

# Impact de l'enrichissement du lait artificiel sur l'osmolarité

## Effect of fortification on the osmolality of artificial milk

**Ben Ameer.K** <sup>(a,b)</sup>, **Kotti.M** <sup>(a,c)</sup>, **Khemis.T** <sup>(a,b)</sup>, **Lassoued.M** <sup>(a,c)</sup>, **Ben Hamida.H** <sup>(a,b)</sup>, **Laadib.N** <sup>(a)</sup>, **Sfar Gandoura.S** <sup>(c)</sup>, **Chioukh.FZ** <sup>(a,b)</sup>, **Monastiri.K** <sup>(a,b)</sup>

<sup>(a)</sup> Service de réanimation et de médecine néonatale, centre mère enfant, EPS Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

<sup>(b)</sup> Faculté de Médecine, Monastir, Tunisie

<sup>(c)</sup> Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie.

### RESUMÉ

**Objectif :** Etudier l'osmolarité de différentes formules de lait artificiel avant et après leur supplémentation par EOPROTINE®, Dextrine Maltose et solution glucosée à différentes concentrations

**Matériels et méthodes :** Il s'agit d'une étude prospective menée au mois de janvier 2015 au service de Réanimation et de Médecine Néonatale de Monastir. L'osmolarité a été calculée sur différents échantillons de neuf types de lait artificiel enrichis séparément en EOPROTINE®, en glucose et en dextrine-maltose à différentes concentrations. L'osmolarité a été analysée au laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Monastir par un osmomètre cryoscopique.

**Résultats :** L'étude de l'osmolarité a concerné 384 échantillons, chaque reconstitution a été mesurée trois fois et la moyenne a été retenue. L'osmolarité de base a varié entre 259 et 339 mOsmol/l. L'adjonction l'EOPROTINE® a été faite pour les laits du prématuré, l'osmolarité du lait PRE-A a dépassé les 400 mOsmol/l à une concentration de 2% d'EOPROTINE®. La Dextrine Maltose concentrée à 1% a augmenté l'osmolarité du lait PRE-A et Lait E au dessus de 400 mOsmol/l alors que pour les laits PRE-B, PRE-C et PRE-D elle était inférieure à 400 mOsmol/l pour une concentration maximale à 6%. Tous les laits enrichis en solution glucosée ont dépassé les 400 mOsmol/l et ceci à partir d'une concentration de 2% de solution glucosé sauf pour PRE-B qui les rejoint à 3%.

**Conclusion :** Tenir compte de l'osmolarité lors de la supplémentation du lait artificiel est primordial afin d'éviter la survenue de troubles digestifs chez le nouveau-né.

### ABSTRACT

**Objectives :** To evaluate osmolality of different infant milk formula before and after the supplementation of Dextrin maltose, Dextrose solution and EOPROTINE®, at different concentrations.

**Materials and methods :** We underwent an experimental study within the Department of Intensive Care and Neonatal Medicine Teaching Hospital of Monastir. Osmolarity was calculated on different artificial milks formula fortified separately by EOPROTINE®, Dextrose solutions and maltodextrin at different concentrations (1% to 6%). Osmolarity analysis were done in the Pharmaceutics Galenic Laboratory of the University of Pharmacy of Monastir.

**Results :** The study of the osmolarity was performed on 384 samples; each reconstitution was measured three times and the average value was considered. The basic osmolarity was between 259 and 339 mOsmol/l. EOPROTINE® was added to premature milk; osmolarity of milk PRE-A surpassed 400 mOsmol/l at the concentration of 2% EOPROTINE®. Dextrin Maltose concentrated at 1% increased the osmolarity of milk PRE-A and Milk E above 400 mOsmol/l whereas milks PRE-B, PRE-C and PRE-D were remained less than 400 mOsmol/l for a maximum concentration of 6%. All milks enriched with dextrose solution exceeded 400 mOsmol/l and this was observed from a concentration of 2% dextrose solution except for milk PRE-B wich joined them at 3%.

Auteur correspondant :

**Ben Ameer Karim**, Adresse: Service de Réanimation et de médecine néonatale, Centre Maternité, EPS Fattouma Bourguiba, Monastir 5000, Tunisie.

**E-mail :** Karim\_bam@yahoo.fr

**Tél. :** +216 21 55 15 10

**Conclusion :** Taking in account of osmolarity schedule during the artificial milk supplementation is essential to prevent digestive disorders for newborns.

**Mots clés :** Nouveau-né, Alimentation entérale, Lait artificiel, Lait enrichi, Osmolarité.

**Key words :** Newborn, Enteral feeding, Infant formula, Fortified milk, Osmolarity.

## INTRODUCTION :

La prise en charge nutritionnelle des nouveau-nés constitue un défi quotidien pour le néonatalogiste qui doit assurer une croissance répondant aux standards physiologiques. Le lait maternel est le lait de choix pour tout nouveau-né; à défaut, un lait artificiel adapté pour le terme et le poids peut être prescrit [1, 2]. Dans certaines situations, la composition du lait est insuffisante pour couvrir les besoins nutritionnels du nouveau-né d'où l'intérêt de l'enrichissement. Dans les centres de néonatalogie disposant de lactarium, l'enrichissement du lait se fait soit de façon systématique ou au besoin [3, 4]. Dans certains pays, ne disposant pas de lactarium, le praticien est parfois confronté à l'impossibilité de disposer de lait maternel et il se trouve devant l'obligation d'utiliser un lait artificiel ; mais comment l'enrichir en cas de besoin? Sachant que l'administration par voie orale de soluté hypertonique expose le nouveau-né et surtout le prématuré à des complications digestives comme l'entérocolite ulcéro-nécrosante [5- 7]. Cette préoccupation a conduit aux recommandations actuelles d'une osmolarité de l'alimentation entérale du nouveau-né ne dépassant pas 400 mOsmol/kgH<sub>2</sub>O [8].

Notre travail avait pour objectif l'évaluation de l'osmolarité de différentes préparations de laits artificiels enrichis séparément en EOPROTINE®, en solution glucosée et en dextrine maltose à différentes concentrations.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES :

Il s'agit d'une étude expérimentale prospective menée au service de Réanimation et de Médecine Néonatale de Monastir.

Les laits testés étaient ceux disponibles dans notre établissement. Ils étaient de deux types:

- Laits pour prématuré : PRE-A, PRE-B, PRE-C, PRE-D.
- Laits premier âge : Lait A, Lait B, Lait C, Lait D, Lait E.

La composition des différentes formules infantiles a été recueillie à partir des boîtes dans lesquelles elles sont commercialisées (Tableau I).

**Tableau I :** Composition des laits artificiels étudiés pour 100 ml de reconstitutions.

	LAIT A	LAIT B	LAIT C	LAIT D	LAIT E	PRE-A	PRE-B	PRE-C	PRE-D
<b>Energie Kcal</b>	66	67	67	64	66	80	81	80	74,4
<b>Protéine g</b>	1,3	1,35	1,24	1,4	1,4	2,6	2,3	2,32	1,93
Caseine g	0,5	0,5		0,56		1,1	0,8		
Protéine soluble g	0,8	0,8		0,8		1,6	1,5		
<b>Glucides g</b>	7,3	7,3	7,46	6,8	7,3	8,4	8,7	8,57	7,66
Dont sucres g	7,3	-		-		6,2			
Lactose g	7,0	7,3		6,8		5,6	4,4		
Maltodextrine g		0		-	7,3		4,3		
<b>Lipides g</b>	3,4	3,4	3,57	3,5	3,5	3,9	4,1	4,17	4,09
Acide linoléique mg	446	570	530		600	676	611		550
Acide α linoléique mg	82	47	64		100	56	49		74
ARA g	0,011	0,03		0,07		0,019	0,024		
DHA g	0,010	0,03		0,07		0,015	0,016		
<b>Minéraux mg</b>									
Sodium g	0,017	0,02	0,017	0,019	0,019	0,07	0,034	0,043	0,024
Potassium mg	68	73	68	67	67	80	94	97	105,6
Chlorure mg	42	45	47	38	38	85	52	69	55,7
Calcium mg	57	66	43	45	45	100	105	122	78,2
Phosphore mg	32	36	24	28	28	56	58	72	46,1
Magnésium mg	5,1	5,7	5,7	5,1	5,1	8	7,5	8	6,67
Fer mg	0,53	0,7	0,67	0,7	0,7	1,6	1,1	1,7	1,3
Zinc mg	0,52	0,5	0,7	0,6	0,6	1,1	0,6	1	0,88
Cuivre mg	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,08	0,07	0,12	0,08
Manganèse mg	0,0077	0,0013	0,015	0,0077	0,0077	0,01	0,0013	0,01	0,007
Fluor mg	≤0,003	0,0037	0,003		0,006	-	0,0044		
Sélénium µg	1,7	1,4	1,4	0,9	0,9	4,5	2	1,8	1,5
Iode µg	12	13,5	13	9	9	25	20	27	11,17
<b>Vitamines</b>									
A µg RE	54	61	68	64	64	36,1	98	220	34,2
D µg	1,2	1	0,93	1,1	1,1	3	1,7	3,1	5,21
E mg α-TE	1,1	2	1,4	1	1	3,5	2,4	3,2	2,68
K µg	4,4	5,4	5,5	4,5	4,5	6	7,2	6,4	8,2
C mg	9,2	9,5	11	13	13	17	24,6	20	11,17
Thiamine(B1) mg	0,051	0,068	0,075	0,058	0,058	0,14	0,08	0,14	0,16
Riboflavine (B2) mg	0,121	0,081	0,14	0,102	0,102	0,2	0,127	0,2	0,111
Niacine (B3) mg	0,43	0,5	0,59	0,5	0,5	2,4	0,9	2,4	1,45
B6 mg	0,038	0,054	0,052	0,058	0,058	0,12	0,09	0,12	0,074
B9 µg	13	9,5	9,5	10	10	35	44,5	48	18,6
B12 µg	0,21	0,14	0,024	0,2	0,2	0,24	0,24		0,29
Biotine (B8) µg	1,4	2,2	1,5	1,9	1,9	3,5	2,4	4	6,67
B5 mg	0,343	0,4				0,882	0,5	0,97	
<b>Autres</b>									
Carnitine mg	1,6	2,3	1	1,3		1,8	2,7	1,6	4
Choline mg	12	13,5	12	7,7	7,7	17	15,9	12	
Inositol mg	3,9	6,1	10	5,1	5,1	24	7,2	8,9	4,47
Taurine mg	5,3	4,5	5,1	3,8	3,8	5,5	5,1	6,4	4,99

Le choix des suppléments et des différentes concentrations à évaluer était décidé en tenant compte de certaines conduites pratiques dont les données ne sont pas publiées (par exemples: apport supplémentaire en protéine pour un prématuré par EOPROTINE®, augmentation des apports journaliers en glucose pour un nouveau-né de mère diabétique par la Maltodextrine et enfin une correction rapide d'une hypoglycémie par une solution de glucose ajoutée à un lait artificiel).

- EOPROTINE®(NUTRICIA) : c'est un supplément diététique hypercalorique et hyperprotéique en poudre utilisé aux concentrations de 1,1%, 2,2%, 3,3% et 4,4% (% = gramme d'EOPROTINE® pour 100ml de préparation),

- Solution de glucose aux concentrations de 1%, 2%, 3%, 4% et 6% (% = gramme de glucose pour 100ml de préparation)

- DELICAL® MALTODEXTRINE (Lactalis Nutrition Iberia): c'est de la dextrine-maltose utilisée aux concentrations de 1%, 2%, 3%, 4% et 6% (% = gramme de dextrine-maltose pour 100ml de préparation). L'eau utilisée pour la reconstitution est une eau minérale naturelle commercialisée en Tunisie et fournie par l'hôpital (CRISTALLINE®), sa te-

neur en minéraux était de (mg/L): Sels totaux 590, Calcium 119, Magnésium 27, Sodium 34, Potassium 1,3, Bicarbonates 293, Sulfates 147, Chlorures 75, Nitrates 5 et Fluorure 0,76.

L'analyse pharmaco-chimique était effectuée dans le laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Monastir. La préparation des différents solutés, la mesure de l'osmolarité et le recueil des résultats après levée de l'anonymat des solutés ont été réalisés par des opérateurs différents :

- Les pesées des laits et des fortifiants en poudre ont été effectuées par le même opérateur et avec la cuillère-mesure correspondante fournie par le fabricant.
- Les volumes d'eau et de solutions glucosées ont été mesurés par une éprouvette de 100 ml.
- La reconstitution a été réalisée avant la mesure de façon extemporanée dans des biberons de 100 ml. Le volume final était de 100ml. L'homogénéisation a été obtenue par agitation manuelle.
- Un numéro aléatoire tiré à l'urne a été attribué à chaque tube.
- L'osmolalité a été mesurée par un osmomètre cryoscopique (modèle Roebling Type 12). Trois solutions de chlorure de sodium à zéro, 155 et 310 mOsmol/kgH<sub>2</sub>O ont été utilisées pour le calibrage avant le début des mesures et après chaque vingtaine de mesures. Les mesures ont été réalisées sur 100 µl à trois reprises pour chaque échantillon.

L'osmolarité de chaque échantillon a été calculée à partir de l'osmolalité, du volume d'eau utilisée et du volume du mélange selon la formule :

$$\text{Osmolarité} = \frac{(\text{osmolalité}) \times (\text{volume d'eau utilisé}) \times (\text{masse volumique de l'eau})}{(\text{Volume du mélange})}$$

Les différents résultats ont été recueillis sur une fiche préétablie et adressés avec la fiche de correspondance des numéros aléatoires pour l'analyse statistique. La moyenne et l'écart type sont calculés pour chaque mesure en utilisant le logiciel EXCEL®.

## RÉSULTATS :

Pour l'étude de l'osmolarité, nous avons réalisé 128 reconstitutions. Chaque reconstitution a été mesurée trois fois (384 mesures de l'osmolarité).

L'étude de l'osmolarité des laits pour prématurés enrichis en EOPROTINE® à des concentrations croissantes a montré une augmentation progressive de l'osmolarité pour tous les laits. Le seuil de 400 mOsmol/l a été dépassé dès 2% pour PRE-A, 3% pour PRE-D et 4% pour PRE-B. L'osmolarité du lait PRE-C est restée inférieure à 400 mOsmol/l pour une concentration en EOPROTINE® à 4% (Tableau II).

**Tableau II :** Variations de l'osmolarité des laits pour prématurés enrichis en EOPROTINE®

	PRE-A	PRE-B	PRE-C	PRE-D
Sans EOPROTINE®	339	259	270	259
EOPROTINE® 1%	393	324	315	281
EOPROTINE® 2%	433	363	317	398
EOPROTINE® 3%	465	400	371	425
EOPROTINE® 4%	500	420	366	448

L'étude de l'osmolarité des préparations enrichies en Dextrine Maltose à concentrations croissantes a montré que le seuil de 400 mOsmol/l était dépassé à partir de 1% pour lait E et PRE-A, 2% pour lait B, lait D, lait E et PRE-A. L'osmolarité est restée inférieure à 400 mOsmol/l pour PRE-C, PRE-B et PRE-D (Tableau III).

**Tableau III :** Osmolarité des laits enrichis en Dextrine Maltose

	Lait A	Lait B	Lait C	Lait D	Lait E	PRE-A	PRE-B	PRE-C	PRE-D
Sans DM	340	375	340	376	376	339	259	270	259
DM 1%	357	370	361	390	409	412	304	376	309
DM 2%	373	409	379	403	431	415	329	314	317
DM 3%	395	415	395	433	436	449	335	338	308
DM 4%	414	429	425	460	476	480	349	358	308
DM 6%	412	456	427	479	488	584	360	354	351

DM : Dextrine-maltose

L'augmentation de l'osmolarité était de règle pour tous les laits enrichis en solution glucosé à des concentrations croissantes. Le seuil des 400 mOsmol/l était dépassé par tous les laits, mais à des concentrations différentes : à partir de 1% pour lait A, B, C, D, E et PRE-A. Pour PRE-C, PRE-B et PRE-D, la concentration seuil était de 2% (Tableau IV).

**Tableau IV :** Osmolarité des laits enrichis en glucose

	Lait A	Lait B	Lait C	Lait D	Lait E	PRE-A	PRE-B	PRE-C	PRE-D
Sans G	340	375	340	376	376	339	259	270	259
G 1%	410	443	427	443	484	437	351	366	327
G 2%	493	480	472	497	521	539	399	452	410
G 3%	556	586	537	581	586	590	472	502	470
G 4%	621	651	670	682	666	644	540	562	569
G 6%	811	808	758	827	823	840	701	715	704

G : Solution de sérum glucosé

## DISCUSSION :

Notre travail confirme l'effet d'une supplémentation des laits artificiels sur l'osmolarité. Avec le progrès de la réanimation néonatale, l'objectif nutritionnel demeure une priorité dans la prise en charge des nouveau-nés les plus immatures, ce qui incite souvent à enrichir l'alimentation lactée [3]. En effet, il est reconnu que la qualité de la nutrition ainsi que ses modalités et les délais de sa mise en route in-

fluencent le développement du nouveau-né, à court, moyen ou long terme [9- 11]. La prise en charge nutritionnelle des nouveau-nés nés prématurés ou de faible poids de naissance a fait l'objet de plusieurs publications dont les recommandations ne cessent d'évoluer avec le temps [12- 14]. L'objectif ultime de cette prise en charge est d'assurer une alimentation optimale prenant le relais du placenta en fournissant un apport suffisant en nutriments et d'assurer une croissance la plus proche de celle du fœtus de même terme [9, 15].

La voie orale est la modalité physiologique d'alimentation des nouveau-nés. Le lait maternel est l'aliment de choix en période néonatale en raison des ses effets bénéfiques sur le développement staturo-pondéral et neurosensoriel, ainsi que sur la baisse du risque de survenue de plusieurs pathologies aiguës ou chroniques [16-18]. Cependant, le recours à l'enrichissement est parfois nécessaire pour répondre aux besoins nutritionnels et énergétiques de certains nouveau-nés [19- 21]. La Société Européenne de la Gastroentérologie Hépatologie Pédiatrique et de la Nutrition (ESPGHAN) recommande l'enrichissement du lait maternel pour assurer une bonne croissance du prématuré de moins de 32 à 34 semaines d'aménorrhée ou de moins de 1500 à 2000g [14]. Cet enrichissement est de pratique courante dans les unités de néonatalogie des pays occidentaux ; il se fait sur le don de lait dirigé (nouveau-né nourris par le lait de sa propre mère) ou sur le lait de don anonyme (lait de lactarium) [9, 15]. Dans notre contexte, l'enrichissement n'est possible que sur le lait de la propre mère. Il est fait d'une façon standardisée et ne tient pas compte de sa composition réelle à l'instant T. Pour des raisons religieuses, le don de lait maternel hors fratrie n'est pas autorisé, ce qui explique notre recours à l'enrichissement du lait artificiel en cas de besoin.

Plusieurs études se sont intéressées à la composition du lait maternel enrichi et ont démontré l'augmentation de l'osmolarité par les produits d'enrichissement. Par ailleurs, elles ont conclu à une augmentation de la charge osmotique des préparations d'une façon proportionnelle à la concentration du produit d'enrichissement utilisé [5, 22-24]. L'osmolarité des formules industrielles enrichies n'a pas été étudiée. Certains auteurs, ont noté que l'osmolarité augmente à des taux qui peuvent excéder les 400 mOsmol/l quand des médicaments sont ajoutés aux formules du lait artificiel [6, 25].

Dans notre travail, nous avons démontré que l'osmolarité du lait artificiel augmente par l'ajout des suppléments. Cette augmentation peut atteindre et même dépasser les 400 mOsmol/l pour certaines formules à des concentrations en supplément supérieures ou égales à 2%. Cette augmentation de l'osmolarité est proportionnelle à la concentration du supplément. Elle diffère d'une formule à l'autre du fait des particularités biochimiques et moléculaires propres à chaque préparation de lait artificiel ou de supplément.

L'intérêt de l'étude de l'osmolarité des préparations infantiles vient du fait qu'une charge osmotique très importante peut induire des troubles de la vidange gastrique et donc un reflux gastro-oesophagien ainsi que des lésions intestinales pouvant être à l'origine d'une entérocolite ulcéro-nécrosante chez les nouveau-nés [26]. Les risques des solutions hyperosmolaires sur les intestins des nouveau-nés ont été bien documentés, à la fois, dans des études animales et humaines [27, 28].

Etant donné que l'intestin fœtal est exposé au liquide amniotique qui a une osmolarité de 275 mOsmol/l, valeur proche de celle du lait maternel, l'administration d'une nutrition entérale d'osmolarité significativement plus élevée, est dangereuse. C'est à la lumière de ces constatations qu'ont été établies les recommandations actuelles sur l'osmolarité maximale autorisée pour les différentes préparations de laits disponibles pour les nouveau-nés [29].

## CONCLUSION :

Le lait artificiel est certes une alternative en cas de non disponibilité du lait maternel, mais il n'est souvent que peu adapté aux besoins nutritionnels des nouveau-nés hospitalisés. Ainsi, certaines situations nécessitent le recours à des supplémentations. Toutefois, tenir compte de l'augmentation de la charge osmotique en fonction du type de lait artificiel utilisé est primordiale afin d'éviter les complications digestives surtout chez le prématuré.

## Conflits d'intérêt :

Les auteurs déclarent l'absence de tous conflits d'intérêt.

## RÉFÉRENCES:

- [ 1 ] Rennie JM, Robertson NC. Textbook of neonatology. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999.
- [ 2 ] Colaizy TT, Carlson S, Saftlas AF, Morriss FH Jr. Growth in VLBW infants fed predominantly fortified maternal and donor human milk diets: a retrospective cohort study. BMC Pediatr 2012; 12:124.
- [ 3 ] Assea K.V, Pejoanb H, Chebbib Y, Gatel P. Évaluation de la prise en charge nutritionnelle du nouveau-né au centre hospitalier Courbevoie-Neuilly-Puteaux (France). jppp 27 :154-163.
- [ 4 ] De Halleux H, Close A, Stalport S, Studzinski F, Habibi F, Rigo J. Intérêt de la supplémentation du lait maternel « à la carte ». Arch pediatr 2007;14 suppl 1: S5-10.
- [ 5 ] Srinivasan L, Bokinić R, King C, Weaver G, Edwards A. Increased osmolality of breast milk with therapeutic additives. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2004; 89: F514-F7.

- [ 6 ] White KC, Harkavy KL. Hypertonic formula resulting from added oral medications. *Am J Dis Child* 1982; 136: 931-3.
- [ 7 ] Le Guennec JC, Pare C, Billon B. Hyperosmolar formulas in necrotizing enterocolitis. *Am J Dis Child* 1983; 137: 506.
- [ 8 ] Pearson F, Johnson MJ, Leaf AA. Milk osmolality: does it matter?. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013; 98: F166-F9.
- [ 9 ] Lapillonne A, Razafimahefa H, Rigourd V, Granier M. Les intervenants au séminaire Nutrition du prématuré du GEN-IdF. *Nutrition of the preterm infant. Arch Pediatr* 2011; 18:313-23.
- [ 10 ] Ghods E, Kreissl A, Brandstetter S, Fuiiko R, Widhalm K. Head circumference catch-up growth among preterm very low birth weight infants: effect on neurodevelopmental outcome *J Perinat Med* 2011; 39:579-86.
- [ 11 ] Cristofalo EA, Schanler RJ, Blanco CL, Sullivan S, Trawoeger R, Kiechl- Kohlendorfer U, et al. Randomized trial of exclusive human milk versus preterm formula diets in extremely premature infants. *J Pediatr* 2013; 163: 1592-95.
- [ 12 ] Committee on Nutrition of the Preterm Infant, European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Nutrition feeding of preterm infants. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1987; 336:1-14.
- [ 13 ] Koletzko B, Goulet O, Hunt J, Krohn K, Shamir R, & Parenteral Nutrition Guidelines Working Group. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41 Suppl2: S1-87.
- [ 14 ] Agostoni C, Buonocore G, Carnielli V. P, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 50: 85-91.
- [ 15 ] Voyer M, Mitanchez D, Magny J-F, Rigourd V, Kieffer F. Nutrition entérale du préterme: quelle(s) supplémentation(s) pour le lait de femme ? *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2004; 33 suppl1: S117-S22.
- [ 16 ] Morales Y and Schanler RJ. Human milk and clinical outcomes in VLBW infants: how compelling is the evidence of benefit? *Semin Perinatol* 2007; 31: 83-88.
- [ 17 ] Kreissl A, Zwiauer V, Repa A, Binder C, Haninger N, Jilma B et al. Effect of fortifiers and additional protein on the osmolality of human milk: is it still safe for the premature infant? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 432-37.
- [ 18 ] Colaizy TT. Donor human milk for preterm infants: what it is, what it can do, and what still needs to be learned. *Clin Perinatol.* 2014; 41: 437-50.
- [ 19 ] Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formulas. *J Nutr* 2002; 132 Suppl1: S577-1395.
- [ 20 ] Kuschel CA, Harding JE. Multicomponent fortified human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 1: CD000343.
- [ 21 ] Liu TT, Dang D, Lv XM, Wang TF, Du JF, Wu H. Human milk fortifier with high versus standard protein content for promoting growth of preterm infants: A metaanalysis. *J Int Med Res* 2015; 43: 279-89.
- [ 22 ] De Curtis M, Candusso M, Pieltain C and Rigo J. Effect of fortification on the osmolality of human milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 81: F141-F3.
- [ 23 ] Fenton TR, Belik J. Routine handling of milk fed to preterm infants can significantly increase osmolality. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002; 35: 298-302.
- [ 24 ] Lafeber HN. Fortification of human milk fed to preterm infants: are our guidelines safe?. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 414.
- [ 25 ] Ernst JA, Williams JM, Glick MR, Lemons JA. Osmolality of substances used in the intensive care nursery. *Pediatrics* 1983; 72: 347-52.
- [ 26 ] Laker MF, Menzies IS. Increase in human intestinal permeability following ingestion of hypertonic solutions. *J Physiol* 1977; 265: 881-94.
- [ 27 ] Book LS, Herbst JJ, Atherton SO, Jung AL. Necrotizing enterocolitis in low-birthweight infants fed an elemental formula. *J Pediatr* 1975; 87: 602-5.
- [ 28 ] Willis DM, Chabot J, Radde IC and Chance GW. Unsuspected hyperosmolality of oral solutions contributing to necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight infants. *Pediatrics* 1977; 60: 535-8.
- [ 29 ] Pediatric Nutrition Practice Group, Robbins ST, Meyers R. Infant feedings: Guidelines for preparation of human milk and formula in health care facilities. 2nd ed. *J Am Diet Assoc* 2011.