Abdelhamid et *al*., 2020; Chiurazzi et *al.*, 2021).

Le lait maternel contient tous les nutriments nécessaires à la survie et au développement du nourrisson, et offre de nombreux avantages pour la santé des mères et des nourrissons en croissance (Fischer Fumeaux et *al*., 2019; Nojiri et *al.*, 2020).

Le lait maternel humain est une combinaison adéquate de macronutriments (protéines, lipides et glucides) et de micronutriments, y compris des minéraux, des vitamines et divers composants bioactifs (Chiurazzi et al., 2021; Santiago, Meira Júnior, Freitas, Kurokawa, & Rugolo, 2018).

Les glucides, les protéines et les lipides sont les principaux composants qui contribuent à la teneur énergétique du lait maternel. Les graisses sont la source d'énergie la plus importante pour les nourrissons et fournissent plus de 50 % de l'énergie nécessaire au développement du système nerveux central (Prentice et *al*., 2016).

L'allaitement maternel et le lait humain sont les étalons d'or de l'alimentation et de la nutrition des nourrissons. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), et le Fonds des Nations Unies pour l'enfance (UNICEF) recommandent une alimentation exclusive de LM pendant au moins 6 mois après la naissance, et qui peut se poursuivre pendant deux ans (Cheng, Akkerman, Kong, Walvoort, & de Vos, 2021; Kim & Yi, 2020).

La composition nutritionnelle du lait maternel peut être fortement influencée par le stade de la lactation (Verd, Ginovart, Calvo, Ponce-Taylor, & Gaya, 2018). Elle change de manière significative à mesure que la lactation progresse, notamment lors de la transition du colostrum au lait mature, avec l'intermédiaire du lait de transition (Galante et *al.*, 2020).

Le sexe du nourrisson peut stimuler des changements plus importants dans la composition biochimique du LM pendant toute la période de lactation, en raison de besoins nutritionnels plus importants pendant la lactation (Galbarczyk, 2011).

Alors que la composition du lait maternel se caractérise par une dynamique marquée, nous sommes loin d'avoir une idée claire des facteurs qui entraînent cette variation (Galante et *al*., 2020). Dans la littérature, les preuves d'une spécificité sexuelle dans la composition du lait maternel sont limitées et contradictoires (Galante et *al*., 2018; Thurstans et *al*., 2022).

Introduction

Peu d'études se sont penchées sur l'interaction entre les macronutriments du lait maternel (LM), le contenu énergétique et le sexe du nourrisson pour pouvoir déterminer si les nourrissons allaités consomment des apports suffisants en minéraux et oligo-éléments afin de répondre à leurs besoins de croissance (Li, Solomons, Scott, & Koski, 2016; Mangel et al., 2020).

Seules quelques études humaines ont signalé une association entre teneur énergétique du LM et concentration en macronutriments et sexe des nourrissons et en raison de la méthodologie limitée, leurs résultats étaient incohérents (Bzikowska-Jura, Sobieraj, Szostak-Węgierek, & Wesołowska, 2020).

Cette étude visait à étudier l'effet du sexe du nourrisson sur la composition du lait maternel et d'évaluer les variations de la concentration du lait maternel en macronutriments « glucides, lipides, protéines » et en micronutriments « les minéraux », afin d'estimer l'apport énergétique du lait maternel des mères allaitant exclusivement au sein les nourrissons mâle (LMDM) versus LM des nourrissons de sexe féminin (LMDF), et ce, au cours de différentes périodes de lactation**.**

Revue Bibliographique

I. Anatomie du sein :

La fonction biologique du sein est de produire du lait afin de nourrir le nouveau-né. Cependant, la structure anatomique fonctionnelle, permettant cette fonction, n'est atteinte qu'au moment de la lactation (à la suite de l'accouchement) (Bryant & Thistle, 2020; Meisse, 2019).

Pour rappel, le sein est situé dans la paroi thoracique antérieure, il est constitué de tissu glandulaire et un stroma richement vascularisé contenant du tissu adipeux et du tissu conjonctif **(Fig.1)** (Neville, 2001; Shah & Alhawaj, 2019).

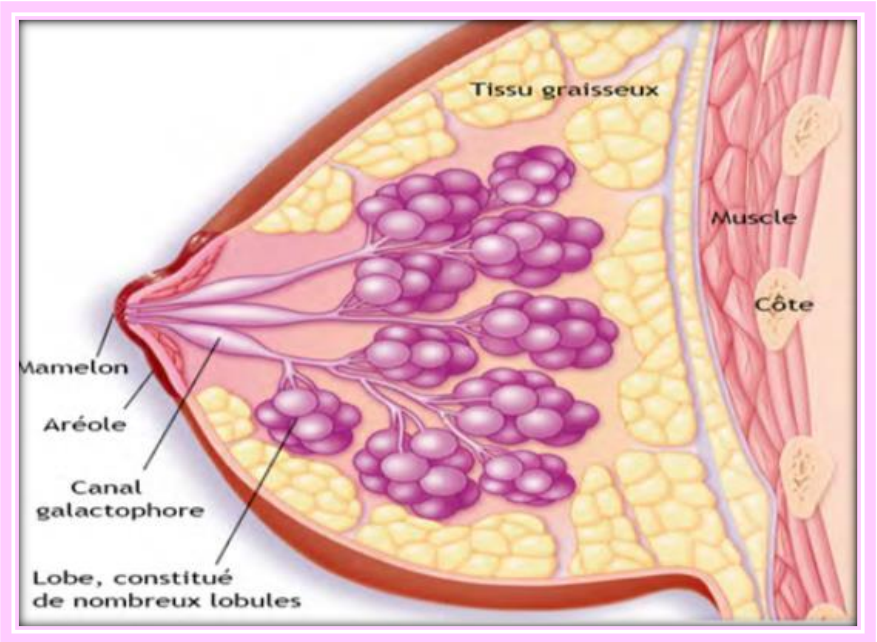


Fig.1 : Représentation de l'anatomie du sein (Meisse, 2019).

Le sein est un organe plein, composé des glandes mammaire, qui sont des glandes exocrines, c'est-à-dire des glandes capables de fabriquer du lait et de l'éliminer à l'extérieur de l'organisme (**Fig. 2**).Les glandes mammaires existent dans le seul but physiologique de nourrir les nouveau-nés avec du lait (Beaudry & Chiasson, 2006; Rao, 2021).

I.1. Tissu glandulaire :

Le parenchyme mammaire contient 15 à 20 unités appelées lobes (Alex, Bhandary, & McGuire, 2020). Les lobes sont constitués de lobules, à l'origine des structures acineuses, et comprennent un canal avec quelques canaux ramifiés se terminant en amas alvéolaires (Neville, 2001; Shah & Alhawaj, 2019).

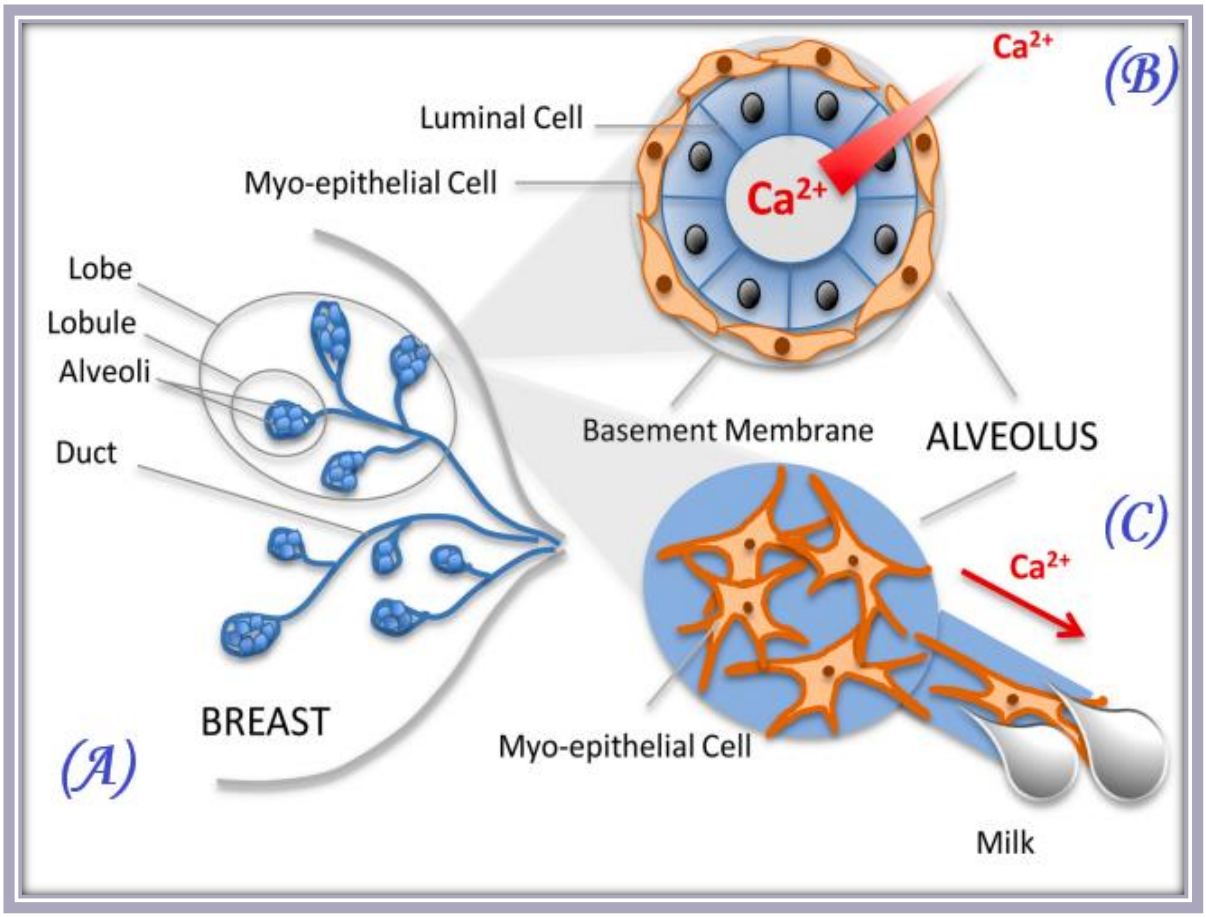


Fig. 2 : Schéma simplifié d'une glande mammaire en lactation.

Les lobes disposés radialement sont constitués de lobules individuels(A). Chaque lobule a un groupe d'alvéoles. L'alvéole, représentée en coupe transversale (B) et en vue latérale (C) (Rao, 2021).

Les lobes se drainent dans des canaux galactophores qui s'élargissent pour former un sinus. Le sinus lactifère se draine vers le complexe mamelon-aréole (**Fig. 2-A)**. L'extrémité distale du canal lactifère aboutit au mamelon et s'ouvre sur l'extérieur grâce à un pore (Alex et al., 2020; Beaudry & Chiasson, 2006).

Les alvéoles sont les composants essentiels du tissu glandulaire, ce sont les cellules contractiles responsables de l'éjection du lait**.** Les alvéoles sont entourées d'un riche stroma de tissu conjonctif très vascularisé contenant des adipocytes et des cellules fibreuses (Castel & Billeaud, 2017; Shah & Alhawaj, 2019).

Elles sont composées d'une seule rangée de cellules épithéliales sécrétrices, constituées de cellules luminales cylindriques dites cellules lactifères, entourées de cellules myoépithéliales en forme d'étoile **(Fig. 2-B, C)**.

Le Ca2+ joue un rôle clé dans la lactation, à la fois en tant que nutriment et en stimulant les contractions qui font sortir le lait des alvéoles à travers les conduits. Le Ca2+ peut être pompé

directement à travers la membrane plasmique dans la lumière de la glande mammaire. De puissantes contractions alvéolaires éjectent le lait vers le nouveau-né allaité, déclenchées par des contractions induites par le Ca2+ des cellules myoépithéliales en réponse à l'ocytocine (Rao, 2021).

I.2. Systèmes sanguin et lymphatique :

Le sein abrite aussi des vaisseaux et des ganglions qui font partie du système lymphatique, dont le rôle est de combattre les infections. Les ganglions lymphatiques des seins sont principalement situés :

- Au niveau de l'aisselle : ganglions axillaires ;
- Au-dessus de la clavicule : ganglions sus-claviculaires ;
- Au-dessous de la clavicule : ganglions sous claviculaires ;
- A l'intérieur du thorax et autour du sternum : ganglions mammaires internes(Meisse, 2019).

Le sein a un haut niveau de vascularisation, y compris les artères mammaires internes et thoraciques latérales. Il existe également de nombreux vaisseaux lymphatiques dans le sein et l'aisselle. Les vaisseaux lymphatiques suivent les canaux lactifères et convergent vers le mamelon (Bryant & Thistle, 2020).

Le sang artériel y amène tous les nutriments nécessaires à la fabrication du lait. Un système veineux et la lymphe assure l'évacuation des déchets sanguins du sein pendant la lactation. La majorité des vaisseaux lymphatiques suivent les canaux lactifères et convergent vers le mamelon (Beaudry & Chiasson, 2006).

I.3. Tissu adipeux et tissu conjonctif :

Les seins sont soutenus par des bandes de tissu conjonctif. La glande mammaire se développe sous la plaque aréolo-mamelonnaire dans le tissu adipeux sous cutané, situé entre les lobes plutôt qu'à l'intérieur des lobules. Les tissus adipeux et le tissu conjonctif enveloppent et protègent les alvéoles, les canalicules et les canaux lactifères.

Le tissu adipeux est responsable de la taille des seins. Peu élastique, il permet et supporte l'élongation des canaux lactifères pendant la mammogénèse (Beaudry & Chiasson, 2006; Shah & Alhawaj, 2019). Il participe également au développement des canaux lactifères mais en aucun cas il ne joue de rôle dans la fabrication et le transport du lait. Ainsi, il n'existe pas de corrélation entre la taille des seins et la capacité d'une femme à allaiter (Lescure, 2014).

1.4. Innervation / Nerfs :

Le mamelon et l'aréole sont innervés par les quatrième, cinquième et sixième nerfs intercostaux. La succion stimule les terminaisons nerveuses, et un message est alors envoyé au cerveau (réflexe neural).

Cette stimulation est responsable de la sécrétion des hormones de lactation par l'hypothalamus(Beaudry & Chiasson, 2006). Le mamelon et l'aréole ont un niveau élevé de terminaisons nerveuses sensorielles. Les cellules myoépithéliales entourant les alvéoles se contracteront et propulseront le lait vers l'avant à travers les conduits lactifères et à travers les mamelons (Bryant & Thistle, 2020).

I.5. Le Mamelon :

Le mamelon est un relief cylindrique pigmenté d'environ 1 cm de haut et de largeur, la plupart du temps centré sur l'aréole. A son extrémité débouchent 15 à 20 petits orifices de 0,5 mm de diamètre qui correspondent aux pores des canaux galactophores par lesquels le lait s'écoule (Lescure, 2014).

C'est un tissu flexible, hautement innervé et qui devient érectile à la suite d'une stimulation. Il contient des fibres musculaires lisses. Si le mamelon est mal placé dans la bouche du bébé, cela peut être à l'origine de douleurs et de lésions (Beaudry & Chiasson, 2006; Lescure, 2014).

I.6. L'Aréole :

L'aréole entoure le mamelon et sert de repère visuel au bébé pour qu'il prenne toute l'aréole dans sa bouche, pas seulement le mamelon, pour obtenir du lait (Beaudry & Chiasson, 2006).

En périphérie de l'aréole sont situés les tubercules (ou glandes) de Montgomery qui contiennent des pores de glandes sébacées et de glandes lactifères dont les sécrétions odoriférantes attirent le bébé vers le sein. Elles sécrètent aussi un fluide huileux : un lubrifiant et un antiseptique qui protège la peau du mamelon et de l'aréole pendant l'allaitement. Une infime quantité de lait est également sécrétée par ces tubercules (Branger et al., 2009; Shah & Alhawaj, 2019).

II. Etapes de développement de la glande mammaire :

La physiologie normale de la lactation est un processus qui commence à prendre effet bien avant la première prise du sein du nouveau-né. Cela nécessite que le sein change de composition, de taille et de forme à chaque étape du développement féminin (Pillay & Davis, 2020).

La glande mammaire est un organe glandulaire unique qui subit des changements morphologiques et physiologiques majeurs au cours de la vie de l'organisme (Golan & Assaraf, 2020).

Le développement de la glande mammaire commence tôt dans l'embryon femelle **(Fig.3).** Il commence au début de la vie fœtale et s'étend jusqu'à la puberté; puis reprend au début de la grossesse (Medicine et *al*., 1991; Rao, 2021)**.**

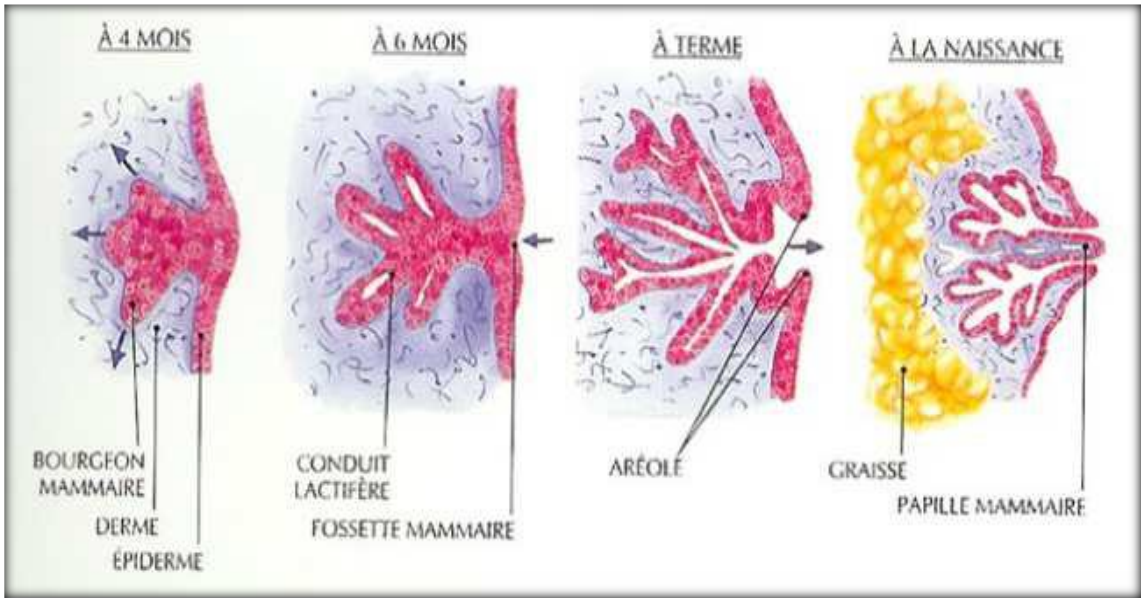


Fig. 3 : Développement de la glande mammaire (Lescure, 2014).

La lactation représente l'achèvement du cycle de reproduction et est considérée comme l'une des étapes majeures du développement de la glande mammaire (Lawrence, 2022)**.** La glande mammaire se prépare pour la lactation au cours de diverses étapes résumées dans le **Tableau 01** ci-dessous :

Tableau 01 : Etapes de développement de la glande mammaire (Neville, 2001)

PHASE		DESCRIPTION
Mammogenèse		• Croissance mammaire • Prolifération des canaux et du système glandulaire
Lactogenèse	**Stade 1** (vers la fin de la grossesse)	• Initiation de la synthèse du lait • Différenciation cellulaire
	Stade 2 (2-3 à 9 jours post-partum)	• Début de la sécrétion abondante du lait
Galactopoïèse (9 jours à l'involution)		• Maintien de la sécrétion du lait
Involution (40 jours après le dernier allaitement)		• Diminution de la sécrétion lactée

III. Physiologie de la lactation :

La lactation est le processus de sécrétion de lait et se prolonge tant que le lait est retiré de la glande de façon régulière (Neville, 2001). La lactation est un processus physiologique, la production de lait peut être régulée à la hausse ou à la baisse, selon le degré de stimulation de la glande mammaire. Les organes et les structures impliqués dans la formation du lait maternel sont les glandes mammaires, l'hypophyse antérieure et l'hypophyse postérieure (Shah & Alhawaj, 2019).

III.1. Mécanismes cellulaires de la synthèse et de sécrétion du lait maternel : Origine des constituants du lait :

Il existe trois sources de constitution du lait : certains sont synthétisés dans la cellule sécrétoire mammaire à partir de précurseurs dans le plasma, certains sont produits par d'autres cellules de la glande mammaire et d'autres sont transférés directement du plasma au lait (Medicine et *al*., 1991).

Les glandes mammaires régulent les concentrations d'éléments essentiels dans le lait pour protéger le nourrisson contre les carences et les excès (Björklund et *al*., 2012).

Comme l'illustre la **Fig.4,** la plupart des composants du lait maternel, y compris la caséine, le lactose et les oligosaccharides du lait maternel (LM), sont synthétisés et sécrétés par les cellules épithéliales mammaires spécialisées (MEC) dans la glande mammaire des mères. Cependant, ils ne sont pas tous synthétisés dans la MEC spécialisée, mais peuvent provenir de

la circulation maternelle, notamment les immunoglobulines (Ig), les cellules immunitaires et certains micronutriments (Meng, Uniacke-Lowe, Ryan, & Kelly, 2021).

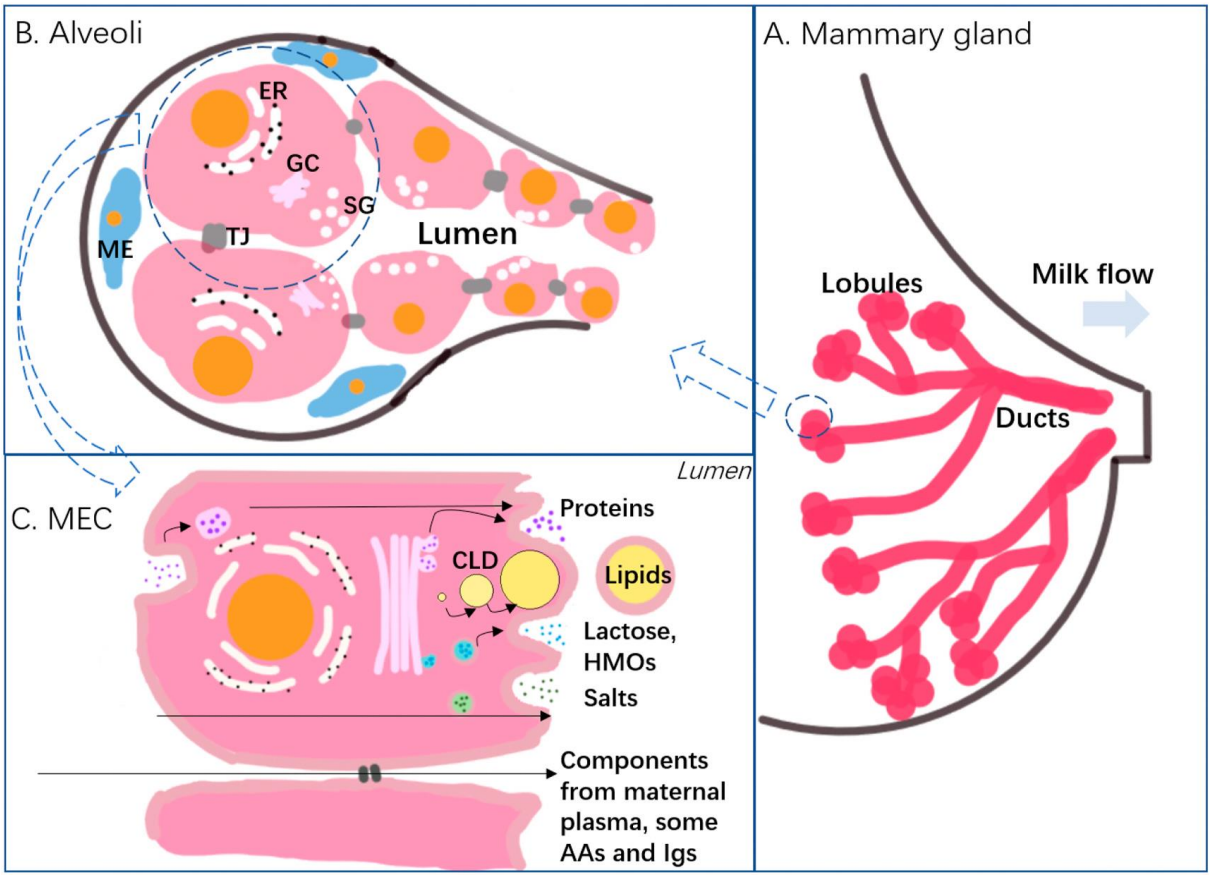


Fig.4 : Illustration de la structure de (A) glande mammaire, (B) alvéoles et (C) cellule épithéliale spécialisée du lait (MEC).

RE : réticulum endoplasmique ; GC : complexe de Golgi ; SG : granules de sécrétion ; TJ : jonctions serrées ME : cellules myoépithéliales (aide à l'expression du lait) ; CLD : gouttelettes lipidiques cytoplasmiques ; HMO : Oligosaccharides du lait maternel ; AA : acides aminés ; Igs : Immunoglobulines (Meng et *al*., 2021).

Les composants du lait sont synthétisés dans les alvéoles, notamment les protéines, les lipides et les glucides (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017).

La synthèse et la sécrétion du lait dans l'alvéole mammaire comprennent cinq grandes voies trans-cellulaires et une voie para-cellulaire : **l'exocytose** des protéines du lait et du lactose. Processus **apocrine** sécrétion de matière grasse du lait via le globule de matière grasse du lait. La voie de **transcytose** sécrétion d'ions, d'eau et de glucose à travers la membrane apicale. **pinocytose/exocytose** des immunoglobulines; et la voie **para-cellulaire** pour les composants plasmatiques et les leucocytes (Lawrence, 2022).

Ces cinq voies fonctionnent en parallèle pour transformer les éléments précurseurs présents dans le sang et le liquide interstitiel en composantes du lait **(Fig.5)** (Branger et *al*., 2009; Neville, 2001).

III.1.1.Voie exocytotique (I) :

Les protéines centrales des cellules mammaires appartiennent à quatre catégories fonctionnelles générales : la prolifération cellulaire, le métabolisme des lipides, le transport des nutriments et la fonction immunitaire. Les protéines pénètrent dans le lait par quatre voies distinctes (Anderson et *al*., 2015)**.**

La plupart des composants de la fraction aqueuse du lait sont sécrétés par la voie exocytotique **(Fig.5).** Cette voie consiste en l'exocytose de vésicules sécrétoires contenant les protéines lactées spécifiques, le calcium, les phosphates, les citrates et le lactose (Heffner, 2003; Neville, 2001).

Certaines des voies de sécrétion du lait, telles que l'exocytose des vésicules contenant des protéines et la transcytose des immunoglobulines, sont similaires aux processus dans l'épithélium de nombreux organes (Neville, 2001).

Les principales protéines du lait, telles que la caséine et les oligosaccharides, le lactose et l'eau sont conditionnées pour la sécrétion par exocytose des vésicules sécrétoires (voie I) par des processus provenant du complexe de Golgi (Anderson et *al*., 2015).

Ces vésicules se forment dans l'appareil de golgi où la caséine, protéine spécifique, se conjugue en micelles avec le calcium et les phosphates, l'appareil de golgi reste imperméable au lactose qui constitue un glucide osmotiquement actif attirant l'eau. C'est ce contenu en lactose qui détermine donc le volume aqueux du lait (Heffner, 2003).

Une réaction importante est la synthèse du lactose, au fur et à mesure que le sucre s'accumule, l'eau est aspirée dans les vésicules de Golgi, provoquant le gonflement des cellules mammaires en lactation(Neville, Morton, & Umemura, 2001).

La synthèse du lactose dans la glande mammaire nécessite deux protéines présentes dans le compartiment de Golgi, la galactosyl-transférase et l'α-lactalbumine; ceux-ci se combinent pour produire une enzyme capable de produire du lactose à des concentrations physiologiques de glucose, par la conversion d'une partie du glucose présent dans le sang au galactose (Anderson et *al*., 2015; Gambelli, 2017).

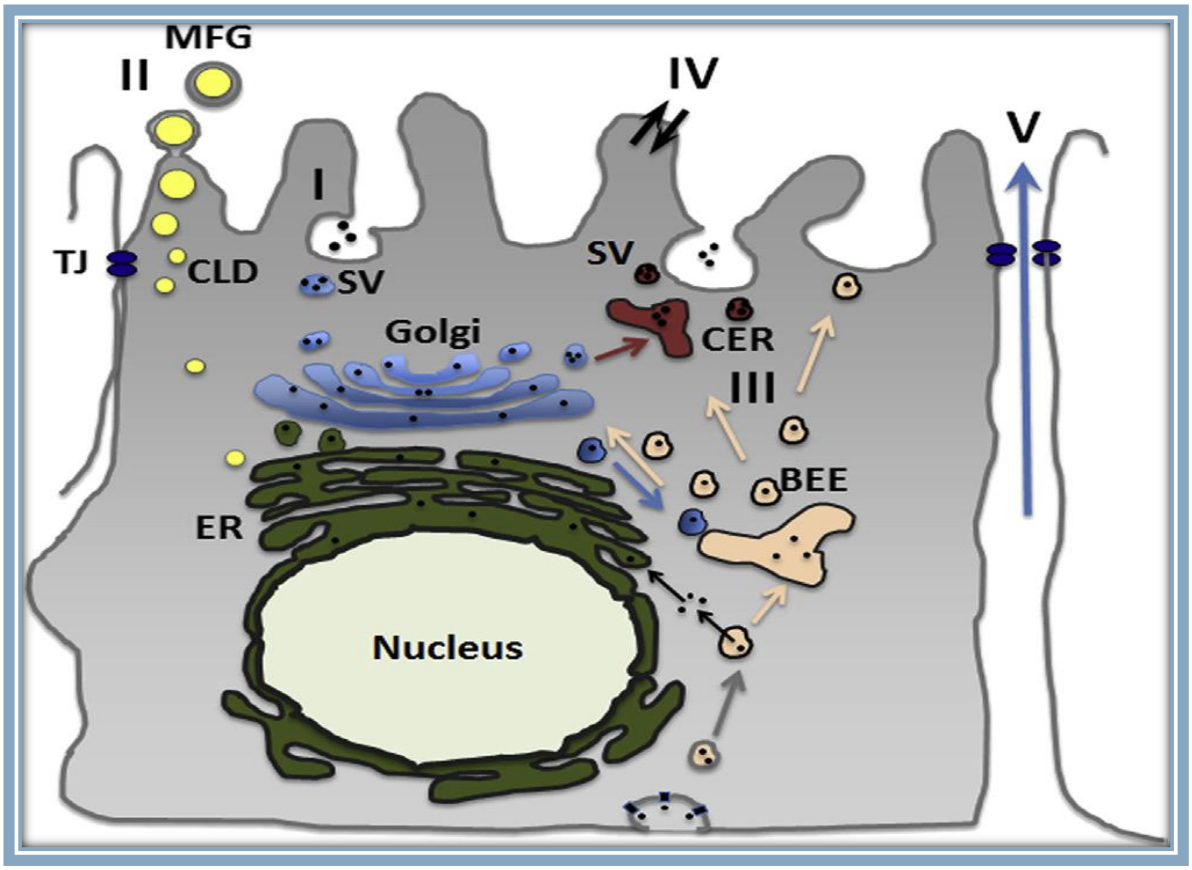


Fig. 5: Les Voies cellulaires de la sécrétion du lait.

Voie(I) : **Exocytose** des vésicules sécrétoires de protéines du lait, du lactose et d'autres composantes de la phase aqueuse dans les appareils de Golgi.**Voie(II)** : Processus **apocrine**. Sécrétion des lipides du lait par les globules de matières grasses. **Voie(III)** : La voie de **transcytose ;** Mouvements directs d'ions monovalents, d'eau et de glucose à travers la membrane apicale (du côté du lait) de la cellule.Transcytose de composantes de l'espace interstitiel. **Voie(IV)** : transporteurs membranaires. **Voie(V) :**Une voie paracellulaire.Pour les composants du plasma et les leucocytes. La voie V n'est ouverte que durant la grossesse, l'involution et des états inflammatoires, telle une mastite.**CLD :**Gouttelettes lipidiques**. MFG** La membrane appelées globules de graisse du lait**.BEE** : Un compartiment de l'endosome précoce basolatéral**.CER** : Un compartiment de recyclage des endosomes**. JT** : Les jonctions serrées (Anderson et *al*., 2015)**.**

Certaines molécules bioactives sont produites et sécrétées par l'épithélium mammaire, certaines sont produites par les cellules du lait maternel, tandis que d'autres proviennent du sérum maternel et sont transférées à travers l'épithélium mammaire par transport médié par les récepteurs (Cheng et *al*., 2021).

Les protéines du lactosérum, telles que α- -lactalbumine et la lactoferrine, sont synthétisées dans la glande mammaire; les autres protéines (y compris l'albumine sérique et plusieurs enzymes bioactives et hormones protéiques) sont transportées vers le lait à partir du plasma.

De plus, les IgA dimères sont produites par les plasmocytes de la glande mammaire et sont transportées dans le lait par des récepteurs spécifiques (Medicine et *al*., 1991).

Les mécanismes de base par lesquels les enzymes atteignent le lait dans la glande mammaire sont présentés dans la **Fig. 6.**

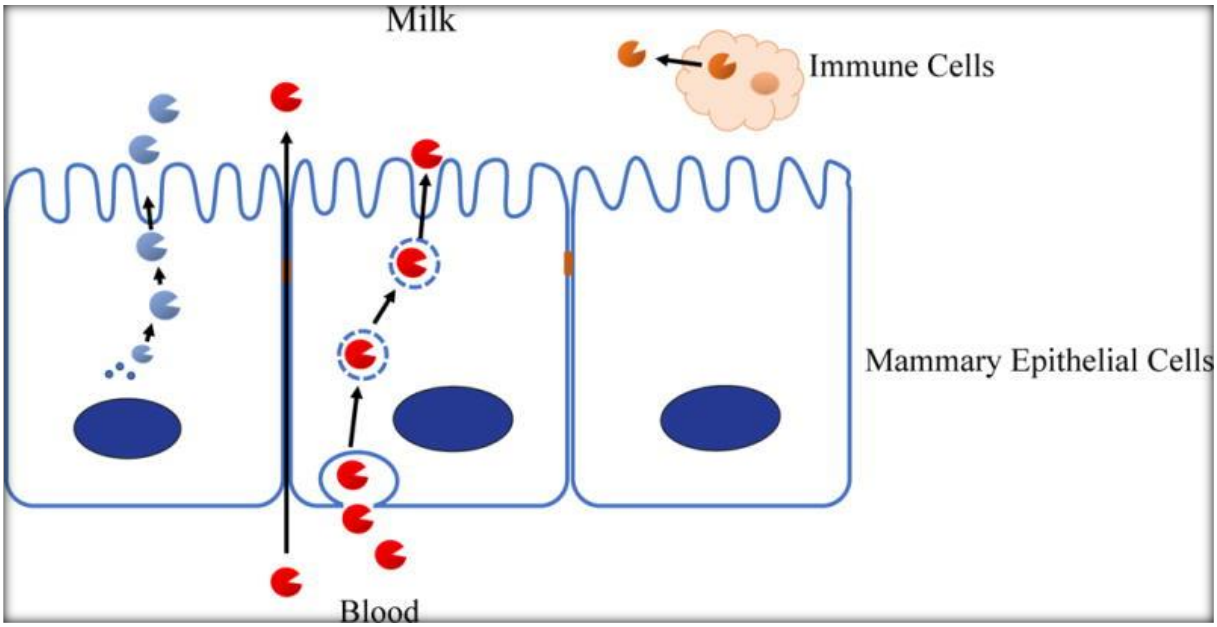


Fig. 6 : Schéma de la production et du transfert des enzymes dans le lait dans la glande mammaire en lactation (Dallas & German, 2017).

Les enzymes peuvent atteindre le lait par synthèse protéique directe par la cellule épithéliale, par translocation à partir du sang et de la sécrétion des cellules immunitaires dans la glande mammaire et le lait lui-même (Dallas & German, 2017).

Les peptides endogènes présents dans le lait maternel avant la consommation du nourrisson sont principalement produits par des protéases indigènes ou microbiennes dans la glande mammaire ou lors du stockage (Meng et *al*., 2021).

La formation de micelles de caséine commence dans le Golgi terminal avec la condensation des molécules de caséine. L'ajout de calcium, éventuellement dans la sécrétion vésiculaire, conduit à la maturation des micelles de caséine en particules suffisamment denses pour être vues au microscope électronique. Les vésicules sécrétoires se déplacent vers la membrane plasmique, où elles déchargent leur contenu dans la lumière alvéolaire par exocytose (Neville, 2001).

III.1.2.Voie de sécrétion lipidique (II) :

Elle implique la synthèse et le transport des lipides. Les lipides sont synthétisés et emballés dans des gouttelettes lipidiques cytoplasmiques (CLD) par des enzymes du réticulum endoplasmique. Les CLD sont transportés vers la membrane plasmique apicale, où ils sont sécrétés par un processus apocrine (voie II) **(Fig.5)**, formant des structures enveloppées de membrane appelées globules de graisse du lait (MFG), qui seront libérés de l'apex de la cellule dans la lumière alvéolaire.

Les lipides, les protéines associées aux lipides et les protéines membranaires sont sécrétés par un processus d'enveloppement membranaire unique (voie II) (Anderson et *al*., 2015; Heffner, 2003).

Les triglycérides du lait sont synthétisés dans la cellule alvéolaire mammaire. Les acides gras peuvent être dérivés du plasma (transportés à partir de l'intestin ou des dépôts graisseux), ou ils peuvent être synthétisés à partir du glucose dans la glande mammaire : Les acides gras synthétisés dans la glande mammaire ont des longueurs de chaîne de 16 carbones ou moins ; ceux dérivés de sources alimentaires (autres que les produits laitiers) et du tissu adipeux ont tendance à avoir des chaînes carbonées plus longues (Medicine et *al*., 1991).

L'épithélium cuboïde est capable de synthétiser les composants protéiques et lipidiques du lait maternel(Alex et *al*., 2020), en revanche, le mécanisme de sécrétion de graisse est spécifique à la glande mammaire (Neville, 2001).

L'activité des lipoprotéines lipases dans la glande mammaire augmente fortement. Cette enzyme hydrolyse les triglycérides et libère ainsi leurs acides gras pour les transporter dans la cellule, où ils sont ré-estérifiés. L'activité de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux diminue. Ces deux graisses canalisent vers la glande mammaire, où elle est incorporée dans le lait (Medicine et *al*., 1991).

III.1.3.Voies transcytotiques (III) :

Les substances macromoléculaires d'origine externe, notamment l'albumine, les immunoglobulines, les facteurs de croissance, les cytokines, les lipoprotéines et les micronutriments, pénètrent dans le lait par deux voies : la transcytose (voie III) **(Fig.5)**, qui implique des éléments de recyclage endocytaire et des voies exocytotiques; et le transport paracellulaire entre les cellules (voie V) avant la fermeture de la jonction serrée (Anderson et *al*., 2015).

Dans cette voie, les substances absorbées par l'endocytose dépendante de la clathrine ou indépendante de la clathrine au niveau de la membrane plasmique basale entrent initialement dans un compartiment de l'endosome précoce basolatéral (BEE) où elles sont triées vers le réseau trans-Golgi pour être emballées dans les vésicules sécrétoires ou vers un compartiment commun de recyclage des endosomes (CER) pour un tri ultérieur vers les membranes apicales ou basolatérales (Anderson et *al*., 2015).

Les cellules productrices d'IgA dans les tissus de la glande mammaire proviennent des cellules B de l'intestin grêle ou des voies respiratoires et pénètrent dans la circulation systémique. Ensuite, les hormones lactogènes stimulent le voyage des cellules B vers la glande mammaireoù ils sont transformés en plasmocytes qui produisent des IgA dimères (Medicine et *al*., 1991).

L'immunoglobuline A entre dans la cellule en se liant à son récepteur, pour être internalisée et pour se transporter ensuite, soit vers l'appareil de golgi, soit vers la membrane apicale des cellules pour y être sécrétée (Heffner, 2003).

Le transport d'oligo-éléments, tels que le fer, le cuivre et le zinc, combine des éléments des voies transcytotiques et exocytaires. Des mécanismes distincts existent pour l'absorption des oligo-éléments dans les cellules sécrétant du lait (Anderson et *al.*, 2015).

Les concentrations de zinc dans le LM sont régulées par les glandes mammaires. La transition du cuivre du sang au lait régule le transfert par l'épithélium de la glande mammaire (Kılıç Altun, Dinç, Temamoğulları, & Paksoy, 2018).

III.1.4.Voies de transport membranaire (IV) :

Ions et petites molécules, comme le glucose et acides aminés, sont transportés dans le lait par des voies de transport membranaire (voie IV) **(Fig.5)**.

Le mouvement direct des ions monovalents, de l'eau et du glucose à travers les membranes apicale et basale de la cellule se produit via des transporteurs membranaires (voie IV)implique la sécrétion d'eau (Anderson et *al*., 2015).

L'eau traverse la cellule par un gradient de densité engendré par le lactose, tandis que les ions obéissent à un gradient électrochimique (Heffner, 2003).

Le lait humain contient une vingtaine d'acides aminés. Lesacides aminés essentiels sont dérivés du plasma de la mère alors que l'épithélium des cellules mammaires peut synthétiser certains acides aminés non essentiels (Beaudry & Chiasson, 2006). Les vitamines et minéraux sont extraits du plasma maternel (Bryant & Thistle, 2020).

Une cinquième voie : n'est pas trans-cellulaire, mais para-cellulaire. Les protéines plasmatiques, les immunoglobulines, surtout IgA et les leucocytes, peuvent circuler au travers des cellules alvéolaires (Heffner, 2003).

IV. Principales hormones de la lactation :

Les hormones jouent un rôle central dans le développement et la lactation des glandes mammaires (œstrogène et progestérone, prolactine, insuline, hydrocortisone, lactogène placentaire humain, hormone de croissance humaine, ocytocine) (Lawrence, 2022).

Les hormones métaboliques telles que l'insuline sont nécessaires à la différenciation des cellules épithéliales mammaires sécrétrices, qui sont capables de synthétiser et de sécréter des composants spécifiques du lait. Ce processus est appelé « différenciation sécrétoire » et se poursuit pendant la grossesse (Golan & Assaraf, 2020).

Après l'accouchement, les changements hormonaux initient la sécrétion de lait par les cellules épithéliales de la glande mammaire, une étape appelée « activation de la sécrétion » (Golan & Assaraf, 2020).

Une fois que la production de lait a commencé, on croit que les mécanismes hormonaux qui maintiennent la sécrétion du lait dépendent principalement des actions de la prolactine et de l'ocytocine (Medicine et *al.*, 1991). L'ocytocine est produite plus rapidement que la prolactine (Shah & Alhawaj, 2019).

IV.1. La prolactine :

La prolactine est l'hormone absolument essentielle dans l'établissement et le maintien de la lactation : elle participe à la synthèse du lait maternel. En effet, elle agit notamment par l'intermédiaire de son récepteur au niveau des cellules sécrétrices en stimulant la transcription des gènes des protéines du lait (Lescure, 2014).

La prolactine est sécrétée par l'adénohypophyse (l'antéhypophyse). Sa sécrétion est réglée dans l'hypothalamus par la sécrétion de dopamine 2 (PIF, prolactine inhibiting factor) elle-même inhibée par les œstrogènes (Pubert, 2013).

La prolactine est considérée comme essentielle à la lactogènes normale (Medicine et *al*., 1991). À la vingtième semaine de gestation, les glandes mammaires sont suffisamment développées pour produire des composants du lait en raison de la stimulation de la prolactine (Alex et *al*., 2020).

La prolactine stimule la production de lait. Elle augmente pendant la grossesse pour préparer le tissu mammaire à commencer à former le lait en stimulant la prolifération épithéliale (Shah & Alhawaj, 2019).

La prolactine va se lier à son récepteur au niveau de la cellule mammaire. Elle va activer les gènes des protéines du lait et stimule la biosynthèse des protéines, des lipides et des glucides du lait, ainsi que les transports d'ions (Petrone & Garampon, 2010).

Les niveaux de prolactine sont influencés par la quantité et la fréquence d'allaitement « de la tétée »(Medicine et *al*., 1991), les niveaux de prolactine doublent avec l'allaitement du nourrisson, donc nécessaire pour maintenir la sécrétion de lait (Bryant & Thistle, 2020; Neville, 2001).

IV.2. L'ocytocine :

L'ocytocine, une hormone neuropeptide à neuf acides aminés qui est synthétisée dans l'hypothalamus, et sécrétée par l'hypophyse postérieure à la circulation (Golan & Assaraf, 2020).

L'ocytocine est responsable des contractions de l'utérus durant l'accouchement et après la naissance. En période d'allaitement, elle est responsable de la contraction des cellules myoépithéliales entourant les alvéoles (Beaudry & Chiasson, 2006).

Cependant, elle n'est pas seulement impliquée dans l'éjection du lait de la mère, mais est également une hormone clé pour le nourrisson et peut être influencée par le contact peau à peau et les pratiques d'accouchement (Moberg & Prime, 2013).

IV.3. La progestérone :

La progestérone est responsable du développement des lobules et des alvéoles pendant le cycle menstruel mais surtout durant la grossesse.

La chute de progestérone plasmatique lors de l'expulsion du placenta est nécessaire au déclenchement de lactogènes (II)après la parturition, permettant ainsi la montée laiteuse et la maturation du lait (Beaudry & Chiasson, 2006; Medicine et al., 1991).

IV.4.Les Œstrogènes :

Pendant la puberté, les hormones, y compris les œstrogènes, initient le développement de la glande mammaire pour soutenir la lactation (Golan & Assaraf, 2020).Les œstrogènes sont responsables du développement du réseau de canalicules et de lobules pendant la puberté et le cycle menstruel (Beaudry & Chiasson, 2006).

Cependant, des concentrations plus élevées d'œstrogènes et de progestérone circulant dans le sang inhibent la production de lait pendant la grossesse. La stimulation ostrogénique entraîne une augmentation du nombre et de la taille des cellules lactotrophes dans la glande. Cette stimulation entraîne la synthèse et la sécrétion de prolactine par les cellules lactotrophes (Alex et *al*., 2020).

La chute du niveau d'œstrogènes dès les 5 à 6 jours qui suivent l'expulsion du placenta favorise la lactation. Leur niveau demeure faible pendant les premiers mois (Beaudry & Chiasson, 2006)**.**

V. Mécanismes de régulation et de contrôle de la production du lait maternel :

La production de lait est un processus qui requiert une importante quantité d'énergie, énergie par ailleurs utilisée très efficacement(Beaudry & Chiasson, 2006).

V.1. La régulation de l'apport énergétique pendant la lactation :

La sécrétion de PRL réduit la sensibilité du cerveau à la leptine. Les niveaux de leptine supprimés et la résistance centrale à la leptine convergent pour favoriser l'alimentation. D'autres signaux de la réponse de succion peuvent également contribuer à cette interaction entre la glande mammaire, le tissu adipeux et le cerveau(Anderson et al., 2015).

La voie neuronale reliant l'allaitement à l'apport énergétique accru aide à répondre aux besoins énergétiques de la lactation. Augmentation de l'apport énergétique : (1) la libération de PRL associée à l'allaitement ; et (2) une diminution de l'hormone associée à l'adiposité, la leptine **(Fig.7)** (Anderson et al., 2015).

La tétée peut stimuler l'apport énergétique, est un stimulus majeur de la sécrétion de PRL, et on pense que la PRL favorise l'alimentation afin de besoins énergétiques élevés de la lactation (Anderson et *al*., 2015).

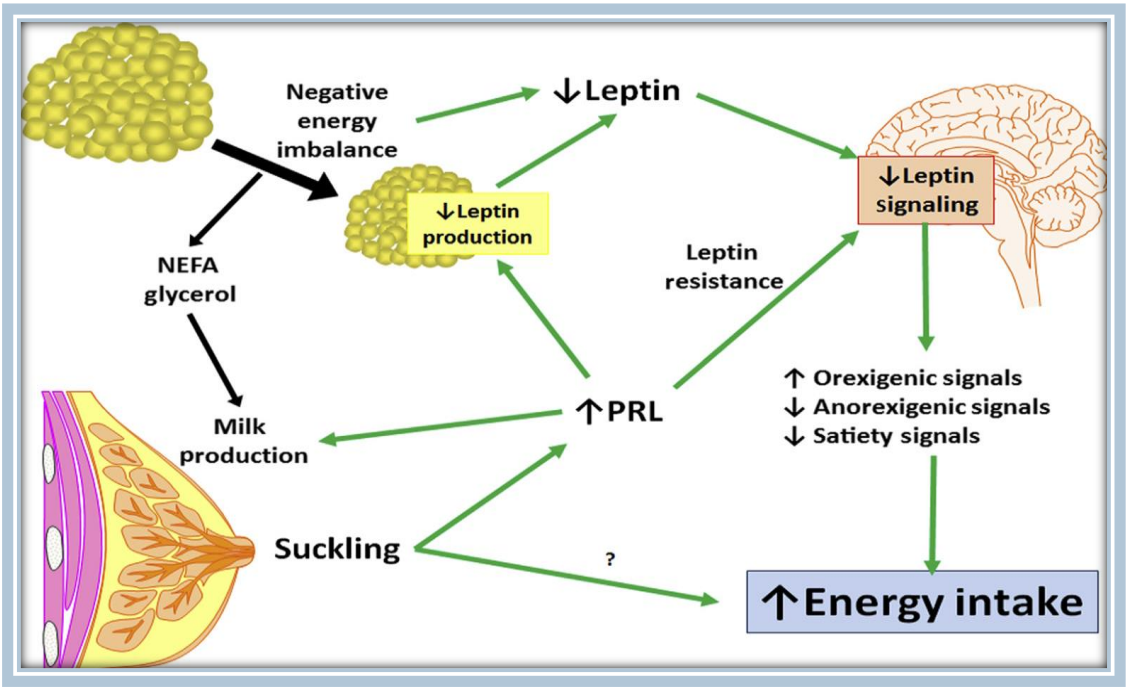


Fig. 7: La régulation de l'apport énergétique pendant la lactation.

PRL = prolactine; NEFA = acides gras non estérifiés, l'apport énergétique est actuellement nucléaire comme l'indique le « ? » (Anderson et *al*., 2015)**.**

V.2. Mécanisme de contrôle endocrine :

Après la naissance, il y a une diminution rapide de la progestérone alors qu'il y a une augmentation de la prolactine et de l'ocytocine. La prolactine fait avancer la production de lait, tandis que l'ocytocine déclenche le réflexe d'éjection qui permet au nourrisson de retirer le lait maternel des canaux galactophores (Alex et *al*., 2020)**.**

L'éjection du lait est à la fois un processus neuroendocrinien déclenché par la stimulation du mamelon envoyant des impulsions neurales à l'hypothalamus, en réponse à la succion du nourrisson au sein. L'hypophyse postérieure libère de l'ocytocine dans la circulation sanguine maternelle (Bryant & Thistle, 2020; Lawrence, 2022).

L'ocytocine se déplace ensuite via la circulation maternelle jusqu'à la glande mammaire, poussant le lait des alvéoles, à travers les canaux galactophores et vers le mamelon conduisant à l'éjection du lait« stocké » déjà fabriqué du sein **(Fig.8)**.

Les canaux sous l'aréole se remplissent de lait et s'élargissent au cours d'une tétée lorsque le réflexe d'ocytocine est actif ou le réflexe de « descente » qui libère le lait des conduits (Golan & Assaraf, 2020; Moberg & Prime, 2013)

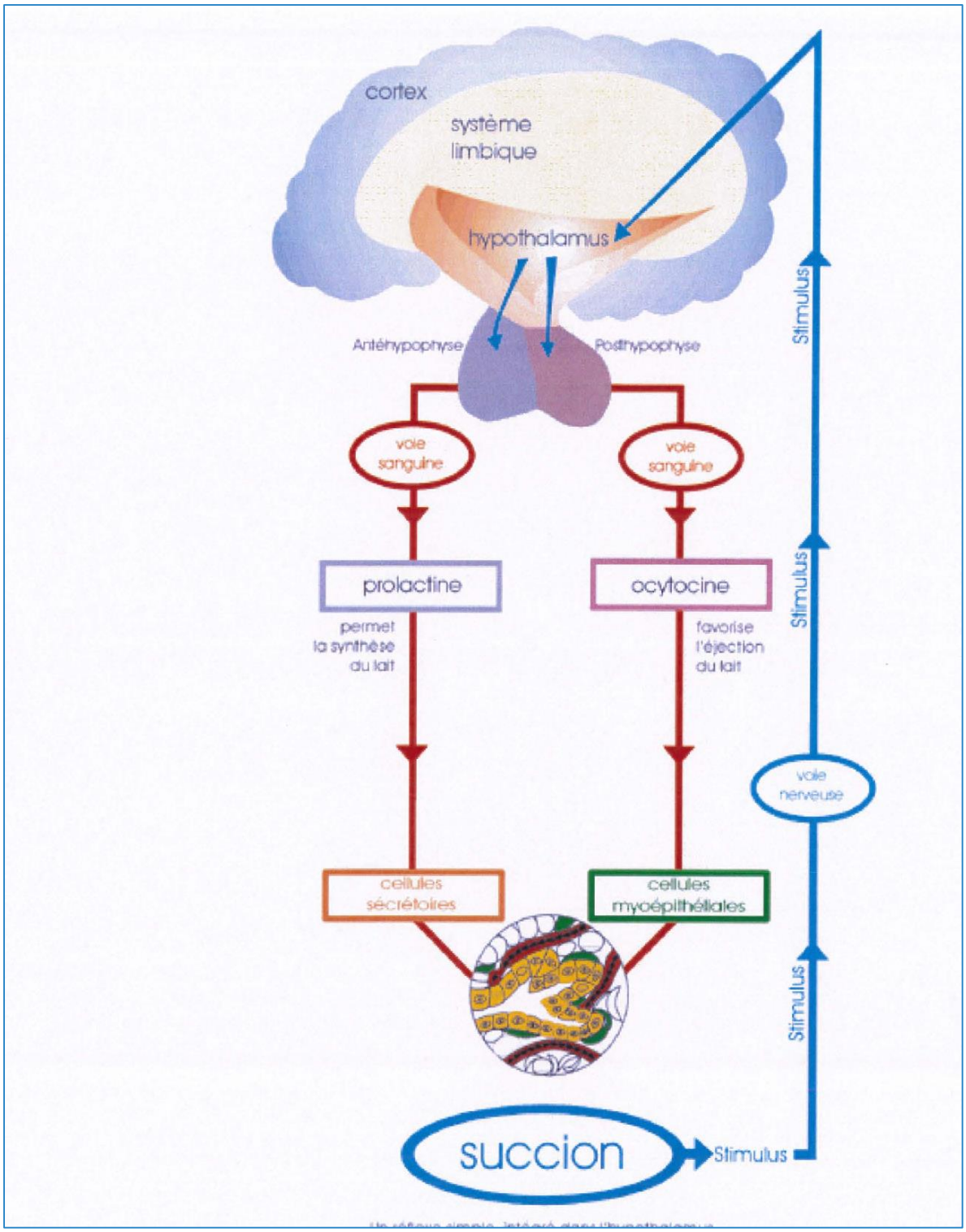


Fig. 8: Régulation hormonale de la lactation (Pubert, 2013).

Ce réflexe, se produit dans les 60 s et 90 s pour l'allaitement et l'expression respectivement. L'éjection du lait est transitoire et dure de 45 s à 35 min (Geddes et *al*., 2021).

V.3. Mécanisme de contrôle autocrine :

D'autres mécanismes sont inter reliés et interagissent pour réguler la production lactée au-delà de l'action hormonale. Il s'agit des mécanismes liés à : l'offre et de la demande, la succion du bébé, la vitesse de synthèse du lait et la capacité de stockage des alvéoles (Beaudry & Chiasson, 2006).

V.3.1. Demande de lait (l'offre et la demande) :

Il est déjà bien établi que la production de lait est fortement corrélée avec les besoins du bébé. Il est aussi confirmé que la quantité de lait sécrétée par la mère répond en grande partie à la demande du bébé, elle-même étant tributaire de la fréquence des tétées(Beaudry & Chiasson, 2006).

V.3.2.Vitesse de synthèse du lait à court terme :

Le sein peut modifier rapidement la vitesse de synthèse du lait d'une tétée à l'autre, la régulation à court terme (entre les tétées) de la sécrétion du lait est de nature autocrine (locale), puisque l'ajustement est rapide et qu'il diffère d'un sein à l'autre.

Chaque sein (droit ou gauche) règle la synthèse du lait de façon indépendante ; l'un peut donc produire plus de lait que l'autre, bien que les deux soient sous la même influence hormonale. La plupart des mères ont donc la capacité d'augmenter rapidement leur production de lait afin de l'adapter à une demande croissante de leur bébé (Beaudry & Chiasson, 2006).

V.3.3.Capacité de stockage :

La « capacité de stockage » est définie comme étant la capacité physiologique maximale d'un sein d'emmagasiner le lait potentiellement accessible au bébé. Elle correspond à la différence entre le volume maximal du sein pendant une période de 24 heures et son volume minimal pendant la même période (Beaudry & Chiasson, 2006).

La production de lait peut également être régie par une rétroaction négative locale au sein de chaque sein. Un constituant de la protéine de lactosérum inhibe la sécrétion de lait de manière dose-dépendante. Au fur et à mesure que le lait s'accumule dans la glande mammaire entre les tétées, la concentration de cet inhibiteur augmente vraisemblablement et retarde et finit par arrêter la production de lait. Ce mécanisme inhibiteur pourrait expliquer pourquoi deux seins d'une même femme avec des taux d'extraction de lait différents peuvent produire des quantités de lait très différentes (Medicine et *al*., 1991).

ChapitreII

La croissance plus rapide durant les premiers mois de vie et l'immaturité de certains organes doivent être prises en considération à ce stade de développement. Il faut en outre pouvoir estimer que son alimentation correspond effectivement à ses besoins (Brault-Dubuc, 1978).

Le besoin nutritionnel se définit comme la plus faible quantité d'énergie ou d'un nutriment déterminé, permettant de maintenir des fonctions physiologiques, une croissance et un état de santé normaux. L'évaluation du besoin nutritionnel moyen d'une population d'enfants bien portants est donc nécessaire (Meisse, 2019).

Le lait maternel humain (LM) est essentiel pour la croissance et le développement du nourrisson juste après la naissance et constitue une source irremplaçable des composants nutritionnels **(Fig.9)** tels que divers macronutriments et micronutriments (Kim & Yi, 2020)**.**

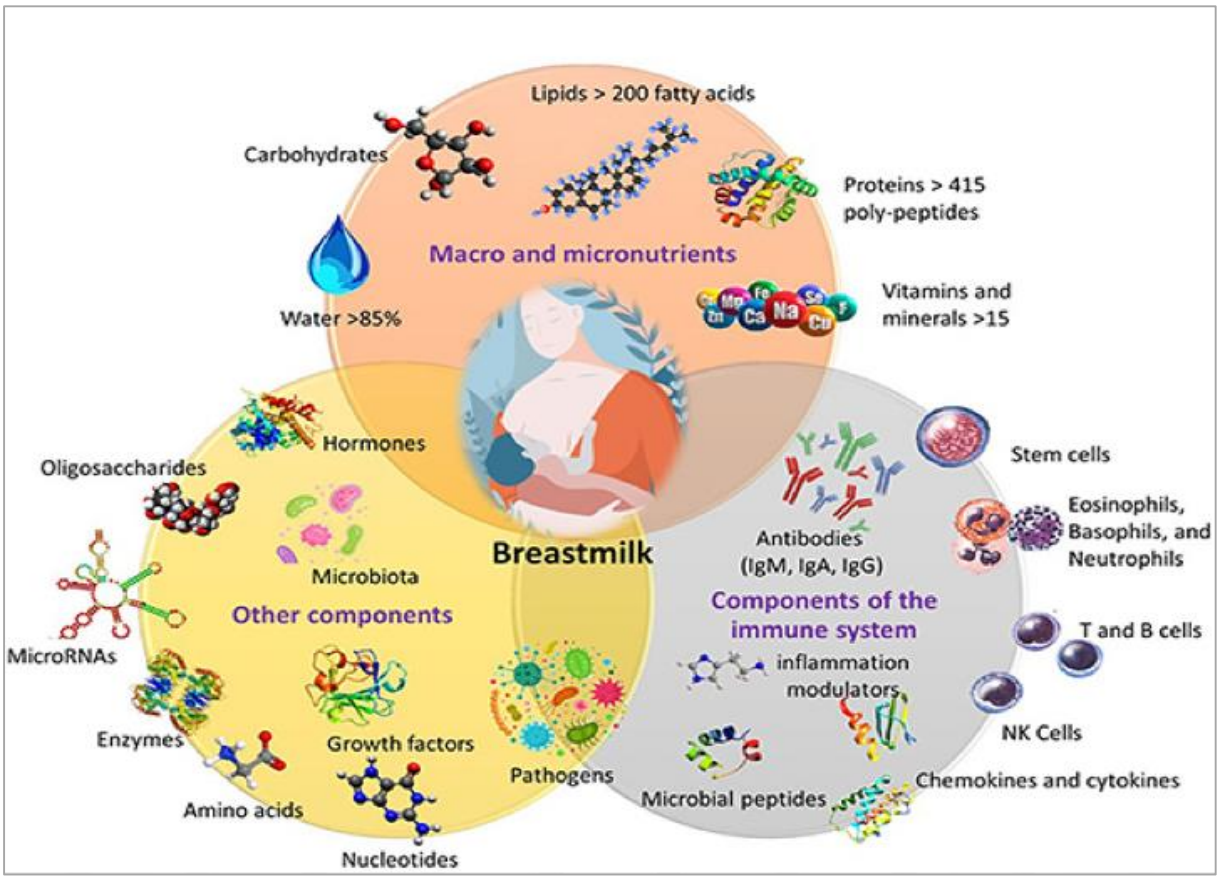


Fig. 9 : Composants du lait maternel en macro et micronutriments, composants du système immunitaire et autres composants (Caba-Flores et *al*., 2022).

I. Macronutriments du lait maternel et les apports nutritionnels :

La teneur en macronutriments du lait maternel est la base commune pour estimer ces besoins en nutriments pour les nourrissons et les femmes allaitantes (Zhu et *al*., 2017).

Le lait maternel, par sa composition, couvre amplement les besoins du nourrisson. D'autre part, sa digestibilité et le bon équilibre de ces composants permettent une absorption accrue de divers nutriments (Brault-Dubuc, 1978).

I.1. Eau « Importance hydrique / Rôles » :

L'eau est l'élément le plus abondant dans le lait maternel humain, qui se compose généralement de 87 % d'eau (Shah & Alhawaj, 2019).

L'eau est la principale constituante de l'organisme puisqu'elle représente 75% du poids du nourrisson et 65% de celui de l'adulte. Les besoins en eau du nouveau-né sont donc importants et ceci s'explique par trois éléments essentiels :

1. La répartition de l'eau dans les secteurs extra- et intracellulaires : Chez le nourrisson l'eau se situe majoritairement dans le compartiment extracellulaire.
2. Le pouvoir de concentration urinaire du rein du bébé est encore faible.
3. L'importance de la surface cutanée du nourrisson par rapport à son poids se traduit par une déperdition hydrique importante via la peau et les muqueuses (Lescure, 2014).

Le lait maternel est donc vital pour maintenir l'hydratation. Elle contribue également au mécanisme de régulation de la température du corps du nouveau-né, car 25 % de la perte de chaleur provient de l'évaporation d'eau par la peau et la respiration (Beaudry & Chiasson, 2006).

I.1.1. Apports hydriques conseillés :

En tenant compte de la température, l'humidité, le poids et le niveau d'activité du nourrisson, la recommandation internationale moyenne de liquide par jour pour un bébé en bonne santé s'élève dans une fourchette allant de 80-100 ml/kg pendant la première semaine de la vie (Maman, 2012).

Les besoins estimés sont ainsi de 150 ml/kg jusqu'à 3 mois, 125 ml/kg jusqu'à 6 mois puis 100 ml/kg jusqu'à 1 an. Cela permet de répondre aux besoins du nourrisson si l'allaitement est exclusif et à la demande. Les apports hydriques vont donc viser à compenser les pertes insensibles en eau(transpiration, perspiration), compenser les excrétions hydriques (urines, fèces, d'autant plus que le nourrisson est souvent sujet aux vomissements, diarrhées) et à

apporter l'eau nécessaire à la dynamique d'absorption et d'échanges(Lescure, 2014; Maman, 2012).

I.2. Les lipides : Importance pour le nourrisson :

La matière grasse du lait est la principale source d'énergie dans l'alimentation du nourrisson. En fournissant 50 à 60 % de l'énergie totale, les lipides du lait maternel (4,1 ± 0,7 % dans le lait mature à terme (Golan & Assaraf, 2020; Meng et al., 2021).

Les graisses sont les composants les plus importants du lait maternel contribuant au développement du système nerveux central (Martin, Ling, & Blackburn, 2016). Elles sont essentielles à la croissance du nourrisson, ainsi qu'à la fonction nerveuse et à l'absorption des vitamines. Les lipides du lait maternel sont principalement composés de triglycérides (TG, 98 %), de phospholipides (PL, 0,8 %) et de cholestérols (0,5 %) (Koletzko, 2016).

Les lipides sont contenus dans des globules gras du lait maternel **(Fig.10),** enfermés dans une membrane (MFG : membrane des globules de matière grasse). La membrane globulaire est composée principalement de phospholipides, de cholestérol et de protéines(Medicine et *al.*, 1991)**.**

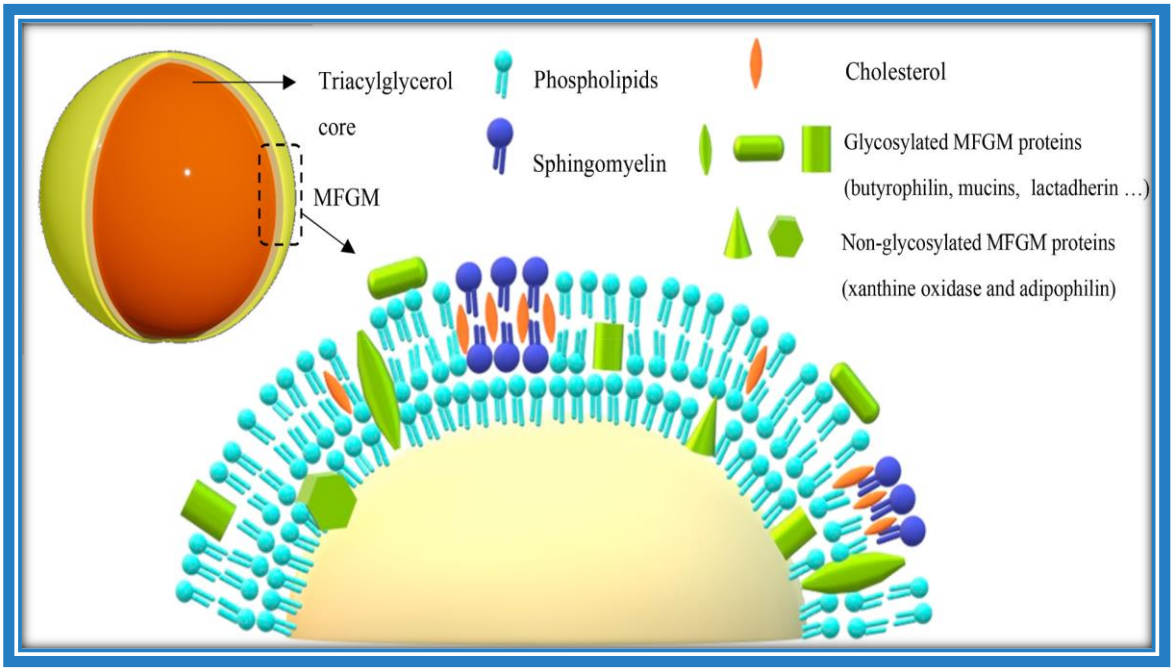


Fig. 10 : Globules de matière grasse du lait maternel et membrane des globules de matière grasse du lait maternel (Meng et *al.*, 2021).

Les PL et d'autres lipides complexes sont les composants clés de la MFGM, notamment la sphingomyéline (SM), la phosphatidyl-éthanolamine (PE), la phosphatidylcholine (PC), la

phosphatidylsérine (PS) et le phosphatidylinositol (PI). En plus d'un rôle structurel. Les PL ont un impact sur les fonctions membranaires et le métabolisme(Koletzko, 2016).

Les protéines membranaires des globules gras du lait MFGM (**Fig.10**), qui représentent 1 % de la masse totale des globules gras sont présents de manière unique dans le lait humain. Ils sont cruciaux pour la synthèse et la sécrétion des lipides et nombre d'entre eux ont été décrits comme des protéines bioactives(Meng et *al*., 2021)**.**

I.2.1. Les triglycérides et les acides gras du lait maternel :

La fraction lipidique principale est constituée de triglycérides, qui représentent environ 95% des lipides totaux (Martin et *al*., 2016).

Les TG sont le principal type de lipides apolaires dans le lait maternel, comprenant un squelette de glycérol avec trois acides gras liés. TG forment le noyau de MFG, alors qu'ils sont entourés d'une membrane à trois couches, c'est-à-dire MFGM (Meng et *al*., 2021).

La structure des TG dans le lait maternel est unique en partie en raison de la distribution positionnelle des acides gras. Par exemple, les acides gras à chaîne courte et les acides gras à chaîne moyenne sont principalement estérifiés en position sn -3, tandis que la plupart des acides palmitiques (16:0) sont estérifiés en position sn -2 de TG dans le lait maternel.

Cette distribution préférentielle protège l'acide palmitique à longue chaîne de l'hydrolyse en acides gras libres, la forme indigeste pour les nourrissons, car ils ont tendance à former des savons insolubles en présence de calcium ou de magnésium (Meng et *al*., 2021).

Près de la moitié des acides gras du lait sont des acides gras saturés, avec 23% d'acide palmitique (C16: 0) dans les acides gras totaux. L'acide gras mono-insaturé, l'acide oléique (18: 1w9), est le plus abondant (36%) dans le lait. Le lait maternel humain contient également deux acides gras essentiels, l'acide linoléique (C18: 2w6) à 15% et l'acide alpha-linolénique (C18: 3w3) à 0,35%(Martin et *al*., 2016).

Ceux-ci sont convertis en acide arachidonique (AA, C20: 4w6)et en acide eicosapentaénoïque (EPA, C20: 5w3). L'EPA est ensuite converti en acide docosahexaénoïque (DHA, 22: 6w3) (Shah & Alhawaj, 2019).

Les acides gras insaturés (FADS) dans le lait ,qui sont impliquées dans la biosynthèse de l'acide docosahexanoïque (DHA) à partir de l'acide –linolénique (Golan & Assaraf, 2020).

- **Importance des lipides et les acides gras pour le nourrisson**

La graisse du lait maternel est nécessaire à la régulation de la croissance, aux réponses inflammatoires, à la fonction immunitaire, à la vision, au développement cognitif et aux systèmes moteurs des nouveau-nés (Shah & Alhawaj, 2019).

Les lipides du lait servent également de source principale d'acides gras essentiels nécessaires à la synthèse membranaire néonatale, de substrats pour la synthèse des eicosanoïdes et d'autres molécules bioactives de signalisation lipidique, et ils fournissent un mécanisme de transfert des vitamines liposolubles aux nourrissons (Anderson et *al*., 2015).

L'AA, l'EPA et le DHA sont importants pour réguler la croissance, les réponses inflammatoires, la fonction immunitaire, la vision, le développement cognitif et les systèmes moteurs chez les nouveau-nés (Martin et *al*., 2016).

Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne (LCPUFA) comprennent l'acide docosahexaénoïque et l'acide arachidonique, qui sont impliqués dans des processus physiologiques importants tels que la croissance et la réponse immunitaire et sont essentiels au développement du cerveau (Chiurazzi et *al*., 2021).

Le DHA (acide docosahexaénoïque) et l'acide arachidonique sont nécessaires à la différenciation cellulaire et au développement de synapses actives dans le système nerveux. Le DHA et l'acide arachidonique ne sont pas présents dans les autres laits(Shah & Alhawaj, 2019).

Cependant, les effets des acides gras du lait humain sur le neuro-développement sont complexes, en particulier parce que le neuro-développement est évalué après la période des six premiers mois de l'alimentation exclusive du lait humain (Martin et *al*., 2016).

Les variations des acides gras du lait maternel peuvent avoir un effet à long terme sur la cognition et le développement du nourrisson (Golan & Assaraf, 2020).

I.2.2. Le Cholestérol et son importance pour le nourrisson :

Le cholestérol constitue 0,5% des lipides totaux du lait maternel,(Lescure, 2014). Le principal stérol du lait maternel est le cholestérol dont le taux (10–20 mg dl −1 à 3 semaines post- patrum). Le cholestérol est essentiel pour toutes les structures de la membrane cellulaire en particulier la membrane de myéline du système nerveux (Meng et *al*., 2021).

Il joue un rôle important comme précurseur hormonal, et dans le développement cérébral, il fournit également des substrats pour d'importants modulateurs de la croissance du nourrisson, notamment les acides biliaires , les lipoprotéines , la vitamine D, les hormones et les oxy-stérols (Koletzko, 2016; Turck et *al*., 2013).

C’est un constituant essentiel des membranes cellulaires nécessaire à la croissance, au maintien et à la réplication des cellules. Le cholestérol est également participe à la protection à long terme de l’individu contre l’hypercholestérolémie (Lescure, 2014; Meisse, 2019).

- **Apports nutritionnels conseillés en lipides et en cholestérol**

Chez le nourrisson, les lipides ne doivent pas servir uniquement à un apport énergétique (9 kcal/g de lipides). En effet, il est très important d’assurer un apport suffisant en lipides pour le développement très rapide des structures cellulaires et particulièrement des structures cérébrales(Lescure, 2014).

Les apports recommandés pour un nourrisson sont donc plus élevés: 45 à 50%de la ration énergétique. Ils ne seront réduits qu’à partir de 3 ans au profit de l’apport glucidique pour ne représenter plus que 35-40% de l’apport énergétique. Comparativement, les enfants allaités ont un apport en cholestérol plus élevé (25 mg/kg)(Lescure, 2014).

I.3. Les glucides du lait maternel :

Les glucides sont le macronutriment le plus important dans le LM et jouent un rôle important dans la nutrition du nourrisson, dans le développement de la fonction physiologique de l'ensemble du tractus gastro-intestinal dès la naissance (Kim & Yi, 2020).

De plus, les glucides aident certaines souches de lactobacilles à se développer dans l'intestin, ce qui aide à contrôler la flore intestinale (Shah & Alhawaj, 2019).

Le lait maternel LM fournit un approvisionnement constant en glucides au nourrisson au début de sa vie, assurant une nutrition, une maturation et un développement appropriés de ses systèmes physiologiques relativement immatures (Gridneva et *al*., 2019).

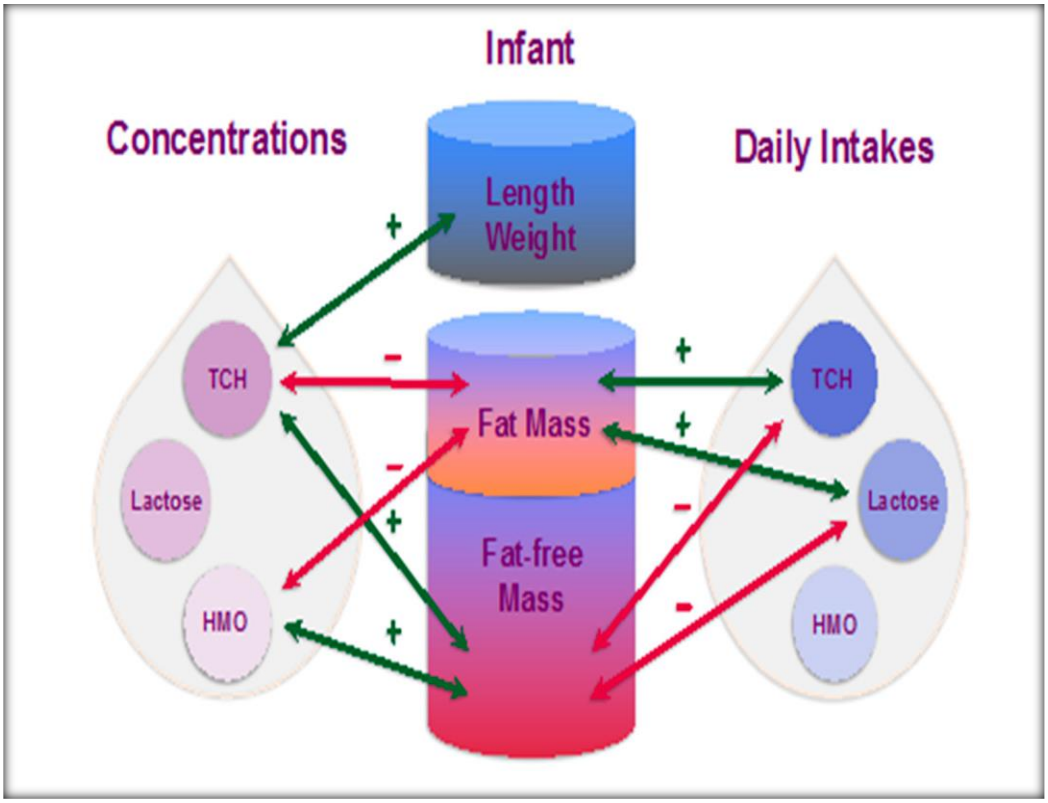


Fig.11 : la composition corporelle du nourrisson au cours des 12 premiers mois de vie.

Les flèches vertes indiquent des associations positives des glucides du lait maternel avec les paramètres de composition corporelle du nourrisson et les flèches rouges des associations négatives. **HMO** : oligosaccharides du lait maternel ; **TCH** : glucides totaux. **CDI** : apports quotidiens calculés (calculated daily intakes) (Gridneva et *al*., 2019)

Les concentrations et les apports quotidiens en glucides dans le LM se sont avérés associés au développement du BC « body composition » du nourrisson et sont liées à l'anthropométrie du nourrisson tout au long des 12 premiers mois de lactation **(Fig.11)** (Gridneva et *al*., 2019). De plus, la fréquence de l'allaitement du nourrisson était associée à l'ICD de TCH et du lactose, soulignant le rôle important de l'allaitement dans la programmation de la régulation de l'appétit du nourrisson et du BC au cours de la première année de vie.

Alternativement, l'absence d'associations de concentration de lactose pourrait être due à son rôle dans le maintien d'une pression osmotique constante, et étant ainsi l'un des composants LM les moins variables au cours de la lactation (Gridneva et *al*., 2019).

I.3.1. Le lactose du lait maternel et son importance pour le nourrisson :

C'est le principal constituant glucidique du lait maternel et est un disaccharide constitué de galactose lié par une liaison au glucose, facilement digéré chez presque tous les nourrissons (Kim & Yi, 2020; Medicine et al., 1991).

Le rôle principal du lactose est de fournir le nouveau-né 40 % de l'énergie du lait maternel. Le lactose est un nutriment très important pendant les premières années néonatales, il joue un rôle avec du galactose pour la synthèse des structures nerveuses (gaines de myéline) (Castel & Billeaud, 2017; Gambelli, 2017).

En plus de fournir de l'énergie. La concentration stable de lactose est importante pour maintenir une pression osmotique constante dans le lait maternel pendant la production de lait, ainsi que dans l'augmentation de l'absorption des minéraux, en particulier du calcium (Meng et al., 2021; Shah & Alhawaj, 2019).

Le lactose est le principal agent osmotique présent dans le lait, et les niveaux de lactose sont un déterminant majeur de la quantité d'eau aspirée dans le lait chez la plupart des espèces (Anderson et *al*., 2015), favoriserait une meilleure utilisation du calcium(Joseph & Pondi, 1991); et semble exercer des effets de modélisation sur le microbiote intestinal et favoriser le développement du cerveau. Cela peut être dû à la capacité du microbiote du tractus gastro-intestinal à convertir le lactose en acide lactique, entraînant ainsi une baisse du pH et une modification de la solubilité du calcium (Chiurazzi et *al.*, 2021; Meng et *al*., 2021)**.**

I.3.2. Le Glucose :

Les glucides du LM comprennent également de petites quantités de monosaccharides, tels que le glucose. La majeure partie du lactose (80 %) dans le lait humain provient du glucose plasmatique. L'utilisation du glucose par la mère augmente de 30 % pendant la lactation (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Celmalniece, 2017; Gridneva et al., 2019).

La concentration de glucose dans le lait maternel est étroitement régulée par l'insuline et est stable même en présence d'obésité et d'autres conditions métaboliques (par exemple, le diabète) (Berger, Plows, Demerath, & Fields, 2020b).

Des études antérieures ont montré que des concentrations plus élevées de glucose dans le lait maternel étaient associées à une plus grande adiposité chez les nourrissons (Goran, Martin, Alderete, Fujiwara, & Fields, 2017).

I.3.3. Les Oligosaccharides et son importance pour le nourrisson :

Le lait maternel contient une gamme de glucides à chaîne modérée (oligosaccharides et gluco-conjugués). Il existe un niveau élevé d'oligosaccharides dans le lait maternel. Plus de 200 oligosaccharides (HMO) libres différents ont été identifiés (Anderson et al., 2015; Medicine et al., 1991; Morozov, Hansman, Hanisch, Schroten, & Kunz, 2018).

Les HMO sont des facteurs bioactifs importants, affectant indirectement le système immunitaire des nourrissons en tant que pré biotiques. La concentration des HMO totaux dans le colostrum peut atteindre 20 à 25 g L^{-1}, diminuant à 5 à 20 g L^{-1} dans le lait mature (Meng et *al*., 2021; Xu et *al*., 2017).

En effet c'est parmi les glyco-peptides et les osides azotés que se trouvent le « ou » les facteurs de croissance spécifiques « facteur bifidus ». Celui-ci joue un rôle dans la protection vis-à-vis des infections intestinales. Ils résistent aux enzymes présentes dans le tractus intestinal du nourrisson. Ils traversent donc le petit intestin sans être digérés, atteignent le côlon (Beaudry & Chiasson, 2006; Simard, 2001).

- **Apports nutritionnels conseillés en glucides**

Contrairement aux lipides et aux protides, ils constituent la première source d'énergie immédiatement utilisable par l'organisme. Cet apport glucidique (4 kcal/g de glucides) doit représenter entre 40 et 45%de la ration calorique (Lescure, 2014).

I.4. Les protéines du lait maternel :

Les protéines du lait sont généralement classées comme les caséines et les protéines de lactosérum. La caséine devient caillots ou caillés dans l'estomac; tandis que le lactosérum reste liquide et est plus facile à digérer (Martin et *al.*, 2016; Medicine et *al*., 1991).

Le rapport lactosérum/caséine dans le lait maternel fluctue entre 70/30 et 80/20 en début de lactation et diminue à 50/50 en fin de lactation.

Le lait maternel humain contient des niveaux de protéines de lactosérum plus élevés, ce qui facilite la digestion des nouveau-nés. De plus, diverses protéines de lactosérum assurent différentes fonctions nécessaires au nouveau-né (Shah & Alhawaj, 2019).

De nombreuses substances protéines uniques de lactosérum présentes dans le lait maternel ont des effets protecteurs directs contre les infections dans le lait humain, et des propriétés immunologiques (Medicine et *al*., 1991).

Les protéines de lactosérum est une véritable solution qui contient tout le sucre de lait et les ions monovalents sodium, potassium et chlorure, citrate, calcium, phosphate libre, et la plupart des composants mineurs solubles dans l'eau du lait (Neville, 2001).

I.4.1. L'α-lactalbumine :

L'alpha-lactalbumine constitue 40 % de la protéine de lactosérum du LM, aide à la synthèse du lactose dans les glandes mammaires et à l'apport d'acides aminés essentiels et à l'absorption des minéraux et des oligo-éléments chez les nourrissons. De plus, L'alpha-lactalbumine est essentielle à la liaison des ions Ca et Zn. Il joue également un rôle dans le système immunitaire et possède des propriétés antibactériennes (Kim & Yi, 2020; Martin et al., 2016).

Des variantes génétiques dans les grandes protéines du lait, notamment l'α-lactalbumine et l'α-caséine, ont été découvertes, ce qui, à son tour, peut être associé au volume et à la composition du lait (Christian et *al*., 2021).

I.4.2. La lactoferrine :

L'une des protéines de lactosérum dominantes dans le lait maternel tout au long de la lactation, inhibe la multiplication des bactéries sidérophiles (absorbant le fer) en rivalisant avec ces micro-organismes pour le fer ferrique :Les caractéristiques de la lactoferrine dans le lait maternel qui sont responsables de son effet antimicrobien (Medicine et *al*., 1991).

La lactoferrine, une glycoprotéine liant le fer avec une activité bactériostatique et bactéricide contre *Escherichia coli* , Candida *albicans* et d'autres agents pathogènes, tels que les virus (Caba-Flores et *al*., 2022).

I.4.3. Le lysozyme :

Le lysozyme dans le lait maternel est une glycoprotéine résistante aux acides de 15 kDa contenant 130 acides aminés. Le lysozyme attaque la paroi cellulaire externe des bactéries gram-positives et agit également en synergie avec la lactoferrine pour tuer les bactéries gram-négatives (Meng et *al*., 2021).

La lactoferrine et le lysozyme empêchent la propagation de bactéries potentiellement pathogènes et préviennent les maladies chez les nourrissons (Martin et *al*., 2016).

D'autres protéines de lactosérum sont encore à l'étude, et plusieurs d'entre elles ont été relativement bien décrites en raison de leurs fonctions spécifiques et de leurs concentrations relativement élevées, notamment l'haptocorrine (une protéine liant la vitamine B12) et

l' ostéopontine. Ces protéines sont généralement glycosylées, ce qui contribue à leurs fonctions biologiques telles que les activités antimicrobiennes (Meng et *al*., 2021) .

I.4.4. Les facteurs immunologiques et composants cellulaires :

Le système immunitaire du nouveau-né est immature et le lait maternel est riche en facteurs immunologiques. Il contient des immunoglobulines, des cellules immunitaires, des protéines du complément et des facteurs immuno-modulateurs. Diverses cellules se trouvent également dans le lait maternel, notamment les leucocytes et les cellules souches, qui sont impliquées dans le développement et la modulation immunologiques (Caba-Flores et *al*., 2022; Cheng et *al*., 2021).

Les anticorps maternels sont d'une importance particulière car le système immunitaire sécrétoire du nourrisson ne mûrit pas avant plusieurs mois après la naissance. Le lait maternel contient l'immunoglobuline A (IgA), l'immunoglobuline G (IgG) et l'immunoglobuline M (IgM). LesIgM et IgG sont présentes dans le lait maternel, mais à des concentrations beaucoup plus faibles (Medicine et al., 1991; Shah & Alhawaj, 2019).

L'immunoglobuline la plus abondante et la plus efficace en termes d'effet anti-inflammatoire est l'IgAs,mais l'IgA est différente de celle trouvée dans le plasma. Il s'agit d'un dimère avec une protéine de chaîne J de jonction et un composant sécrétoire appelé IgA sécrétoire (SIgA) (Caba-Flores et *al.*, 2022; Meng et *al*., 2021).

Les IgA protègent contre les agents pathogènes auxquels le nourrisson pourrait être exposé ; L'anticorps IgA détruit les bactéries et protège la surface muqueuse de l'intestin (Medicine et al., 1991; Shah & Alhawaj, 2019).

L'IgA est spécifique en raison d'une glycoprotéine épithéliale appelée composant sécrétoire (SC) qui se fixe à sa structure dimérique. Le SC aide les sIgA à bloquer les toxines adhérant à l'épithélium intestinal (Meng et *al*., 2021).

I.4.5.Les facteurs de croissance et les hormones :

Le lait maternel contient de nombreuses hormones et facteurs de croissance différents et il contient également de petites quantités d'ocytocine. La concentration d'ocytocine dans le lait maternel est d'environ 8 pg/ml au cours des premiers jours après la naissance, puis diminue avec l'augmentation de la production de lait (Moberg & Prime, 2013).

Les facteurs de croissance apportés par l'allaitement peuvent avoir une grande importance dans la croissance, la maturation et l'intégrité de plusieurs organes, en particulier pour le tractus

gastro-intestinal néonatal. Ils aident à la maturation de l'immunité intestinale et ont des effets anti-inflammatoires. Les concentrations les plus élevées de facteurs de croissance sont fournies par le colostrum, en tant que premier lait libéré après la naissance *(*Gila-Diaz et *al*., 2019).

Les principaux facteurs de croissance présents dans le LM et leurs effets trophiques sur les organes et systèmes néonataux sont résumés dans la **Fig.12**.

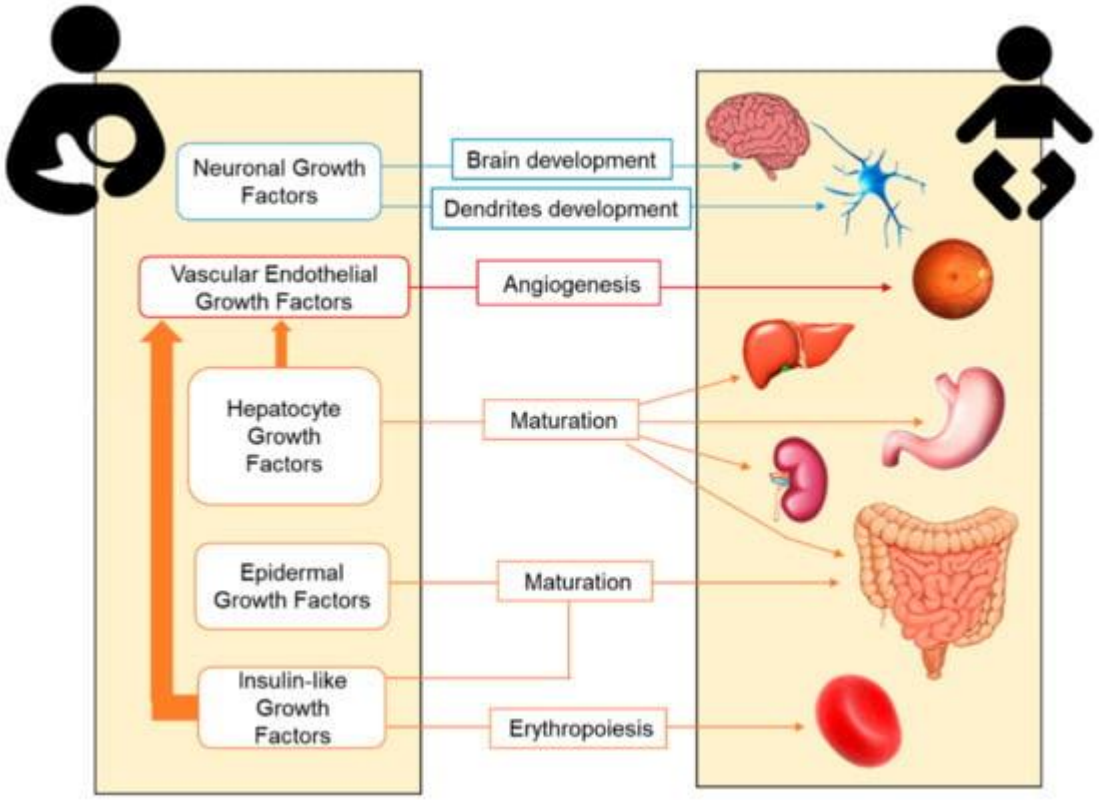


Fig. 12 : Transfert des facteurs de croissance maternels par le lait maternel et leurs effets trophiques sur la croissance et la maturation des organes et systèmes néonataux *(*Gila-Diaz et *al*., 2019).

- **Facteur de croissance des hépatocytes (HGF) :** Le rôle essentiel est de favoriser l'organogenèse. Il est également impliqué dans la formation des : reins, des poumons, de la glande mammaire, des dents, des muscles et des tissus neuronaux. Pour préserver la prolifération, l'angiogenèse et le développement des tissus intestinaux.
- **Facteur de croissance épidermique (EGF) :**est présent en abondance et il stimule la maturation de la muqueuse intestinale du nourrisson(Shah & Alhawaj, 2019).

- **Facteurs de croissance neuronale :** est une petite protéine neuro-trophique,joue un rôle essentiel dans le développement et le maintien du système nerveux, ainsi que dans la survie et la prolifération neuronales.
- **Des facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGF) :** II joue un rôle important dans la protection des entérocytes, améliore l'érythropoïèse et augmente l'hématocrite.
- **Facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) :** Le VEGF assure la médiation de la vascularisation (Gila-Diaz et *al*., 2019).

I.4.6. Antioxydants dans le lait maternel :

La naissance représente un défi oxydatif important en raison du passage de l'environnement intra-utérin relativement pauvre en oxygène à l'atmosphère extra-utérine riche en oxygène
Les antioxydants endogènes peuvent être classés comme enzymatiques (c'est-à-dire la super-oxyde-dismutase (SOD), la catalase ou la glutathion peroxydase (GPx)), de petites molécules non enzymatiques comme :

- **Le glutathion (GSH)** : Il participe à la régénération d'autres antioxydants, tels que les vitamines C et E vers leurs formes actives.
- **La mélatonine** : est le principal produit endocrinien de la glande pinéale (hormone), qui joue un rôle physiologique dans la neuro-immuno-modulation. Il a été démontré qu'il présente des effets protecteurs contre le vieillissement cellulaire en raison de ses effets antioxydants (Gila-Diaz et *al*., 2019).

I.4.7. Les acides aminés :

Les acides aminés du lait humain sont présents soit dans des protéines ou des peptides (courtes chaînes d'acides aminés), alors qu'une petite proportion se trouve sous forme d'acides aminés libres et de glucosamine (Beaudry & Chiasson, 2006).

De plus, les protéines et les peptides peuvent être digérés par l' amino-peptidase et la carboxypeptidase dans le lait maternel en acides aminés libres (5% à 10% des acides aminés totaux), ce qui a été supposé être une source rapide d'acides aminés pour les nouveau-nés sans digestion des protéines par nourrissons (Meng et *al*., 2021).

Au cours du processus de digestion, la plupart des protéines sont décomposées en acides aminés libres qui sont absorbés et utilisés comme bloc de construction pour synthétiser de nouvelles protéines dans le corps (Mosca & Giannì, 2017).

La glutamine est l'acide aminé présent en plus grande quantité. Elle est environ 20 fois plus élevée dans le lait mature que sa valeur la plus faible dans le colostrum(Shah & Alhawaj, 2019).

La glutamine est importante pour fournir de l'acide céto-glutarique pour le cycle de l'acide citrique, agissant éventuellement comme un neurotransmetteur dans le cerveau et servant de substrat énergétique majeur pour les cellules intestinales (Martin et *al*., 2016).

La taurine, acide aminé contenant du soufre vient au deuxième rang parmi les acides aminés libres les plus abondants dans le lait humain. La taurine intervient dans la conjugaison des acides biliaires, facilitant l'absorption des lipides. Elle semble aussi jouer un rôle de neurotransmetteur dans le cerveau et dans la rétine et interviendrait pour assurer la stabilité des membranes (Beaudry & Chiasson, 2006).

I.4.8. Caséines du lait maternel et leur importance pour le nourrisson :

Les caséines sont un groupe de protéines qui diffèrent par leurs chaînes d'acides aminés et leurs structures **(Fig.13)**. Selon la littérature, un total de trois types de caséines (β-caséine, α_{s-1} caséine et κ-caséine) ont été identifiés dans le lait maternel, 70 % de la caséine totale est de la β-caséine (Meng et *al*., 2021; Zhang et *al*., 2021).

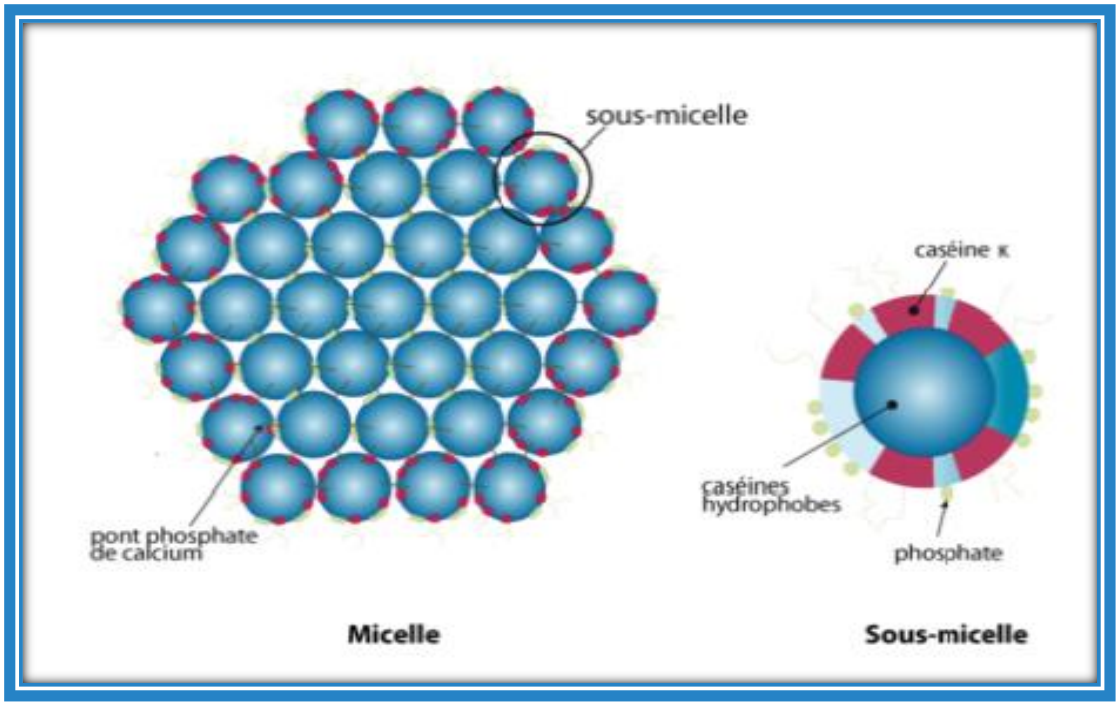


Fig. 13 : Structure d'une micelle de caséine (Lescure, 2014).

Les caséines sont des phosphoprotéines présentes uniquement dans le lait. Les molécules de caséine s'associent en combinaison avec des ions calcium, phosphate et magnésium dans des structures appelées micelles **(Fig.13).**

Ces micelles permettent au lait de transporter une quantité beaucoup plus importante de calcium, de phosphate et de magnésium, ce qui permet d'apporter ces minéraux au nourrisson en quantité importante (Medicine et *al*., 1991).

Les caséines ont des protéines nutritives, plus difficile à digérer que le lactosérum. A noter que la caséine présente dans le lait maternel, essentiellement la caséine-*β*, présente la propriété d'être pré-hydrolysée ce qui la rend beaucoup plus digeste que celles du lait de vache (Lescure, 2014; Shah & Alhawaj, 2019).

La κ-caséine est importante en tant que protéine fortement glycosylée dans le lait maternel, il est reconnu que la κ-caséine est la deuxième caséine la plus abondante dans la LM.

Il peut inhiber l'adhésion d' Helicobacterpylore à la muqueuse gastrique humaine et déclencher la croissance de Bifidobacterium infantile et de Lactobacillus bifidus, protégeant ainsi les nourrissons allaités contre les maladies gastro-intestinales (Meng et *al*., 2021; Zhang et *al*., 2021).

I.4.9. Les composés azotés non protéiques :

Le lait maternel contient une variété des composés azotés non protéiques, urée, l'acide urique, créatine , acides aminés et peptides libres, y compris des sucres N-acétyle, et des nucléotides, représentent 25 % de la quantité totale d'azote du lait humain (Chiurazzi et al., 2021; Mosca & Giannì, 2017).

Le NPN « azote non protéique » est dérivé principalement du sang de la mère et assez des quantités constantes sont présentes tout au long de la lactation. Divers effets bénéfiques sont attribués à l'azote non protéique, comme par ex. le facteur de croissance épidermique (Csapo & Salamon, 2009; Shi et al., 2011).

Près de 50% de celui-ci est de l'azote uréique, qui est utilisé pour synthétiser des acides aminés non essentiels. Il convient de noter que les nucléotides peuvent être considérés comme des éléments nutritifs essentiels sous condition. Ils jouent un rôle important dans plusieurs fonctions cellulaires, agissant comme modulateur métabolique, modulant les activités enzymatiques et favorisant le développement et la maturation des systèmes gastro-intestinaux et immunologiques (Kim & Yi, 2020; Mosca & Giannì, 2017).

- **Apports protéiques conseillés**

L'apport en protéines doit donc permettre d'assurer le renouvellement cellulaire, la compensation des pertes obligatoires (sueur, selles, urines). Il faut un équilibre entre les apports protéiques et l'élimination des déchets métaboliques par le foie et le rein dont la maturité n'est pas complète à la naissance.

L'apport en protéines (4 kcal/g de protéine) doit représenter entre 10 et 15%de l'apport énergétique total. Il doit être de 2 g/kg/jour avant 3 mois puis diminué à 1,5 g/kg/jour jusqu'à 6 mois. En général on retient que les besoins en protéines sont de l'ordre de 10 g/jour pendant les 2 premières années de vie (Lescure, 2014).

1.5. Valeur énergétique et les apports conseillés :

Il possède un rôle à la fois énergétique et structural puisque qu'il sert à la synthèse de novo du galactose qui entre dans la constitution des cellules cérébrales mais aussi dans leur métabolisme. Il a aussi pour fonction de favoriser l'absorption du calcium et du fer et d'aider à la colonisation des intestins par le lactobacillus bifidus (Castel & Billeaud, 2017).

En premier lieu, la dépense énergétique la plus importante est celle liée au métabolisme de repos (50 à 70 kcal/kg/jour). Ensuite les besoins induits par la croissance très rapide de la naissance à 6 mois sont estimés à 5 kcal/g de poids gagné. Comme un nourrisson prend en moyenne 25 à 30 g/jour jusqu'à 2 mois puis 20 g/jour jusqu'à 6 mois, ceci représente une dépense de 150 kcal/jour jusqu'à 2 mois puis 100 kcal/jour jusqu'à 6 mois (Lescure, 2014).

Un nourrisson consomme en moyenne 750 ml de lait maternel par jour et les 525 kcals qu'ils apportent sont aussi nécessaires à leur production. Cependant, nombre de nutriments servant à la production et à la composition du lait proviennent des stocks accumulés pendant la grossesse et un tiers de la dépense énergétique supplémentaire liée à l'allaitement est couvert par la mobilisation de ces stocks (Castel & Billeaud, 2017).

II. Micronutriments du lait maternel et les apports nutritionnels :

Les minéraux et les vitamines, également appelés micronutriments, sont essentiels à de nombreuses enzymes, sous forme de cofacteurs et coenzymes qui favorisent le maintien, la formation et l'homéostasie des tissus corporels, et à effectuer des activités métaboliques, telles que la signalisation cellulaire (Farias et al., 2020).

II.1. Minéraux : Importance et l'apport nutritionnels conseillés :

Les minéraux jouent un rôle important dans la croissance et le développement du nourrisson(Tan et *al*., 2020). Le LM est 3 fois moins riche en minéraux 2,5 g/L, mais il renferme les mêmes minéraux. La biodisponibilité des minéraux et oligoéléments est excellente dans le lait humain car des ligands présents dans le lait maternel possèdent leurs récepteurs spécifiques dans l'intestin du nouveau-né. Ceci permet de couvrir les besoins du bébé avec un minimum d'apport. La quantité de minéraux et oligoéléments dans le lait maternel est donc très bien adaptée aux possibilités d'élimination rénale du bébé (Lescure, 2014).

Le rôle des éléments essentiels dans les fonctions biologiques les rend particulièrement importants pour la nutrition des nourrissons(Kılıç Altun et *al*., 2018).

Le sel est un nutriment vital pour toutes les cellules. Cela peut affecter la croissance et le développement de l'enfant. Peut également être crucial pour le développement du système nerveux (Hosseini, Valizadeh, Hosseini, Khatibshahidi, & Raeisi, 2020).

II.1.1. Sodium :

Le sodium est important en raison de son rôle caractéristique dans l'activité électrique des cellules, l'ajustement du volume extracellulaire et l'équilibre acido-basique, les vitesses de conduction nerveuse ainsi que la fonction musculaire.

Chez les nourrissons, une concentration plasmatique élevée de sodium (hyper natrémie) est généralement associée à un apport excessif en sodium et considérée comme une cause de lésions cérébrales. Il est prouvé que les niveaux de sodium pendant la petite enfance peuvent avoir un effet à long terme sur la tension artérielle (Javad et *al.*, 2018; Kılıç Altun et *al*., 2018).

Les besoins en sodium sont faibles (23mg/Kg/Jour). Cet apport est largement couvert par le lait maternel. L'apport quotidien de 150 mg (obtenu par exemple avec un apport quotidien de 800 mL de lait à 120 mg/L de concentration en sodium) convient à la plupart des bébés au cours de la première année de vie(Meisse, 2019; Sánchez et *al.*, 2020).

II.1.2. Potassium :

Le potassium est le principal cation intracellulaire, avec une concentration 30 fois plus élevée à l'intérieur de la cellule que dans le liquide extracellulaire. Le potassium dans le liquide extracellulaire est impliqué dans la transmission de l'influx nerveux, le maintien de la pression

artérielle et le contrôle de la contraction des muscles squelettiques (Guo & Hendricks, 2008; Kılıç Altun et al., 2018).

L'apport approprié pour la plupart des enfants jusqu'à 6 mois est de 400 mg par jour, c'est-à-dire qu'avec une consommation quotidienne de 800 mL de lait maternel, une concentration en potassium de 500 mg/L serait nécessaire, et l'épuisement du potassium peut se produire dans des situations où il y a de grandes pertes alimentaires ou rénales (Guo & Hendricks, 2008; Sánchez et al., 2020).

- **Importance des électrolytes « Na, K »**

Le sodium et le potassium soutiennent la pression osmotique dans les cellules(Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017). Certains chercheurs ont signalé des augmentations des niveaux de sodium de 5 à 40 fois dans le lait maternel associées à un stress émotionnel, une mammite et une diminution de la production de lait (Sánchez et *al*., 2020).

Une cause fréquente des taux élevés d'électrolytes dans le lait, de la déshydratation et la de la malnutrition associée chez les nourrissons semble être le manque de tétée ou une tétée inadéquate, ainsi qu'une stimulation inadéquate de la tétée entraîne une involution des glandes mammaires, caractérisée par une réduction de la synthèse du lactose et des concentrations élevées d'électrolytes dans le lait (Medicine et *al*., 1991).

II.1.3. Calcium:

Le calcium est au cœur de la lactation, à la fois sous forme ionique en tant que nutriment clé pour le nouveau-né où il est largement chélate aux protéines du lait et aux anions comme le phosphate, les deux tiers du calcium sont liés à la caséine, le reste forme un complexe citrate soluble (Medicine et *al*., 1991; Rao, 2021).

Et en tant que principal élément du système squelettique qui améliore la densité minérale osseuse chez les nourrissons, le calcium est nécessaire à la formation et au maintien de la masse osseuse (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017; Kılıç Altun et al., 2018), contribue au développement des os, à la contraction musculaire, à la transmission de l'influx nerveux et à la coagulation du sang. Il dépend de divers facteurs génétiques et environnementaux (Farias et al., 2020; Maru, Birhanu, & Tessema, 2013).

Bien qu'il soit largement affirmé que le calcium est plus bio disponible à partir du lait maternel que du lait maternisé (Abrams, Griffin, & Davila, 2002).

Le calcium est le deuxième minéral le plus abondant dans le lait maternel, l'apport moyen en calcium adapté à la plupart des bébés au cours du premier semestre de leur vie est de 200 mg par jour. Ceci pourrait être réalisé avec une consommation de 800 mL de lait par jour, si ce lait a une concentration en calcium de 250 mg/L (Sánchez et *al*., 2020). Chez les enfants, 210-500 mg/jour de calcium est recommandé pour l'entretien physiologique, une hypocalcémie et une altération des os (Farias et *al*., 2020).

L'efficacité d'absorption du calcium était d'environ 60% pour le lait maternel pendant les quatre premiers mois de la vie. Cela a conduit à une rétention calcique nette calculée qui était similaire entre 160 et 170 mg / jour pour les nourrissons nourris au lait maternel ,Cependant, l'apport calculé en calcium de 327 mg / jour au cours des quatre premiers mois de la vie (Abrams, 2010).

II.1.4. Magnésium :

Le magnésium (Mg) est le quatrième cation dans le corps humain et le deuxième le plus répandu intracellulaire. Il est distribué environ 53 % dans les os, 27 % dans les muscles, 19 % dans les tissus mous non musculaires. tissus, et seulement 1% dans le liquide extracellulaire (Farias et *al*., 2020).

Le magnésium aide à générer de l'ATP et de l'énergie, à éliminer l'ammoniac dans le cerveau lié au manque d'attention et à convertir les acides gras essentiels en DHA (acide docosahexaénoïque), qui est lié au bon fonctionnement et à la structure des cellules cérébrales. Il a également un effet antioxydant (Farias et *al*., 2020).

La dose recommandée est de 30 à 80 mg/jour .Il existe peu d'études sur la prévalence de la carence en magnésium dans la petite enfance et la première enfance. On sait qu'une carence en Mg peut entraîner une hypo parathyroïde (Farias et *al*., 2020).

II.1.5. Phosphore :

Le phosphore est un composant structurel des membranes cellulaires et des acides nucléiques et est impliqué dans de multiples processus biologiques, notamment la minéralisation osseuse, la signalisation cellulaire, la production d'énergie et l'équilibre acido-basique (Dror & Allen, 2018).

La teneur du lait maternel humain en phosphore est aussi relativement faible : 124 mg/L en moyenne, qui est absorbé le plus efficacement par le nourrisson (Beaudry & Chiasson, 2006).

Les concentrations de phosphore du lait maternel sont faibles par rapport au lait d'autres mammifères, peut-être en tant que mécanisme pour inhiber la croissance d'agents pathogènes fécaux, pour protéger le système rénal du nouveau-né immature contre les perturbations du métabolisme du calcium ou pour prévenir l'acidose métabolique (Dror & Allen, 2018).

Il existe sous forme de phosphates organiques et inorganiques dans tous les tissus et fluides, est essentiel à de nombreux composants de l'organisme, notamment les lipides, les protéines, les glucides et les acides nucléiques, et joue également un rôle important dans le métabolisme (Guo & Hendricks, 2008).

Les besoins en phosphore qui interviennent dans la constitution de l'os. Le phosphore bien absorbé. Il n'y a que peu ou pas d'excrétion urinaire de phosphore et la rétention a été environ 25 mg / kg / jour. La supplémentation en phosphore est nécessaire pour le lait maternel, la supplémentation en phosphore doit être augmentée (Meisse, 2019; Salle, Senterre, Glorieux, & Putet, 1988).

II.2. Les oligo-éléments : Importance et apports nutritionnels conseillés :

Dans le lait maternel, la plupart des oligo-éléments sont liés à des protéines spécifiques qui peuvent expliquer une biodisponibilité plus élevée dans le lait maternel que d'autres types d'apports alimentaires (Taufek & Hidayah, 2017).

II.2.1. Le fer :

Le fer est un minéral essentiel pour des activités spécifiques dans l'organisme, et constitue essentiel des enzymes impliquées dans l'oxydation biologique. Il agit comme cofacteur dans le transport des enzymes (principalement celles actives dans le métabolisme des lipides), et joue un rôle crucial dans le maintien du système immunitaire (Farias et *al*., 2020; Maru et *al.*, 2013).

De plus, le fer est un élément essentiel pour une croissance idéale en cas de stress oxydatif. C'est un élément important pour la synthèse de l'hémoglobine (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017; Kılıç Altun et al., 2018), il est également essentiel dans le transport de l'oxygène et la production d'érythrocytes, si l'anémie survient au cours de la première année de vie, des études démontrent que le retard de la parole est possible. Le fer aide à prévenir l'anémie du nouveau-né (Farias et al., 2020; Shah & Alhawaj, 2019).

Le fer étant essentiel à la myélinisation, la transmission dans ces systèmes de capteurs est affectée par la manque de ce minéral, ce qui peut entraîner un retard de développement, une baisse des performances scolaires, des comportements troubles (Farias et *al*., 2020).

Néanmoins, il a été démontré que les bébés ont la capacité de réguler l'absorption du fer lorsque les réserves de fer diminuent. Cette capacité rend les bébés plus résistants à la carence en fer. En outre, la carence pendant la grossesse, des réserves de fer réduites se produisent également à la naissance et le lait maternel peut être pauvre en ce minéral (Farias et *al*., 2020; Sánchez et *al*., 2020).

- **Apports nutritionnels conseillés en fer**

L'apport moyen enfer du lait maternel 0,3 mg par jour pour une concentration de 0,35 mg/L et un apport de 800 ml/jour) est généralement suffisant pour assurer que le statut en fer au premier semestre de la vie reste dans une fourchette saine (Sánchez et *al*., 2020).

Les nourrissons naissent avec un apport suffisant de fer et de cuivre dans le foie, en raison des faibles concentrations de ces éléments situés dans la LM (Kılıç Altun et *al*., 2018).

II.2.2. Le cuivre :

Le cuivre est nécessaire à la croissance et à la formation des gaines osseuses et myélinique du système nerveux(Maru et *al*., 2013). Au cours des 4 premiers mois de lactation, la concentration de cuivre dans le lait humain diminue graduellement et reste stable jusqu'au 12e mois. Dans le lait mature, les concentrations de cuivre varient de 0,1 à 0,6 mg / L (Medicine et *al*., 1991) .

La distribution du cuivre dans le lait maternel a été caractérisée comme suit : 15 % dans la fraction grasse, 56 % liés à l'albumine et le reste lié à la caséine et au citrate (Taufek & Hidayah, 2017).

Le cuivre est nécessaire à l'utilisation du fer et est un cofacteur pour les enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose, ainsi que dans la synthèse de l'hémoglobine, des phospholipides et du tissu conjonctif (Guo & Hendricks, 2008).

- **Apports nutritionnels conseillés en cuivre**

L'apport maternel de Cu ne semble pas influencer les concentrations de Cu dans le lait. Ainsi, il semble raisonnable que la concentration en Cu dans le lait maternel soit régulée. La carence en cuivre est rare sauf en cas de malnutrition sévère (Björklund et al., 2012; Guo & Hendricks, 2008).

II.2.3. Le zinc :

Le zinc est un minéral essentiel pour l'organisme. Il est considéré comme un oligoélément, dont environ 90% est localisé dans les os et les muscles du squelette, étant absorbé dans l'intestin grêle (Farias et *al*., 2020).

La distribution du zinc dans le lait maternel a été caractérisée comme suit : 29 % dans la fraction lipidique, 14 % associé à la caséine, 28 % de protéines de lactosérum, 29 % de composé de faible poids moléculaire (sous forme de citrate). Le zinc lié à la caséine « protéines du lait maternel » est plus facilement digestible (Taufek & Hidayah, 2017).

Le zinc fonctionne comme un cofacteur et est un constituant de nombreuses enzymes. les principaux rôles du zinc semblent être dans la réplication cellulaire et l'expression génique, ainsi que dans le métabolisme des acides nucléiques et des acides aminés (Maru et *al*., 2013).

La carence en zinc chez les nourrissons entraîne un retard de croissance et une fonction immunitaire compromise, avec une morbidité et une mortalité accrues dues à la diarrhée et aux infections respiratoires. La carence en zinc dans les premiers jours de la vie est réduite naturellement fonctions barrières de la peau et des muqueuses. Il a également des effets délétères sur le système immunitaire, favorisant pathologies liées à la peau, aux poumons et au tractus gastro-intestinal pouvant persister jusqu'à l'âge adulte (Dror & Allen, 2018; Farias et al., 2020).

- **Apports nutritionnels conseillés en zinc**

La recommandation pour les enfants allaités est de 3 mg/jour (Farias et *al*., 2020). La concentration moyenne de zinc rapportée dans le LM était comprise entre 1,24 et 20 mg/L, le transfert quotidien moyen de zinc au nourrisson via le lait maternel est de 4 mg dans le colostrum, 1,75 mg à 1 mois et 0,7 mg à 6 mois. Les concentrations de zinc dans le lait maternel sont réfractaires au statut maternel (Dror & Allen, 2018; Kılıç Altun et al., 2018).

II.2.4. L'iode :

Le lait maternel est, pendant les 6 premiers mois de la vie d'un nouveau-né, la seule source d'iode disponible. Les nourrissons allaités dépendent de l'iode du lait maternel pour répondre à leurs besoins physiologiques, qui, à leur tour, dépendent du statut en iode de la mère, ainsi que d'autres facteurs (Farias et *al*., 2020; Sánchez et *al*., 2020).

Ce minéral est un composant important des hormones thyroïdiennes tri-iode-thyronine (T3) et la thyroxine (T4), qui régule différents processus biologiques, agissant notamment sur la

glande thyroïde et le système immunitaire. De plus, une carence en iode peut entraîner un stress oxydatif (Farias et *al*., 2020).

Les recommandations d'iode pour une production adéquate de T4 sont variables selon au sexe et au groupe d'âge. La carence en iode au cours des premières années de la vie d'un enfant provoque des changements dans le développement du cerveau qui peut conduire à une activité mentale réduite, Il existe des études qui associent également la carence de ce minéral à l'autisme et au trouble déficitaire de l'attention et hyperactivité chez les enfants (Farias et *al*., 2020).

Un apport en iode de 90 µg par jour convient à la plupart des enfants au cours de la première moitié de l'année de vie (Sánchez et *al*., 2020).

II.2.5. Le sélénium :

Les nourrissons humains naissent avec des réserves de sélénium mais dépendent également du sélénium fourni par le lait de leur mère. Dans le lait maternel, le sélénium est présent en tant que composant du puissant antioxydant glutathion peroxydase qui fonctionne dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes, qui sont tous deux essentiels au développement précoce (Dror & Allen, 2018).

Une large gamme de concentrations de sélénium a été observée dans le lait maternel, en fonction de la quantité de sélénium consommée par la mère à partir d'aliments naturels (Sánchez et *al*., 2020).

Le sélénium est présent en plus grande quantité dans le colostrum que dans le lait suivant, la concentration de ce minéral dans le lait maternel est suffisante pour répondre aux besoins du bébé (né à terme ou prématuré). Après la période d'allaitement exclusif, il est nécessaire d'introduire des sources alimentaires de ce minéral (Farias et *al*., 2020).

- **Apports nutritionnels conseillés en sélénium**

L’apport moyen de 12,5 µg par jour de sélénium dans le lait maternel (c'est-à-dire 16 µg/L × 0,8 L) convient à la plupart des nourrissons au cours du premier semestre de leur vie. L'apport alimentaire en sélénium organique, qui reflète la teneur en sélénium des sols où les aliments sont cultivés , est un déterminant clé des concentrations de sélénium dans le lait maternel et explique la large gamme de concentrations de sélénium dans le lait maternel dans les régions géographiques (Dror & Allen, 2018; Sánchez et al., 2020).

II.3. Les Vitamines : L’importance et l’apport nutritionnel :

II.3.1. Les vitamines liposolubles A, D, E, K :

- **La vitamine A**

Les rétinols sont stockés dans le foie fœtal en fin de gestation. Le placenta régule le passage d'une quantité suffisante de vitamine A de la mère au fœtus pour répondre aux besoins physiologiques mais pas pour constituer une réserve corporelle substantielle. Après la naissance, la vitamine A est transférée au nourrisson par le lait maternel (Butte, Lopez-Alarcon, & Garza, 2002).

Une quantité adéquate de rétinol dans le lait maternel est essentielle pour assurer une croissance et un développement sains du nourrisson et pour accumuler les réserves hépatiques nécessaires après le sevrage De plus, il est nécessaire pour protéger les yeux et former l'épithélium (Dror & Allen, 2018; Shah & Alhawaj, 2019).

Le lait mature de mères bien nourries contient environ 1,7 mol/l de vitamine A. une faible concentration de vitamine A dans le lait maternel suggère des réserves hépatiques insuffisantes en plus d'un apport insuffisant. La supplémentation maternelle avec des mégadoses de 200 000 à 400 000 UI de vitamine A au cours de la première semaine après la naissance a entraîné une augmentation des concentrations de rétinol dans le lait maternel (Butte et al., 2002; Dror & Allen, 2018).

- **La vitamine D**

Le lait maternel humain contient des quantités adéquates de la plupart des vitamines pour soutenir la croissance normale du nourrisson, à l'exception des vitamines D et K. (Kim & Yi, 2020; Martin et al., 2016)et nécessitent une supplémentation externe.(Shah & Alhawaj, 2019).

La majeure partie de la vitamine D provient d'une synthèse endogène àpartir du cholestérol sous l'effet des rayons solaires, le reste étant apporté par l'alimentation. Elle est nécessaire à la minéralisation du squelette et à l'absorption du calcium au niveau intestinal (Lescure, 2014).

Elle joue un rôle important dans le développement du cerveau, induisant le facteur de croissance nerveuse (NGF), favorisant la croissance des neurites et inhibant l'apoptose neuronale dans l'hippocampe. Les niveaux de vitamine D, quel que soit le régime alimentaire maternel, sont faibles(Chiurazzi et *al*., 2021).

- **La vitamine E**

La vitamine E est un antioxydant, agissant comme un piégeur de radicaux libres et protégeant contre la peroxydation des PUFA dans les membranes cellulaires, est nécessaire

pour assurer l'intégrité musculaire et la résistance des érythrocytes à l'hémolyse (Beaudry & Chiasson, 2006; Guo & Hendricks, 2008).

La teneur en vitamine E du lait maternel est adéquate pour un nourrisson à terme, elle dépend de nombreux facteurs, y compris les variations individuelles, le stade de lactation et les quantités de vitamine E alimentaire maternelle. La supplémentation maternelle en α-tocophérol, à la fois naturel et synthétique, immédiatement après l'accouchement a augmenté de manière significative les concentrations d'α-tocophérol dans le colostrum 24 h plus tard (Dror & Allen, 2018; Guo & Hendricks, 2008).

- **La vitamine K**

La vitamine K est nécessaire à la coagulation. Elle provient de l'alimentation et de la synthèse par la flore bactérienne colique et par le foie. Chez le nouveau-né, une supplémentation en vitamine K est indispensable afin d'éviter tout risque hémorragique (Lescure, 2014).

II.3.2. Les vitamines hydrosolubles :

- **La vitamine C**

Les vitamines antioxydants du lait maternel jouent un rôle important dans l'immuno-modulation. La vitamine C stimule les leucocytes, augmente la production d'anticorps et améliore la synthèse des interférons. La vitamine C joue un rôle important dans le développement des neurones par leur maturation et différenciation, et dans la formation de la myéline (Chiurazzi et al., 2021; Dror & Allen, 2018).

Pendant les six premiers mois, la teneur moyenne en vitamine C du laitde mères varie de 45 à 115 mg/L, les nourrissons allaités exclusivement sont bien protégés d'une carence en vitamine C, car elle est relativement abondante dans l'alimentation des Occidentaux(Beaudry & Chiasson, 2006).

- **Vitamines du complexe B**

La concentration de thiamine (B1) est faible dans le colostrum : elle se chiffre à environ 0,01 µg/l ; elle passe à environ 0,21 mg/l dans le lait mature. La concentration de riboflavine (B2) augmente pendant les premières semaines (Beaudry & Chiasson, 2006).

La vitamine B-6 est un cofacteur essentiel pour plus de 100 enzymes impliquées dans le métabolisme des acides aminés, la glycolyse et la gluconéogenèse. La vitamine B-6, en

particulier sous forme de pyridoxal, augmente dans les premières semaines après l'accouchement, suivie d'une baisse progressive en fin de lactation ; après l'âge de 6 mois, une supplémentation en vitamine B-6 est nécessaire car la concentration dans le lait maternel semble insuffisante pour les besoins en vitamine B-6 des nourrissons. La carence en vitamine B-6 est associée à des anomalies neurologiques et comportementales (Chiurazzi et *al*., 2021).

La vitamine B-12 joue un rôle fondamental dans la préservation de la gaine de myéline autour des neurones et la synthèse des neurotransmetteurs, et sa carence peut endommager la gaine de myéline conduisant à des syndromes tels que la myélopathie, la neuropathie et les troubles neuropsychiatriques (Chiurazzi et *al*., 2021).

II.3.3. Apports nutritionnels conseillés en vitamines :

Généralement, les besoins humains sont inférieurs à 100 mg/jour, comme avec les vitamines essentielles en microgrammes (µg) ou en milligrammes (mg), alors que les macronutriments sont nécessaires en quantités plus élevées (g/jour) (Farias et *al*., 2020).

Concernant l'apport en vitamines liposolubles (A, D, E et K), l'allaitement permet découvrir sans problème les besoins en vitamine A nécessaire à la vision et à l'intégrité musculaire et en vitamine E permettant la résistance des globules rouges à l'hémolyse (Lescure, 2014).

Les nourrissons exclusivement allaités reçoivent un apport alimentaire en vitamine D inférieur à l'apport alimentaire recommandé. Ces nourrissons sont à risque de carence en vitamine D, de minéralisation osseuse inadéquate et d'affections comme le rachitisme. L'exposition au soleil et la supplémentation en vitamine D sont recommandées pour les nourrissons allaités, les apports recommandés sont de 800 à 1000 UI/j soit 20-25 µg/j.Plus particulièrement on administre de la vitamine K par voie intramusculaire ou per os chez tous les bébés à la naissance(Lescure, 2014; Martin et *al*., 2016).

Les nourrissons allaités peuvent recevoir de la vitamine D à partir du LM synthétisé par l'exposition au soleil chez les mères allaitantes ou stocké pendant la grossesse. Cependant, la vitamine D stockée est rapidement épuisée chez les nourrissons.

La Korean Nutritional Society et l'American Academy of Pediatrics recommandent aux mères allaitantes et aux nourrissons de prendre des suppléments de vitamine D de 200 à 400 UI par jour en doses d'entretien et de 2 000 UI/jour en cas de carence (Kim & Yi, 2020).

Il reste néanmoins nécessaire d'assurer une complémentation médicamenteuse avec 400-800 UI/j, aussi bien doivent êtres supplémentés d'une ampoule de 5 mg de vitamine K1 pour

les nourrissons nourris au sein toutes les semaines jusqu'à l'introduction d'une alimentation variée (Lescure, 2014).

III. La digestion des macronutriments du lait maternel :

III.1. Lipolyse et oxydation des lipides du lait maternel :

L'hydrolyse des graisses du lait maternel semble générer des acides gras et des mono glycérides aux propriétés antivirales. Ce processus peut être catalysé par les propres lipases du nourrisson ainsi que par l'action de la lipase. La lipase présente dans le lait aide le nouveau-né à digérer les lipides stimulée par les sels biliaires du lait maternel dans le tube digestif du nourrisson (Le Huërou-Luron, 2011; Medicine et *al*., 1991).

Le lait maternel contient principalement deux types de lipases responsables de la lipolyse, la lipase stimulée par les sels biliaires (BSSL) et la lipoprotéine lipase (LPL). La lipase stimulée par les sels biliaires présente dans le lait maternel aide à la digestion complète des graisses dans l'intestin grêle (Shah & Alhawaj, 2019).

La BSSL est la principale lipase présente dans le lait maternel (1 à 2 % des protéines totales), c'est un carboxyle ester lipase qui non seulement catalyse l'hydrolyse des TG, mais rompt également la liaison entre l'acide palmitique et le glycérol. Bien que la LPL soit également active dans le lait maternel, elle présente une activité beaucoup plus faible que la BSSL (Meng et *al*., 2021).

Cependant, la BSSL conserve son activité pendant le stockage à - 20 °C et le niveau de lipolyse a augmenté après plusieurs cycles de congélation-décongélation. Le niveau d'acides gras libres a doublé dans le lait conservé à −20 °C pendant 8 semaines (Penn et *al*., 2014).

III.2. La digestion des glucides et l'effet des HMO du lait maternel dans l'intestin :

Si l'intestin grêle ne produit pas assez d'une enzyme (lactase), de nombreux composés bioactifs à base de glucides de lait maternel, tels que des oligosaccharides, sont fixés au lactose pour digérer un complexe de sucre (Martin et *al*., 2016).

Par conséquent, ils peuvent atteindre le gros intestin pour servir de substrats au métabolisme bactérien . Ils préviennent les infections gastro-intestinales **(Fig. 14),** en agissant comme leurs récepteurs (Morozov et *al*., 2018).

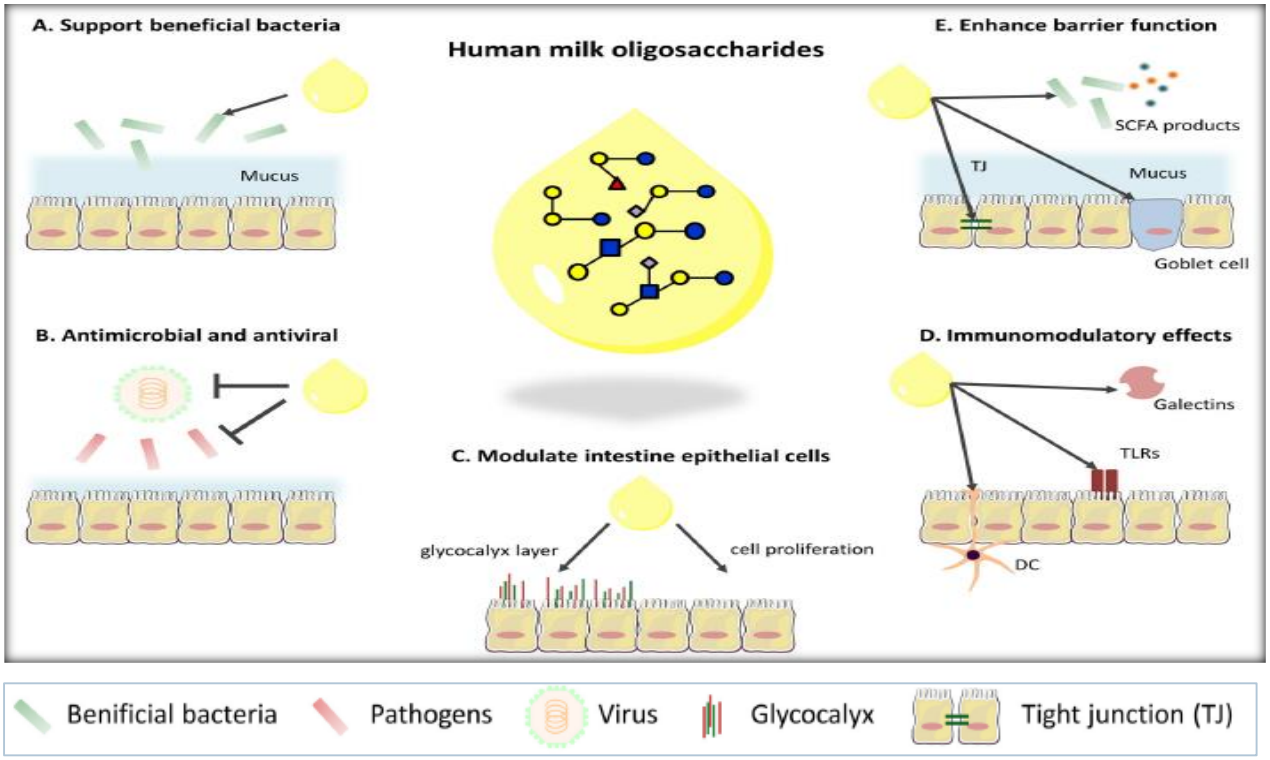


Fig.14 : Les fonctions des HMO dans l'intestin.

(A) Favoriser la croissance et la colonisation des bactéries bénéfiques. **(B)** Antimicrobiens et antiviraux effets en servant de leurre pour les agents pathogènes et/ou en inhibant la croissance des agents pathogènes. **(C)** Exercer une influence directe sur les cellules épithéliales intestinales en améliorant la fonction de barrière. **(D)** Effets immuno modulateurs. **(E)** Effets sur la fonction de barrière intestinale (Cheng et *al.*, 2021).

III.3. Protéolyse enzymatique du lait maternel :

Cela est possible grâce aux structures protéiques du lait, aux enzymes présentes et à la capacité du nourrisson à activer ces enzymes à des endroits et à des moments précis.

Après consommation, les protéases indigènes du lait maternel, associées aux protéases infantiles, produisent des peptides dans tout le tractus gastro-intestinal, ce qui peut être considéré comme compensant le faible niveau d'acide gastrique et l'activité protéasique des nouveau-nés (Dallas & German, 2017).

Le lait maternel contient un mélange de protéases, de zymogènes (précurseurs de protéases), d'activateurs de protéases et d'inhibiteurs de protéases, y compris des composants de divers systèmes protéolytique, notamment la plasmine, la cathepsine, l'élastase, la kalikréine et les systèmes amino et carboxypeptidase (Dallas & German, 2017; Meng et al., 2021).

La spécificité et la reproductibilité de la digestion des protéines du lait fournissent des preuves convaincantes d'un système protéolytique actif complexe mais contrôlé. L'origine de

cette protéolyse a commencé par l'hydrolyse des protéines spécifiques du lait dans la glande mammaire elle-même.

Une fois atteint l'estomac du nourrisson, la protéolyse et la libération de peptides continuent de montrer une sélectivité protéique et une spécificité de liaison considérables. Étonnamment, ce ne sont pas des enzymes du nourrisson, mais plutôt des enzymes du lait lui-même (voir Fig.6). Les enzymes présentes dans le lait contribuent au moment, à la sélectivité, aux produits intermédiaires et au succès global de la digestion des protéines dans l'estomac et l'intestin du nourrisson (Dallas & German, 2017).

- **La digestion des protéines bioactives du lait maternel et la maturation intestinale**

De nombreux facteurs présents dans le lait humain favorisent la maturation de l'intestin en accélérant la diminution postnatale de la perméabilité. En effet, la présence de protéines, et donc de structures antigéniques, dans la lumière du tube digestif est indispensable à la maturation du système immunitaire intestinal.

Pour agir dans le tube digestif du nouveau-né, les protéines bioactives doivent résister totalement ou partiellement à la digestion par les enzymes protéolytiques. Le pH gastrique de l'ordre de 3 à 5 chez le nouveau-né, comparé au pH de 1-2 chez l'adulte, est relativement moins favorable à une déstructuration rapide des protéines et à l'action de la pepsine dans l'estomac.

Le lait de femme contient une large variété de protéines qui présentent de multiples activités biologiques qui peuvent moduler la digestion, le développement structural des muqueuses, la maturation du système immunitaire, la colonisation du tube digestif par le micro-biote (Le Huërou-Luron, 2011).

Chapitre III

I. Variations de la composition du lait maternel :

La composition de LM est très dynamique, et varie en fonction de divers facteurs liés à la mère, au nourrisson, et peut varier entre les mères et pour une mère au cours des différents stades de la lactation. Il est affecté par divers facteurs tels que l'alimentation maternelle, les conditions socio-économiques, le moment de l'accouchement, à la physiologie, et par des facteurs génétiques (Galante et *al*., 2018; Kılıç Altun et *al*., 2018).

Les composantes du lait maternel humain, et les facteurs qui les influencent et les mécanismes biologiques par lesquels le lait maternel affecte la santé mère/nourrissons **(Fig.15)**.Tous ces facteurs se sont combinés pour créer une interaction à plusieurs niveaux qui relie la teneur en macro-micronutriments du lait maternel aux variables maternelles qui influencent et sont influencées par la suite par des facteurs démographiques et environnementaux et les résultats de croissance du nourrisson (Bzikowska-Jura et al., 2020; Stam, Sauer, & Boehm, 2013).

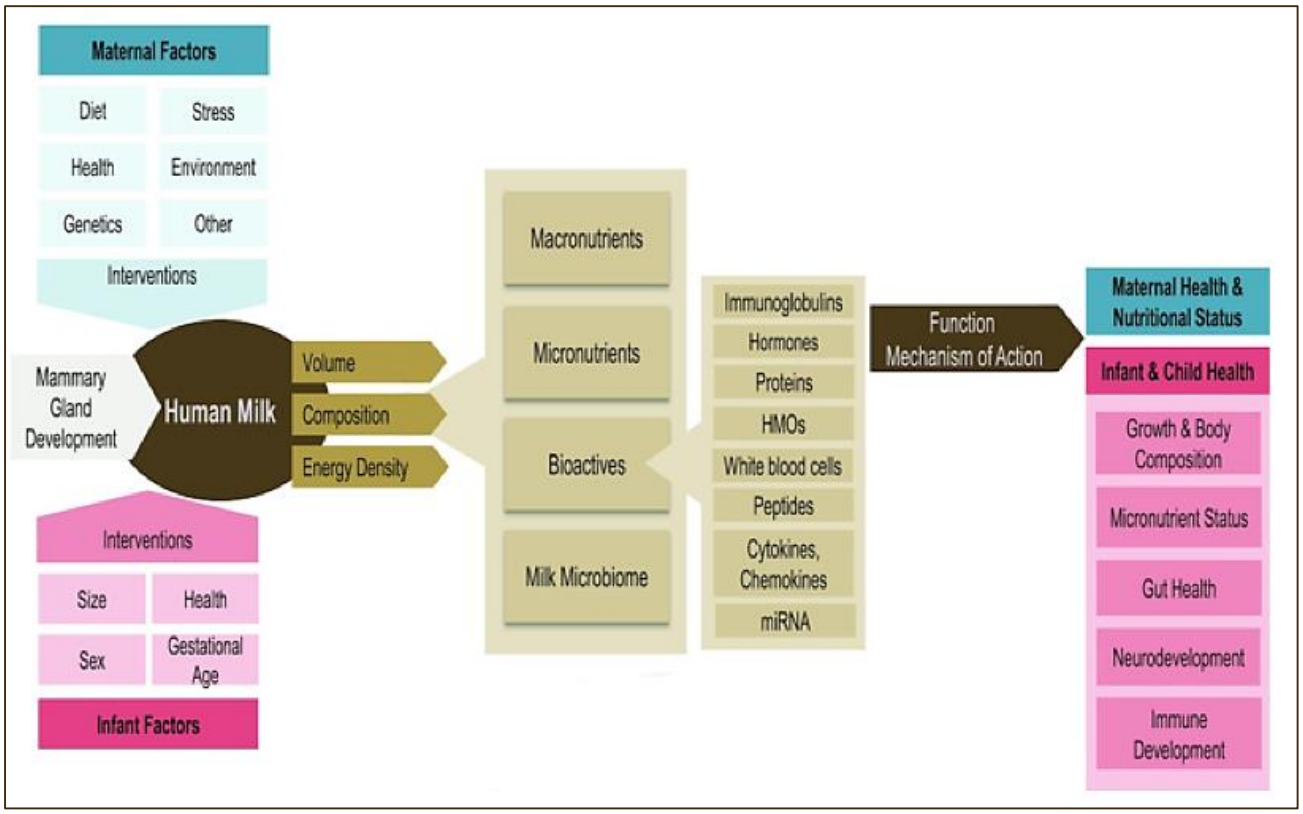


Fig.15: Facteurs infantiles et maternels influents la composition du lait maternel (Christian et *al*., 2021).

La triade mère-lait-nourrisson est un système interconnecté dans lequel l'alimentation et le mode de vie maternels peuvent avoir des effets sur la santé du nourrisson (Verduci et *al*., 2021).

I.1. Variations de la composition du lait maternel au cours des différents stades de la lactation :

La composition de LM change notamment au cours du colostrum au lait mature, avec l'intermédiaire du lait de transition, au fur et à mesure de la lactation(Galante et *al*., 2018).

I.1.1. Le colostrum : la première semaine post-partum :

Les cellules alvéolaires du sein commencent à sécréter du colostrum entre la douzième et la seizième semaine de grossesse : C'est ce qu'on appelle la lactogènes I.

La lactation est classiquement connue pour avoir trois phases, la première étant représentée par le colostrum, produit au cours des cinq premiers jours suivant l'accouchement. Le colostrum diffère du lait maternel mature par ses caractéristiques physiques et sa composition (Medicine et *al*., 1991; Santiago et *al*., 2018).

Le colostrum est un liquide épais, blanc jaunâtre, sécrété en petites quantités (environ 30 à 60 ml/jour), qui peut être extrait du sein au cours du troisième trimestre de grossesse (Bryant & Thistle, 2020; Shah & Alhawaj, 2019).

Le colostrum contient plus de protéines et moins de glucides et de lipides que le lait maternel mature. Sa richesse en protéines et son faible taux de lipides sont adaptés aux besoins nutritionnels du nouveau-né (Bryant & Thistle, 2020; Lescure, 2014).

En effet, le colostrum contient de nombreux composants immunologiques, il est riche en immunoglobulines sécrétoires A (IgA), qui aident à protéger le nourrisson contre les infections(Golan & Assaraf, 2020).Les leucocytes prédominants dans le colostrum du LM sont les macrophages (40 à 50 %), suivis des polynucléaires neutrophiles (40 à 50 %) et des lymphocytes (5 à 10 %), une caractéristique clé du colostrum est la présence d'une abondance d'anticorps produits par les lymphocytes (Alex et *al*., 2020; Cheng et *al*., 2021).

Le colostrum contient une proportion plus élevée de minéraux et de vitamines liposolubles (A, E et K) que le lait maternel mature. Le fer, le cuivre et le zinc, ont été identifiés dans le LM, dont la plupart sont abondants dans le colostrum et diminuent à mesure que la lactation progresse.

Les variations des éléments minéraux du lait au cours de la lactation sont attribuées à des phénomènes de régulation de transfert des minéraux du sérum au lait : régulation définie

génétiquement ou régie par le potentiel minéral de l'organisme (Joseph & Pondi, 1991; Kim & Yi, 2020).

Le colostrum aide également à établir un microbiome intestinal normal chez le nourrisson. L'intestin étant considéré comme « stérile » à la naissance (Bryant & Thistle, 2020; Chiurazzi et al., 2021).

I.1.2. Le lait de transition :

La lactogènes II est souvent appelée lait de transition, du 7e au 14e jour, la mère sécrète du lait de transition, peut être surveillé par des changements dans la composition et le volume du lait chez les femmes (Neville et al., 2001; Shah & Alhawaj, 2019).

Le colostrum sera remplacé progressivement par le lait de transition qui partage certaines caractéristiques du colostrum et soutient la croissance et le développement des nourrissons (Mosca & Giannì, 2017).

Ce lait passe progressivement du colostrum au lait mature. La quantité de lait augmente rapidement. Les immunoglobulines et les protéines diminuent et le lactose, les graisses et les calories augmentent (Bryant & Thistle, 2020).

I.1.3. Le lait mature :

La lactogènese III est un lait mature (mûr : après 21 jours post-partum) remplace le lait de transition. Ce lait est plus blanc bleuâtre et moins épais présente également une variabilité, mais dans une mesure beaucoup plus faible qu'au début de la lactation.

Le lait mature contient des nutriments spécifiques pour répondre aux besoins du nourrisson en pleine croissance mais continue d'avoir des immunoglobulines et d'autres composants antibactériens (Bryant & Thistle, 2020; Medicine et al., 1991).

La composition du lait maternel mature est assez constante, variant légèrement pour la plupart des composants au stade de la lactation, contient un pourcentage plus élevé de glucides (Neville, 2001; Shah & Alhawaj, 2019).

I.2. Les variations de la composition du lait maternel au cours de la tétée :

L'acte physique de téter, avec ses modifications dynamiques de la pression intra-canalaire dans la glande mammaire, a des implications sur la composition du lait maternel(Christian et *al*., 2021).

Au début de la tétée, le lait est très dilué, il calme la soif du nouveau-né, le lait a alors comme fonction d'hydrater le nourrisson. La proportion d'eau varie au cours de la tétée, le lait est enrichi en lactose, et en sels minéraux, ce qui correspond à une faible densité énergétique (40 kcal/100ml) (Aspar, 2000; Meisse, 2019).

Le lait maternel peut être divisé en un premier lait gris bleuté, qui contient moins de matières grasses, et un arrière-lait blanc crémeux est sécrété au cours et vers la fin d'une tétée. Le lait s'enrichit progressivement en micelles de caséines et en lipides en fin de tétée, et gagne donc une densité énergétique (400 kcal/100ml) pour fournir la nutrition riche en calories dont un bébé a besoin. Il permet alors de combler les besoins du nourrisson et d'établir une sensation de satiété (Meisse, 2019; Shah & Alhawaj, 2019).

I.3. Les facteurs infantiles influant la composition du lait maternel

Les mères produisant la meilleure nourriture pour leurs nourrissons et la composition du lait peuvent varier en fonction de l'âge du nourrisson , du sexe ,de l'état de santé,… etc (Golan & Assaraf, 2020).

I.3.1. Différences entre les sexes du nourrisson dans la nutrition et le métabolisme

Le lait maternel (LM) est un système dynamique influencé par différents facteurs tels que le sexe du nourrisson. Chez les nourrissons allaités, certaines preuves suggèrent que la qualité et la quantité de lait qu'une mère produit ou qu'un nourrisson absorbe peuvent varier entre les nourrissons de sexe masculin et de sexe féminin (Hosseini et *al*., 2020; Thurstans et *al*., 2022).

Des études récentes montrent que la composition en macronutriments du lait humain peut également être adaptée au sexe. Le sexe du nourrisson peut également être l'un des déterminants de la composition de LM (Bzikowska-Jura et *al*., 2020; Samuel et *al*., 2020).

Bien que les mécanismes de la synthèse du lait spécifique au sexe n'aient pas encore été parfaitement clarifiés, certains mécanismes et facteurs pourraient être d'une grande importance. Il a été rapporté que les glandes mammaires maternelles peuvent être affectées avant la naissance par des facteurs fœtaux différents chez les fœtus mâles et femelles.

Les différences biologiques entre les sexes sont apparentes dès le début de la grossesse, déterminé par un ensemble différent de gènes et par une réactivité différente aux stimuli environnementaux, y compris le régime alimentaire. Les taux de croissance sont différents entre les nourrissons mâles et femelles, leurs besoins nutritionnels seraient également différents (Alur, 2019; Comitato, Saba, Turrini, Arganini, & Virgili, 2015).

Comparativement aux garçons, les filles étaient caractérisées comme plus patientes, moins exigeantes, nécessitant moins de temps pour allaiter et nécessitant moins de nourriture complémentaire. Les mères ont également perçu que les garçons vidaient le sein plus rapidement et complètement que les filles et demandaient le sein plus souvent. De même, une étude ont constaté que les mères ont déclaré que les nourrissons de sexe masculin avaient plus faim et n'étaient pas aussi satisfaits de l'allaitement seul que les filles (Thurstans et al., 2022; Tumilowicz, Habicht, Pelto, & Pelletier, 2015).

Enfin, les croyances fondées sur le sexe déterminent les pratiques d'allaitement et d'alimentation complémentaire ; Après la première moitié de la petite enfance, les avantages de l'allaitement maternel exclusif sont contrebalancés par un déficit nutritionnel croissant chez les filles par rapport aux garçons. À partir de 6 mois, les filles et les garçons ont besoin d'aliments pour compléter le lait maternel (Tumilowicz et *al*., 2015).

La synthèse du lait maternel spécifique au sexe et les soins nutritionnels en début de vie peuvent être nécessaires pour maintenir les deux sexes en bonne santé et les protéger contre les complications qui peuvent survenir tôt dans la vie (Hosseini et *al*., 2020).

I.3.2. Facteurs infantiles affectant la production et le transfert de lait maternel :

Les caractéristiques du nourrisson qui peuvent influencer le volume de lait telles que le poids à la naissance, la force de succion, l'âge gestationnel à l'accouchement et la maladie. La réussite de la lactation dépend de plusieurs facteurs, tels que le positionnement correct du nourrisson au sein, les tétées fréquentes (Medicine et *al*., 1991).

Un nouveau-né peut avoir besoin d'être allaité toutes les 1 à 3 heures pendant 10 à 20 minutes en moyenne. Cependant, la fréquence et la durée des séances d'allaitement diminuent à mesure que l'enfant grandit (Shah & Alhawaj, 2019).

I.4. Impact des facteurs maternels sur la variation de la composition du lait maternel :

La composition du lait maternel peut varier en fonction de la santé et de l'alimentation de la mère, de l'âge gestationnel. De plus, il peut varier selon la physiologie de la glande mammaire, et de nombreux autres facteurs environnementaux (Kim & Yi, 2020; Shah & Alhawaj, 2019).

I.4. 1. Impact de l'IMC maternel sur la composition du lait maternel :

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit le surpoids comme un indice de masse corporelle (IMC) supérieur ou égal à 25 kg/m ^{2} et l'obésité comme un IMC égal ou supérieur à 30 kg/m ^{2}.

L'état métabolique de la mère (p. ex. IMC) a une influence importante sur la composition du lait maternel. L'obésité maternelle a été associée à des changements dans la concentration en macronutriments du lait maternel (ML), qui ont le potentiel de favoriser la prise de poids et d'augmenter le risque à long terme d'obésité chez le nourrisson (Berger, Plows, Demerath, & Fields, 2020a; Leghi et al., 2020).

En effet, une revue systématique récente a mis en évidence une association entre l'obésité ou le surpoids maternel et la concentration de graisse et de lactose dans le lait maternel en fonction des différents stades de lactation (Medicine et *al*., 1991).

Il a déjà été démontré que les mères ayant un indice de masse corporelle (IMC) plus élevé, utilisées comme mesure indirecte du pourcentage de graisse corporelle, produisent du lait plus riche en matières grasses, mais il n'y a pas d'association inter-populationnelle entre l'IMC et l'énergie du lait pour les mères ayant un IMC normal (>18.5). Des études ont démontré que les changements aigus de l'IMC maternel ont relativement peu d'effet sur la teneur en macronutriments du lait maternel (Gruca, 2017).

Concernant les caractéristiques anthropométriques maternelles (IMC), les concentrations en Na plus élevées chez les femmes ayant un IMC supérieur ou égal à 25. Ce fait peut potentiellement s'expliquer par la prise en compte d'un éventuel échec de lactation prolongée (plus de 12 mois) (Sánchez et *al.*, 2020).

I.4.2. Santé maternelle :

De nombreux facteurs peuvent affecter la production de lait maternel, une mauvaise santé maternelle telle que des anomalies dans le tissu mammaire, des produits fœtaux retenus in utero, des infections des voies urinaires chez la mère et de mauvaises habitudes alimentaires.

L'optimisation de l'état de santé de la mère aide à obtenir une alimentation optimale, la composition du colostrum peut être modifiée par des affections maternelles telles que le diabète et l'anémie (Shah & Alhawaj, 2019).

De plus, l'inflammation systémique liée à l'obésité peut également être associée à un état inflammatoire de la glande mammaire marqué par une augmentation des cytokines pro-inflammatoires dans le lait et des perturbations du métabolisme du zinc et de la synthèse des lipides(Christian et *al*., 2021).

I.4.3. L'état nutritionnel de la mère :

A. Quantité du lait :

La nutrition reçue par les nourrissons allaités ne dépend pas de l'état du métabolisme maternel. Pour la plupart des composants du lait, les mécanismes de sécrétion sont isolés des mécanismes de régulation qui contrôlent le flux de nutriments chez les mères, de sorte qu'une quantité suffisante de lait de composition adéquate est disponible pour les nourrissons même en cas d'apport alimentaire inadéquat par les mères (Neville, 2001).

Cependant, en cas de malnutrition extrême, le volume de lait maternel peut être considérablement réduit ou un arrêt complet de la lactation peut survenir, ce qui peut finalement être fatal pour le nourrisson dans les communautés pauvres, où l'alimentation alternative peut ne pas être disponible. Ceci est particulièrement pertinent compte tenu, l'alimentation maternelle est un facteur important qui influence le volume et la composition de LM (Gruca, 2017; Samuel et *al*., 2020).

B. Qualité du lait

Les modifications du régime alimentaire maternel ont une influence significative sur la composition en macronutriments de LM, en particulier au sein de la fraction lipidique, le régime alimentaire de la mère a une influence importante sur la composition lipidique(Galante et *al*., 2020).

La teneur en matières grasses varie considérablement avec l'alimentation maternelle et est également associée positivement à la prise de poids pendant la grossesse ;Cependant, les mères soumises à un stress nutritionnel ou physique chronique peuvent produire du lait à faible teneur calorique(Gruca, 2017; Shah & Alhawaj, 2019).

Chez les femmes ayant subi une perte de poids post-partum, la graisse mobilisée à partir du tissu adipeux a également contribué à la graisse du lait humain indépendamment de l'apport alimentaire actuel. Une alimentation maternelle riche en glucides et pauvre en graisses est liée à des concentrations plus élevées de triglycérides à chaîne moyenne dans le lait (Medicine et *al*., 1991; Stam et *al*., 2013).

Bien que les acides gras polyinsaturés à longue chaîne du lait maternel soient des nutriments importants pour les nourrissons. La concentration d'acide arachidonique (AA) dans le lait maternel est associée de façon dose-dépendante à la consommation d'aliments riches en AA chez les mères allaitantes.

Les concentrations d'EPA et de DHA dans le lait maternel sont également étroitement liées aux apports alimentaires maternels en EPA et en DHA. Le lait maternel des femmes allaitantes consommant des régimes végétariens contient moins de 0,1% de DHA (Martin et *al.*, 2016; Nojiri et *al.*, 2020).

Le poisson et l'huile de poisson dans l'alimentation sont de bonnes sources de DHA, un mois après la naissance des taux plus faibles de DHA dans le lait de femmes n'a pas pu être compensée par la consommation alimentaire de poisson (Golan & Assaraf, 2020).

Ainsi, il n'y a aucune preuve que le régime alimentaire ou la composition corporelle influencent la concentration totale de protéine**s** du lait, même dans les communautés de femmes sous-alimentées (Medicine et *al*., 1991; Verduci et *al*., 2021).

Dans la plupart des cas, le transport des nutriments vers le lait se poursuivra même en cas de déficit maternel. Cependant, dans certains cas d'insuffisance de l'alimentation maternelle, le nourrisson peut présenter des niveaux insuffisants de micronutriments, ce qui peut être critique pour la santé du nourrisson (Golan & Assaraf, 2020).

Les concentrations de plusieurs minéraux (calcium et magnésium) et oligo-éléments (cuivre, fer et zinc) sont étroitement régulées dans le lait et largement non affectées par l'alimentation maternelle (Li et *al*., 2016).

Le lait humain est une excellente source de vitamines hydrosolubles, leur concentration est également fortement affectée par l'alimentation maternelle, et à un degré moindre, par son apport alimentaire et ses réserves tissulaires dans le cas des vitamines liposolubles.

En général, les mères qui n'ont pas un régime alimentaire suffisant peuvent être déficientes en vitamines B6, B12 et en folate, mais peuvent tout de même avoir une teneur relativement suffisante en thiamine et en riboflavine(Beaudry & Chiasson, 2006; Kim & Yi, 2020).

La concentration totale d'acide ascorbique (AA) dans le lait maternel est plus élevée dans le colostrum et diminue au cours de la lactation en fonction de la différence de statut maternel et d'apport alimentaire (Chiurazzi et *al*., 2021).

I.4.4. L'âge gestationnel : Variation du LM en fonction de la durée de la gestation :

Il existe des différences substantielles entre le lait des mères qui accouchent avant terme (accouchement prématuré) et celles qui accouchent à terme, car ses besoins varient grandement. Le lait « prématuré » est également plus riche en protéines(Beaudry & Chiasson, 2006; Medicine et al., 1991).

La teneur en matières grasses et la valeur énergétique du colostrum ne changent pas en fonction de l'âge gestationnel ou de la croissance fœtale (Santiago et *al*., 2018).

1.5. Influence de l'environnement sur la composition du lait maternel

Les variables environnementales et socioéconomiques qui expliquent la variation de la teneur en macronutriments du lait maternel comprennent :la saisonnalité, la disponibilité de la nourriture, le revenu du ménage et les pratiques culturelles entourant la garde des enfants (Gruca, 2017).

Fait intéressant, dans un environnement pauvre en ressources, le lait maternel pour les nourrissons de sexe féminin était plus riche en lipides, tandis que dans un contexte de ressources suffisantes, le lait pour les nourrissons de sexe masculin était plus riche, ce qui suggère que le sexe du nourrisson et le statut socio-économique de la mère ont montré une interaction (Samuel et *al*., 2020).

D'autres facteurs liés au mode de vie et à l'environnement qui influencent la lactation comprennent également l'exposition à des toxines et à des produits chimiques(Christian et *al*., 2021).

1.6. Facteurs physiologiques affectant la composition du lait maternel et l'allaitement :

De nombreuses variables physiologiques peuvent affecter l'allaitement et par conséquent, l'apport de colostrum. Cela peut être divisé en facteurs maternels et en facteurs infantiles.
Il a été noté que plusieurs variables physiologiques maternelles étaient en corrélation avec la teneur en macronutriments du lait maternel.

Les facteurs maternels comprennent : le pli cutané du triceps, la parité, la taille et la forme des mamelons, le développement des seins pendant la puberté et la grossesse, la plastie mammaire (réduction ou augmentation), autre chirurgie mammaire, changements fibro-kystiques, cancer du sein, obésité et problèmes médicaux concomitants chez la mère(Bryant & Thistle, 2020; Neville, 2001).

Ces variables physiologiques maternelles susmentionnées sont en outre affectées par des variables environnementales et socioéconomiques telles que la disponibilité alimentaire, le revenu du ménage, le nombre de membres au sein d'un ménage et le climat (par exemple, la saison de conception et de naissance) devraient avoir un impact négatif sur la production de lait maternel ou les macronutriments (Gruca, 2017).

Les facteurs physiologiques qui peuvent affecter l'allaitement chez le nourrisson comprennent : l'âge gestationnel à la naissance, l'ankyloglossie (cravate de langue), la fente labiale ou palatine, autres malformations physique, les infections, dysfonctionnement oro-moteur (succion anormale), et diverses maladies, telles que les cardiopathies congénitales, la fibrose kystique, les erreurs innées du métabolisme, le syndrome de malabsorption intestinale, les troubles neurologiques, les maladies rénales et les maladies thyroïdiennes (Bryant & Thistle, 2020).

I.7. Effet du temps de stockage, congélation et décongélation sur les constituants du lait maternel :

Des études par Orbach et *al* (2019) s'accordent à dire que le niveau de protéines totales est stable pendant la congélation à -20 °C. Il a été rapporté que le niveau de glucides ne changeait pas de manière significative, tandis que le niveau de graisses diminuait ou ne changeait pas de manière significative (jusqu'à 9 mois) après congélation à -20 °C ; Cependant, un niveau plus élevé de matières grasses et d'énergie a été maintenu après 4, 12 et 24 semaines à -80 °C qu'à -20 °C (Orbach, Mandel, Mangel, Marom, & Lubetzky, 2019).

Selon l'étude de Pramitasari et *al*. (2019), les différences statistiquement significatives dans la teneur en énergie et en macronutriments étaient présentes lorsque le lait maternel frais était comparé à ceux stockés (**Tableau 02**). Les différences n'ont eu aucun impact cliniquement. L'allaitement direct est fortement recommandé (Pramitasari, Sidiartha, & Pratiwi, 2019).

Tableau 02 : Analyse de la teneur en macronutriments et en énergie du lait maternel frais, réfrigéré et congelé (Pramitasari et *al*., 2019)

Contenu Lait maternel	**frais (moyenne ± ET)**	**réfrigérée (moyenne ± ET)**	**congelé (moyenne ± ET)**	**valeur de *p***
Energie (Kcal/100ml)	65.04±3.51	64.48±3.33	64.03±3.41	<0.001
Glucides (g/100ml)	6.96±0.19	6.90±0.17	6.89±0.18	<0.001
Lipides (g/100ml)	3.55±0.41	3.46±0.38	3.40±0.38	<0.001
Protéine (g/100ml)	1.14±0.19	1.09±0.18	1.07±0.18	<0.05

Cependant, le lait maternel stocké permet à une mère qui travaille de poursuivre l'allaitement exclusif pendant les six premiers mois de la vie de son bébé sans différences cliniquement pertinentes dans le contenu de l'allaitement (Pramitasari et *al*., 2019).

II. L'importance d'une lactation prolongée de l'allaitement :

Pour de nombreuses raisons, l'allaitement maternel (AM) est considéré, comme le mode d'alimentation idéal du nourrisson. Il assure les besoins nutritionnels du nouveau-né jusqu'aux environs de six mois. Bien que l'allaitement soit la modalité la plus naturelle pour nourrir les nourrissons, de nos jours. L'allaitement maternel a de nombreux impacts positifs sur les nourrissons au-delà de la valeur nutritionnelle du lait (Golan & Assaraf, 2020; Joseph & Pondi, 1991).

La promotion du l'allaitement maternel et la durée adéquate du AM sont fortement recommandées pour soutenir la santé et le développement de l'enfant, l'allaitement au sein devrait être encouragé chez toutes les mères, le plus longtemps possible (Brault-Dubuc, 1978; Hellmuth et *al*., 2018).

L'Organisation mondiale de la santé encourage et maintient l'allaitement par ses recommandations actives selon lesquelles tous les nourrissons doivent être exclusivement allaités pendant les 6 premiers mois de la vie et que l'allaitement doit être poursuivi avec les aliments complémentaires appropriés pendant 2 ans et au-delà du post-partum(Abdelhamid et *al*., 2020; Bzikowska-Jura et *al*., 2020).

L'American Academy of Pediatrics recommande l'allaitement maternel exclusif pendant les 6 premiers mois, suivi d'une autre année ou plus d'allaitement en combinaison avec l'introduction d'aliments complémentaires (Chiurazzi et *al*., 2021).

L'allaitement maternel exclusif est recommandé pendant les 6 premiers mois de la vie en raison de son lien avec la réduction de la morbidité et de la mortalité infantiles. L'allaitement maternel offre également de nombreux autres avantages à court et à long terme aux nourrissons, tels que la réduction du risque d'entérocolite nécrosante (chez les prématurés) et d'obésité plus tard dans la vie (Christian et *al*., 2021; Meng et *al.*, 2021).

L'allaitement maternel a des avantages clairs à court terme, en particulier la réduction de la morbidité et de la mortalité dues aux maladies infectieuses pendant l'enfance (par exemple, la diarrhée et les infections des voies respiratoires), y compris les maladies cardiovasculaires multiples, le diabète sucré de type 1 et de type 2, l'obésité, les maladies intestinales inflammatoires, les allergies et l'asthme. L'allaitement maternel exclusif protégerait également

les nourrissons de la carence en fer et de l'anémie ferriprive pendant les 4 premiers mois (Bzikowska-Jura et *al*., 2020; Li et *al*., 2016).

Les mères peuvent également bénéficier de l'allaitement car le risque de cancer du sein, de l'utérus et de l'ovaire est réduit et la perte de poids post-partum est favorisée (Samuel et *al*., 2020).

La meilleure façon de promouvoir l'allaitement est le contact peau à peau avec la mère dans les 5 minutes suivant la naissance et pendant au moins 1 heure. Cela aide le nourrisson à s'adapter physiologiquement à la vie extra-utérine et l'aide à trouver le mamelon par l'odorat et la stimulation tactile. Ce temps de peau à peau permet également d'établir une flore cutanée normale sur le nouveau-né pour le protéger des bactéries pathogènes (Bryant & Thistle, 2020).

III. Avantages du lait maternel :

L'allaitement maternel et le lait maternel (LM) sont les normes réglementaires pour l'alimentation du nouveau-né, Alors que l'allaitement maternel est le comportement ciblé d'intérêt de santé publique, le lait maternel est le système de délivrance biologiquement actif connu pour bénéficier au nouveau-né pour répondre à ses besoins nutritionnels, pour fournir une immuno protection pendant la période critique de son système immunitaire immature (Chiurazzi et *al*., 2021; Christian et *al*., 2021).

Il fournit les nutriments essentiels nécessaires, y compris les protéines, les lipides, les glucides et les minéraux ainsi que des facteurs bioactifs, en particulier des facteurs immunologiques, pour protéger les nourrissons des micro-organismes envahisseurs. Il aide également au développement du microbiome du nourrisson et donc du système immunitaire du nouveau-né (Meng et *al*., 2021).

III.1. Effet de la composition du lait sur la croissance et le métabolisme du nourrisson :

Les données probantes sur les effets potentiels de la composition nutritionnelle du lait sur la croissance de la petite enfance sont donc presque entièrement limitées.

Le pourcentage de graisse de LM était inversement associé à l'IMC et à l'adiposité à 12 mois. En revanche, le pourcentage de glucides LM était positivement lié aux gains de poids, d'IMC et d'adiposité entre trois et 12 mois.

Ils rapportent que des concentrations plus élevées de protéines du lait augmentent le gain de poids pendant la petite enfance et la prédisposition à l'obésité (Prentice et *al*., 2016).

Il y a une diminution des concentrations de nombreux éléments à travers les stades de la lactation. Il a été suggéré que cette baisse des concentrations de minéraux pourrait refléter une diminution des besoins du nourrisson pour la croissance, magnésium, cuivre, le sélénium, le zinc et le manganèse sont des cofacteurs essentiels pour certaines enzymes, donc nécessaires pour de nombreuses réactions biochimiques (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017; Li et al., 2016).

III.2. Influence des minéraux sur la croissance et le développement des nourrissons :

Les minéraux sont des éléments très importants pour la croissance et le développement de tissus sains. Les rapports de la littérature indiquent que les carences en nutriments dans le lait maternel sont un problème de santé publique (Javad et *al*., 2018).

Les carences en éléments essentiels sont corrélées à des taux accrus d'infections et de maladies chroniques. En outre, une grande quantité d'éléments essentiels peut également être nocive pour la vie humaine, et peuvent entraîner un ralentissement du taux de croissance pendant l'enfance, une réduction calorique, l'ostéoporose, des fractures et un retard de l'organisation osseuse (Javad et *al*., 2018; Kılıç Altun et *al*., 2018).

Tableau 03: Caractéristiques générales, influence des minéraux sur la croissance et le développement de l'enfant (Farias et *al*., 2020)

Minéral	Caractéristiques générales	Influence des minéraux sur la croissance de l'enfant et Développement
Calcium	Fonctions dans le tissu osseux Transduction du signal Contraction musculaire Régulation enzymatique Coagulation sanguine	Rachitisme nutritionnel Déminéralisation osseuse Hypoplasie de l'émail dentaire Problèmes émotionnels et hyperactivité
Magnésium	Formation de Mg-ATP Synthèse des protéines Synthèse et dégradation de l'ADN Phosphorylation anaérobie du glucose Métabolisme oxydatif mitochondrial Effet antioxydant Partie de la glande parathyroïde Remodelage osseux	Hypo-parathyroïde Hypocalcémie Altération de la croissance osseuse Capacité cognitive et traitement Manque de concentration
Fer	Transport d'oxygène Production d'érythrocytes Transport d'enzymes Maintien du système immunitaire Synaptogenèse synthèse de Neurotransmetteurs Synthèse de neurotrophine Myélinisation	Discours retardé Retards de développement Troubles du comportement Enfants obèses, maladies Neurodégénératives
Zinc	Régulation des cytokines T-helper Participe à la neurogenèse Développement cognitif Maintient la fonction cérébrale Situé dans les os et les muscles du squelette	Infections et nanisme Fonctionne dans les barrières naturelles de la peau et des muqueuses Morbimortalité à la naissance Gravité accrue des maladies infectieuses Déficit de croissance Altérations physiologiques
Sélénium	Activité anti-oxydante Action sur le système immunitaire Présent dans la glande thyroïde	Stress oxydatif chez le prématuré Déclenche des problèmes Cardiovasculaires Résistance à l'insuline Troubles neuronaux Sécrétion (augmentation) d'insuline
Iode	Les hormones thyroïdiennes Le développement du cerveau Equilibre redox Relation avec le sélénium	Retard de développement Association avec l'autisme Association avec un déficit de l'attention

	Association avec un trouble d'hyperactivité

III.3. Effet de l'allaitement sur le développement cognitif des nourrissons :

L'allaitement est considéré comme l'une des mesures les plus importantes pour améliorer la santé des enfants dans de nombreuses sociétés et le lait maternel est maintenant considéré comme un agent thérapeutique utilisé en parallèle à la pharmacothérapie(Witkowska-Zimny & Kaminska-El-Hassan, 2017).

L'allaitement maternel améliore le développement cognitif et les interactions émotionnelles entre la mère et le nourrisson. En effet, les nourrissons avaient un meilleur développement cognitif lorsqu'ils étaient allaités ≥ 9 mois de 1 à 3 ans après la naissance. On comprend aisément que le geste d'allaiter permet un développement psychoaffectif. L'allaitement favorise une intimité plus étroite, un plaisir partagé. L'enfant et sa mère forment une dyade (Lee et *al*., 2016; Lescure, 2014).

Le contact physique intime pendant l'allaitement peut également favoriser un attachement plus positif et plus sûr entre la mère et le nourrisson, ce qui, à son tour, augmente les capacités cognitives du nourrisson**.** Cette augmentation serait potentiellement associée à un meilleur niveau de scolarité, de réussite professionnelle et d'adaptation sociale (Lee et *al*., 2016).

En fait, plusieurs études ont montré que les enfants n'ayant jamais été allaités avaient un développement cognitif ou un quotient intellectuel inférieur à celui d'enfants allaités. D'autre part, plus la durée de d'allaitement était longue, plus la différence entre les deux groupes augmentait en faveur des enfants allaités.

Par ailleurs, certaines études n'ont pas confirmé cette association. Il est difficile de préciser l'origine de ce lien entre allaitement et développement cognitif. Finalement, que les raisons soient psychoaffectives, environnementales ou nutritionnelles, l'allaitement maternel est associé à un bénéfice sur le plan cognitif, modeste, mais certain (Beaudry & Chiasson, 2006; Lescure, 2014).

VI. Les facteurs influant sur la durée de l'exclusivité allaitement maternel :

De nombreuses mères se plaignent des difficultés d'allaitement. En plus des facteurs environnementaux qui peuvent influencer les résultats de la lactation, notamment l'état nutritionnel de la mère, le soutien du partenaire, le stress et la capacité de mise au sein du

nourrisson, des facteurs intrinsèques tels que la génétique maternelle peuvent également affecter la production quantitative et le contenu qualitatif du lait maternel (Golan & Assaraf, 2020).

Cependant, il existe de nombreux obstacles qui peuvent perturber l'allaitement maternel, malgré ses mérites. Les principales raisons de l'échec de l'allaitement sont la quantité insuffisante de lait, les maladies maternelles et les maladies du nourrisson.

De nombreux facteurs socio-économiques et culturels influencent la décision de compléter le lait maternel, y compris les conseils médicaux, les exigences du travail maternel, les pressions familiales et la publicité commerciale, Facteurs biologiques, y compris la taille du nourrisson, le sexe, le développement, l'intérêt/le désir, le taux de croissance, l'appétit, l'activité physique, et la capacité de lactation maternelle déterminent également le besoin et le moment de l'alimentation complémentaire.

La tradition culturelle affecte également le comportement de lactation. Sans fondement scientifique, les mythes populaires sur l'alimentation maternelle pendant l'allaitement peuvent devenir des obstacles à l'allaitement et entraîner des restrictions alimentaires inutiles chez les mères allaitantes. La plupart des cultures ont des proscriptions pendant la lactation (Butte et al., 2002; Jeong, Park, Lee, Ko, & Shin, 2017).

Les deux principaux problèmes lors de la lactation portent sur la quantité et la qualité du lait. En ce qui concerne la quantité de lait, le manque ou l'absence serait dû probablement à une hémorragie lors de l'accouchement ou à une anomalie sur la glande mammaire, l'engorgement mammaire et l'augmentation de la pression et de la distension de la glande mammaire qui en résultent entraînent également une diminution de la production de lait.

En revanche, pour la qualité du lait, il est difficile de faire des comparaisons. En effet, le lait s'adapte aux besoins du nouveau-né et se modifie tout au long de l'allaitement (Medicine et *al*., 1991; Meisse, 2019).

V. Contre-indication à l'allaitement :

Les contre-indications à l'allaitement peuvent être classées en 3 catégories :

1. Les contre-indications absolues : Rares et qui doivent être connues par les professionnels de santé, on retrouve des pathologies virales transmises par le lait maternel « le VIH ». De plus, les maladies génétiques affectant l'absorption du lait maternel empêchent cet allaitement. Enfin,

la prise de certains médicaments par la mère, lors de pathologies chroniques notamment, contre-indique l'allaitement (Meisse, 2019).

2. Les contre-indications temporaires et/ou au cas par cas : La présence de certaines infections virales ou bactériennes temporaires peut empêcher l'allaitement au sein (Meisse, 2019).

3. Les « fausses » contre-indications : Certaines idées reçues, sur des pathologies notamment, provoquent un arrêt de l'allaitement par la mère : la grippe, la gastroentérite ou les rhinopharyngites. En effet, ces différentes infections ne créent aucun risque pour le nouveau-né et n'impliquent que des mesures d'hygiène strictes pour la mère (Meisse, 2019).

IV. Types d'aliments restreints pendant l'allaitement :

Les aliments couramment restreints pendant l'allaitement sont la caféine, les aliments épicés, les aliments crus et les aliments froids.

Les aliments épicés peuvent causer des coliques ou des éruptions cutanées, manger des aliments crus rend vulnérable aux intoxications alimentaires ou aux infections parasitaires, l'élimination du lait de vache pourrait prévenir le développement d'une allergie au lait.

Les aliments froids peuvent causer la diarrhée, le brocoli pourrait causer des coliques et des gaz, la citrouille pourrait diminuer la production de lait maternel, la pêche ou le kiwi peuvent provoquer des allergies ; et les aliments gras pourraient diminuer la production de lait car ils peuvent obstruer les canaux mammaires (Jeong et *al*., 2017).

Partie Expérimentale

I. Etude de la population :

I.1. Mode de recrutement de la population étudié :

La présente étude est une étude prospective transversale, menée entre Juin 2018 et Février 2019, durant laquelle un total de 125 échantillons de lait maternel a été fourni par (n = 92) de mères âgées de 18 à 43 ans, allaitant des garçons et autres mères allaitant des filles. Ont été ainsi récoltés soixante-douze (72) échantillons de lait maternel auprès de mères allaitantes des nourrissons de sexe masculin (n = 57) (**mâles : LMDM**) et cinquante-trois (53) échantillons ont été prélevés sur des mères allaitantes des nourrissons de sexe féminin (n = 35) (**femelles : LMDF**). Les laits obtenus de chaque femme ont été regroupés en trois catégories en fonction du stade de la lactation: colostrum (1 à 5 jours), transitionnel (6 à 15 jours) et lait mature (environ 16 jours jusqu'à 720 jours) (**Tableau 04**).

Cette étude avait pour objectifs:

Objectif 1 : Déterminer et comparer la composition en macronutriments, micronutriments, et les propriétés physico-chimiques du lait maternel à différentes périodes de lactation: colostrum, transition et lait maternel mature des mères allaitantes les deux sexes (LMDM vs LMDF).

Objectif 2 : Rapporter l'effet du sexe du nourrisson sur la composition nutritionnelle du lait maternel au cours de différentes périodes de lactation, et explorer les associations inter-nutriments dans le lait de mères Algériennes en déterminant les facteurs affectant la composition nutritionnelle du lait maternel.

A cet effet, les données maternelles ont été recueillies par un questionnaire au moment de la collecte du lait maternel auprès de mères allaitant exclusivement au sein (N= 92), recrutées au niveau des services de maternité, de pédiatrie et de néonatalogie des Hôpitaux de Ain Defla, Khemis Miliana et Miliana (Wilaya d'Ain Defla, d'Algérie) (Annexe 01), et lors de consultations externes à domicile, après avoir reçu des instructions détaillées pour l'échantillonnage du lait maternel dans les conditions d'hygiène et de propreté.

I.2. Collecte des échantillons du lait maternel :

Entre 5 à 60 ml de LM ont été obtenus par tire-lait stérile ou manuellement avant et après l'alimentation du nourrisson à partir d'un ou des deux seins. Tous les échantillons ont été collectés dans les tubes de 5 à 10 ml en polypropylène dans des conditions hygiéniques.

Les conditions de prélèvement ont été soigneusement respectées à savoir :

- Avant toute manipulation, un lavage soigneux des mains avec du savon, les tire-lait sont une source potentielle de contamination nécessitant un nettoyage soigneux et une désinfection,
- Le lait recueilli, s'il doit être conservé, ne doit l'être que dans des flacons en plastique polypropylène et en polycarbonate,
- Il est recommandé de noter avant toute conservation la date et l'heure du 1errecueil de lait (indication pour la durée de conservation),
- la congélation doit avoir lieu aussi rapidement que possible pour prévenir la peroxydation lipidique, et préserver les vitamines.
- Après la collecte initiale du lait, les échantillons ont été stockés dans un réfrigérateur puis acheminés au laboratoire dans une glacière pour être conserves.

Par conséquent, il est nécessaire de connaitre et maîtriser les conditions et durées de stockage du lait maternel qui sont capables de maintenir la stabilité de la qualité des nutriments.

Tableau 04 : Répartition des échantillons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation.

			Lactation periods			
			Colostrum	**Transition**	**Mature**	**Total**
Infant'sgender	**Female**	**Effectif**	16	13	24	53
		% Infant's gender	30.2%	24.5%	45.3%	100.0%
	Male	**Effectif**	25	21	26	72
		% Infant's gender	34.7%	29.2%	36.1%	100.0%
	Total	**Effectif**	41	34	50	125
		% Infant's gender	32.8%	27.2%	40.0%	100.0%

I.3. Mesures anthropométriques des mères allaitantes des nouveau-nés / nourrissons mâles et femelles :

Un questionnaire a été renseigné pour chaque mère allaitante (**Annexe 02**).La participation à l'enquête était basée sur le volontariat des mères. L'anonymat des participantes a été strictement respecté lors du recueil, de l'analyse et de la diffusion des données. Un consentement verbal a été obtenu de celles-ci assurant la confidentialité.

Le questionnaire comportait:

1. La collecte des données anthropométriques : Âge maternel (an) ; Poids (kg) ; Taille (cm) ; Indice de Masse Corporelle (IMC) (avant la grossesse et au moment du prélèvement).
2. La collecte des données anthropométriques des nouveau-nés / nourrissons mâles et femelles : Poids (kg) ; Taille (cm) ; indice de masse corporelle (IMC).
3. Le poids du nouveau-né : mesuré par la sage-femme à l'aide d'un pèse-bébé numérique. Les variables néonatales telles que le sexe, le poids à la naissance et l'âge du nourrisson ont été obtenues à partir des carnets de vaccination.
4. La collecte des informations sur l'état de santé des mères allaitantes et infantiles ainsi que leurs informations concernant l'alimentation et la nutrition.

I.3.1. Critères d'inclusion :

Les mères participant à notre étude devaient répondre aux critères suivants :

- La femme devait avoir accouché à terme : « âge gestationnel ≥ 36 semaines gestationnelles
- Âge maternel ≥ 18 ans
- Les nouveau-nés et nourrissons mâles et femelles devaient être âgés de 1 à 720 jours.
- Les nouveau-nés devaient être issus d'une grossesse mono-fœtale, les questions de l'enquête n'étaient pas adaptées à une situation de lactation de jumeaux et plus.
- L'allaitement maternel devait être exclusif.

I.3.2. Critères d'exclusion :

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Les femmes signalant une incapacité patho-physiologique : maladie chronique ou gestationnelle préexistante**.**
- Les femmes sous traitements médicamenteux exerçant une influence sur la lactation.
- Faible poids à la naissance du nouveau-né et nouveau-né/nourrisson malade.

I.4. Réactifs et Matériel utilisés :

I.4.1. Réactifs et produits chimiques :

Des réactifs et des produits chimiques de qualité analytique (les solvants, les acides, …. etc) ont été utilisés dans notre étude et sont détaillés dans l'Annexe (03). L'eau distillée et l'eau purifiée ont été utilisées tout au long de cette étude.

I.4.2. Matériel utilisé :

I.4.2.1. Matériel non biologique : L'appareillage et la verrerie utilisés sont détaillés dans l'Annexe (03).

I.4.2.2. Matériel biologique : Des échantillons de lait maternel (mères allaitant des nourrissons mâles et femelles) ont été collectés dans des conditions hygiéniques puis acheminés dans une glacière au laboratoire de biochimie de l'université de KhemisMiliana pour la conservation.

1.5. Traitement des échantillons

1.5.1. Conservation du lait maternel :

Pour le stockage des échantillons de LM**,** les conteneurs ont été placés séparément pour éviter la décongélation répétitive, chaque aliquote contenant du LM a été homogénéisé immédiatement.

Par la suite, les échantillons ont été divisés dans des tubes en polypropylène de 1**.**5 ml, puis conservés à basse température (- 20 °C) pour une analyse ultérieure plus approfondie au niveau du Centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC de Bou-Ismail, Algérie), du laboratoire d'analyses médicales du Dr. Zibouche Ain - Defla et le laboratoire de biochimie de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana (Département des Sciences Biologiques) wilaya de Ain –Defla.

I.5.2. Décongélation du lait maternel :

Les échantillons de LM congelés ont été décongelés sous l'eau courante du robinet à température ambiante. Ensuite, nous avons utilisé un mélangeur vortex (modèle Velp Scientifica Zx3) pour homogénéiser les échantillons des LM, à vitesse 1000 - 1500 rpm pendant 60 secondes.

I.5.3. Préparation du lactosérum :

Certaines analyses du lait maternel nécessitaient la préparation du lactosérum à savoir : le dosage des protéines solubles et insolubles, le dosage des substances azotées non protéique NPN (l'urée, la créatinine et l'acide urique), le dosage du glucose, et le dosage du cholestérol.

Les étapes de la préparation du lactosérum (**Fig.16**).

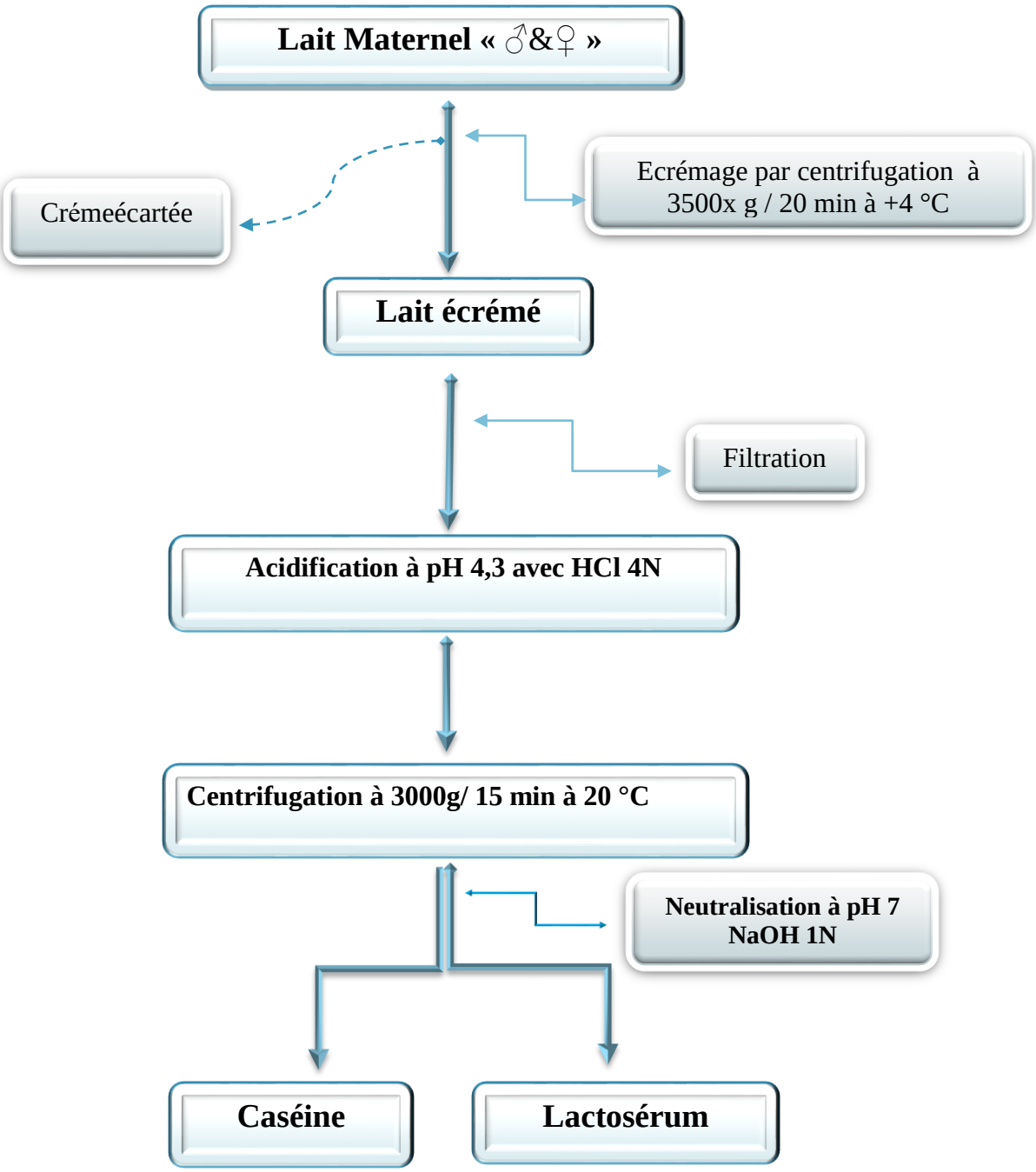


Fig. 16: Etapes de la préparation du lactosérum.

I.5.3.1. Ecrémage :

Le lait est un fluide complexe composé de plusieurs phases qui peuvent être séparées par des forces physiques.

L'écrémage du lait est la première étape du protocole d'isolement et de préparation du lactosérum. Cette étape consiste en l'élimination de la matière grasse du LM par centrifugation à 3500 x g pendant 20 minutes et à 4°C (**Fig.16).**

A la fin de la centrifugation, il y a eu une séparation de phase avec la formation d'une couche en surface correspondant à la crème du lait, une fois celle-ci écartée à l'aide d'une spatule , le lait résultant dit « écrémé » est filtré à travers la laine de verre.

Pour assurer un bon écrémage, l'ensemble de l'opération d'écrémage est répété deux autres fois éliminant ainsi toute trace résiduelle de matière grasse pour la suite du protocole d'isolement.

I.5.3.2. Séparation des caséines :

Les caséines et les protéines du lactosérum peuvent être séparées en fonction de leurs solubilités ; les caséines sont insolubles dans l'acide, tandis que les protéines du lactosérum sont solubles dans l'acide. Les micelles de caséine forment une phase séparée qui peut être sédimentée par acidification et centrifugation à grande vitesse (**Fig.16).** Le lait écrémé débarrassé de la caséine n'est plus qu'un lactosérum.

I.6. Méthodes d'analyses :

Tous les échantillons de LM recueillis ont subi les mêmes analyses physico-chimiques et biochimiques pour chaque stade de la lactation. Le plan général de la démarche expérimentale adoptée dans cette étude est résumé dans la **Figure 17**.

Questionnaire d'étude

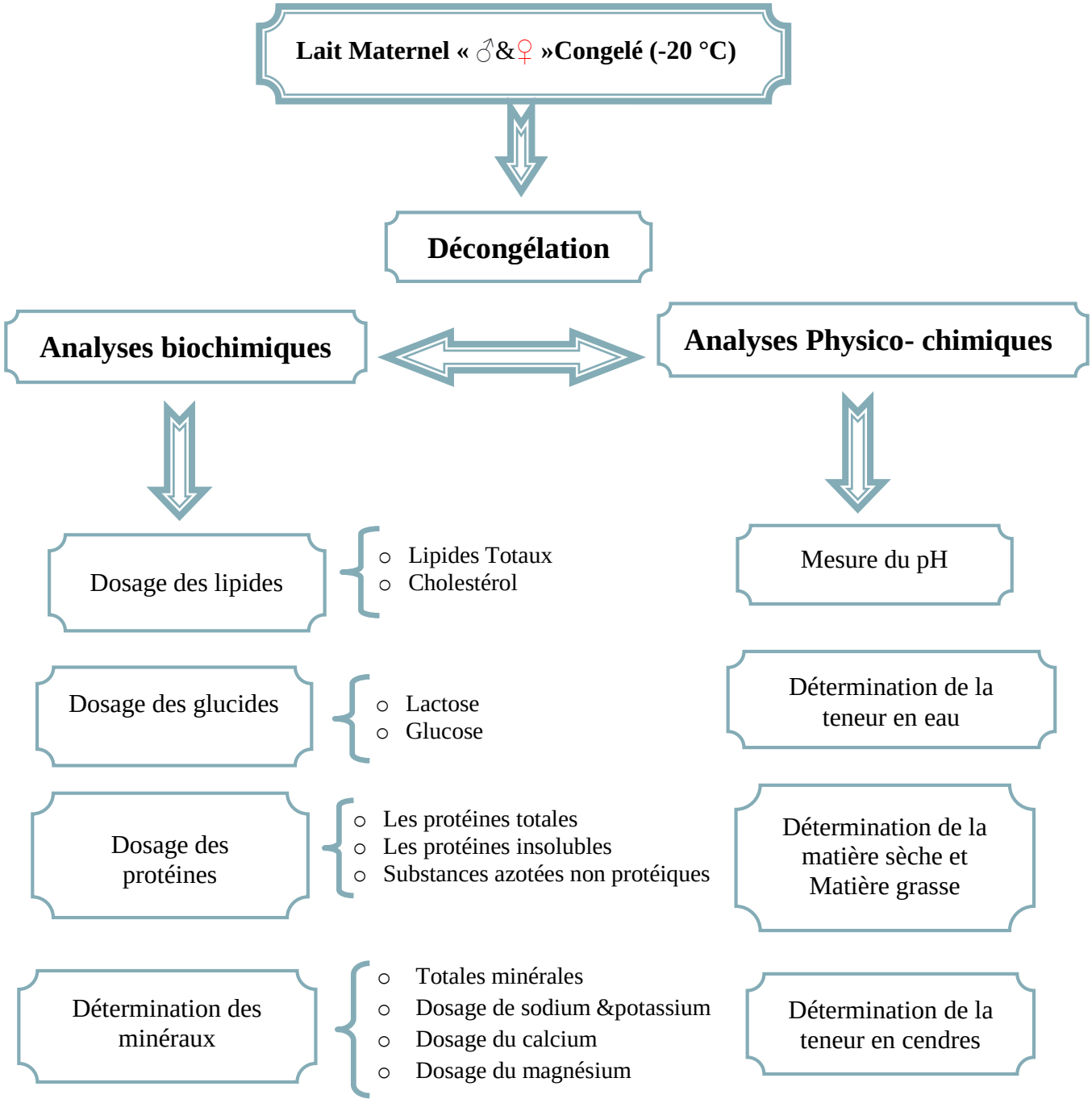


Fig. 17: Plan général de la démarche expérimentale.

I.6.1. Analyses physico-chimiques du lait maternel (LMDM & LMDF) :

I.6.1.1. Mesure du pH :

Le terme pH sert à désigner le degré ou l'intensité d'acidité. La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications qu'elle donne sur la richesse du lait en certains

constituants, sur sa fraicheur et sur sa stabilité.

Certaines propriétés physico-chimiques telles que le pH et la stabilité physique du lait peuvent être des indicateurs possibles de la qualité du lait. La mesure du pH a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre numérique étalonné avec des tampons pH 4 et 7

- ***Mode opératoire***

- Allumer puis étalonner le pH mètre,
- Rincer et éponger l'électrode; l'immerger ensuite dans l'échantillon du LM et relever le pH, en laissant l'appareil se stabiliser pendant une minute.
- La valeur affichée sur l'écran de l'appareil correspond au pH du lait à 20°C.
- Rincer et sécher l'électrode et répéter l'opération avec une nouvelle portion d'échantillon.

I.6.1.2. Détermination de la teneur en eau:

La teneur en eau (ou humidité) est la quantité d'eau perdue par l'aliment lorsqu'on le place en équilibre avec une pression de vapeur d'eau nulle. Il s'agit sur le plan chimique de l'eau constituée par des molécules associées par liaison hydrogène, comme dans l'eau pure à l'état liquide.

L'humidité (H) est exprimée en grammes pour 100 grammes de lait. L'humidité a été mesurée en prélevant 1 ml de lait maternel à sécher dans l'étuve ventilée 103 ± 2 ° C**.**

- ***Mode opératoire***

Préparation de la capsule

- Chauffer pendant au moins 1 h une capsule dans l'étuve réglée à 102 ± 2 °C,
- Transférer la capsule vers le dessiccateur,
- Laisser revenir à la température ambiante et peser m_0.

Prise d'essai

- Transférer environ 1 ml de lait maternel dans la capsule, et peser: m_1
- Mettre la capsule pendant 3 heures, dans l'étuve réglée à 102 ± 2 °C.
- Transférer la capsule vers le dessiccateur, laissé revenir à la température ambiante et peser : m_2

- ***Expression des résultats***

La teneur en eau des échantillons de lait maternel a été exprimée comme suit :

Taux d'humidité = $(m_1 – m_2) / (m_1 – m_0) \times 100$ %

Où :

m_0 : la masse de la capsule vide,

m_1 : la masse de la capsule contenant l'échantillon avant dessiccation,

m_2 : la masse de la capsule contenant l'échantillon après dessiccation.

I.6.1.3. Détermination de la matière grasse (MG) et de la matière solide totale « matière sèche » (MST) :

La matière grasse (MG) et la matière sèche ont été déterminées par gravimétrie. Le principe de la méthode consiste en une dessiccation par évaporation à l'étuve (103 ± 2°C pendant 3h) de 1ml de lait maternel entier (pour la MST) ou écrémé (pour l'ESD) dans des creusets en porcelaine jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids constant, suivi d'une pesée du résidu sec total après refroidissement dans un dessiccateur.

Après la pesée, les valeurs obtenues correspondent aux taux de l'extrait sec total (EST) ou l'extrait sec dégraissé (ESD).

- ***Mode opératoire***

Préparation des échantillons :

- Pour la préparation de l'analyse : Les échantillons de lait maternel congelés ont été décongelés à température ambiante et soigneusement homogénéisés
- Préparation des creusets en porcelaine : Introduire les creusets en porcelaine à l'étuve réglée à 102 ± 2°C pendant 1 heure. Peser les creusets en porcelaine vides (Poids en grammes des (M_0) ;
- Introduire dans chaque creuset en porcelaine une prise (Échantillon de lait maternel entier) (1ml), pour la détermination de l'EST ou du lait écrémé, pour la détermination de l'ESD ;
- Peser creuset + Échantillon de LM dans une balance analytique de précision. Chaque portion a été pesée deux fois.

- Introduire les creusets en porcelaine dans l'étuve réglée à 103 °C ± 2 °C, laisser la dessiccation se poursuivre pendant 3 heures ;
- Une fois le temps écoulé, les creusets en porcelaine est immédiatement introduit dans un dessiccateur où il refroidit sans reprise d'humidité ;

- Une fois le creuset en porcelaine redescendu à température ambiante, faire une autre pesée pour obtenir M_1.

- ***Expression des résultats***

La valeur de l'EST ou l'ESD, exprimés en g/l de lait maternel, est donnée par la relation suivante : **$MST= (M_1- M_0) \times 1000 \div V$**

Où :

Mo : la masse en grammes, de creuset vide.

M1 : la masse en grammes, de creuset et du résidu après de dessiccation et refroidissement.

V : le volume en millilitres de la prise d'essai.

La teneur en matière grasse (MG) des échantillons analysés est déterminée par l'application de la formule suivante :

MG (g) = MST (g) – ESD (g)

I.6.1.4. Détermination de la teneur en cendres « total minéral %» :

- **Préparation des échantillons :**

La méthode d'analyse chimique nécessite des précautions particulières lors de la préparation des échantillons de LM afin d'éviter toute contamination.

Toute la verrerie de laboratoire et les flacons en plastique utilisés tout au long de l'analyse minérale ont été préalablement rincés à l'acide par trempage dans de l'acide nitrique HNO3 10 %pendant une nuit, puis rincés avec hydroxyde de sodium dilué 4% suivi d'eau distillée et d'ionisée puis séchés avant utilisation.

- **L'incinération :**

Les creusets en porcelaine contenant les échantillons après séchage ont été fermés, et mis au four à moufle à 550 °C pendant 6h. Le poids du résidu « cendre blanche » a été mesuré.

Les cendres contenues dans les creusets ont été ensuite transférées dans une hotte aspirante pour une analyse ultérieure des éléments minéraux essentiels « Na, K, Ca, et Mg ».

Les résultats des minéraux totaux« **MM% »**ont été exprimés en pourcentage:

MM% = (Poids des cendres x 100 ÷ M2) x MST

Poids des cendres = M1 - M0

La teneur en cendres« **M** »a été déterminée et les résultats ont été exprimés en g/L:

$$M = [(M0 - M1) \div M2] \times 100$$

Où

M0 : la masse en grammes de creuset en porcelaine avant incinération

M1 : la masse en grammes de creuset en porcelaine contenant l'échantillon après incinération

M2: la masse en grammes de l'échantillon.

I.6.2. Analyse biochimique des macronutriments lait maternel (LMDM & LMDF) :

I.6.2.1. Détermination des lipides totaux :

Les lipides totaux (Les lipides libres ou liés aux protéines) ont été extraits et purifiés selon la procédure d'extraction Folch modifiée (**Fig. 18)**. Le principe de la méthode basée sur une extraction à froid par un mélange de solvants apolaire (chloroforme) et polaire (méthanol) (2:1, v/v).

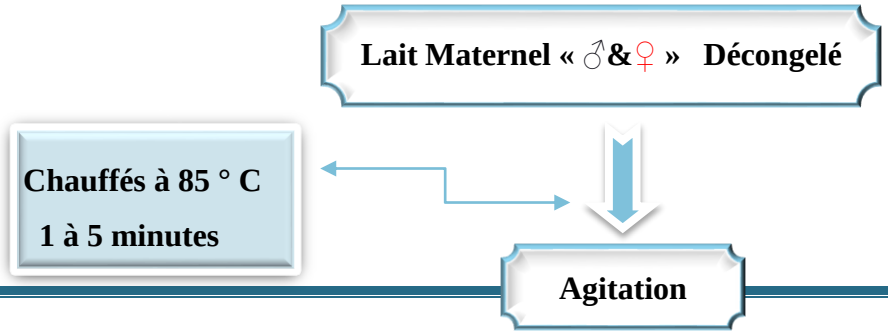
Au début, 2 ml d'échantillons de lait maternel congelés ont été décongelés à température ambiante et chauffés à 85° C pendant 1 à 2 minutes, puis ont été extraits avec un mélange du chloroforme et du méthanol (2:1 v/v) contenant de butyle-hydroxy toluène (BHT 0.01%).

Par la suite, 20 µl d'acide heptadécanoïque (C17:0) ont été ajoutés comme étalon interne suivie par une agitation pendant 30 secondes, et laisser pendant 1 h à température ambiante, à la solution ci-dessus, on a ajouté 5 ml de Na Cl à 0,9 %, suivi d'une homogénéisation au vortex pendant cinq minutes/350 tr/min, et une centrifugation pendant 10 minutes/4 000 tr/min.

Deux phases sont obtenues, séparées par un disque protéique. La phase inférieure "A" est récupérée par aspiration à l'aide d'une pipette Pasteur et transférée dans un 2eme tube conique.

Le disque inter facial a été homogénéisé dans 2,5 ml de chloroforme-méthanol et homogénéisé au vortex pendant 5 minutes, et centrifugé à nouveau pendant 10 minutes à 4 000 tr/min afin d'obtenir une meilleure récupération de l'extrait lipidique.

La phase inférieure "B" a été récupérée. Et mélangée avec celle obtenue précédemment (phase inférieure A)



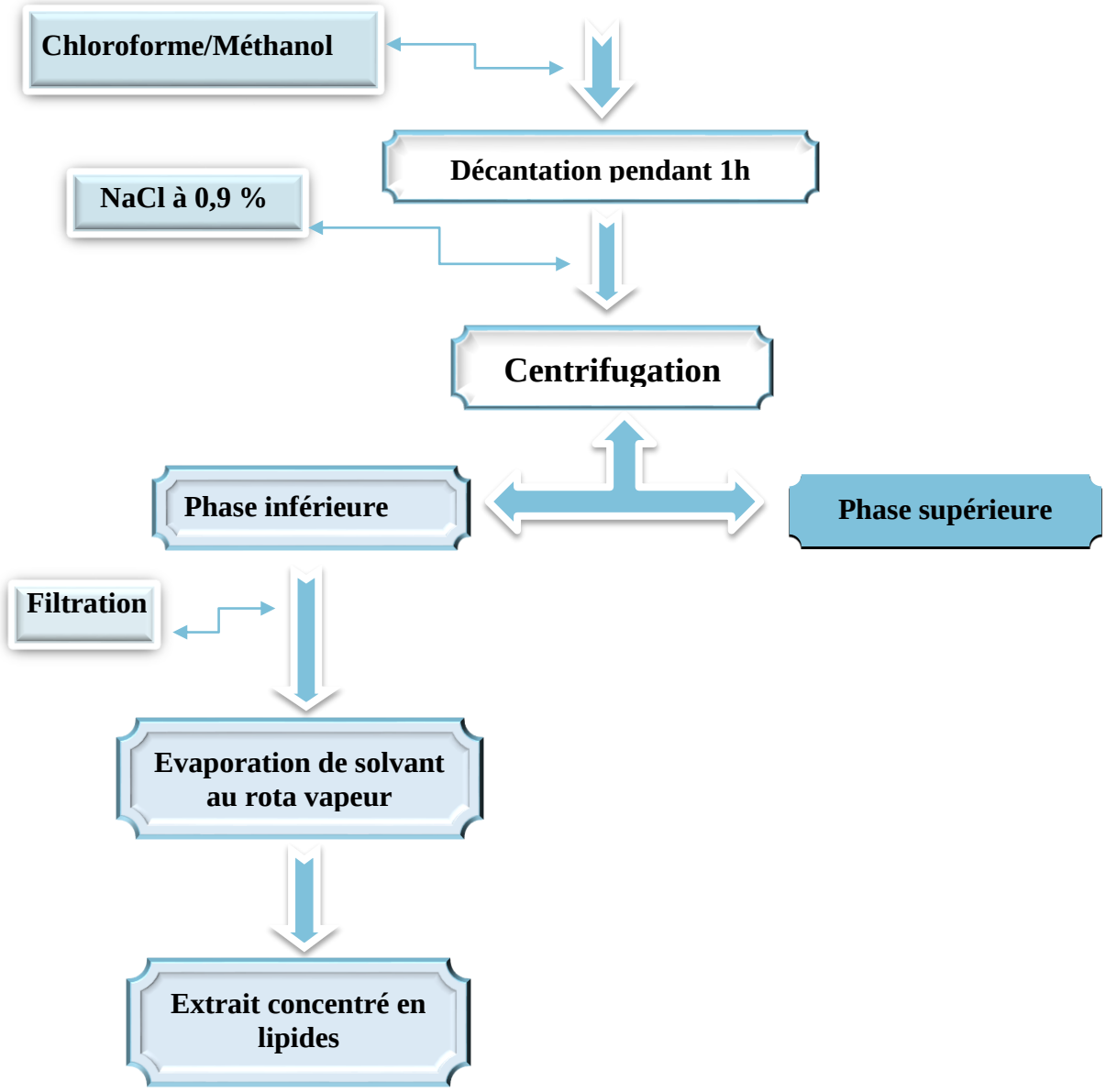


Fig.18 : Schéma récapitulatif d'extraction des lipides du lait maternel par la méthode de Folch.

La fraction organique (A + B) a été filtrée dans ballon un fond plat taré, puis le solvant a été évaporé à 45°C dans l'évaporateur rotatif **(Fig. 2- Annexe3)** puis séchée à 100 C pendant 30 minutes. La teneur en lipide totaux (F) a été déterminée par gravimétrie et exprimée en gramme pour 100 grammes de lait sous la forme :

$$F\% = [(W1 - W0)/ M] \times 100$$

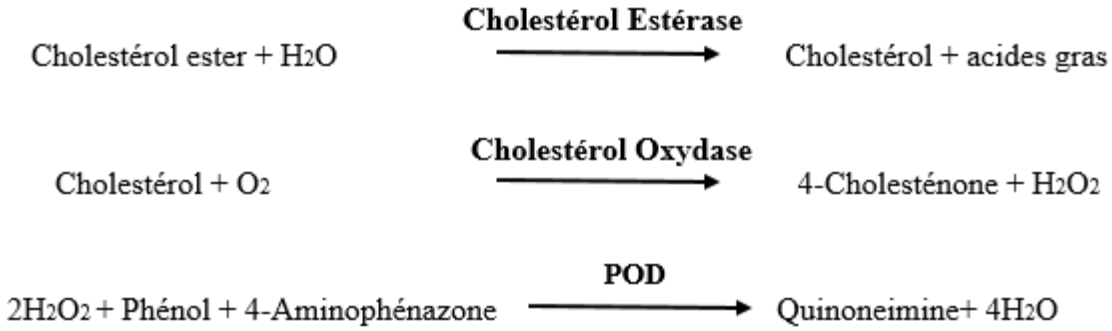
M: poids en grammes de l'échantillon LM

W1: poids en grammes de ballon contenant l'extrait lipidique après dessiccation.

W0: poids en grammes de ballon vide après dessiccation.

I.6.2.2. Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol a été réalisé selon une méthode enzymatique colorimétrique à l'aide d'un analyseur biochimique automatique Beckman Coulter AU 480 selon les rapports précédents. Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon les réactions suivantes :



I.6.2.3. Estimation de la teneur en glucides« carbohydrates » :

La teneur en carbohydrates a été obtenue par le calcul suivant:

Glucides = matières sèches totales - protéines - Matières grasses totales – cendres

I.6.2.4. Détermination de la teneur en lactose :

La teneur en lactose a été déterminée par une méthode titrimétrique basée sur la réduction à chaud d'une solution cupro-alcaline (solution de liqueur de Fehling A et B selon les rapports précédents.

Les conditions opératoires pour ce dosage consistaient en une opération de défécation par addition au lait d'une solution d'hexacyanoferrate de potassium et d'acétate de zinc.

L'étalonnage de la solution de Fehling est fait par une solution étalon de lactose de concentration connue (La composition des solutions est détaillée dans l'Annexe 04.

- ***Mode opératoire :***

Défécation

- Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire successivement :

- 5 ml de solution d'hexacyanoferrate II de potassium, agité ;
- 0,4 ml de solution d'acétate de zinc, agité ;
- Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée tout en mélangeant ;
- Ajouter 0,4 ml d'eau distillée pour tenir compte du volume du précipité, agiter ;
- Laisser reposer 15 min puis filtrer.

Réduction de la liqueur de Fehling

- Dans un erlenmeyer, introduire :
- 10 ml de solution cuivrique ;
- 10 ml de solution tartro alcaline
- Agiter et porter à ébullition ;
- Verser ensuite goutte à goutte le filtrat obtenu ci-dessus (défécation du lait maternel) à l'aide d'une burette jusqu'à la décoloration totale ;
- Lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V2 en ml.

Etalonnage de la liqueur de Fehling

L'étalonnage de la liqueur de Fehling est fait à l'aide d'une solution étalon de lactose de concentration C1 = 5 g/l. Elle correspond à une chute de burette V1 (ml).

- **Expression des résultats**

La concentration en lactose inconnue C2 est donnée par la relation suivante :

$$C2 = (C1 \times V1 / V2) \times d$$

Où :

C1 : concentration en lactose de la solution étalon

C2 : concentration en lactose inconnue.

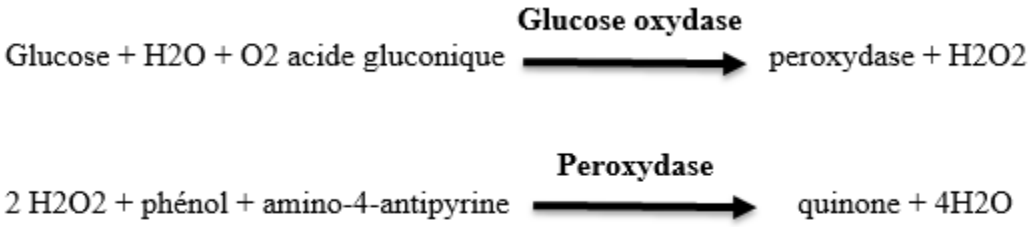
V1 : chute de burette mesurée dans le cas de la solution étalon.

V2 : chute de burette dans le cas du lait maternel.

d : coefficient de dilution.

I.6.2.5. Dosage du glucose :

Le dosage du glucose a été réalisé par la méthode enzymatique du glucose oxydase, À l'aide d'un analyseur biochimique automatique Beckman (Coulter AU 480), au laboratoire d'analyses médicales du Dr. Zibouche. La détermination du glucose par cette méthode enzymatique s'est faite selon les réactions suivantes :



I.6.2.6. Détermination des protéines totales et des protéines solubles :

Les protéines de la caséine représentent 80 % des protéines totales du lait. Les protéines solubles ou les séroprotéines, minoritaires qui représentent 20 %. Les séroprotéines se trouvent dans le lactosérum. La teneur en protéines totales a été obtenue par le calcul suivant:

Les protéines totales = Les protéines insolubles (caséine) + les protéines solubles

La détermination de la teneur en protéines solubles s'effectuée à l'aide de l'analyseur biochimique automatique Beckman Coulter AU 480selon la méthode de biuret, en présence d'ions Cu^{++}en milieu alcalin. Ceux-ci forment des complexes dont l'intensité de coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en protéines soluble.

I.6.2.7. Détermination des protéines insolubles « caséine » :

La quantité totale de caséine a été déterminée par ses précipitations isoélectriques. L'isolement des caséines est réalisé par précipitation différentielle au pH isoélectrique de cette fraction (pH 4,3). Cette opération est effectuée par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 4N, suivie d'une centrifugation à 3500 x g pendant 15 minutes à 4 °C (**Fig.16).** Il en résulte une différence de phase, où le culot correspond aux caséines est récupéré dans un minimum d'eau distillée, puis ramené à pH 7 grâce à une solution d'hydroxyde de sodium 1N, afin d'obtenir la ré-solubilisation de cette fraction.

Pour éviter toute contamination sérique. Suivi d'une pesée des caséines récupérées après deux autres étapes d'isolement répétées afin d'assurer une meilleure qualité des séparations de caséine dans les mêmes conditions (**Fig.16).** Après la pesée, les valeurs obtenues correspondent aux taux des protéines insolubles « caséine ».

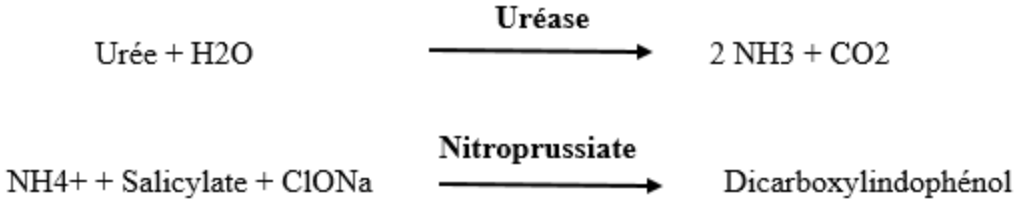
I.6.2.8.Dosage des substances azotées non protéiques du lait maternel :

- **Dosage de l'urée**

La détermination de l'urée est réalisée par la méthode cinétique à l'uréaseà l'aide d'un analyseur biochimique automatique Beckman Coulter AU 480.

Les ions ammonium en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium (ClONa) et en présence d'un catalyseur Nitroprussiate réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophénol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

La détermination enzymatique de l'urée par méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes:



- **Dosage de créatinine**

La créatine est formée dans le foie à partir de l'arginine, de la glycine et de la méthionine. Elle est véhiculée par le sang vers le muscle qui la transforme en créatine phosphate grâce à une enzyme la créatine phosphokinase pour constituer une réserve d'énergie. Au cours de son utilisation par le muscle, la créatine va se déshydrater spontanément en créatinine qui passe dans le plasma puis sera éliminée par le rein.

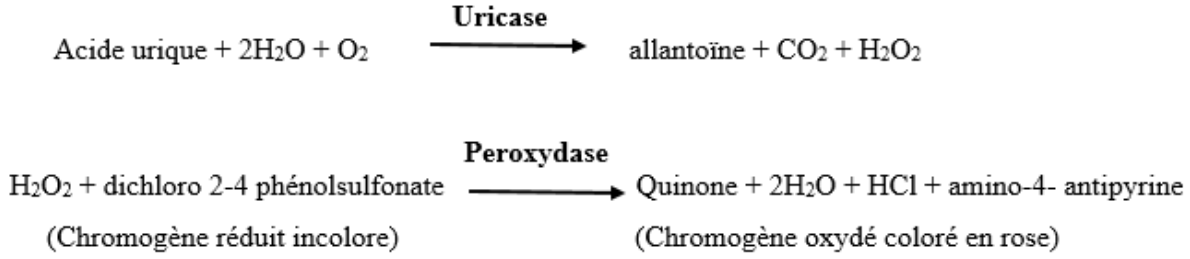
La détermination de la créatinine a été réalisée par méthode cinétique à l'aide d'un analyseur biochimique automatique Beckman Coulter AU 480 selon les rapports précédents. Elle est basée sur la mesure de la formation d'un complexe coloré entre la créatinine et le picrate alcalin. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon du lactosérum maternel.

- **Dosage de l'acide urique**

La détermination enzymatique de l'acide urique par l'uricase à l'aide d'un analyseur biochimique automatique Beckman Coulter AU 480 selon les rapports précédents.

L'acide urique est le produit ultime du catabolisme des bases puriques, l'adénine et la guanine qui rentrent dans la structure intime des acides nucléiques.

La détermination de l'acide urique par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



I.6.3. Estimation de l'apport énergétique du lait maternel :

La valeur énergétique du lait maternel humain n'a pas été mesurée directement dans notre étude, mais a été calculée. De plus, la teneur en macronutriments du lait a été utilisée pour calculer la valeur énergétique.

Les concentrations de tous les macronutriments ont été déclarées en grammes « g » par litre « L » et l'énergie (kilocalories) a été calculée à partir de l'analyse fractionnaire de 9 kcal/g pour les lipides, et de 4 kcal/g pour les glucides et de 4 kcal/g pour les protéines.

Enfin, l'énergie du lait a été calculée à partir des macronutriments à l'aide de formules standard pour le lait humain selon l'équation suivante :

Énergie = (protéines x 4) +(lipides totaux x 9) + (glucides x4)

I.6.4.Détermination des minéraux Na, K, Ca et Mg (LMDM & LMDF):

- **La minéralisation :**

La minéralisation a été réalisée par des acides forts permettant la destruction totale de la matière organique. Les échantillons complètement incinérés (cendres blanches) en ajoutant 4 ml d'acide nitrique (HNO3, 65 % m/m, Sigma Aldrich), additionné de 1 ml de peroxyde (H2O2, 30 % m/m, Merck) et 4.5 mL d'eau purifiée.

Le mélange est filtré dans une fiole de 50 ml et le minéralisât est dilué à 50 ml avec de l'eau ultra pure puis transféré immédiatement dans des tubes conique en plastic polypropylènes de 50ml. A ce stade, les échantillons étaient prêts à être analysés par spectrométrie d'absorption atomique à flamme SAAF**.**

Les concentrations de sodium (Na), de potassium (K), de calcium (Ca) et de magnésium (Mg) ont été évaluées par une analyse plus poussée par spectrométrie d'absorption atomique à flamme SAAF**.**

Des plages de courbes d'étalonnage (5 points) ont été sélectionnées pour correspondre aux concentrations attendues pour tous les éléments dans les échantillons de lait maternel. Les concentrations ont été exprimées en mg/L, décrites comme moyenne et écart-type.

Les analyses ont été réalisées au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) par une spectrométrie d'absorption atomique (SAA) et l'émission de flamme (EF), de marque Agilent 240FS/240Z (Agilent 240FS (200 Series AA) **(Fig.3-Annexe3)**

- **Appareillage de spectrophotométrie d'absorption Atomique (SAA) :**

Les instruments de base pour la spectrométrie d'absorption atomique comportent quatre parties principales. En général, tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base **(Fig.19).**

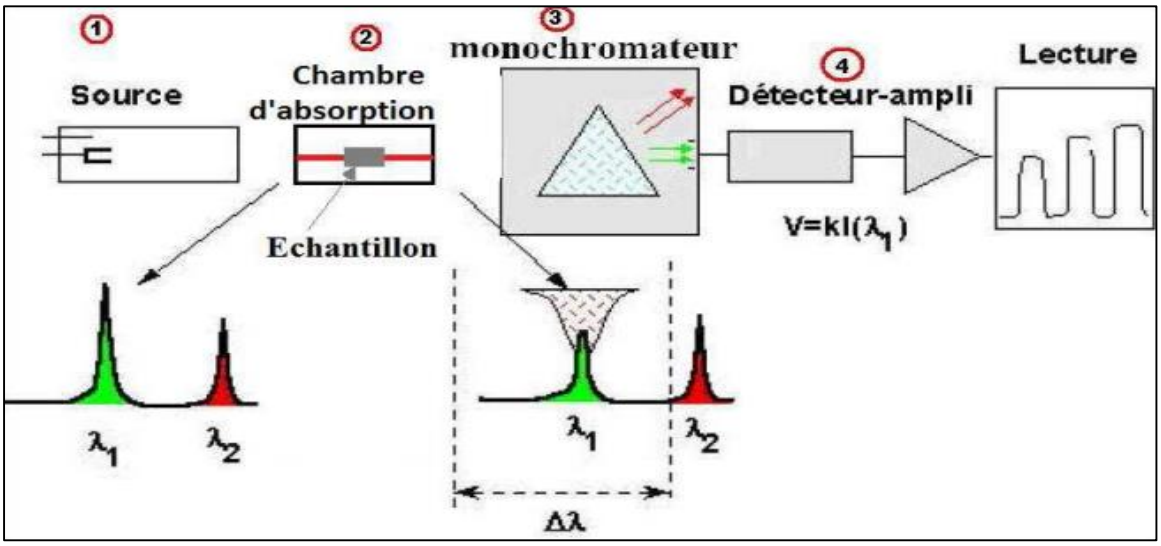


Fig. 19 : Schéma de base d'un appareil de spectrométrie d'absorption atomique.

1. **Le faisceau lumineux issu de la source:** Lampe à cathode creuse (la plus répandue). C'est un organe essentiel car la mesure dépond en grand partie de ces caractéristiques. La sélectivité de la lampe mono élément permet cependant de limiter les risques d'interférences spectrales.
2. **La chambre d'absorption:** Dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique. Les cellules d'absorption les plus utilisées en spectrométrie sont la flamme et le four graphite qui sont capables, à partir d'éléments présents en solution, de fournir des atomes libres en proportion suffisante pour utiliser la technique d'absorption.
3. **Monochromateur**: Permet de sélectionner un intervalle très étroit de longueurs d'onde.

4. **Détecteur**: l'appareil utilisé fournit un résultat qui sera le plus souvent un signal électrique représentatif de la grandeur à mesurer : le détecteur est donc un "transformateur" qui fournit un courant ou une tension à partir d'une caractéristique physicochimique.

- **Principe de fonctionnement de la spectrométrie d'absorption atomique :**

L'absorption atomique de flamme est une méthode qui permet de doser essentiellement les métaux en solution, le dosage mono-élémentaire des cations majeurs de l'ordre du mg/L dans des échantillons liquides. Cette méthode d'analyse élémentaire impose que la mesure soit faite à partir d'un analyte (élément à doser) transformé à l'état d'atomes libres **(Fig. 4-Annexe 3).**

En SAA, L'échantillon est porté à une température de 2000 à 3000 degrés pour que les combinaisons chimiques dans lesquelles les éléments sont engagés soient détruites. Les atomes libres peuvent absorber la lumière d'une certaine longueur d'ondes.

L'absorption de chaque élément est spécifique, S'il y a plusieurs éléments à doser, on réalise cette manipulation pour chaque élément de l'échantillon en se plaçant à une longueur d'onde fixée. Il faut donc à chaque manipulation choisir une source adaptée pour éclairer l'élément que l'on cherche à exciter.

L'échantillon est réduit en vapeur atomique par atomisation par nébulisation dans une flamme. Un ensemble mécanique robuste (puissant), appelé brûleur, alimenté par un mélange gazeux combustible/comburant, produit une flamme dont la base s'inscrit dans un rectangle. L'échantillon à analyser est aspiré par l'appareil et transformé en aérosol et nébulisé dans ce mélange gazeux. La flamme atomise ensuite les éléments contenus dans l'aérosol qui passent à travers le faisceau de la lampe à cathode creuse.

La spectrométrie d'absorption atomique est basée sur la théorie de la quantification de l'énergie de l'atome. Celui-ci voit son énergie varier au cours d'un passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre. Les atomes à l'état fondamental absorbent le rayonnement spécifique.

Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments absorbants, et leur quantité étant proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments à doser. L'analyse par absorption atomique utilise la loi de Beer Lambert. L'absorbance est proportionnelle à la quantité d'atomes de l'élément à doser.

I.7. Analyse statistique :

L'analyse a été effectuée à l'aide un progiciel statistique SPSS Statistics version 25.0 (IBM Inc., Chicago, IL, États-Unis). Une analyse descriptive a été effectuée pour les caractéristiques globales de la population étudiée de mères allaitantes et de nourrissons de sexe mâles et femelles recueilli à partir de questionnaires.

La signification a été déterminée à l'intervalle de confiance de 95 %.Les valeurs *P* bilatérales $p \leq 0{,}05$ ont été considérées comme statistiquement significatives. Les variables continues ont été exprimées en moyenne ± écart type. Les variables catégorielles (nominales ou ordinales) ont été résumées sous forme de fréquence et de pourcentage.

Le test de normalité des variables analysées a été appliqué pour vérifier la distribution de normalité des échantillons en utilisant *le test de Shapiro-Wilk.* Le test t-Student a été utilisé étant donné que toutes les variables étaient normalement réparties (les variables n'étant pas normalement réparties ont été vérifiées par le test de Mann–Whitney) pour évaluer les différences significatives entre la composition du LM selon le sexe des nourrissons e tpour les comparaisons statistiques entre une variable continue et une variable ordinale, afin de déterminer la différence entre les moyennes des différents types de lait (colostrum, transitionnel et mature) pour chaque sexe.

L'analyse unidirectionnelle de variance (ANOVA) a été appliquée à toutes les données qui suivent la distribution normale. La distribution normale a été vérifiée par le test Shapiro-Wilk. Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes d'écart type (ET) pour trois répétitions indépendantes. La signification statistique entre les traitements a été évaluée au moyen d'une analyse unidirectionnelle de la variance (des tests Kruskal-Wallis ont été utilisés le as échéant). $P<0.05$ a été jugée statistiquement significatif. Le test de Tukey (P 0,05) a été effectué comme test post-hoc pour les séparations moyennes.

Des modèles de régression multi-variables ont également été appliqués, notamment des modèles de régression logistique ou des modèles de régression linéaire dans le but d'analyser l'association entre le sexe infantile et la composition du lait maternel et évaluer l'influence multiple durant toute la période de lactation des nourrissons mâles et des nourrissons femelles sur la composition du LM.

D'autre part, pour évaluer les associations entre les minéraux et les facteurs maternels, une analyse de régression linéaire multi variée a été utilisée, où les niveaux de minéraux étaient les variables dépendantes, et le sexe des nourrissons et la période de lactation étaient considérés comme des variables indépendantes.

Résultats & Discussion

I. Résultats

I.1. Répartition des échantillons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation:

Les échantillons de lait maternel obtenus ont été regroupés en trois catégories selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation: colostrum (1 à 5 jours), lait de transition (6 à 15 jours) et lait mature (après 15 -720 jours) (**Fig. 20 A-D**).

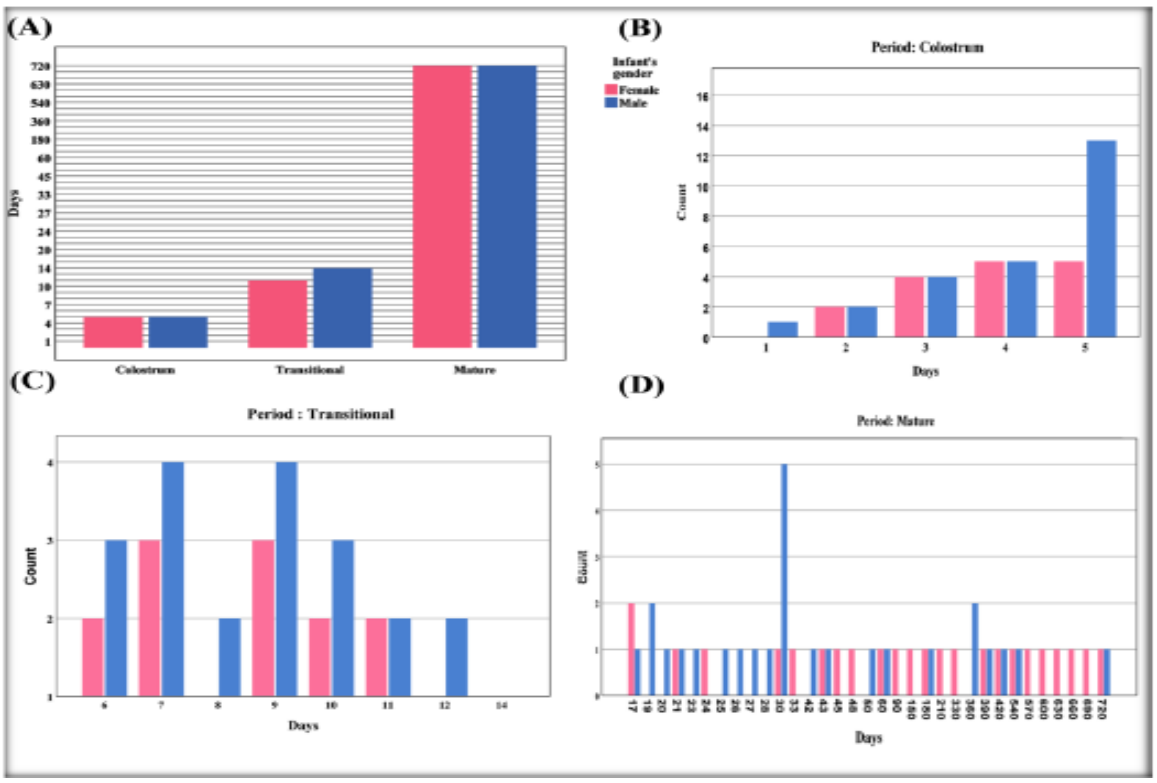


Fig. 20 : Répartition des échantillons du lait maternel selon sexe du nourrisson et la période de lactation (jours).

La répartition des nouveau-nés nourrissons dans notre étude a révélé une légère prédominance du sexe masculin (**Fig.21)**

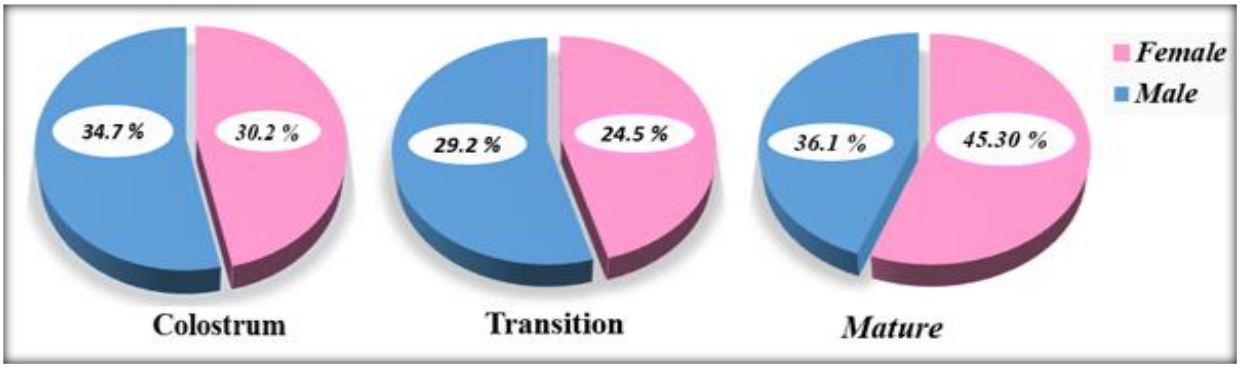


Fig. 21: Répartition des nourrissons selon le sexe du nourrisson et les stades de lactation

I.2. Caractéristiques et mesure anthropométrique de la population à l'étude :

I.2.1. Les caractéristiques anthropométriques des nourrissons :

Les variables néonatales telles que le sexe, le poids à la naissance et l'âge du nourrisson sont résumées dans le **Tableau 05**.

Tableau 05 : Les caractéristiques anthropométriques des nourrissons (moyenne ± ET)

	Infant's gender								
	Colostrum(C)			**Transition**(T)			**Mature**(M)		
	Male	**Female**	**[1]Pvalue**	**Male**	**Female**	**[1]Pvalue**	**Male**	**Female**	**[1]Pvalue**
Infants age (days)	4,08±1,19	3,8125±1,05	0,309	8,86±2,17	8,46±1,76	0,566	136,15±196,72	271,58±263,02	0,02
Infants weight (kg)	3,12±0,34	2,91±0,71	0,214	3,25±0,74	3,42±0, 59	0,472	5,45±2,91	7,43±3,17	0,003
Infants Heigh (cm)	48,44±1,87	46,94±2,69	**0,04**	47,76±3,71	48,92±1,55	0,216	58,46±11,72	65,42±12,43	0,04
Infants BMI (kg/m2)	13,32±1,47	13,36±3,08	0,959	13,95±2,07	14,00±2,04	0,774	15,01±1,98	16,53±2,16	0,01

Les variables continues sont exprimées en moyenne "moyenne ± ET" et écart type tandis que les variables catégorielles sont exprimées en pourcentages.
IMC, indice de masse corporelle.
Valeur [1]P Les valeurs avec différentes sont significativement différentes entre les deux sexes en trois périodes de lactation par des tests t-Student ou Mann-Whitney ont été utilisés en fonction derépartition variable. * p < 0,05,*P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001.

Nos résultats ont montré des différences significatives de l'âge des nourrissons de sexe mâle et des femelles ($p < 0,01$) pendant la période mature (**Tableau 05**).

Le poids normal à la naissance est ≤ 4 kg pour les deux sexes, cependant, pendant la période de maturité ; le poids corporel des nourrissons de sexe féminin était significativement plus élevé que celui des nourrissons de sexe masculin (7,43 ± 3,17 vs 5,45 ± 2,91 kg, $p = 0,003$) (**Tableau 05**).

Nous avons également observé que la taille des mâles était inférieure à celle des femelles à la fin de la période de lactation.

Par ailleurs, nous avons noté que l'IMC moyen des nourrissons femelles était supérieur à celui des nourrissons mâles durant toute la période de lactation.

I.2.2. Les données descriptives des mères participantes à l'étude :

- ***Age maternel :***

Le pourcentage des mères « des nourrissons de sexe féminin » âgées entre 18-34 ans était légèrement inférieur à celui des mères ayant des nourrissons de sexe masculin (81.0 % vs 69.2 % en transition et 84.6 % vs 83. 3 % en période de maturité).

En revanche, dans la période du colostrum, les mères ayant des nourrissons de sexe féminin étaient plus jeunes 87.5 % **(Fig.22).**

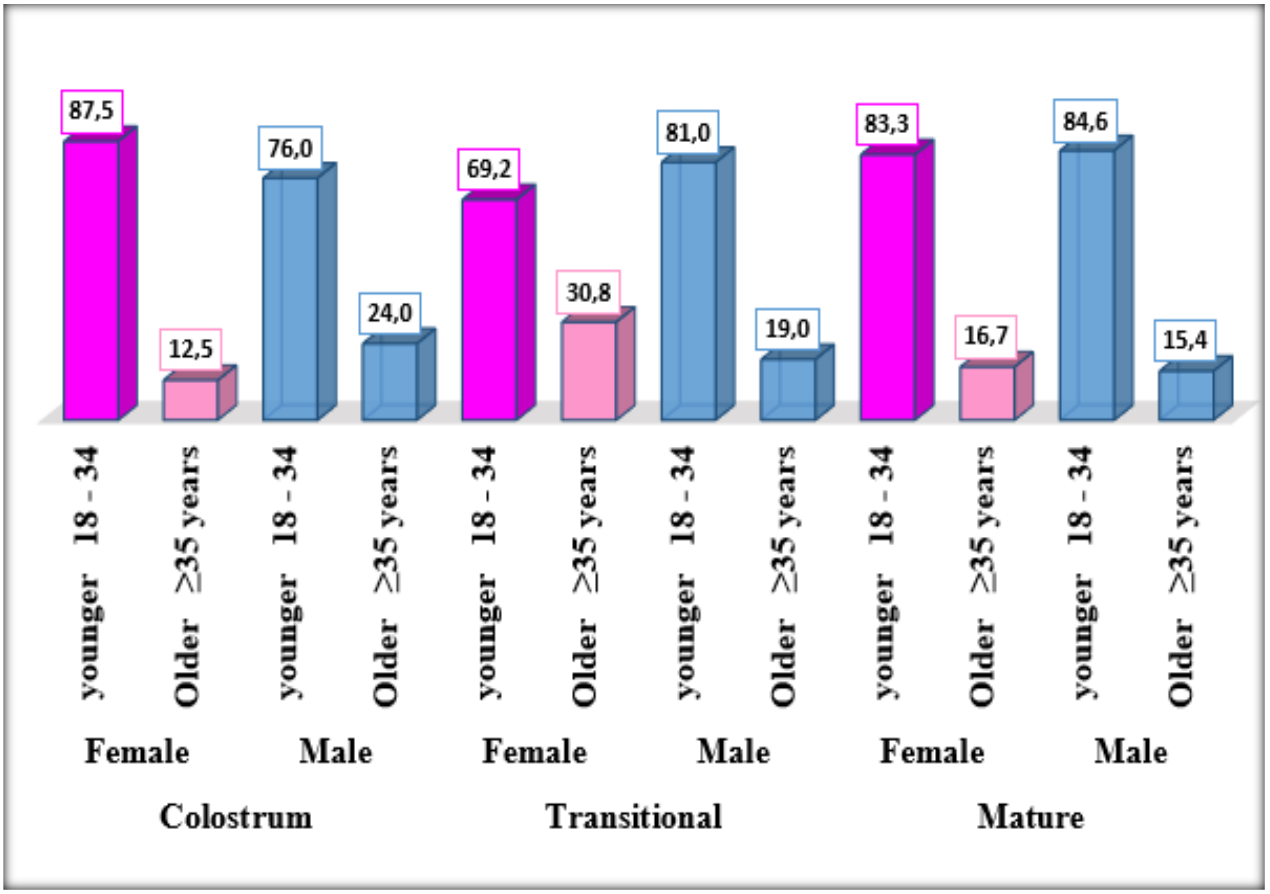


Fig. 22: Distribution l'âge maternel selon le sexe au cours les trois périodes de la lactation

- **Distribution de l'IMC des mères:**

Notre étude a montré que les mères ayant un nourrisson de sexe masculin présentaient davantage un poids normal par rapport aux mères ayant un nourrisson de sexe féminin (n=64.0 % vs n=62.5 %) dans le colostrum (n=71.4 % vs n= 46.2 %), en période de transition et en période de maturité (n=53.8 % vs n= 4.2 %).

Douze (12) mères (n=50.0 %) avec un nourrisson de sexe féminin étaient obèses. Cependant, aucune des mères allaitantes durant la période colostrale n'a été classée comme étant en faible-poids (IMC < 18.5 kg/m2) (**Fig.23).**

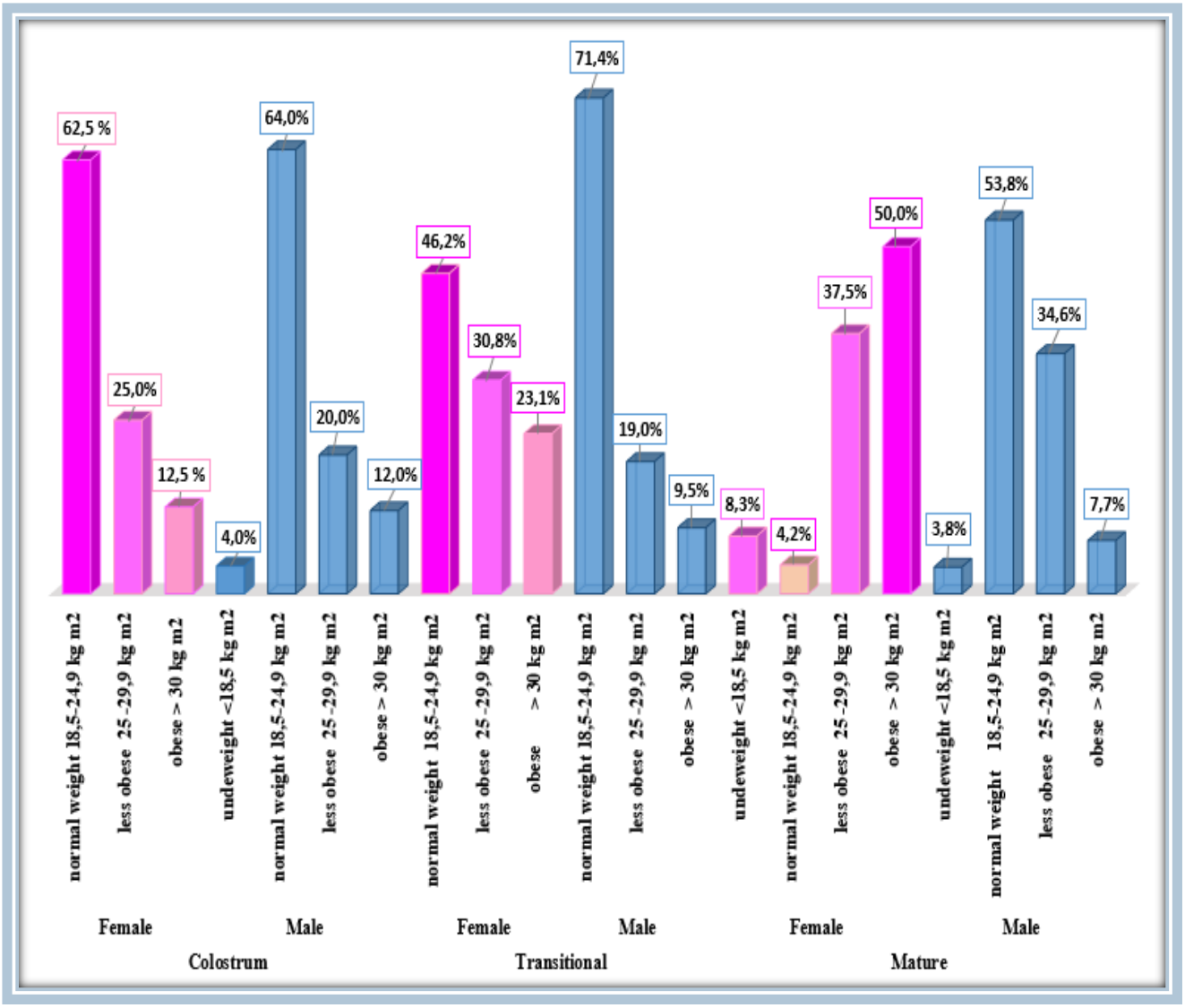


Fig. 23: Distribution de l'IMC des mères selon le sexe au cours des trois périodes de la lactation.

- ***Age gestationnel à la naissance :***

La naissance à terme a été la plus fréquente pour les deux groupes des mères au cours des trois périodes. Tandis que l'âge gestationnel à la naissance était pratiquement égal pour les mères ayant des nourrissons de sexe masculin et celles ayant des nourrissons de sexe féminin (**Fig.24).**

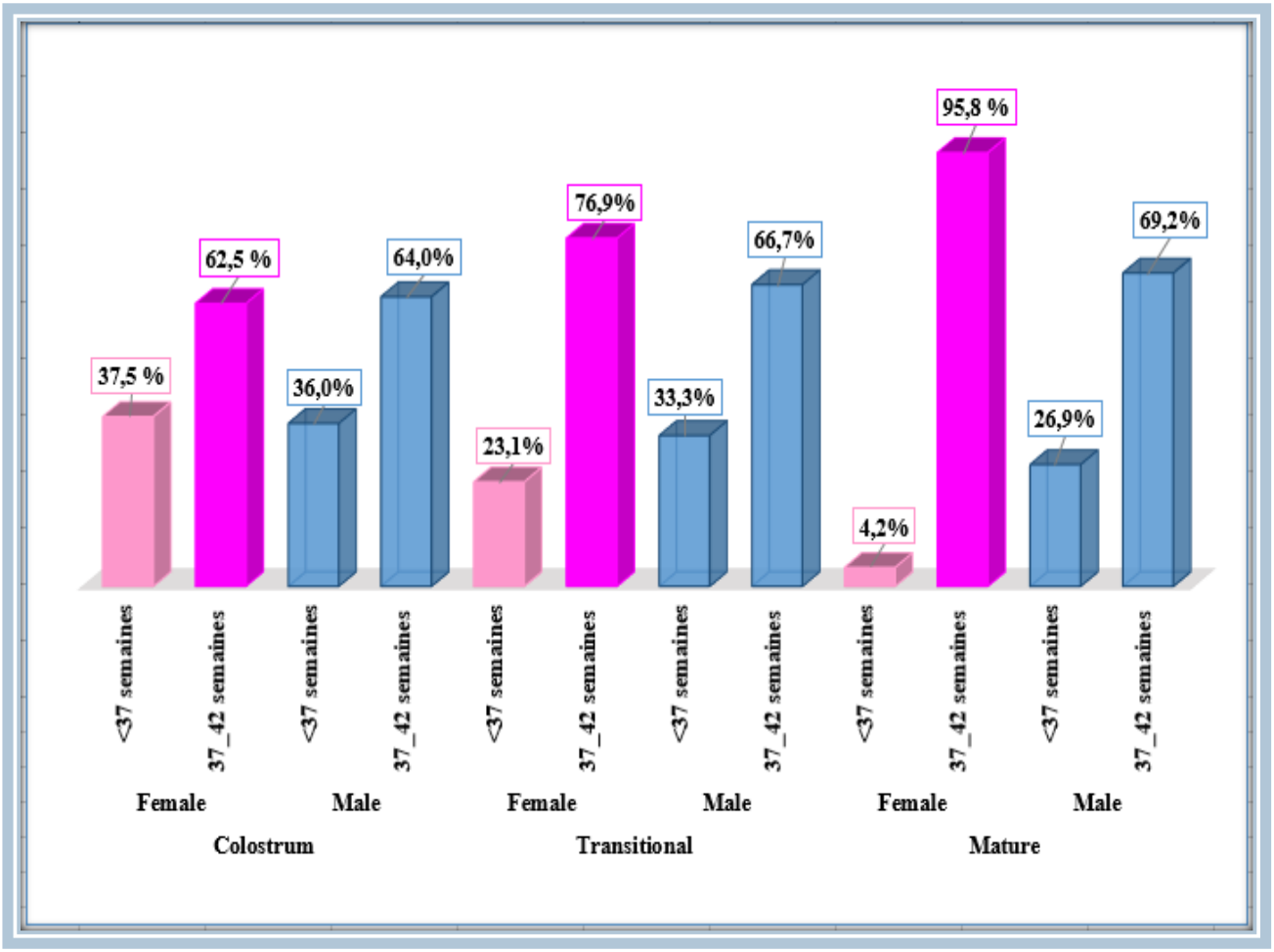


Fig. 24: Distribution de l'Age gestationnel des mères selon le sexe au cours les trois périodes de la lactation.

I.3. La composition physico-chimique du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différentes périodes de lactation :

I.3.1. PH du lait maternel :

La valeur moyenne du pH des échantillons de lait maternel analysé était .46±0.248 dans les LMDM, et 7.38±0.22 dans les LMDF dans le colostrum, de 7.19±0.32 pour les LMDM et 7.14±0.33 pour les LMDF dans lait de transition, et de 6.99±0.34 pour les LMDM et 6,95±0,37 dans les LMDF pour le lait mature **(Fig.25).**

Les valeurs du PH dans le colostrum, du lait de transition et du lait mature étaient donc relativement constantes, et nous n'avons noté aucune différence significative entre les LMDM et les LMDF (p> 0.05).

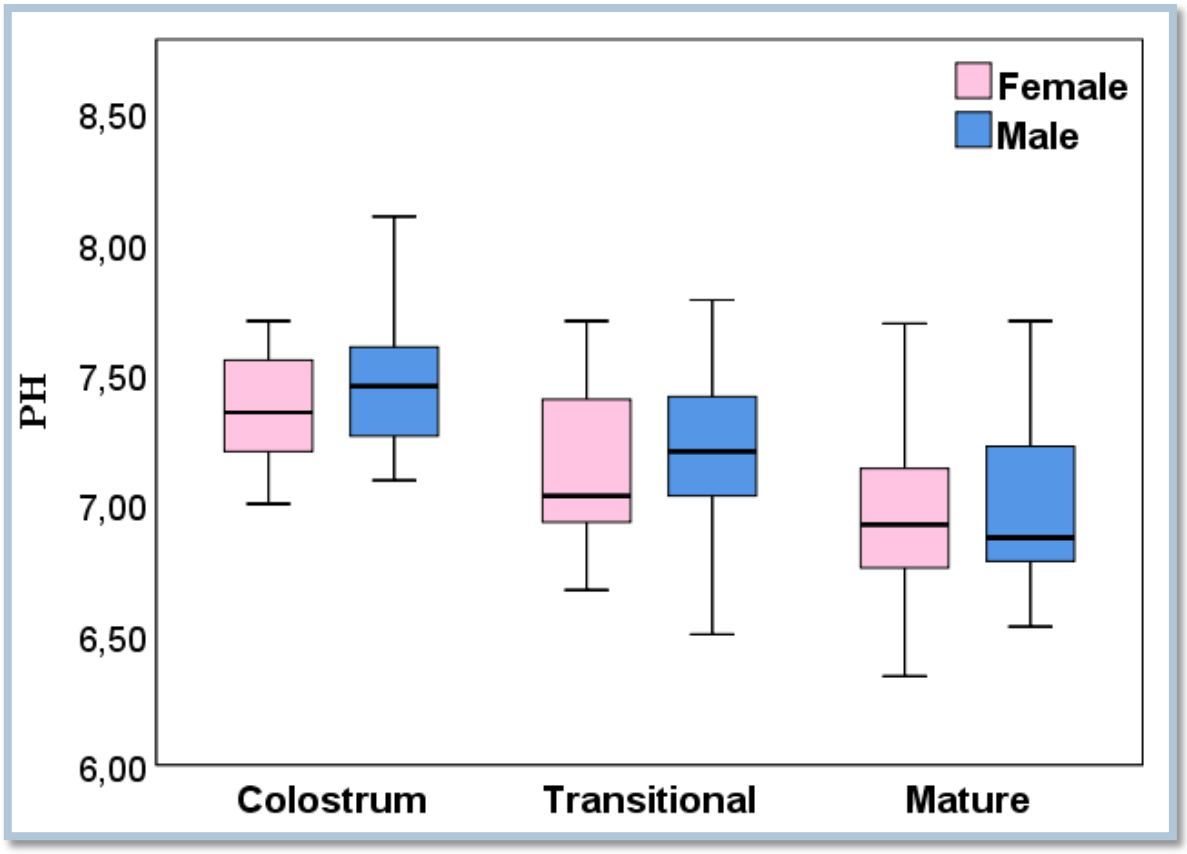


Fig. 25: Le PH du lait maternel pendant les trois périodes de lactation

Pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose), les boîtes à moustaches affichent le minimum, Le premier quartile, la médiane, le troisième quartile, le maximum
Les valeurs sont des moyennes (—), représentées par des barres verticales.

I.3.2. Détermination de la teneur en eau :

La quantité d'eau enregistrée dans le lait mature était plus élevée (88.68%) que dans le colostrum (86.1%) **(Fig. 26-A).**

La quantité d'eau était de 88.00 ±2.29 vs87.80 ± 2.59 dans le colostrum, de 87.91± 2.06 vs 88.71 ± 0.97 dans lait de transition et de 87.51 ±1.88 vs 87.67 ± 1.71 dans le lait mature, ce qui démontre des valeurs relativement constantes pour les LMDM et les LMDF. En effet, il n'y avait aucune différence significative concernant l'effet du sexe des nourrissons sur le pourcentage d'eau (p> 0.05) durant les trois périodes de lactation **(Fig. 26-A)** (p> 0.05).

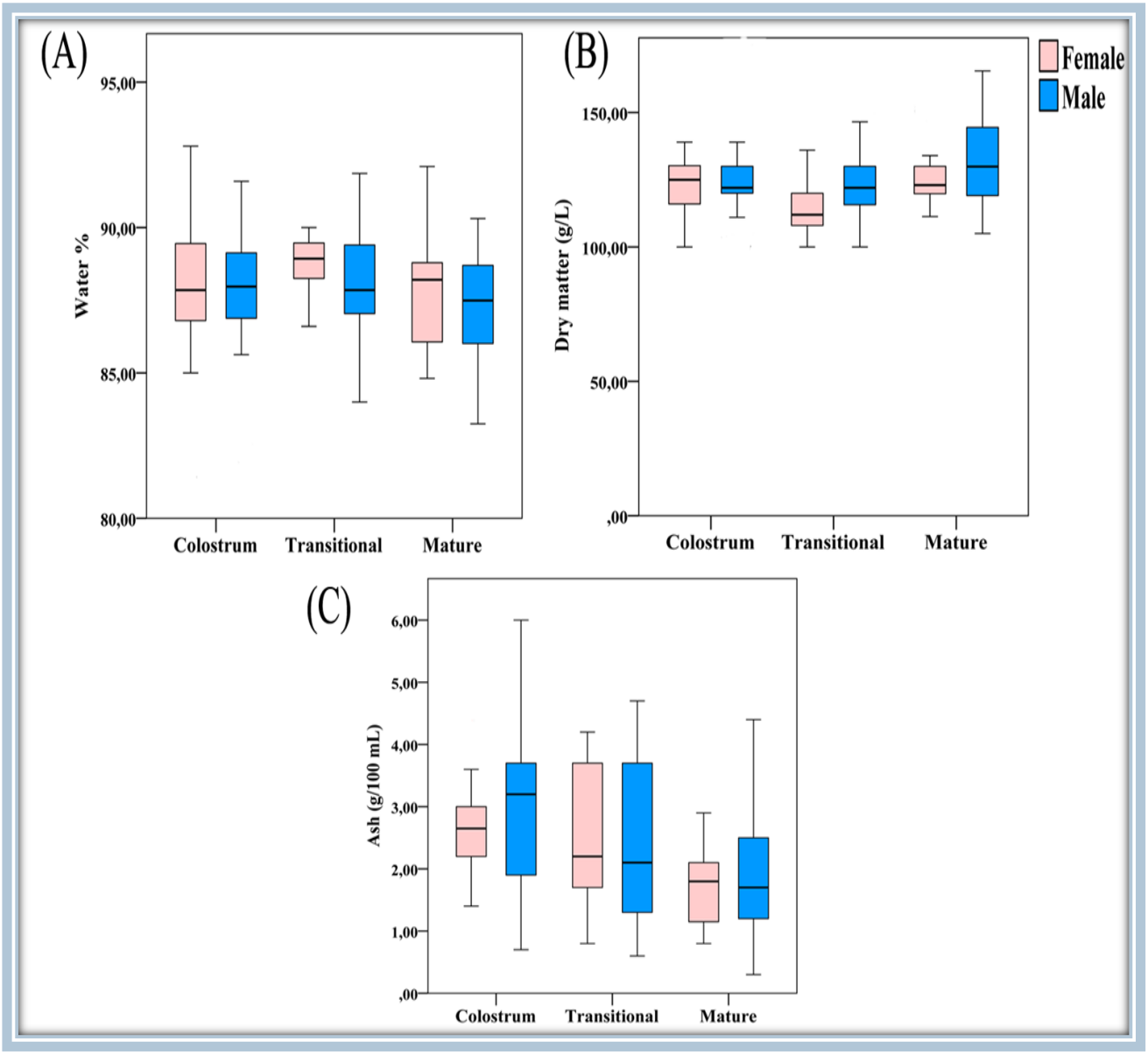


Fig.26: La composition en Eau, matière sèche et cendre du lait maternel des deux sexes.

La teneur totale en eau du LM (A), la concentration de la matière sèche du LM (B). La concentration de cendre du LM (C), Pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose), les boîtes à moustaches affichent le minimum, le premier quartile, la médiane, le troisième quartile, le maximum. Les valeurs sont des moyennes (—), représentées par des barres verticales.

I.3.3. Détermination de la matière sèche :

La teneur moyenne ±ET en matière sèche a été plus élevée dans les LMDM que dans les LMDF dans le colostrum, la période de transition et la période de maturité (respectivement (124.33±14.52 vs 122.44 ± 11.71g/l), (124.76±15.48 vs 114.86 ± 9.91 g/l) et (132.48±17.78 vs 125.80 ± 10.36 g/l) (**Fig.26-B).** La concentration de la matière sèche était plus faible pour les femelles. Les concentrations de matière sèche étaient plus élevées dans le lait mature que le colostrum et le lait de transition pour les deux sexes.

Nous avons également noté des différences statistiquement significatives dans les teneurs en matière sèche au cours de la période transitoire pour les deux sexes (p= 0.04). De plus, la teneur en matière sèche est statistiquement significative à la transition et à la maturité dans le lait destiné aux nourrissons femelles, mais pas chez celui des nourrissons mâles (p> 0.05).

I.3.4. Détermination des cendres :

La teneur moyenne ±ET en cendres des échantillons de LM était légèrement élevée dans le colostrum (3.17± 1.51vs 2.61 ± 0.78g/l) et diminuait à 2.48 ±1.25 vs2.53 ± 1.08 g/l dans le lait de transition avec des valeurs proches chez les deux sexes dans le lait mature (1.99 ± 1.27 vs 1.70 ± 0.55 g/l) (**Fig.26-C).** D'autre part, cette valeur était plus faible dans le colostrum et le lait mature des mâles par rapport aux femelles. Par contre, il n'y avait pas de différences statistiquement significatives dans les niveaux de cendres au cours des trois périodes pour les deux sexes (p> 0.05).

Nous avons noté toutefois une différence statiquement très significative entre la concentration des cendres de lait pour les LMDM (p =0.008) et LMDF (p=0.002) dans le colostrum et le lait mature. Des différences significatives existaient également dans les cendres du lait de transition et du lait mature destinés aux femelles (p =0. 01), mais pas pour les LMDM (p> 0.05).

I.4. Composition biochimique en macronutriments du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différentes périodes de lactation :

La moyenne ± ET de la composition biochimique et la valeur énergétique des échantillons de LM analysée pour les deux sexes des nourrissons à toutes les périodes de lactation sont présentées dans **le Tableau 06.**

Tableau 06 : Moyenne ± ET de la composition biochimique des macronutriments du lait maternel selon le sexe du nourrisson durant les différentes périodes de lactation

		Male			Female			
		Mean ±SD	F	IC 95 %	Mean ±SD	F	IC 95 %	P for difference
Fat %	Colos	2.16 ± 0.64		1.89 – 2.4226	1.86±0.73469		1.47 – 2.25	0.182
	Trans	2.57 ±0.98		2.12- 3.02	2.12± 0.96		1.54 – 2.70	0.203
	Mat	4.17 ± 1.35[f, i]		3.63 – 4.7234	3.30 ±1.108[f, h]		2.84 – 3.77	**0.01****
	Total	3.00 ±1.36	26.55***	2.68 – 3.33	2.58 ± 1.17	12.47***	2.25 – 2.90	
fat matter	Colos	24,89± 6,56			20,71± 5,76			**0,03***
	Trans	32,77±8,17			24,90±8,57			**0,01****
(g/l)	Mat	41,28±14,53			35,27±8,16			0,08
	Total	33.10 ± 1.36	15,437***		28.33 ± 9.95	19,214***		
Cholesterol (g/l)	Colos	100.0±88.60		63.42-136.57	118.12 ±115.54		56.55 – 179.69	0.663
	Trans	80.95±9.75		39.19 -122.7	72.30 ± 65.59		32.66 – 111.94	0.649
	Mat	52.69±38.22		37.26 -68.1281	74.95 ± 65.41		47.33 -102.58	0.289
	Total	77.36±7.11	2.54	59.24 -95.4818	87.33 ± 84.59	1.55	64.02 – 110.65	
Carbohydrate (g/l)	Colos	64.69 ±15.67		58.22 – 71.15	69.12 ± 12.09		62.67 -75.57	0.342
	Trans	69.56 ±12.45		63.89 – 75.23	67.88 ±13.68		59.61 – 76.15	0.917
	Mat	73.83 ± 8.05 [d]		70.57 – 77.08	75.66 ± 6.73		72.82 – 78.51	0.387
	Total	69.41 ±12.83	3.46*	66.39 – 72.42	71.78 ±10.88	3.06	68.78 -74.7838	
Lactose (g/l)	Colos	46.37± 9.51		42.45 -50.29	48.29 ± 7.35280		44.37 – 52.21	0.497
	Trans	49.71 ± 9.25		45.50- 53.91	52.91 ± 10.19		46.75 – 59.07	0.351
	Mat	58.34 ± 7.88[f, h]		55.15 – 61.53	61.39 ± 9.82 [f, g]		57.24 – 65.53	0.075
	Total	51.66 ±10.19	12.31***	49.27 – 54.06	55.35 ±10.76	10.23***	52.39 -58.32	
Glucose (g/l)	Colos	0.08 ± 0.06		0.06 – 0.11	0.07 ± 0.04		0.05 – 0.09	0.989
	Trans	0.10 ± 0.06		0.08 – 0.13	0.13 ± 0.08		0.08 – 0.19	0.193
	Mat	0.13 ± 0.08		0.09 – 0.16	0.18 ± 0.11[f]		0.14 – 0.23	**0.03***
	Total	0.10 ± 0.07	2.59	0.09 – 0.12	0.14 ± 0.10	7.71***	0.11 -0.17	
Total protein (g/l)	Colos	31.82 ±11.06		27.25 – 36.38	30.36 ± 15.08		22.32 – 38.40	0/517
	Trans	19.95 ± 7.43[c]		16.56 – 23.33	19.54 ± 7.31[b]		15.12 – 23.96	0/880
	Mat	15.64 ± 7.15 [f]		12.75 – 18.53	13.16 ± 3.96 [f]		11.48 – 14.83	0/466
	Total	22.51 ±11.17	22.88***	19.89 – 25.13	19.92 ± 11.81	16.09***	16.66 -23.17	
Wheyproteins (g/l)	Colos	24.07 ±10.54		19.72 -28.42	22.04 ± 12.66		15.30 – 28.79	0.497
	Trans	15.50 ± 5.54 [c]		12.97-18.02	13.37 ± 6.56 [a]		9.40 – 17.33	0.319
	Mat	10.48 ± 4.81 [f]		8.54 -12.42	8.65 ± 3.43[f]		7.20 -10.10	0.132
	Total	16.66 ± 9.38	21.39***	14.46 -18.87	13.85 ± 9.72	13.52***	11.17 -16.53	
Casein (g/L)	Colos	7.77 ±3.97		6,13 - 9,41	8.31 ± 3.47		6.45 -10.16	0.517
	Trans	4.45 ± 2.62 [b]		3,26 -5,64	6.17 ± 2.98		4.37 – 7.97	0.055
	Mat	5.16±3.27 [d]		3.84 – 6.4858	4.50 ± 2.15 [f]		3.59 -5.42	0.786
	Total	5.86±3.62	6.39**	5.01 – 6.71	6.06 ± 3.20	8.81***	5.18 – 6.94	
Energy(kcal/ l)	Colos	536.82±84.58		501.90 -571.74	501.02 ± 70.71		463.34 – 538.70	0.168
	Trans	573.55±91.37		531.96- 615.15	513.98 ± 89.42		459.94 – 568.02	0.072
	Mat	666.17±143.6[f, g]		608.14 -724.21	625.87 ±97.51[f, h]		584.69 – 667.05	0.600
	Total	594.25±123.3	9.12***	565.25 – 623.24	560.74 ± 105.33	12.01***	531.70 -589.77	

Systematic differences in the measured variables between different lactation period of BM male and female were calculated using general linear hypothesis test post hoc (Tukey's all pair comparisons).Values with different alphabets are significantly different among the groups by ANOVA one way at:*$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$

a : *P < 0.05 colostrum vs. transitional milk, **d:** *P < 0.05 colostrum vs. mature milk **g:** *P < 0.05 transitional vs. mature milk,

b : **P < 0.01 colostrum vs. transitional milk, **e:** **P < 0.01colostrum vs. mature milk **h:** **P < 0.01 transitional vs. mature milk.

c: ***P < 0.001 colostrum vs. transitional milk **f:** ***P< 0.001colostrum vs. mature milk **i:** ***P < 0.001 transitional vs. mature milk

Overall p-value is associated with

I.4.1. Détermination des lipides totaux (%) et de la matière grasse (g/L) :

La détermination de la teneur en matière grasse dans les échantillons de LMDM et celle des LMDF révèle respectivement une moyenne de 24.89± 6.56 vs 20.71± 5.76 g/ L (p=0.03) dans le colostrum, et ce, à partir du 6ème jour d'allaitement. Cette valeur a augmenté à 32.77±8.17vs 24.90±8.57g/ L (p=0.01), avec une différence significative dans le colostrum et et 41.28±14.53 vs 35.27±8.16 g/L dans le lait de transition (**Tableau 06**).

D'autre part, la concentration de la matière grasse était plus élevée dans les LMDM que dans les LMDF pendant toute la période de lactation (**Tableau 06**) avec une différence statistique très significative (p<0.001).

La teneur en **lipides totaux** dans le colostrum est passée de 2.16±0.64 vs1. 86±0.73% (p= 0.182) à 2.57±0.98 vs2.12±0.97% dans le lait transitoire pour les deux sexes (p= 0.203). La concentration des lipides dans le LMDM a atteint la valeur la plus élevée au stade de maturité (4,18±1,35 %), et était plus élevée que dans le LMDF (3.31±1.11 %), démontrant une différence statistique significative (p = 0.01) **(Fig. 27- H)**.

Nos résultats ont également montré que la moyenne ± ET de la teneur en lipides totaux pendant toute la période de lactation dans le LMDM était de 3.00 ±1.36 % (p< 0.001), et 2.58 ± 1.17 % pour le LMDF (p< 0.001). La comparaison des lipides totaux a démontré que leurs valeurs étaient plus élevées dans le LMDM, avec une différence statistique très significative (p<0.001), et ce, durant toute la période de lactation.

I.4.2. Détermination du cholestérol :

La concentration moyenne ±ET **du cholestérol** dans le LMDM était plus élevée dans le **colostrum (**100.0±88.60g/L) des LMDF (118.13±115.54 g/L) (p= 0.663). Cette valeur a diminué dans le lait de transition pour les deux sexes (80.95±91.76 vs. 72. 31±65.59 g/L) (p= 0.649), pour atteindre son niveau le plus bas dans le lait mature (52.69±38.2vs. 74. 96±65.4 g/L) (p= 0.289) (**Tableau 06)**.

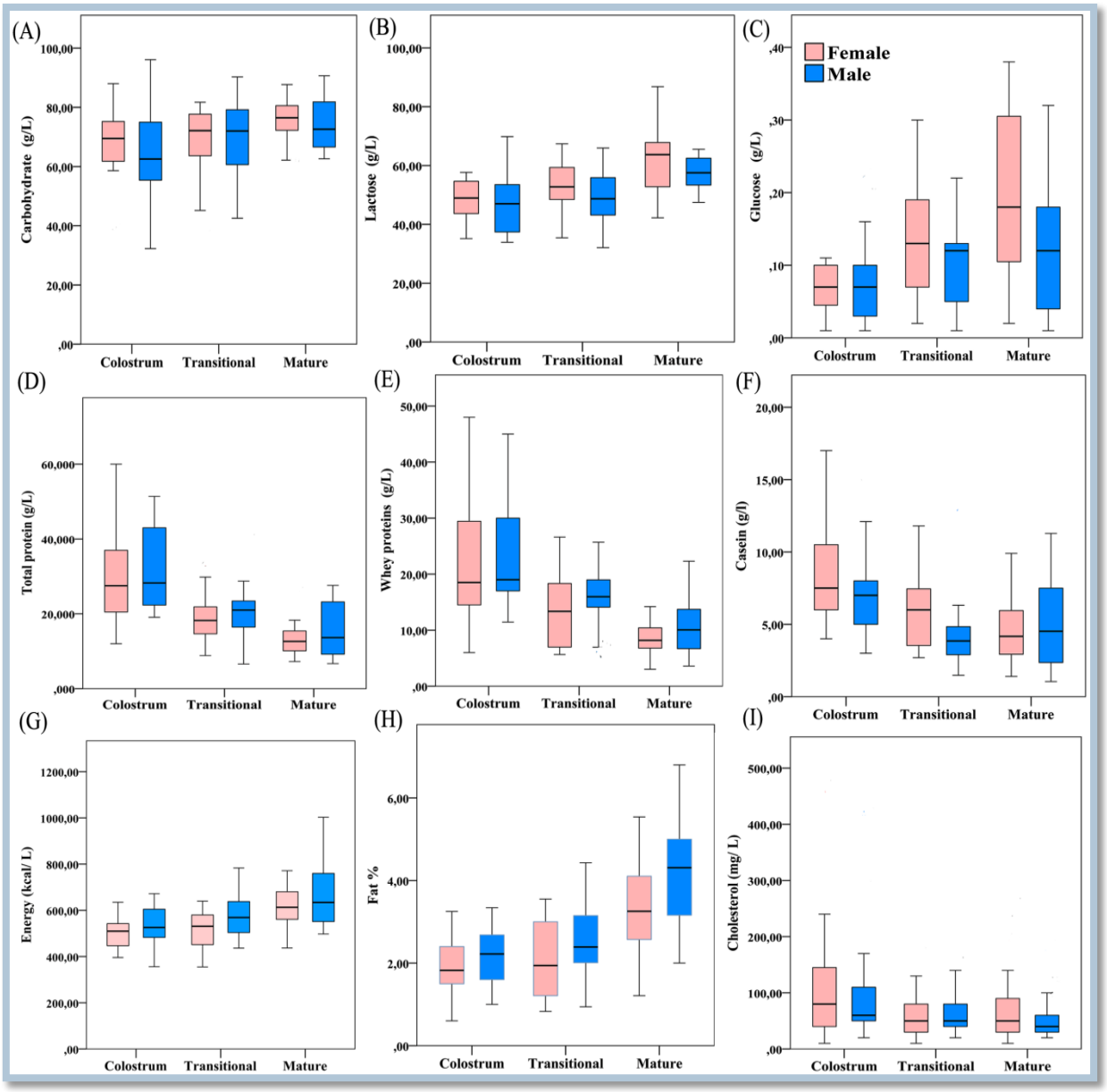


Fig.27 : Composition biochimique et énergie des LM entre les mères allaitantes mâles et celles des nourrissons femelles pendant trois périodes de lactation.

Teneur en glucides du lait maternel (A), concentration en lactose du lait maternel (B), concentration en glucose du lait maternel (C), concentration en protéines du lait maternel (D), concentration en protéines du lactosérum du lait maternel (E), concentration en caséine du lait maternel (F), teneur énergétique du lait maternel (G) teneur en matières grasses du lait maternel (H)), concentration de cholestérol du lait maternel (I), pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose) BM sont indiqués, les boîtes à moustaches affichent le minimum, le premier quartile, la médiane, le troisième quartile, le maximum et les valeurs aberrantes. Les valeurs sont des moyennes (—), représentées par des barres verticales.

La concentration du cholestérol total dans le LMDF était supérieure à celui des LMDM **(Fig. 27- I).** Cependant, il n'y avait aucune différence significative dans les concentrations du cholestérol durant les différentes périodes de lactation (p> 0.05).

Nos résultats ont montré également qu'il n'y avait aucune différence significative dans la concentration en **cholestérol** dans le LMDM : 77.36±7.11 mg/L (p=0.08), et celui du LMDF : 87.33 ± 84.59 mg/L (p= 0.22) pendant toutes les périodes de lactation (p> 0.05).

I.4.3. Détermination de la teneur en glucides « carbohydrates » et en lactose:

Les concentrations moyennes ±ET des glucides et de lactose dans les échantillons de LM pour les mâles et les femelles étaient élevées de façon significative dans le colostrum (64.69 ± 15.67)vs (69.13±12.09) g/L (p=0.342) et (46.37 ±9.51) vs (48.29±7.35) g/L (p=0.497) à (69.56 ±12.45) vs (67.88 ±13.68)g/L(p=0.917) et (49.71 ± 9.25) vs (52.91 ± 10.19)g/L (p=0.351) dans le lait transitoire, pour atteindre la valeur la plus élevée dans le lait mature (73.83 ± 8.05) vs (75.66 ± 6.73) (p=0.387) et (58.34 ± 7.88) vs (61.39 ± 9.82)g/L (p=0.07) respectivement (**Tableau 06)**.

La concentration des glucides et du lactose dans le colostrum des LMDF était plus élevée que dans le LMDM **(Fig. 27- A, B),** alors qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différentes périodes de lactation "colostrum, transition, mature" (p> 0.05).

Durant toutes les périodes de lactation, la concentration moyenne des glucides et du lactose du LMDM étaient de 69.41 ±12.83 g/L (p =0.03), 51.66 ±10.19 g/L (p< 0.001), et pour les LMDF 71.78 ±10.88 g/l (p = 0.05), 55.35 ±10.76 g/L (p< 0.001). La concentration glucidique était plus élevée avec des différences significatives dans le LMDF (p =0.05).

D'autre part, la concentration totale de lactose dans le LM était plus élevée pour les femelles durant toutes les périodes de lactation, avec une différence statistiquement significative entre les deux sexes (p< 0.001).

I.4.4. Détermination de la teneur en glucose :

Les concentrations de glucose du **colostrum** étaient presque similaires dans le LMDM (0.080 ±0.06) et LMDF (0.07± 0.04) g/L (p =0.989). Dans le lait de transition elles étaient plus élevées dans les LMDF (0.13±0.08) g/L que dans les LMDM (0.10 ± 0.06)g/L (p=0.193), pour atteindre la valeur la plus élevée dans le lait mature : 0.18 ± 0.11g/L pour LM DF vs 0.13 ± 0.08g/L pour LMDM (**Fig. 27- C),** présentant ainsi des différences significatives entre les deux sexes (p =0.03).

Durant toutes les périodes de lactation, la moyenne ±ET totale en glucose était plus élevée dans le LMDF (0.14 ± 0.10 g/L) (p = 0.001) que dans le LMDM (0. 10 ± 0. 07g/L) (p =0.08), avec des

différences plus importantes dans les concentrations de glucose chez les LMDF (p<0.01) que pour les LMDM (p=0.08) **(Tableau 06).**

I.4.5. Protéines Totales, protéines du lactosérum et protéines insoluble "Caséines":

La teneur en protéines totales était plus élevée dans le **colostrum** des LMDM par rapport aux LMDF (31.82 ±11.06 g/Lvs. 30.36 ± 15.08g/L) (p=0.51). Cette valeur a diminué dans le lait de transition avec des valeurs pratiquement égales pour les deux sexes (19.95 ± 7.43 vs 19.54 ± 7.31 g/L) (p= 0.880). Dans le lait mature, elle était de 15.64 ± 7.15g/L pour les LMDM et 13. 16 ± 3.96 g/L pour LMDF (p=0.466); la teneur en protéines dans le LMDF était plus faible dans le colostrum et les périodes de maturité que dans le LMDM **(Fig. 27- D).**

La concentration moyenne ± ET des **protéines du lactosérum** de tous les échantillons de LM était élevée dans le colostrum (LMDM : 24.07 ± 10.54 vs LMDF : 22.04 ± 12.66 g/L) (p = 0.497), puis a diminué dans le lait de transition (LMDM : 15.50 ± 5.54 vs LMDF : 13.37 ± 6.56 g/L) (p= 0.319) et le lait mature (LMDM : 10.48 ± 4.81 vs LMDF : 8. 65 ± 3.43 g/L) (p= 0.132).

Les concentrations les plus élevées des protéines du lactosérum ont été observées dans le LMDM durant la période du colostrum. Par contre, il n'y avait aucune différence significative dans les concentrations des protéines totales et des protéines du lactosérum entre les deux sexes durant les différentes périodes de lactation (p> 0.05) **(Fig. 27 - E).**

Les concentrations des protéines totales et des protéines du lactosérum dans toutes les périodes étaient plus élevées dans le LM destiné aux mâles, avec une différence statistiquement significative entre les deux sexes (p< 0.001) (**Tableau 06).**

La teneur en **caséines** des échantillons de LM variait progressivement pour les LMDM : 7.76 ± 3.97 et 8.31 ± 3.47 g/L (p = 0.51) pour les LMDF dans le colostrum, puis diminuait durant la transition dans le LMDM 4.45 ± 2.62 vs LMDF 6.17 ± 2.98 g/L (p= 0.05), pour atteindre les valeurs les plus faibles dans le lait mature (5.16±3.27 vs 4.50 ± 2.15 g/L pour les LMDF) (p= 0.78) **(Fig. 27- F).** Il n'existait pas de différence significative dans les concentrations de caséine du LMDM par rapport aux LMDF (p> 0.05) à chacune des périodes de lactation.

Nous avons par contre observé des concentrations élevées et statistiquement significatives de la **caséine** entre les deux sexes pendant toute la période de lactation (p<0.001).Ces concentrations étaient plus élevées dans le LMDF en comparaison à celui des LMDM, et ce, à toutes les périodes de lactation, avec une différence statistiquement significative entre les sexes (p< 0.001) (**Tableau 06).**

I.4.6. Détermination des substances azotées non protéiques « NPN » :

L'analyse des résultats obtenus montre que les teneurs en urée, en créatinine, et en acide urique des échantillons de LM analysés étaient égales à (0.23±0.08g/L, 10.47±4.95et 15.07±8.51) dans les LMDM, et (0.24±0.07g/L, 10.22±3.95et 16.46±9.32 mg/L) pour les LMDF dans le colostrum, variait entre (0.26±0.06g/L, 9.86±6.00,et 15.82±10.32mg/L) pour LMDM et (0.27±0.07g/L, 11.84±5.68et 15.79±10.79 mg/L) pour LMDF pour la période de transition, et étaient de 0.26±0.08g/L, 9.13±4.51et 11.82±5.70 mg/L dans LMDM et (0.25±0.08g/L, 10.54±5.55 et 24.93±81.05mg/L dans celui des LMDF durant la période de maturité **(Fig.28 A,B-C).**

Les valeurs des NPN enregistrées dans le colostrum, le lait de transition et le lait mature étaient restées relativement constantes, et il n'y avait aucune différence significative entre les deux sexes (p> 0.05).

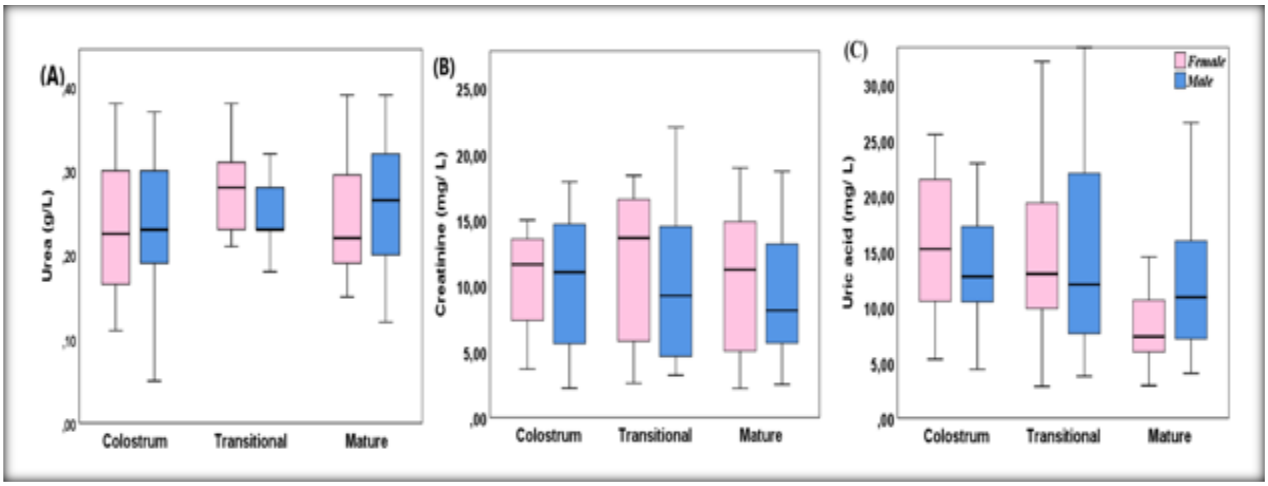


Fig.28: Composition en substances azotées non protéiques « NPN» du lait maternel humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation.

Concentration en urée du lait maternel (A), concentration en créatinine du lait maternel (B), concentration en acide urique du lait maternel (C), pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose) BM sont indiqués, les boîtes à moustaches affichent le minimum, le premier quartile, la médiane, le troisième quartile, le maximum.

Les valeurs sont des moyennes (—) représentées par des barres verticales.

I.5. Estimation de l'apport énergétique du lait maternel :

Comme indiqué dans le **Tableau 06,** nous avons noté une forte augmentation de la teneur en énergie dans les LMDM (594.25±123.3kcal/L) par rapport aux LMDF (560.74 ± 105.33 kcal/L) durant toute la période de lactation. Par contre, il n'y avait aucune différence significative dans les valeurs énergétiques entre les deux sexes à chaque période de lactation (p> 0.05) **(Fig. 27- G).**

Les valeurs étaient plus élevées dans le LMDM que dans le LMDF à toutes les périodes de lactation **(Tableau 06)**, avec une différence statistiquement significative entre les deux sexes (p< 0.001).

I.6. Dosage des minéraux :

La moyenne ± ET de la composition minérale selon le sexe des nourrissons à chaque stade de lactation est présentée dans **le Tableau 07,** les concentrations ont été exprimées en mg/L.

Tableau 07 : Comparaison des concentrations des éléments minéraux du lait maternel humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation

Infant'sgender		Male			Female			P for difference
		Mean ±SD	F	Sig	Mean ±SD	F	Sig	
Minerals (%)	**Colostrum**	2.55 ±1.20			2.13 ±0.78			0.22
	Transition	1.98 ±1.10			2.21 ±1.08			0.19
	Mature	1 .57 ±0.97 [e]			1.35 ±0.47[e,h]			0.64
	Total	2.03 ±1.15	5.18	**0.008**	1.80 ± 0.84	7.80	**0.001**	
Sodium (Na) (mg/L)	**Colostrum**	464.2 ±443			418 ±230			0.70
	Transition	332.0 ±133			435.2 ±247			0.31
	Mature	262.5 ±136 [d]			285.5 ±193			0.33
	Total	352.8 ±292	3.31	**0.04**	358.8 ± 224	2.54	0.08	
Potassium (K) (mg/ L)	**Colostrum**	516.9 ±175			596.9 ±202			0.18
	Transition	489.1 ±105			572.0 ±209			0.29
	Mature	442.4 ±197			383.8 ±129 [f , h]			0.34
	Total	481.9 ±168	1,28	0,28	494.3 ±199	8.81	**0.001**	
Calcium (Ca) (mg/L)	**Colostrum**	224.0 ±71.2			243.5±82.2			0.42
	Transition	198.4 ±59.5			221.9 ±71.0			0.30
	Mature	186.0 ±50.3			207.3 ±69.8			0.22
	Total	202.8 ±62.2	2.56	0.08	221.8 ±74.2	1.14	0.32	
Magnesium (Mg) (mg/L)	**Colostrum**	33.14 ±7.98			31.6 ±4.76			0.87
	Transition	31.47 ±6.75			29.1 ±3.17			0.23
	Mature	32.48 ±9.75			31.1 ±5.20			0.91
	Total	32.4 ± 8.26	0.23	0.79	30.8 ±4.67	1.22	0.30	

Systematic differences in the measured variables between different lactation period of BM male and female were calculated using general linear hypothesis test post hoc (Tukey's all pair comparisons).Values with different alphabets are significantly different among the groups by ANOVA one way at:*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

a : *P < 0.05 colostrum vs. transitional milk, **d:** *P < 0.05 colostrum vs. mature milk **g:** *P < 0.05 transitional vs. mature milk,
b : **P < 0.01 colostrum vs. transitional milk, **e:** **P < 0.01colostrum vs. mature milk **h:** **P < 0.01 transitional vs. mature milk.
c: ***P < 0.001 colostrum vs. transitionalmilk**f:** ***P< 0.001colostrum vs. maturemilk**i:** ***P < 0.001 transitional vs. maturemilk

Dans notre étude, les niveaux des minéraux étaient :

- Plus élevés dans le colostrum pour LMDM et LMDF (2.55 ± 1.20 %et 2.13 ± 0.78 % respectivement), par rapport à la période de maturation (1.57 ± 0.97 % vs 1.35 ± 0.47 %) (**Fig.27 A-B**), sans différence significative (p> 0.05).
- Plus élevées dans le LMDM (2.03 ± 1.15) à toutes les périodes de lactation (1. 80 ± 0. 84) avec une valeur hautement significative (p = 0.008 vs. p<0.001) **(Tableau 07).**
- La concentration moyenne ± ET du Na atteint la valeur la plus élevée au stade de **colostrum** pour LMDM 464.2 ±443, par apport au LMDF 418 ±230 **(Tableau 07)**, puis diminue dans le lait de transition pour les deux sexes (332.0 ±133; 435.2 ±247), pour atteindre son niveau le plus bas dans le lait mature (262.5 ±136 ; 285.5 ±193).
- La moyenne ± ET de Na était plus élevée dans les échantillons de LMDF que dans les échantillons de LMDM pendant la période transitionnelle et mature. Cependant, Il n'y avait aucune différence significative dans les concentrations du Na durant la période de lactation (p> 0.05).

La comparaison des colostrums indique que la teneur en **potassium et en calcium** étaient élevées durant cette période (**K:**596.9 ± 202 vs 516.9 ± 175 mg/L ; p = 0.18), (**Ca:**243.5 ± 82.2 vs 224.0 ± 71.2 mg/L ; p= 0.42) puis diminuaient dans le lait de transition (**K:**572.0 ±209 vs 489.1 ±105 mg/L ;p= 0,29), (**Ca:** 221.9 ±71.0 vs 198.4 ±59.5 mg/L ; p=0.30) et dans le lait mature chez les deux sexes (**K:**383.8 ±129 vs 442.4 ±197 mg/L ;p =0.46), (**Ca:**207.3 ±69.8 vs 186.0 ±50.3 mg/L; p=0.22).

Nous n'avons noté aucune différence significative à chaque période de lactation « colostrum, transition et mature » (p> 0.05). Les teneurs en potassium et en calcium dans le LMDF étaient plus élevées que dans LMDM durant toute la période de lactation, avec une teneur significativement élevée en potassium (p = 0.001) **(Fig.29 A-D).**

La teneur moyenne ± ET en magnésium était plus élevée dans le LMDM **(Fig.29 E).** Dans le colostrum et le lait mature, les valeurs étaient presque similaires pour le LMDM (C : 33.14 ± 7.98 mg/L ; M : 32.48 ± 9.75 mg/L) et le LMDF (C : 31.6 ± 4.76 mg/L ; M : 31.1 ± 5.20 mg /L) respectivement. Il n'y avait pas de différence significative dans la teneur en magnésium pour les deux sexes (p> 0.05) durant toute la lactation (**Tableau 07**).

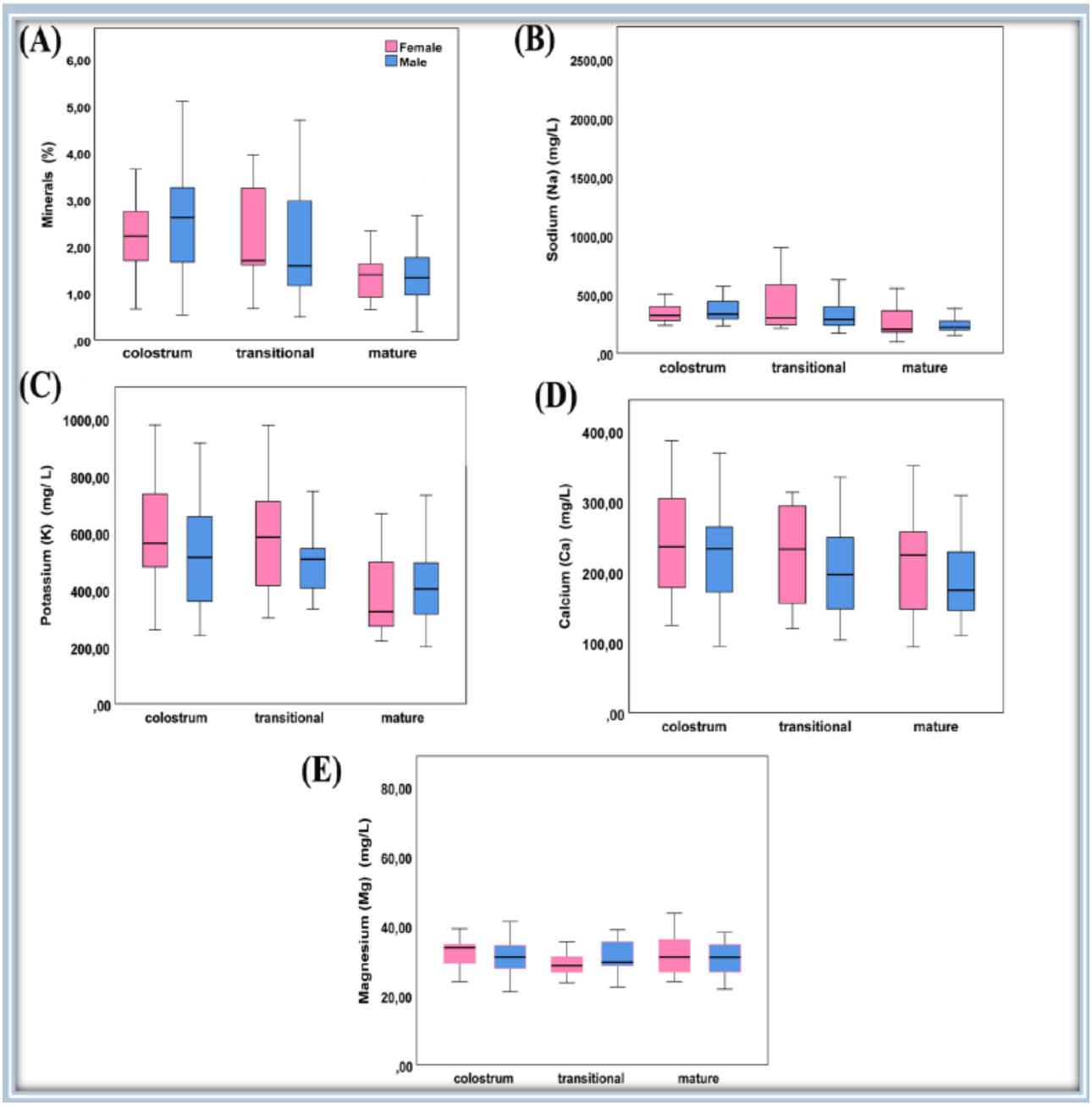


Fig.29: Composition en minéraux du lait maternel destiné aux nourrissons Mâles et Femelles pendant les trois périodes de lactation.

La teneur totale en minéraux du LMDM et LMDF (A), la concentration en sodium du LMDM et LMDF (B), la concentration en potassium du LMDM et LMDF (C), la concentration en calcium du LMDM et LMDF (D), la concentration en magnésium du LMDM et LMDF (E), pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose) LM sont indiqué, les boîtes à moustaches affichent le minimum, le premier quartile, la médiane, le troisième quartile, le maximum et les valeurs aberrantes. Les valeurs sont des moyennes (—), représentées par des barres verticales.

I.7. Associations entre la composition biochimique LMDM / LMDF et les trois périodes de lactation « Test post hoc » :

Comme indiqué dans le **Tableau 06,** la comparaison entre la composition en lipides pour les LM des deux sexes étaient très hautement significative dans le colostrum et le lait mature (p<0.001), et hautement significative entre le lait de transition et lait mature pour le LMDM (p<0.001) et le LMDF (p =0.003).

Par ailleurs, il n'y avait aucune différence significative concernant le cholestérol entre le LMDM et le LMDF durant les trois périodes de lactation (p> 0.05).

Le **Tableau 06** montre également qu'il existait une différence statiquement significative pour les **glucides** dans le colostrum et le lait mature destiné aux nourrissons mâles (p =0.02), mais aucune différence significative n'a été notée pour les trois périodes dans les glucides du LMDF (p> 0.05).

Le LM destiné pour les deux sexes présentait une différence très hautement significative dans la composition en lactose dans le colostrum et le lait mature (p<0.001). Il y avait également une différence hautement significative dans le lait de transition et le lait mature destinées aux des mâles (p = 0.004) par rapport au LMDF.

Il existait également des différences très hautement significatives dans la composition en **glucose** du colostrum et le lait mature (p<0.001), alors qu'aucune différence statistiquement significative n'a été notée dans le LMDM durant toute la période de lactation (p> 0.05).

Nous avons constaté qu'il existait des différences très hautement significatives dans la composition en protéines totales, protéines de lactosérum entre le colostrum et la transition pour le LMDM (p<0.001) par rapport au LMDF (p = 0.009, p = 0.01). Concernant le colostrum et le lait mature, il existait des différences très significatives entre les deux sexes (p<0.001).

Il y avait également des différences hautement significatives entre **la caséine** du colostrum et celle du lait de transition destinées aux nourrissons sexe masculin (p = 0.004), par contre, aucune différence significative n'a été notée dans le lait destiné aux femelles (p> 0.05). Cependant, il existait des différences très hautement significatives entre le colostrum et le lait mature (p<0.001).

La valeur énergétique du lait maternel des deux sexes présentait statiquement une différence très hautement significative entre le colostrum et la période de maturité (p <0.001). Il s'agit surtout d'une différence hautement significative dans le LMDF entre la période de transition et la période de maturité (p = 0.002) (p = 0.01 pour les LMDM).

I.8. Associations entre la composition minérale des LMDM / LMDF et les trois périodes de lactation « Test post hoc » :

La différence dans la teneur en minéraux totaux était statiquement très significative entre le colostrum et la période de maturité dans le LM des deux sexes (p = 0.006) comme le montre **Tableau 07**. Cependant, dans le lait maternel destiné aux femelles, la teneur en minéraux totaux étaient hautement significative (p = 0.005) entre les périodes transitoire et mature.

Nous avons aussi noté une différence statiquement significative entre la concentration sodique du colostrum et le lait maternel mature pour les nourrissons mâles (p = 0.03), tandis qu'il n'y avait aucune différence significative dans les teneurs en sodium, calcium et magnésium dans le LM destinées pour les nourrissons de sexe féminin sur les trois périodes de lactation (p> 0.05).

Le **Tableau 07** montre également des différences très hautement significatives dans la concentration potassique du LMDF entre le colostrum et la période de maturité (p = 0.001), ainsi qu'une différence hautement significative entre la période transitoire et le lait mature destinés aux nourrissons femelles (p = 0.008). Par contre, il n'y avait aucune différence statistiquement significative dans les concentrations en potassium, calcium et magnésium du lait maternel destiné pour les nourrissons mâles, au cours des différentes périodes de lactation (p> 0.05).

I.9. Corrélation entre la composition biochimique du LMDM / LMDF et la lactation :

- **Corrélation au cours les trois périodes de lactation :**

Les niveaux des lipides dans le lait maternel a révélé qu'il existait une forte corrélation avec l'énergie chez les deux sexes (**Tableau 08**) r : 0.799;p<0.001 pour LMDM et r: 0.817; p<0.001 pour les LMDF dans le colostrum et dans le lait de transition r: 0.851;p<0.001 pour LMDM et r: 0.935; p<0.001 pour les LMDF, avec une différence très hautement significative. Ainsi qu'une corrélation positive entre les lipides et l'énergie a été enregistrée durant la période de maturité dans le LMDM (r: 0.938) avec une différence significative (p <0.001). Au contraire, dans les LMDF ce n'était pas significativement corrélé (p> 0. 05) (**Tableau 08**).

Les concentrations des glucides dans la période de colostrum étaient négativement corrélées avec les concentrations de protéines totales, et les protéines du lactosérum, pour le LMDM (r: - 0.403;p= 0.04),(r:- 0.438;p = 0.02) avec des différences significatives; et pour les LMDF (r: - 0.789;p <0.001),(r: - 0.731;p <0.001) avec une différence très hautement significative.

Durant la période de la transition, la corrélation était négativement moyenne dans le LMDM (r:- 0.493;*p* = 0. 02) (r:- 0.528;*p* = 0.01) avec des différences significatives. Par contre, le LMDF n'était pas significativement corrélé (**Tableau 08)**. La période mature n'était pas significativement corrélé non plus (*p* > 0. 05) pour les deux sexes.

Tableau 08 : Corrélation entre la composition biochimique du LMDM et LMDF au cours des trois périodes de la lactation

Composition biochimiques	**Colostrum**		**Transition**		**Mature**	
	Male	**Femelle**	**Male**	**Femelle**	**Male**	**Femelle**
Lipide & énergie	**0.779*****	**0.817*****	**0.851*** **	**0.935*** **	**0.938*****	NC
Glucides & Protéines T	**¨0.403***	**- 0.789*****	**-0.493***	NC	NC	NC
Glucides &Prot Lactosérum	**- 0.438***	**- 0.731*****	**-0.528***	NC	NC	NC
Protéines T& énergie	NC	**0.508***	NC	NC	**0.394***	NC
Protéines T&Prot Lactosérum	**0.950*****	**0.984*** **	**0.960*** **	NC	NC	**0.840*****
Protéines T& Caséine	NC	**0.756*** **	**0.806*** **	NC	**0.775*****	**0.500** **
Energie & Protéines T	NC	**0.508***	NC	NC	**0.394***	NC
Energie & Prot Lactosérum	NC	**0 .525***	NC	NC	NC	NC

Les valeurs de *P* sont significativement différentes entre les trois périodes de lactation à :

*P < 0.05, ***P*< 0.01, ****P*< 0.001.

NC ; Non corrélé

La teneur en énergie était positivement corrélée avec les concentrations de protéines totales, et les protéines du lactosérum du LMDF (r: 0.508;*p* = 0. 04), (r: 0.525;*p* = 0. 03) avec des différences significatives; mais n'était pas significativement corrélée dans le LMDM au cours de la période du colostrum (*p*> 0.05).

Dans le lait de **transition** des deux sexes, il n'y avait aucune corrélation. Cependant, dans la période **mature,** la teneur en énergie était positivement corrélée avec les concentrations de protéines totales dans les LMDM (r : 0.394 ; *p* = 0.04) (**Tableau08**), tandis qu'elle n'était pas significativement corrélé dans le LMDF.

- **Corrélation pendant toute la période de lactation « 24 mois » :**

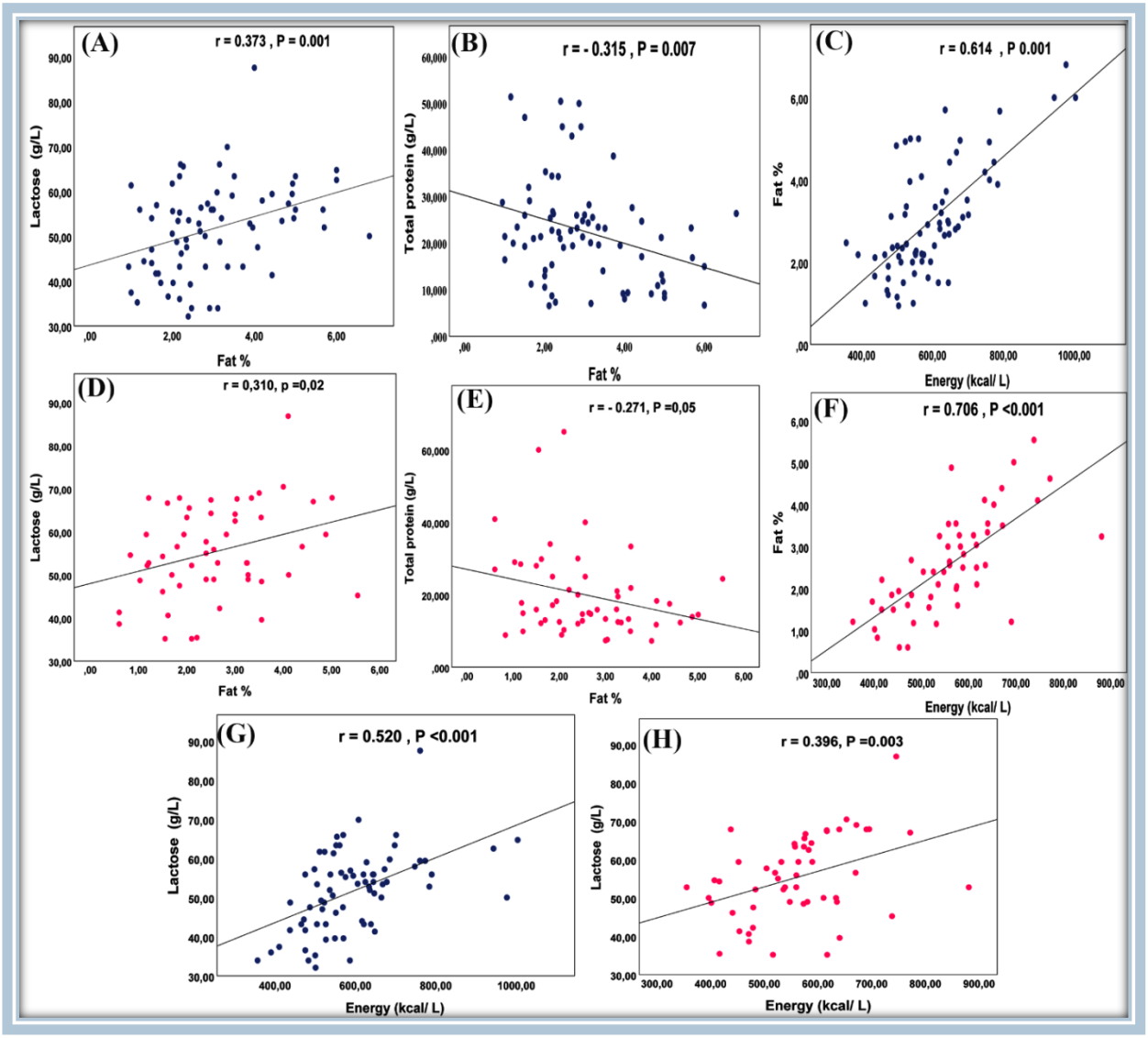


Fig. 30 : Régression linéaire de la composition en matières grasses LM et lactose, teneur en protéines totales Fig.29 (A-B-D-E).ET entre la composition énergétique LM et la teneur en matières grasses et en lactose Fig.30 (A-H).

Pendant toute la période de lactation, il a été constaté que la teneur **en lipide était** positivement corrélée avec les concentrations de lactose, aussi bien pour le LMDM (r=0.37) avec une différence très hautement significative (p=0.001) que pour le LMDF (r=0.31, p=0 .02) (**Fig. 30 A-D)** et corrélé négativement avec les protéines totales LMDM (r = - 0.31; p =0. 007) et les LMDF (r = - 0.27, p = 0. 05) **(Fig.30 B-E).**

La **Fig. 30 C-F** a révélé qu'il existait de fortes corrélations entre la teneur en lipides et l'énergie dans le LMDM (r = 0.61) et LMDF (r = 0.70), avec une différence très significative (p<0.001).

En revanche, il n'existait que des corrélations moyennes entre l'énergie dans le LMDM et le lactose (r=0.52), avec une différence très hautement significative (p<0.001). Pour le LMDF, il y avait une corrélation moyenne avec une différence très significative (r = 0.39, p = 0.003) au cours de la lactation (**Fig.30 G-H).**

- **Protéines totales, protéines de lactosérum, sexes de nourrissons et périodes de lactation**

Comme le montre la **Fig. 31 A-B; D-E**, il existait une grande corrélation entre les protéines totales, les protéines du lactosérum et la caséine dans le LMDM (r = 0. 942), (r = 0.695) et dans le LMDF (r = 0.974), (r = 0.730) avec une différence très hautement significative (p < 0.001). Il existait également des corrélations moyennes entre les protéines du lactosérum et la caséine dans le LMDM (r = 0.483) et chez les LMDF (r = 0.557) avec une différence très hautement significative (p< 0.001) **(Fig.31 C-F).**

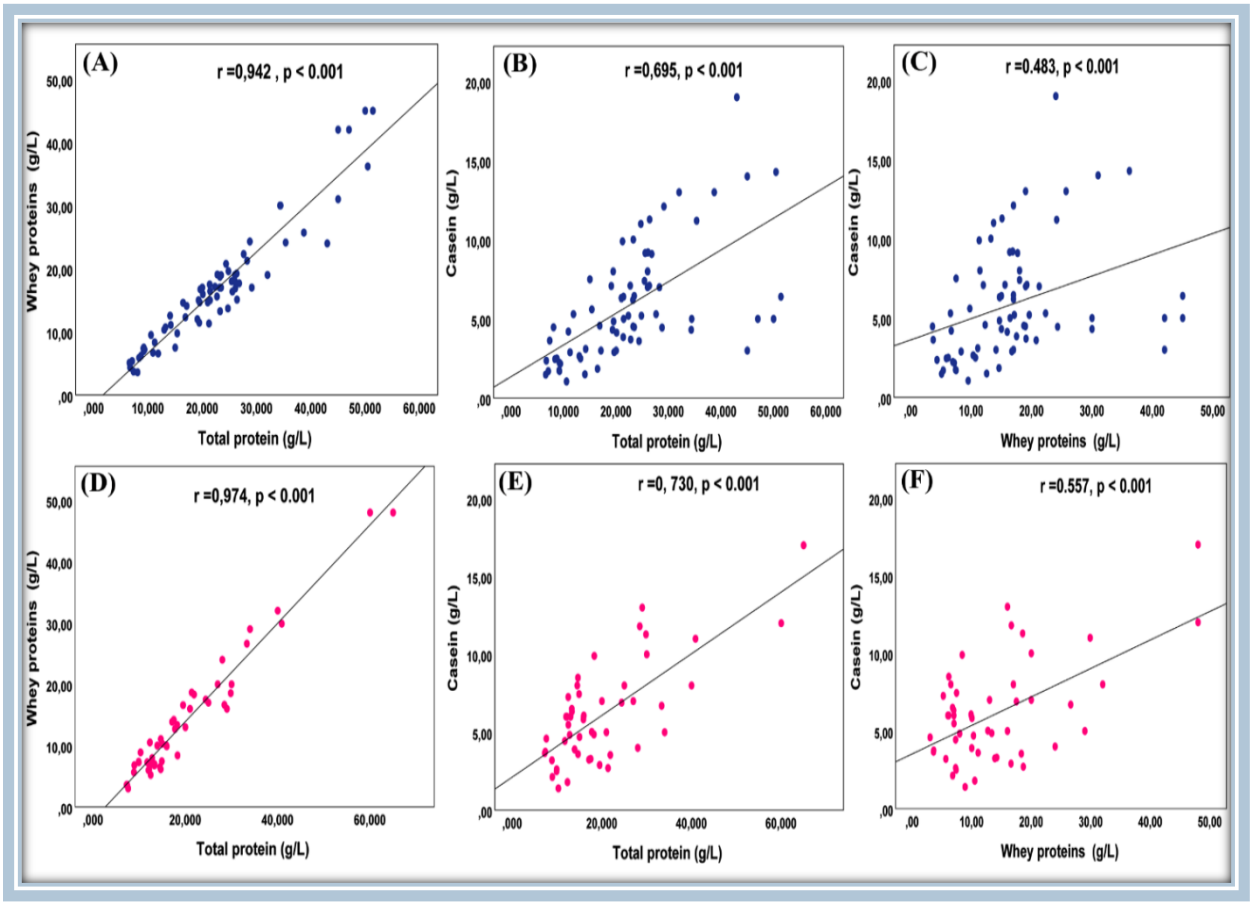


Fig.31: Régression linéaire des protéines totales, des protéines de lactosérum et de la teneur en caséine du LM dans toutes les périodes de lactation **Fig. 31:** (A-F).

I.10. Corrélation entre les minéraux du LMDM et LMDF et la lactation:

- **Corrélation au cours les trois périodes de lactation :**

Notre étude a montré que dans le **colostrum** destiné aux nourrissons de sexe masculin, il existait une forte corrélation entre le sodium et les minéraux (r = 0.732), ainsi que le magnésium et le potassium (r = 0.671), avec des différences très hautement significatives (p<0.001) **(Fig.32 A-B).**

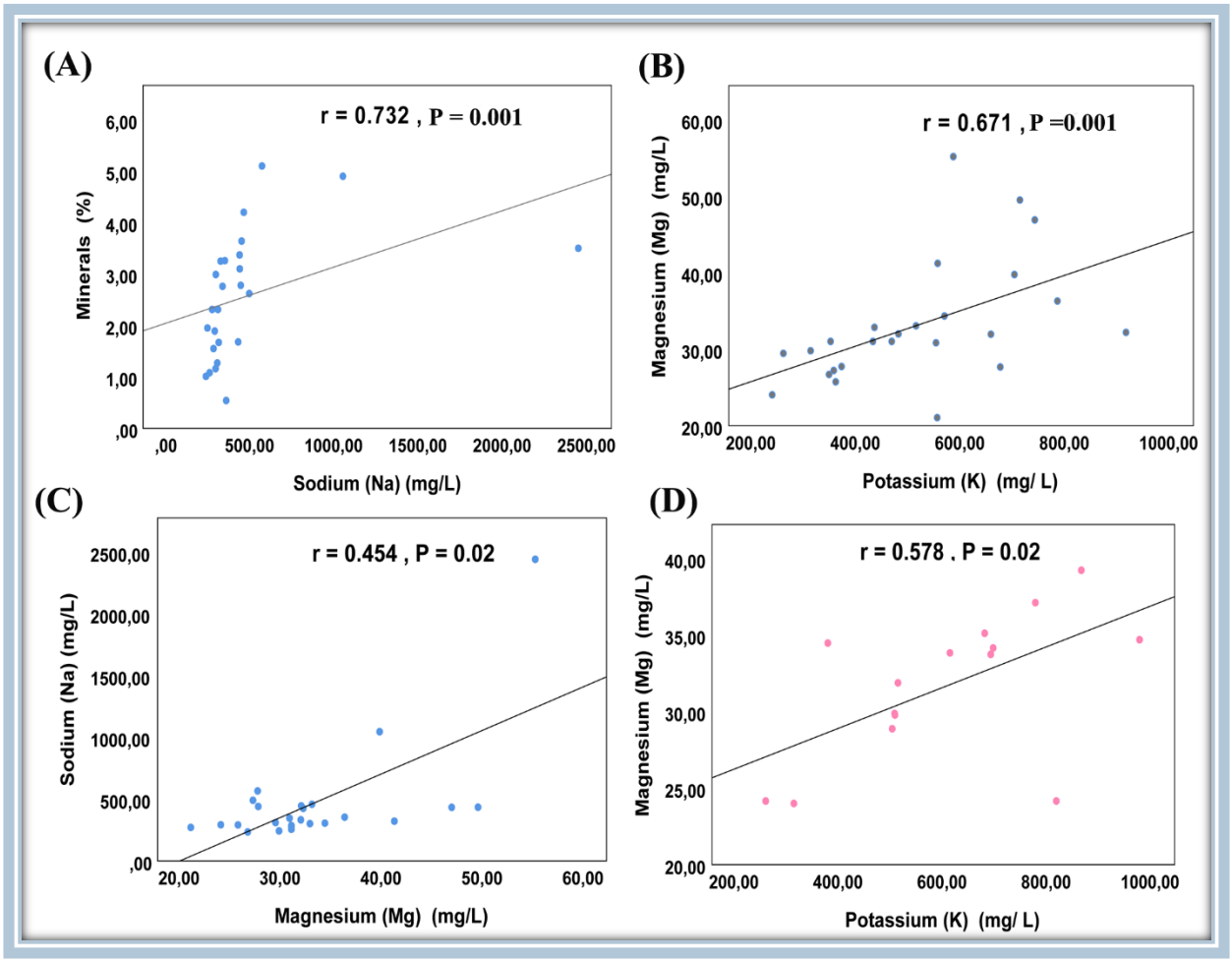


Fig.32: Régression linéaire entre les teneurs en minéraux, sodium, potassium et magnésium, et entre magnésium et sodium dans les LMDM **(Fig.32 A-C).** De plus, entre le potassium et le magnésium dans les LM DF **(Fig.32 D)** à la période du colostrum, pour les LM DM (couleur bleue) et LMDF (couleur rose) sont indiqués. Les valeurs de p statistiquement significatives sont illustrées à la **Fig.32 : (A-D).**

Nous avons également noté des corrélations moyennes dans le **colostrum du** LMDM entre le magnésium et le sodium (r = 0.454), avec des différences significatives (p = 0. 04) **(Fig.32 C).**

D'autre part, il existait des corrélations moyennes entre le potassium et le magnésium dans la LMDF (r = 0.578), avec une différence significative (*p* = 0. 02) **(Fig.32 D).** Par contre, il n'y avait aucune corrélation significative entre les concentrations des teneurs en minéraux et le potassium, et le calcium et le magnésium dans les échantillons de LM des deux sexes (*p*> 0. 05).

Durant la période de transition pour LMDM, il existait une forte corrélation entre les minéraux et le sodium (r = 0.708), et le potassium et le magnésium (r = 0.801), avec des différences très hautement significatives (*p*<0.001). Des corrélations moyennes ont été observées entre le calcium et le magnésium (r = 0. 494), avec une différence significative (*p* = 0.02) **(Fig.33 A-B-C)**. Aucune corrélation significative n'a été observée dans la période transitionnel pour LMDF (p > 0. 05).

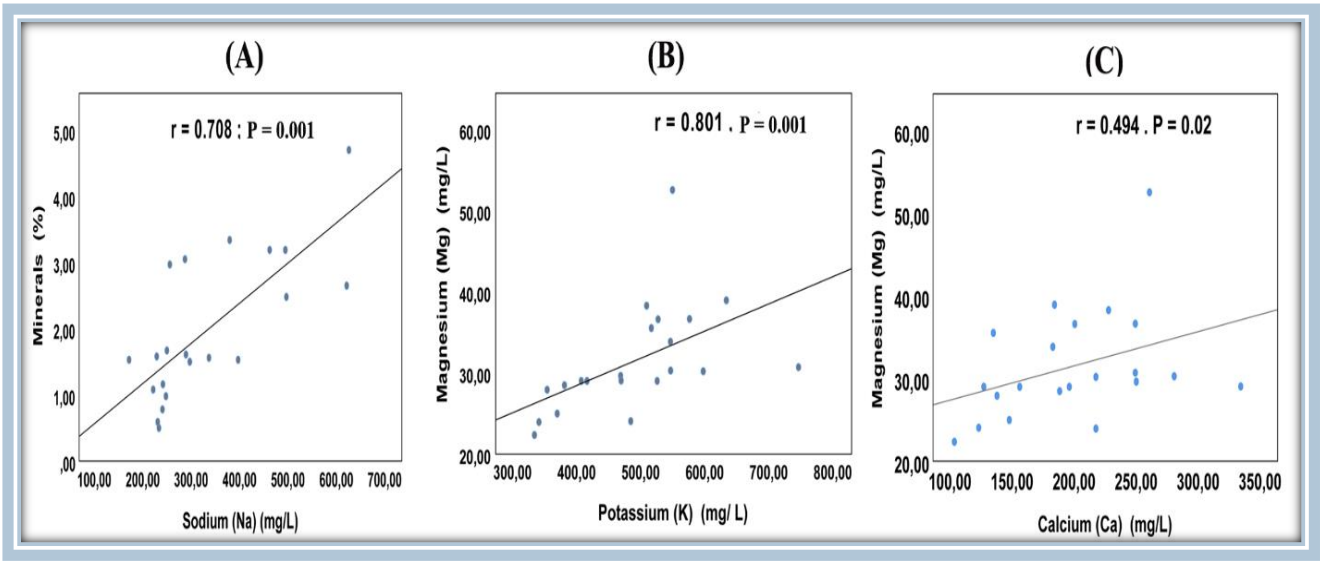


Fig.33:Régression linéaire entre les teneurs en sodique et en minéraux, potassium et magnésium, et entre le calcium et le magnésium dans LMDM, période transition. **Fig.33 (A-C).**

Durant la période de maturité, il existait une corrélation moyenne entre le calcium et le magnésium dans le LMDF avec une différence significative (r= 0.317, *p*=0.03). En ce qui concerne le LMDM, il a été noté une corrélation significative entre le sodium et les minéraux (r = 0.517, *p* = 0.007)**.**

- **Corrélation pendant toute la période de lactation « 24 mois » :**

La plupart des éléments minéraux étaient significativement corrélés les uns aux autres. Nous avons constaté qu'il existait une forte corrélation entre les teneurs en minéraux et en sodium dans le LM DM (r = 0.719), avec une différence très hautement significative (*p*<0.001), et des corrélations moyennes (r = 0.364) dans le LMDF, avec une différence hautement significative (*p* = 0.007) **(Fig.34 A-B).**

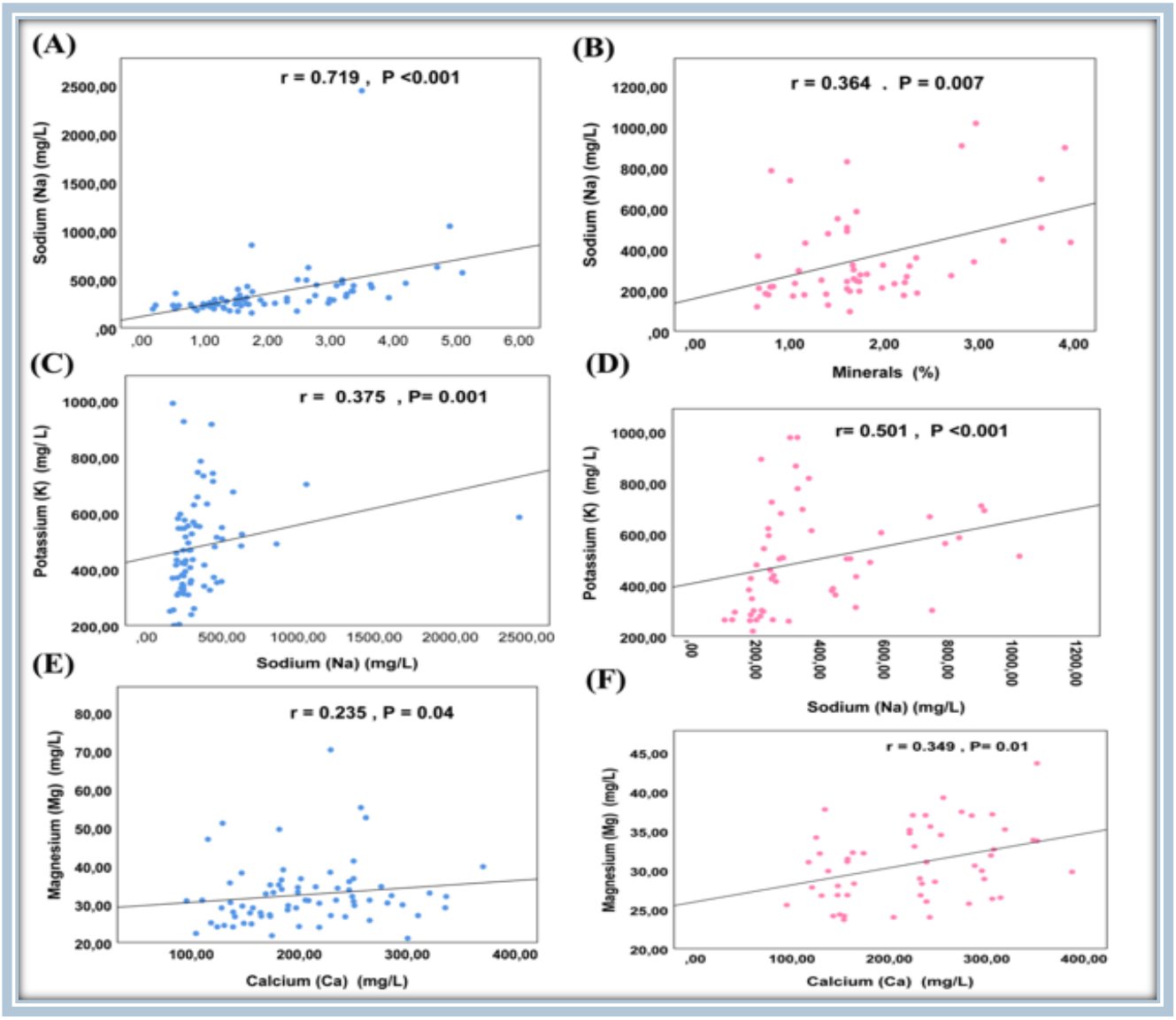


Fig.34: Régression linéaire des teneurs en minéraux LM et sodium (Fig. 34 A-B), Sodium et potassium (Fig.34 C-D), et entre les teneurs en calcium et magnésium LM (Fig.34 E-F) chez les mères LMDM et celles LMDF toutes la période de la lactation, pour le mâle (couleur bleue) et la femelle (couleur rose) LM sont indiquées. Les valeurs de p statistiquement significatives sont présentées à la Fig.34:**(A-F).**

La **Figure 34 C-D** montre qu'il existait des corrélations moyennes entre les teneurs en sodium et en potassium dans le LMDM (r = 0.375) et dans le LMDF (r = 0.501), avec une différence très hautement significative (p<0.001) durant toute la période de lactation.

Il existait également une petite corrélation entre les teneurs en calcium et en magnésium dans le LMDM (r = 0.235) avec des différences significatives (p = 0. 04), ainsi que des corrélations moyennes dans le LMDF (r = 0. 349) durant toutes les périodes de lactation, avec une différence hautement significative (p= 0. 01) **(Fig.34 E-F).**

II. Discussion

II.1. Composition physico-chimique du lait humain selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation :

Les caractéristiques physiques telles que l'humidité, les solides totaux, le pH sont des paramètres importants dans l'étude des compositions physicochimiques et des aspects nutritionnels du lait maternel (Imran, Khan, Hassan, & Khan, 2008).

II.1.1. Mesure du pH :

Les valeurs de PH enregistrées variaient légèrement entre le colostrum pour (7.46±0.248 pour les LMDM vs. celui 7.14±0.33 pour LMDF) et le lait mature (6.99±0.34 pour les LMDM et 6.95±0.37pour les LMDF **(Fig.25).** Ces valeurs sont incluses dans la fourchette citée par Meng et *al* (2021), qui situe le pH typique du lait humain mature entre 7 et 7.5 à température ambiante, avec une diminution au cours de la lactation due à des changements de composition, tels que la concentration en caséine (Meng et *al*., 2021). Sunaric et *al*.(2017) situaient quant à eux la valeur du pH du lait maternel entre 6.99 et7.24 à température ambiante durant les 20 premiers jours de lactation (Sunaric et *al*., 2017).

Nos résultats n'ont montré aucune différence significative entre le LM destiné pour les deux sexes mâles et les femelles ($p > 0.05$), Ce qui était similaire aux résultats décrits par Housseini et *al* (2020), qui ont rapporté qu'il n'y avait pas de différence significative évalué dans les indices pH entre les deux sexes ($p > 0.05$) (Hosseini et *al*., 2020).

Le pH et le goût du lait peuvent être affectés par l'alimentation, la disponibilité d'eau, le stade de lactation et l'état de la mamelle (Mathieu, 1998). Le pH est un facteur important dans la protéolyse et la lipolyse car il influence l'activité d'enzymes telles que la lipase (Erickson, Gill, & Chan, 2013).

II.1.2. Variations de la teneur en eau:

La quantité d'eau était similaire dans le lait maternel des mères allaitant des nourrissons mâles ou femelles dans le lait colostral (88.00 ±2.29 % vs87. 80 ± 2.59 %) et mature (87.51 ±1.88 % vs 87.67 ± 1.71%), ne montrant aucune différence significative ($p > 0.05$).

Nos résultats étaient cohérents avec ceux d'Aldhalemi et *al*. (2019) qui avaient noté que le pourcentage d'humidité au neuvième mois de la période de lactation était de (87.98 %) suivi d'une légère diminution au dixième mois (87.95 %) (Aldhalemi & Al-Mosawi, 2019) (**Fig.26-A).** Hahn et *al* (2017) avaient indiqué que la teneur moyenne en eau était de 86.70 ± 1.17 %au 3ème mois (Hahn, Song, Song, & Kang, 2017). Ces valeurs étaient similaires aux données

précédemment rapportées par Kim et al (2020) qui indiquaient que le LM contenait environ 87 % à 88 % d'eau (Kim & Yi, 2020).

II.1.3. La concentration en matière sèche:

Le lait mature contenait des concentrations plus élevées en matière sèche chez les nourrissons des deux sexes (LMDM : 132.48±17.78 vs. LMDF : 125.80 ± 10.36 g/L) que le colostrum (LMDM : 124.33±14.52 vs. LMDF : 122.44 ± 11.71g/L) (**Fig. 26-B).** Ces valeurs étaient similaires à celles décrites par Kim et *al* (2020) (124 g/L de composants solides) (Kim & Yi, 2020), et celles rapportées par Joseph, A et Pondi, O , (1991), qui avaient montré notamment qu'i1 existait une différence significative entre le premier et le deuxième trimestre de lactation en ce qui concerne les matières sèches, et aucune relation significative entre la teneur en matière sèche du LM pour les deux sexes des nourrissons (p> 0. 05) (Joseph & Pondi, 1991).

Les résultats décrits par Czosnykowska- et *al*. (2018) ont montré que la concentration de solides totaux a augmenté de façon significative dans le groupe au cours des 24 mois de lactation. Par ailleurs, la concentration du solide total dans le lait maternel a montré une corrélation positive avec la lactation du 1er au 48e mois (r = 0.61; p< 0.05) (Czosnykowska-Łukacka, Królak-Olejnik, & Orczyk-Pawiłowicz, 2018).

II.1.4. La teneur en cendres

Nos résultats ont indiqué qu'il n'y avait pas de différences significatives entre les deux sexes en ce qui concerne la teneur en cendres du lait de transition, alors qu'elle était légèrement supérieure dans le LMDM (2.54 ± 1.43g/L) par rapport au LMDF(2.18 ± 0.88 g/L) (**Fig. 26-C)**, ce qui ne concorde pas avec les travaux de Joseph & Pondi qui ont démontré que la teneur en cendres diminuait significativement au cours des trois périodes de lactation (Joseph & Pondi, 1991).

II.2.Variation de la composition biochimique du lait humain selon le sexe du nourrisson au cours des différentes périodes de lactation :

De nombreuses considérations sont importantes lorsque l'on discute de l'association forte entre le sexe du nourrisson et la composition en LM.

L'analyse d'échantillons de LM de mères allaitant des mâles et celle allaitant des bébés femelles a montré notamment que la composition biochimique des LM des deux sexes évolue de manière similaire au cours des périodes de lactation, avec toutefois une grande différence entre elles. Ainsi, la composition biochimique du LM est très dynamique (Galante et *al*., 2018).

II.2.1. Variation de la concentration des lipides / la matière grasse dulait maternel selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation :

Dans notre étude, les résultats ont montré l'effet du sexe du nourrisson sur la concentration des matières grasses dans le LMDM et le LMDF au cours des périodes de lactation **(Fig.27-H).** Ces valeurs obtenues sont comprises dans la fourchette citée par Beaudry et *al*. (2006), qui avaient noté que la concentration de matières grasses dans le lait humain variaient entre 30 et 50 g/L (une moyenne de 38-39 g/ L), avec une grande variabilité due à l'évolution rapide les premiers jours. Une fois la lactation établie, c'est la quantité de lipides dans le lait qui est l'élément le plus variable.

Aussi, la concentration de matières grasses dans le lait varie au cours d'une même tétée (elle augmente du début à la fin de la tétée), dans le temps (elle diminue entre 1 et 4 mois et augmente de nouveau vers12 mois) et varie d'un individu à l'autre (Beaudry & Chiasson, 2006).

La teneur en lipides totaux (%) du colostrum dans LMDM était plus élevée que pour les LMDF : 2.16 ± 0.64 vs 1.86 ± 0.73 %, ce qui correspond aux résultats deBroca et *al*. (2016) (Broka, Daugule, Ciproviča, Kviļūna, & Rumba-Rozenfelde, 2016), puis étaient passés à 4.18 ± 1.35 contre 3.31 ± 1.11 % dans le LM mature pour les nourrissons de sexe masculin et féminin, respectivement.

Ces résultats étaient similaires aux données rapportées par Aldhalemi et Al-Mosawi, (2019) et Shah et Alhawaj, (2019) (Aldhalemi & Al-Mosawi, 2019; Shah & Alhawaj, 2019).Ces recherches ont démontré que les lipides totaux augmentaient au fil du temps dans le colostrum, le lait de transition et le lait mature et sont plus élevées dans le LMDM que dans le LMDF.

Ainsi, Fischer Fumeaux et *al*. (2019) avaient observé que le lait des mères des nourrissons de sexe masculin était systématiquement plus riche en lipides que le lait des mères des nourrissons de sexe féminin (Fischer Fumeaux et *al*., 2019). Dafaallah et *al* (2018) ont rapporté que les nourrissons de sexe masculin recevaient des teneurs en lipides significativement plus élevées que les nourrissons de sexe féminin (Dafaallah, Amin, Abbas, Mohammed, & Kabbara, 2018).

A l'opposé de nos résultats, Housseini et *al* (2020) avaient noté que la teneur moyenne en lipides dans les échantillons de lait des mères avec des nourrissons de sexe féminin (groupe des

filles) (3.42 – 1.80 %) était significativement ($p = 0.02$) supérieure à celle des mères avec des nourrissons de sexe masculin (groupe des garçons) (2.53 – 1.18 %) (Hosseini et *al*., 2020).

Notre étude a rapporté une différence dans les lipides en fonction du sexe des nourrissons; en concordance avec les résultats de Thakkar et *al*.(2013), atteignant une signification statistique à la cinquième et septième semaines postnatales avec des différences estimées entre 0.89 g/100 ml et 1.07 g/100 ml de matières grasses respectivement(Thakkar et *al*., 2013).

D'après Dupin *et al.*(1992), l' augmentation de la concentration en lipides en fin de tétée serait responsable de la réaction de satiété de l'enfant coïncidant avec l'épuisement de la glande mammaire (Dupin, 1992).

II.2.2. Variation de la concentration de cholestérol du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation :

Dans notre étude, la moyenne totale ± ET de la concentration du cholestérol LM chez les mâles et les femelles était de (77.3 ± 7.11 mg/L contre 87.3 ± 84.5 mg/L) dans le colostrum, de 100±88.6 vs 118 ±115 mg/L dans le lait de transition 80.9 ±91.7 vs 72.3 ± 65.5 mg/L et de 52.6±38.2 vs 74.9±65.4 mg/L dans le lait mature ($p> 0.05$) (**Fig.27-I)**. Ces résultats étaient similaires à ceux rapportés par Koletzko (2016), pour qui, la plage normale de concentration du cholestérol variait de 90 à 150 mg/L(Koletzko, 2016). Turck et *al.* (2013) avaient quant à eux rapportée une valeur de 20 à 30 mg/100 ml(Turck et *al.*, 2013). Kamelska et *al*.(2012) avaient constaté comme dans notre étude, qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différentes périodes de lactation (Kamelska, Pietrzak-Fiećko, & Bryl, 2012).

Le cholestérol demeure présent dans le lait maternel humain tout au long de la lactation (Beaudry & Chiasson, 2006). Les nourrissons ont un besoin élevé en cholestérol, qui est un composant essentiel de la membrane cellulaire (Stam et *al*., 2013). Ce dernier est incorporé dans la myéline du système nerveux pendant la période de croissance rapide du cerveau, et sert de substrat pour la synthèse des acides biliaires, des lipoprotéines, de la vitamine D et des hormones (Koletzko, 2016).

II.2.3. Variation de la concentration des glucides, lactose et glucose du lait maternel :

Dans notre étude, l'écart-type moyen total dans les glucides du LMDM était de 69. 4 ± 12.8 g / L ($p = 0. 03$) et le lactose de 51. 6 ± 10. 1 g/L ($p< 0.001$), et glucides du LMDF 71. 7 ± 10. 8 g/L ($p = 0.05$), et lactose 55.3 ± 10.7 g/L ($p< 0.001$). La comparaison de la concentration des

glucides entre les deux sexes a démontré qu'elles étaient plus élevées dans le LMDF à toutes les périodes de lactation **(Fig.27-A).** Ce résultat était cohérent avec une étude précédente de Hahn et *al*. (2017), qui avait révélé que la teneur moyenne en glucides était de 7.5 ± 0.45 g/100 ml et était plus élevée chez le nourrisson de sexe féminin (Hahn et *al*., 2017).

Concernant le lactose, la concentration moyenne du LM pour les nourrissons de sexe féminin était plus élevée par rapport aux nourrissons de sexe masculin **(Fig.27-B).** Ceci a été observé à tous les stades de lactation, avec statistiquement une forte signification pour les deux sexes ($p< 0.001$).

Par ailleurs, la concentration en lactose était relativement faible dans le colostrum par rapport au lait mature chez les deux sexes (58.34 ± 7.88) vs (61.39 ± 9.82) g/L. Ces résultats étaient similaires à ceux décrits par Broka et *al*. (2016), pour qui, la concentration en lactose diffère selon le jour de lactation(Broka et *al*., 2016). Le lactose est le principal sucre du lait maternel, qui reste constant pendant la lactation à des niveaux estimés à 6.2 ± 0.9 % dans le lait à terme mature (Meng et *al.*, 2021).

Dans notre étude, il n'y avait pas de différence significative concernant le lactose pour les deux sexes, et ce, au cours des trois périodes de lactation ($p> 0.05$). Nos résultats étaient semblables aux données d'Aumeistere et *al.* (2017) qui avaient indiqué que la concentration moyenne du lactose dans le lait maternel était de 6.53 ± 0.34 %, et démontré que le sexe n'influençait pas la concentration de lactose dans lait maternel ($p>0.05$) (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Celmalniece, 2017).

De plus, Thakkaret *al*. (2013) et Ellsworth et *al*. (2018) avaient également observé que la concentration du lactose ne présentait aucune différence significative dans le temps pour le sexe des nourrissons (Ellsworth, Harman, Padmanabhan, & Gregg, 2018; Thakkar et al., 2013). Ceci est dû au fait qu'une concentration stable de lactose est importante pour maintenir une pression osmotique constante dans le lait maternel. Le lactose facilite également l'absorption des minéraux et du calcium (Gridneva et *al*., 2019; Martin et *al*., 2016).

- **Variation de la teneur en glucose dans le LMDM / LMDF :**

La teneur en glucose dans le lait mature variait de 0,18 ± 0,11 g/L dans le LM DF vs 0.13 ± 0.08 g/L pour le LMDM, avec des différences significatives (p=0.03)**(Fig.27-C).** Les mêmes résultats ont été décrits par Goran et *al*. (2017) et ont montré que le lait maternel mature des

nourrissons de sexe masculin est moins concentré en glucose par rapport au LMDF(Goran et *al*., 2017).

Ces valeurs sont également proches de celles enregistrées par Beaudry et *al.* (2006) (0.2 g/ L à 1 g/ L dans le colostrum et 0.2 g/ L à 0.3 g/ L dans le lait mature) (Beaudry & Chiasson, 2006). Selon Goran et *al*. (2017), les niveaux de glucose dans le lait maternel n'étaient pas liés aux mesures de l'adiposité chez le nourrisson. Il est possible que cet écart s'explique par des plans d'étude différents ou par des interactions avec des facteurs maternels (c'est-à-dire le diabète gestationnel) (Goran et *al*., 2017).

II.2.4. Variation de la concentration des Protéines totales, des protéines solubles et la teneur en caséine selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation :

La teneur en protéines totales était de 31.8 ± 11.0 dans le LMDM vs 30.3 ± 15.0 g/L pour les LMDF dans le colostrum, et diminuait pendant la période de transition (19.9 ± 7.43 vs 19.5 ± 7.31 g/L) pour atteindre les valeurs les plus basses dans le lait mature (15.6 ± 7.15 contre 13.1 ± 3.96 g/L) **(Fig.27-D**). Ceci était cohérent avec les observations précédentes de Fischer Fumeaux et *al*. (2019) qui avaient observé une augmentation de la teneur totales en protéine dans le lait des mères allaitant les garçons pendant les 5ème et 7ème semaines postnatales (Fischer Fumeaux et *al*., 2019). Alhindi et *al*. ont également rapporté que les mères ayant accouché de garçons produisaient du lait maternel avec une teneur en protéines plus élevée (1.23 ± 0.80 g/100 ml) que les mères ayant eu des filles (1.05 ± 0.63 g/100 ml), après deux mois d'accouchement (Alhindi, Musallam, & Elhefian, 2019).

L'analyse des valeurs moyennes en protéines totales du LM relevés pour chaque période chez les deux sexes a montré que le colostrum était le plus riche, avec un taux de protéines plus élevé, surtout au cours des premiers jours suivant l'accouchement. Ce taux diminue pendant la maturité. Ces résultat ont également été observés par Shah et *al*.(2019), qui avaient relevé des concentrations élevées en protéines totales au début de la lactation, période durant laquelle la teneur en protéines du lait maternel variait de 1.4 à 1.6 g/100 ml à 0.8 à 1.0 g/100 ml après trois à quatre mois de lactation, puis à 0.7 à 0.8 g/100 ml après six mois (Shah & Alhawaj, 2019).

La teneur du lait maternel en protéines diminue donc progressivement au fur et à mesure que la lactation progresse (Dizdar et al., 2014; Mosca & Giannì, 2017). Le colostrum, également appelé le premier lait, est riche en protéines, qui jouent un rôle crucial dans l'immunité innée et accélèrent la maturation du système immunitaire chez les nouveau-nés (Dizdar et *al*., 2014).

- **Variation de la concentration des protéines du lactosérum :**

La concentration en protéines du lactosérum était de 24.0 ± 10.5 dans le colostrum dess LMDM, et 22. 0 ± 12. 6 g / L dans celui des LMDF. Ces résultats étaient similaires à ceux observés par Lönnerdal et *al*. (2003) et Hojat et *al*, (2016), qui avaient noté une teneur plus faible en protéines du lactosérum dans le LMDF (Hojat, Mogarab, & Jahromi, 2016; Lönnerdal, 2003).

La concentration moyenne ±ET des protéines du lactosérum était élevée dans le colostrum chez les deux sexes, puis a diminué dans le lait de transition et dans le lait mature **(Fig.27-E)**.Cette différence n'a pas d'influence sur la valeur nutritionnelle du lait maternel, car la concentration en caséines reste toujours inférieure à celle des protéines solubles.

D'après Maman (2012), la présence de caséine en quantité inférieure aux protéines solubles permet la bonne digestibilité du lait maternel et la rapidité de son transit gastro-intestinal (Maman, 2012).

En réponse aux besoins importants de croissance dès les premières semaines de vie, la teneur en protéines du lait maternel évolue rapidement durant la période d'allaitement. De 14-16 g/L durant les premières semaines, elle passe à 8-10 g/L à 3-4 mois et 7-8 g/L au-delà de 6 mois d'allaitement. Cette variation est principalement liée à la diminution de la concentration des protéines du lactosérum (Le Huërou-Luron, 2011).

Le colostrum, premier lait produit, contient une forte concentration de protéines de lactosérum pour faciliter la digestion des nouveau-nés (Shah & Alhawaj, 2019).

- **Variation de la teneur en caséine :**

La concentration de la caséine dans le colostrum était de 8.31 ± 3.47 g/L et de 6.17 ± 2.98 g/L dans le lait de transition. Ces valeurs étaient plus élevées dans le LMDF que le LMDM (7.76 ± 3.97 vs4.45 ± 2.62 g /L). Cependant, cette différence a disparu au dernier stade de la lactation (lait mature). La valeur de la teneur en caséine a légèrement diminué en début de lactation (pour les mâles que les femelles), puis est restée constante dans le temps **(Fig.27-F).**

Ces résultats étaient similaires à ceux décrits par Liu et *al*. (2019) qui avaient noté des concentrations plus élevées de caséine dans le colostrum des mères qui ont accouché d'une fille (Liu, Gu, Ye, Ren, & Guo, 2019). Les micelles de caséine représentent jusqu'à 20 à 40 % des protéines totales du lait maternel humain (Basdeki, Fatouros, Biliaderis, & Moschakis, 2021).

II.2.5. Les substances azotées non protéiques « NPN» du lait maternel selon le sexe du nourrisson à différents périodes de lactation

Nos résultats ont démontré que les teneurs en urée, créatinine et acide urique ne variaient pas significativement entre colostrum, lait de transition et le lait mature pour les deux sexes

(Fig.28A, B-C). Aucune différence significative n'a été trouvée entre le colostrum, le lait de transition et le lait mature concernant la teneur en urée (p> 0.05), ce qui concorde avec les résultats de Csapo et *al*. (2009) qui avaient indiqué que la concentration l'urée allait jusqu'à 0.25 g/L (Csapo & Salamon, 2009).

Il est possible que la concentration des substances azotées non protéiques varie en fonction du régime alimentaire de la mère. Cette hypothèse est soutenue par Beaudry et *al*. (2006), qui avaient noté que l'apport maternel en protéines augmentait la teneur en azote total et en azote protéique et non protéique de leur lait, ainsi que la quantité de protéines sécrétées en 24 heures (Beaudry & Chiasson, 2006).

II.3. Différences d'énergie du lait maternel pour les nourrissons de sexe féminin et masculin :

La valeur énergétique a augmenté pendant les 24 mois de lactation (colostrum, transition et lait mature) pour les deux sexes. Nous avons noté une valeur énergétique plus élevée dans le LMDM (594 ± 123 kcal/L) que pour le LMDF (560 ± 105 kcal/ L) **(Fig.27-G).**

La densité énergétique dans le lait mature destiné aux nourrissons masculins était de 666 ± 143, contre 625 ± 97.5 kcal/L pour le LMDF; cette plus grande densité énergétique du lait exprimé par les LMDM par rapport aux LMDF était principalement une conséquence d'une concentration plus élevée en matières grasses durant la période de maturité (4.18±1.35 vs 3.31±1.11 g/L, p= 0.01).

Ces résultats demeurent dans la fourchette étroite rapportée par Ballard et Morrow (2013) allant de 65 à 70 kcal/dl, et sont fortement corrélées avec la teneur en matières grasses du lait maternel (Ballard & Morrow, 2013). Glbarczyk et *al*. (2011) et, Galante et *al.*, (2018) ont en effet rapporté que les mères de nourrissons de sexe masculin produisaient du lait à plus forte teneur énergétique (Galante et *al*., 2018; Galbarczyk, 2011).

Les résultats décrits par Hahn et *al*.(2017) indiquaient que le nourrisson de sexe féminin était associé à une faible teneur en calories (Hahn et *al.*, 2017). L'étude de Stam et *al*. (2013) suggérait que les nourrissons de sexe masculin avaient des besoins énergétiques plus élevés que les nourrissons de sexe féminin (Stam et *al*., 2013).

Une seule étude s'est penchée sur l'association entre le contenu énergétique du LM et le sexe du nourrisson (Powe et *al*., 2010) : Elle a noté une association entre la teneur énergétique du lait maternel et le sexe du nourrisson pendant la grossesse: les mères des nourrissons de sexe masculin produisaient du lait dont la teneur énergétique était supérieure de 25 % à celle des

mères de nourrissons de sexe féminin (p<0.001) (Powe, Knott, & Conklin-Brittain, 2010). La teneur en graisse est inversement corrélée à la plénitude du sein (Kent et *al*., 2006).

Les différences dans l'apport énergétique entre les sexes sont dues à des différences de composition physiologique (Bennett, Peters, & Woodward, 2018). L'augmentation de la demande de lait chez les nourrissons de sexe masculin pourrait expliquer l'augmentation de la densité calorique de leur lait maternel. Il a déjà été suggéré que les bébés mâles peuvent consommer de 8 à 10% de lait de plus que les femelles (Powe et *al*., 2010).

II.4. Différences dans les concentrations des minéraux « Na, K, Ca, Mg » :

Dans notre étude, les résultats ont montré l'effet du sexe du nourrisson sur la concentration des teneurs en minéraux, Na, K, Ca et Mg dans le LM des mères allaitant des nourrissons de sexe masculin et féminin au cours des périodes de lactation.

Notre étude est la première en Algérie et dans le monde arabe à rapporter les concentrations de minéraux dans le lait maternel des mères allaitant des nourrissons mâles et celles allaitant des nourrissons femelles. Il est difficile de comparer nos résultats avec d'autres études antérieures car très peu d'études disposent de données sur le contenu en minéraux essentiels durant les trois périodes de lactation. D'autre part, les données et les études sur la variation de la concentration minérale de lait maternel selon le sexe des nouveau-nés - les nourrissons sont inexistants.

Notre étude est donc beaucoup plus vaste que toute autre étude antérieure rapportée sur le sujet, permettant des associations informatives sur la teneur en minéraux essentiels LM durant les trois périodes de lactation regroupées par le sexe du nourrisson.

II.4.1. La teneur minérale totale :

La comparaison des minéraux totaux dans le LM des nourrissons des deux sexes a démontré qu'ils étaient plus élevés dans le LMDM (2.03 ± 1.15%) à toutes les périodes de lactation en comparaison aux LMDF (1.80 ± 0.84%) avec une valeur hautement significative (p = 0.008 Vs. p<0.001) (**Fig.29-A**). Ces résultats étaient similaires aux résultats décrits par Housseini et *al.* (2020) qui ont rapporté que le groupe des garçons avait des niveaux de sels plus élevés (p = 0.024) (0.76 – 0.14%) que le groupe des filles (0.67 – 0.18%) (Hosseini et *al*., 2020).

La teneur en minéraux a diminué du colostrum au lait mature, sans différence significative dans le lait mature chez les deux sexes des nourrissons au cours de chaque période de lactation. Ces résultats étaient similaires aux résultats décrits par Sanchez et *al.* (2020) qui suggéraient

qu'il n'y avait pas de différences significatives lorsque la lactation est prolongée à plus de 6 mois (Sánchez et *al*., 2020) .

De plus, les données d'Aumeistere (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017) ont marqué une tendance selon laquelle le sexe du nourrisson n'a pas d'influence sur la teneur en minéraux du lait maternel mature (p> 0.05).

Notre étude a révélé une diminution des concentrations des éléments minéraux à travers les différents stades de la lactation. Li et *al* (2016) ont suggéré que cette baisse des concentrations de minéraux pourrait refléter des besoins inférieurs du nourrisson pour la croissance (Li et *al*., 2016).

Les nourrissons de sexe masculin étant plus sensibles que les nourrissons de sexe féminin, des niveaux plus élevés de sels dans le LMDM peuvent être un mécanisme compensatoire pour maintenir leur santé, leur croissance et leur développement, et les protéger contre des complications probables (Hosseini et *al.*, 2020).

Les minéraux contribuent à une variété de fonctions physiologiques, formant des parties essentielles de nombreuses enzymes et sont d'importance biologique pour les molécules et les structures (Martin et *al*., 2016). Ils jouent des fonctions importantes dans la croissance et le développement squelettique et neuromusculaire, et dans la protection immunologique contre les infections du nourrisson (Tan et *al*., 2020).

II.4.2. Sodium & Potassium :

Notre étude a révélé que le sodium et le potassium du LM diminuaient avec le temps de lactation, pendant les 24 mois de lactation et pour les deux sexes : dans le colostrum et le lait de transition **(Fig.29B-C).** De plus, la concentration en potassium dans le LM mature destiné aux femelles était plus élevée que pour celui destiné aux mâles, avec une forte différence significative (p=0,001).

Ce résultat est cohérent avec une étude précédente de Yange t *al.* (2018) qui a également constaté que dans le lait colostral, la concentration de sodium (Na) était plus élevée que dans le lait de transition et mature. D'autre part, les concentrations de K ont diminué significativement au cours des trois stades de lactation (p<0.001) (Yang, Zhang, Bao, & Rong, 2018).

Notre étude a également montré que la valeur moyenne en potassium au cours des trois périodes de lactation diminue régulièrement, passant de (LMDM: 596.9 ±202 vs. LMDF : 516.9 ±175 mg/L) dans le colostrum à (LMDM: 572.0 ±209 vs. LMDF : 489.1 ±105 mg/L) dans le lait de transition puis (LMDM: 383.8 ±129 vs. LMDF : 442.4 ±197 mg/L) dans le lait mature.

Les résultats obtenus sont en accord avec KılıçAltun, et *al*. 2018 où K était l'élément essentiel majeur (488 ± 147 mg/L)(Kılıç Altun et *al*., 2018). Cette valeur est aussi relativement proche de celle enregistrée par Simard (2001), soit 500 mg/L (Simard, 2001).

Les concentrations moyennes de K dans nos résultats étaient légèrement inférieures avec l'étude de Björklund et *al*. (2012) dans laquelle les concentrations moyennes de K variaient entre 620 et 639 mg /L malgré des habitudes alimentaires assez différentes (Björklund et *al*., 2012).

Les concentrations moyennes de sodium et de potassium dans le lait maternel mature étaient de 7 et 15 mEq/L, respectivement, et étaient inférieures à leurs niveaux respectifs dans colostrum d'environ 66 et 31 %, respectivement (Medicine et *al*., 1991).

Aussi, la concentration de sodium dans le LM était plus élevée durant les premiers jours, elle a diminué ensuite dans le lait de transition et encore plus dans le lait mature. La concentration moyenne de Na déterminée dans la période de maturité pour les LMDM était de (262.5 ± 136 mg/L) et pour LMDF (285.5 ± 193 mg/L). Ces résultats étaient similaires aux résultats décrits par Sanchez et *al*. qui suggérèrent que le lait des mères allaitant des filles a montré des niveaux plus élevés de sodium (Sánchez et *al*., 2020).

Par ailleurs, nous avons obtenu des résultats supérieurs pour le sodium par rapport à l'étude d'Aumeistere et *al*. (2017) (Na : 58,56 – 256,38) (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017); et celle de Javad et *al*. en 2018 (155 µg/ml) (Javad et *al*., 2018).

Notre étude a également montré que Na était le seul macro-minéral qui présentait de grandes variations de concentration au cours de la lactation, comme l'indiquaient ses valeurs d'écart-type élevées. Cet écart est expliqué par Beaudry et *al*. (2006) qui notent que la teneur en sodium des sécrétions mammaires est souvent considérée comme un indicateur facilement mesurable du succès de la lactogènes. La concentration de sodium dans le lait diminuant rapidement au cours des premiers jours, une concentration qui reste élevée pourrait indiquer une incapacité à activer la lactogènes (ou lactogènes II) (Beaudry & Chiasson, 2006).

II.4.3. Calcium & Magnésium :

L'analyse des résultats obtenus montrait que les teneurs moyennes de calcium pendant les trois périodes étaient dans l'ordre (LMDF: 243.5±82.2 vs. LMDM:224.0 ±71.2 mg/L) pour le colostrum, (LMDF:221.9 ±71.0 vs. LMDM:198.4 ±59.5 mg/L) pour le lait de transition et (LMDF:207.3 ±69.8 vs. LMDM:186.0 ±50.3 mg/L) pour le lait mature.

Ces valeurs étaient proches de celles enregistrées par Latham (2001), où la teneur moyenne en calcium du lait humain était de 300 mg/L (Latham, 2001).

De plus, nos résultats indiquaient que la concentration en Ca diminuait, atteignant les valeurs les plus basses dans le lait mature (**Fig.29-D**). Ceci est cohérent avec les observations précédentes de Golan et al. 2020, qui avaient constaté que les concentrations de calcium diminuaient progressivement tout au long de la lactation (Golan & Assaraf, 2020). Chiurazzi, et *al*.(2021) suggérèrent que les concentrations totales de calcium dans le lait maternel augmentaient brusquement au cours des 5 premiers jours d'allaitement, puis diminuaient progressivement tout au long de l'allaitement (Chiurazzi et *al*., 2021).

D'autre part, nous avons rapporté que les mères avec des nourrissons de sexe féminin produisaient du lait maternel avec une teneur en calcium plus élevée que les mères de nourrissons masculins sur les trois périodes de lactation. Ceci est contradictoire avec les résultats décrits par Dafaallah et *al* (2018) qui avaient rapporté que les nourrissons de sexe masculin recevaient des teneurs en calcium significativement plus élevées que les nourrissons de sexe féminin (Dafaallah et *al*., 2018).

La concentration de calcium mature dans notre étude étai approximativement proche du résultat de Javad et *al*. (2018) (255 µg/ml) avec des valeurs allant de 138 à 465 µg/ml(Javad et *al*., 2018), mais inférieur à la valeur rapportée dans l'étude de Sanchez et *al.* (2020), où la concentration moyenne de calcium était de 279,99 mg/L qui ont montré aussi une baisse progressive du calcium dans le lait maternel avec l'avancée de la lactation maternelle.

Cela a été expliqué par Sanchez et *al*.(2020) par le fait que le calcium soit lié à la caséine et au citrate dans le lait, ou se présente sous forme de calcium ionique, la concentration de ce dernier est plus stable, ce qui suggère une homéostasie proche de celle de la calcémie (Sánchez et *al.*, 2020).

Nos résultats ont indiqué que la concentration moyenne de Mg était de 31 mg/L (**Fig.29-E**), qui était en accord avec les résultats de Sanchez et *al*. (2020) pour lesquels, les valeurs variaient entre 10 et 50 mg/L. Dans la plupart des cas, les concentrations étaient proches de 30 mg/L, ce qui explique la faible variabilité de la concentration de magnésium dans le lait maternel. Ceci est dû la régulation homéostatique du Mg(Sánchez et al., 2020).

En revanche, de petites variations ont été détectées dans le calcium mature (Ca : LMDM : 186.0±150.36 vs LMDF : 207.37±69.81mg/L) et le magnésium (Mg : LMDM32.48±9.75 vs LMDF : 31.19±5.20 mg/L).

Ces résultats étaient proches des données publiées par (Medicine et *al*., 1991) qui avaient rapportée une valeur de 280 mg/L pour le Ca et 35 mg/L pour le Mg dans le lait maternel

mature. Nos résultats étaient également similaires à ceux rapportés par Aumeistere et *al*. (2017), pour qui, la plage normale de concentration en calcium variait de 227.52 à 398.534 et en magnésium de 25.73 à 49.52mg/L, indiquant que des mécanismes homéostatiques sont impliqués dans la teneur de ces éléments dans le lait maternel (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017).

Dans la petite enfance, l'efficacité de l'absorption du calcium était d'environ 60 % pour le lait maternel au cours des quatre premiers mois de la vie. Cela conduit à une rétention nette de calcium similaire à 160 et 170 mg/jour chez les nourrissons exclusivement allaités (Abrams et *al*., 2002).

Le calcium est nécessaire à la croissance des os (Yang et *al*., 2018), et l'apport moyen en calcium adapté à la plupart des bébés au cours de la première moitié de leur vie est de 200 mg par jour (Sánchez et *al*., 2020). Alors que la concentration de magnésium mature était inférieure aux niveaux moyens de Mg mesurés dans les échantillons de LM issus des recherches rapportées par Javad et *al*.(2018) (34.58 mg/L)(Javad et *al*., 2018). Une concentration stable en magnésium est importante car elle aide à générer de l'ATP et de l'énergie. De plus, il élimine l'ammoniac dans le cerveau, qui est lié au manque d'attention, et convertit les acides gras essentiels en DHA (acide docosahexaénoïque), qui est lié au bon fonctionnement et à la structure des cellules cérébrales. Il a également un effet antioxydant (Farias et *al*., 2020).

Nos résultats montraient donc que les concentrations moyennes de Na, K, Ca et Mg dans le lait maternel présentaient une large gamme d'écarts types et diminuaient significativement au cours de toute la période de la lactation. ce qui peut résulter des emplacements géographiques et des différents aliments consommés par les mères (Yang et *al*., 2018), bien qu'il existe de nombreuses preuves que les concentrations de minéraux tels que le calcium et le magnésium dans le lait maternel ne soient pas affectées par le régime alimentaire ou l'état nutritionnel de la mère (Li et *al*., 2016).

II.5. Corrélation entre la composition biochimique du lait maternel des LMDM / LMDF dans les périodes de lactation :

Nos résultats ont démontré qu'il existait une forte corrélation entre la matière grasse et l'énergie chez les deux sexes (**Tableau 08**). En outre, dans l'étude de Czosnykowska- et *al*. (2018) ont été observées des corrélations positives très fortes entre les matières grasses et

l'énergie (r = 0.98) , et une faible corrélation statistiquement significative entre la matière grasse et les protéines (r = 0.35) à partir du 1er mois et jusqu'au 48ème mois ($p< 0.05$) (Czosnykowska-Łukacka et *al*., 2018).

Les concentrations des glucides étaient négativement corrélées avec les concentrations de protéines totales et les protéines du lactosérum du lait maternel chez les deux sexes. Nos résultats étaient similaires à ceux observés par Czosnykowska- et *al*. (2018). La concentration des glucides dans le lait maternel présentait une corrélation négative statistiquement significative avec la concentration des protéines (r = 0.46) ainsi que l'énergie (r = 0.53) du 1er au 48ème mois de la lactation (Czosnykowska-Łukacka et *al.*, 2018).

La teneur en énergie était positivement corrélée avec les concentrations des protéines totales pendant la période de maturité **(Tableau08)**. Ces résultats étaient similaires aux résultats décrits par Czosnykowska- et *al*. (2018) qui avaient établi une corrélation positive de la concentration de protéines avec l'énergie (r = 0.40) pendant la lactation prolongée du 1er au 48ème mois (Czosnykowska-Łukacka et *al*., 2018).

II.6. Corrélation entre les minéraux du lait maternel des deux sexes dans la période de maturité :

Durant la période de maturité, il existait une forte corrélation entre le sodium et le calcium de LMDF. En concordance avec ces résultats, Javad et *al*.(2018) ont rapporté que le Na était positivement corrélé avec le Mg (r = 0. 25, $p = 0.01$) et Ca (r = 0.37, $p< 0.001$); et le Ca positivement corrélé avec le Mg (r = 0. 49, $p< 0.001$) dans le lait mature (Javad et *al*., 2018). Aumeistere et *al*. (2017) et Sanchez et *al*. (2020) ont également rapporté que de nombreux éléments étaient significativement corrélés les uns aux autres. Le plus souvent, le sodium était corrélé positivement avec la teneur en calcium (r = 0,42, $p< 0.05$) et en potassium (r = 0,56, $p< 0.01$). Le temps de lactation était un facteur important, montrant une corrélation positive avec la concentration de Na (Aumeistere, Ciprovica, Zavadska, & Bavrins, 2017; Sánchez et al., 2020).

II.7. Corrélations entre la composition minérale des LMDM et des LMDF tout au long de la période de lactation « 24 mois » :

Comme l'a montré notre étude**,** il existait de fortes corrélations entre les teneurs en minéraux et en sodium de LMDM et de LMDF au cours de la lactation (**Fig.34 A-B)**. Les résultats obtenus

étaient en accord avec Sanchez et *al*.(2020) qui avaient rapporté que le sexe du nouveau-né était positivement associé aux concentrations de Na dans le lait maternel (Sánchez et *al*., 2020).

Nos résultats ont également montré qu'il existait des corrélations moyennes entre les teneurs en sodium et en potassium chez les deux sexes (**Fig.34 C-D)**. Ceci est contraire aux résultats décrits par Sanchez et *al* (2020) qui avaient rapporté que la durée de lactation était négativement associée aux concentrations de K. De plus, il a été démontré que le temps de lactation était corrélé négativement avec Ca (Sánchez et *al*., 2020).

En revanche, il existait de petites corrélations entre le magnésium et le sodium du LMDM (r = 0.247), avec une différence significative (p = 0. 03). Les résultats obtenus étaient en accord avec KılıçAltun et *al*. (2018) qui indiquaient que les valeurs du sodium dans les échantillons de LM étaient significativement corrélées avec les concentrations de magnésium (r: 0.558 ;p <0.001) (Kılıç Altun et al., 2018).

Nous avons aussi constaté qu'il existait des corrélations moyennes entre le magnésium et le potassium du LMDM (r = 0.373), avec une différence très hautement significative (p = 0.001). Notre résultat était similaire à celui décrit par KılıçAltun, et *al*. (2018). En effet, il a été constaté que la teneur en potassium était positivement corrélée avec le magnésium (r: 0.451 ;p< 0.001) (Kılıç Altun et *al*., 2018).

D'autre part, nous avons également révélé qu'il existait des corrélations entre les teneurs en calcium et en magnésium des LM chez les deux sexes. Nos résultats étaient en accord avec l'étude de KılıçAltun, et *al*. (2018) qui avait démontré que les niveaux de calcium étaient significativement corrélés avec le magnésium (r: 0.420; p< 0.001).

CONCLUSION

Conclusion Générale

Plusieurs études ont indiqué que le lait maternel humain contenait divers composants de macro et micronutriments, fournit une combinaison complexe de graisses, de cholestérol, de glucides et de protéines et est la principale source d'énergie nutritionnelle.

L'étude que nous avons menée représente une première étape vers la compréhension de la composition nutritionnelle du lait des mères Algériennes, en fonction du sexe des nourrissons et ces variations pendant la longue durée de lactation.

Notre étude a conclu que :

- La **qualité physico-chimique** du lait destiné aux males et celui destiné aux femelles était relativement stable et n'était pas significativement différente entre le colostrum, de transition et le lait mature pour les deux sexes.
- Le **sexe du nourrisson** affectait la composition calorique et biochimique du lait maternel humain au cours des différentes périodes de la lactation.
- Le **contenu biochimique** et **l'énergie** différaient car le LMDF était plus riche en glucides, en lactose, en glucose et en cholestérol que le LMDM, qui présentait pour sa part des valeurs plus élevées en matières grasses, en protéines et en énergie.
- La variation de la teneur en **matière grasse** et en **glucose** du lait différait significativement entre les LM dans les deux sexes.
- Les **teneurs en NPN** n'étaient pas significativement différentes entre le colostrum, de transition et le lait mature pour les deux sexes.
- **La composition minérale** du lait maternel montré une diminution significative avec la progression de la lactation du stade de colostrum, transition au stade mature.
- **Les concentrations** de **Na**, **K** et **Ca** dans le lait maternel des deux sexes présentent une variabilité importante.
- **Le total minéral** a une valeur significative plus élevée chez les LMDM que chez LMDF
- **Les électrolytes** du lait maternel des deux sexes diminuent à mesure que la lactation progresse.

En effet, les mères produisent une composition nutritionnelle différente pour les deux sexes. L'étude actuelle a confirmé que **le contenu biochimique et énergétique** du LM des mères allaitantes était affecté par le sexe des nourrissons à toutes les périodes de lactation ainsi que la composition en macronutriments de la LM a une grande variabilité associée au sexe de nourrisson.

Conclusion Générale

Le sexe du nourrisson affecte la qualité de la composition du lait maternel de la mère car les besoins nutritionnels pour la construction et la croissance de la masse corporelle diffèrent selon le sexe du nourrisson. Les résultats concordent avec l'hypothèse selon laquelle la maturation de la composition du lait maternel est d'une importance primordiale dans cette condition pour apprécier l'adéquation du lait maternel selon le sexe du nourrisson et ses besoins afin de renforcer enfin l'allaitement maternel.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abdelhamid, E. R., Kamhawy, A. H., Elkhatib, A. A., Megawer, A. S., El Shafie, A. I., El Gendy, Y. G., & Rabie, D. E. (2020). Breast Milk Macronutrients in Relation to Infants' Anthropometric Measures. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 8*(B), 845-850.

Abrams, S. A. (2010). Calcium absorption in infants and small children: methods of determination and recent findings. *Nutrients, 2*(4), 474-480.

Abrams, S. A., Griffin, I. J., & Davila, P. M. (2002). Calcium and zinc absorption from lactose-containing and lactose-free infant formulas. *The American journal of clinical nutrition, 76*(2), 442-446.

Aldhalemi, M. A., & Al-Mosawi, R. S. (2019). Study the effect of lactation period on the Biochemical properties of breast milk during the first year of Breast-feeding. *Kufa Journal for Agricultural Sciences, 11*(2), 11-18.

Alex, A., Bhandary, E., & McGuire, K. P. (2020). Anatomy and physiology of the breast during pregnancy and lactation *Diseases of the Breast during Pregnancy and Lactation* (pp. 3-7): Springer.

Alhindi, M. A., Musallam, H. M., & Elhefian, E. A. (2019). Characteristics of Human Breast Milk Based on Infant's Gender. *Journal of basic and applied Research in Biomedicine, 5*(1), 8-10.

Alur, P. (2019). Sex differences in nutrition, growth, and metabolism in preterm infants. *Frontiers in pediatrics, 7*, 22.

Anderson, S. M., MacLean, P. S., McManaman, J. L., Neville, M. C., Plant, T., & Zeleznik, A. (2015). Lactation and its hormonal control. *Knobil and Neill's physiology of reproduction. Fourth ed. New York: Elsevier*, 2055-2105.

Aspar, J. (2000). *Pédiatrie*: De Boeck Secundair.

Aumeistere, L., Ciprovica, I., Zavadska, D., & Bavrins, K. (2017). A preliminary study on essential minerals in human milk: Association with dietary habits. *Res. Rural Dev, 1*.

Aumeistere, L., Ciprovica, I., Zavadska, D., & Celmalniece, K. (2017). Lactose content of breast milk among lactating women in Latvia. *Age (years), 31*, 26-39.

Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric Clinics, 60*(1), 49-74.

Beaudry, M., & Chiasson, S. (2006). *Biologie de l'allaitement: le sein, le lait, le geste: Le sein-le lait-le geste*: PUQ.

Bennett, E., Peters, S. A., & Woodward, M. (2018). Sex differences in macronutrient intake and adherence to dietary recommendations: findings from the UK Biobank. *BMJ open, 8*(4), e020017.

Berger, P. K., Plows, J. F., Demerath, E. W., & Fields, D. A. (2020a). Carbohydrate composition in breast milk and its effect on infant health. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 23*(4), 277-281.

Berger, P. K., Plows, J. F., Demerath, E. W., & Fields, D. A. (2020b). Carbohydrate composition in breast milk and its effect on infant health. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care, 23*(4), 277.

Björklund, K. L., Vahter, M., Palm, B., Grandér, M., Lignell, S., & Berglund, M. (2012). Metals and trace element concentrations in breast milk of first time healthy mothers: a biological monitoring study. *Environmental Health, 11*(1), 1-8.

Branger, B., RSN, M. C., Dufour, A., Ancenis, C., Coneau, P., Angers, C., . . . Edeb, E. (2009). Livret Allaitement Maternel A Destination Des Professionnels.«. *RSN» Réseau «Sécurité Naissance-Naître Ensemble» Des Pays De La Loire. P*, 4-5.

Brault-Dubuc, M. (1978). Nutrition du nourrisson. *Canadian Family Physician, 24*, 1302.

Broka, L., Daugule, I., Ciproviča, I., Kviļūna, D., & Rumba-Rozenfelde, I. (2016). *Comparison of breast milk composition among lactating women in Latvia.* Paper presented at the

Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.

Bryant, J., & Thistle, J. (2020). Anatomy, colostrum. *StatPearls [Internet]*.

Butte, N. F., Lopez-Alarcon, M. G., & Garza, C. (2002). *Nutrient adequacy of exclusive breastfeeding for the term infant during the first six months of life*: World Health Organization.

Bzikowska-Jura, A., Sobieraj, P., Szostak-Węgierek, D., & Wesołowska, A. (2020). Impact of infant and maternal factors on energy and macronutrient composition of human milk. *Nutrients, 12*(9), 2591.

Caba-Flores, M. D., Ramos-Ligonio, A., Camacho-Morales, A., Martínez-Valenzuela, C., Viveros-Contreras, R., & Caba, M. (2022). Breast milk and the importance of chrononutrition. *Frontiers in Nutrition, 9*.

Castel, B., & Billeaud, C. (2017). Alimentation de la mère allaitante. *Cahiers de Nutrition et de Diététique, 52*(2), 89-93.

Cheng, L., Akkerman, R., Kong, C., Walvoort, M. T., & de Vos, P. (2021). More than sugar in the milk: human milk oligosaccharides as essential bioactive molecules in breast milk and current insight in beneficial effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61*(7), 1184-1200.

Chiurazzi, M., Cozzolino, M., Reinelt, T., Nguyen, T. D., Elke Chie, S., Natalucci, G., & Miletta, M. C. (2021). Human Milk and Brain Development in Infants. *Reproductive Medicine, 2*(2), 107-117.

Christian, P., Smith, E. R., Lee, S. E., Vargas, A. J., Bremer, A. A., & Raiten, D. J. (2021). The need to study human milk as a biological system. *The American journal of clinical nutrition, 113*(5), 1063-1072.

Comitato, R., Saba, A., Turrini, A., Arganini, C., & Virgili, F. (2015). Sex hormones and macronutrient metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55*(2), 227-241.

Csapo, J., & Salamon, S. (2009). Composition of the mother's milk I. Protein contents, amino acid composition, biological value. A review. *Acta Univ Sapientiae Alimentaria, 2*, 174-195.

Czosnykowska-Łukacka, M., Królak-Olejnik, B., & Orczyk-Pawiłowicz, M. (2018). Breast milk macronutrient components in prolonged lactation. *Nutrients, 10*(12), 1893.

Dafaallah, S., Amin, M., Abbas, T., Mohammed, A., & Kabbara, E. (2018). Biochemical Differences in Human Breast Milk Contents According to Infant's Gender. *J Mol Biol Biotech, 3*(1), 2.

Dallas, D. C., & German, J. B. (2017). Enzymes in human milk. *Intestinal microbiome: functional aspects in health and disease, 88*, 129-136.

Dizdar, E. A., Sari, F. N., Degirmencioglu, H., Canpolat, F. E., Oguz, S. S., Uras, N., & Dilmen, U. (2014). Effect of mode of delivery on macronutrient content of breast milk. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 27*(11), 1099-1102.

Dror, D. K., & Allen, L. H. (2018). Overview of nutrients in human milk. *Advances in nutrition, 9*(suppl_1), 278S-294S.

Dupin, H. (1992). *Alimentation et nutrition humaines*: ESF éditeur.

Ellsworth, L., Harman, E., Padmanabhan, V., & Gregg, B. (2018). Lactational programming of glucose homeostasis: a window of opportunity. *Reproduction, 156*(2), R23-R42.

Erickson, T., Gill, G., & Chan, G. (2013). The effects of acidification on human milk's cellular and nutritional content. *Journal of Perinatology, 33*(5), 371-373.

Farias, P. M., Marcelino, G., Santana, L. F., de Almeida, E. B., Guimarães, R. d. C. A., Pott, A., . . . Freitas, K. d. C. (2020). Minerals in pregnancy and their impact on child growth and development. *Molecules, 25*(23), 5630.

Fischer Fumeaux, C. J., Garcia-Rodenas, C. L., De Castro, C. A., Courtet-Compondu, M.-C., Thakkar, S. K., Beauport, L., . . . Affolter, M. (2019). Longitudinal analysis of macronutrient composition in preterm and term human milk: A prospective cohort study. *Nutrients, 11*(7), 1525.

Galante, L., Lagström, H., Vickers, M. H., Reynolds, C. M., Rautava, S., Milan, A. M., . . . Pundir, S. (2020). Sexually dimorphic associations between maternal factors and human milk hormonal concentrations. *Nutrients, 12*(1), 152.

Galante, L., Milan, A. M., Reynolds, C. M., Cameron-Smith, D., Vickers, M. H., & Pundir, S. (2018). Sex-specific human milk composition: The role of infant sex in determining early life nutrition. *Nutrients, 10*(9), 1194.

Galbarczyk, A. (2011). Unexpected changes in maternal breast size during pregnancy in relation to infant sex: an evolutionary interpretation. *American Journal of Human Biology, 23*(4), 560-562.

Gambelli, L. (2017). Milk and its sugar-lactose: a picture of evaluation methodologies. *Beverages, 3*(3), 35.

Geddes, D. T., Gridneva, Z., Perrella, S. L., Mitoulas, L. R., Kent, J. C., Stinson, L. F., . . . Hartmann, P. E. (2021). 25 years of research in human lactation: From discovery to translation. *Nutrients, 13*(9), 3071.

Golan, Y., & Assaraf, Y. G. (2020). Genetic and physiological factors affecting human milk production and composition. *Nutrients, 12*(5), 1500.

Goran, M. I., Martin, A. A., Alderete, T. L., Fujiwara, H., & Fields, D. A. (2017). Fructose in breast milk is positively associated with infant body composition at 6 months of age. *Nutrients, 9*(2), 146.

Gridneva, Z., Rea, A., Tie, W. J., Lai, C. T., Kugananthan, S., Ward, L. C., . . . Geddes, D. T. (2019). Carbohydrates in human milk and body composition of term infants during the first 12 months of lactation. *Nutrients, 11*(7), 1472.

Gruca, M. A. (2017). Breast milk macronutrient composition and infant growth in rural west Africa. *Breast*.

Guo, M., & Hendricks, G. M. (2008). Chemistry and biological properties of human milk. *Current Nutrition & Food Science, 4*(4), 305-320.

Hahn, W.-H., Song, J.-H., Song, S., & Kang, N. m. (2017). Do gender and birth height of infant affect calorie of human milk? An association study between human milk macronutrient and various birth factors. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 30*(13), 1608-1612.

Heffner, L. J. (2003). *Reproduction humaine*: De Boeck Supérieur.

Hellmuth, C., Uhl, O., Demmelmair, H., Grunewald, M., Auricchio, R., Castillejo, G., . . . Vriezinga, S. L. (2018). The impact of human breast milk components on the infant metabolism. *PloS one, 13*(6), e0197713.

Hojat, M., Mogarab, V., & Jahromi, H. K. (2016). The study of growth differences of infants less than 6 months which have used breast milk and infant formula along with breast milk. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences, 5*(4).

Hosseini, M., Valizadeh, E., Hosseini, N., Khatibshahidi, S., & Raeisi, S. (2020). The role of infant sex on human milk composition. *Breastfeeding Medicine, 15*(5), 341-346.

Imran, M., Khan, H., Hassan, S. S., & Khan, R. (2008). Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Zhejiang University Science B, 9*(7), 546-551.

Javad, M. T., Vahidinia, A., Samiee, F., Elaridi, J., Leili, M., Faradmal, J., & Rahmani, A. (2018). Analysis of aluminum, minerals and trace elements in the milk samples from lactating mothers in Hamadan, Iran. *Journal of trace elements in Medicine and Biology, 50*, 8-15.

Jeong, G., Park, S. W., Lee, Y. K., Ko, S. Y., & Shin, S. M. (2017). Maternal food restrictions during breastfeeding. *Korean journal of pediatrics, 60*(3), 70.

Joseph, A., & Pondi, O. (1991). Composition minérale du lait de femme en milieu rural au Cameroun. Apports en minéraux chez le nourrison de un à neuf mois. *Cahiers de Nutrition et de Diététique, 26*(5), 332-337.

Kamelska, A. M., Pietrzak-Fiećko, R., & Bryl, K. (2012). Variation of the cholesterol content in breast milk during 10 days collection at early stages of lactation. *Acta Biochimica Polonica, 59*(2).

Kent, J. C., Mitoulas, L. R., Cregan, M. D., Ramsay, D. T., Doherty, D. A., & Hartmann, P. E. (2006). Volume and frequency of breastfeedings and fat content of breast milk throughout the day. *Pediatrics, 117*(3), e387-e395.

Kılıç Altun, S., Dinç, H., Temamoğulları, F. K., & Paksoy, N. (2018). Analyses of essential elements and heavy metals by using ICP-MS in maternal breast milk from Şanlıurfa, Turkey. *International Journal of Analytical Chemistry, 2018*.

Kim, S. Y., & Yi, D. Y. (2020). Components of human breast milk: From macronutrient to microbiome and microRNA. *Clinical and experimental pediatrics, 63*(8), 301.

Koletzko, B. (2016). Human milk lipids. *Annals of Nutrition and Metabolism, 69*(Suppl. 2), 27-40.

Latham, M. C. (2001). *La nutrition: dans les pays en développement*: FAO.

Lawrence, R. A. (2022). Physiology of lactation *Breastfeeding* (pp. 58-92): Elsevier.

Le Huërou-Luron, I. (2011). *Protéines laitières et développement de l'intestin chez le jeune.* Paper presented at the Protéines laitières: aspects nutritionnels et fonctionnels.

Lee, H., Park, H., Ha, E., Hong, Y.-C., Ha, M., Park, H., . . . Lee, K. Y. (2016). Effect of breastfeeding duration on cognitive development in infants: 3-year follow-up study. *Journal of Korean medical science, 31*(4), 579-584.

Leghi, G. E., Netting, M. J., Middleton, P. F., Wlodek, M. E., Geddes, D. T., & Muhlhausler, B. S. (2020). The impact of maternal obesity on human milk macronutrient composition: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients, 12*(4), 934.

Lescure, C. (2014). *L'alimentation lactée du nourrisson (0 à 6 mois): l'accompagnement des mamans par le pharmacien d'officine.*

Li, C., Solomons, N. W., Scott, M. E., & Koski, K. G. (2016). Minerals and trace elements in human breast milk are associated with Guatemalan infant anthropometric outcomes within the first 6 months. *The Journal of nutrition, 146*(10), 2067-2074.

Liu, B., Gu, F., Ye, W., Ren, Y., & Guo, S. (2019). Colostral and mature breast milk protein compositional determinants in Qingdao, Wuhan and Hohhot: maternal food culture, vaginal delivery and neonatal gender. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 28*(4), 800.

Lönnerdal, B. (2003). Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American journal of clinical nutrition, 77*(6), 1537S-1543S.

Maman, M. S. (2012). Étude des pratiques d'alimentation des enfants âgés entre 0-6 mois issus de milieux défavorisés dans la commune urbaine de Tessaoua région de Maradi au Niger.

Mangel, L., Morag, S., Mandel, D., Marom, R., Moran-Lev, H., & Lubetzky, R. (2020). The Effect of Infant's Sex on Human Milk Macronutrients Content: An Observational Study. *Breastfeeding Medicine, 15*(9), 568-571.

Martin, C. R., Ling, P.-R., & Blackburn, G. L. (2016). Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula. *Nutrients, 8*(5), 279.

Maru, M., Birhanu, T., & Tessema, D. A. (2013). Calcium, magnesium, iron, zinc and copper, compositions of human milk from populations with cereal and 'enset'based diets. *Ethiopian journal of health sciences, 23*(2), 90-97.

Mathieu, J. (1998). Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-SurForon. *Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec & Doc: Lavoisier, Paris. pp*, 12-210.

Medicine, I. o., Lactation, N. R. C. S. o. N. D., Lactation, I. o. M. S. o. N. d., Lactation, I. o. M. S. o., Resources, U. S. H., Administration, S., . . . Pregnancy, C. o. N. S. D. (1991). *Nutrition during lactation*.

Meisse, E. (2019). *Allaitement maternel et conseils associés a l'officine.* Université Toulouse III-Paul Sabatier.

Meng, F., Uniacke-Lowe, T., Ryan, A. C., & Kelly, A. L. (2021). The composition and physico-chemical properties of human milk: A review. *Trends in Food Science & Technology, 112*, 608-621.

Moberg, K. U., & Prime, D. K. (2013). Oxytocin effects in mothers and infants during breastfeeding. *Infant, 9*(6), 201-206.

Morozov, V., Hansman, G., Hanisch, F. G., Schroten, H., & Kunz, C. (2018). Human milk oligosaccharides as promising antivirals. *Molecular nutrition & food research, 62*(6), 1700679.

Mosca, F., & Giannì, M. L. (2017). Human milk: composition and health benefits.

Neville, M. C. (2001). Anatomy and physiology of lactation. *Pediatric Clinics of North America, 48*(1), 13-34.

Neville, M. C., Morton, J., & Umemura, S. (2001). Lactogenesis: the transition from pregnancy to lactation. *Pediatric Clinics of North America, 48*(1), 35-52.

Nojiri, K., Kobayashi, S., Higurashi, S., Takahashi, T., Tsujimori, Y., Ueno, H. M., . . . Nakano, T. (2020). Maternal health and nutrition status, human milk composition, and growth and development of infants and children: a prospective Japanese Human Milk Study protocol. *International journal of environmental research and public health, 17*(6), 1869.

Orbach, R., Mandel, D., Mangel, L., Marom, R., & Lubetzky, R. (2019). The effect of deep freezing on human milk macronutrients content. *Breastfeeding Medicine, 14*(3), 172-176.

Penn, A. H., Altshuler, A. E., Small, J. W., Taylor, S. F., Dobkins, K. R., & Schmid-Schönbein, G. W. (2014). Effect of digestion and storage of human milk on free fatty acid concentration and cytotoxicity. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 59*(3), 365.

Petrone, A., & Garampon, P. (2010). *Allaitement ou préparations infantiles: le point en 2010.*

Pillay, J., & Davis, T. J. (2020). Physiology, lactation. *StatPearls [Internet]*.

Powe, C. E., Knott, C. D., & Conklin-Brittain, N. (2010). Infant sex predicts breast milk energy content. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association, 22*(1), 50-54.

Pramitasari, P. A., Sidiartha, I. G. L., & Pratiwi, I. G. A. P. E. (2019). The effect of storage on energy, carbohydrate, fat, and protein content of breast milk. *Parity, 1*(13), 48.41.

Prentice, P., Ong, K. K., Schoemaker, M. H., van Tol, E. A., Vervoort, J., Hughes, I. A., . . . Dunger, D. B. (2016). Breast milk nutrient content and infancy growth. *Acta Paediatrica, 105*(6), 641-647.

Pubert, C. (2013). Le lait de vache dans l'alimentation du nourrisson, avantages et inconvénients.

Rao, R. (2021). Milk on the Moo’ve. *Cell Calcium, 94*, 102332.

Salle, B., Senterre, J., Glorieux, F., & Putet, G. (1988). Calcium, phosphorus, and vitamin D in human milk. *Biol Hum Milk, 15*, 63-64.

Samuel, T. M., Zhou, Q., Giuffrida, F., Munblit, D., Verhasselt, V., & Thakkar, S. K. (2020). Nutritional and non-nutritional composition of human milk is modulated by maternal, infant, and methodological factors. *Frontiers in Nutrition, 7*, 172.

Sánchez, C., Fente, C., Barreiro, R., López-Racamonde, O., Cepeda, A., & Regal, P. (2020). Association between breast milk mineral content and maternal adherence to healthy dietary patterns in Spain: a transversal study. *Foods, 9*(5), 659.

Santiago, L. T. C., Meira Júnior, J. D. d., Freitas, N. A. d., Kurokawa, C. S., & Rugolo, L. M. S. d. S. (2018). Colostrum fat and energy Content: effeCt of gestational age and fetal growth. *Revista Paulista de Pediatria, 36*, 286-291.

Shah, R., & Alhawaj, A. F. (2019). Physiology, Breast Milk *StatPearls [Internet]*: StatPearls Publishing.

Shi, Y.-d., Sun, G.-q., Zhang, Z.-g., Deng, X., Kang, X.-h., Liu, Z.-d., . . . Sheng, Q.-h. (2011). The chemical composition of human milk from Inner Mongolia of China. *Food chemistry, 127*(3), 1193-1198.

Simard, K. (2001). *Conseils sur le choix et l'utilisation des substituts du lait maternel*. UHP-Université Henri Poincaré.

Stam, J., Sauer, P. J., & Boehm, G. (2013). Can we define an infant's need from the composition of human milk? *The American journal of clinical nutrition, 98*(2), 521S-528S.

Sunaric, S., Denic, M., Lalic, J., Jovanovic, T., Spasic, A., Zivkovic, J., . . . Kocic, G. (2017). Physicochemical and biochemical parameters in milk of Serbian breastfeeding women. *Turkish journal of medical sciences, 47*(1), 246-251.

Tan, S. S., Khor, G. L., Stoutjesdijk, E., Ng, K. W. T., Khouw, I., Bragt, M., . . . Muskiet, F. A. (2020). Case study of temporal changes in maternal dietary intake and the association with breast milk mineral contents. *Journal of Food Composition and Analysis, 89*, 103468.

Taufek, M., & Hidayah, N. (2017). Essential trace element analysis of human breast milk.

Thakkar, S. K., Giuffrida, F., Cristina, C. H., De Castro, C. A., Mukherjee, R., Tran, L. A., . . . Destaillats, F. (2013). Dynamics of human milk nutrient composition of women from Singapore with a special focus on lipids. *American Journal of Human Biology, 25*(6), 770-779.

Thurstans, S., Opondo, C., Seal, A., Wells, J. C., Khara, T., Dolan, C., . . . Mertens, A. (2022). Understanding sex differences in childhood undernutrition: a narrative review. *Nutrients, 14*(5), 948.

Tumilowicz, A., Habicht, J.-P., Pelto, G., & Pelletier, D. L. (2015). Gender perceptions predict sex differences in growth patterns of indigenous Guatemalan infants and young children. *The American journal of clinical nutrition, 102*(5), 1249-1258.

Turck, D., Vidailhet, M., Bocquet, A., Bresson, J.-L., Briend, A., Chouraqui, J.-P., . . . Girardet, J.-P. (2013). Allaitement maternel: les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Archives de pédiatrie, 20*, S29-S48.

Verd, S., Ginovart, G., Calvo, J., Ponce-Taylor, J., & Gaya, A. (2018). Variation in the protein composition of human milk during extended lactation: a narrative review. *Nutrients, 10*(8), 1124.

Verduci, E., Giannì, M. L., Vizzari, G., Vizzuso, S., Cerasani, J., Mosca, F., & Zuccotti, G. V. (2021). The triad mother-breast Milk-infant as predictor of future health: a narrative review. *Nutrients, 13*(2), 486.

Witkowska-Zimny, M., & Kaminska-El-Hassan, E. (2017). Cells of human breast milk. *Cellular & molecular biology letters, 22*(1), 1-11.

Xu, G., Davis, J. C., Goonatilleke, E., Smilowitz, J. T., German, J. B., & Lebrilla, C. B. (2017). Absolute quantitation of human milk oligosaccharides reveals phenotypic variations during lactation. *The Journal of nutrition, 147*(1), 117-124.

Yang, T., Zhang, L., Bao, W., & Rong, S. (2018). Nutritional composition of breast milk in Chinese women: a systematic review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 27*(3), 491-502.

Zhang, J., Zhao, A., Lai, S., Yuan, Q., Jia, X., Wang, P., & Zhang, Y. (2021). Longitudinal Changes in the Concentration of Major Human Milk Proteins in the First Six Months of Lactation and Their Effects on Infant Growth. *Nutrients*, *13*(5), 1476.

Zhu, M., Yang, Z., Ren, Y., Duan, Y., Gao, H., Liu, B., . . . Yin, S. (2017). Comparison of macronutrient contents in human milk measured using mid-infrared human milk analyser in a field study vs. chemical reference methods. *Maternal & child nutrition*, *13*(1).

Basdeki, A.-M., Fatouros, D. G., Biliaderis, C. G., & Moschakis, T. (2021). Physicochemical properties of human breast milk during the second year of lactation. *Current Research in Food Science*, *4*, 565-576.

Annexes

Annexe 01 : Cadre d'étude

La wilaya d'AïnDefla est située au centre de l'Algérie à 145 km au sud-ouest d'Alger dans une zone reliant l'Est et l'Ouest du pays, elle est délimitée :au nord, par la wilaya de Tipaza ;au nord-est, par la wilaya de Blida ;à l'est, par la wilaya de Médéa ;au sud, par la wilaya de Tissemsilt ; à l'ouest, par la wilaya de Chlef.



Wilayas limitrophes de la **wilaya de Aïn Defla**



Fig. 1 : Image illustrant les différentes régions de l'Alger, y compris le site d'étude,

La wilaya d'Ain Defla.

Annexe 02 : *Questionnaire de lactation*

Fiche Questionnaire sur la lactation (enfants de 0 à 24 mois).

Veuillez répondre à toutes les questions aussi complètement que possible

Centre de santé :

Numéro de l'enquêteur /__/

Numéro de la mère /__/ /__/__/ Numéro de l'enfant /__/ /__/__/__/

Date de l'enquête /__/__/ /__/__/ /__/__/

Stade de mères allaitante /__/__/

Volume d'échantillon : /__/__/__/

Mode de prélèvement : /__/ des deux seins avec un tire-lait mécanique

Section1 : ***Identification de l'enquêtée***

Prénom de la mère : Nom de famille :

Date de naissance de la mère (Âge de la mère (y) :

Les mesures anthropométriques

Poids en kg /__/__/. /__/__/__/

Taille en cm /__/__/__/. /__/__/

Le poids auto déclaré pendant la pré-grossesse/__/__/. /__/__/__/

Poids après l'accouchement : la livraison (kg) /__/__/. /__/__/__/

Indice de masse corporelle maternel (IMC) (kg / m ^{2}) /__/__/. /__/__/__/

Groupe sanguin : Rh :

Adresse :

Téléphone :

E-Mail :

La localisation géographique -*Ville : Rurale / urbain*

***Section2:** Identification de l'enfant*

Prénom de l'enfant : Nom de famille :

Date de naissance de l'enfant : /__/__ / /__/__/ /__/__/ Âge : /__/__/

Poids du nourrisson :

Longueur du nourrisson Taille (cm) :

Sexe de l'enfant ? Sexe : Masculin /__/ Féminin /__/ jumeaux /__/

Groupe sanguin : Rh :

***Section 3 :Grossesse et l'état de santé de la mère /*bébé**

Période gestationnelle

Quel était l'âge gestationnel de votre bébé à la naissance ? /__/__/ semaines

Était-ce votre première grossesse ? □ Oui □ Non

Si non, combien de grossesses avez-vous eu ? /__/__/

Combien d'enfants avez-vous ? /__/__/

Ont-ils été allaités ? □ Oui □ Non

Si oui, pour combien de temps ? ……..

Est-ce que l'une des conditions suivantes est survenue pendant votre grossesse ?

1. accouchement prématuré
2. hypertension
3. anémie
4. diabète gestationnel
5. nausée / vomissement-sévère
6. les médicaments
7. autre :

Quel type d'accouchement avez-vous eu :

1. Normal (vaginal)
2. Césarienne sans anesthésie générale
3. Césarienne avec anesthésie générale

L'un des événements suivants s'est-il produit pendant la naissance de votre bébé ?

1. travail plus de 30 heures
2. épisiotomie
3. déchirure vaginale
4. pousser plus de 2 heures
5. forceps
6. extraction par aspiration
7. présentation du siège
8. autre :

L'une des conditions suivantes s'est-elle produite après l'accouchement ?

1. infections urinaires / autres
2. Pression artérielle faible
3. hypertension
4. saignement excessif
5. transfusion
6. autre :

Combien de temps après la naissance avez-vous tenu votre bébé pour la première fois ?

Immédiatement

Dans les cinq minutes

Dans une demi-heure

Dans une heure

Dès que j'ai pu répondre (après césarienne avec anesthésie générale)

Autre: (combien de temps après la naissance ?)

Je ne me souviens pas

Comment avez-vous tenu votre bébé, cette première fois?

Peau à peau

Enveloppé sans trop de contact avec la peau

Comment nourrissez-vous votre bébé?

1. Allaiter exclusivement
2. Allaiter et nourrir les substituts du lait maternel
3. Nourrir mes bébés substituts de lait maternel (ne pas allaiter du tout)
4. Autre : (veuillez décrire)

Est-ce que votre bébé a des conditions médicales connues ?

□ Oui □ Non

Si oui, veuillez indiquer :

Est-ce que l'une des procédures ou conditions suivantes s'applique à vos seins ?

1. biopsie
2. grumeaux
3. mamelon inversé
4. autre

Veuillez énumérer les médicaments :

Les problèmes suivants sont-ils rencontrés au cour d'allaitement?

1. préférence pour un sein
2. engorgement
3. bébé pas intéressé
4. bébé a toujours l'air affamé
5. bébé endormi
6. douleur mammaire
7. mamelons endoloris
8. saignement des mamelons
9. pas assez de lait
10. bébé pleure excessivement
11. autre:

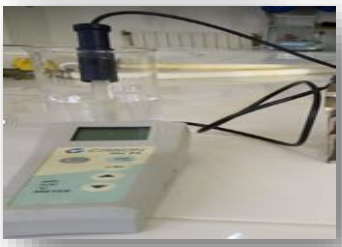
Annexe 03 : Matériels et produits utilisés

Pour prélèvement du lait maternel :



- Tube en plastique à couvercles ajustés.
- Glacière «iso thermique » et poche de glace.
- Tire- lait

Pour la détermination du pH



- pH-mètre (*Crison*).
- Etalons : pH=4, pH=7.

Pour la détermination de la quantité d'eau :



- Balance analytique *(KERN PLS*)
- Étuve réglée à 102 ± 2 °C (*BINDER*).
- Dessiccateur muni d'un agent de dessiccation.
- Capsule à fond plat

Pour la détermination de la teneur en lactose :



- Burette graduée.
- Eprouvettes graduées,
- Plaque chauffante + agitateur magnétique*(Velpscientifica)*.
- Erlenmeyers de 100 ml.
- Fiole jaugée de 50 ml
- Entonnoir
- Pipettes de 10ml.
- Solutionaqueuse d'hexacyanoferrate (II) de potassium hydraté.
- Solution cuivrique.
- Solutionaqueuse d'acétate de zinc hydraté.

Annexes

Pour la détermination de la teneur en glucose :

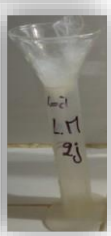


- Automate biochimique *(BECKMAN COULTER).*
- Lactosérum du lait maternel.

Pour la préparation du lactosérum et la séparation de la caséine :







- Centrifugeuse réfrigérée (5000 tr/ min) (*Presvac*).
- pH-mètre (*CRISON*).
- Micropipettes (10, 20, 100, 200 et 1000 µl).
- Laine de verre.
- Solution d'HCl 4N.
- Solution NaOH 1N.

Pour la détermination des protéines Totales :

- Lactosérum du lait maternel.
- Automate biochimique *(BECKMAN COULTER).*

Pour la détermination des substances azotées non protéiques du lait maternel :



- Automate biochimique *(BECKMAN COULTER).*
- Lactosérum du lait maternel.

Pour la détermination de la matière grasse (MG) :



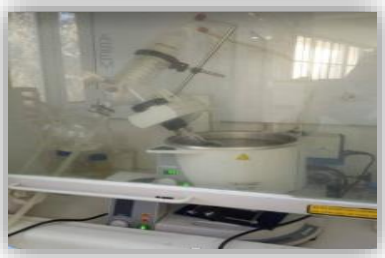
- Etuve réglée à 102 ± 2 °C (*BINDER*).
- Capsule cylindrique en verre.
- Dessiccateur muni avec un agent de dessiccation.
- Balance analytique *(KERN PLS*).

Pour la détermination des lipides totaux :

Les manipulations ont nécessité aussi l'usage d'accessoires spécifiques, notamment :

- Micropipettes à volumes fixe et variable (0 – 1000 µl);
- Ampoule à décanter ;
- Pipettes gradué, erlenmeyer,
- Tubes à essai, eppendorf,
- Entonnoir, ballon en verre
- Seringues Hamilton ;
- Gants et masques
- Vortex
- Centrifugeuse de paillasse, max 3500x g
- Rota vapeur





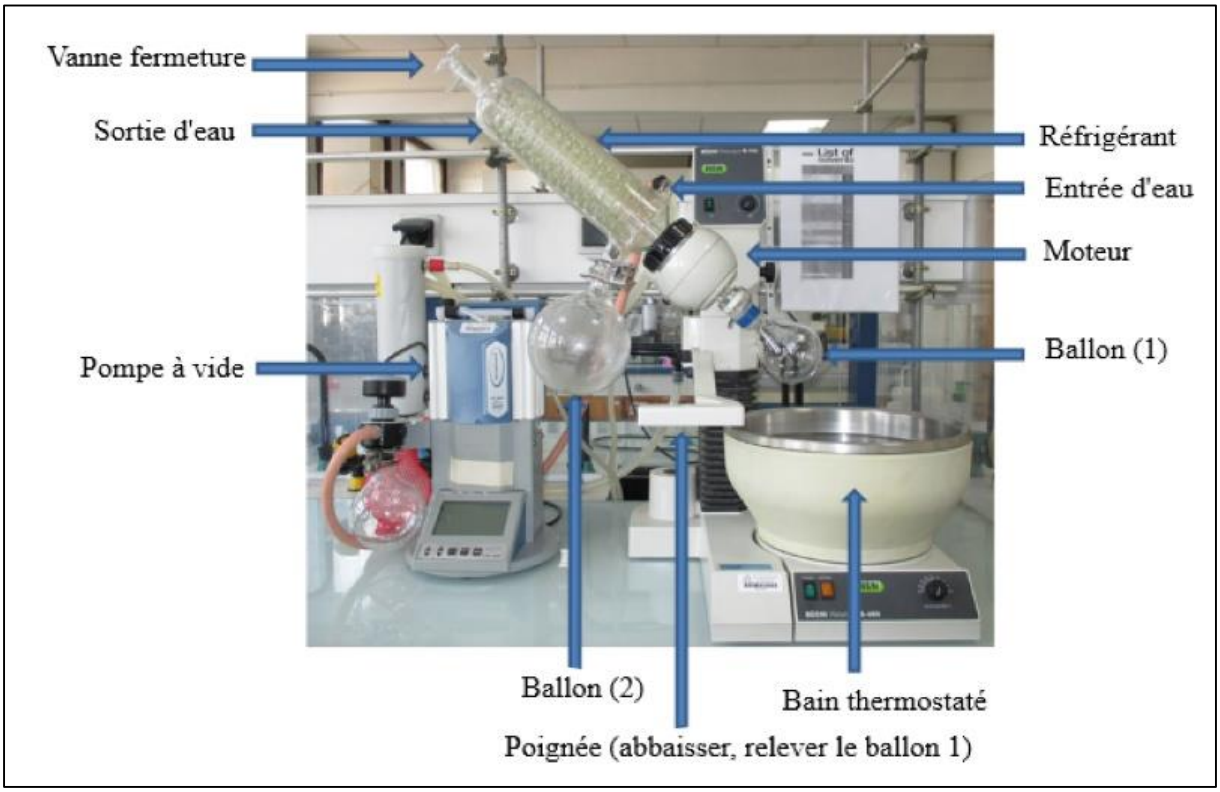


Figure 2 : Photo annotée d'un évaporateur rotatif

Pour la détermination les minéraux:

Produits chimiques et réactifs

- Acide nitrique (concentré à 65,0 %, Merck, Allemagne)
- Peroxyde d'hydrogène (concentré à 30,0 %, Merck, Allemagne)
- Eau ultra pure

Matériel

- Balances analytiques de précision (0,0001 g),*(KERN PLS*)
- Verrerie (Fioles jaugées classe A, Pipettes jaugées Classe A).
- Purificateur d'eau
- Étuve (*BINDER*).
- Four a moufle
- Hotte*(ASEM).*
- Spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme SAAF







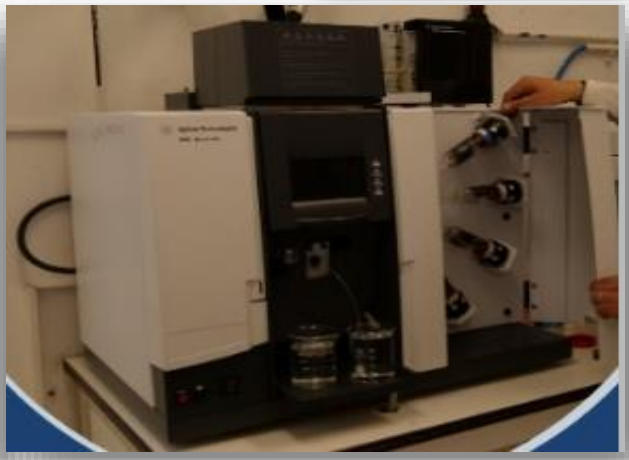


Fig. 3 : Spectrophotomètre D'absorption Atomique Flamme

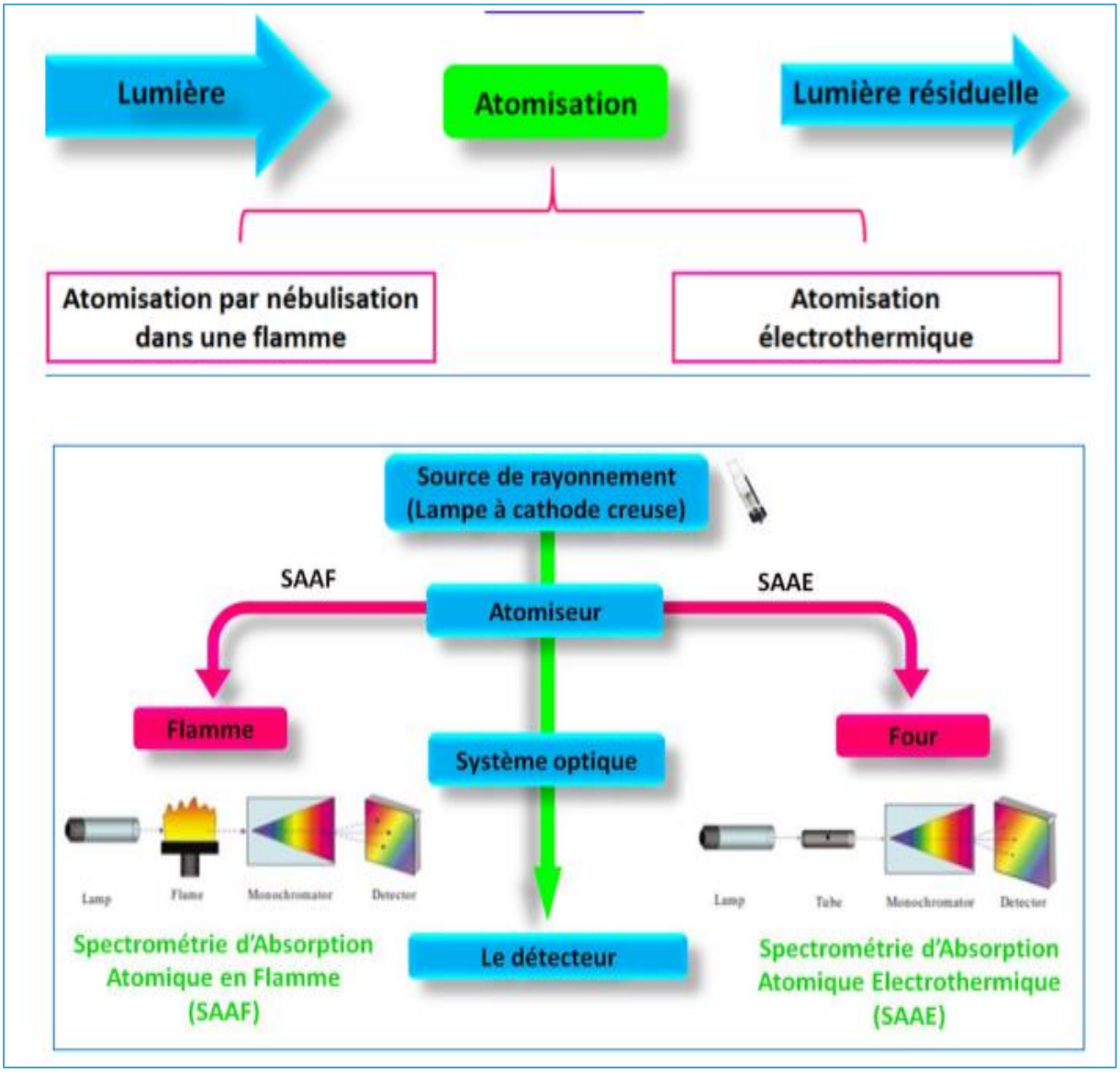


Fig. 4 : Principe de fonctionnement de la spectroscopie d'absorption atomique (SAA)

<u>Annexe 04</u> : Composition et préparation des solutions utilisées pour la détermination de la teneur en lactose

- **Solution aqueuse d'hexacyanoferrate (II) de potassium hydraté :**

  $(K_4Fe(CN)_6, 3H_2O)$ 150 g

  Eau distillée (qsp) 1000ml

- **Solution aqueuse d'acétate de zinc hydraté :**

  (Zn(CHCOO) 2 ,2H2O) 300g

  Eau distillée (qsp) 1000ml

- **Solution cuivrique :**

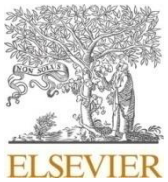
  Sulfate de cuivre II hydraté(CuSO4 ,5H2O) 40 g

  Acide sulfurique(d= 1.83) 2 ml

  Eau distillée (qsp) 1000ml

Publication

JournalofFoodCompositionandAnalysis115(2023)104889



Contentslists available atScienceDirect

Journal of Food Composition and Analysis





Effect of infant's gender and lactation period on biochemical and energy breast milk composition of lactating mothers from Algeria

NaimaKhelouf[a,b,*,1],Khadidja Haoud[b],Samira Meziani[a],Meriem Fizir[c,d,2],
Faïza NawelGhomari[e],Meghit Boumediene Khaled[b,f],Nadjat Kadi[g]

[a]BiotoxycologyLaboratory,Department ofBiology, Faculty ofNatural Sciences andlife, Universityof DjillaliLiabes, SidiBel Abbes,Algeria
[b]DepartmentofBiology,FacultyofNaturalSciences,UniversityofDjillaliLiabes,SidiBelAbbes,Algeria
[c]Laboratoiredevalorisationdessubstancesnaturelles,Universit´eDjillaliBounaama,KhemisMiliana,Alg´erie
[d]DepartmentofAnalyticalChemistry,ChinaPharmaceuticalUniversity,Nanjing211198,China
[e]LaboratoireEau-Roche-Plante,D´epartementdeBiologie,Universit´eDjillaliBounaama,KhemisMiliana,Alg´erie
[f]Nutrition,Pathology,AgroBiotechnologyandHealthLaboratory,DjillaliLiabesUniversity,FacultyofLifeandNaturalScience,Sidi-bel-Abbes,Algeria
[g]DigitaleconomicinAlgeriaLaboratoryUniversityofDjillaliBounaama,KhemisMiliana,Algeria

ARTICLEINFO

Keywords:

Breastmilk

BiochemicalcompositionI
nfant's gender

Lactating
motherEnergyCh
olesterolGlucoseC
olostrumperiodTr
ansitionalMature
period

ABSTRACT

Inthisresearch,wereportedtheeffectofinfant'sgenderonthecalorieandbiochemicalcompositionofhuman breastmilkduringdifferentlactationperiodsincludingcolostrum,transitional,andmaturemilk,andtoevaluate the difference of total fat, cholesterol,carbohydrate, lactose, glucose, totalproteins, whey proteins,casein and energybetweenhumanbreastmilkformale(HBMM)andforfemaleHBMF).Intotal,125HBMsampleswere analyzed;72samplesformaleinfantsand53withfemaleinfants.Themainfindingswere:(1)thematurefatcontent in HBM for male infants was significantly higher than for female infants ($p = 0.017$), and ($p < 0.001$) forbothsexesduringalllactationperiods.

Moreover,nosignificantdifference($p > 0.05$)wasrecordedincholesterolconcentrations at all lactation periods between the milk for the different sexes; (2) the concentration of carbo- hydrate and lactose in colostrum and mature HBMF was higher than in HBMM. At all lactation periods, there wasnosignificant differences incarbohydrate female BM ($P = 0.05$).By contrast,therewere significant differences inmalesBM($p = 0.03$);thelactosecontentbetweenHBMFandHBMMdifferedsignificantly($p < 0.001$).Thehighestglucos econcentrationwasobservedinmatureHBMF(0.18 ± 0.11g/L) comparedtoHBMM(0.13 ± 0.08g/L)atastatisticalsignificanceof$p = 0.032$.Furthermore,highlysignificantdifferencesinHBMFglucose concentrations ($p < 0.01$) were noticed compared with HBMM ($p = 0.08$) at all lactation periods; and (3) concerningtotalprotein,wheyproteinandcasein,nosignificantdifferencesbetweenHBMMandHBMF($p > 0.05$) were observed in each period of lactation. The results of the current study highlighted that milk energy densitywashigherinmaleHBMthaninfemaleHBMatstagesoflactationwithhighlysignificant($p < 0.001$) andconfirmsthatbiochemicalandenergycontents,inHBMoflactatingmothersfromalllactationperiods,were affectedbythesexofinfants.

1. Introduction

Human Breast milk (HBM) is the natural complex food for infant nutrition; it provides numerous health benefits for both mothers and growinginfants(FischerFumeauxetal.,2019).Thisbiologicalfluidis characterizedbyanextremevariabilityinitscompositionadaptingitself to the changing needs of the growing infants (Ullah et al., 2018). In addition, HBM may impact early brain development, with potentially important biologic, medical, and social implications affecting biochemicalsystems,andeliminatingvariouspathogens(Kaplanetal.,2019). Several studies have demonstrated that HBM possesses various componentsofmacro-andmicronutrients,providescomplex

*Correspondingauthorat:BiotoxycologyLaboratory,DepartmentofBiology,FacultyofNaturalSciencesandlife,UniversityofDjillaliLiabes,SidiBelAbbes,Algeria.
*E-mailaddresses:*biologiebiochimie@hotmail.fr,Kheloufnaima80@gmail.com(N.Khelouf).
[1]orcid.org/0000-0001-8659-9664
[2]orcid.org/0000-0003-0118-7017

https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104889
Received22December2021;Receivedinrevisedform8June2022;Accepted6September2022
Availableonline14September 2022
0889-1575/©2022ElsevierInc.Allrightsreserved.

combination of fats, carbohydrates, proteins, minerals and constitutes the mainsourceof nutritional energy (Poweet al.,2010; Sunaricet al.,2017). On the one hand, fats represent the major source of energy for infants and provides more than 50 % of the required energy for the development of the central nervous system. These fats are composed of a complex mixture of lipids, among which cholesterol considered as an essential basic element for all cell membranes (Mosca and Giannì,2017). On the other hand, it is well established that carbohydrates isconstituteanessentialsourceofenergyforthebrainconstituting40%of itsenergycontributions(Gridnevaetal.,2019;Thakkaretal.,2013).In addition, lactose plays a key role in maintaining a constant osmotic pressure of human milk (Gridneva et al., 2019), improves gastrointestinal microbiota, promotes absorption of calcium, and sustains normal metabolism (Broka et al., 2016).

Proteins (caseins and whey proteins) are the third most abundant solid fraction in HBM and exert numerous physiology activities, benefitingbreastfedinfantsinavarietyofwaysastheyprovidenutrition and protection and also play a role in facilitating the digestion and up- take of other nutrients in breast milk (Lo¨nnerdal, 2003; Mosca andGiannì, 2017).

The World Health Organization (WHO) recommends that babies continue to be breastfed for up to two years of age or beyond. Breastfeeding during the earliest stage of life is major contributor to infant growth and maturation of tissues and organs (Organization, 2003). Humanmilkcompositionisdynamicandcanvarydependingonvarious maternal, infant, environmental, and physiological factors (Bzi-kowska-Jura et al., 2020). This composition would also be affected by diet, over periods of lactation (Sunaric et al., 2017). Maternal diet constitutes a key factor that influences the volume and composition of HM(Samueletal.,2020).Fatcontentvariessignificantlywithmaternal diet and is also thought to be positively associated with body weight gainduringpregnancy(ShahandAlhawaj,2019).Changesinmaternal diet have a significant influence on the macronutrient composition of BM, especially within the lipid fraction as reported by (Galante et al.,2018).Thenatureof fatconsumedbymothersinfluencesthefattyacid composition of milk (Medicine et al., 1991). Arachidonic acid (AA) concentration in BM is dose-dependently associated with consumption of AA-rich foods in breastfeeding women (Martin et al., 2016). On the other hand, there is no convincing evidence that diet or body composition influences total milk protein concentration, even in undernourished women (Medicine et al., 1991).

ThecompositionofHBMisaffectedbytimeofbreastfeedingandis differentiated into colostrum and mature milk, as lactation proceeds with the intermediate of transitional milk (Galante et al., 2018). In the initial weekafter delivery, the firstfluid producedby mothersis colos- trum (Basir et al., 2019; Shah and Alhawaj, 2019). After five days, colostrum will be gradually replaced by transitional milk that typically occursfromthe6thto14thday.Thislattersharessomeofthecolostrum characteristics and support infants' growth and development (Moscaand Giannì, 2017). From the second week after delivery, milk is considered largely mature (Organization, 2003).

Infant's gender may stimulate considerable changes in biochemical composition of HBM during whole lactation periods, due to larger nutritional requirements during lactation periods (Galbarczyk, 2011). Whilehumanmilkcompositionischaracterizedbymarkeddynamicity, wearefarfromhavingaclearpictureofwhatfactorsdrivethisvariation (Galante et al., 2020). In literature, evidence for a sex-specificity in human milk composition is limited and conflicting (Galante et al.,2018).AstudycarriedoutbyAlhindietal.evaluatedproteinandlactose constituents content of human milk samples based on infant's gender. TheresultsindicatedthatmothersofmaleinfantsproducedaBMwitha higher content of protein than of female infants (Alhindi et al., 2019). Another study on the BM composition of two to five-month newborn infants showed that high dose of energy was found in milk of male infant'smother(Poweetal.,2010).,SimilarresultswerereportedbyHahn andcollaborators(Hahnetal.,2017).However,theirstudyshowed some limitations i.e the effect of infant sex on the composition of HBM in term of carbohydrates, lactose, glucose, fat, cholesterol, proteins (ca- seins and whey proteins), and energy at different lactation stages and with large samples were not considered.

To the best of our knowledge, there has not been prior studies performed on the association between biochemical and energy HBM compositionforMaleinfants(HBMM)andHumanBreastMilkforFe- male infants (HBMF) during the whole lactation periods "colostrum milk, transient and mature milk". In the current study, we aimed to (1) analyze changes in biochemical and energy composition of BM during the complete lactation period, being of major concern for studies involved in nutrition and child health; (2) evaluate the relationship between these parameters and infant gender. In this context, a better knowledge and understanding of HM composition and its variations, especially temporal changes, is required to quantify macronutrients composition in breast milk from mother's lactating male or female newborn over time lactation stages.

2. Material and methods

2.1. Materials

Chemical reagents, calibrators and controls of cholesterol, glucose and total protein were purchased from Beckman Coulter Eurocenter S.A. ChloroformandmethanolwereofHPLCgradewhilesodiumhydroxide (NaOH),Butyl-hydroxytoluene(BHT),sodiumchloride(NaCl),andreagents composition of Lactose analysis used in this study were of analytical grade were purchased from Sigma Aldrich(see SD).

2.2. Studypopulation

The study was conducted between June 2018 and February 2019. Onehundredtwentyfive(n=125)milksampleswereprovidedbymale lactatingmother'sandfemalelactatingmother's(n=92)agedbetween 18and43years,atvariousstagesoflactation(1–720dayspostpartum), that provided the colostrum, transition, and mature milk as shown in Fig. 1A. The participant women living in various regions throughout Algeria were admitted with their newborn to pediatrics and maternity wards at the hospitals "from three Counties, located at the city of Ain Defla, center of Algeria", and from the outpatient by participants at homeaftertheywereoffereddetailedinstructionsforsampling milkin hygienic and clean conditions.

Theobtainedmilksamplesweregroupedintothreecategoriesbased onthepostpartumdates:colostrum(1–5days),transitional(6–15days), andmaturemilk(after15days)(Fig.1B-D).The72BMsampleswere collectedfromlactatingmothers(n=57)maleinfantswithagegroup 1–720dayspostpartum.The53ofsampleswerealsocollectedfrom lactatingmothers(n=35)feedingfemaleinfantwithsimilaragegroup (Table1).Allmeasurementsandanalyseswereperformedatthreetime points:duringthecolostrum(C),transition(T),andmaturemilk(M) stagesoflactation.

2.2.1. Characteristicsofthelactatingmothers

*2.2.1.1. Anthropometricmeasurementsandsocio-economicsituation.*Maternalinformationwerecollectedthroughaquestionnaireduring humanmilkcollection(seeSD).Thequestionnaireincludednewborn's gender,maternalage(year),bodyweight(kg),height(cm),pre- gestational body mass index (BMI), BMI weight gain " maternal BMI before"maternalparity,gestationalageatbirth(weeks)andday lactation during sampling milk stage. The demographic and anthropo- metrical characteristics of the infants and the mothers are summarized inTable2.Verbalconsentwasobtainedfromtheirparentswhile ensuring confidentiality. Neonatal variables such as gender, birth body weight,andinfantagewereobtainedfrommedicalrecords.

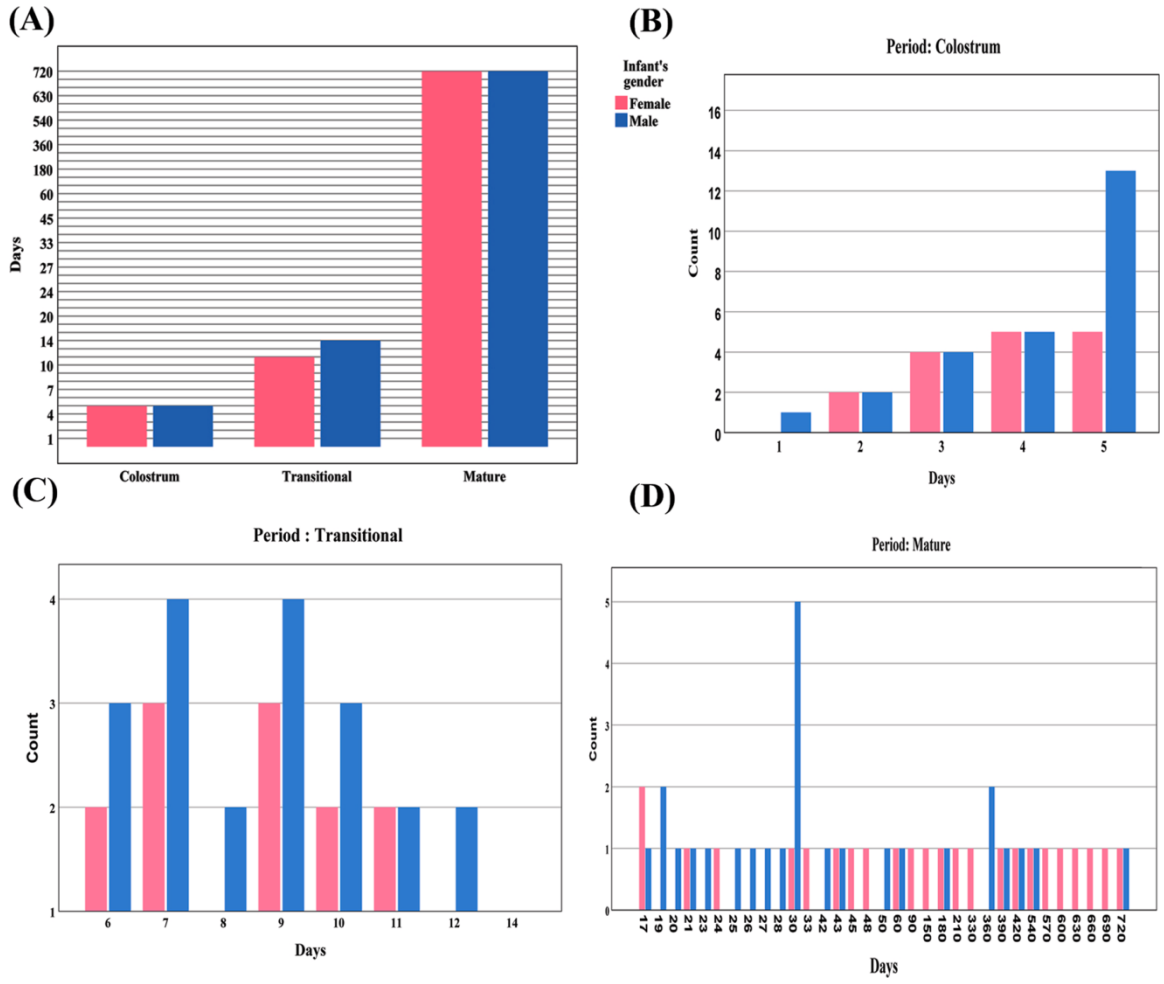


Fig.1.: Repartitionofinfant'sgenderaccordingtodaysandlactationperiod.

Table1

Repartitioninfantsaccordingtoinfant'sgenderandLactationstages.

			Lactationperiod			Total
			Colostrum	Transitional	Mature	
Infant'sgender	Female	Effectif	16	13	24	53
		%Infant'sgender	30.2%	24.5%	45.3%	100.0%
	Male	Effectif	25	21	26	72
		%Infant'sgender	34.7%	29.2%	36.1%	100.0%
Total		Effectif	41	34	50	125
		%Infant'sgender	32.8%	27.2%	40.0%	100.0%

Measurementofbodyweight,length,BMIandBMsamplingcollection are presented in SD.

2.2.2. *Inclusionandexclusioncriteria*

Fortheinclusioncriteria,detailsseeSD.

2.3. *Sampletreatmentandwheypreparation*

Prior analysis, each BM sample (n=125) was thawed at room temperatureandhomogenizedfor1.5s/mL,thendividedintofivealiquots.Aliquotsweresubsequentlyusedfordeterminationoffat,protein, andtotalcarbohydrates.Thepreparationofwheyisrequiredforcertain analyses of BM. Samples were prepared using a double centrifugal process (See Fig SD.2).

2.4. *NutritionalvalueofhumanmilkMeasurementofHMmacronutrient*

In order to obtain complete samples sets, HBM samples were analyzedforbiochemicalcomposition.TheBMsamplesunderwentthe same analyses. The overall flowchart of the experimental approach, adopted in this study, is presented in Fig SD.1

2.4.1. *Compositiondeterminationoffat*

Fat percentage was obtained using modified Folch extraction procedure(Folchetal.,1957).Atfirst,the2mLHBMsampleswerethawed atroomtemperatureandheatedto85◦Cfor1–5mins,thenwere extractedwithchloroformandmethanol(2:1v/v)usinga50 mL butyl-hydroxytoluene (266µl BHT 0,01 %). After that, 20µl of heptadecanoic acid (C17: 0–5mg / mL in dichloromethane) was added as internal standard and agitated for 30s′and leave for 1 h at room temperature.Tothe abovesolution, 5mL0.9% NaClwasadded,followed

Table2

Descriptivecharacteristicsofthestudypopulationoflactatingmothersandinfant'sgenderinthreelactationperiod(mean±SD).

	Infant'sgender								
	Colostrum(C)M			Transition(T)M			Mature(M)		
	ale	Female	1P value	ale	Female	1P value	Male	Female	1 Pvalue
Maternalage(years)	29.2±5,65	28.2±6,03	0.85	27.0±5.96	30.9±5.89	0.2	30.5 ±4.08	29.2 ±4,43	0.43
Statusn(%):younger18–34	19(76.0%)	14(87.5%)		17(81,0%)	9(69.2%)		22(84.6%)	20(83.3%)	
Older ≥35 years	6(24.0%)	2(12.5%)		4(19.0%)	4(30.8%)		4(15.4%)	4(16.7%)	
Deliverymoden(%)									
Vaginaldelivery	25(100)	15(93.8)		18(85.7)	13(100)		18(6.2)	11(45.8)	
Cesareansection	0(0.0)	1(6.3)		3(14.3)	0(0.0)		8(30.8)	13(54.2)	
Maternalheigh(cm)	161±10.1	159±7.59	0.18	158±7.74	159±6.14	0.87	160±4.89	157±4.02	0.01**
Pre-pregnancyweight(kg)	64.0 ±10.71	63.2±10.1	0.81	60.6±11.9	64.69±11.4	0.33	64.3 ±10.6	71.9 ±9.15	0.009**
Currentweight(kg)	71.4±11.5	68.5±10.5	0.41	65.2±12.1	69.5±11.225.7 ±4.19	0.31	70.9 ±10.5	77.1 ±8.86	0.02**
Pre-pregnancyBMI(kg/m^2)	24.8±4.81	24.9±3.79	0.95	23.9±4.37	_6(46.2%)	0.1	24.8 ±3.97	2.29 ±4.31	0.000***
Underweight<18,5kgm^2	1(4.0%)	0(0.0%)		_	4(30.8%)		1(3.8%)	2(8.3%)	
Normal weight 18, 5–24,9 kg/$_{m^2}$	16(64.0%)	10(62.5%)		15(71.4%)	3(23.1%)		14(53.8%)	1(4.2%)	
Lessobese2529,9kgm^2	5(20.0%)	4(25.0%)		4(19.0%)	27.8±4.22		9(34.6%)	9(37.5%)	
Obese>30kgm^2	3(12.0%)	2(12.5%)		2(9.5%)	38.3±1.56		2(7.7%)	12(50.0%)	
CurrentBMI(kg/m^2)	27.3±4.85	24.9±3.80	0.09	26.2±4.22	3(23.1%)	0.19	27.9 ±4.38	30.7 ±3.86	0.01**
Gestationalage(weeks)	37.9±1.35	38.0±1.55	0.86	38.4±2.71	10(76.9%)	0.7	38.8 ±1.89	40.2 ±1.86	0.01**
Pre-term<37weeks	9(36.0%)	6(37.5%)		7(33.3%)			7(28.0%)	1(4.2%)	
Term37_42weeks	10(62.5%)	16(64.0%)		14(66.7%)	8.46±1.76		18(72.0%)	23(95.8%)	
Infantsage(days)	4.08±1.19	3.8125 ±1.05	0.3	8.86±2.17	3.42 ±0.59	0.56	136±196	271±263	0.02*
Infantsweight(kg)	3.12±0.34	2.91±0.71	0.21	3.25±0.74	48.92±1.55	0.47	5.45 ±2.91	7.43 ±3.17	0.003**
InfantsHeigh(cm)	48.4±1.87	46.9±2.69	**0.04***	47.76 ±3.71	14.00±2.04	0.21	58.4 ±11.7	65.4±12.	0.04*
InfantsBMI(kg/m^2)	13.3±1.47	13.3±3.08	0.95	13.95 ±2.07		0.77	15.0 ±1.98	16.5 ±2.16	0.01

Continuous variables are expressed as means " mean ±SD" and standard deviation while categorical variables are expressed as percentages.BMI, body mass index.

[1]***P* value** Values with different are significantly different among the both gender in three lactation period by t-Student or Mann–Whitney tests were used depending onvariable distribution. * p <0.05,*P <0.05, **P <0.01, ***P <0.001.

by homogenization in a vortex for five mins/350 rpm, then centrifuged for10 mins/4000 rpm.Twophasesareobtained,separatedbyaprotein disk. The lower phase "A" is recovered by aspiration using a Pasteur pipette and transferred to a 2nd conical tube (50mL). The interfacial disc was homogenized in 2.5mL chloroform-methanol, and homoge- nized in a vortex for five mins and centrifuged again for 10mins at 4000rpm. The lower phase "B" was recovered. And mixed with that obtainedpreviously.Thelowerphase"A"andtheaqueouslayerwere theneliminated.Theorganicfraction(A+B)wasfilteredandthelipid layerwasevaporatedat45 °C,andthendriedat100 °Cfor30 mins.The fat content (F) wasexpressedin grams per100g of milk as:

F%=[(w0–w1)/ M]x100

M:weightingramsofsample.
w0:weightingrams offullballoonafterdesiccation.
w1:weightingramsofemptyballoonafterdesiccation.

2.4.2. Determinationofcholesterolconcentration

The cholesterol was determined by the enzymatic colorimetric method(Fujimorietal.,2015),usingaBeckmanCoulterAU480auto- maticbiochemicalanalyzeraccordingtopreviousreports(Sunaricetal.,2017). The detailed method is presented in SD.

2.4.3. Determinationofcarbohydrate,lactoseandglucosecontent

Lactosecontentwasdeterminedbyatitrimetricmethodbasedonthe hotreductionofanalkalinecuprosolution(Fehling'ssolutionsAandB) according to previous reports (Alhindi et al., 2019; Musallam et al.,2017). For this assay, a defecation procedure by adding a solution of potassium hexacyano ferrate and zinc acetate to milk was performed. Fehling's solution was calibrated using a standard lactose solution of known concentration. Further details are presented in SD.

The glucose dosage was determined by the enzymatic method of glucose oxidase (Fujimori et al., 2015), using a Beckman Coulter AU 480 automatic biochemical analyzer (Sunaric et al., 2017). Further details are presented in SD.

Thecarbohydratecontentwasobtainedbythefollowingcalculation adopted by Yamawaki et al. (2005):

Carbohydrates=totalsolids-proteins-TotalFats–ash

2.4.4. Determination of total protein, whey protein and insoluble proteins"Caseins"

2.4.4.1. Total protein and whey protein. The total protein and whey protein contents were determined by Biuret method (Aldhalemi andAl-Mosawi,2019)usingBeckmanCoulterAU480automaticbiochem-icalanalyzer(Sunaricetal.,2017).Furtherdetailsarepresentedin SD.

2.4.4.2. Insoluble proteins "Caseins". Totalcaseinwas deduced byitsisoelectric precipitation (Imranet al., 2008).The isolation of caseins was carriedoutbydifferentialprecipitationatisoelectricpHofthisfraction

whichwas4.2(LawandLeaver,2000).Furtherdetailsarepresentedin SD.

2.4.5. Estimatedenergycontentsofbreastmilk

Forcomparison, the energycontentof humanmilk wasnot directly measured in our study, but it was calculated. In addition, the macronutrient content of the milk was used to calculate energy value. The concentrations of all macronutrients were reported in grams " g " per liter " L " and energy (kilocalories) was calculated from the fractional analysis of 9 kcal/g for fat, 4 kcal/g for carbohydrates, and 4 kcal/g for protein, according to Quinn (2012) and Fischer et al., (2019) (FischerFumeaux et al., 2019; Quinn et al., 2012). Finally, milk energy was calculatedfrommacronutrientsusingstandardformulasforhumanmilk accordingtotheAtwatergeneralfactorsystem(Quinn,2013)asfollow:

Energy =proteinsx4+TotalFatx9+carbohydratesx4·

3. Statisticalanalysis

ThestatisticalanalyseswereconductedusingSPSSsoftware(version 25;IBM,Armonk,NY,USA)andp<0.05wasconsideredstatistically significant (See SD).

4. Results

4.1. Characteristicsandanthropometricmeasurement

Ninety-twomotherswererecruitedtothestudy.Theanthropometric characteristics of lactating mothers and their male or female infants fromthethreelactationstagesaresummarizedinTable2.Therewereno significantdifferencesinmaternalagebyinfant'sgenderduringthe threelactationperiods(p >0.05).Furthermore,thepercentageof mothers with a male infant was slightly higher than those with female infants(81.0%vs69.2%intransition,and84.6%vs83.3%inmature period).

The comparison between mothers with a female infants and those with a male infants, in mature period, showed that the mean ±SD of prepregnancybodyweight(71.9±9.15,64.3±10.6kg;p=0.009), currentbodyweight(77.3±8.86,70.9±10.5kg;p=0.02).PrepregnancyBMI(29.2±4.31,24.8±3.97kg/m^2;p<0.001)andcurrentBMI(30.7±3.86,27.9±4.38kg/m^2;p=0.01)beinghigherin mothers with a female infants than those with a male infants with significant differences.

Our study showed that mothers with a male infant presented higher percentages of normal body weight compared to those with female infants(64.0%vs62.5%)incolostrum,(71.4%vs46.2%)intransitional and(53.8%,4.2%)inmatureperiodand12mothers(50.0%)witha female infant were obese. However, none of the mothers lactating female in colostrum period was classified as underweight (BMI <18.5kg/m^2).Thebirthwasattermformostofthem,whereas,gestationalage with an almost equal percentage for mothers with a male and female infants with significant differences p = 0.013.

GivingbirthbyVaginaldeliverypredominatedforbothgroupsof lactatingmothers(malevsfemale)inmoststagesoflactationcolostrum: 25(100 %),vs15(93.8 %), transitionalperiod:18(85.7%)vs 13(100 %), and mature period: 18 (69.2 %) vs 11(45.8 %). While, in mature period, delivery by cesarean section predominated by 54.2 % for mothers lactating female than those of males 8 (30.8 %).

The distribution of newborn /infants in our study showed a slight predominantlyofthemales(61%incolostrum,61.8%transition,52% inmature).Ourresultsshowedsignificantdifferencesinmatureinmale andfemaleinfantsage(p<0.01).Thenormalbirthweightis≤4kg acrossbothgenders,however,duringmatureperiod;thebodyweightin femaleinfantswassignificantlyhigherthanthatinmaleinfants(7.43 ±3.17vs5.45±2.91kg,p=0.003).

In addition, we observed that males were significantly shorter and lowweighedthanfemalesinthelatelactationperiod(p<0.001).There wassignificantdifferencebetweenthemeanBMIofbothinfantsgender mostly at colostrum (p <0.001) and transitional period (p = 0. 03).

4.2. Biochemical human breast milk composition analyzes of infant'sgender in different lactation period

Themean±SDofbiochemicalcontentsintheexaminedBMsamples of both infants gender during the overall lactation periods are summa- rized in Table 3.

4.2.1. Carbohydrate,lactoseandglucose

Themean±SDcarbohydrateandlactoseconcentrations,compared between HBMM and HBMF (Fig. 2**A-B**), increased significantly in colostrumfrom(64.6±15.6)vs(69.1±12.0)g/L(p=0.34),and (46.3±9.51)vs(48.2±7.35)g/L(p=0.49)to(69.5±12.4)vs(67.8 ±13.6)g/L(p=0.91);and(49.7±9.25)vs(52.9±10.1)g/L (p=0.35)intransitionalmilk.

Thesevaluesreachedthehighestlevelsinmaturemilk(73.8±8.05) vs(75.6±6.73)(p=0.38)and(58.3±7.88)vs(61.3±9.82)g/L (p=0.07),respectively.Wefoundthattheconcentrationsofcarbohydrate and lactose in colostrum and mature HBMF were higher than in HBMM with no significant difference in each period of lactation "colostrum, mature transition" (p >0.05) (Table 3).

Carbohydrateandtotallactoseatduringallstagesoflactationwere significantly(p=0.03)elevatedinHBMMthaninHBMFwith (p=0.06) for the carbohydrate, and with higher statically significant difference in both gender (p <0.001) for lactose (Table SD. 3).

Fig.2Cdisplays thatcolostrumglucoseconcentrationswere almost identicalinHBMMandHBMF(0.08±0.06)(0.07±0.04)g/L (p=0.98),respectively.Whereas,inthetransitionalmilk,theconcentrationsincreasedmoreinHBMF(0.13±0.08)g/LBMthaninHBMM (0.10±0.06) g/L (p=0.193), then reached the highest values in matureHBMF(0.18±0.11)g/Lvs(0.13±0.08)g/LHBMMwithsignificant differences (p=0.03) (Table 3). Moreover, there were highly significantdifferencesinHBMFglucoseconcentrations(p=0.002)thaninHBMM(p=0.121)atalllactationperiodsasshownin(TableSD.3).

4.2.2. Totalproteins,wheyproteinsandinsolubleproteins"Caseins"

The total protein levels compared between HBMM and those of HBMF,asdisplayedon(Fig.2D),wereelevatedincolostrum31.8 ±11.0vs30.3±15.0g/L(p=0.51)anddecreasedintransitionalmilk withthesamevalueinbothgenders19.9±7.43vs19.5±7.31g/L (p=0.88). These values decreased to 15.6±7.15 vs 13.1±3.96g/L (p=0.46) in the mature milk; where protein concentration in HBMF was lower in colostrum and mature periods than in HBMM.

The mean ±SD whey protein concentrations compared between HBMM and those HBMF were high in colostrum 24.0±10.5 vs 22.0 ±12.6g/L (p=0.49), and significantly decreased in the transitional milktoreach15.5±5.54vs13.3±6.56g/L(p=0.31).Thencontinue withfurtherdecreaseto10.4±4.81vs8.65±3.43g/L(p=0.13)in the mature milk. As shown in Fig. 2E, the highest concentrations of whey protein were provided by colostrum.

The highest mean ± SD caseins contents between HBMM and HBMF (Fig.02-F)varyinggradually7.76±3.97vs8.31±3.47g/L(p=0.17) in colostrum and decreasing in transition milk to 4.45 ±2.62 vs 6.17 ±2.98g/L(p=0.05)toreachthelowestvaluesinmaturemilk5.16 ±3.27vs 4.50±2.15g/L(p=0.78)for both genders.

No significant differences in total protein, whey protein and casein was observed in HBMM and HBMF (p >0.05) in each period of lactation"colostrum,maturetransition"(Table3).However,forallactationpe- riods between HB of both infants gender, we observed high significant differenceintotalprotein,wheyproteinandcaseinconcentrations

Table3 Mean±SDofbiochemicalhumanmilkcompositionandinfant'sgenderindifferentlactationperiod.

		Male			Female			
		Mean±SD	F	IC95%	Mean±SD	F	IC95%	Pfordifference
Fat%	Colos	2.16±0.64		1.89–2.42	1.86±0.73		1.47–2.25	0.18
	Trans	2.57±0.98		2.12–3.02	2.12±0.96		1.54–2.70	0.20
	Mat	4.17±1.35^{f,i}		3.63–4.72	3.30±1.10^{f,h}		2.84–3.77	**0.01****
	Total	3.00±1.36	27.4***	2.68–3.33	2.58±1.17	12.4***	2.25–2.90	
Cholesterol	Colos	100±88.6		63.4–136	118±115		56.5–179	0.66
(g/L)	Trans	80.9±9.75		39.1–122	72.3±65.5		32.6–111	0.64
	Mat	52.6±38.2		37.2–68.1	74.9±65.4		47.3–102	0.28
	Total	77.3±7.11	9.79**	59.2–95.4	87.3±84.5	1.80	64.0–110	
Carbohydrate(g/L)	Colos	64.6±15.6		58.2–71.1	69.1±12.0		62.6–75.5	0.34
	Trans	69.5±12.4		63.8–75.2	67.8±13.6		59.6–76.1	0.91
	Mat	73.8±8.05^{d}		70.5–77.0	75.6±6.73		72.8–78.5	0.38
	Total	69.4±12.8	6.48*	66.3–72.4	71.7±10.8	5.45*	68.7–74.7	
Lactose (g/L)	Colos	46.3±9.51		42.4–50.2	48.2±7.35		44.3–52.2	0.49
	Trans	49.7±9.25		45.5–53.9	52.9±10.1		46.7–59.0	0.35
	Mat	58.3±7.88^{f,h}		55.1–61.5	61.3±9.82^{f,g}		57.2–65.53	0.07
	Total	51.6±10.1	19.1***	49.2–54.0	55.3±10.7	10.2***	52.3–58.3	
Glucose(g/L)	Colos	0.08±0.06		0.06–0.11	0.07±0.04		0.05–0.09	0.98
	Trans	0.10±0.06		0.08–0.13	0.13±0.08		0.08–0.19	0.19
	Mat	0.13±0.08		0.09–0.16	0.18±0.11^{f}		0.14–0.23	**0.03***
	Total	0.10±0.07	4.22	0.09–0.12	0.14±0.10	12.2**	0.11–0.17	
Totalprotein(g/L)	Colos	31.8±11.0		27.2–36.3	30.3±15.0		22.3–38.4	0.51
	Trans	19.9±7.43^{c}		16.5–23.3	19.5±7.31^{b}		15.1–23.9	0.88
	Mat	15.6±7.15^{f}		12.7–18.5	13.1±3.96^{f}		11.4–14.8	0.46
	Total	22.5±11.1	27.2***	19.8–25.1	19.9±11.8	22.0***	16.6–23.1	
Wheyproteins(g/L)	Colos	24.0±10.5		19.7–28.4	22.0±12.6		15.3–28.7	0.49
	Trans	15.5±5.54^{c}		12.9–18.0	13.3±6.56^{a}		9.40–17.3	0.31
	Mat	10.4±4.81^{f}		8.54–12.4	8.65±3.43^{f}		7.20–10.1	0.13
	Total	16.6±9.38	30.5***	14.4–18.8	13.8±9.72	15.7***	11.1–16.5	
Casein (g/L)	Colos	7.77±3.97		6,13–9,41	8.31±3.47		6.45–10.1	0.51
	Trans	4.45±2.62^{b}		3,26–5,64	6.17±2.98		4.37–7.97	0.05
	Mat	5.16±3.27^{d}		3.84–6.48	4.50±2.15^{f}		3.59–5.42	0.78
	Total	5.86±3.62	13.0***	5.01–6.71	6.06±3.20	8.81***	5.18–6.94	
Energy(kcal/L)	Colos	536±84.5		501–571	501±70.7		463–538	0.16
	Trans	573±91.3		531–615	513±89.4		459–568	0.07
	Mat	666±143^{f,g}		608–724	625±97.5^{f,h}		584–667	0.60
	Total	594±123	11.9**	565–623	560±105.3	12.0***	531–589	

Pfordifferencearesignificantlydifferentamongthebothgenderinthreelactationperiodbyt-StudentorMann–Whitneytestswereuseddependingonvariabledistribution. Values are medians and 95 % CI. Abbreviations: Colos, colostrom; Trans, transition; Mat, mature.

FValueswithdifferent*p*valuearesignificantlydifferentamongthethreelactationperiodsbyANOVAonewayat:* $P<0.05$,** $P<0.01$,* **$P<0.001$.TheSmall lettersareindicatedinthetablethatfollowthesystematicdifferencesinthemeasuredvariablesbetweendifferentlactationperiodofBMmaleandfemalewerecalculated using general linear hypothesis test post hoc (Tukey's all pair comparisons)**:**

a:*P<0.05colostrumvs.transitionalmilk,**d:***P<0.05colostrumvs.maturemilk**g:***P<0.05transitionalvs.maturemilk,

b:**P<0.01colostrumvs.transitionalmilk,**e:****P<0.01colostrumvs.maturemilk**h:****P<0.01transitionalvs.maturemilk.

c:***P<0.001colostrumvs.transitionalmilk**f:*****P<0.001colostrumvs.maturemilk**i:*****P<0.001transitionalvs.maturemilk

(p<0.001)(TableSD.3).

4.2.3. Totalfatandcholesteroldetermination

ThecolostrumfatscontentcomparedbetweenHBMMandHBMF (Fig.2H)increasedfrom2.16±0.64vs1.86±0.73g/L(p=0.18)to 2.57±0.98vs2.12±0.97g/L(p=0.20)inthetransitionalmilk. Thenreachedthehighestvaluesinmaturemilkformales4.18±1.35vs 3.31±1.11g/Lforfemales,withsignificantdifference(p=0.01) (Table3).Ontheotherhand,atalllactationstages,totalfatwas significantly higher (p<0.001) in HBMM than HBMF (Table SD. 3).

Themean±SDcholesterolconcentrationscomparedbetween HBMMandthoseHBMF(Fig02-I)werehigherincolostrum100± 88.6 vs118.1±115.5g/L(p=0.66),anddecreasedinthetransitionalmilk forbothgenders80.9±91.7vs72.3±65.5g/L(p=0.64).These concentrations showed further decrease to reach 52.6 ±38.2 vs 74.9 ±65.4g/L(p=0.28)inthe mature milk(Table3). Thus,weobserved thatincolostrumandmaturemilkthetotalcholesterolconcentrationsin HBMFwereelevatedthanin HBMM(Table3). Therewerehighlysignificant differences in HBMM cholesterol concentrations (p=0.007) comparedwiththosefoundinHBMF(p=0.40)atalllactationperiods (Table SD. 3).

4.2.4. Estimatedenergycontentsofbreastmilk

Thedataforenergycontentsascalculatedfromthedeterminationof protein, lactose, and total fat are shown in Table 2. We noticed a high increaseinthemean±SDHBMMenergycontentcomparedtoHBMF infantsduringthethreelactationperiods(Fig.2G):atcolostrummilk (536.8±84.5vs501.0±70.7)kcal/L,transitionalmilk(573.55 ±91.37vs513.98±89.42)kcal/L andmaturemilk(666.1±143.6vs 625.8±97.5)kcal/L,respectively.Therewerenosignificantdifferencesineachlactationperiod(p>0.05)(Table3).Wedemonstratedthatmilk energydensitywashigherinHBMFatallstagesoflactationwithhighly significant difference (p<0.001) compared with HBMM (p=0.003) (Table SD. 3).

4.3. Associations between biochemical HBM composition of male, femaleinfants and the three lactation periods

The fats in HBM of both genders were significantly different between colostrumandmatureperiod(p <0.001).However,thetransitionalfats inmalemilkalongwithmaturewerehighlysignificant(p<0.001)than female(p=0.003), as well as; no significant difference was registered between the colostrum cholesterol contents, transitional and mature cholesterol in HBMM and HBMF (p >0.05) (Table 3).

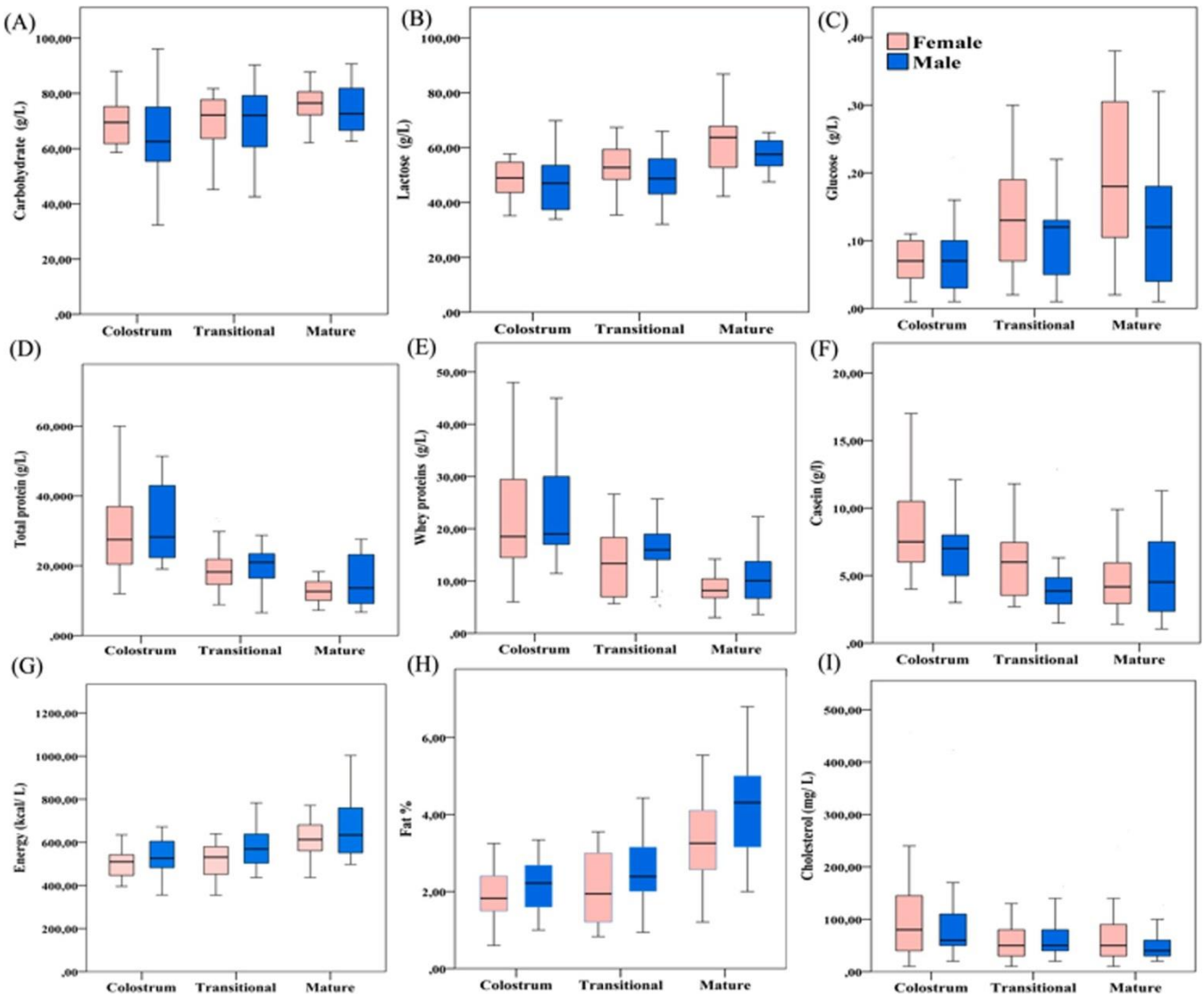


Fig. 2.: Biochemical composition and energy of BM between mothers lactating male and those female infants during three lactation periods. Milk carbohydrate content (A), milk lactose concentration (B), milk glucose concentration (C), milk protein concentration (D), milk whey protein concentration (E), milk casein concentration(F),milkenergycontent(G)milkfatcontent(H)),milkcholesterolconcentration(I),formale(bluecolor)andfemale(pinkcolor)BMareindicated, Boxplots display minimum, first quartile, median, third quartile, maximum and outliers. Values are mean (—), represented by vertical bars.

Astaticallysignificantdifferencewasunderlinedbetweencolostrum carbohydrateandmatureinHBMM($p=0.02$).However,nosignificant differencesexistedbetweenthethreeperiodsinHBMFcarbohydrate ($p>0.05$). Moreover, the lactose in BM of both genders showed significantdifferencebetweencolostrumandmatureperiod($p<0.001$).In addition, a significant difference was found between transition and matureperiod($p=0.004$)inHBMMthanHBMF($p=0.02$).Onthe other hand, there was significant difference between colostrum and mature in glucose HBMF ($p<0.001$), whereas; no significant differencewas found in HBMM glucose according to different lactation periods($p>0.05$).

A significant difference was observed between colostrum and transitionin totalprotein,wheyproteininHBMM($p<0.001$)than inHBMF ($p=0.009$, $p = 0.01$). Together with colostrum and mature milk, a significant difference across both genders ($p<0.001$). Whereas, there were a significant difference between colostrum casein and transition in HBMM ($p=0.004$). When no significant difference was noticed in HBMF ($p>0.05$). Concerning, colostrum and mature, a significant dif- ference($p<0.001$)wasobservedcomparedtothatinHBMM($p = 0.02$).

Milkenergydensityinbothgenderswasalsosignificantlydifferent betweencolostrumandmatureperiods($p<0.001$).However,inHBMF asignificantdifferencewasfoundbetweentransitionandmatureperiod ($p=0.002$) compared with HBMM ($p=0.01$).

4.4. Relationship HBM biochemical composition among male and femaleinfant's gender during all lactation periods

Inthecurrentstudy,itwasfoundthattherewasastrongcorrelation between lactose and glucose in HBM for both: males ($r=0.414$) and females($r=0.676$)asshowninFig0.3A-Dwithasignificantdifference ($p<0.001$).Besides,HBMMlactosecontentswereinverselycorrelated with total protein ($r=-0.32$, $p=0.006$) and whey protein ($r=-0.35$, $p=0.002$) (Fig. 3B - C). As well as, it was negatively correlated with totalproteinandwheyproteincontentsinHBMF($r=-0.67$, $p<0.001$), ($r=-0.67$, $p<0.001$) respectively (Fig. 3E-F).

As shown in Fig 0.3G-H, there were negative correlations between glucose and total protein contents of HBMM ($r=-0.25$, $p=0.03$). Additionally, HBMF glucose contents were inversely correlated with totalprotein($r=-0.43$)withaveryhighlysignificantdifference

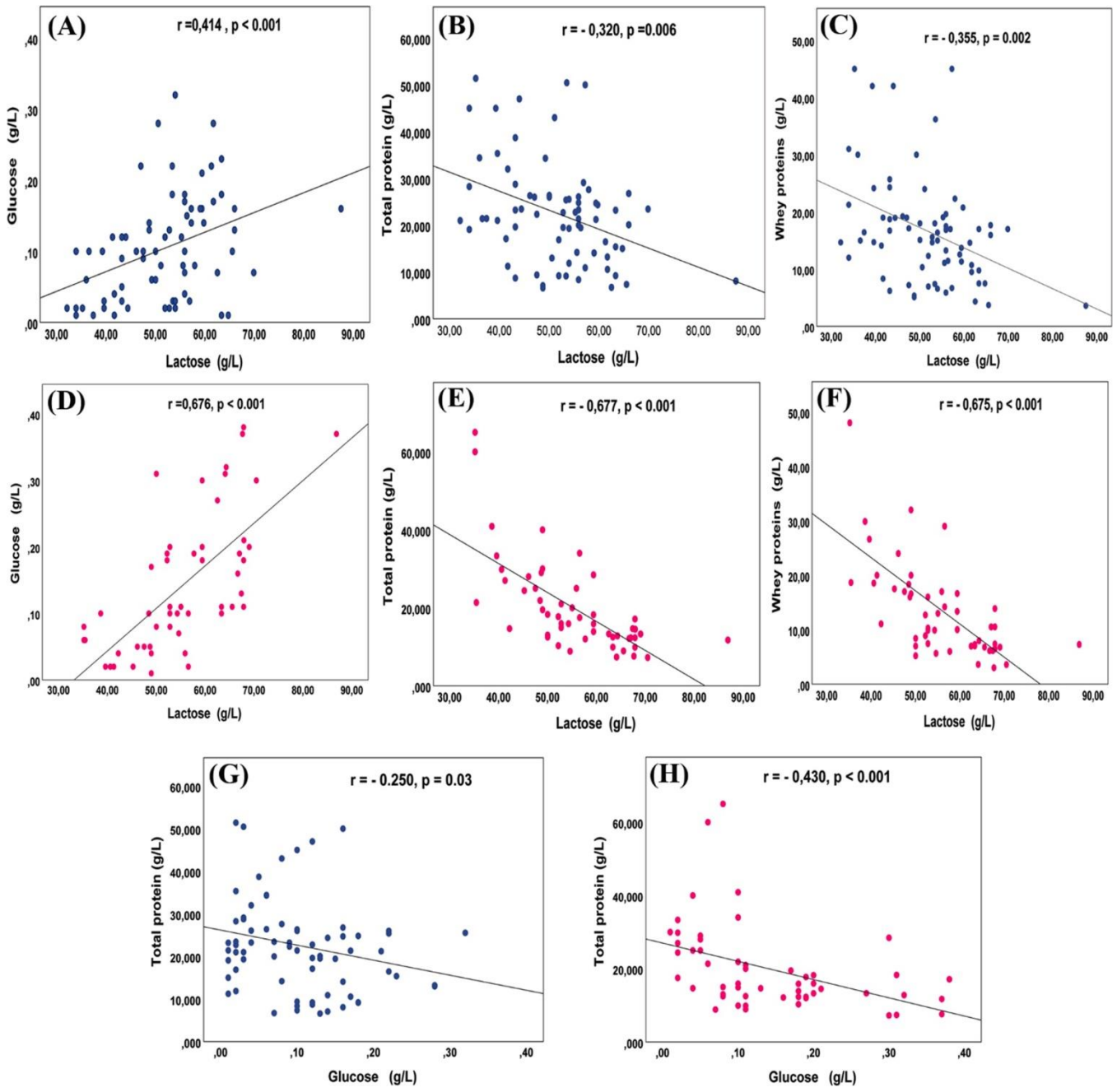


Fig. 3.: Linear regression of lactose, glucose HBM composition and total protein, whey protein content among male and female infant's gender all lactation periods,statistically significant p-values are shown in Fig. 3**:** (A-H).

(p<0.001).

As shown in Fig. 4A-B; D-E, strong correlations were found between totalproteinandwheyprotein,caseininHBMformales(r=0.94), (r=0.69) and females (r=0.97), (r=0.73) with a very highly significantdifference(p<0.001).Whenmediumcorrelationswereobserved between whey protein and casein in BM for both males (Pearson coefficientr=0.48)andfemales(r=0.55)withasignificantdifference (p <0.001) Fig. 4(C-F)**.**

Inthepresentstudy,itwasfoundthatthefatcontentwaspositively correlatedwithlactoseconcentrationsduringoverallllactationperiods in BMforboth males(r = 0.37) witha significantdifference(p = 0.001) and females (r =0.31, p =0. 02) Fig. 5A-D. However, a negative cor- relation was registered with total protein in HBMM (r =- 0.31, p =0. 007) and HBMF (r = - 0.27, p = 0. 05) (Fig. 5B-E)**.**

Fig. 5C-F revealed that there were high correlations between fat contentsandenergyoverlactationinBMforbothmales(r=0.61),and females(r=0.70),withasignificantdifference(p<0.001).Onthe other hand,there weremediumcorrelationsbetween HBMMenergy and lactose(r=0.52)overlactationperiodwithalsoasignificantdifference (p<0.001).Aswellas;thereweremediumcorrelationsbetweenenergy andlactosewithasignificantdifferenceinHBMF(r=0.39,p=0.003) Fig. 5G-H.

According to Fig. 6A-B-C-D average positive correlations between HBMMcholesterolcontentsandtotalprotein(r= 0.49),wheyprotein (r=0.51),andcasein(r=0.36)wereobservedwithasignificantdifference (p<0.01). Whereas, a negative correlation with lactose (r=-0.28,p=0.01)wasfound.Incontrary,cholesterolHBMFwasnot significantlycorrelatedwithHBMFmacronutrientcontentsduringthe

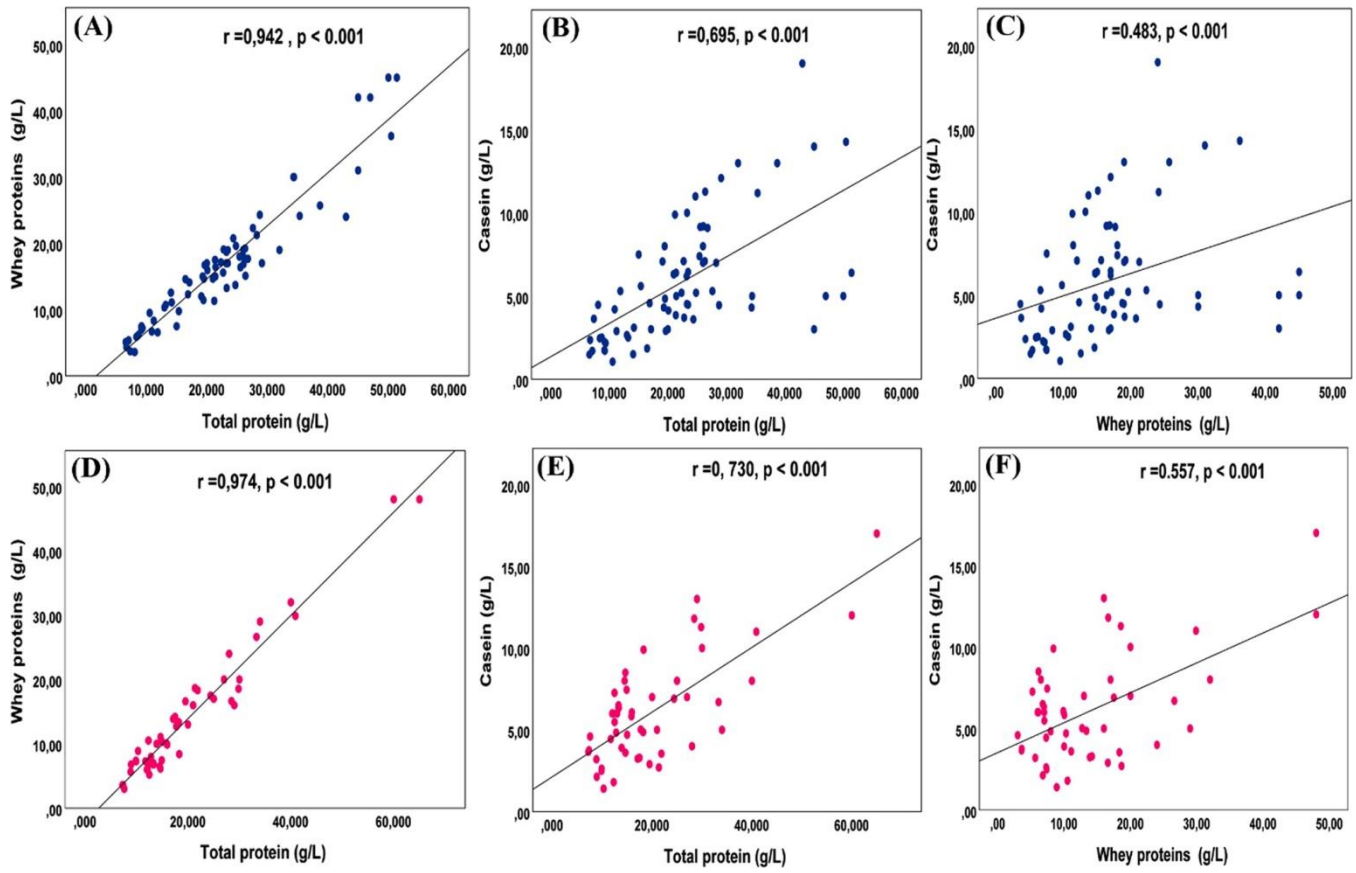


Fig.4.: Linearregressionoftotalprotein,wheyproteinHBMcompositionandcaseincontentamongmaleandfemaleinfant'sgenderalllactationperiods,sta-tistically significant p-values are shown in Fig. 4**:** (A-F).

lactationperiods.Additionally,thereminorcorrelationwaspointedout betweenHBMMfatwithcarbohydratecontents(r=0.26)withsignifi- cant difference (p = 0. 02) (Fig. 6E). Slight correlation between HBMM energyandglucosecontents(r=0.27)withasignificantdifference (p=0.05)(Fig.6F).Identically,minorcorrelationswerefoundbetween energyandcaseininHBMM(r=0.23)withasignificantdifference (p=0. 04) Fig. 6G**.** No correlations between energy and total protein, wheyprotein,caseininHBMFwerenoticedoneachtimeoflactation period(p>0.05).

5. Discussion

5.1. Biochemicalparametersvariableandlactationperiod

Analyses of HBMM and those of HBMF clearly showed that the biochemical composition in HBM of both genders evolved in a similar direction over lactation periods with a remarkable difference between them. Thus, the biochemical composition of BHM seems highly dynamic.

5.1.1. Carbohydrates,lactoseandglucoseconcentration

In ourstudy, total mean SDin BMfor bothinfants' malesincarbo-hydratecontentwas69.4 ±12.8 g/L(p=0.03)andlactose51.6 ±10.1g/L(p<0.001).Infemales,thecarbohydratecontentwas71.7 ±10.8g/L(p=0.05),andlactose55.3±10.7g/L(p<0.001).The comparison ofcarbohydrate concentrations between HBMM and those HBMFatalllactationperiodsshowedthatitwashigherinHBMFthan HBMM (Fig. 2)**.** This result is consistent with a previous study where the meancontentofcarbohydratewas7.5±0.45 g/100mL(Hahnetal., 2017)andbeinghigherinHBMF.WefoundthatthemeancontentofLactoseinHBMFwasmoreconcentratedinlactosethaninHBMM.This was observed in all lactation stages, with significant difference in both infants gender (p<0.001). Contrary to these findings, Musallam et al. reportedthatthehighestpercentageoflactosewasfoundintheHBMfor a male (6.51 %) (Musallam et al., 2017) with no significant difference overtimeaswellasforgenderoftheinfants,aspreviouslyreportedby (Thakkar et al., 2013).

Ourresultsareconsistentwithseveralpublishedstudieswheresome of them underlined an increase in lactose concentration during the first month of lactation (Fischer Fumeaux et al., 2019), indicating secretory activation and production of transitional milk (Ballard and Morrow,2013).TheseresultswereidenticaltothoseobtainedbyEllsworthet al.(2018)who marked that no significant variance in breast milk sugars (glucoseandlactose)existbetweencollectionsmadeat1and6months postpartum (Ellsworth et al., 2018).

Ourresultsshowedlactoseconcentrationsin HBMM(46.3±9.51)vs HBMF (48.29±7.35)g/L with relatively low concentrations in colos-trumcomparedtothatinmaturemilkinbothinfantsgender(58.3 ±7.88)vs(61.3±9.82)g/L.Theseresultsaresimilartothosereported byBallardandMorrow(2013)andMoscaandGiannì(2017)Ballardand Morrow (2013); Mosca and Giannì (2017). Human milk contains the highest level of lactose appropriate for the development of the large human brain (Mosca and Giannì, 2017). Lactose concentration differs depending on the lactation day (Broka et al., 2016). The stable con-centration of lactose is important in maintaining a constant osmotic pressure in human milk. Lactosealsofavors the absorption of minerals and calcium (Gridneva et al., 2019).

Glucosecontentinmaturemilkvaried0.18±0.11g/LinHBMFvs 0.13±0.08g/LHBMMwithsignificantdifferences(p=0.03) (Table3).Goranetal.(2017)describedthesameresultsasformature breast milk of male infants; it is the least glucose concentrations comparedtofemale.AccordingtoGoranetal.(2017),higherbreast

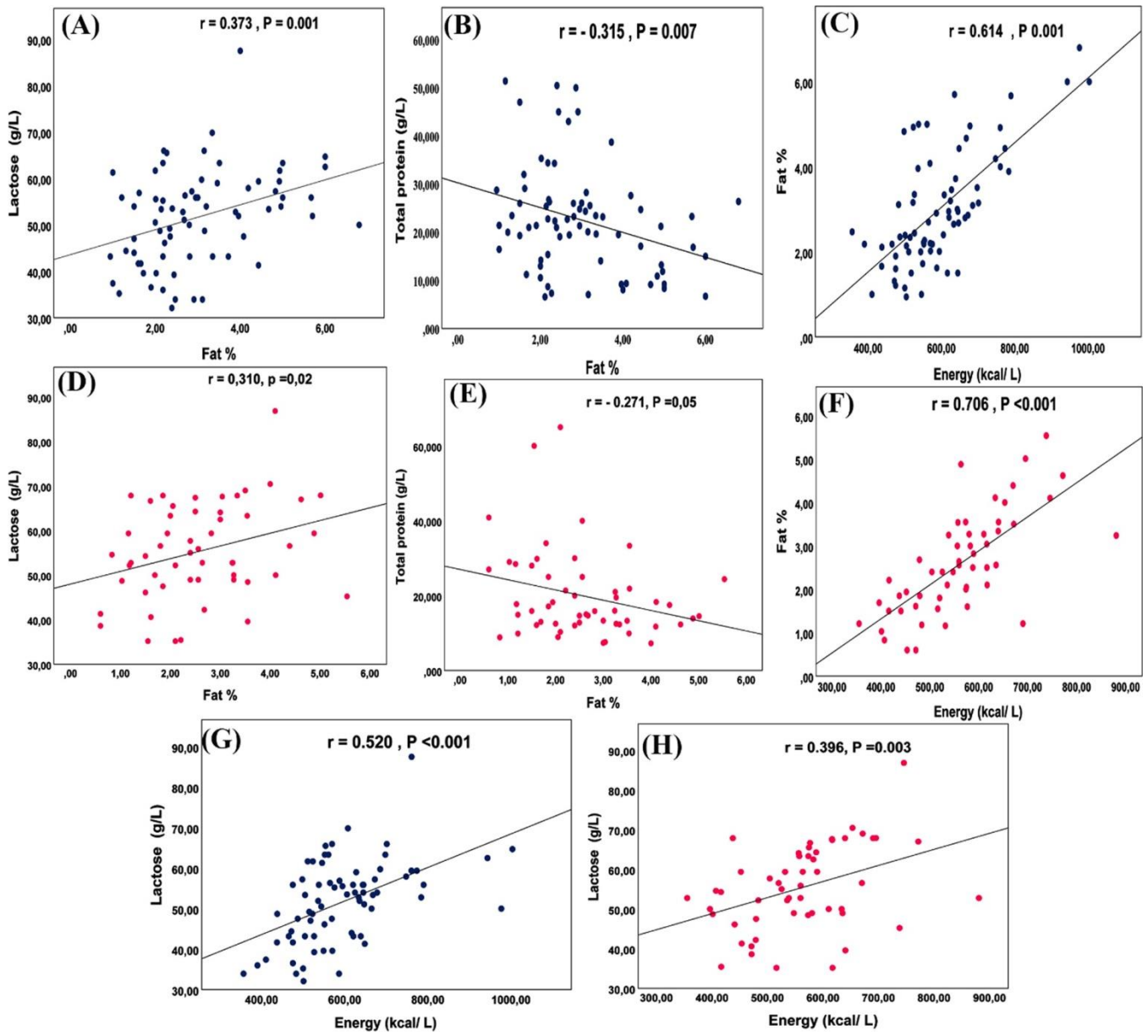


Fig. 5. Linear regression of fat HBM composition and lactose, total protein content Fig. 5**:** (A-B-D-E). And between energy HBM composition and fat, lactose contentFig.5**:(C-F-G-H)**amongHBMformaleandfemaleinfant'sgenderalllactationperiods,statisticallysignificant*p*-valuesareshowninFig.5**:**(A-H).

milk glucose concentrations were associated with greater adiposity in infants.

5.1.2. Totalprotein,wheyproteinsandcaseinconcentration

WeobservedthatthetotalproteinlevelsinHBMM(31.8±11.0vs 30.3±15.0g/L) HBMF at early lactation periods during colostrum periodanddecreaseintransitionalperiod(19.9 ±7.43vs19.5 ±7.31g/L) reaching the lowest values in mature milk (15.6±7.15 vs13.1±3.96g/L). This agrees with previous observations of FischerFumeauxetal.(2019).Therewasalsoatrendofincreasedcontentof total protein in HBMM as compared to those in HBMF at postnatal weeksfive and seven (Fischer Fumeaux et al., 2019). Alhindi et al. reported that mothers with males produced breast milk with higher contents of protein(1.23 ±0.80 g/100 mL)thanmotherswithdaughters(1.05 ±0.63g/100mL)aftertwomonthsofdelivery(Alhindietal.,2019). These results are in line with those obtained by Hahn where the mean content of protein was 1.29 ±0.21 g/100 mL; at the 3th month (Hahnet al., 2017).

(Ellsworthetal.,2018)observedtotalproteinlevelsof 1.60–1.14 g/100 mL, and found that protein levels generally decreased fromcolostrumtomaturemilk(Ellsworthetal.,2018).Thisdifference wasalsoobservedbyNehabetal.whoreportedhigherproteincontent, especially in the first few days postpartum period, (Nehab et al., 2019) and, then suddenly decreased. BM protein content of milk gradually decreasesaslactationprogresses.Somephysiologicalmechanismsmightbe responsible for the comparatively higher milk proteins composition related to the importance of proteins in human breast milk which to allow for infants' healthy growth (Mosca andGiannì, 2017). The study conducted by Dizdar et al. (2014)found that higher colostrum protein contentinBMmotherswithvaginaldeliverythaninthosewithcesarean section. This is due to the hormonal activity induced by labor pain and uterinecontractions(Dizdaretal.,2014).However,Therateofcesarean sectiondeliverywasquitehigh,with54,2%frommothersgivingbirth female infants in mature period, possibly due to the mother's older age (Liuetal.,2019).Contrarytothesefindings,Brokaetal.(2016)showed thatthemilkcontentinproteindidnotdifferinrelationtotypeof

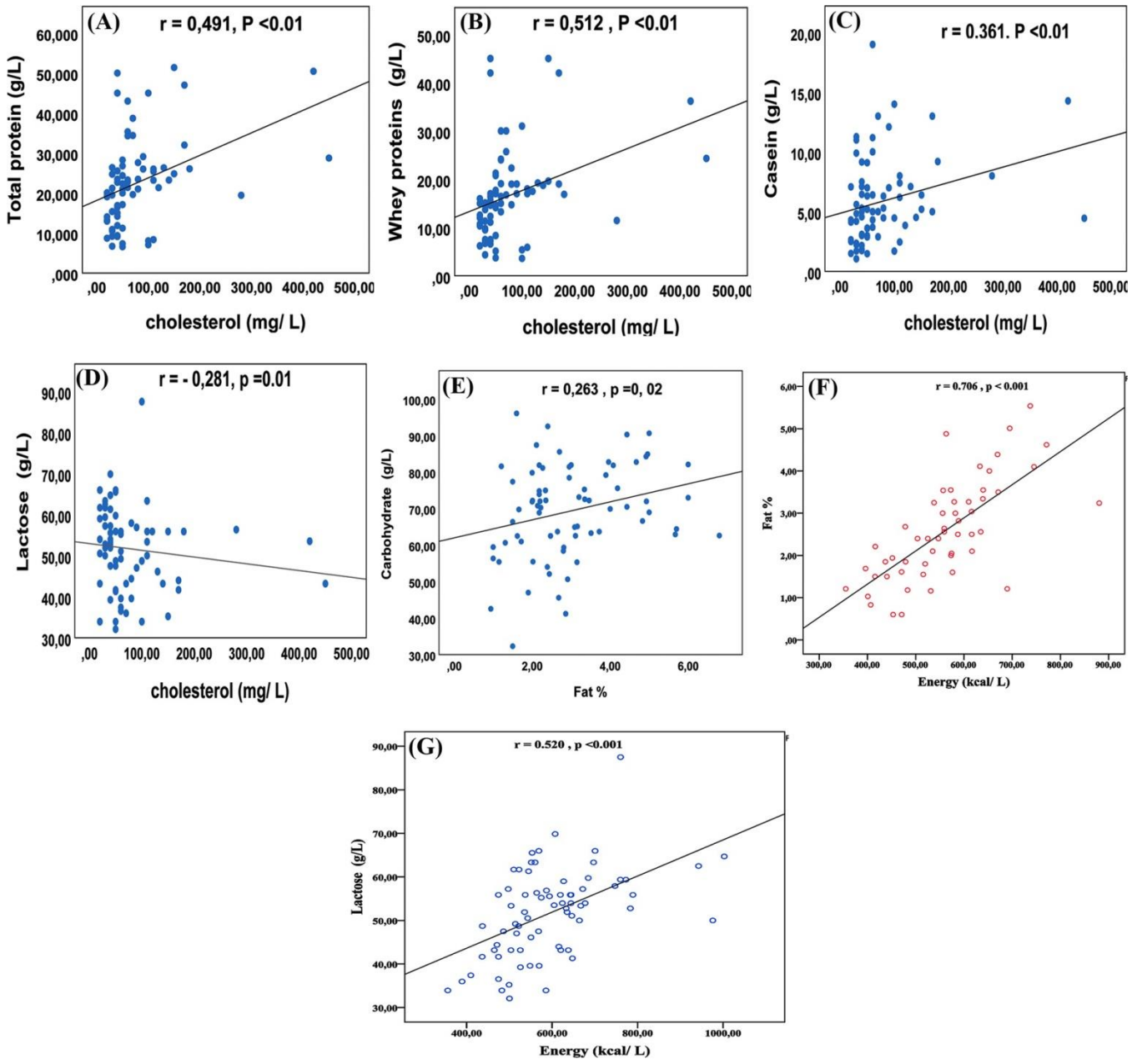


Fig.6.: Linearregressionofcholesterol,energyHBMcompositionandtotalprotein,wheyprotein,caseinandlactosecontentamongmaleinfantsalllactationperiods Fig. 6**:** (A-D). And between fat, carbohydrate Fig. 6E, and energy, glucose content among female Fig. 6F and male energy, casein Fig. 6G all lactationperiods, statistically significant p-values are shown in Fig. 6.

delivery(Brokaetal., 2016).

WheyproteinHBMMandHBMFincolostrumwas24.0±10.54and 22.04±12.66g/L respectively. The colostrum content of breast milk waslowerinHBMFcomparedtoHBMM.Theseresultsaresimilarto those observed by Lo¨nnerdal (2003); Mosca and Giannì (2017). It is well established that colostrum, the first milk produced, contains a high concentration of whey proteins, facilitating digestion for newborns (Shah and Alhawaj, 2019).

We found higher casein colostrum 8.31±3.47g/L and transitional caseinconcentrations6.17±2.98g/LinHBMMandHBMF(7.76 ±3.97–4.45±2.62g/L).However,thedifferencedisappearedatlast stage of lactation (mature BM). Value for casein content in BM from mothersgiving birthmaleor femaleinfants,slightly decreasedin early lactationstageandthenremainedconstantovertimematureHBMM 5.16±3.27vsHBMF4.50±2.15g/L.(Table3).Thisdifferencedoes not generally affect the nutritional value of breast milk, because the amountofcaseinsis alwayslowerthanthewheyproteins.Indeed,Liu, Gu et al. reported higher concentrations of casein in the colostrum of motherswhodeliveredfemales(Liuetal.,2019).However,thisdiffer- ence disappears at a later stage of lactation. Several peptides with physiologicactivityaregeneratedfromhumancasein,particularly β-casein(Lo¨nnerdal,2003).Comparedwithvaginaldelivery,cesarean section was associated with lower concentrations of casein, in mature milk (Liu et al., 2019).

5.1.3. 5.1.3 Differences in fat concentrations in human milk for female andmale infants

In thecurrent study, theresults showed the effect of infant's gender ontheconcentrationoffatcontentsinHBMMandinHBMFduringover time lactation periods(Fig. 2).The colostrum fatsHBMMwerehigher

thanHBMF: 2.16±0.64 vs 1.86±0.73g/L, which agree with the resultsobtainedbyBrokaetal.(2016).Theseconcentrationsincreasedto reach4.18±1.35vs3.31±1.11g/LintomatureHBMMandinHBMF, respectively.Thesefindingsaresimilartotheliteraturedata(Aldhalemiand Al-Mosawi, 2019; Shah and Alhawaj, 2019).

We recorded that, total lipids increased over time in content in colostrum, transitional and in mature milk being higher in HBMM and in HBMF. As it was reported by Fischer Fumeaux et al. (2019), who observedthatmothers'milkwithmaleinfantswasconsistentlyhigherin fat compared to mothers' milk giving birth to female infants, reaching statistical significance at postnatal weeks five and seven (estimated differences of 0.89g/100mL and 1.07g/100mL of fat, respectively) (Thakkaretal.,2013).HigherfatcontentwasassociatedwithCesarean sectiondelivery,theseresultsweredescribedbyHahnetal.(2017)who found that Cesarean section delivery was a quite strong risk factor to increase fat content and decrease carbohydrate content in HM but calorie of milk was not affected (Hahn et al., 2017). Contrary to these findings,(Brokaetal.,2016;Dizdaretal.,2014)foundthatfatlevelsdid not differ between delivery modes.

5.1.4. Cholesterol

Thetotalmean±SDinbothgendersmalesandfemalesHBMconcentration of cholesterol in our study was (77.3 ±7.11 mg/L vs 87.3 ±84.5mg/L);incolostrum100±88.6vs118.1±115.5mg/L,in transitionalmilk80.9±91.7vs72.3±65.5mg/Land52.6±38.2vs 74.9±65.4mg/L.Inmaturemilk($p>0.05$)wassimilartothosereportedbyKoletzko(2016),asitalsocorrespondswiththenormalrange of cholesterol concentration which ranges from 90 to 150mg/L. While cholesterollevelswereintheexpectedrangesforallthethreelactation periods and agree with those found by Sunaric et al. which ranged between3.36and12.98 mg/100 cm^3(Sunaricetal.,2017).Cholesterolis anessentialelementforallcellmembranesandisincorporatedintothe myelin of the nervous system during the period of rapid brain growth. Thismoleculeservesasasubstrate forthesynthesis ofbileacids,lipoproteins, vitamin D, hormones (Koletzko, 2016).

5.1.5. Differences in energy of mother's human breast milk for female andmale infants

Energy value during the 24 months of lactation (colostrum, transition, and mature milk) for both genders increased with the time of lactation.WeregisteredhigherlevelsinHBMintendedformales'594.2 ±123.3kcal/LthanforHBMF560.7±105.3kcal/L.

Inmaturemilk,whereHBMMpresentedanenergydensityof666.1 ±143.6kcal/L versus HBMF 625.8±97.5kcal/L; the greater energy densityofHBMMascomparedtothoseHBMFexpressedmilkwasprimarily a consequence of the higher total fat concentration in mature period4.18±1.35 vs 3.31±1.11g/L, $p=0.01$). These observed variationsremainwithinthenarrowrangereportedbyBallardandMorrow (2013)rangingfrom65to70 kcal/dLandarehighlycorrelatedwiththe fat content of human milk. This recommendation ensures that infant satietyandenergyneedsforgrowtharewellmet(BallardandMorrow,2013). In both groups, male gender was associated with more fat and energy content (Fischer Fumeaux et al., 2019).

The results obtained by Hahn in 2019 reported that female infants were associated with lower calorie intake (OR=0.33, p=0.01) (Hahnetal.,2017).Poweetal.foundthatmaleinfantsweremoreenergetically demanding and their mothers produced 25% greater energy content than mothers of female infants ($P<0.001$) (Powe et al., 2010). Glbarczyketal.reportedthatmothersofmaleinfantsproducedmilk thatpresentedgreaterenergycontent(Galbarczyk,2011).

According to Tamimi et al.'s study, energy intake of pregnant womenwas about 10% higher when they are carrying a male rather than a fe- male (Tamimi et al., 2003). However, in another investigation conductedbyQuinnetal.noevidencewasfoundrelatedtoinfantsexwith respect to fat, protein, and total energy contents. Subsequently, Quinn teaminvestigatedthattwopriorstudieshadreportedanassociation betweenmilkenergyormilkfatandinfantsexinhumangroups(Quinn,2013) . Some authors reported that sex differences in energy intake are duetodifferencesinphysiologicalcomposition(Bennettetal.,2018).It is well-documented that growth rate differs between male and female infants, involving a higher energy requirement to promote growth and development of a male infant (Thakkar et al., 2013).

6. Conclusion

Inconclusion,wehavefoundthatmilkcompositiondiffersbetween infant'sgendersduringprolongedlactation.Inaddition,thevariationin milk fatand glucose contentfluctuatessignificantly between BM in both genders. Several studies indicated that HBM contains various components of macro-and micronutrients, provides complex combination of fats, cholesterol, carbohydrates, and proteins and constitutes the principal source of energy. This composition could be affected by infant's gender.

Thisstudyhighlightedthatinfant'sgendercanaffectthecalorieand biochemicalcompositionofHBMduringthedifferentlactationperiods. The breast milk ~~has~~ presents a different composition depending on whetherwomengivebirthtomaleorfemale,i.e.mothersareproducing a different biological composition for both sexes. The HBMF biochemical contentsandenergydifferinthisstudyhavemilkrichincarbohydrates, lactose,glucoseandcholesterolthanlittleHBMMwhohavethehighest fats, protein and energy value.

The currentstudyconfirms thatbiochemicalandenergy contentsin HBMoflactatingmotherswereaffectedbythesexofinfantsduringall lactationperiods.Therefore,thecompositionofbreastmilkisstillbeing studied,sincebreastmilkdiffersamonginfants'genderduringdifferent times of lactation. As well as affected by different factors from their mothers, such as delivery mode especially fat and protein HBMM and HBMF.

Creditauthorshipcontributionstatement

Writing – original draft & editing, Software, Investigation: **Naima Khelouf**; Supervision, review & editing: **Khadidja Haoud**; Supervision:**SamiraMeziani**;Writing–review&editing,Software:**MeriemFizir**; Software:**FaizaNGoumari;**Writing– review&editingexpertinEAP: **Khaled Meghit Boumediene;** Software: **Nadjet Kadi.**, The authors declarethatalldataweregeneratedin-houseandthatnopapermillwas used.

Conflictofinterest

The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

Acknowledgments

The authors acknowledge would like to express special thanks and gratitude to allwho participatedin this research.We are really grateful to the medical staff of Dr Abdellah Zibouche, himself,the technical managers,"MrYacineMohammedAmar","MrHoucemEddienBoutouchent "and the biochemical engineer "Mis Fatima Boutra". Our thanksalso go to "Ms. Hassina Khelouf. We can't show enough thanks to our friends "Mis Wassila Naci" and "Mis Aicha Nedjmaoui" and our colleague "MrAmineBensmaili",fortheircontinuedsupportandencouragement. Last and not least, we offer our appreciation for the opportunities providedby"MrsKheiraRebbah"anengineerat"DjillaliLiabes"university of Sidi Bel Abbes.

Funding

No funding was received to assist with the preparation of this manuscript.

Codeavailability

notapplicable**.**

AppendixA.Supportinginformation

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.jfca.2022.104889.

References

Aldhalemi, M.A., Al-Mosawi, R.S., 2019. Study the effect of lactation period on thebiochemical properties of breast milk during the first year of Breast-feeding. Kufa J.Agric. Sci. 11 (2), 11–18.

Alhindi, M.A., Musallam, H.M., Elhefian, E.A., 2019. Characteristics of human breastmilk based on infant's gender. J. Basic Appl. Res. Biomed. 5 (1), 8–10.

Ballard, O., Morrow, A.L., 2013. Human milk composition: nutrients and bioactivefactors. Pediatr. Clin. 60 (1), 49–74.

Basir,S.M.A.,Ghani,R.A.,Ibrahim,M.,Khattak,M.M.A.K.,Omar,M.N.,Azwani,N.,Shukri, M., 2019. Maternal diet and its association with human milk energy andmacronutrient composition among exclusively breastfeeding Malaysian Malaymothers. Peer-Rev. J. Nutr. Soc. Malays. 25 (2), 309.

Bennett, E., Peters, S.A., Woodward, M., 2018. Sex differences in macronutrient intakeand adherence to dietary recommendations: findings from the UK Biobank. BMJOpen 8 (4), e020017.

Broka,L.,Daugule,I.,Ciprovi˘ca,I.,Kvil¸u¯na,D.,&Rumba-Rozenfelde,I., 2016. Comparison of breast milk composition among lactating women in Latvia. PaperpresentedattheProceedingsoftheLatvianAcademyofSciences.SectionB.Natural,Exact, and Applied Sciences.

Bzikowska-Jura,A.,Sobieraj,P.,Szostak-Węgierek,D.,Wesołowska,A.,2020.Impactofinfantandmaternalfactorsonenergyand macronutrientcompositionofhumanmilk. Nutrients 12 (9), 2591.

Dizdar, E.A., Sari, F.N., Degirmencioglu, H., Canpolat, F.E., Oguz, S.S., Uras, N.,Dilmen, U., 2014. Effect of mode of delivery on macronutrient content of breastmilk. J. Matern. -Fetal Neonatal Med. 27 (11), 1099–1102.

Ellsworth, L., Harman, E., Padmanabhan, V., Gregg, B., 2018. Lactational programmingof glucose homeostasis: a window of opportunity. Reproduction 156 (2), R23–R42.FischerFumeaux,C.J.,Garcia-Rodenas,C.L.,DeCastro,C.A.,Courtet-Compondu,M.-C., Thakkar, S.K., Beauport, L., Affolter, M., 2019. Longitudinal analysis ofmacronutrient composition in preterm and term human milk: a prospective cohortstudy. Nutrients 11 (7), 1525.

Folch,J.,Lees,M.,Stanley,G.S.,1957.Asimplemethodfortheisolationandpurificationof total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226 (1), 497–509.

Fujimori,M.,França,E.L.,Fiorin,V.,Morais,T.C.,Honorio-França,A.C.,deAbreu,L.C.,2015. Changes in the biochemical and immunological components of serum andcolostrumofoverweightandobesemothers.BMCPregnancy Childbirth15(1), 166.

Galante,L.,Milan,A.M.,Reynolds,C.M.,Cameron-Smith,D.,Vickers,M.H.,Pundir,S.,2018. Sex-specific human milk composition: the role of infant sex in determiningearly life nutrition. Nutrients 10 (9), 1194.

Galante,L.,Lagstro¨m,H.,Vickers,M.H.,Reynolds,C.M.,Rautava,S.,Milan,A.M., Pundir,S.,2020.Sexuallydimorphicassociationsbetweenmaternalfactorsandhuman milk hormonal concentrations. Nutrients 12 (1), 152.

Galbarczyk,A.,2011.Unexpectedchangesinmaternalbreastsizeduringpregnancyinrelation to infant sex: an evolutionary interpretation. Am. J. Hum. Biol. 23 (4),560–562.

Goran, M.I., Martin, A.A., Alderete, T.L., Fujiwara, H., Fields, D.A., 2017. Fructose inbreast milk is positively associated with infant body composition at 6 months of age.Nutrients 9 (2), 146.

Gridneva, Z., Rea, A., Tie, W.J., Lai, C.T., Kugananthan, S., Ward, L.C., Geddes, D.T.,2019. Carbohydrates in human milk and body composition of term infants duringthefirst12monthsoflactation.Nutrients11(7),1472.

Hahn,W.-H.,Song,J.-H.,Song,S.,Kang,N.m,2017.Dogenderandbirthheightofinfant affect calorie of human milk? An association study between human milkmacronutrientandvariousbirthfactors.J.Matern.-FetalNeonatalMed.30(13),1608–1612.

Imran, M., Khan, H., Hassan, S.S., Khan, R., 2008. Physicochemical characteristics ofvariousmilksamplesavailableinPakistan.J.ZhejiangUniv.Sci.B9(7),546–551.

Kaplan,D.S.,BAG˘CI,C.,O¨RKMEZ,M.,KARUSERCI¨,O¨.K.,Sucu,S.,Celik,H.,Taysi,S., 2019. Colostrum immunoglobulins and oxidative capacity may be affected by infantsex and maternal age and parity. Turk. J. Med. Sci. 49 (1), 87–92.

Koletzko,B.,2016.Humanmilklipids.Ann.Nutr.Metab.69(Suppl.2),27–40.

Law, A.J., Leaver, J., 2000. Effect of pH on the thermaldenaturation of whey proteins inmilk. J. Agric. Food Chem. 48 (3), 672–679.

Liu, B., Gu, F., Ye, W., Ren, Y., Guo, S., 2019. Colostral and mature breast milk proteincompositional determinants in Qingdao, Wuhan and Hohhot: maternal food culture,vaginaldeliveryandneonatalgender.AsiaPac.J.Clin.Nutr.28(4),800.

Lo¨nnerdal,B.,2003.Nutritionalandphysiologicsignificanceofhumanmilkproteins. Am.J.Clin.Nutr.77(6),1537S–1543S.

Martin,C.R.,Ling,P.-R.,Blackburn,G.L.,2016.Reviewofinfantfeeding:keyfeaturesofbreast milk and infant formula. Nutrients 8 (5), 279.

Medicine,I.o,Lactation,N.R.C.S.O.N.D.,Lactation,I.O.M.S.O.N.D.,Lactation,I.O.M.S.O.,Resources,U.S.H.,Administration,S.,.Pregnancy,C.O.N.S.D.,1991.Nutritionduring lactation.ISBN: 0-309-53767-3, 326 pages, http://www.nap.edu/catalog/1577.html.

Mosca, F., Giannì, M.L., 2017. Human milk: composition and health benefits. Medicaland Surgical Pediatrics 39, 155. https://dx.doi.org/10.4081/pmc.2017.155.

Musallam, H.M., Almozogai, H.M., Amkabis, S.S., Aoag, M.A., Hassan, T.M., Elhefian, E.A., Asseid, F.M., 2017. Physicochemical characteristics of various milk samples. NovaJ.Med.Biol.Sci.6(2),1–3.

Nehab,S.R.G.,Villela,L.D.,Abranches,A.D.,Rocha,D.M.,daSilva,L.M.,Amaral,Y.N.,Moreira, M.E.L., 2019. Influence of gestational and perinatal factors on bodycomposition of full-term newborns. J Pediatr (Rio J) 96 (6), 771–777. https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.09.006.

Organization, W.H., 2003. Infant and young child feeding: a tool for assessing nationalpractices, policies and. programmes.ISBN 92 (4). https://doi.org/10.1016/j.jped.2019.09.006, 156254–4.

Powe,C.E.,Knott,C.D.,Conklin-Brittain,N.,2010.Infantsexpredictsbreastmilkenergycontent. Am. J. Hum. Biol. 22 (1), 50–54.

Quinn, E.A., 2013. No evidence for sex biases in milk macronutrients, energy, orbreastfeedingfrequencyinasampleofFilipinomothers.Am.J.Phys.Anthropol.152(2), 209–216.

Quinn,E.A.,Largado,F.,Power,M.,Kuzawa,C.W.,2012.Predictorsofbreastmilkmacronutrientcompositioninfilipinomothers.Am.J.Hum.Biol.24(4),533–540.

Samuel, T.M., Zhou,Q., Giuffrida, F., Munblit,D., Verhasselt,V.,Thakkar,S.K., 2020. Nutritional and non-nutritional composition of human milk is modulated bymaternal,infant,andmethodologicalfactors.Front.Nutr.7,172.

Shah,R.,Alhawaj,A.F.,2019.Physiology,BreastMilk.StatPearlsPublishing,StatPearls.Sunaric, S.,Denic,M.,Lalic, J., Jovanovic,T., Spasic,A.,Zivkovic, J.,Kocic,G., 2017. Physicochemical and biochemical parameters in milk of Serbian breastfeedingwomen. Turk. J. Med. Sci. 47 (1), 246–251.

Tamimi, R.M., Lagiou, P., Mucci, L.A., Hsieh, C.-C., Adami, H.-O., Trichopoulos, D.,2003. Average energy intake among pregnant women carrying a boy compared witha girl. Bmj 326 (7401), 1245–1246.

Thakkar, S.K., Giuffrida, F., Cristina, C.H., De Castro, C.A., Mukherjee, R., Tran, L.A.,Destaillats, F., 2013. Dynamics of human milk nutrient composition of women fromSingapore with a special focus on lipids. Am. J. Hum. Biol. 25 (6), 770–779.

Ullah, R., Khan, S., Javaid, S., Ali, H., Bilal, M., Saleem, M., 2018. Raman spectroscopycombined with a support vector machine for differentiating between feeding maleand female infants mother's milk. Biomed. Opt. Express 9 (2), 844–851.

Yamawaki,N.,Yamada,M.,Kan-no,T.,Kojima,T.,Kaneko,T.,Yonekubo,A., 2005. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanesewomen. J. Trace Elem. Med. Biol. 19 (2–3), 171–181