

AVERTISSEMENT

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

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur au même titre que sa version papier. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document. D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

La Bibliothèque a pris soin d'adresser un courrier à l'auteur dans lequel elle l'informe de la mise en ligne de son travail. Celui-ci peut en suspendre la diffusion en prenant contact avec notre service.

Contact SCD Nancy 1 : theses.medecine@scd.uhp-nancy.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

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

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2008

FACULTE DE PHARMACIE

***SPIRULINA PLATENSIS* ET SES CONSTITUANTS
INTERETS NUTRITIONNELS ET
ACTIVITES THERAPEUTIQUES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 12 décembre 2008

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Sébastien SGUERA**

né le 16 janvier 1980 à Mont St Martin (54)

Membres du Jury

- Président : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur de Pharmacognosie,
Faculté de Pharmacie de Nancy
- Juges : M. Luc MEJEAN, Professeur de Nutrition, École Nationale Supérieure d'Agronomie
et des Industries Alimentaires de Nancy
- M. Bruno GRIFFOUL, Chef de produit marketing opérationnel, Laboratoires
Serobiologiques division Cognis, Pulnoy.

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Directeur des Etudes

Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Janine SCHWARTZBROD

Responsable de la Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Responsable de la Commission Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH :

(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Jean-Michel SIMON

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU	Biochimie clinique
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR	Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD	Pharmacologie
Pierre LEROY	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	Chimie thérapeutique
Patrick MENU	Physiologie et physiopathologie humaine
Jean-Louis MERLIN	Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS	Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	Biochimie, Biologie moléculaire
Janine SCHWARTZBROD	Bactériologie, Parasitologie
Jean-Michel SIMON	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON	Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS	Parasitologie
Mariette BEAUD	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT	Communication et Santé
Michel BOISBRUN	Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX	Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA	Physiologie
Gérald CATAU	Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB	Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON	Biochimie
Sébastien DADE	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	Chimie analytique
Béatrice DEMORE	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY	Chimie thérapeutique
François DUPUIS	Pharmacologie
Raphaël DUVAL	Microbiologie clinique

Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Adel FAIZ.....	Biophysique-accoustique
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN.....	Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Faten MEHRI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Dominique NOTTER.....	Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER..... Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD..... Anglais

ASSISTANT

Annie PAVIS..... Bactériologie

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITE (SCD)

Anne-Pascale PARRET..... Directeur
Jeannine GOLEC..... Responsable de la section Pharmacie-Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A MADAME LA PRESIDENTE ET DIRECTRICE DE THESE

Madame Dominique LAURAIN-MATTAR

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury et la direction de ce travail. Je suis honoré de partager avec vous ce moment solennel qui clôture mes études.

Je vous remercie d'avoir encadré cette thèse, d'avoir su me conseiller tout en me laissant travailler librement. Je suis ravi aussi d'avoir pu partager avec vous notre goût commun pour la nature et pour tout ce qu'elle peut apporter à la science.

A MES JUGES

Monsieur Luc MEJEAN

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
& Epidémiologiste à l'Inserm U308

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de vous joindre à mon jury.

Vous avez participé à ma formation et à ma culture nutritionnelle. Votre regard critique sur mon travail est important à mes yeux.

Je suis honoré de partager avec vous ce moment solennel qui clôture mes études. Que ce travail soit le témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

Monsieur Bruno GRIFFOUL

Ingénieur Chef de produit

Laboratoires Serobiologiques

Tu m'as fait l'honneur d'accepter de te joindre à mon jury. Tes connaissances et ton expérience du milieu industriel et du marché des actifs pharmaceutiques sont pour moi les garants d'un regard critique objectif sur mon travail.

Je vous souhaite plein de bonheur à toi et ta famille qui vient à nouveau de s'agrandir. Félicitations à Sophie et à toi pour la petite Jeanne nouvellement arrivée dans ce monde et bisou à la nouvelle grande sœur Salomé.

A MES PARENTS

Papa, Maman. Ça y est, vous voyez enfin le bout de mes études. Le pti' Seb a grandi et va devenir Docteur. Tout ça, c'est grâce à vous, MERCI. Merci de m'avoir permis de faire les études que je souhaitais et de m'avoir toujours soutenu dans mon parcours.

Merci d'être toujours là pour moi. J'ai de la chance de vous avoir comme parents. Même si je n'ai pas l'habitude de vous le dire mais sachez que je vous aime de tout mon cœur.

A MA SOEUR

Katia. Malgré nos disputes qui ont le don d'énerver Papa et Maman, saches que je n'en garde aucune rancoeur. On pense souvent la même chose mais on arrive pas toujours à se comprendre, c'est tout.

Je suis heureux de te voir heureuse, ce petit air d'Italie qui t'a donné le sourire te va très bien. Je te souhaite du fond du coeur d'être heureuse dans ta vie. Je t'aime frangine.

A MON AMOUR

Mon cœur, ça y est, c'est enfin la fin de ma thèse. Youhouuu !! Un jour à marquer d'une pierre blanche ! Ce jour que nous attendions depuis longtemps. On va enfin pouvoir vivre normalement, Toi + Moi va devenir Nous.

Merci de m'avoir soutenu, de m'avoir aidé, d'avoir sacrifié de nombreux week-ends pour moi et surtout merci de m'avoir supporté ! Tu m'as redonné l'envie d'avancer sur ma thèse mais aussi dans ma vie.

Je suis content que ce jour soit aussi le jour de ton anniversaire. Il y en a pour nous deux comme ça, tu vois c'est déjà le début de Nous.

Joyeux anniversaire mon Amour. Mouaaaakkkk. **Je T'AiMe.**

Ps : Prête à me supporter encore longtemps ?

A MA FAMILLE D'ICI et D'EN HAUT

Famiiiiille je vous aiiiiime. Je n'en connais pas de plus belle. Ce que j'aime dans notre famille, c'est que malgré des moments difficiles, malgré les disputes, malgré les bêtises de certains, tout le monde reste soudé, tout le monde se soutient, tout le monde s'aime. Le malheur des uns fait souffrir les autres, le bonheur des autres se partagent. Ça doit être ça le véritable esprit de famille. Et puis qu'est-ce qu'on se marre bien ensemble. Je vous aime tous.

J'espère que de là haut vous êtes fiers de ce qu'à fait votre petit-fils.

A MES AMIS D'HIER, D'AUJOURD'HUI, DE DEMAIN

Vous avez croisé ma route de près ou de loin à un moment ou un autre de ma vie. Chaque connaissance, chaque amitié aura apporté sa pierre à l'édifice de ma formation personnelle. Merci.

Sachez que malgré les distances qui peuvent nous séparer, vous restez toujours présents dans mon coeur.

A MOI

Et ben t'en auras mis du temps. T'es vraiment lent parfois. Faut que t'arrêtes de trop réfléchir pour tout et pour rien, de te poser milles et une questions à chaque fois que tu veux faire quelque chose. Essaie d'avancer plus vite, prend des risques, tu gagneras du temps, de toute façon rien n'est jamais parfait. Cette thèse marque la fin d'une belle période mais le meilleur reste à venir...à toi de jouer.

Table des matières

INTRODUCTION.....	5
I. Cyanobactéries et <i>Spirulina platensis</i>	6
1. Cyanobactéries, premiers organismes photosynthétiques.....	6
1.1. Écologie et biologie.....	8
1.2. Reproduction.....	11
1.3. Toxicité	11
2. <i>Spirulina platensis</i>	12
2.1. Histoire des spirulines.....	12
2.2. Taxonomie confuse.....	14
2.3. Description historique.....	18
2.4. Distribution géographique naturelle	21
II. Composition de <i>Spirulina platensis</i>	24
1. Protéines	24
2. Lipides.....	25
2.1. Lipides totaux.....	25
2.2. Lipides saponifiables.....	26
2.3. Lipides insaponifiables.....	28
3. Glucides	28
4. Acides nucléiques (ADN et ARN).....	29
5. Vitamines	29
5.1. Vitamines hydrosolubles.....	29
5.2. Vitamines liposolubles.....	30
6. Minéraux et Oligoéléments.....	31
7. Métaux.....	32
8. Pigments	34
9. Influence des conditions de culture.....	34
III. Valeurs nutritionnelles.....	36
1. Apports Nutritionnels Conseillés A.N.C	36
2. Rôles et caractéristiques nutritionnelles des constituants de <i>Spirulina platensis</i>	38
2.1. Protéines	38
2.2. Lipides.....	40

2.3. Glucides.....	43
2.4. Vitamines.....	43
2.4.1. Vitamines hydrosolubles.....	44
2.4.2. Apports nutritionnels conseillés en vitamines hydrosolubles et comparaison à la spiruline.....	48
2.4.3. Vitamines liposolubles.....	49
2.4.4. Apports nutritionnels conseillés en vitamines liposolubles et comparaison à la spiruline.....	51
2.5. Minéraux et oligoéléments.....	53
2.5.1. Minéraux et oligoéléments indispensables.....	53
2.5.2. Fonctions des principaux minéraux et signes de carence.....	53
2.6. Métaux.....	60
IV. Spiruline et malnutrition.....	61
1.État actuel de la malnutrition dans le monde.....	61
2.Qu'est-ce que la malnutrition.....	63
3.La spiruline : une solution envisageable ?.....	66
4.Réhabilitation nutritionnelle par la spiruline.....	67
4.1. Exemples concrets d'essais de réhabilitation nutritionnelle	67
4.2. Limites des essais.....	72
4.3. Dénutrition : un problème complexe.....	73
5.Acceptabilité de la spiruline en France et dans le monde	74
5.1. Statut de la spiruline	74
5.2. Acceptabilité alimentaire.....	76
6.Conclusion intermédiaire.....	77
V. Activités thérapeutiques de la spiruline et de ses constituants.....	78
1.Constituants fonctionnels principaux.....	78
1.1. La phycocyanine.....	78
1.1.1. Phycobilisome.....	78
1.1.2. Phycobiliprotéines.....	79
1.1.3. Propriétés physico-chimiques de la Phycocyanine.....	80
1.2. Le calcium-spirulan.....	82
1.3. Méthodes d'extractions.....	83
1.3.1. Méthodes d'extraction de la phycocyanine.....	83
1.3.2. Méthodes d'extraction du calcium-spirulan.....	86
2.Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants.....	87

2.1. Activités antioxydantes	87
2.1.1. Présomption d'activité.....	87
2.1.2. Activité antioxydante sur les radicaux alkoxy (RO.) et hydroxyle (HO.).....	89
2.1.3. Activité antioxydante sur l'ion peroxy nitrite ONOO-.....	90
2.1.4. Activité antioxydante sur les radicaux peroxyles ROO.....	91
2.1.5. Activité antioxydante sur la peroxydation lipidique.....	93
2.1.6. Implication du chromophore et de l'apoprotéine sur l'activité antioxydante.....	95
2.1.7. Activité antioxydante et protection rénale.....	99
2.2. Activité anti-inflammatoire.....	100
2.2.1. Rappel du mécanisme inflammatoire (Figure 28).....	100
2.2.2. Cyclo-oxygénases 1 et 2.....	101
2.2.3. Activités anti-inflammatoires et essais sur des modèles animaux.....	102
2.2.4. Action des anti-inflammatoires.....	106
2.2.5. Activité sélective sur la cyclo-oxygénase 2.....	107
2.2.6. Activité spécifique et conformation moléculaire.....	109
2.3. Activité anticancéreuse.....	111
2.3.1. Présomption d'activité.....	112
2.3.2. Activité anticancéreuse et mode d'action de la phycocyanine.....	113
2.3.3. Activité anticancéreuse et mode d'action du calcium-spirulan.....	117
2.4. Hépatoprotection.....	118
2.4.1. Hépatoprotection : In vivo.....	118
2.4.2. Hépatoprotection : In vitro.....	119
2.5. Activité sur le système immunitaire.....	120
2.5.1. Modulation de la sécrétion de cytokine.....	120
2.5.2. Modulation de la multiplication des cellules immunitaires.....	122
2.6. Activité antivirale.....	124
2.7. Autres activités.....	125
2.7.1. Effets contre le diabète, l'obésité et la circulation sanguine.....	126
2.7.2. Effets protecteurs contre les radiations	126
2.7.3. Effets contre l'hyperlipidémie	126
3. Toxicité et surdosage de la spiruline	127
4. Conclusion Intermédiaire	128
VI. Production et marché de la spiruline	129
1. Production de spiruline	129
1.1. Développement artisanal	129

1.2. Développement industriel.....	131
1.3. Milieu et conditions de croissance.....	133
1.4. Récolte de la spiruline.....	134
2. Marché de la spiruline.....	135
VII. Discussion	137
1. <i>Spirulina platensis</i> et l'industrie cosmétique.....	137
2. <i>Spirulina platensis</i> et l'industrie pharmaceutique.....	138
3. <i>Spirulina platensis</i> et l'industrie alimentaire.....	139
3.1. <i>Spirulina platensis</i> , un complément alimentaire ?.....	139
3.2. Mise en garde sur la supplémentation	142
3.3. <i>Spirulina platensis</i> , un aliment fonctionnel ?.....	142
3.3.1. Valeur nutritionnelle.....	143
3.3.2. Valeur énergétique.....	143
3.3.3. Valeur sensorielle.....	143
3.3.4. Valeur fonctionnelle.....	144
4. Conclusion de la discussion.....	146
CONCLUSION.....	147
ANNEXE.....	148
Bibliographie.....	151
Index des Figures.....	160
Index des tableaux.....	162

INTRODUCTION

Le groupe des cyanobactéries, anciennement appelées algues bleues, compte parmi l'une des plus anciennes formes de vie sur Terre et constitue l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène. Parmi elles existe le genre *Spirulina* ou *Arthrospira*, des cyanobactéries filamenteuses dont fait partie une bactérie particulièrement intéressante dénommée *Spirulina platensis* (ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de algue Spiruline. Consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique, et connue par les scientifiques depuis plusieurs décennies pour sa richesse nutritionnelle, elle fait l'objet d'une redécouverte depuis quelques années. Riche en nutriments tel que protéines, glucides, lipides, vitamines et minéraux, elle est à l'étude ou déjà utilisée sur tous les continents par des ONG pour lutter contre la malnutrition. Compte tenu de ses caractéristiques, la culture de la spiruline pourrait être une solution pour améliorer la santé humaine, la nutrition notamment dans les pays du tiers-monde et également pour développer des cultures industrielles. Cette cyanobactérie semble actuellement l'une des meilleurs solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité et, du fait, de grandes entreprises se sont lancées dans la culture de cet organisme à une échelle industrielle.

Outre des propriétés nutritionnelles avérées, la spiruline connaît aujourd'hui un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique internationale du fait de sa possible utilisation comme source de produits à vertu thérapeutiques. En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique. Certaines études ont en outre mis en évidence des activités sur le système immunitaire, le cancer, le sida mais aussi des effets dans la lutte contre le vieillissement cellulaire, des propriétés hépatoprotectrices, anti-inflammatoires. La spiruline semble avoir un potentiel très vaste.

C'est ce double aspect à la fois nutritionnel et pharmacologique qui sera développé ici à partir d'une revue des principales publications scientifiques recensées sur *Spirulina platensis*.

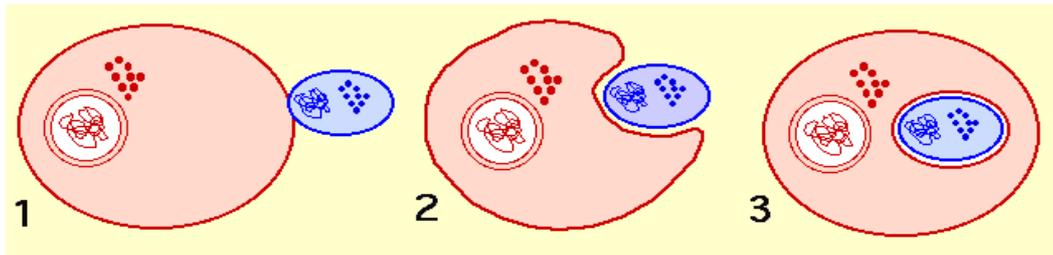
Après une description historique, morphologique et taxonomique de *Spirulina platensis*, une étude nutritionnelle sera présentée accompagnée d'une synthèse des essais réalisés pour l'utilisation de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition. S'en suivra, une synthèse des propriétés thérapeutiques de la spiruline et de ses principaux constituants, avant d'exposer brièvement les différents moyens de production de cette algue à travers le monde. Pour terminer, aux vues des différents éléments exposés, la question de l'avenir de la spiruline comme aliment fonctionnel ou médicament sera discutée.

I. Cyanobactéries et *Spirulina platensis*

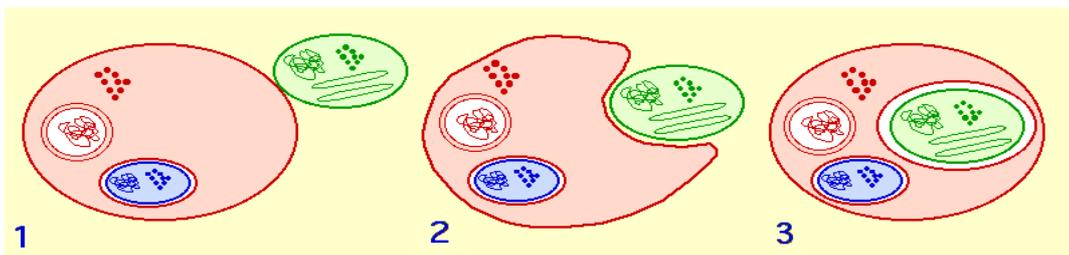
1. Cyanobactéries, premiers organismes photosynthétiques

Apparues il y a environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, les cyanobactéries sont, avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur Terre. Il en existe au moins 2000 espèces réparties dans plus de 150 genres. Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure tant par leur diversité morphologique et physiologique que par le rôle qu'elles ont joué en créant l'atmosphère aérobie nécessaire au développement de la vie. En effet, ces organismes procaryotes partagent avec les plantes la capacité d'effectuer la photosynthèse en utilisant la lumière et l'eau pour la réduction du gaz carbonique, processus qui s'accompagne d'un dégagement d'oxygène [1]. Encore de nos jours, les cyanobactéries jouent un rôle dans l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène.

L'apogée des cyanobactéries a duré de 2,5 à 1,5 milliards d'années quand les cellules eucaryotes apparurent. Selon la théorie endosymbiotique, les organismes eucaryotes photosynthétiques comme les algues et les plantes proviendraient d'une endosymbiose de plastes par des cyanobactéries. Cette théorie est soutenue par diverses similitudes structurelles et génétiques. Ainsi, des plastes issus d'une endosymbiose primaire contenant de la chlorophylle a et b et pas de pigments accessoires ont été retrouvés dans des algues vertes et des plantes (Figure 1). D'autres plastes, contenant de la chlorophylle a et des phycobiliprotéines, ont été retrouvés dans des algues rouges et des glaucophytes. Ces plastes ont probablement eu une origine commune. En effet, chez les algues rouges (Rhodophycées), on constate que les thylacoïdes possèdent des pigments accessoires, les phycobilines (phycocyanine et phycoérythrine), ce qui laisse penser que la bactérie symbiotique devait être une Cyanobactérie qui possédait ces mêmes pigments. D'autres algues, ont acquis leurs plastes à partir de ces formes par endosymbiose secondaire (Figure 2) [2].

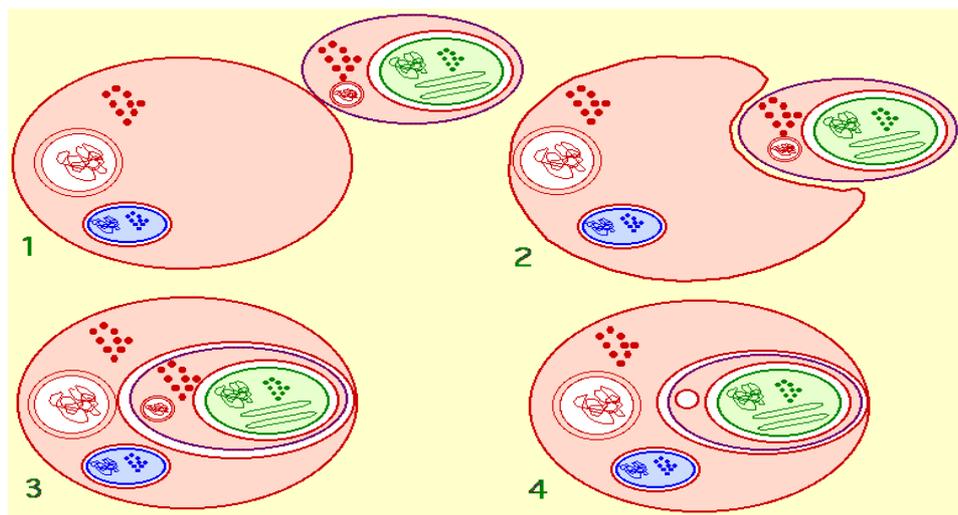


Formation d'une cellule eucaryote hétérotrophe : Absorption d'une bactérie par une cellule eucaryote primitive et formation d'une cellule eucaryote hétérotrophe. Les bactéries absorbées deviennent des mitochondries et réalisent la respiration [2].



Formation d'une cellule eucaryote autotrophe : Réalisation d'une cellule eucaryote autotrophe par absorption d'une bactérie photosynthétique par une cellule eucaryote hétérotrophe. Cette bactérie devient un chloroplaste, ses membranes internes ont une origine bactérienne. La membrane externe de l'enveloppe a pour origine la membrane plasmique de la cellule elle-même [2].

Figure 1 : Endosymbiose primaire



Une cellule eucaryote hétérotrophe absorbe une autre cellule eucaryote autotrophe contenant un chloroplaste limité par une enveloppe à deux membranes (endosymbiose primaire). La membrane plasmique de la cellule symbiote et la membrane de phagocytose constituent une deuxième enveloppe externe. En général, le noyau et le cytoplasme de la cellule symbiote dégèrent, le chloroplaste est alors entouré de quatre membranes [2].

Figure 2 : Endosymbiose secondaire

1.1. Écologie et biologie

La plupart des cyanobactéries sont capables de se déplacer, soit à l'aide de vésicules gazeuses (dans les liquides) soit, dans le cas des cyanobactéries filamenteuses, par glissement (jusqu'à 25 microns par seconde) grâce à des microfibrilles [3]. Ainsi, elles ont colonisé à peu près tous les milieux, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, dans des conditions extrêmes puisqu'on les observe dans les glaces des pôles, dans des sources d'eaux ferrugineuses, dans les geysers...

Certaines cyanobactéries vivent en association avec des organismes animaux ou végétaux. Dans les eaux courantes comme stagnantes, leur mode de vie peut être planctonique (vivant dans la masse d'eau et se laissant transporter par ses mouvements) ou benthique (fixés aux substrats immergés) [4].

Grâce à leur activité biologique, ces espèces ont pu générer des formations géologiques, les stromatolithes. Ces roches carbonatées ont pu se former en abondance en piégeant ainsi le gaz carbonique de l'atmosphère primitive et ainsi participer à la modification de l'atmosphère primitive terrestre.

Anciennement appelées algues bleues puis cyanophycées, elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires; dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments appelés trichomes composés de cellules alignées. La taille des cellules de cyanobactéries se situe généralement entre 1 et 10 microns. Leur paroi est de type Gram-négatif classique [3] [5].

Une des caractéristiques des cyanobactéries est qu'elles possèdent des thylacoïdes, siège de la photosynthèse [6]. Malgré ce système photosynthétique proche de celui des eucaryotes car contenant de la chlorophylle-a et un photosystème II (PS-II), ce sont de vrais procaryotes (organismes dépourvus de membrane nucléaire) (Tableau 1). Le photosystème, ainsi que les pigments photosynthétiques, les pigments accessoires et les composants du transport d'électrons sont ainsi inclus dans des membranes thylacoïdes comportant des granules dites "phycobilisomes". L'association des granules protéiques à une partie pigmentaire donne les phycobiliprotéines. Ces granules contiennent en particulier un pigment essentiel au transport de l'énergie vers le PS-II, la phycocyanine. Cette protéine contient un groupement prosthétique de

type polypyrrole qui lui confère une magnifique couleur bleue ainsi qu'une fluorescence rouge exceptionnellement efficace. C'est de cette couleur bleue caractéristique que provient la dénomination « algue bleue » donné à cet organisme. Les cyanobactéries assimilent le carbone à travers le cycle de Calvin et stockent énergie et carbone sous forme de glycogène. Bien que leurs schémas métaboliques varient considérablement, elles ont en commun l'absence de cycle de Krebs complet. Beaucoup de cyanobactéries, surtout parmi les filamenteuses, sont capables de réduire ("fixer") l'azote de l'air grâce à des structures spécialisées appelées hétérocystes [3] [5]. Elles jouent ainsi un rôle important dans le cycle de l'azote, puisqu'elles ont la capacité de transformer l'azote atmosphérique en ammonium ou en nitrates, substances assimilables par les plantes à la mort des cyanobactéries.

Tableau 1 : Différences entre les cellules d'algue bleue spiruline, procaryote et celles d'algues vertes, eucaryote [5]

	ALGUE VERTE, eucaryote	ALGUE BLEUE, procaryote
Paroi cellulaire	Épaisse, formée de couches cellulosiques	Quatre couches minces de mucopolymères et polysaccharides; sans cellulose mince, servant de barrière osmotique ; transport actif de substrat sélectionné et site de réactions enzymatiques clés
Membrane cytoplasmique	Mince, perméable, elle enferme les corps structurés subcellulaires	
Chloroplastes	Site de la photosynthèse ; thylacoïdes contenant des grains ou des paquets de chlorophylle enfermés dans une membrane à double paroi	Absence, remplacés par les thylacoïdes
Thylacoïdes	Filaments pigmentés, contenus dans le chloroplaste	Filaments pigmentés, distribués plus ou moins au hasard dans la cellule et non entourés d'une membrane
Vacuole	Sert au transport des ions et à la régulation de la pression osmotique	Absence, à part les vésicules de gaz pour régler la flottabilité
Corps de Golgi	Site de la synthèse des polysaccharides et autres fonctions	Absence
Mitochondrie	Site de la respiration et du métabolisme des acides gras	Absence
Noyau	Partie entourée de membrane contenant le nucleolus, l'ADN et des protéines	Absence ; ADN et ARN sont distribués plus ou moins au hasard dans la cellule et non entourés d'une membrane
Nucleolus	Structure à l'intérieur du noyau qui contient ARN et des protéines	Absence
Ribosomes	Le mécanisme de réglage utilisé dans la synthèse des protéines à partir des acides aminés ; travaille en conjonction avec l'ARN messenger, l'ARN de transport et le triphosphate de guanosine, la source de transfert d'énergie	Comme pour les cellules eucaryotes
Vacuoles de gaz	Absence	Présence ; corps cylindriques utilisés pour réguler la flottabilité et donc la quantité de lumière reçue par les cellules
Gouttes de lipide	Absence	Présence
Corps polyédriques	Absence	Présence, réservoir possible de protéines ribonucléiques
Granules polyphosphates	Absence	Présence; réservoir de substances pour le transfert d'énergie
Fibrilles d'ADN	Absence	Présence
Septum d'invagination	Absence	Forme de nouvelles cellules et parois
Enveloppe mucilagineuse	Absence	Épaisseur très variable selon les espèces

1.2. Reproduction

La reproduction est végétative, c'est à dire asexuée et s'effectue par scission simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard. Chez certaines espèces, des cellules spécialisées (akinètes) peuvent résister à la dessiccation puis "germer" lorsque les conditions redeviennent favorables [7]. Selon les espèces et les conditions environnementales, les temps de doublement des populations varient de quelques heures à plusieurs jours.

1.3. Toxicité

Actuellement une quarantaine d'espèces de cyanobactéries sécrètent des cyanotoxines qui sont généralement des neurotoxines pouvant être mortelles pour l'homme ou l'animal agissant sur différents organes cibles (foie, système nerveux). Les genres principaux reconnus pour produire des toxines sont *Anabaena*, *Aphazinomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*.

La plus grande partie des cyanotoxines produites s'accumulent à l'intérieur des cellules et l'ampleur de la production semble être corrélée avec la phase de croissance des cyanobactéries. Ensuite, lorsque les bactéries sont à la fin de la période de sénescence, elles meurent et se lysent, provoquant le relâchement des toxines dans le milieu environnant. Ainsi, lorsque la période de floraison est en progression, on retrouve très peu de toxines extracellulaires alors que vers le déclin de celle-ci, la concentration de toxines extracellulaires augmente énormément [8].

2. *Spirulina platensis*

2.1. Histoire des spirulines

Avant l'arrivée des colons espagnols, les Aztèques étaient le peuple originel du Mexique. Malgré de faibles ressources agraires, leur aliment principal étant le maïs, ce peuple réussit à survivre pendant des siècles. Farrar (1966) s'est interrogé avec raison sur les moyens qui ont permis à la population du Mexique de survivre[9].

La région de Mexico s'est construite autour de zones lacustres et bien que le poisson et les oiseaux du lac Texoco fournissaient un apport protéique, ils ne suffisaient pas à combler les besoins. Farrar suggéra que la source complémentaire de protéines émanait d'une ressource qui provenait du lac, appelée Tecuitlatl [10].

De nombreux ouvrages de l'époque coloniale citaient déjà une certaine substance bleu-vert que les Aztèques utilisaient. Le tecuitlatl est un limon, sorte de purée considérée par les colons comme minéral, une terre, consommée par les paysans après avoir été séchée et broyée. De part son contenu qualitativement très remarquable, le tecuitlatl a joué un rôle important, sinon décisif, pour assurer une alimentation suffisante, correcte et équilibrée à la nation Aztèques.

Cependant, 125 ans après la colonisation, le développement de l'agriculture et de l'élevage du bétail a relégué le tecuitlatl au rang du souvenir. Bien que déjà décrite par Wittrock et Nordstedt en 1844 [5], l'algue ne fut vraiment redécouverte que quelques 450 ans après par le botaniste belge J. Léonard lors d'une expédition belgo-française basée au Tchad (1964 - 1965). Ce dernier a en effet constaté que les Kanembous du sud Kanem écumaient la surface des mares aux environs du lac Tchad, mares riches en carbonates de sodium, à la recherche de la fameuse algue abondante sur ce lac et récoltée sous forme d'une purée bleu-verte. Cette purée était ensuite utilisée dans la préparation de gâteaux vendus dans la région et appelé « dihé » [3]. Un phycologiste français Dangeard (1947) avait examiné ces gâteaux dès 1940 et avait constaté qu'ils étaient faits d'une algue bleue comestible. Compère constata, en étudiant des échantillons qu'avait ramenés Léonard de son expédition, qu'en effet les gâteaux contenaient essentiellement l'algue bleue *Spirulina platensis*. Les chercheurs belges démontreront qu'ils sont extrêmement riches en protéines [11].

La redécouverte par Léonard des gâteaux de dihé faits de spirulines, a suscité beaucoup d'intérêt.

Peu après, lors du 7ème congrès du pétrole en 1967 à Mexico, G. Clément et ses collaborateurs à l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline, qui jusque là étaient restés confidentiels. Ces chercheurs ont isolé des souches de spirulines ; ils les ont purifiées ; ils ont entrepris de les cultiver et d'en faire l'analyse chimique.

L'analyse des gâteaux des Kanembous prouve que les spirulines, qui en constituent la masse essentielle, ont un contenu fabuleux : 50 à 60 % de leur masse est faite de protéines de bonne qualité alimentaire, le reste représente des graisses pour 6 %, et des sucres pour 15 à 20 %. À cela s'ajoute toute la panoplie des vitamines et une série d'autres molécules rares, fort utiles à une nutrition saine et complète. La valeur alimentaire des spirulines a été clairement établie dès 1976 par Delpuech *et al.* (1975) [12] et Sautier et Trémolières (1976) [13].

Ces résultats ont dirigé les pas des chercheurs vers Mexico. Tout en effet, dans le dihé, dans sa récolte, dans son utilisation, rappelle le tecuitlatl. Et de fait, le tecuitlatl est en réalité un gâteau de spirulines, extrêmement riches en protéines, appartenant à l'espèce *Spirulina maxima* [10]. Établie sur un dépôt de bicarbonate de soude, les parties salées des lagunes de Mexico sont des niches écologiques très alcalines où la spiruline prospère, exactement comme elle le fait dans les lagunes du Kanem (Figure 3). Aujourd'hui, il est établi que ceci est vrai pour une série de lacs en Afrique, en Asie subtropicale et tropicale, et en Amérique du Sud.



Figure 3 : Photo d'une femme kanembou " écrémant " la spiruline de la surface du Lac Rombou [5]

Dans les 10 dernières années, les cultures intentionnelles et intensives de spirulines se sont implantées en plusieurs endroits du monde. La culture industrielle a repris sur le lac au Mexique en 1976 par la société Sosa Texcoco. Depuis, plusieurs entreprises se sont implantées un peu partout : Siam Algae Company à Bangkok en 1979, Earthrise farm aux Etats-Unis en 1983 (le plus gros producteur actuel), Cyanotech Corporation à Hawaï, etc. En 1995, il existait une vingtaine d'exploitations industrielles dans le monde [5]. Actuellement, leur nombre avoisine la trentaine et les techniques de la biotechnologie moderne permettent d'obtenir un produit de haute qualité, contenant jusqu'à 70 % en poids sec de bonnes protéines alimentaires.

Grâce à son contenu remarquable permettant maintes applications utiles, la spiruline est devenue un point de mire en diététique, tandis que sa culture est en passe d'être le point de mire de ce que préoccupe la malnutrition protéique dans les pays les plus défavorisés. Depuis, les recherches ont beaucoup évolué et ont trouvé de nombreuses applications possibles de la spiruline, notamment dans le domaine médical.

2.2. Taxonomie confuse

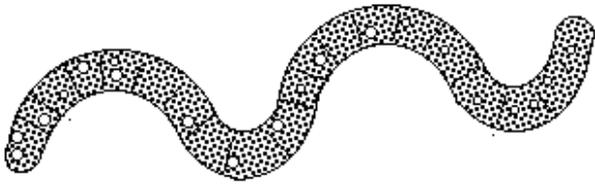
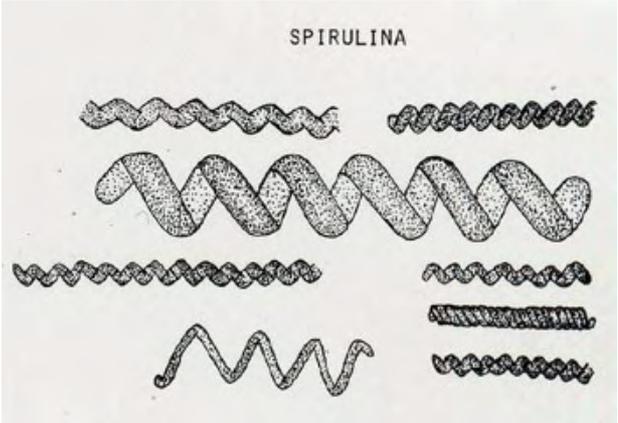
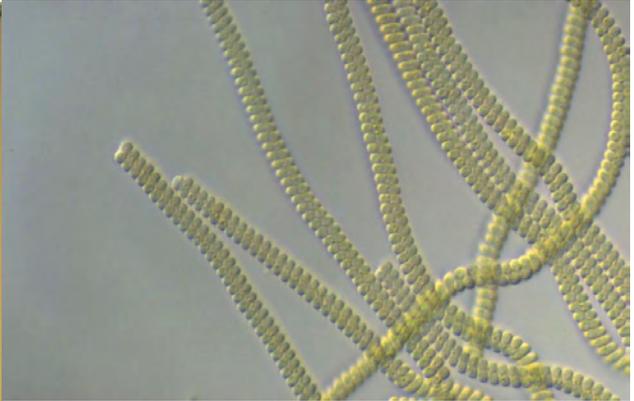
Faisant partie des cyanobactéries, les spirulines sont donc une des plus anciennes formes de vie «photosynthétique» apparue sur la terre il y a environ trois milliards et demi d'années. La spiruline est considérée souvent comme une algue planctonique microscopique. C'est en fait une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre *Arthrospira*, le plus souvent enroulée en spires d'où son nom commercial [3]. La terminologie de la spiruline est assez confuse, le tableau ci-dessous apporte des précisions sur les amalgames possibles (Tableau 2).

Tableau 2 : Les diverses appellations de la spiruline [3]

Spiruline®	Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre <i>Arthrospira</i>
Spirulina®	Nom commercial anglais de la même cyanobactérie
Spirulina	Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des <i>Arthrospira</i> . Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de l'alimentation humaine, et aucune n'est commercialisée à cette fin
Arthrospira	Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient notre spiruline alimentaire

La confusion entre les deux noms *Arthrospira* et *Spirulina* est due à la décision d'unifier les deux genres *Arthrospira stizenberger* et *Spirulina turpin* sur la base de leurs trichomes en spirale [14]. Néanmoins la "vraie" *Spirulina* n'est pas affiliée au genre *Arthrospira* [15]. Les différences morphologiques sont expliquées ci-dessous. Les organismes du genre *Arthrospira* se trouvent communément dans des eaux saumâtres, ainsi que dans des lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales [16].

Tableau 3 : Différences morphologiques entre le genre *Spirulina* et *Arthrospira* [5]

<i>Arthrospira</i>	<i>Spirulina</i>
Trichomes en hélice ouverte	Trichomes en hélice presque fermée
Paroi cellulaire visible si les vacuoles à gaz ne sont pas trop nombreuses	Paroi cellulaire difficilement visible (gaine non prononcée)
Cellules de 6 à 12 µm de large, possibles constriction entre les cellules adjacentes.	Cellules de 2 à 4 µm de large, de forme non fixe et avec peu ou pas de constriction entre les cellules adjacentes.
Mobiles par rotation	Mobilité permanente par rotation
La reproduction s'effectue par scission simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard	La reproduction s'effectue probablement par rupture transcellulaire du trichome.
ADN : 43 mol% de G+C	ADN : 44 à 53 mol% G+C
	
Schéma	Schéma
	
Photo de <i>Spirulina (Arthrospira) platensis</i>	Photo de <i>Spirulina subsala</i>

Une fois le genre bien établi, il faut encore ne pas se tromper d'espèce. Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulina platensis*, originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* originaire d'Amérique centrale. L'espèce qui nous intéresse pour ce mémoire est l'espèce *platensis*, il est donc important de savoir la différencier (Figure 4).

L'espèce mexicaine *Spirulina (Arthrospira) maxima* se caractérise par des trichomes de 7 à 9 μ de diamètre, de 70 à 80 μ de long, légèrement effilés aux extrémités, formant une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 μ de diamètre. Les cellules constituant des trichomes mesurent 5 à 7 μ de long et ne se rétrécissent pas au niveau des articulations [5].

L'espèce du Tchad *Spirulina (Arthrospira) platensis* se compose de trichomes atteignant 350 μ de long, de 5 à 11 μ de diamètre, un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50 μ , diminuant légèrement vers les extrémités [5].



Figure 4 : Différentiation *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis* : Filaments de spiruline observés au microscope optique

Le tableau ci-après synthétise la taxonomie d'*Arthrospira platensis* (Tableau 4).

Tableau 4 :Taxonomie récapitulative [5] [17] [18] [19]

Règne	Monera ou Bacteria
Sous-règne	Prokaryota
Phylum ou Division	Cyanophyta ou Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	<i>Arthrospira</i>
Espèce	<i>platensis</i>

2.3. Description historique

La spiruline a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de *Spirulina jenneri platensis* Nordstedt dans l'*Algae aquae dulcia exsicc.*, fascicule XIV n°679 de *Descriptiones systematice dispositae*, page 59 : « *Trichomata aeruginea, stratum tenue saturate aerugineum formantia, fragilia, in spiram laxam et amplissimam, diametro 26 μ ad 36 μ aequantem contorta, anfractus 43 μ ad 57 μ inter se distances ; articuli subquadrati, vel diametro breviores, 2 μ ad 6 μ longi, protoplasmate grosse granuloso dissepimenta vulgo obducente farcti (v.s.) Hab. Ditionen Uruguay, Americae meridionalis, prope Montevideo ».*

Cette citation est de Maurice Gomont (1892) « Trichomes érugineux, groupés en couche mince érugineuse, fragiles, enroulés régulièrement en spires larges et très ouvertes, intercellulaires, légèrement atténués en extrémité, sans calypstre, de diamètre 6 à 8 μ ; spires écartées de 43 à 57 μ ; cellules aussi longues que larges, ou plus courtes que le diamètre, longues de 2 à 6 μ , contenant un protoplasme rempli de granules grossiers qui, amassés, cachent les parois intercellulaires. Se trouve en Amérique du Sud, près de Montevideo, en Uruguay ».

Desikachari, 1959, donne une description similaire : Thalles bleu-vert ; trichomes légèrement contractés aux parois cellulaires, larges de 6-8 μ , pas ou peu atténués aux extrémités, enroulés en spirales plus ou moins régulières ; spires de diamètre 26-36 μ ; entre spires de 43-57 μ ; cellules presque aussi longues que larges, ou plus courtes que larges, longues de 2 à 6 μ ; parois cellulaires granulées ; cellules d'extrémité largement arrondies. Dans les eaux stagnantes, Lahore, Pakistan ; Calcutta, Bengale et Lac Beira à Ceylan » [5].

En France, Gilles Planchon et Rosario Fuentes ont trouvé de l'*Arthrospira* poussant en Camargue, au sud de la France, tout à fait hors de la zone de température où cet organisme croît d'habitude : diamètre des cellules 6,4 μ , longueur 2 à 3 μ . Trichomes (généralement de 3 spires) très peu ou pas resserrés aux parois intercellulaires, d'aspect réticulé, couleur vert-jaunâtre ou bleu-vert ; cellules extrêmes arrondies ; diamètre de la cellule ou du trichome à peine aminci ; bonne mobilité. Le pH était de 9,1.

A l'heure actuelle, un minimum de 50 souches d'*Arthrospira* a été découvert de par le monde et étudié pour en décrire sa diversité génétique. Il n'existerait alors qu'une ou deux espèces génétiques parmi ces souches, ce qui laisse à supposer que le nombre d'espèces de ce genre est fortement réduit [6]. Les souches les plus connues et les plus utilisées actuellement restent *A. platensis* provenant du Tchad et *A. maxima* provenant du Mexique.

D'autres descriptions d'*Arthrospira platensis* ont été réalisées dans de nombreux pays, le tableau ci-dessous regroupe certaines d'entre elles (Tableau 5).

Tableau 5 : Résumé de plusieurs descriptions d'*Arthrospira platensis* [5]

Date	Auteur et lieu	Longueur	Diamètre des	Diamètre	Distance
		des cellules	cellules	des spires	entre spires
		μ	μ	μ	μ
1844	Wittrock & Nordstedt, Montevideo, Uruguay	2-6	6-8	26-36	43-57
1893	Maurice Gaumont citant Wittrock & Nordstedt	2-6	6-8	26-36	43-57
1931	Florence Rich, Lacs, Elmenteia, Cratère & Nakuru, Kenya	3-10	6-11	36-60	15-45
1967	Léonard J. & Compère P. Kanem, Tchad	5	6-9	25-45	35-50
1980	Fox R.D, Lac Orovilca, Pérou	2,5*	7,8*	36*	95*
1984	Fox R.D, Lac Lonar, Inde, de pargaonkar S.	4,5*	12*	99*	55*
1990	Fox R.D, Lac Cratère, Mexique, de Durand-Chastel H.	3,2*	12,45*	52,3*	52*
1993	Paracas, Pérou, de Planchon G. & Fuentes R.	2,4*	9,5*	33*	43*
1994	Fox R.D, Camargue, de Plancon G. & Fuentes R.	2,3*	11,6*	44*	109*
1994	Fox R.D, Toliara, Madagascar, de Nguyen Kim Ngam	3,8*	7,2*	21,2*	32,5*
1994	Fox R.D, Olive Mill, Californie, de Knutsen G., Bergen Norvège	2,6*	6,1*	32*	65*
Moyennes		3,7	8,6*	44	59,7

Note : la distance entre spires varie beaucoup selon l'intensité de la lumière. Sous éclairage de forte intensité, cette distance peut descendre à 10μ ; sous faible éclairage, elle peut dépasser 100μ. * Valeurs moyennes

La spiruline (*Arthrospira*) a une morphologie très variable. Parfois les spires au centre du trichome sont plus rapprochées qu'aux extrémités et la forme générale peut être celle d'un diabolo, avec un diamètre de spire plus petit au centre et aux extrémités. Les spires peuvent être espacées régulièrement avec un diamètre constant. Elles peuvent être nombreuses ou pas, et le filament peut alors paraître droit. Toutes ces variations dépendent de la souche et donc principalement du lieu d'origine où elle a poussé et la distribution géographique d'*Arthrospira* est importante.

2.4. Distribution géographique naturelle

La spiruline croît naturellement dans la ceinture tropicale du globe, entre 35°N et 35°S environ. Elle se trouve communément dans des eaux saumâtres, ainsi que dans des lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales [16] à pH fortement alcalin. Selon son origine, elle arbore plusieurs différences interspécifiques. Ci-dessous quelques sites où la spiruline a été découverte (Tableau 7) [5].

Tableau 6 : Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis* [5]

AFRIQUE	
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Soudan	Cratère de Djebel Marra
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Congo	Mougounga
Kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Tanzanie	Lac Natron
Tunisie	Lac Tunis; Chott el Jerid
Zambie	Lac Bangweoulou
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara
ASIE	
Inde	Lacs Lonar et Nagpur
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Sri Lanka	Lac Beira
Pakistan	Mares près de Lahore
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de Radburi, 80 km au S.O. de Bangkok
Azerbaïdjan	<i>non précisé</i>
AMERIQUE DU SUD	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Près de l'île d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lac Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac Quilotoa : cratère de 1km de diamètre
AMERIQUE DU NORD	
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
EUROPE	
Hongrie	<i>non précisé</i>
France	Camargue
AUTRES SITES POSSIBLES	
Partout où vivent le flamant nain, <i>Phoenicoparus minor</i> (Afrique et Asie) et le flamant de James, <i>Phoenicoparus jamesi</i> (Amérique du sud)	
Ethiopie	Lac Abiata
Kenya	Lac Rodolphe ; lac Hannington
Tanzanie	Lac Manyara ; lac Rukua
Zambie	Lac Mweru
Botswana	Makgadigka Salt Pans
Namibie	Etosha Salt Pan
Afrique du Sud	Etat libre d'Orange, près de Vaaldam
Bolivie	Lacs Colorado, Poopo, Chalviri, Salar de Uyuni
Chili	Aguas Calientes, Lagunas Brava, lac Vilama, Salar de Surire
Mauritanie	Côte sud
Inde	Rann of Kutch ; Gujarat
Madagascar	Côte Ouest

Comme le montre le tableau ci-dessus, la spiruline peut même pousser dans des lacs volcaniques (lac Quiliotoa, en Equateur). Plus généralement, elle croît dans des eaux chaudes, très minéralisées riches en carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou bicarbonate de sodium (NaHCO_3), d'autres minéraux et une source d'azote fixé. C'est pourquoi on peut en trouver aussi dans certains déserts, à l'endroit de ramassage de l'eau provenant occasionnellement des montagnes [5]. Ces conditions de développement excluent la prolifération de la plupart des autres microorganismes.

C'est d'abord l'impressionnante teneur en protéines des spirulines qui a attiré l'attention des chercheurs, comme des industriels. Puis c'est au cours d'analyses approfondies sur les spirulines que beaucoup de points particulièrement intéressants sur le plan nutritionnel sont apparus : composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, de nombreux minéraux et vitamines. Afin de mettre en évidence les propriétés nutritionnelles d'*Arthrospira platensis*, il est nécessaire d'étudier sa composition puis de la comparer aux apports nutritionnels conseillés (ANC).

II. Composition de *Spirulina platensis*

Il est bien établi que les variations de conditions de culture provoquent facilement de forts changements dans la composition biochimique des spirulines. Cependant en moyenne, la spiruline contient en poids sec jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines.

1. Protéines

Selon les souches et les conditions de culture, la quantité de protéines d'*Arthrospira platensis* varie de 55 à 70 % du poids sec [20].

Tableau 7 : Composition en acides aminés de *Spirulina platensis* [21]

<i>Acides aminés</i>	%	<i>Acides aminés</i>	%
Asp	0,9	Met*	0,8
Thr*	0,5	Ile*	1,3
Ser	0,6	Leu*	0,8
Glu	1	Tyr	3,3
Pro	0,3	Phe*	2,5
Gly	0,6	His	4,7
Ala	1	Lys*	1,9
Val*	1,3	Arg	2,1

Non inclus Trp* and Cys

* Acide aminé essentiel

Par sa composition protéique, la spiruline est un aliment très riche. Ainsi, comme l'indique le tableau ci-dessus (Tableau 7), la spiruline contient la plupart des acides aminés et notamment tous les acides aminés essentiels constituant près de 60% du poids total des protéines.

On peut noter que parmi ces acides aminés essentiels les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés : méthionine et cystéine (absente ici mais évoquée dans d'autres publications [3]).

Ce spectre d'acides aminés montre que la valeur biologique des protéines de la spiruline est élevée et pourrait sûrement être optimisée par les procédés de culture. Par exemple, il a été noté une variation du contenu en protéines de 10 à 15 % selon le moment de la récolte par rapport à la photopériode, ainsi les valeurs les plus fortes étant obtenues au début de la période lumineuse [22].

2. Lipides

2.1. Lipides totaux

Selon les publications la valeur du poids sec en lipides totaux varient de 5,6 à 11 % en poids [23] [24] [25] [3] et même 14,3 % au maximum [21]. Ces variations quantitatives mais aussi qualitatives sur la composition de ces lipides peuvent provenir de la méthode d'extraction et du moyen d'analyse utilisé ou simplement de la variété d'*Arthrospira platensis*.

Cette fraction lipidique se caractérise par un bon équilibre acides gras saturés/acides gras polyinsaturés [6].

Les lipides peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83 %) et une fraction insaponifiable (17 %) contenant essentiellement une paraffine, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols [23].

2.2. Lipides saponifiables

La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyl diacylglycérol (MGDG), 10,3%, de digalactosyldiacylglycérol (DGDG), 6,44 % et de sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), 11,4 % [24] et de phosphatidylglycérol, 25,9 % [7]. On ne trouve ni phosphatidylcholine (lécithine), ni phosphatidyléthanolamine (céphaline), ni phosphatidylinositol, des lipides membranaires, en quantités appréciables.

Les 3 glycolipides MGDG, DGDG et SQDG représentent près de 28 % des lipides totaux. Les glycolipides sont les composants lipidiques majeurs de toutes les membranes des chloroplastes et des membranes photosynthétiques des cyanobactéries. Le MGDG et le DGDG occupent principalement les membranes thylacoïdes des plantes et le SQDG est l'un des principaux lipides atteignant parfois jusqu'à 40 % des lipides totaux pour certaines souches de *Spirulina* [6]. Plusieurs études ont analysé la composition en acides gras de *Spirulina platensis* mais certaines sont plus détaillées que d'autres, le tableau ci-après présente la composition détaillée en lipides totaux et des 3 glycolipides (Tableau 8).

Tableau 8 : Composition en acides gras des lipides totaux et des lipides polaires chez *Spirulina platensis* [24]

<i>Acides gras</i>	<i>Lipides totaux</i>	<i>SQDG</i>	<i>MGDG</i>	<i>DGDG</i>
	%	%	%	%
14:0	0,1±0,1	0,2±0,2	0,2±0,1	0,3±0,1
16:0	45,6±3,5	56,1±6,5	42,0±5,5	40,4±2,5
16:1 n-9	2,6±0,3	0,2±0,1	2,5±0,1	2,4±0,5
16:1 n-7	5,3±0,3	2,3±0,3	5,3±1,2	5,9±1,3
16:2 n-9	3,3±0,5	-	0,3±0,3	0,4±0,2
16:3 n-6	0,4±0,2	0,3±0,1	0,3±0,2	0,6±0,2
17:0	0,1±0,1	0,4±0,2	0,1±0,1	0,2±0,1
17:1 n-9	0,3±0,1	0,6±0,2	0,2±0,1	0,2±0,2
Iso 18:0	0,3±0,1	0,6±0,3	0,2±0,2	0,3±0,3
17:3 n-6	0,2±0,1	-	0,3±0,2	0,3±0,1
18:0	0,7±0,2	1,2±0,4	0,7±0,2	0,8±0,3
18:1 n-9	1,8±0,3	4,3±0,5	1,7±0,3	1,0±0,2
18:1 n-7	0,3±0,2	0,8±0,5	0,7±0,5	0,6±0,2
18:2 n-6	17,6±2,3	28,3±4,2	9,3±1,5	11,0±2,1
18:3 n-6	20,3±3,0	3,6±0,5	30,9±5,1	29,7±3,6
20:2 n-6	0,1±0,0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,6±0,2
20:3 n-6	0,6±0,1	0,4±0,2	0,7±0,2	0,7±0,3
C ₂₀ PUFA	0,4±0,1	0,2±0,1	1,0±0,3	1,2±0,5

Valeur moyenne de 3 déterminations

20:3 n-6 = 20 carbones, 3 doubles liaisons, la 1ère démarrant sur le carbone n-6

N.B : Xue *et al.* (2002) ont utilisé la méthode de Bligh et Dyer (1959) pour l'extraction des lipides totaux. Puis ils ont isolé sur colonne de gel de silice les différentes fractions lipidiques et les ont purifiées par chromatographie en couche mince (CCM) avec élution de solvant. Ensuite ils ont séparé ces différentes fractions par HPLC puis analysé les différentes fractions par CCM bidimensionnelle et analyse infrarouge. Enfin après hydrolyse enzymatique par une lipase, les acides gras libres et les lipides acylés ont été estérifiées par la méthode de Carreau et Dubacq (1975) [24].

De tous les glycolipides isolés de la spiruline l'acide palmitique (C16:0) représente plus de 40 % de acides gras totaux. Il faut aussi noter la présence d'acide gamma-linolénique (C18:3 n-6) en quantité relativement élevée (20,3%), et de l'acide linoléique (C18:2 n-6) avec 17,6 % des lipides totaux. Ces trois acides gras sont les principaux acides gras du MGDG et du DGDG, alors que l'acide palmitique et l'acide linoléique sont les principaux acides gras présents dans le SQDG.

D'autres acides en C20 et C17 sont présents en petites quantités. Dans l'étude de Maslova *et al.* en 2004, ces acides gras ont souvent été négligés [24].

2.3. Lipides insaponifiables

Il semble que les stérols représentent 1,5 % de la fraction non polaire des lipides chez l'espèce *Spirulina maxima*. La fraction stérolique est principalement composée de clionastérol (épimère en C-24 du β -sitostérol) et pauvre en cholestérol [6]. Chez *Spirulina platensis*, on trouve aussi de faibles quantités de campésterol et de stigmastérol [7].

Les paraffines (hydrocarbures saturés à longues chaînes) représentent 25 % de la fraction insaponifiable chez *Spirulina platensis* soit entre 0,1 à 0,3% d'hydrocarbures saturés dans la matière sèche des spirulines [7].

3. Glucides

Les glucides constituent 15 à 25 % de la matière sèche des spirulines [5] [7].

Ces hydrates de carbone composent notamment sa membrane cellulaire. Les parois cellulaires des spirulines s'apparentent à celles des bactéries Gram-positives puisqu'elles sont formées de glucosamines et d'acide muramique associés à des peptides. Les formes primaires des hydrates de carbone sont le rhamnose et le glycogène, deux polysaccharides facilement absorbés par l'organisme [21]. D'autres polysaccharides comme le calcium-spirulan (Ca-SP) sont composés de rhamnose, ribose, mannose, fructose, galactose, xylose, glucose, acide glucuronique, acide galacturonique, sulfate et calcium [26]. Cependant les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités.

4. Acides nucléiques (ADN et ARN)

On rapporte des valeurs de 4,2 à 6 % d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche chez *Spirulina platensis* [22] [23].

5. Vitamines

Il existe 13 vitamines, 4 liposolubles (A, D, E, K) et 9 hydrosolubles (B1, B2, B5, B6, B12, C, PP).

La spiruline contient de nombreuses d'entres elles et spécialement des vitamines B dans des proportions optimales.

5.1. Vitamines hydrosolubles

Les vitamines constituent le principal facteur impliqué dans les propriétés biologiques des spirulines. Les vitamines identifiées en majorité chez *Spirulina platensis* sont (pour 100g de biomasse) : la vitamine C (42,0-195,3 mg), la vitamine B3 (0,6-5,3 mg), la vitamine B1 (0,8-15,4 mg), la vitamine B2 (0,2-0,9 mg), la vitamine B6 (0,3-4,0 mg), la vitamine B9 (0,2-0,6 mg) et la vitamine B12 (0,3-0,8 mg).

Il faut noter que la biomasse poussant en printemps-été montre une proportion en vitamines plus élevée. Ceci dépendant essentiellement des conditions d'ensoleillement (Tableau 9).

Tableau 9 : Vitamines hydrosolubles contenues dans la biomasse de *Spirulina platensis* en fonction des saisons (mg/100g de matière sèche) [21]

<i>Vitamines hydrosolubles</i>	<i>Échantillon recueilli en hiver</i>	<i>Échantillon recueilli en automne</i>	<i>Échantillon recueilli en été</i>	<i>Échantillon recueilli au printemps</i>
Acide ascorbique (Vit C)	42,8	42	106,2	195,3
Nicotinamide (Vit B3 ou PP)	5,3	0,6	0,4	0,9
Pyridoxine (Vit B6)	4	0,6	0,3	0,5
Riboflavine (Vit B2)	0,8	0,7	0,9	0,2
Thiamine (Vit B1)	11,6	15,4	0,8	0,8
Cyanocobalamine (Vit B12)	0,4	0,8	0,3	0,3
Acide folique (Vit B9)	0,6	0,4	0,2	0,6

Concernant la vitamine B9, Sall. *et al.* (1999) indiquent une valeur allant jusqu'à 100 mg d'acide folique mais ne précisent pas s'il s'agit d'une valeur mesurée chez l'espèce *platensis* ou *maxima* [27].

5.2. Vitamines liposolubles

Les trois vitamines liposolubles trouvées chez la spiruline sont le β -carotène, précurseur de la vitamine A, la vitamine E et la vitamine D (Tableau 10).

Tableau 10 : Vitamines liposolubles contenues dans la biomasse de *Spirulina platensis* (mg/100g de matière sèche) [21] [20]

Vitamines	Quantités
β -carotène (provitamine A)	64 à 200 mg/100g
Tocophérol (Vitamine E)	10 à 19 mg/100g
Vitamine D	12000 U soit 0,3 mg/100g

6. Minéraux et Oligoéléments

Les macroéléments ou minéraux se différencient des oligoéléments entre autres par les quantités quotidiennes que nous devons apporter à notre organisme. Les besoins en macroéléments sont de l'ordre du gramme (g) ou du dixième de gramme par jour tandis que ceux en oligoéléments sont de l'ordre du milligramme (mg) ou du centième de milligramme (μg).

Les oligoéléments ou éléments traces présents dans la spiruline sont le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium, l'iode, le fluor, le chrome, le calcium et magnésium, les autres éléments, en quantité plus significative, sont considérés comme des minéraux (Tableau 11).

Tableau 11 : Minéraux et oligoéléments contenus chez *Spirulina platensis* [28]

Éléments	Quantités (mg/kg de biomasse sèche) ¹
Cr	11,3 à 14,2
Fe	900 à 1176
Mn	554 à 592
Zn	21 à 375
Ca	4320
Cl	4890
K	9000
Mg	670 à 2700 ²
Na	4500 à 235000 ³
P	6700 à 9000 ⁴

¹Dosages effectués par 2 méthodes analytiques : INAA = instrumental neutron activation analysis (technique non-destructive) et ICP-AES = inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (technique destructive). La méthode ICP-AES donne naturellement des valeurs plus basses que la méthode INAA mais l'utilisation de 2 techniques différentes est utile pour quantifier un large spectre de minéraux.

²Avino *et al.*, 2000 [28] ; Li *et al.*, 2007 [29]

³Avino *et al.*, 2000 [28]; Falquet et Hurni, 2006 [7]

⁴Falquet et Hurni, 2006 [7]

A noter la très forte concentration en sodium (235 g/kg) qui selon Avino *et al.* (2000) dépend de la haute salinité du milieu de culture [28]. Néanmoins, cette concentration est au minimum de 4,5 g/kg ce qui est tout de même élevé pour un aliment.

Cependant d'autres publications donnent des chiffres différents pour ces oligoéléments mais elles ne précisent pas s'il s'agit de dosages réalisés chez *Spirulina platensis* ou *maxima*.

Ainsi pour 1 kg de spiruline, des valeurs de 10 g de calcium, 1600 mg de potassium, 4600 mg de manganèse, 28 % de sélénium et 880 à 1500 mg de fer hautement assimilable ont été trouvées [27].

7. Métaux

La recherche des métaux chez les spirulines est réalisée pour l'étude de la toxicité potentielle plus que pour la mesure quantitative en éléments fonctionnels. Cependant, certains métaux comme le sélénium et le chrome sont nécessaires dans l'alimentation à des doses faibles.

Bien que certains métaux soient aussi cités comme des oligoéléments, ils ont tout de même été répertoriés dans le tableau ci-après (Tableau 12) :

Tableau 12 : Niveaux des éléments traces chez *Spirulina platensis* [28]

Élément	Quantité dans échantillon de
	spiruline (mg/kg de matière sèche)
As	0,002*
Br	17,9
Cd	< l.d
Co	0,720
Cr	14,2
Cs	0,021
Cu	37,5
Eu	0,023
Hg	0,120
La	0,514
Mn	27,88* à 554
Ni	< l.d
Pb	12,9
Sb	0,064
Sc	0,075
Se	0,198
V	< l.d
Zn	21* à 375

n.m : non mesuré

< l.d : inférieur à la limite de détection

* Al-Homaidan *et al*, 2006 [30]

Le manganèse et le zinc montrent des valeurs maximales élevées avec respectivement 554 et 375 mg/kg provenant de l'étude d'Avino *et al*. (2000)[28]. Concernant le zinc, cette valeur élevée pourrait, selon l'auteur, provenir d'une pollution environnementale. La spiruline cultivée sans apport intentionnel de zinc au milieu de culture n'en contient généralement que des traces (21-40 µg/g) [31]. Pour le manganèse, cette valeur haute n'a été trouvée que dans un échantillon d'origine naturel de *Spirulina platensis* alors que dans les échantillons d'origine commerciale, la valeur est en général plus basse d'un facteur dix.

8. Pigments

La spiruline est riche en pigments responsables de sa couleur. Les principaux pigments sont la phycocyanine et la chlorophylle.

La phycocyanine est une phycobiliprotéine. Seul colorant bleu alimentaire naturel, elle est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue [27] [32].

La chlorophylle est présente en proportion de 9-15 g/kg [20].

Les phycocyanines, composants de l'appareil photosynthétique des cyanobactéries, sont les protéines majeures de la spiruline. Naturellement colorées d'un bleu intense et pourvue d'une fluorescence rouge, elles sont responsables du bleuissement de la poudre de spiruline exposée trop longtemps à la lumière : moins sensible que la chlorophylle à la photo-destruction, leur couleur domine lorsque le vert chlorophyllien disparaît. C'est aussi aux phycocyanines que l'on doit l'intense couleur bleue qui apparaît plus ou moins rapidement lorsque l'on réhydrate de la spiruline séchée : l'éclatement des cellules libère ces protéines très solubles dans l'eau, alors que la chlorophylle reste associée aux débris cellulaires.

Les phycocyanines ont donné lieu à de nombreuses recherches scientifiques, détaillées plus loin, démontrant l'incroyable potentiel thérapeutique de ces protéines.

9. Influence des conditions de culture

Selon les publications, il peut y avoir des différences de teneur en protéine, en lipides, en vitamines ou en minéraux, ces données doivent donc être prises avec la plus grande réserve : ces valeurs sont probablement bien plus liées aux conditions de croissance de chaque échantillon qu'à d'hypothétiques spécificités génétiques entre les différentes espèces ou variétés de spiruline.

Concernant le fer, par exemple, les spirulines naturelles en contiennent rarement plus de 500 mg/kg, bien que des valeurs supérieures à 1000 mg/kg de fer aient été publiées [31]. Dans le

cas des spirulines cultivées, l'ajout au milieu de culture de sels de fer, souvent complexés à l'EDTA ou à l'acide citrique, élève facilement ces valeurs entre 600 à 1000 mg/kg, voire bien au delà. On trouve sur le marché européen des spirulines titrant près de 6000 mg/kg en fer²⁺ [33]. Certains brevets récents semblent impliquer la possibilité d'enrichir la spiruline en fer jusqu'à des niveaux extrêmes (supérieurs à 25000 mg/kg). Il est évident que de tels niveaux de fer placent ces spirulines dans un domaine plus pharmaceutique que alimentaire et pourraient poser d'éventuels problèmes de surdose en fer.

Autre exemple, la spiruline cultivée sans apport intentionnel de zinc au milieu de culture n'en contient généralement que des traces (21-40 µg/g), alors qu'on peut en trouver dans certaines spirulines naturelles près de 400 µg/g [31].

Enfin dernier exemple, il semble établi que le contenu en acide gras de la spiruline puisse être modifié suivant les conditions de culture [34]. L'ajout de certains acides gras directement dans le milieu de culture de la spiruline peut largement modifier la composition lipidique de celle-ci; ainsi en ajoutant des sels d'acide linoléique (C18 :2), on peut considérablement modifier la teneur en acide gamma-linolénique ainsi qu'en sulfolipides de la spiruline [7].

Il faut donc apporter un bémol sur la composition des spirulines, car comme les exemples ci-dessus le démontrent, les conditions de culture qu'elles soient naturelles ou artificielles peuvent influencer de façon significative sur la composition nutritionnelle que ce soit qualitativement ou quantitativement.

Quoi qu'il en soit les spirulines restent des bactéries riches en éléments nutritifs et nous allons voir quels sont leurs avantages fonctionnels.

L'étude de la composition de la spiruline a permis de démontrer son extrême richesse en nutriments. Leurs présences réunies dans une seule et même bactérie apporte à celle-ci une valeur nutritionnelle unique. Cependant si d'un point de vue qualitatif la spiruline semble répondre aux besoins essentiels de l'homme, quels sont les rôles joués par ces différents nutriments et qu'en est-il du point de vue quantitatif, les besoins physiologiques sont-ils couverts ?

III. Valeurs nutritionnelles

La détermination des Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) ainsi que leur comparaison avec les apports de la spiruline constituera une étape indispensable pour l'évaluation de la couverture des besoins physiologiques. Cette évaluation se fera sur la base des besoins de l'enfant de 1 à 3 ans et de la femme allaitante. Ces deux groupes d'individus étant ceux pour qui les besoins physiologiques en nutriments sont les plus importants.

L'enfance est en effet une période primordiale où l'apport en nutriments se doit d'être riche tant quantitativement que qualitativement afin de minimiser tout risque de malformation ou de problèmes mentaux pendant la croissance.

Concernant la femme allaitante, ses besoins nutritionnels sont augmentés durant l'allaitement et tout manque en nutriment peut avoir des conséquences potentiellement graves sur le développement du nouveau-né.

1. *Apports Nutritionnels Conseillés A.N.C*

Les Apports Nutritionnels Conseillés constituent une étape indispensable pour l'évaluation de la couverture des besoins physiologiques, en fonction des différentes situations et classes d'âges, tout en posant les limites de sécurité à ne pas dépasser, sans risque pour la santé.

Les ANC sont des quantités conseillées pour la pratique alimentaire tenant compte de la "culture alimentaire" de la population française, ils sont propres à chaque groupe d'individu. Ils sont aussi dénommés couramment sous le terme "d'apports quotidiens". Ceux-ci sont égaux aux besoins nutritionnels moyens mesurés sur un groupe d'individus, auquel on ajoute deux écarts type afin de prendre en compte la variabilité interindividuelle et permettre de couvrir les besoins de la plus grande partie de la population. Ainsi, 97,5% des individus ne présenteront aucun signe de carence et resteront en bonne santé (Figure 5).

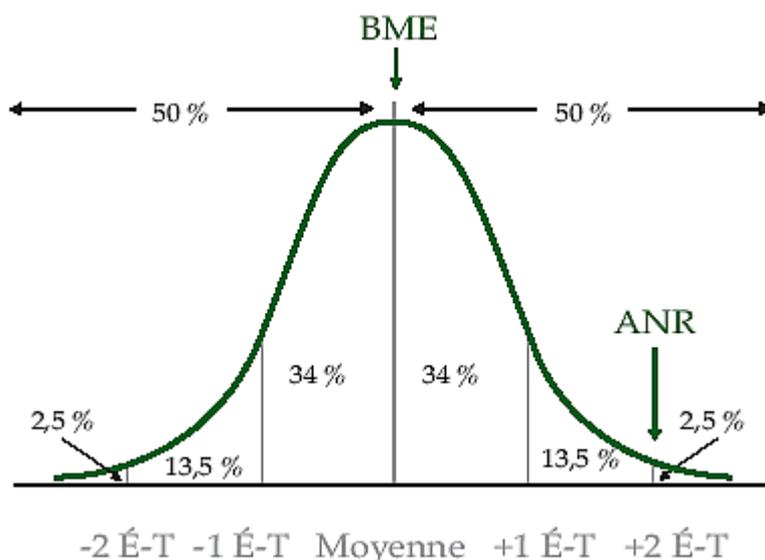


Figure 5 : Besoins nutritionnels et Apports Nutritionnels Conseillés

En dessous des ANC, le risque de carence augmente de manière continue (Figure 6). Au-delà, la possibilité d'une carence est voisine de zéro, bien qu'il existe un risque de surdosage au delà duquel peut apparaître la fonctionnalité négative du nutriment. Cependant, avant de dépasser cette limite, il existe une zone de sécurité très large, variable selon les nutriments.

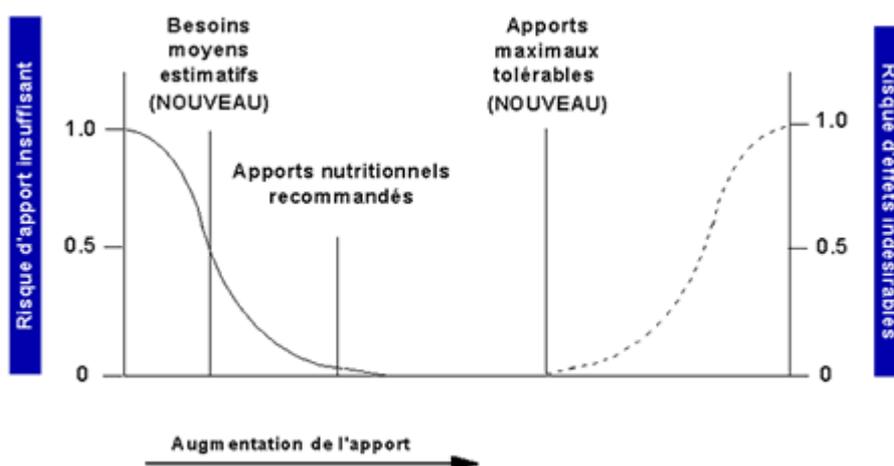


Figure 6 : Apports nutritionnels en nutriments et effets sur l'organisme

D'autres notions, autres que les ANC, existent tel que les apports journaliers recommandés (AJR) et les apports quotidiens recommandés (AQR) qui sont sensiblement la même chose entre eux, mais ils sont très différents des ANC, qui sont eux spécialement dédiés à des groupes de consommateurs bien définis. Dans l'idéal il faudrait donc se baser sur ces ANC. Mais en pratique, ils ne sont quasiment jamais notés sur les emballages, donc jamais utilisés.

2. Rôles et caractéristiques nutritionnelles des constituants de *Spirulina platensis*

2.1. Protéines

Les protéines sont indispensables à l'être humain car elles lui apportent des éléments essentiels à la vie : les acides aminés. Ceux-ci sont à la base des cellules qui composent notre corps. Certains de ces acides aminés sont dits essentiels car l'organisme ne peut pas les synthétiser, seule l'alimentation peut les apporter.

Leur rôle est multiple : la croissance, la reproduction, la nutrition, l'immunité (système de reconnaissance et de défense de l'organisme) leur sont liées.

Les protéines jouent donc un rôle dans la défense de l'organisme qui les transforme en anticorps, elles sont aussi nécessaires à la fabrication des enzymes qui effectuent les réactions chimiques à l'intérieur de l'organisme.

Parce que les cellules vieillissent et meurent et qu'il lui faut sans cesse en créer de nouvelles, le corps humain a sans cesse besoin de protéines, d'autant plus qu'il ne peut pas en faire des réserves à la différence des lipides et des glucides. Les principales sources de protéines dans notre alimentation sont : les viandes, les poissons, les oeufs, les produits laitiers, et les légumes secs.

Avec une teneur en protéines à hauteur de 55 à 70 %, la spiruline est plus riche en protéines que la plupart des aliments courants. Pour comparaison, dans la viande et le poisson la moyenne est de 15-20 %, dans le soja, 35 % et les oeufs, 12 %. D'un point de vue quantitatif, la spiruline est donc un aliment de choix pour un apport protéique majeur et d'autant plus que la digestibilité de ses protéines, accrue par l'absence de paroi cellulosique des cellules, s'élève entre 75 et 83% [6].

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, car tous les acides aminés essentiels y figurent (excepté le tryptophane mais évoqué dans certaines publications tel que Fox *et al.* (1999) [5] et représentent entre 47 et 60% du poids total des protéines [35] [21]. Le spectre large en acides aminés essentiels et non-essentiels apportés par la spiruline explique la haute valeur biologique de cette cyanobactérie. Une comparaison du taux en

acides aminés essentiels que permet la consommation d'un gramme de spiruline avec les valeurs recommandées de la FAO est présentée dans le tableau ci-dessous .

La FAO a réalisé un profil type établissant les valeurs en mg d'acides aminés essentiels par gramme de protéines recommandées pour couvrir au mieux les besoins de l'organisme (Tableau 13). Seul est présent le profil type d'un enfant entre 2 et 5 ans. Ce profil est intéressant afin de le comparer avec le profil protéique de la spiruline (sachant que celle-ci est principalement utilisée pour lutter contre la dénutrition des enfants des pays en voie de développement).

Tableau 13 : Comparaison de la composition en acides aminés essentiels du profil type FAO 1985 avec la composition en acides aminés essentiels du profil de *Spirulina platensis* [36]

Acides aminés essentiels	Profil type FAO 1985 Enfants de 2-5 ans (mg/g de protéine)	Protéines <i>Spirulina platensis</i> (mg/g de protéine) [21]	% apporté par la Spiruline par rapport à la valeur recommandée par la FAO	
			Indice chimique*	Indice chimique corrigé**
Isoleucine	28	13	46	36,8
Leucine	66	8	12	9,6
Lysine	58	19	33	26,4
Méthionine + Cystéine	25	8	32	25,6
Phénylalanine + Tyrosine	63	58	92	73,6
Thréonine	34	5	15	12
Tryptophane	11	0	0	0
Valine	35	13	8,5	6,8

* Indice chimique non corrigé, ne tient pas compte de la digestibilité des protéines de spiruline

** Indice chimique corrigé, tient compte de la digestibilité moyenne de 80 %

N.B : Calcul de l'indice chimique (non corrigé) = mg d'AAE dans 1 g de la protéine analysée/mg d'AAE dans 1 g de la protéine de référence [36].

Les protéines de la spiruline apportent un pourcentage non négligeable en acides aminés essentiels pouvant parfois couvrir la quasi-totalité des besoins recommandés par la FAO, pour exemple, les acides aminés phénylalanine et tyrosine qui sont apportés à plus de 73% par rapport à la valeur recommandé par la FAO.

La spiruline présente l'avantage d'avoir un spectre en acides aminés essentiels large dont l'optimum pourrait être facilement atteint par complémentation alimentaire à l'aide d'une source d'acides aminés adéquat qui font défauts comme par exemple l'apport de céréales ou d'oléagineux (riz, blé, mil, sésame...).

Bien que la composition en acides aminés de la spiruline soit idéale, pour devenir une source alimentaire de premier choix, il est nécessaire que ces protéines soient assimilables par l'organisme. Cette caractéristique peut être déterminée par le calcul de l'efficacité protéique (PER). Ce PER se calcule comme le rapport « Gain de poids de l'animal ou de l'individu / poids de protéines ingérées ». Les protéines de références sont la lactalbumine ou la caséine, lesquelles présentent un PER de 2,5. La spiruline seule, au cours d'expériences menées sur le rat, a un PER de 1,90, tandis qu'accompagnée de riz dans une proportion égale, cette valeur s'élève à 2,40 [37].

Ces résultats indiquent que la spiruline ou plus précisément ses acides aminés sont bien utilisés d'un point de vue métabolique et donc que cette cyanobactérie présente non seulement l'avantage d'avoir un contenu protéique riche mais l'avantage d'être facilement accessible par l'organisme.

2.2. Lipides

Outre un rôle énergétique évident, avec un rendement calorique de 9 kcal/g, les lipides présentent également un rôle structural essentiel en contribuant au maintien de l'architecture cellulaire. Cependant le rôle majeur des lipides présents dans la spiruline, est fonctionnel. En effet, la composition lipidique de la spiruline se caractérise d'une part par un bon équilibre acides gras saturés/acides gras insaturés et d'autre part, la présence d'acides gras polyinsaturés dits essentiels (AGE).

On range actuellement les acides gras essentiels en deux groupes (oméga-3 et oméga-6) caractérisés par la position de l'insaturation la plus proche du groupe méthyle terminal. Pour la famille des oméga-6, la position de la première double liaison par rapport au CH₃ terminal se situe entre les positions 6 et 7 et pour la famille des oméga-3, la position de la première double liaison par rapport au CH₃ terminal se situe entre les positions 3 et 4.

Cette présence est bénéfique car ces acides vont jouer un rôle sur l'activité des fonctions cibles de l'organisme, directement ou indirectement impliqués dans l'état de santé et de bien être de l'homme. Ces A.G.E contribuent à la synthèse des eicosanoïdes, tel que les prostaglandines, le thromboxane et les leucotriènes, médiateurs impliqués dans le processus immunitaire et inflammatoire. Les eicosanoïdes dérivent des acides gras essentiels de la famille des oméga-6 et de la famille des oméga-3 par l'intermédiaire de dérivés supérieurs (acide arachidonique, acide eicosapentaénoïque (EPA) et acide docosahexaénoïque (DHA)) [38].

Autre particularité de *Spirulina platensis*, la présence d'acide gamma-linolénique, acide gras à haute valeur alimentaire, rare dans les aliments courants. Cet acide gras essentiel du groupe des oméga-6 est présent en quantité relativement élevée de 20,3 % (Tableau 8) et jusqu'à 40 % , soit environ 4 % du poids sec selon certains auteurs [39]. La spiruline peut être considérée comme l'une des meilleures sources connues d'acide gamma-linolénique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes et fort chères (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) [7].

Normalement synthétisé chez l'homme à partir de l'acide linoléique (oméga-6) d'origine végétale, l'acide gamma-linolénique peut être directement assimilé avec profit en cas d'insuffisance endogène.(Figure 7)

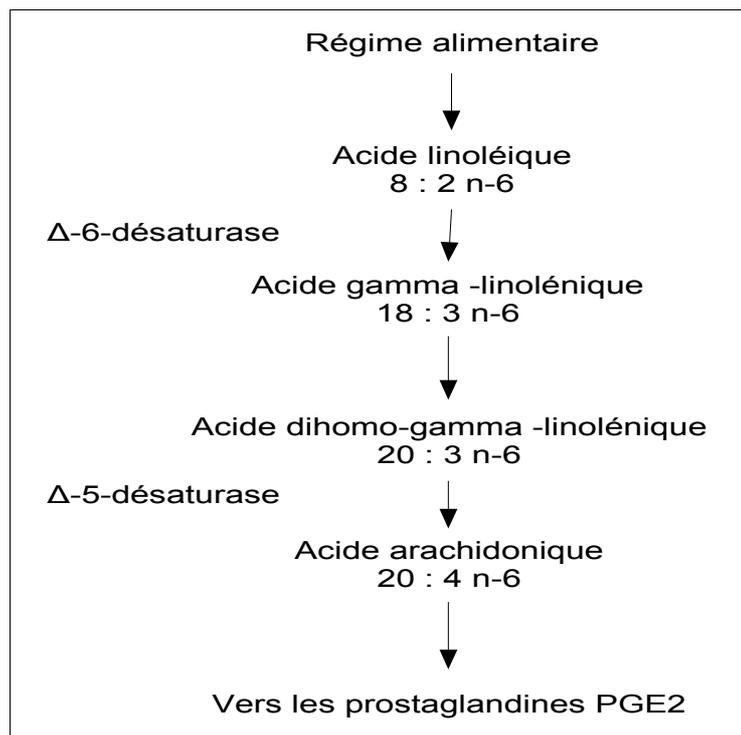


Figure 7 : Production endogène des prostaglandines

En effet, souvent lors du vieillissement ou par carence héréditaire, l'enzyme Δ -6-désaturase vient à manquer et par conséquent diminue la production de prostaglandines, donc l'efficacité du système immunitaire. Ainsi, une consommation de spiruline, riche en acide gamma-linolénique, permettrait de shunter l'action de l'enzyme défaillante et de restaurer la production de prostaglandines.

Enfin, la présence d'acide alpha-linolénique (C18:3 n-3) a été notée dans certaines études faisant aussi de *Spirulina platensis* une source d'oméga 3.

Comme le montre le tableau de composition en lipides (Tableau 8), la spiruline est une source potentielle en acides gras oméga 6 et oméga 3 et ceci à des taux suffisants pour jouer un rôle fonctionnel bénéfique pour la santé.

2.3. Glucides

Les glucides, indispensables au fonctionnement des muscles et du cerveau, constituent la source d'énergie la plus rapidement utilisable par l'organisme et sont impliqués dans l'anabolisme des protéines. Les glucides ont donc un rôle essentiellement énergétique.

Certains glucides ont un rôle dit de "constitution". Ils rentrent dans la composition de tissus fondamentaux de l'organisme : les cartilages, les acides nucléiques, le mucus, les substances antigéniques .

Constituant une part importante de la matière sèche de la spiruline (15 à 25%), les polysaccharides qui la composent, offrent une énergie rapide sans fatiguer le pancréas et avec une perte minime en insuline [21]. Les glucides simples sont eux en très faible quantité, ce qui est plutôt un avantage sur le plan diététique. Outre ce rôle énergétique, les hydrates de carbone sont nécessaires pour les échanges hormonaux de protéines et de lipides. D'un point de vue plus thérapeutique, les polysaccharides de la spiruline présentent de multiples intérêts, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN, dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres. L'intérêt thérapeutique du calcium-spirulan sera détaillé plus loin.

Les glucides contenus chez la spiruline sont donc à leur échelle un constituant bénéfique pour l'homme.

2.4. Vitamines

Les vitamines sont des substances sans valeur énergétique mais vitales. A l'exception de deux d'entre elles (vitamines K et D), l'homme n'est pas capable de les fabriquer et leur apport par l'alimentation est primordial pour le fonctionnement harmonieux de l'organisme. Contrairement aux macronutriments (protéines, glucides ou sucres, lipides ou graisses) elles exercent leurs actions à très faibles doses.

On distingue deux groupes de vitamines :

- les vitamines liposolubles sont solubles dans les graisses et l'organisme peut les mettre en réserve. Elles sont essentiellement apportées par les aliments d'origine animale et les huiles végétales. Ce sont les vitamines A, D, E et K

- les vitamines hydrosolubles sont solubles dans l'eau et ne sont pas stockées dans l'organisme (à l'exception de la vitamine B12) ; leurs apports doivent donc être assurés quotidiennement par notre alimentation. Ces vitamines sont apportées par la quasi-totalité des groupes d'aliments (viande, poisson, œufs, produits laitiers, céréales, fruits et légumes). Ce sont la vitamine A, la vitamine C et les vitamines du groupe B (B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8, B9 et B12)

Chaque vitamine exerce un rôle bien spécifique. Globalement, elles sont impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques : construction (croissance, développement du squelette...), fonctionnement et entretien (transformation et utilisation des macronutriments, vision, coagulation du sang, systèmes musculaire, nerveux, immunitaire, fabrication d'ADN, antioxydants...). Le rôle d'un apport adéquat en vitamines dans la prévention de nombreuses pathologies (maladies liées au vieillissement, maladies cardiovasculaires, cancers) est de plus en plus démontré, mais la surconsommation de vitamines peut avoir des effets néfastes à long terme [40].

2.4.1. Vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles sont principalement les vitamines du groupe B. Les vitamines du groupe B sont des cofacteurs impliqués dans tous les métabolismes, la synthèse des hormones et des enzymes, la transmission de l'influx nerveux, la production d'énergie, le système immunitaire.

a) Vitamine B1

La thiamine mise en circulation sous forme libre est rapidement phosphorylée en TPP ou carboxylase. La TPP est le coenzyme d'un grand nombre de systèmes enzymatiques intervenant dans les réactions de transcétolisation et la décarboxylation oxydative du cycle de Krebs et autres

acides α -cétoniques.

La thiamine joue un rôle essentiel dans le métabolisme des glucides et celui de l'alcool. Le métabolisme de la vitamine B1 interfère soit directement, soit par l'intermédiaire de voies métaboliques plus ou moins complexes avec celui des vitamines B2, B6, PP, acide pantothénique et les folates.

Une carence en vitamine B1 est cause de béribéri, cette maladie se caractérise par des symptômes neurologiques dans sa forme sèche ou cardiaques dans sa forme humide. Le béribéri reste présent dans de nombreux pays où la dénutrition est présente [40].

b) Vitamine B2

La vitamine B2 ou riboflavine intervient sous forme de 2 coenzymes, le flavine mononucléotide (FMN) et le flavine adénine dinucléotide (FAD) qui jouent un rôle dans :

- le catabolisme des acides gras, celui de certains acides aminés et celui des bases puriques
- la transformation du succinate en fumarate (entrée dans le cycle de Krebs)
- la chaîne respiratoire

Une carence en vitamine B2 est exceptionnelle dans les pays développés. Elle est responsable de symptômes cutanéomuqueux (dermites, chéilite, stomatite) et de symptômes oculaires (sécheresse, infections cornéennes) [40].

c) Vitamine B3

Les fonctions biochimiques de la vitamine B3 ou PP ou niacine reposent essentiellement sur une action en tant que coenzyme. Elle intervient dans le mécanisme de respiration cellulaire. En synergie avec la vitamine B12, elle contribue aussi à la synthèse de l'ADN et de l'ARN et est donc indispensable à la fabrication des cellules sanguines. C'est une vitamine antianémique [41].

Une carence en niacine peut conduire à la pellagre.

d) Vitamine B5 (absente dans spiruline)

Appelé aussi acide pantothénique, elle est un des constituants du coenzyme A dans sa partie structurale. Par ce biais, cette vitamine joue un rôle essentiel à la formation de certaines hormones et substances régulatrices du système nerveux. Elle joue un rôle nécessaire dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides.

Une carence en vitamine B5 est exceptionnelle car on la trouve dans de nombreux aliments. Les premiers signes sont des désordres neuromoteurs, une asthénie, des douleurs et brûlures des extrémités [40].

e) Vitamine B6

La vitamine B6 ou pyridoxine participe à de nombreux systèmes enzymatiques catalysant la synthèse et la dégradation des acides aminés, la synthèse des neurotransmetteurs, la dégradation du glycogène musculaire, le métabolisme du tryptophane et la synthèse de l'hème [38].

Une carence peut provoquer une hyperirritabilité et des convulsions épileptiformes chez les nouveau-nés.

f) Vitamine B8 (absente dans spiruline)

La vitamine B8 ou biotine est nécessaire à la synthèse des acides gras et à la dégradation des protéines et des glucides en molécules plus petites. Elle contribue également au maintien de la thyroïde et des glandes surrénales, du système nerveux, de l'appareil reproducteur et de la peau [38].

Une carence peut provoquer une cétose par diminution de la glucogénèse, on observe aussi une détérioration de la synthèse des protéines ainsi qu'une excrétion anormale d'acides organiques dans l'urine [40].

g) Vitamine B9

La vitamine B9 ou acide folique intervient dans le métabolisme des acides aminés (dont la méthionine à partir de l'homocystéine) et des acides nucléiques (acide thymidilique nécessaire à la production d'ADN). Son rôle métabolique est donc essentiel pour les cellules à renouvellement rapide principalement. Elle est donc nécessaire à la formation des globules rouges, de certaines protéines et de matériel génétique contenu dans le noyau cellulaire [38].

Une carence peut aboutir à une anémie macrocytaire ou des problèmes liés à la formation du fœtus lors de la grossesse [40].

h) Vitamine B12

La vitamine B12 ou cobalamine intervient dans la formation de l'ADN et des globules rouges sains. Elle participe également au maintien du système nerveux et est essentielle au maintien d'une bonne fonction mentale [38]. La carence en vitamine B12 (anémie pernicieuse) provient soit d'un défaut d'apport alimentaire en cette vitamine (cas de régimes végétaliens stricts) soit d'un défaut d'absorption.

i) Vitamine C

La vitamine C intervient dans deux grands types de réactions : les réactions d'hydroxylation d'une part, nécessaires à la synthèse du collagène (hydroxylation de la lysine et de la proline), des catécholamines (DOPA et noradrénaline) et de la carnitine essentiellement, et les réactions d'oxydoréduction d'autre part, où elle joue principalement un rôle réducteur (réduction des nitrites et du fer ferreux...). De plus elle intervient dans les réactions radicalaires, comme piègeur de radicaux libres et intervient grâce à ses propriétés antioxydantes dans le système immunitaire de l'organisme [40].

Une carence en vitamine C peut conduire au scorbut se manifestant par des oedèmes et des hémorragies buccales, et peut aller jusqu'à la mort [40].

2.4.2. Apports nutritionnels conseillés en vitamines hydrosolubles et comparaison à la spiruline

Tableau 14 : Apports nutritionnels conseillés des vitamines hydrosolubles [40]

	B1	B2	B3	B5	B6	B8	B9	B12	C
	(mg/j)	(mg/j)	(mg/j)	(mg/j)	(mg/j)	(µg/j)	(µg/j)	(µg/j)	(mg/j)
Nourrissons	0,2	0,4	3	2	0,3	6	70		50
Enfants de 1 à 3 ans	0,4	0,8	6	2,5	0,6	12	100	0,8	60
Enfants de 4 à 6 ans	0,6	1,0	8	3	0,8	20	150	1,1	75
Enfants de 7 à 9 ans	0,8	1,3	9	3,5	1,0	25	200	1,4	90
Adolescents de 10 à 12 ans	1,0	1,4	10	4	1,3	35	250	1,9	110
Adolescentes de 10 à 12 ans	1,0	1,3	10	4	1,3	35	250	1,9	110
Adolescents de 13 à 15 ans	1,3	1,6	13	4,5	1,6	45	300	2,3	110
Adolescentes de 13 à 15 ans	1,1	1,4	11	4,5	1,5	45	300	2,3	110
Adolescents de 16 à 19 ans	1,3	1,6	14	5,0	1,8	50	330	2,4	110
Adolescentes de 16 à 19 ans	1,1	1,5	11	5,0	1,5	50	300	2,4	110
Hommes adultes	1,3	1,6	14	5,0	1,8	50	330	2,4	110
Femmes adultes	1,1	1,5	11	5,0	1,5	50	300	2,4	110
Femmes enceintes	1,8	1,6	16	5,0	2,0	50	400	2,6	120
Femmes allaitantes	1,8	1,8	15	7,0	2,2	55	400	2,8	130

Tableau 15 : Comparaison des ANC avec les apports de la spiruline [40]

	B1	B2	B3	B5	B6	B8	B9	B12	C
Spiruline (mg/10g de biomasse)	0,08- 1,54	0,02- 0,09	0,06- 0,53	-	0,03-0,4	-	0,02-0,06	0,03-0,08	4,2- 19,33
Rapports Spiruline/ANC (%) <i>enfant 1-3 ans</i>	20-385	2,5-11	1-8	-	5-67	-	20-60	3750- 10000	7-32
Rapports Spiruline/ANC (%) <i>femmes allaitantes</i>	4,5-85	1-5	0,4-3,5	-	1,4-18	-	5-15	1000- 4000	3-15

Bien que la spiruline ne couvre pas la totalité des besoins, elle dispose d'une balance vitaminique optimale pour la plupart des complexes en vitamine B, notamment pour une consommation chez le jeune enfant (Tableaux 15 et 16). Seules les vitamines B5 et B8 sont absentes chez la spiruline. Il faut toutefois souligner la teneur exceptionnelle en vitamine B12

(cobalamine) qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande car aucun végétal courant n'en contient. L'apport de seulement quelques grammes de spiruline permettrait de couvrir la totalité des besoins en vitamine B12.

Compte tenu des rôles essentiels joués par les vitamines hydrosolubles, un apport quotidien en spiruline serait bénéfique pour apporter une partie des besoins vitaminiques non couverts par une alimentation peu variée, et ainsi éviter la survenue de nombreuses maladies liées aux carences.

2.4.3. Vitamines liposolubles

a) Vitamine A et provitamine A

Dans l'alimentation de l'homme, la vitamine A existe sous forme de rétinol et de ses esters, exclusivement présents dans les produits animaux, et sous forme de caroténoïdes provitaminiques, majoritairement d'origine végétale.

Ces différentes formes présentent aussi des fonctions variées. Le rétinol est la forme de transport et un produit intermédiaire du métabolisme, le rétinal, est un élément indispensable intervenant dans la vision, l'acide rétinoïque exerce une action marquée sur la prolifération et la différenciation des tissus tels que l'épithélium respiratoire, la muqueuse digestive, la peau, les différentes cellules notamment embryonnaires.

Le bêta-carotène ou provitamine A, a une action antioxydante particulièrement efficace, fondamentale au niveau cellulaire, membranaire et surtout nucléaire [41].

Une carence en vitamine A, problème de santé publique majeur dans les pays en voie de développement, se traduit par des atteintes oculaires (héméralopie, xérophtalmie et cécité irréversible), elle s'accompagne d'une baisse sensible des défenses immunitaires notamment chez le jeune enfant. L'avitaminose A est également un facteur de mortalité maternelle dans les régions pauvres [40].

b) Vitamine D

La vitamine D agit après conversion en 1,25-dihydroxyvitamine D, son métabolite actif principal. Deux actions essentielles sont exercées par ce métabolite : assurer une minéralisation optimale des tissus minéralisés pendant et après la croissance et contribuer au maintien de l'homéostasie du calcium et du phosphore au niveau rénal, osseux et intestinal [40].

Une carence en vitamine D induit principalement un défaut de minéralisation du squelette (ostéomalacie chez l'adulte et rachitisme chez l'enfant) et des troubles cliniques dûs à l'hypocalcémie (convulsions, laryngospasme, crise tétanique...)

c) Vitamine E

La vitamine E ou tocophérol a comme principale propriété de piéger et d'empêcher la propagation des radicaux libres peroxydes, formés à partir des acides gras polyinsaturés par l'action de l'oxygène. C'est donc un protecteur des lipides membranaires et des lipoprotéines [40].

Une carence vraie en vitamine E est exceptionnelle chez l'homme adulte. Son incidence est plus importante chez l'enfant et surtout le prématuré, en raison de réserves corporelles très faibles. Dans de cas, une anémie hémolytique peut être observée.

d) Vitamine K (absente dans la spiruline)

Le terme vitamine K regroupe un ensemble de cofacteurs nécessaires à l'activation de protéines dont les plus connues ont un rôle important dans la coagulation sanguine. Elle participe également à la formation de l'ostéocalcine (protéine osseuse non collagénique) [40].

Une carence vraie en vitamine K est rare et la principale conséquence est l'augmentation du risque hémorragique.

Les teneurs de cette vitamine dans la spiruline ne sont pas connues mais les besoins de l'homme adulte étant compris entre 0,1 et 1 $\mu\text{g}/\text{j}$, ils sont largement couverts par une alimentation même faible car elle se trouve principalement dans les feuilles des légumes verts, les produits laitiers et la flore intestinale.

2.4.4. Apports nutritionnels conseillés en vitamines liposolubles et comparaison à la spiruline

Tableau 16 : Apports nutritionnels conseillés des vitamines liposolubles [40]

	A (ER /j)	D ($\mu\text{g}/\text{j}$)	E (mg/j)	K
Nourrissons	350	-	4	-
Enfants de 1 à 3 ans	400	10	6	-
Enfants de 4 à 6 ans	450	5	7,5	-
Enfants de 7 à 9 ans	500	5	9	-
Adolescents de 10 à 12 ans	550	5	11	-
Adolescentes de 10 à 12 ans	550	5	11	-
Adolescents de 13 à 15 ans	700	5	12	-
Adolescentes de 13 à 15 ans	600	5	12	-
Adolescents de 16 à 19 ans	800	5	12	-
Adolescentes de 16 à 19 ans	600	5	12	-
Hommes adultes	800	5	12	-
Femmes adultes	600	5	12	-
Femmes enceintes	700	10	12	-
Femmes allaitantes	950	10	12	-

* ER : Équivalent Rétinol (1 ER = 3,3 UI = 1 μg de rétinol = 6 μg de provitamine A)

Les besoins en vitamine K de l'homme adulte ne sont pas connus avec précision. Cependant, les scientifiques s'accordent à dire qu'ils sont extrêmement faibles et compris entre 0,1 et 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

Tableau 17 : Comparaison des ANC en vitamines liposolubles avec les apports de la spiruline [40]

	Pro A (A)	D	E	K
Spiruline (mg/10g de matière sèche)	6,4- 20 (1-3)	0,03	1,0- 1,9	-
Rapports Spiruline/ANC (%) enfant 1-3 ans	500- 1700	300	25-50	-
Rapports Spiruline/ANC (%) femmes allaitantes	225- 700	300	8-16	-

Le bêta-carotène ou provitamine A est présent dans des quantités largement suffisantes pour couvrir plus de 3 fois les besoins quotidiens sans être toxique pour l'homme. Ce caroténoïde est convertible par l'homme en vitamine A dont les besoins sont estimés à moins de 1g par jour. Bien que, chez l'humain, la conversion provitamine A - vitamine A soit d'environ 20 % seulement, ce taux est suffisant pour couvrir les besoins quotidiens (Tableaux 16 et 17).

La biodisponibilité des caroténoïdes de la spiruline a été démontrée chez l'homme [42]. De plus, une étude portant sur 5000 enfants indiens d'âge préscolaire a montré la surprenante efficacité d'une dose quotidienne unique d'un gramme de spiruline sur la déficience chronique en vitamine A. Après 5 mois, la proportion d'enfants gravement déficients en vitamine A, c'est-à-dire présentant le symptôme de la "tache de Bitot" sur la conjonctive de l'oeil, est passée de 80% à 10% [43]. Cette étude semble bien démontrer que de très faibles doses de spiruline suffisent déjà à réduire considérablement les risques de cécité et d'atteintes neurologiques consécutives à la déficience en vitamine A chez l'enfant.

La vitamine E est présente en quantité comparable à celle des germes de blé et couvre près de 50 % des besoins de l'enfant pour une dose quotidienne de 10 g de spiruline (Tableau 17).

Il faut tout de même souligner que les carences en vitamines peuvent provenir soit d'un défaut d'apport alimentaire en cette vitamine (cas de régimes végétaliens stricts) soit d'un défaut d'absorption. Dans ce dernier cas, un supplément de vitamines par la spiruline ne pourra être donné par voie orale, seules des injections permettront d'améliorer durablement l'état du patient.

2.5. Minéraux et oligoéléments

2.5.1. Minéraux et oligoéléments indispensables

Les éléments minéraux indispensables sont en général classés en deux catégories :

- d'une part, les éléments minéraux majeurs ou macroéléments comprenant le sodium (Na), le potassium (K), le chlore (Cl), ces trois éléments étant souvent qualifiés d'électrolytes, ainsi que le calcium (Ca), le phosphore (P) et le magnésium (Mg) ;

- d'autre part, les oligoéléments ou éléments traces, comprenant le fer (Fe), le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), l'iode (I), le sélénium (Se), le chrome (Cr), le molybdène (Mo), le fluor (F), le cobalt (Co), le silicium (Si), le vanadium (V), le nickel (Ni), le bore (B), l'arsenic (As). Pour les cinq derniers éléments cités, l'intérêt pratique de leur apport alimentaire reste mineur.

Les minéraux entrent dans la composition intime de tous les tissus du corps. Ils se trouvent en quantités considérables dans certaines structures telles que les os, les dents, les ongles et, pour une moindre part, dans les muscles, le sang, etc. Quant aux oligoéléments, malgré leur faible dosage, ils sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Parmi les minéraux contenus chez la spiruline les plus intéressants à étudier sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

2.5.2. Fonctions des principaux minéraux et signes de carence

a) Fer

L'organisme adulte renferme 4 g de fer. Il joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques. Il intervient dans la constitution de l'hémoglobine (pigment respiratoire des globules rouges qui assure les échanges gazeux avec le milieu extérieur), de la myoglobine (pigment respiratoire du muscle) et d'enzymes jouant un rôle capital dans de nombreuses fonctions métaboliques [40].

Les pertes basales journalières de fer varient, chez l'adulte, de 0,9 à 1 mg. Pour les femmes, de la puberté à la ménopause, la médiane des pertes menstruelles se situe entre 25 et 30 ml par mois, ce qui correspond à des pertes en fer de 12,5 à 15 mg par mois, soit 0,4 à 0,5 mg/j, qui viennent s'ajouter aux pertes basales habituelles.

L'absorption du fer non héminique (non incorporé dans la structure de l'hème) est très variable, souvent très inférieure à 10 % et dépend de la nature du repas. Certains facteurs favorisent ou compromettent la biodisponibilité du fer non héminique. Selon l'action de ces facteurs, l'absorption du fer d'un repas peut varier de 1 à 20%.

Une carence en fer peut entraîner, à un stade avancé, une anémie ferriprive (diagnostiquée par une réduction du taux d'hémoglobine).

■ Fer et spiruline

Présent en quantité élevée d'environ 1g/kg, la spiruline est une source en fer non négligeable couvrant la quasi totalité des besoins (Tableau 18), d'autant plus que le fer contenu est hautement assimilable. La biodisponibilité du fer de la spiruline a été démontré par une étude menée par Johnson sur des rats carencés, les rats ayant consommé de la spiruline avaient absorbé 60 % de fer de plus que le groupe qui recevait une supplémentation en fer [27]. Cette biodisponibilité a aussi été démontrée chez l'homme [44]. Cette dernière étude démontre que le fer de la spiruline est mieux absorbé que celui de la viande, ce qui est exceptionnel pour un fer non-héminique. Selon les mêmes travaux, le taux de formation de ferritine après digestion de spiruline serait plus de six fois plus élevé que dans le cas d'une même quantité de fer apporté par digestion de viande.

La spiruline est donc potentiellement une bonne source alimentaire en fer pour lutter contre les anémies ferriprives. De plus, les aliments présentant cet avantage sont rares, ainsi pour comparaison, les céréales complètes n'en contiennent que 150 à 250 mg/kg [7].

b) Zinc

Le zinc intervient dans l'activité de plus de 200 enzymes, notamment celles qui participent à la protection contre les radicaux libres et celles qui sont impliquées dans la synthèse protéiques (d'où son importance dans les phénomènes de renouvellement des cellules, de cicatrisation et d'immunité).

■ Zinc et spiruline

La spiruline cultivée sans apport intentionnel de zinc au milieu de culture n'en contient généralement que des traces (21-40 µg/g), alors qu'on peut en trouver dans certaines spirulines naturelles près de 400 µg/g [31]. Ces valeurs sont insuffisantes pour que ces spirulines puissent être considérées comme de bonnes source de zinc, car les apports nutritionnels conseillés (ANC) sont de 0,6 à 6 mg/j chez un nourrisson/enfant (ces variations dépendent du type de régime alimentaire associé), de 10 à 13 mg/j pour un adolescent et de 10 à 12 mg/j chez l'adulte (Tableau 18).

c) Calcium

Outre son action sur la minéralisation osseuse, ce cation joue un rôle de second messenger indispensable à tous les échanges cellulaires et dans le couplage électromécanique des membranes cellulaires. La quasi-totalité (99 %) du calcium corporel (1,0 à 1,2 kg) se trouve dans le squelette et la calcémie est maintenue constante aux dépens du calcium échangeable de l'os. Les besoins calciques de l'organisme se réduisent donc aux besoins de l'os.

Chez l'homme adulte, le besoin minimum d'entretien est estimé à 260 mg de Ca par jour, réparti entre les pertes urinaire (130 mg), fécale (110 mg) et sudorale (20 mg). La quantité de calcium retenue dans le squelette est variable et peut atteindre 400 mg par jour au moment du "pic" pubertaire. Il est admis que la minéralisation osseuse maximale génétiquement possible est acquise avant 18 ans, même si une certaine consolidation peut se poursuivre jusqu'à 30 ans. Ce pic de masse osseuse, dont l'acquisition est favorisée par une forte consommation de calcium (en majorité apporté par le lait et les produits laitiers) pendant l'enfance et l'adolescence, détermine le risque ultérieur d'ostéoporose. Le fœtus retient environ 20 g de calcium pendant le dernier

trimestre de la grossesse, soit en moyenne 220 mg par jour. Pour une teneur de 320 mg de Ca par litre de lait et un volume journalier de 800 ml, le besoin moyen de lactation est de 250 mg de Ca par jour (Tableau 18) [40].

Le calcium est donc très important à trois stades de la vie : fœtus, enfant et adolescent.

■ Calcium et spiruline

10g de spiruline couvre 10% des apports nutritionnels conseillés (Tableau 19). Comparable à la teneur du lait (1200 mg/L).

d) Phosphore

Le phosphore est presque exclusivement présent sous forme de phosphates de calcium, de sodium, de potassium dans l'organisme. Il participe à la formation d'hydroxyapatite au niveau des os. Sous la forme d'esters phosphoriques (dont l'ATP), il intervient dans la mise en réserve et le transport de l'énergie. Le phosphore est aussi un élément important de toutes les cellules (nucléotides, acides nucléiques) et membranes biologiques (phospholipides).

Le corps humain adulte contient environ 700g de phosphore dont 85 % environ associés au calcium dans le squelette et les dents [40].

■ Phosphore et spiruline

Les besoins en phosphore selon les individus sont présentés dans le tableau ci-après mais d'une manière générale, les apports nutritionnels conseillés varient entre 350 et 850 mg/j selon l'âge.

La spiruline est riche en phosphore et permet un apport de 9 mg/kg et couvrirait plus de 20 % des besoins du jeune enfant si celui-ci en mangeait seulement 10g par jour (Tableau 19)

e) Magnésium

Le magnésium est le second cation intracellulaire présent à 60 % dans les os et le cofacteur de plus de 300 systèmes enzymatiques. Il est nécessaire à la fois à la formation de substrats (MgATP) et à l'activation d'enzymes. Il joue un rôle dans un grand nombre de fonctions cellulaires, notamment celles impliquant la phosphorylation oxydative, la glycolyse, la transcription de l'ADN et la synthèse protéique.

■ Magnésium et spiruline

En quantité d'environ 25 g dans le corps humain, le besoin moyen en Mg est de $5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ quel que soit le sexe [40] (Tableau 19). La spiruline est donc une bonne source en magnésium car pour un apport de seulement 10 g par jour, elle couvre entre 8 et 34 % des besoins du jeune enfant.

Calcium, phosphore et magnésium sont présents en quantités comparables voire supérieures à celles trouvées dans le lait, la spiruline est de ce fait bénéfique pour lutter contre la décalcification osseuse.

f) Potassium

C'est l'ion intracellulaire le plus important de tout l'organisme et il est responsable, avec le phosphore et les protéines, de la pression osmotique dans la cellule. Par ailleurs, le potentiel de repos d'une cellule est déterminé par la capacité de conduction du potassium [38]. Il constitue un acteur essentiel de la tension artérielle et veineuse, au même titre que le sodium.

■ Potassium et spiruline

Bien que les ANC pour le potassium ne soit pas connu, la spiruline peut aussi être considérée comme une bonne source de supplémentation avec près de 9 g/kg. (Tableau 19).

A noter que la très forte concentration en sodium et potassium pourrait être source d'hypertension par une consommation excessive de spiruline.

Tableau 18 : Apports Nutritionnels Conseillés en minéraux et oligoéléments [40]

	Ca	P	Mg	Fe	Zn	Cu	F	I	Se	Cr
	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(µg)	(µg)	(µg)
Enfant 1-3 ans	500	360	80	7	6	0,8	0,5	80	20	25
Enfant 4-6 ans	700	450	130	7	7	1,0	0,8	90	30	35
Enfant 7-9 ans	900	600	200	8	8	1,2	1,2	120	40	40
Enfant 10-12 ans	1200	830	280	10	12	1,5	1,5	150	45	45
Adolescent (13-18)	1200	830	410	13	13	1,5	2,0	150	50	50
Adolescente (13-18)	1200	830	370	16	10	1,5	2,0	150	50	50
Homme adulte	900	750	420	9	12	2,0	2,5	150	60	65
Femme adulte	900	750	360	16	10	1,5	2,0	150	50	55
Homme > 65 ans	1200	750	420	9	11	1,5	2,5	150	70	70
Femme > 55 ans	1200	800	360	9	11	1,5	2,0	150	60	60
Femme enceinte 7-9m.	1000	800	400	30	14	2,0	2,0	200	60	60
Femme allaitant	1000	850	390	10	19	2,0	2,0	200	60	55
Personne âgée >75	1200	800	400	10	12	1,5	2,0	150	80	?

Tableau 19 : Comparaison des ANC avec les apports de la spiruline [40]

	Ca	P	Mg	Fe	Zn	Cu	F	I	Se	Cr
	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(µg)	(µg)	(µg)
Spiruline (/10g)	43,2	67-90	6,7-27	9-11,7	0,21- 3,7	0,37	-	-	1,98	142
Rapports Spiruline/ANC (%) enfants 1-3 ans	9	19-25	8-34	128- 167	3,5-62	46	0	0	10	570
Rapports Spiruline/ANC (%) femmes allaitantes	4	9-11	2-7	90-117	1-19	18,5	0	0	3	260

Tableau 20 : Synthèse des actions des oligoéléments et leurs signes de carences [41]

OLIGO-ELEMENTS	FONCTIONS FAVORISEES	SIGNES DE CARENCE
Fer (Fe)	<ul style="list-style-type: none"> - Transport et stockage de l'oxygène (par production d'hémoglobine) - Transport d'électrons et réactions enzymatiques - Oxydation ou réduction des substrats 	<ul style="list-style-type: none"> - Anémie hypochrome microcytaire - Troubles cognitifs - Troubles de la croissance staturopondérale - Alopécie - Asthénie, anorexie - Troubles de l'immunité avec sensibilité aux infections - Stomatites
Cobalt (Co)	<ul style="list-style-type: none"> - Constituant de la vitamine B12 	<ul style="list-style-type: none"> - Anémie de Biermer
Zinc (Zn)	<ul style="list-style-type: none"> - Constituant de plus de 50 enzymes - Participe à la synthèse de protéines, à l'immunité cellulaire et humorale, à la transcription génique et à la structure d'hormones 	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles cutanés ou muqueux (eczéma, ulcération, atrophie des muqueuses) - Troubles de la croissance - Troubles neurologiques (confusion, dépression) - Hypogonadisme - Troubles des phanères (alopécie) - Syndrome dysimmunitaire (augmentation des infections)
Iode (I)	<ul style="list-style-type: none"> - Constituant des hormones synthétisées et sécrétées par les glandes thyroïdiennes 	<ul style="list-style-type: none"> - Augmentation de la synthèse d'hormones thyroïdienne (goitre, autoanticorps, carence surajoutée en sélénium) - Troubles cognitifs, diminution intellectuelle
Fluor (F)	<ul style="list-style-type: none"> - Contribue à la formation des os et de l'émail dentaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Caries dentaires - Ostéoporose
Cuivre (Cu)	<ul style="list-style-type: none"> - Participe à de nombreuses réactions enzymatiques : antioxydant (Cu-Zn superoxyde dismutase), transfert d'électrons (cytochrome oxydase), synthèse de collagène, élastine, myéline, catécholamines et neuropeptides - Participe à l'immunité cellulaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Anémie - Neutropénie - Troubles du métabolisme osseux, ostéoporose, fracture des os longs - Hypopigmentation cutanée - Hypotonie - Troubles de la croissance - Augmentation de la sensibilité aux infections - Troubles du métabolisme des lipoprotéines.
Chrome (Cr)	<ul style="list-style-type: none"> - Participe à l'action de l'insuline et au métabolisme des lipoprotéines 	<ul style="list-style-type: none"> - Intolérance au glucose - Diabète - Perte pondérale - Retard de croissance - Neuropathie périphérique - Ataxie - Hypercholestérolémie
Manganèse (Mn)	<ul style="list-style-type: none"> - Antioxydant via la Mn superoxyde dismutase - Activateur enzymatique (hydrolase, carboxylase, kinase, transférase) 	<ul style="list-style-type: none"> - Diabète insulino-résistant - Hypercholestérolémie - Perte de poids - Retard de croissance - Troubles osseux et cartilagineux
Sélénium (Se)	<ul style="list-style-type: none"> - Rôle dans le métabolisme des radicaux libres - Participe au métabolisme thyroïdien 	<ul style="list-style-type: none"> - Maladie de Keshan (cardiomyopathie, nécrose du cartilage et troubles de la croissance osseuse épiphysaire) - Participation dans les hypothyroïdies, les myopathies, les troubles de la reproduction et certains cancers
Molybdène (Mo)	<ul style="list-style-type: none"> - Participe à l'activité de la xanthine oxydase (métabolisme de l'ADN et de l'acide urique) et de la sulfate oxydase (métabolisme soufré) 	<ul style="list-style-type: none"> - Intolérance aux acides aminés soufrés - Tachycardie - Perte de la vision nocturne - Troubles de la conscience - Lithiase rénale (xanthine)

2.6. Métaux

Actuellement une douzaine de métaux sont reconnus comme essentiels pour l'organisme humain (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Co, Mo, V). A forte dose certains de ces éléments essentiels sont toxiques (Cr, Ni, Co, Mn, V). Seuls quelques métaux sont considérés comme purement toxiques (Hg, Bi, Be, Ga, Tl, Ra, U...).

Chez l'homme, certains métaux présentent une toxicité à long terme importante (Hg, Pb, Cd, Mn, Ni, Cr, Be). En expérimentation animale plusieurs métaux sont reconnus cancérigènes (Be, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sb) et pour certains d'entre eux leur activité cancérigène chez l'homme est démontrée (Nickel et ses sels, Chrome hexavalent).

L'activité immunotoxique surtout immunodépressive de nombreux composés métalliques a été mise en évidence : Be, Cd, Cr, Co, Hg, Pb, Pt ...

Beaucoup de métaux (Cd, Cr, Hg, Ni, Sn, Tl...) sont des polluants importants de l'environnement par suite de leur pouvoir d'accumulation dans les organismes vivants.

La spiruline, comme toute bactérie élevée en milieu contaminé en métaux lourds, a montré une forte capacité à fixer certains polycations, parmi lesquels le cadmium, le plomb, le chrome et le cuivre. D'un point de vue toxicologique, cette propriété pourrait s'avérer dangereuse si l'alcalinité élevée des milieux de culture de la spiruline ne limitait fortement la solubilité de la plupart des cations métalliques.

A noter que des fortes teneurs en métaux lourds n'ont été observées que pour les spirulines récoltées en milieu naturel, milieu pouvant être contaminé et où un contrôle de la teneur en contaminant est difficile. A l'inverse, les spirulines élevées en milieu artificiel présentent des valeurs en métaux lourds très faibles. La toxicité des spirulines d'élevage semble de ce fait inexistante.

IV. *Spiruline* et malnutrition

1. *État actuel de la malnutrition dans le monde*

La malnutrition constitue un problème de santé publique à travers le monde et particulièrement dans les pays en voie de développement. Contrairement à une idée très répandue, la malnutrition ne dépend pas simplement du fait qu'un enfant peut ou non satisfaire son appétit. Un enfant qui mange suffisamment pour calmer sa faim immédiate peut néanmoins être malnutri si ses besoins nutritionnels n'ont pas été compensés.

D'après le rapport « Progrès pour les enfants : un bilan de la nutrition » publié par l'UNICEF en 2006 [45], dans les pays en développement, plus d'un quart des enfants de moins de cinq ans présente une insuffisance pondérale, soit 146 millions d'enfants. En 2006, près de 9,7 millions d'enfants sont morts avant l'âge de 5 ans et la dénutrition* a contribué à plus de la moitié de ces décès (Figure 8). Chaque année, 3 à 5 millions de décès d'enfants de moins de 5 ans meurent dès suite de malnutrition. Comme l'explique Félicité Tchibindat, conseillère nutrition au bureau Unicef d'Afrique de l'ouest et du centre, « Les enfants affaiblis par la faim ont beaucoup plus de mal que les autres à résister au paludisme, à la pneumonie, à la diarrhée, à la rougeole, et décèdent beaucoup plus facilement. » [46].

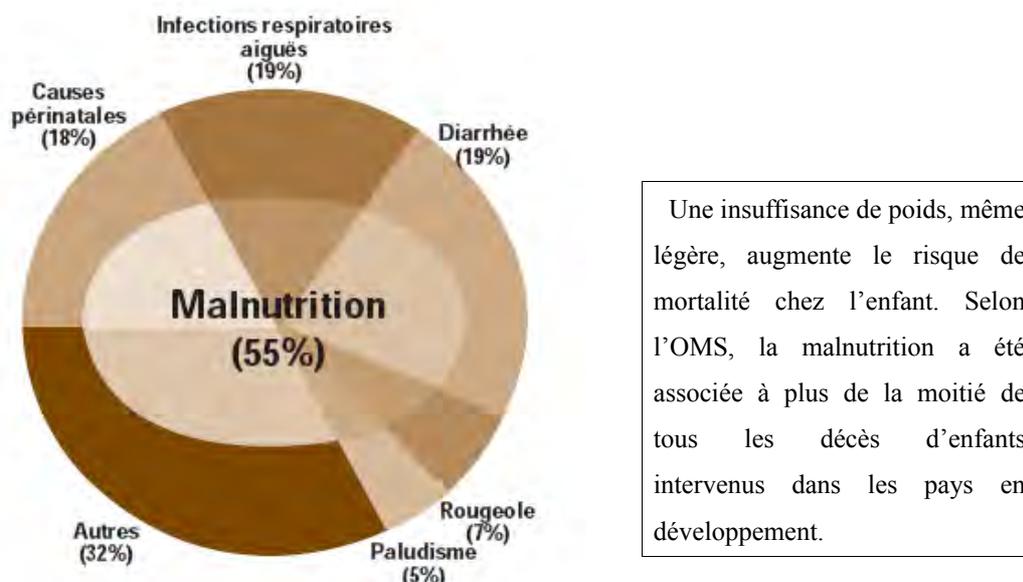


Figure 8 : Malnutrition et mortalité des enfants [47]

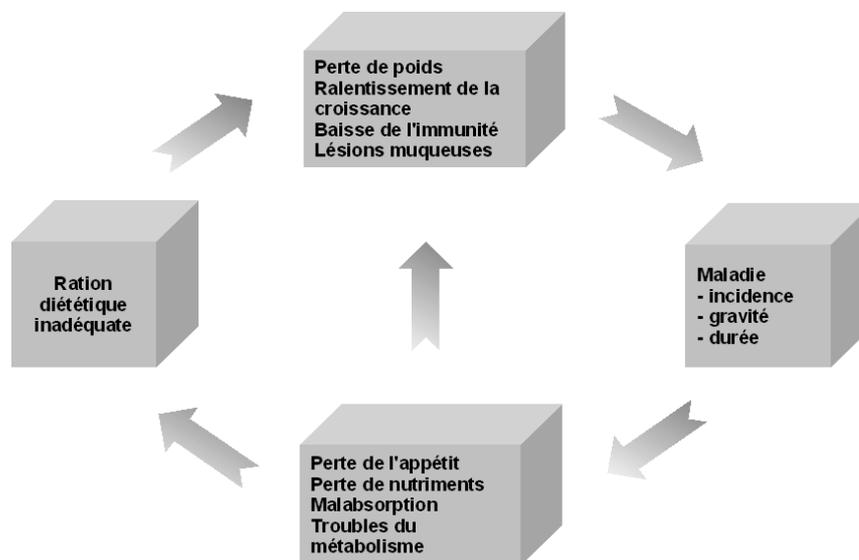
En dépit des progrès accomplis dans certains pays, les moyennes relevées dans les pays en développement pour les enfants présentant une insuffisance pondérale n'ont baissé que de 5% au cours des 15 dernières années.

A l'heure actuelle, 27% des enfants vivant dans les pays en développement présentent une insuffisance pondérale, représentant un total de 146 millions d'enfants. Près des trois quarts de ceux-ci vivent dans seulement dix pays et un peu plus de la moitié d'entre eux vivent dans trois pays : le Bangladesh, l'Inde et le Pakistan. Mais ces chiffres ne révèlent qu'une partie de la problématique, affirme l'UNICEF.

*La malnutrition est un terme général que l'on substitue souvent à celui de dénutrition, mais du point de vue technique il désigne également la surnutrition.

2. Qu'est-ce que la malnutrition

La malnutrition est en général le fruit de l'association d'un apport alimentaire inadéquat et d'une infection (Figure 9). Chez les jeunes, la malnutrition est synonyme de troubles de la croissance, les enfants mal nourris étant plus petits et plus légers que ne le voudrait leur âge.



Malnutrition et infection constituent un cycle dont relève une grande partie de la morbidité et de la mortalité élevées enregistrées dans les pays en développement. Chez les enfants dont l'alimentation est quantitativement ou qualitativement insuffisante, les défenses immunitaires faiblissent, et l'incidence, la gravité et la durée des affections augmentent. Comme la maladie accélère la perte de nutriments et diminue l'appétit, l'enfant malade ne mange le plus souvent pas comme il le devrait et le cycle recommence.

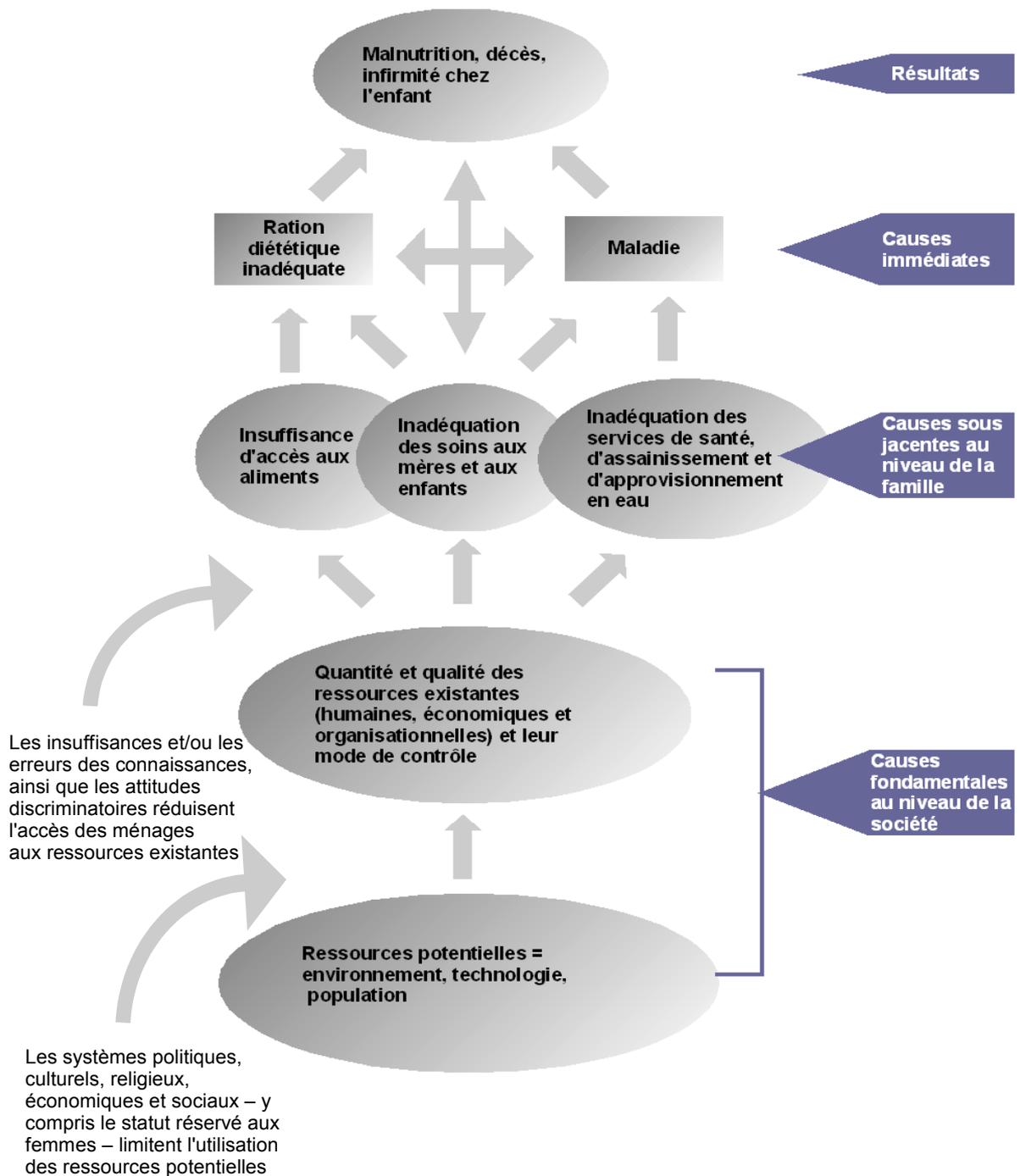
Figure 9 : Ration diététique inadéquate et cycle de la maladie [47]

Cependant, la malnutrition ne présente pas un type unique. Chaque type est le résultat d'une interaction complexe de facteurs associant des éléments aussi divers que l'accès du ménage aux denrées alimentaires, les soins maternels et infantiles, l'eau potable et l'assainissement, et l'accès aux services de santé de base (Figure 10). Et chacun exerce ses propres ravages sur le corps humain.

La malnutrition peut donc revêtir une variété de formes qui apparaissent souvent simultanément, en symbiose. Ainsi, si nombre de gens parlent encore de « malnutrition protéino-énergétique » pour désigner le défaut de croissance, il est admis aujourd'hui que celui-ci n'est pas seulement dû au manque de protéines et d'aliments énergétiques, mais également à un apport

insuffisant de micronutriments tels que les minéraux d'importance vitale (fer, zinc et iode notamment), les vitamines (A par exemple), et souvent aussi des acides gras essentiels. Les quantités nécessaires pour toutes les cellules de l'organisme sont très faibles, de l'ordre de quelques millièmes de gramme par jour ou même moins mais ces micronutriments sont indispensables pour orchestrer une gamme de fonctions physiologiques (production d'enzymes, hormones etc...) essentielles au développement physique et mental de l'enfant [47].

Tous les minéraux dont le corps a besoin doivent être apportés soit par les aliments que nous consommons, soit par supplémentation. Les algues spirulines quelque soit l'état dans lequel elles sont consommées (fraîches, séchées, sous forme de compléments alimentaires) peuvent répondre en grande partie aux besoins dont l'homme dénutri à besoin.



Le cadre conceptuel des causes de malnutrition a été élaboré en 1990 en tant qu'élément de la stratégie UNICEF pour la nutrition. Il montre que les causes de la malnutrition sont multisectorielles (alimentation, santé, pratiques de soins). Ces causes sont classées en causes immédiates (niveau de l'individu), sous-sous-sous-jacentes (niveau du foyer ou de la famille) et fondamentales (niveau de la société), l'influence des facteurs à un niveau se faisant sentir aux autres niveaux aussi. Ce cadre est utilisé pour la planification et l'évaluation des programmes, ainsi que pour guider l'analyse et l'appréciation des problèmes, et la formulation d'actions débouchant sur une meilleure nutrition.

Figure 10 : Causes de la malnutrition chez les enfants [47]

3. La spiruline : une solution envisageable ?

La composition de la spiruline étudiée plus haut, montre clairement qu'elle est un aliment protéinique riche apportant une grande quantité de vitamines, minéraux et acides gras insaturés tout ceci pour une faible valeur calorique. Traditionnellement elle a été consommée en association avec des céréales ce qui en faisait un aliment approprié pour traiter la malnutrition protéique et énergétique.

Se servant de cet exemple, une des solutions pour lutter contre la malnutrition peut résider dans une simple capsule contenant un ou plusieurs grammes de spiruline administrée en complément à l'alimentation de l'enfant. Pour exemple, un programme de supplémentation à l'aide de capsules de vitamines A existe déjà. Ne coûtant que quelques centimes et administrée pendant une campagne de vaccination, ce programme sauve à l'heure actuelle 350000 vies par an en aidant à renforcer le système immunitaire. D'autres exemples d'enrichissement d'aliments de base avec des nutriments clés comme le fer et l'iode ont fait leurs preuves pour protéger des millions d'enfants contre les carences et les retards du développement. Il peut en être de même avec la spiruline d'autant plus que son acceptation par les humains peut être augmentée en l'utilisant mélangée avec de la nourriture sachant qu'ajoutée à une dose de 1g par portion, elle n'altère pas le goût [6].

L'avantage pour la spiruline est que si elle ne peut être consommée immédiatement sur le site de production, elle peut être séchée jusqu'à une humidité résiduelle de 7% ou moins. Une fois séchée et à l'abri de l'oxydation et de la lumière, elle peut être conservée pour de longues périodes, rendant possible son stockage et sa distribution.

Malgré ses nombreux avantages, avant d'utiliser *Spirulina platensis* comme un moyen de lutte contre la malnutrition, des essais cliniques sérieux devront en démontrer son efficacité.

4. Réhabilitation nutritionnelle par la spiruline

Beaucoup d'expériences avec la spiruline, notamment sur la dénutrition, n'ont pas donné lieu à des publications dans des revues spécialisées. Ceci en raison des difficultés pour les ONG de publier de telles revues et par manque de moyens humains et financiers pour respecter les protocoles expérimentaux adaptés afin d'éviter par la suite un scepticisme de la part de la communauté scientifique et en particulier des nutritionnistes. Il faut aussi reconnaître que la plupart des essais nutritionnels sur la spiruline, même publiés dans des revues scientifiques à comité de lecture, restent critiquables sous certains aspects. Pourtant depuis quelques années, certaines publications sérieuses ont permis de démontrer l'efficacité nutritionnelle de celle-ci.

4.1. Exemples concrets d'essais de réhabilitation nutritionnelle

Aujourd'hui, dans beaucoup de pays d'Afrique la malnutrition protéino-énergétique est devenue un véritable problème de santé publique constituant plus de 30 % des hospitalisations avec une mortalité intrahospitalière de 10 à 20 %. Dans un but d'amélioration de la prise en charge, la richesse protéique et vitaminique de la spiruline a donné lieu à un essai de réhabilitation nutritionnelle dans un CHU à Dakar [27].

Cette étude a été réalisée sur 59 enfants d'âge moyen d'environ 19 mois, atteints de formes graves de malnutrition protéino-énergétique que sont le marasme et le kwashiorkor. Chacun a reçu une dose journalière de 10 grammes de spiruline en poudre répartie en deux prises journalières mélangée à la bouillie de céréales pendant 30 jours en milieu hospitalier puis 30 jours à domicile.

Les résultats de cet essai ont montré un gain moyen en poids de 7,64 grammes/kg/jour avec une reconstitution partielle de la masse musculaire des enfants. Le bon état du bilan protéidique est confirmé par la nette évolution des marqueurs tel que la préalbumine et l'apolipoprotéine A1 (Tableau 22). Ainsi, la préalbumine a augmenté de 175,5 % pour finir à 19 mg/dl à J30 (valeur normale de la préalbumine = 16 mg/dl). Concernant l'apolipoprotéine A1, bon marqueur de l'état nutritionnel, elle a connu une progression significative en passant de 0,85 g/l à l'entrée à 1,17 g/dl à la sortie (normale = 1g/l).

Le taux d'hémoglobine (Tableau 21) chez ces enfants anémiés a aussi augmenté de façon significative passant de 7,20 g/dl au 1er jour à 8,10 g/dl au 60ème jour, confirmant la richesse en fer biodisponible de la spiruline.

Enfin, un élément non négligeable est que malgré son goût de poisson fumé, la spiruline a montré une bonne acceptabilité et une bonne tolérance digestive chez les enfants [27].

Tableau 21 : Évolution du taux d'hémoglobine [27]

Résultats	Hémoglobines (g/dl)				
	1er jour	8ème jour	15ème jour	30ème jour	60ème jour
Décédés	8,30 ± 1,41	7,90 ± 1,52	8,06 ± 1,51	-	-
Sortie contre avis	7,40 ± 21,85	5,96 ± 2,68	8,40 ± 0,00	-	-
Réhabilités	7,20 ± 1,01	6,65 ± 1,03	6,76 ± 1,90	7,42 ± 1,32	8,10 ± 1,30

Les résultats sont exprimés en moyenne ± Déviation Standard

Tableau 22 : Évolution plasmatique de la préalbumine [27]

Type de malnutrition	Préalbumine (g/dl)				
	1er jour	8ème jour	15ème jour	30ème jour	60ème jour
Décédés	10 ± 0,9	12 ± 0,8	19 ± 1,2	-	-
Sortie contre avis	8 ± 1,6	11 ± 0,8	9 ± 0,00	-	-
Réhabilités	_ ± 0,3	15 ± 1,1	20 ± 1,5	19 ± 0,8	18 ± 0,46

Les résultats sont exprimés en moyenne ± Déviation Standard

Cette expérience a permis de démontrer que ce produit était bien toléré, assurant une prise pondérale satisfaisante et une normalisation des marqueurs biologiques, confirmant ainsi les avantages de cette cyanobactérie pour lutter contre la malnutrition.

Le seul point négatif de cette étude est son faible nombre d'individus tests, statistiquement non représentatif, pouvant mettre en doute le bien fondé de ces résultats. Mais d'autres études du même type plus récentes impliquant des échantillons plus importants permettent d'appuyer la conclusion ci-dessus.

Une étude menée en 2006, dans un hôpital au Burkina Faso a été réalisée sur un groupe de 550 individus. Les participants, des enfants âgés de moins de 5 ans en état de dénutrition avancé, étaient pour 455 d'entre eux atteints de marasme sévère, 57 de marasme de sévérité moyenne et 38 de kwashiorkor marasmique [48].

Pendant cette étude, qui a duré 8 semaines, ces enfants ont été divisés en 4 groupes, chacun recevant une alimentation différente : 170 reçurent du Misola. (Le Misola est une sorte de bouillon composé d'un mélange de 60% de millet, 20% de soja, 10% d'arachide, 9% de sucre et 1% de sel), 170 reçurent de la spiruline ajoutée au repas traditionnel, 170 reçurent de la spiruline et du Misola. Le groupe témoin était composé de 40 enfants qui ne reçurent que la nourriture traditionnelle.

L'équivalence énergétique de ces différents repas était respectée, chaque repas apportait en moyenne 722 à 767 kcal/j. La dose de spiruline apportée au cours de la journée était de 10 g répartie en plusieurs repas.

Le suivi des paramètres anthropométriques, équivalent pour tous les groupes au début de l'étude (Tableau 23) permet d'apprécier l'évolution nutritionnelle et biologique de ces enfants. Ceux-ci ont été exprimés en Z-score (voir rappel ci-dessous).

Rappel:

Le calcul du Z-score permet d'exprimer un résultat en nombre de déviations standards par rapport à la moyenne d'une population de référence :

$$\text{Z-score} = \frac{\text{Valeur mesurée} - \text{Valeur moyenne}}{\text{Écart type de la moyenne}}$$

Tableau 23 : Paramètres anthropométriques des enfants au début de l'étude [48]

	A 170 enfants avec 200g/j de Misola.	B 170 enfants avec 10g/j de spiruline plus 200g/jours de repas traditionnel.	C 170 enfants avec 10g/j de spiruline plus 200g/jours de Misola.	D 40 enfants avec 200g/j de repas traditionnel.	Variance
Age (mois)	15,39 ± 8,3	14,96 ± 5,9	13,86 ± 8,5	15,19 ± 4,35	P = NS
Taille (cm)	67,00 ± 8,3	69,84 ± 5,8	69,06 ± 8,5	68,24 ± 4,5	P < 0,01
Périmètre brachial	11,17 ± 1,2	10,40 ± 1,0	11,20 ± 1,2	10,37 ± 1,0	P < 0,001
Poids (kg)	6,12 ± 1,4	5,98 ± 1,1	5,99 ± 1,5	6,10 ± 1,2	P = NS
HAZ	-3,93 ± 5,3	-2,64 ± 2,1	-3,35 ± 5,3	-3,23 ± 1,5	P = 0,057
WHZ	-1,73 ± 2,5	-2,88 ± 0,9	-3,05 ± 0,75	-2,32 ± 1,02	P < 0,001
WAZ	-4,01 ± 10	-3,88 ± 1,0	-4,38 ± 0,9	-3,99 ± 0,9	P < 0,001
Apports énergétiques (kcal/j)	731 ± 7	748 ± 6	767 ± 5	722 ± 8	P < 0,001
Protéines (g/j)	27,1 ± 1,7	27,8 ± 1,6	33,3 ± 1,2	22,1 ± 1,3	P < 0,001

HAZ = Taille sur âge z-score ; WHZ = Poids sur taille z-score ; WAZ = Poids sur âge z-score ; B.P = Brachial Perimeter. NS = not significant. Paramètres calculés selon les références NCHS (National Centre for Health Statistics)

Les changements nutritionnels entre le début et la fin de l'étude se sont améliorés chez tous les enfants mais plus significativement dans le groupe qui a reçu le mélange Misola plus Spiruline. L'amélioration correspond en une prise de poids d'environ 20 g/j dans le groupe Misola, 25 g/j dans le groupe Spiruline plus nourriture traditionnelle, 34 g/j dans le groupe Misola plus Spiruline et 15 g/j dans le groupe témoin.

A la fin des 8 semaines, le statut nutritionnel s'est normalisé pour la plupart des enfants, ainsi le paramètre poids sur taille WHZ a baissé de -2,93 à -0,93 (moyenne = 0). L'amélioration du paramètre poids sur âge WAZ confirme que la malnutrition initiale a été mieux corrigée par l'association alimentaire Misola plus Spiruline. Le gain obtenu par ce régime alimentaire a été de 61 % pour l'indice WHZ et de 38 % pour l'indice WAZ, nettement supérieur aux autres régimes alimentaires (Tableau 24).

Tableau 24 : Statut nutritionnel de départ (1) et de fin d'étude (2) [48]

	A 170 enfants avec 200g/j de Misola.	B 170 enfants avec 10g/j de spiruline plus 200g/jours de repas traditionnel	C 170 enfants avec 10g/j de spiruline plus 200g/jours de Misola	D 40 enfants avec 200g/j de repas traditionnel
WHZ1 1→2	-1,73 ± 2,51 P=0,035*	-2,88 ± 0,95 P < 0,001	-3,05 ± 0,75 P < 0,001 *	-2,42 ± 1,02 P = 0,065*
WHZ2	-1,14 ± 2,64	- 1,80 ± 1,53	- 1,18 ± 1,63	-2,00 ± 0,99
(WHZ2 – WHZ1) / WHZ1	34,14%	37,50%	61%	17,35%
WAZ1 1→2	-4,01 ± 0,98 P < 0,001 **	-3,88 ± 0,90 P < 0,001**	- 4,38 ± 0,91 P < 0,001 **	- 3,99 ± 0,9 P = 0,013**
WAZ2	-2,95 ± 1,12	-3,10 ± 1,14	-2,71 ± 1,17	-3,45 ± 1,0
(WAZ2 – WAZ1) / WAZ1	26%	20%	38%	14%

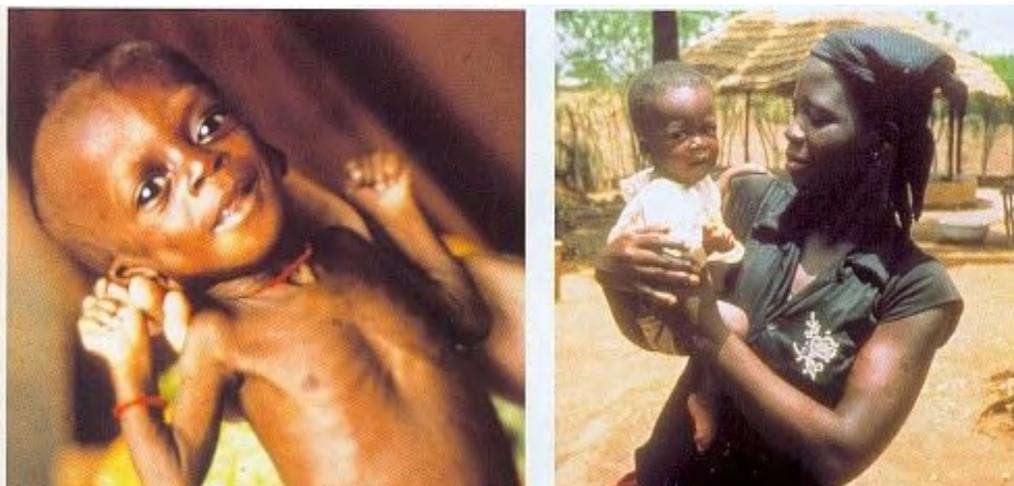
WHZ1 = poids sur taille z-score au début de l'étude ; WHZ2 = poids sur taille z-score a la fin de l'étude; WAZ1 = poids sur age z-score au début de l'étude ; WAZ2 = Poids sur age z-score à la fin de l'étude ; T test étudiant * WHZ1→ WHZ2 ; **WAZ1 → WAZ2.

Les résultats de cette étude démontrent clairement que la spiruline ajoutée en complément des repas traditionnels ou du Misola est bénéfique pour ces enfants dénutris, avec un avantage pour la supplémentation Misola-Spiruline.

On a démontré encore, dans environ une trentaine de centres nutritionnels, hôpitaux et dispensaires, qu'une dose de 10 grammes de matière sèche de spiruline par jour, sur une période de une à trois semaines, permettait aux victimes atteintes de la maladie de kwashiorkor, de carences de malnutrition protéinique de retrouver un état de santé normal. Ce délai de récupération est de 2 à 3 fois plus rapide qu'avec un traitement conventionnel [49].

A cette même dose, la spiruline peut aussi être bénéfique pour corriger l'anémie et diminuer les pertes de poids chez des enfants malnutris atteints de la maladie du SIDA [50].

Ces différentes études permettent de mettre en exergue que, combinée avec une source d'aliments riches en calories, la spiruline est probablement un des meilleurs compléments alimentaires pour la récupération des enfants sévèrement malnutris (Figure 11).



Enfant marasmique à Farendé, Togo

Le même enfant togolais 3 mois après, ayant reçu 10 grammes par jour de spiruline dans une bouillie

Figure 11 : Photo d'un enfant dénutri ayant été traité avec 10g/j de spiruline pendant 3 mois [49]

4.2. Limites des essais

Les essais qui viennent d'être détaillés sont le reflet du grand potentiel nutritionnel de l'algue bleue. Grâce à sa composition riche, variée et équilibrée en nutriments et à son efficacité démontrée, la spiruline est un réel atout pour lutter contre la malnutrition des pays en voie de développement.

Il faut tout de même souligner que beaucoup d'essais de réhabilitation nutritionnelle avec la spiruline sont lancés dans de nombreux pays en voie de développement. Cependant, la majorité de ces pays où sévit la malnutrition sont souvent des régions politiquement instables où il est difficile d'arriver aux termes d'une étude. A ceci s'ajoute d'une part, le respect des normes éthiques qui limite fortement le type d'étude réalisable et d'autre part, un suivi des patients qui est souvent aléatoire avec généralement un grand nombre de « perdus de vue ».

De tels essais sont tout de même nécessaires pour que la communauté scientifique puisse convaincre les pouvoirs publics internationaux d'investir dans des projets de développement de la spiruline de grande ampleur.

4.3. Dénutrition : un problème complexe

L'UNICEF, dans son rapport « Progrès pour les enfants : un bilan de la nutrition », insiste particulièrement sur les deux premières années de la vie, moment critique pour préserver tout le potentiel de l'enfant. Le corps et le cerveau du jeune enfant risquent de ne jamais éliminer les séquelles d'une mauvaise nutrition à ce stade de son développement. La priorité, c'est de veiller à ce que la grossesse se déroule dans de bonnes conditions sur le plan de la santé et de la nutrition.

Cependant, comme la dénutrition plonge ses racines dans la pauvreté, le manque d'instruction et les inégalités sociales, acheminer des cargaisons de vivres pour la combattre ne serait pas suffisant. Des pratiques alimentaires malsaines et des crises récurrentes de maladies comme la diarrhée et le paludisme sont des facteurs importants dans les carences en nutriments chez l'enfant. En Afrique subsaharienne, le VIH/SIDA prive des millions d'enfants du soutien dont ils ont besoin pour être soignés et nourris correctement. Afin de fournir aux enfants les soins, les traitements et le soutien dont ils ont besoin quand ils sont affectés par cette épidémie, l'UNICEF a lancé une campagne mondiale « Unissons-nous pour les enfants contre le SIDA » [47].

Selon Mme Veneman, directrice générale de l'UNICEF, « Le premier Objectif du Millénaire pour le développement vise à éradiquer l'extrême pauvreté d'ici à 2015 » c'est à dire donner la santé et une bonne nutrition à des millions d'enfants au cours des années à venir. La lutte contre la dénutrition est donc le premier pas à atteindre (Figure 12).

OMD1: éradiquer l'extrême pauvreté et de la faim
 OMD2: assurer l'éducation primaire pour tous
 OMD3: promouvoir l'égalité des sexes et l'autonomisation des femmes
 OMD4: réduire la mortalité des enfants
 OMD5: améliorer la santé maternelle
 OMD6: combattre le VIH/sida, le paludisme et d'autres maladies
 OMD7: assurer un environnement durable
 OMD8: mettre en place un partenariat mondial pour le développement

Figure 12 : Les 8 Objectifs du Millénaire pour le Développement [51]

Tous ces éléments exposés montrent que la malnutrition est un problème complexe et un chantier énorme à résoudre. La spiruline n'est sans doute pas le remède miracle pour éradiquer, à elle seule, ce fléau qu'est la malnutrition mais elle est une arme supplémentaire efficace dont il serait dommage de se priver. Néanmoins, il reste à savoir comment les pays industrialisés vont percevoir cette nouvelle ressource alimentaire naturelle prometteuse.

5. Acceptabilité de la spiruline en France et dans le monde

5.1. Statut de la spiruline

Déjà lors de la Conférence des Nations Unies sur l'alimentation (WFC) en 1974, les micro-organismes algales de genre spiruline ont été déclarés comme « le meilleur aliment pour le lendemain ». C'est dans ce sens que la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a écrit dans le Talk Paper n°41 du 23 juin 1981 : « la spiruline est une source de protéines et contient différents vitamines et sels minéraux. Elle peut être légalement commercialisée comme nourriture ou complément nutritif aussi longtemps qu'elle est étiquetée correctement et qu'elle ne contient pas de substances contaminées ou altérées ».

En 2003, cette même FDA accorda un avis favorable pour l'utilisation de biomasse séchée d'*Arthrospira platensis* (*Spirulina*). Ainsi aux vues des informations transmises par les deux principaux producteurs américains, Earthrise Nutritionals (Petaluma, Californie) et Cyanotech Corporation (Kailua Kona, Hawaï), elle a reconnu officiellement la spiruline comme GRAS (Generally Recognized as Safe). Ainsi chaque demandeur a pu utiliser la spiruline comme ingrédient dans des produits alimentaires comme des barres alimentaires, des mélanges de boissons alimentaires en poudre, le pop-corn et comme un condiment dans des salades et des pâtes, dans des limites de 3 à 5 grammes par repas [52].

En France, c'est en 1984, soit 10 ans après les États-Unis, que le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique donna un avis favorable pour la consommation humaine de toutes les algues spirulines.

Concernant l'aspect nutritionnel, des rapports de l'UNIDO (Organisation des Nations Unies pour le Développement Industrielle) et de l'OMS ont relaté la grande utilité des microalgues alimentaires [53].

L'avantage, concernant la spiruline, est qu'en trente années de recherches, jamais une seule publication scientifique n'a fait état d'un risque quelconque de toxicité ou d'effet secondaire, même à forte dose. Ceci a été confirmé d'une part, par une étude réalisée dans les années 1970 à l'hôpital Bichat à Paris sur des enfants et adultes dénutris n'ayant mis en évidence aucune augmentation de l'urémie (hyperurémie pouvant être due à un excès d'apport protéique), pas plus qu'une augmentation du taux d'acide urique (hyperuricémie pouvant être provoquée par un excès d'apport en acides nucléiques), pourtant les quantités de spiruline ingérée approchaient les 100 g par jour et d'autre part, par le fait que cet organisme ne possède pas les gènes assurant la synthèse des toxines de cyanobactéries [6].

Grâce à ces éléments, un organisme intergouvernementale a obtenu une accréditation, en mars 2003, pour devenir observateur, auprès du Conseil économique et social des Nations Unies, pour l'utilisation de la microalgue spiruline contre la malnutrition [53].

L'Institution Intergouvernementale pour l'Utilisation de la Micro-Algue Spiruline contre la malnutrition (ISP) est un Programme Subsidiaire du CISRI (Institut pour la Coopération Intergouvernementale dans la Recherche Scientifique), avec la mission de favoriser l'étude et la production de la micro-algue spiruline en faveur des victimes de la malnutrition aiguë (enfants, adultes, femmes enceintes, etc.) soit à cause d'urgences alimentaires, soit à cause de malnutrition endémique.

Dans d'autres pays comme la Chine et l'Inde, des gouvernements pour la diffusion de la pertinence des microalgues alimentaires, ont aussi menées des actions en faveur du développement de ces algues. Aujourd'hui, la Spiruline fait déjà partie de la pharmacopée de plusieurs pays dont la British Pharmacopoeia [6].

Cependant, concernant les compléments alimentaires, la loi interdit aux producteurs de revendiquer une quelconque activité thérapeutique. Les industriels ont alors le choix, soit de commercialiser un complément alimentaire, soit de s'engager dans un parcours long et coûteux pouvant les amener à l'obtention d'une AMM (autorisation de mise sur le marché).

5.2. Acceptabilité alimentaire

L'acceptabilité alimentaire de la spiruline a longtemps constitué un contre-argument systématique et à priori à son introduction dans les programmes nutritionnels. L'intensité de sa couleur verte et son extrême pouvoir colorant sur d'autres aliments l'empêche d'être « dissimulée » dans une préparation culinaire. D'autre part, si la spiruline fraîche ne présente pratiquement aucun arôme et aucun goût, il n'en va pas de même de la spiruline séchée (surtout si elle est réduite en poudre) : son odeur spécifique rappelle l'algue et le champignon et n'est pas du goût de tous, en tout cas dans le contexte culturel européen. Heureusement, les nombreuses expériences nutritionnelles ont permis de démontrer que l'acceptabilité alimentaire est excellente lorsque l'on s'adresse aux enfants en bas âges pour des doses de quelques grammes par jour [27] [54] [6] ou lorsque des formulations basées sur des aliments traditionnels sont mises à contribution [55]. Il se trouve que certaines des régions les plus touchées par la malnutrition sont aussi celles où l'introduction de spiruline peut être le plus facilement réalisée du fait de la nature des plats traditionnels (en Afrique : sauces accompagnant les bouillies de céréales, par exemple; en Inde, biscuits et friandises traditionnels).

La spiruline peut donc en premier lieu continuer à être distribuée sous forme de complément alimentaire, en qualité de revitalisant général, d'aide à la croissance et à l'équilibre nutritionnel, et nous verrons aussi qu'elle peut servir d'arme dans la lutte contre le vieillissement cellulaire et l'action des radicaux libres ainsi que dans une multitude d'autres actions [3].

6. Conclusion intermédiaire

La spiruline a fait l'objet depuis des siècles d'une récolte et d'une consommation traditionnelles chez les peuples autochtones du Tchad (Kanembous) et du Mexique (Azèques). La spiruline n'a cependant suscité l'intérêt des scientifiques occidentaux que tardivement, dans les années soixante-dix. D'abord étudiée et reconnue comme aliment intéressant pour sa richesse en protéines, puis pour sa forte composition en vitamines du groupe B et en oligoéléments, la spiruline s'est imposée comme la source la plus importante connue en :

- protéines
- bêta-carotène (plus que la carotte)
- fer végétal biodisponible (en fait, la seule source végétale connue)
- vitamine B12 (également la seule source végétale connue)
- acide gamma-linolénique ou AGL

Son action contre la malnutrition devrait être une raison suffisante pour la cultiver. Seulement ses propriétés nutritionnelles ne suscitent pas un intérêt général de la part de la communauté internationale. Seuls les pays en voie de développement et principalement les collectivités locales soutenues par des ONG mettent en place des programmes de développement de cette cyanobactérie pour lutter contre la malnutrition qui régit dans ces pays.

Les pays riches, eux, n'ont qu'un faible intérêt à développer la culture de spiruline pour son pouvoir nutritionnel car l'abondance de nourriture fait qu'il n'y a pas de problème de dénutrition. De plus cette algue naturelle ne peut pas être brevetable telle quelle, il n'y a donc aucun avantage économique à en tirer et donc peu de moyen d'intéresser les grands groupes pharmaceutiques.

Ceci était vrai jusqu'en 1995/1996, années où les scientifiques ont découvert au sein de la membrane cellulaire et des unités respiratoires de la spiruline des molécules complexes, polysaccharides et polypeptides (calcium-spirulan et phycocyanine), laissant suggérer des propriétés thérapeutiques multiples et variées tel que des effets antioxydants, hépatoprotecteurs, immuno-stimulants ou encore anti-inflammatoires... Propriétés qui seront longuement étudiées ci-après. *Spirulina platensis* est peut-être le cadeau le plus somptueux que le monde végétal ait fait à l'Homme.

V. Activités thérapeutiques de la spiruline et de ses constituants

Parfois étudiée en tant que telle, les recherches sur les activités thérapeutiques de la spiruline n'ont vraiment débutées qu'au début des années 90, lorsque ont été isolées des molécules complexes dotées de propriétés thérapeutiques diverses. Ces molécules, qui présentent le plus d'intérêt, sont la phycocyanine, un pigment protéique et le calcium-spirulan, un polysaccharide sulfaté.

Après avoir étudié leur moyen d'extraction et leur composition, une revue de leurs différentes propriétés sera effectuée au regard des nombreuses publications dont ils ont fait l'objet.

1. Constituants fonctionnels principaux

1.1. La phycocyanine

1.1.1. *Phycobilisome*

Les cyanobactéries possèdent une large variété de composants colorés incluant les caroténoïdes, les chlorophylles et les phycobiliprotéines. Les phycobiliprotéines, dont fait partie la phycocyanine, sont des chromoprotéines constitués d'une partie protéique et d'un pigment. Leur agrégation en complexe macromoléculaire forme le phycobilisome. Les phycobilisomes sont attachés en matrices régulières à la surface externe de la membrane du thylacoïde, siège de la photosynthèse. Leur principale fonction est de servir de récepteur des rayons lumineux pour l'appareil photosynthétique de la spiruline et convertir cette énergie lumineuse en énergie électrochimique [56]. Ces macrocomplexes protéiques sont composées d'un cœur sur lequel sont fixées des projections radiaires (ou bras) (Figure 13). Pour la spiruline, le cœur est composé de molécules d'allophycocyanine entourées de molécules de phycocyanine périphériques. La

phycocyanine est le constituant principal alors que l'allophycocyanine fonctionne comme le pigment construisant un pont entre les phycobilisomes et les lamelles photosynthétiques du thylacoïde.

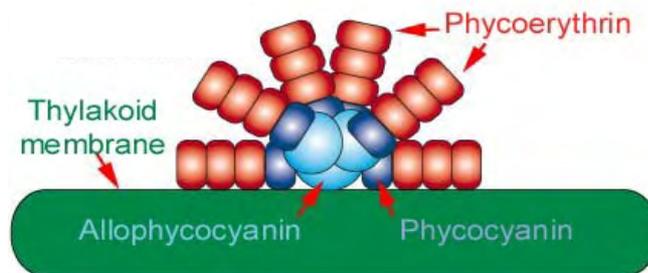


Figure 13 : Représentation schématique d'un phycobilisome classique

1.1.2. Phycobiliprotéines

Les phycobiliprotéines contiennent toutes un groupement protéique et plusieurs chromophores de différents types liés à l'apoprotéine par des résidus cystéine via des ponts thioethers (Figure 14).

Il existe trois types d'apoprotéines, classées selon leurs caractéristiques spectrales, correspondant aux phycobiliprotéines nommées phycocyanine ($\lambda_{\max} = 618 \text{ nm}$) allophycocyanine ($\lambda_{\max} = 650 \text{ nm}$) et phycoérythrine ($\lambda_{\max} = 565 \text{ nm}$) [57].

La partie protéique ou apoprotéine est formée par deux sous-unités protéiques α et β de 15 à 20 kDa formant un hétérodimère appelé aussi « monomère ». Les groupes bilins ou phycobilines constituant le chromophore correspondent à des groupements prosthétiques linéaires isomériques de type tétrapyrrole. Ils sont classés selon leur configuration moléculaire qui diffère par la disposition des doubles liaisons et leur confère des propriétés spectroscopiques nettement distinctes visualisée par une absorbance significative dans les UV. Ainsi la phycourobiline de couleur orange absorbe dans le bleu-vert, la phycoérythrobiline de couleur rouge absorbe dans le vert, la phycobilivioline absorbe dans l'orange et la phycocyanobiline de couleur bleue absorbe dans le rouge.

Les classes de phycobiliprotéines se distinguent par l'un de leur chromophore appelé "accepteur terminal d'énergie". Pour les phycoérythrine, c'est toujours une phycoérythrobriline. Pour la phycocyanine, la phycoérythrocyanine et l'allophycocyanine, ce chromophore est toujours une phycocyanobiline (Figure 14).

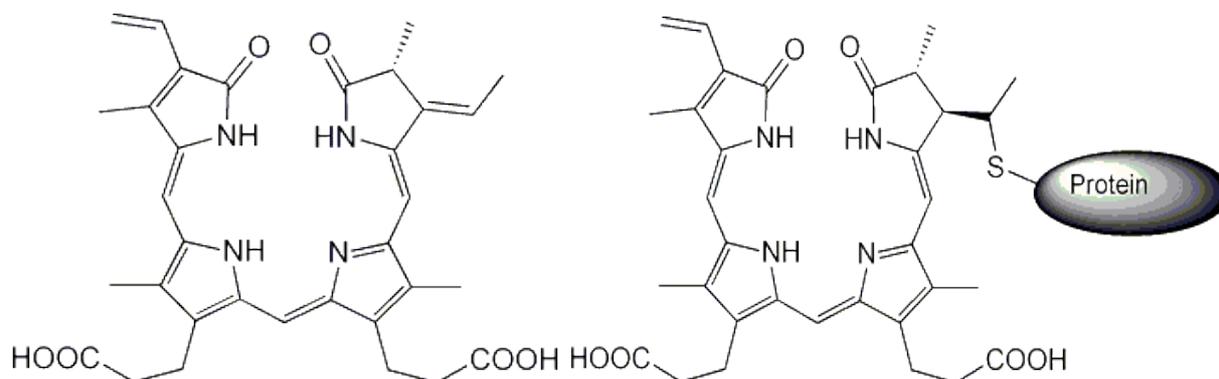


Figure 14 : Molécules de phycocyanobiline (à gauche) et de phycocyanine (à droite) [58]

1.1.3. Propriétés physico-chimiques de la Phycocyanine

Les groupements prosthétiques de la phycocyanine représentent 4% de la masse de l'algue, soit 16 chromophores par unité de masse moléculaire (Dalton) [32] sachant que la masse moléculaire du monomère de phycocyanine est de 37468,5 Da (détermination par ionisation par électrospray couplée à une spectrométrie de masse). Ce monomère est composée de deux sous-unités α et β de taille respective de 18186,56 et 19281,94 Da, et de trois chromophores de phycocyanobiline attachés à la sous-unités α (α 84) et à la sous-unités β (β 84, β 155) [59].

La phycocyanine peut se retrouver sous forme de mélanges complexes d'agrégats en tant que trimère $(\alpha\beta)_3$, hexamère $(\alpha\beta)_6$ et dodécamère $(\alpha\beta)_{12}$. Selon le pH, la force ionique, la température et la concentration en protéines, la quantité relative de ces agrégats est variable. En général, la structure de la phycocyanine chez *Spirulina platensis* est formée de l'association de deux hexamères qui se font face formant une unité asymétrique (Figure 15). Au total sur cette unité asymétrique, 36 chromophores de phycocyanobiline sont liés par un pont thioéther à la partie protéique [57].

La phycocyanine est le pigment le plus abondant de la spiruline représentant plus de 15 % de son poids.

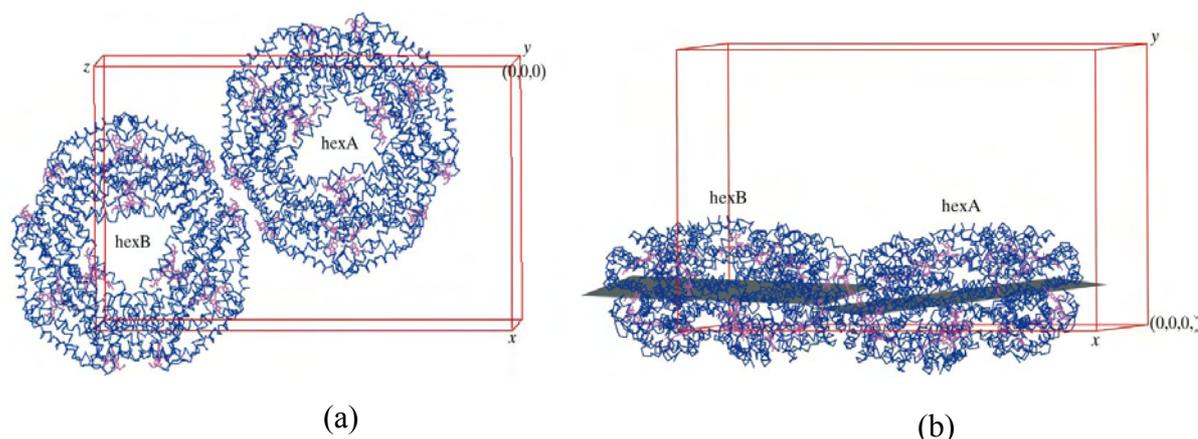


Figure 15 : 2 hexamères de C-phycoerythrine dans l'unité asymétrique vue selon l'axe b (a); vue selon l'axe a (b) [57]

NB : À des fins de classification, des lettres ont été attribuées aux phycoerythrines et phycoérythrine en fonction des organismes à partir desquels elles ont été initialement isolées : les R-phycoerythrines étaient issues des Rhodophyta, les C-phycoerythrines des cyanobactéries. Les B-phycoerythrines proviennent d'une classe ancienne d'algues rouges, les Biangiophyceae. Toutefois, les fondements de cette nomenclature devenue obsolète ont aujourd'hui été abandonnés mais ces préfixes sont encore souvent mentionnés. Ils correspondent maintenant plutôt à des types spectraux. Par exemple, la phycoerythrine est dite C-phycoerythrine lorsqu'elle ne lie que de la phycoerythrobiline, R-phycoerythrine lorsqu'elle lie de la phycoerythrobiline et de la phycoerythrinobiline.

Le spectre d'absorption de la phycoerythrine montre une bande d'absorption forte à 615 nm et une seconde plus faible à 360 nm, ces deux bandes sont dues aux propriétés du chromophore bilin. Ces propriétés d'absorption aussi bien que la fluorescence du chromophore augmentent en intensité lorsque les structures secondaire, tertiaire et quaternaire de la protéine sont dénaturées.

Ce groupe bilin est constitué du noyau tétrapyrrolique de la chlorophylle ouvert et sans magnésium.

Constituant majeur du thylacoïde, l'hexamère de phycoerythrine semble être le principal responsable des propriétés qui sont données à la spiruline. Il a donc fallu trouver des méthodes d'extraction pour pouvoir l'étudier de plus près.

1.2. Le calcium-spirulan

Le calcium-spirulan (Ca-SP) est un polysaccharide sulfaté chélaté à du calcium. Isolé de *Spirulina platensis*, ce polysaccharide se compose à 60 % de rhamnose, 46 % de fructose et dans de moindres proportions de ribose, mannose, galactose, xylose, glucose, acide glucuronique, acide galacturonique (Tableau 25). Le contenu en composés sulfatés est estimé entre 3,24 % [60] et 5,7 % [61] suggérant la présence d'ester de sulfate.

Le poids moléculaire du Ca-SP a été estimé entre 2,6 et $3,1 \times 10^5$ Dalton [60].

Tableau 25 : Composition du calcium-spirulan [60]

<i>Composants</i>	<i>Pourcentage moléculaire</i>
Rhamnose	60
Fructose	46
Acide glucuronique	9,6
Glucose	6,4
Acide galacturonique	5,4
Galactose	3,3
Ribose	3
Mannose	1,1
Xylose	0,8

Moins connu que la phycocyanine, ce polysaccharide a tout de même fait l'objet de diverses études qui ont permis de révéler certaines propriétés intéressantes.

1.3. Méthodes d'extractions

1.3.1. Méthodes d'extraction de la phycocyanine

a) Méthode classique

■ Lyse cellulaire

La première étape consiste à dénaturer les cellules de spiruline afin de faciliter l'extraction des molécules incluses dans les thylacoïdes.

Une technique consiste en l'alternance de phases de congélation-décongélation suivi d'un traitement par sonication [62]. Ces étapes vont fragiliser et rompre les membranes cellulaires et ainsi faciliter l'accès aux molécules présentes dans le cytoplasme et les organites intracellulaires.

Certains préfèrent ajouter une solution de tampon phosphate pH 6,8 durant l'étape de congélation-décongélation et au lieu d'utiliser la sonication, ils utilisent un mixer pour rompre les membranes cellulaires et ajoutent une étape d'extraction à l'acide chlorhydrique (concentration optimale 10N) avant d'effectuer la centrifugation [63].

La séparation et la concentration des différents constituants s'effectuent ensuite par une étape de centrifugation permettant de recueillir un surnageant de couleur bleu clair.

■ Séparation et purification

Plusieurs méthodes de séparation de phases existent. L'une d'entre elles consiste en différentes phases de fractionnement par précipitation avec une solution de sulfate d'ammonium à 30%, 50% et 60% (m/v). Les précipitats des solutions à 50% et 60% permettront d'isoler respectivement la C-phycocyanine et l'allophycocyanine qui seront par la suite solubilisées dans une solution de tampon phosphate (0,05 M pH 7) [62].

La séparation peut aussi s'effectuer par filtration sur colonne (exemple : colonne Bio-Gel avec des limites d'exclusion situées entre 1500 et 20000 Da [64]) permettant de recueillir différentes fractions et d'isoler celle contenant les molécules de phycocyanine .

Ces fractions isolées subiront ensuite différentes étapes de purification par chromatographie sur colonnes (colonne DEAE-Sepharose puis Sephadex G-100 [62]) (colonne

d'hydroxyapatite puis DEAE Sephadex A-50 [64]).

Le degré de pureté de la phycocyanine obtenu est généralement évalué en utilisant le ratio d'absorbance $A_{620/280}$ pour la phycocyanine et $A_{655/280}$ pour l'allophycocyanine où l'absorbance à 620 nm et 655 nm correspond respectivement à l'absorbance maximale pour la phycocyanine et l'allophycocyanine et l'absorbance à 280 nm à celle des protéines totales. Ainsi au ratio de 0,7, la pureté est considérée de catégorie alimentaire, à 3,0 de catégorie réactif et supérieure à 4,0 de catégorie analytique [65].

Les rendements des différentes extractions et chromatographies sont présentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 26). Selon le degré de pureté désiré, il faudra effectuer une ou plusieurs de ces étapes.

Tableau 26 : Données de purification de la phycocyanine obtenue à partir de *Spirulina platensis* (récapitulatif)

		$A_{620/280}$	$A_{655/280}$
		Phycocyanine	Allophycocyanine
Séparation	Extrait protéique	0,520 à 1,14	0,303 à 0,57
	Filtration sur colonne Bio-Gel	0,900	0,410
	Précipitation avec $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3,10	1,1
Purification	Colonne d'hydroxyapatite	2,160	0,980
	Colonne DEAE Sephadex A-50	3,900	0,514
	Colonne DEAE Sepharose CL-6B	4,56	4,88
	Colonne Sephadex G-100	5,06	5,34

b) Méthode optimisée

■ Extraction accélérée par solvant (ASE)

Herrero, *et al.* (2005) [66] a étudié la possibilité d'optimiser l'extraction de la phycocyanine en utilisant la méthode d'extraction accélérée par solvant. Les conditions de cette technique sont une température et une pression élevées. La température augmente la vitesse de réaction alors que la pression élevée maintient le solvant en dessous de son point d'ébullition.

L'extraction est donc très rapide : une extraction accélérée par solvant dure moins de 30 minutes avec un bon rendement. Cette méthode est, avec l'extraction par fluide supercritique, une méthode prometteuse compte tenu de ses divers avantages tel qu'une plus grande sélectivité et un temps d'extraction plus court. Pour cet essai d'optimisation, plusieurs solvants ont été testés (hexane, éther de pétrole, éthanol et eau) à températures (60, 115 et 170 °C) et temps d'extraction différents (3, 9 et 15 min).

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous comparent leur rendement d'extraction corrélé à l'efficacité résiduelle antioxydante ou EC_{50} (l' EC_{50} est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante résiduelle) (Tableau 27). La conclusion de cette étude met en évidence que l'extraction avec l'éthanol est la plus efficace. Bien qu'elle montre une conservation de l'action antioxydante bien moins élevée que pour l'hexane et l'éther de pétrole (EC_{50} de 85,5 contre 69,0 et 67,7 respectivement. celle-ci est largement compensée par un rendement d'extraction élevé de 19,94% contre 4,30% pour l'hexane et 3,60% pour l'éther de pétrole. De plus contrairement aux autres solvants, l'éthanol présente l'avantage d'être reconnu comme GRAS (Generally Recognized As Safe).

Tableau 27 : Conditions optimales (EC_{50} mini et rendement maxi) déterminées statistiquement [66]

		Conditions optimum		Prévision		Valeur prévisionnelle des autres paramètres pour ces conditions optimales
		Température (°C)	Temps (Min)	Valeur	Intervalle de confiance 95%	
Hexane	EC_{50}	90	3	69,0	64,0-74,0	Rendement (%) = 0,71 (0,64-0,78)
	Rendement (%)	170	13	4,30	4,23-4,37	EC_{50} = 108 (102-113)
Éther de Pétrole	EC_{50}	103	15	67,7	58,2-77,3	Rendement (%) = 1,43 (1,11-1,76)
	Rendement (%)	170	15	3,60	3,20-4,00	EC_{50} = 106 (94,4-118)
Ethanol	EC_{50}	111	15	85,5	80,4-90,5	Rendement (%) = 10,95 (10,22-11,68)
	Rendement (%)	170	3	19,94	18,85-21,05	EC_{50} = 91,4 (83,8-99)
Eau	EC_{50}	170	3	253	220-287	Rendement (%) = 7,14 (6,18-8,09)
	Rendement (%)	170	15	9,86	8,91-10,82	EC_{50} = 254 (221-288)

Valeurs prévisionnelles établies par un programme statistique

■ Purification pour obtenir de la phycocyanine de haute pureté

La plupart des méthodes classiques de purification demandent de nombreuses étapes tel que la précipitation, la centrifugation, la dialyse, la chromatographie par échange d'ions ou par gel-filtration. Toutes ces étapes sont longues, difficiles et ont un coût pouvant atteindre plus de 50% du coût de production.

Une méthode plus efficace et moins coûteuse utilise l'extraction aqueuse en deux phases ou ATPE (Aqueous two phase extraction) qui implique la séparation des molécules entre deux ou plusieurs phases aqueuses immiscibles. L'ATPE est réalisée en ajoutant des quantités déterminées de polyéthylène glycole (PEG) et de phosphates de potassium (mono/di) à une quantité donnée d'extrait frais de phycocyanine pour constituer un poids total pour le système de 100% (m/m). Après mélange et décantation, le système se sépare en deux phases. Ces phases sont ensuite analysées par chromatographie d'échange d'ion et spectroscopie UV pour estimer la pureté et la quantité de la C-phycocyanine et des protéines totales [65].

Le mélange PEG et phosphate de potassium est utilisé pour réaliser un coefficient de partage entre la C-phycocyanine et les autres protéines. Ce système est ensuite sujet à l'extraction aqueuse en deux phases permettant ainsi de passer d'une pureté de 3,92 après adsorption à 5,1 après ATPE avec un rendement de 66%. La chromatographie par échange d'ions utilisant une colonne DEAE-Sephadex permet ensuite d'augmenter la pureté de la phycocyanine en passant de 5,1 à 6,69.

Cette nouvelle méthode d'extraction permet donc d'obtenir une molécule de C-phycocyanine de grande pureté conservant toutes ses propriétés de fluorescence et l'intégrité structurale démontrées par spectrofluorométrie, SDS-page et spectre CD (dichroïsme cellulaire) [65].

1.3.2. Méthodes d'extraction du calcium-spirulan

L'extraction s'effectue à partir de la poudre séchée de spiruline avec de l'eau bouillante. L'extrait aqueux recueilli est ensuite traité à l'acide trichloroacétique 10 %.

La fraction soluble est ensuite purifiée par distillation suivie ensuite par une lyophilisation.

La purification s'effectue par filtration sur gel sepharose et seule une fraction sur les trois obtenues permet de recueillir le polysaccharide calcium-spirulan [26].

Les différentes méthodes d'extraction exposées ont été à la base des essais visant à étudier l'action spécifique des molécules de phycocyanine et de calcium-spirulan.

2. Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants

2.1. Activités antioxydantes

Depuis quelques années, les antioxydants font l'objet d'un engouement extraordinaire chez tous les chercheurs en biologie médicale. À l'origine de cet intérêt, une découverte majeure concernant tous les processus dégénératifs : sous l'influence du soleil, du tabac, du stress, de la pollution, ou d'une alimentation déséquilibrée, nos cellules s'abîment et parfois meurent. Ce phénomène bien connu aujourd'hui sous le nom de stress oxydatif serait la principale cause du vieillissement et de l'apparition de plus de deux cents pathologies allant de l'artériosclérose au cancer en passant par le diabète et les maladies inflammatoires.

Un des moyens pour qu'une substance interfère dans ces processus est d'agir comme antioxydant ou scavenger. Pour répondre à cette demande croissante de trouver des composants qui montrent une activité pharmacologique, de nombreux chercheurs ont étudié l'activité antioxydante de la phycocyanine sous divers aspects.

2.1.1. Présomption d'activité

La structure chimique de la phycocyanine est très proche de la structure de la bilirubine, produit de dégradation de l'hémoglobine (Figure 16). La bilirubine est connue pour être un antioxydant physiologique important contre les espèces réactives à l'oxygène. Elle inhibe les modifications oxydatives des protéines plasmatiques et des résidus d'acides aminés aromatiques. La capture des radicaux oxygène par la bilirubine protège l'albumine sérique aussi bien que d'autres cibles biologiques.

En effet, il a été démontré que la bilirubine pouvait éliminer les radicaux peroxydes en donnant un atome d'hydrogène attaché au pont du carbone 10 de la molécule de tétrapyrrole pour former un radical carbone centré stabilisé par résonance s'étendant sur toute la molécule de bilirubine [32]. Compte tenu des ressemblances structurales, il était logique de suspecter que la phycocyanine dispose des mêmes propriétés antioxydantes.

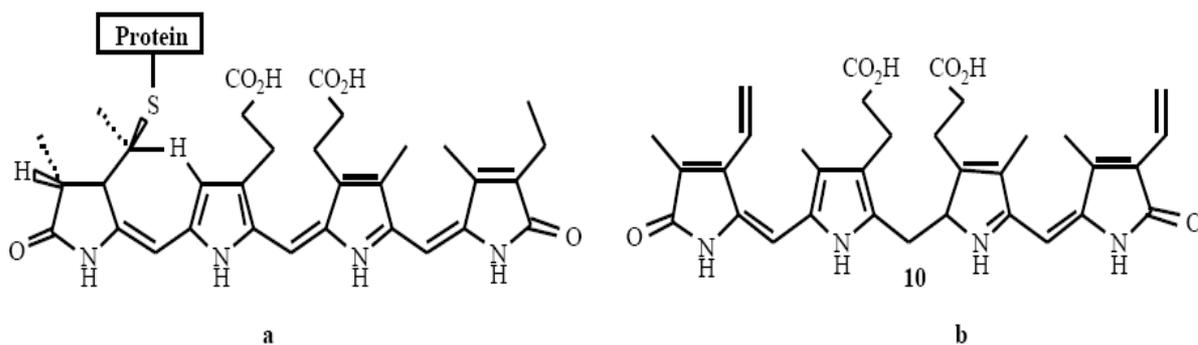
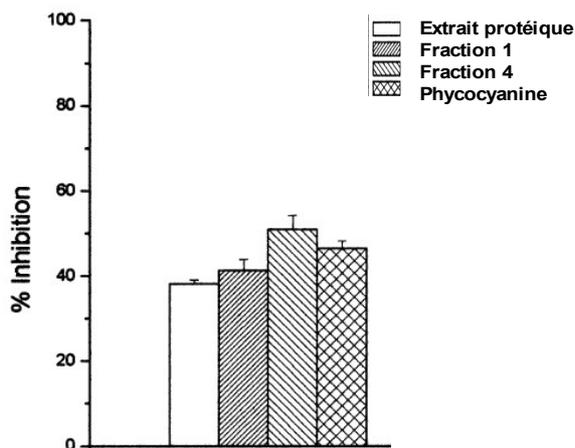


Figure 16 : structure chimique des chromophores bilins de phycocyanine (a) et bilirubine (b) [56]

Afin de démontrer que le responsable de l'activité antioxydante de *Spirulina platensis* était bien la phycocyanine, Pinero Estrada *et al.* (2001) [64] ont comparé le pouvoir scavenger d'un extrait protéique de spiruline à un extrait pur de phycocyanine sur des radicaux hydroxyles. Les résultats présentés ci-dessous démontrent que la phycobiliprotéine est en grande partie responsable de l'activité antioxydante. La fraction 4, correspondant à la phycocyanine purifiée, montre une activité supérieure à la fraction 1 non purifiée qui elle-même est supérieure à l'extrait protéique seul (Figure 17).



Fraction 1 : extraction par solvant puis filtration sur colonne = phycocyanine impure

Fraction 4 : extraction par solvant puis filtration sur colonne et purification par chromatographie = phycocyanine purifiée

Figure 17 : Pourcentage d'inhibition de différentes fractions obtenues à partir d'extrait protéique pendant le procédé de purification de la phycocyanine [64]

2.1.2. **Activité antioxydante sur les radicaux alkoxyde ($RO\cdot$) et hydroxyle ($HO\cdot$)**

Dès 1998, Romay *et al.* ont évalué l'activité antioxydante de la phycocyanine par chimiluminescence au luminol (le luminol présente une couleur bleue caractéristique lorsqu'il est mélangé à un oxydant adéquat, l'inhibition de sa chimiluminescence permet d'évaluer l'activité des antioxydants) [32]. L'activité spécifique de la molécule de phycocyanine sur différents radicaux libres a été comparée à des antioxydants spécifiques connus servant de référence.

La capacité antioxydante de la phycocyanine comparée au trolox, analogue soluble de la vitamine E et antioxydant spécifique des radicaux alkoxydes, montre que 50% d'inhibition de la chimiluminescence est obtenue avec 76 $\mu\text{g/ml}$ de phycocyanine contre seulement 0,038 $\mu\text{g/ml}$ pour le trolox, ce qui équivaut à un rapport de 20/1. La phycocyanine montre tout de même une activité non négligeable sur les radicaux alkoxydes, d'autant plus que cette activité s'est révélée être dose-dépendante.

Sur les radicaux hydroxyles, la concentration inhibitrice 50 (IC₅₀) de la phycocyanine comparé au DMSO (diméthyle sulphoxide, antioxydant de référence) été évaluée à 0,91 mg/ml contre 0,125 mg/ml pour le DMSO soit un rapport d'environ 7/1. Cet effet scavenger sur les radicaux hydroxyles a aussi été étudié grâce à un essai d'inhibition des dommages oxydatifs sur le désoxyribose, un sucre intervenant dans la composition de l'ADN. Il a été mis en évidence que la phycocyanine interagissait avec une constante de vitesse allant 1,9 à 3,56x10¹¹M⁻¹S⁻¹, ce qui est similaire à ce qui est obtenu avec certains anti-inflammatoires non stéroïdiens tel que l'indométacine et l'ibuprofène (1,8x10¹⁰M⁻¹S⁻¹) [32].

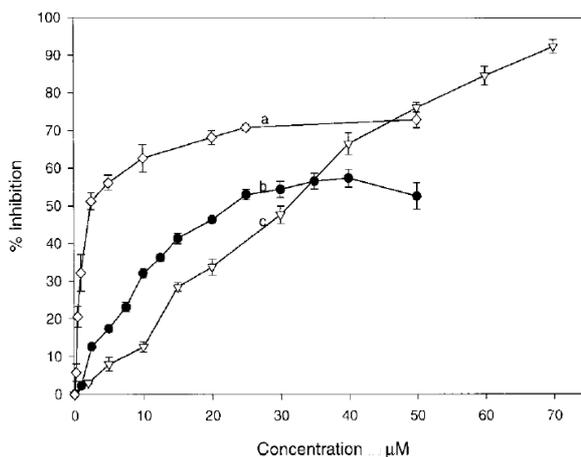
La phycocyanine a donc de réelles capacités d'inhibition spécifique des radicaux alkoxydes et hydroxyles comparable même à certains médicaments.

2.1.3. *Activité antioxydante sur l'ion peroxy nitrite ONOO⁻*

Bhat et Madyastha ont démontré dès 2001 le pouvoir scavenger de la phycocyanine et de son chromophore en étudiant leurs interactions avec le peroxy nitrite. L'anion peroxy nitrite ONOO⁻, généré in vivo à partir du monoxyde d'azote et d'un anion superoxyde, est impliqué dans diverses réactions inflammatoires et dommages oxydatifs sur l'ADN. Les conséquences délétères de ces radicaux libres peuvent aller de l'apoptose cellulaire à la mutation du matériel génétique.

Les interactions ont été quantifiées en utilisant les cinétiques de compétition dans un essai de décoloration du rouge de pyrogallol où le glutathion, détoxifiant majeur de l'organisme, a servi de référence.

Les résultats révèlent que la phycocyanine est capable d'inhiber près de 90% de la décoloration du rouge de pyrogallol soit plus que le glutathion et la phycocyanobiline où la limite maximale atteinte est de 70 et 50 % respectivement (Figure 18). Pour de faibles concentrations, le glutathion et la phycocyanobiline montrent toutefois un effet scavenger plus efficace que la phycocyanine. Cependant, la concentration inhibitrice 50 de 21,8 µM pour la phycocyanine contre 30,5 µM, pour la phycocyanobiline, ainsi que le ratio d'activité antioxydante relative (k_a/k_{PR}) de 1,8 et 3,9 respectivement, confirme une activité scavenger supérieure de la phycocyanine sur son chromophore pour les radicaux ONOO⁻ (Tableau 28).



ONOO⁻ (25 μM), rouge de pyrogallol (50 μM) et différentes concentrations de phycocyanobiline (0-50 μM) phycocyanine (0-70 μM) ou glutathion (0-50 μM) dans un tampon au phosphate de potassium (100mM, pH 7, 25°C) incubé pendant 5min. Le changement de l'absorbance est mesuré à 542 nm. Les valeurs sont pondérées sur 3 résultats.

Figure 18 : Effets inhibiteurs de la phycocyanobiline, de la phycocyanine et du glutathion sur l'oxydation du rouge de pyrogallol induite par le ONOO⁻ [67]

Tableau 28 : Effet de la phycocyanobiline, de la phycocyanine, et du glutathion sur l'oxydation du rouge de pyrogallol induite par l'ONOO⁻ [67]

Scavenger	IC ₅₀ (μM)	k _a /k _{PR}
Phycocyanobiline	30,5 ± 0,8	1,8
Phycocyanine	21,8 ± 2,6	3,9
Glutathion	4,8 ± 1,2	5,3

le ratio d'activité antioxydante relative (k_a/k_{PR}) a été calculé sur la base de l'oxydation du rouge de pyrogallol en présence et en l'absence de scavengers.

2.1.4. Activité antioxydante sur les radicaux peroxydes ROO[•]

L'interaction de la phycocyanine avec les radicaux peroxydes a été étudiée en l'incubant à 37 °C avec des générateurs de radicaux peroxydes, des AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride.). Le spectre d'absorption de la phycocyanine, normalement caractérisé par des maximums à 360 et 618 nm, présente une baisse significative à 618 nm atteignant jusqu'à 60 % après 40 min d'incubation et elle est également accompagnée d'un déplacement du maximum d'absorption de 21,5 nm vers une longueur d'onde plus faible (Figure 19). Cette modification du

spectre indique que la molécule a été oxydée par les radicaux libres, effet qui se traduit par une disparition de la coloration bleue caractéristique [59].

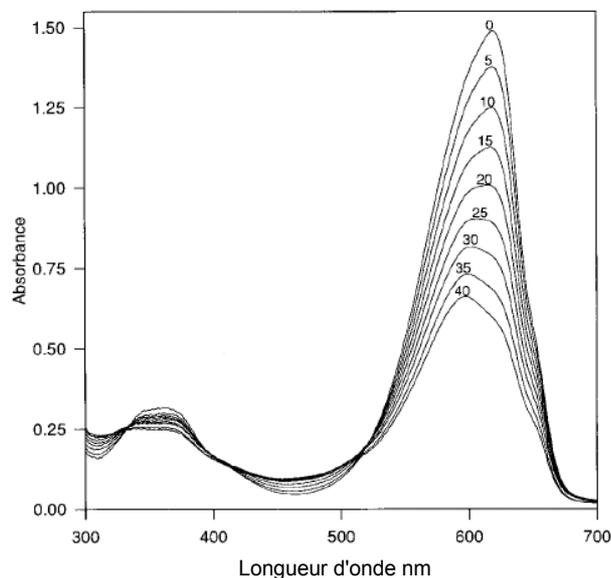


Figure 19 : Modification du spectre d'absorption de la phycocyanine après oxydation par des AAPH [59]

La capacité de la phycocyanine à capter les radicaux peroxydes a aussi été étudiée par la mesure de la cinétique de compétition de la décoloration de la crocine (caroténoïde naturel et colorant sensible à l'oxydation). Les radicaux libres ont été générés par thermolyse d'AAPH et la décoloration de la crocine mesurée au spectrophotomètre à 440 nm.

Les résultats de cet essai (Figure 20) démontrent l'effet antioxydant dose-dépendant de la phycocyanine sur les radicaux peroxydes avec une IC_{50} de 5 μ M et une constante de vitesse de réaction de 1,54. Sous ces mêmes conditions, l'acide urique, connu pour être un antioxydant spécifique des radicaux peroxydes, a obtenu une IC_{50} de 1,9 μ M et une constante de vitesse de 3,5 [59].

La phycocyanine a donc une activité scavenger sur les radicaux peroxydes non négligeable comparativement à l'acide urique.

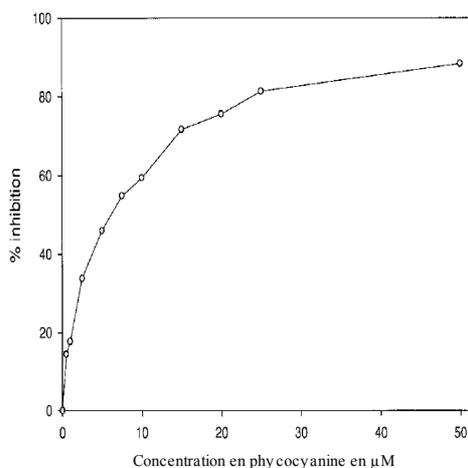


Figure 20 : Courbe d'inhibition de la phycocyanine sur la décoloration de la crocine induite par les radicaux peroxydes [59]

2.1.5. Activité antioxydante sur la peroxydation lipidique

La peroxydation des lipides intervient dans certaines pathologies dans lesquelles le stress oxydant est impliqué ou dès suite d'une toxicité chimique. C'est un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires conduisant à la formation d'hydroperoxydes instables responsables de la diminution de la fluidité membranaire et de la fuite des enzymes du cytosol vers le sérum sanguin.

In vitro, les phycocyanines native et réduite ont inhibé la peroxydation lipidique provoquée par des radicaux peroxydes de manière dose-dépendante avec des IC_{50} de 11,35 et 12,7 μ M, atteignant même près de 95% d'inhibition pour une concentration de 200 μ M (Figure 21) [59]. L'action antioxydante et protectrice de la peroxydation lipidique est donc à la fois possible grâce à la phycocyanine naturelle et réduite.

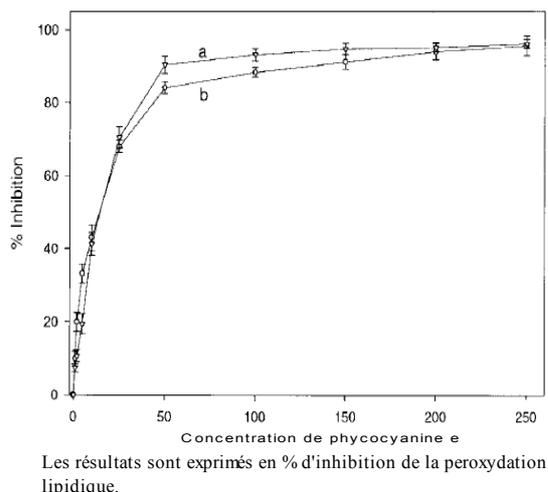
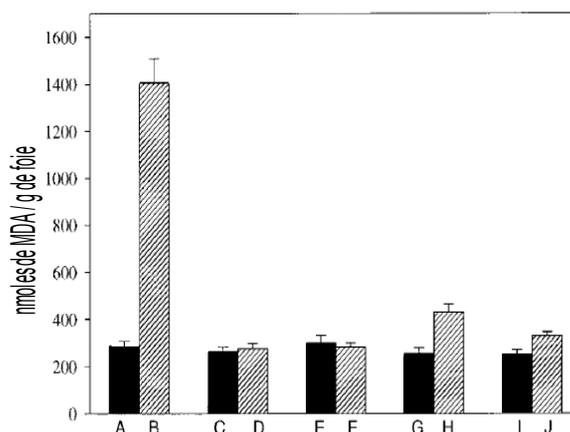


Figure 21 : Comparaison de l'effet inhibiteur de la phycocyanine native (a) et réduite (b) sur la peroxydation lipidique induite par des radicaux peroxydes dans des microsomes de foie de rat [59]

Déjà en 1998, Romay, *et al.* avaient montré que la phycocyanine (de 200 à 540 µM) était capable d'inhiber la peroxydation lipidique des microsomes de foie induite par du Fe^{3+} et de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 12$ mg/mL) [32].

In vivo, l'activation de la peroxydation a été engendrée en exposant les rats au tétrachlorure de carbone (CCl_4). Le CCl_4 est biotransformé dans les microsomes du foie par le cytochrome P450 en charge de neutraliser les molécules chimiques. Le radical de trichlorure de carbone (CCl_3) initialement formé réagit avec l'oxygène pour former un radical peroxyde initiant la peroxydation lipidique. Le malondialdéhyde (MDA) a servi de marqueur de la lipoperoxydation et donc de l'altération des membranes biologiques. Les résultats ont montré que la phycocyanine administrée seule ne changeait pas la teneur en MDA du foie. Cependant, l'administration croissante de phycocyanine (50 à 200 mg/kg) 3 heures avant l'addition de CCl_4 permettait d'observer une baisse significative de la production de MDA par rapport à l'ajout de CCl_4 seul (Figure 22). Cette activité est réellement due à l'inhibition spécifique des radicaux libres car aucune altération des fonctions hépatiques ou de modification du niveau en cytochrome P450 n'a été noté [59].



La peroxydation lipidique a été évaluée par mesure de la production de MDA. (A) Control, (B) CCl₄(0,6 ml/kg), (C, E, G, I) phycocyanine 50, 100, 150, 200 mg/kg, (D, F, H, J) phycocyanine 3h avant le CCl₄ 50, 100, 150, 200 mg/kg. Moyennes de 3 mesures effectuées sur un pool de 4 à 6 rats.

Figure 22 : Effets *in vivo* de la phycocyanine sur la peroxydation des lipides du foie induite par le CCl₄ chez le rat [59]

2.1.6. Implication du chromophore et de l'apoprotéine sur l'activité antioxydante

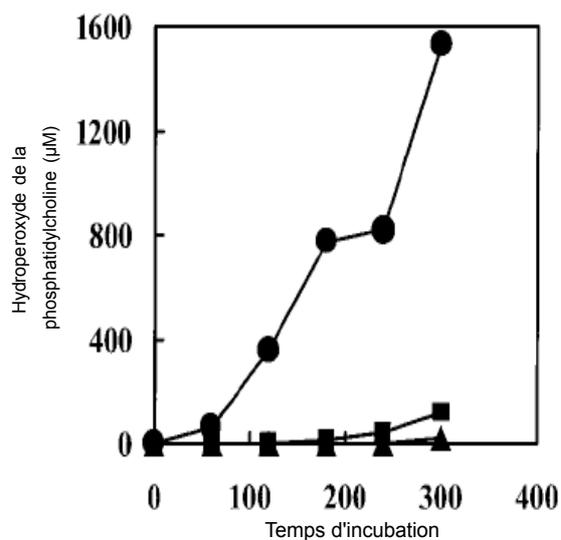
Tout comme la bilirubine, la phycocyanobiline est une molécule polaire qui, au pH et forces ioniques physiologiques, est très peu soluble dans l'eau.

En comparaison à la bilirubine qui est oxydée en biliverdine par un radical peroxyde, le chromophore réduit de phycocyanine est oxydé en phycocyanobiline. Cette oxydation résulte en un changement de coloration passant du jaune verdâtre au bleu foncé.

Bhat et Madyastha (2000) ont démontré l'implication du chromophore bilin dans l'activité antiradicalaire de la phycocyanine. La réduction de la phycocyanine par du NaBH₄ (tétrahydroborate de sodium) a provoqué la disparition de l'absorbance à 360 et 618 nm et l'apparition d'une bande d'absorption forte proche de 418 nm visible par spectroscopie UV. Cette caractéristique spectrale ressemble à celle de la phycocyanorubine, un analogue de la bilirubine où la réduction se serait réalisée sur le groupement méthine (groupe =CH-) du carbone 10 (Figure 23).

La phycocyanine qu'elle soit sous sa forme native ou réduite conserve son activité antioxydante sur les radicaux peroxydes, activité qui semble en partie liée au chromophore de la biliprotéine.

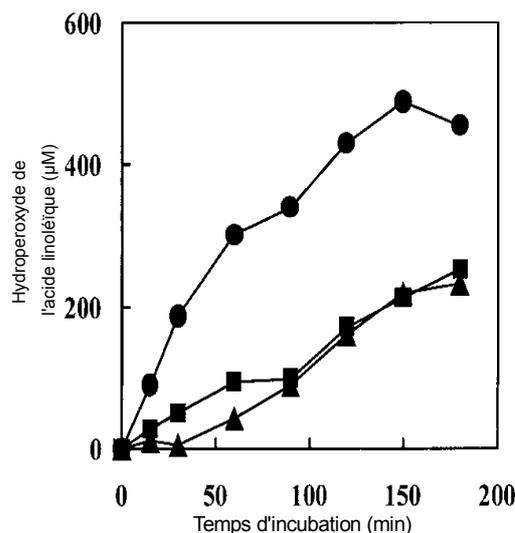
D'autres auteurs ont pu comparer l'activité antioxydante du chromophore à l' α -tocophérol et à la phycocyanine sur l'oxydation des liposomes membranaires. Les résultats présentés dans les graphiques ci-dessous montrent que le chromophore bilin a remarquablement empêché l'oxydation des liposomes membranaires et ceci de façon plus intense que l' α -tocophérol (la vitamine E est un antioxydant connu pour assurer la stabilité des membranes cellulaires) (Figures 25-26) et que cette activité était presque équivalente à celle de la biliprotéine [68]



L'oxydation a été réalisée par le mélange de 10 μ M d'AAPH avec 5 mM de liposomes unilamellaires et 1 mM d'antioxydant dans 50 mM de tampon tri-HCl (pH 7,4). Les liposomes oxydés ont été extraits selon la méthode de Bligh et Dyer et déterminés par HPLC couplé à un détecteur UV à 235 nm. L'éluant utilisé était du méthanol/eau/acide acétique 90:10:0,1 (v/v/v).

● Control, ■ α -tocophérol (1mM), ▲ phycocyanobiline (1mM)

Figure 25 : Activités antioxydantes de la phycocyanobiline et de l' α -tocophérol sur les radicaux libres d'AAPH attaquant les liposomes de phosphatidylcholine [68]

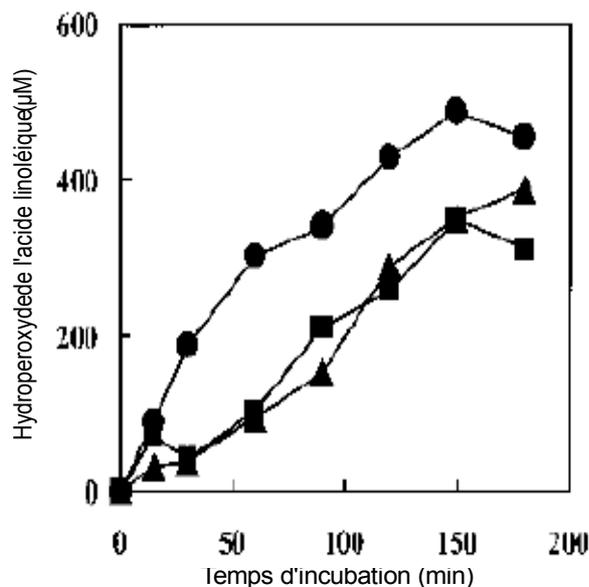


La phycocyanine et la phycocyanobiline ont été dissoutes dans 80 nM de tampon phosphate (pH 7,4) contenant 4,4 mM d'acide linoléique, 5 mM de cholate de sodium et 10 mM d'AAPH. Après oxydation les hydroperoxydes d'acide linoléique formés pendant l'incubation à 37°C ont été périodiquement extraits par un mélange chloroforme/méthanol 1:1 et déterminés par HPLC couplé à un détecteur UV à 235 nm. L'éluant était du n-hexanol/alcool isopropylique/acide acétique 97,8:2:0,2 (v/v/v).

● Control, ■ phycocyanine (20 µM), ▲ phycocyanobiline (20 µM)

Figure 26 : Activités antioxydantes de la phycocyanobiline et de la phycocyanine sur les AAPH [68]

Pour corroborer ce résultat, ils ont étudié si la partie protéique de la phycocyanine pouvait avoir une activité. Pour cela, ils ont comparé l'activité antioxydante de la phycocyanine entière extraite de la spiruline fraîche et de la phycocyanine dénaturée extraite par spray-dried (le chauffage ayant dénaturé la partie protéique). Les activités de la molécule fraîche et dénaturée ont été équivalentes (Figure 27) [68] et confirme le fait que le groupement prosthétique de la phycocyanine est en majorité responsable de l'activité antioxydante. Cependant, une possible contribution de la partie protéique sur l'activité totale ne peut être exclue. En effet l'apoprotéine apporte à la molécule des propriétés de solubilité différentes et donc participe à augmenter selon les milieux à l'action globale de la phycocyanine.



- Control, ■ phycocyanine dénaturée extraite par spray-dried (10 µM), ▲ phycocyanine entière extraite de la spiruline fraîche (10 µM)

Figure 27 : Activités antioxydantes de la phycocyanine entière et dénaturée sur l'oxydation induite par les AAPH [68]

2.1.7. *Activité antioxydante et protection rénale*

L'exemple du bénéfice de l'action antioxydante apportée par la spiruline par le biais de ses constituants a été récemment démontrée chez le rat [69].

Le cisplatine est un cytotoxique antinucléoplasique utilisé généralement en association avec d'autres anticancéreux pour traiter différents types de cancer (testicules, ovaire, sphère ORL, oesophage, col de l'utérus, vessie). L'usage de cet agent alkylant est limitée à cause de sa toxicité rénale. Les premières cibles du cisplatine dans le rein sont le tube contourné distal et le tube droit proximal où démarrent et s'accumulent les dommages cellulaires en entraînant de multiples mécanismes dont le stress oxydant. Beaucoup d'études indiquent l'implication importante des espèces réactives à l'oxygène dans la genèse de la néphrotoxicité générée par le cisplatine ainsi qu'une décroissance des antioxydants plasmatiques et tissulaires. En effet, le cisplatine provoquerait une augmentation de la peroxydation lipidique et induirait la production de radicaux libres impliqués dans les dommages oxydatifs rénaux par déplétion des systèmes antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques.

Compte tenu des propriétés antioxydantes *in vitro* et *in vivo* démontrées de la spiruline, Mohan *et al.* (2006) ont évalué le rôle qu'elle pourrait jouer dans la néphrotoxicité induite par le cisplatine [69].

Ainsi, chez le rat un prétraitement oral de spiruline pendant 8 jours avant l'injection de cisplatine a diminué significativement sa néphrotoxicité sans altérer son action cytotoxique. De plus, l'activité des enzymes antioxydantes tel que la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase a été restaurée au niveau qu'elles avaient avant l'injection du cisplatine [69].

La spiruline aiderait à diminuer le stress oxydant et par conséquent protégerait le rein des effets délétères induits par le cytotoxique. Par cet exemple, il est possible d'imaginer l'intérêt que peut présenter l'algue bleue en usage préventif des effets secondaires rénaux des anticancéreux.

2.2. Activité anti-inflammatoire

2.2.1. Rappel du mécanisme inflammatoire (Figure 28)

Sous l'action de différents stimuli, l'acide arachidonique est libéré de la membrane cellulaire phospholipidique sous l'action d'une phospholipase A₂. Il est ensuite transformé en prostaglandine H₂ par une prostaglandine G/H synthase cytosolique composée d'une cyclo-oxygénase et d'une hydroperoxydase. La prostaglandine H₂ instable est transformée en prostanoïdes qui activent différents types de cellules au niveau des récepteurs de la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G. Cette activation génère la production de prostaglandines (PGE₂, PGD₂ et PGF₂), de prostacycline (PGI₂) et de thromboxane A₂ (TXA₂).

2.2.2. Cyclo-oxygénases 1 et 2

Il existe deux isoformes de cyclo-oxygénase : la cyclo-oxygénase 1 (Cox-1) et la cyclo-oxygénase 2 (Cox-2). Les Cox-1 se trouvent dans une grande majorité de cellules et s'expriment en condition basale alors que les Cox-2 s'expriment dans les cellules vasculaires endothéliales, les cellules rénales et les cellules du système nerveux. La voie de la Cox-1 est constitutive alors que celle de la Cox-2 est surtout inductive et chacune aboutira à la formation de différentes prostaglandines. Les prostaglandines formées joueront un rôle de médiateurs d'importants processus pathologiques tel que l'inflammation, les thromboses et les cancers en plus des processus physiologiques normaux. Les prostaglandines formées par la Cox-1 ont des effets cytoprotecteurs, impliqués dans la protection du tractus gastro-intestinal, dans la maintenance de la balance ionique du rein et dans le fonctionnement des plaquettes. A l'inverse de la Cox-1, l'expression de la Cox-2 est faible dans la plupart des tissus en conditions basales mais est significativement surexprimée lors de l'activation par des facteurs de l'inflammation tel que des lipopolysaccharides bactériens (LPS), des cytokines, des facteurs de croissance, des oncogènes et des carcinogènes. Les prostaglandines de la Cox-2 ont un rôle important dans la douleur, la fièvre et l'inflammation. De même, dans les tissus malins des cancers colorectaux, gastriques et pulmonaires, les niveaux de la Cox-2 et des prostaglandines sont augmentés considérablement.

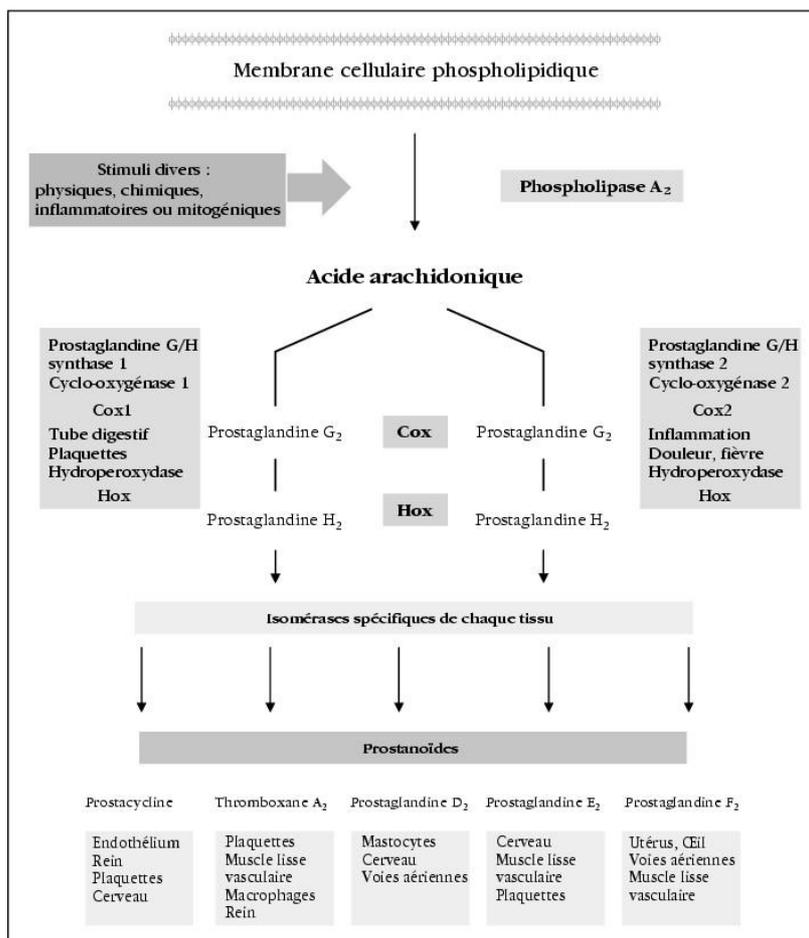


Figure 28 : Mécanisme de l'inflammation et cycle de l'acide arachidonique [70]

2.2.3. Activités anti-inflammatoires et essais sur des modèles animaux

Plusieurs études ont été menées sur des modèles animaux afin de démontrer l'action anti-inflammatoire de la phycocyanine *in vivo*. Le mode opératoire utilisé consiste à provoquer l'inflammation au moyen de différents activateurs et de comparer la réaction inflammatoire avec et sans administration préalable de phycocyanine à l'animal.

a) Inflammation induite par glucose oxydase

L'effet de la phycocyanine comparé à celui du DMSO (diméthyle sulfoxyde) servant de témoin a été étudié à l'aide d'un test d'inflammation provoquée a été réalisé sur des rats par injection de glucose oxydase dans leur pattes. La glucose oxydase réagit avec le glucose endogène et générera du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui produira ensuite des radicaux hydroxyles (HO[•]). Ces deux molécules seront responsables des dommages tissulaires accompagnant la réaction inflammatoire.

Les différences en poids des pattes arrières des animaux ont permis d'évaluer la taille de l'oedème inflammatoire et par conséquent d'estimer l'intensité de la réaction inflammatoire. Les résultats présentés ci-dessous indiquent que la phycocyanine administrée oralement aux doses de 100 et 200 mg/kg est capable d'inhiber significativement et de manière dose-dépendante l'inflammation induite par les radicaux peroxydes avec une dose efficace 50 (DE₅₀) de 170,3 mg/kg (Tableau 29).

En tenant compte des propriétés antioxydantes reconnues du DMSO sur les radicaux hydroxyles et de sa capacité à réduire l'inflammation provoquée par la glucose oxydase, il semble que la propriété anti-inflammatoire de la phycocyanine puisse être en partie due à sa capacité antioxydante démontrée plus haut.

Tableau 29 : Effet de la phycocyanine sur l'inflammation induite par la glucose oxydase dans les pattes de souris [32]

<i>Traitement</i>	<i>Indice d'oedème (g)</i>	<i>Inhibition %</i>
DMSO (1g/Kg)	0,045 ± 0,007	64,05
Phycocyanine 50mg / Kg	0,110 ± 0,010	4,43
100mg / Kg	0,080 ± 0,007	35,46
200mg / Kg	0,061 ± 0,008	51,05
Glucose oxydase 100 U/mL	0,125 ± 0,008	-

la phycocyanine a été administrée 1h avant l'induction et la mesure a été effectuée 1h30 après l'induction

b) Inflammation induite et comparaison à des AINS connus

Romay *et al.* (1998) ont testé l'activité anti-inflammatoire de la phycocyanine sur divers modèles animaux expérimentaux. Des réactions inflammatoires ont été provoquées chez le rat ou la souris avant ou après l'ingestion de phycocyanine ou d'indométacine (Indocid®), un AINS reconnu, utilisé ici comme témoin [71].

L'injection d'acide arachidonique (AA) dans l'oreille de souris provoque une réaction inflammatoire dont l'intensité est ensuite évaluée par la mesure du poids de l'oreille.

La phycocyanine administrée oralement à hauteur de 50, 100 et 200 mg/kg avant l'injection d'AA a réduit significativement l'oedème inflammatoire de l'oreille de souris avec respectivement 47,61, 60,31 et 66,60 % d'inhibition. L'effet a été proportionnel à la quantité administrée avec une DE_{50} de 66,1 mg/kg. En comparaison, l'injection de 1mg/oreille d'indométacine a réduit de 86% la taille de l'oedème (Tableau 30).

Le même type de test a été réalisé en injectant dans l'oreille de souris du TPA (12-O tétradécanoylphorbol 13-acétate), un activateur spécifique de la protéine C réactive, marqueur de l'inflammation. En plus de la mesure du poids de l'oreille, la mesure de l'activité de la myéloperoxydase (MPO) a été effectuée. La MPO est une enzyme spécifique des polynucléaires neutrophile. Elle joue un rôle fondamental dans les processus de défense de l'organisme en favorisant la production d'espèces oxydantes impliquées dans la lutte contre l'infection. Là aussi, la phycocyanine a démontré un pouvoir d'inhibition de l'inflammation. Administrée à partir de 100 mg/kg 1 heure avant l'injection de TPA, elle inhibe de façon significative à la fois l'oedème de l'oreille et la production de MPO (14,1 et 14,2 % respectivement pour 100 mg/kg), en comparaison l'indométacine agit dès 1 mg/oreille (93,4 et 89,5 % respectivement) (Tableau 31).

Tableau 30 : Effet de la phycocyanine sur l'oedème induit par l'AA dans l'oreille de la souris [71]

<i>Traitement</i>		<i>Indice d'oedème (g)</i>	
		<i>Moyenne</i>	<i>Inhibition %</i>
AA	0,5 mg / oreille	6,3 ± 0,98	-
Phycocyanine	50 mg / Kg	3,3 ± 0,59	47,61
	100 mg / Kg	2,5 ± 0,92	60,31
	200 mg / Kg	2,1 ± 0,8	66,60
Indométacine	1 mg / oreille	1,1 ± 0,24	82,53

L'inflammation a été induite par injection de 0,5mg d'AA dans 20 µL d'acétone dans l'oreille droite de chaque souris. L'oreille gauche a servi de contrôle n'a reçu que l'acétone. La phycocyanine a été administrée par gavage 1h avant l'AA. Le groupe contrôle positif a reçu l'indométacine 1 mg/oreille en local. L'indice d'oedème a été évalué par l'augmentation en poids de la biopsie de l'oreille droite sur celui de l'oreille gauche

Tableau 31 : Effet de la phycocyanine sur l'inflammation induite par TPA et MPO [71]

<i>Traitement</i>	<i>Indice d'oedème (g)</i>		<i>MPO (U/mg tissue)</i>	
	<i>Moyenne</i>	<i>Inhibition %</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Inhibition %</i>
TPA 4 µg/ oreille	9,4 ± 0,99	-	4,2 ± 0,19	-
Indométacine 1mg/oreille	0,61 ± 0,07	93,4	0,4 ± 0,07	89,5
Phycocyanine	100 mg / kg	14,1	3,6 ± 0,18	14,2
	200 mg / kg	6,7 ± 0,92	2,7 ± 0,29	35,4
	300 mg / kg	5,4 ± 0,56	45,5	2,2 ± 0,18

L'oedème a été mesuré 6h après le traitement de TPA. L'indice d'oedème a été évalué par l'augmentation en poids de la biopsie de l'oreille droite sur celui de l'oreille gauche

La phycocyanine, administrée avant la réaction inflammatoire, a inhibé de manière dose-dépendante l'oedème inflammatoire qu'il soit provoqué par l'AA ou le TPA et elle a diminué aussi la production de myéloperoxydase. Cependant, l'inhibition de l'inflammation induite par le TPA est plus faible que celle induite par l'AA pour lequel le même pourcentage d'inhibition est obtenu avec une concentration près de 6 fois plus faible. Ceci suggère que la phycocyanine n'agit pas sur la protéine C réactive mais agirait sur d'autres systèmes inflammatoires.

Ces deux tests d'inflammation provoquée ont permis de mettre en évidence que la phycocyanine possède une activité anti-inflammatoire mais ces tests ne permettent d'établir cette propriété que pour des réactions aiguës. Pour démontrer que cette activité est aussi valable quelque soit le type de réaction, des réactions chroniques ont été provoquées en implantant des boules de coton sous les aisselles de rats. L'administration *per os* pendant 7 jours de phycocyanine à une concentration de 200 mg/kg par les rats, a significativement réduit de 36 % la réaction inflammatoire alors que l'indométacine l'a réduit de 53 % à une concentration de seulement 3 mg/kg [71].

L'indométacine, utilisée comme témoin positif, exerce une action à des doses plus faibles que la phycocyanine (de 1 à 10 mg/kg contre 50 à 300 mg/kg respectivement). Cependant l'utilisation d'indométacine est moins sûre. Cette molécule a une dose létale 50 (DL₅₀) de 12 mg/kg chez le rat et 50 mg/kg chez la souris et induit de nombreux effets secondaires chez l'homme (nausées, vomissements, diarrhée...). A l'inverse la phycocyanine n'a pas d'effet secondaire démontré chez l'homme et a une DL₅₀ supérieure à 3 g/kg chez l'animal.

Ces différentes études ont mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de la phycocyanine, en notant toutefois que cette action est surtout préventive car son administration est toujours réalisée avant l'induction de la réaction inflammatoire. La démonstration d'activité ayant été mise en évidence, comment expliquer le mode d'action de la molécule ?

2.2.4. Action des anti-inflammatoires

Les AINS représentent la famille thérapeutique la plus consommée au monde en raison de leur efficacité anti-inflammatoire, antalgique, antipyrétique et même antiagrégante plaquettaire pour l'aspirine à faible dose.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) inhibent la biosynthèse des prostaglandines par inhibition des deux cyclo-oxygénases, leur utilisation est en tant qu'agents chimioprotecteurs est donc rationnelle. Cependant, leur utilisation est limitée par leurs effets secondaires délétères (dyspepsie, douleur abdominale et, moins souvent, ulcération digestive) liés à l'inhibition non spécifique des cyclo-oxygénases. En effet, alors qu'elles inhibent la biosynthèse des prostaglandines aux sites d'inflammation par inhibition de la Cox-2, elles

inhibent aussi la biosynthèse des prostaglandines constitutives à travers l'inhibition de la Cox-1.

L'utilisation limitée des AINS a favorisé la recherche de nouveaux anti-inflammatoires et notamment des anti-inflammatoires sélectifs de la Cox-2, les coxibs. Cette sélectivité permet de prévenir l'inflammation sans altérer l'action constitutive de la Cox-1. Ainsi, les coxibs ont l'avantage d'avoir moins d'effets secondaires sur le tube digestif et ils n'interagissent pas avec l'agrégation plaquettaire (Tableau 32).

Tableau 32 : Comparaison des cyclo-oxygénases 1 et 2

<i>COX 1</i>	<i>COX 2</i>
Constitutive	Inductible (dans la plupart des tissus)
Synthétise des prostanoides qui régulent l'homéostasie	Synthétise des prostanoides qui régulent l'inflammation, la douleur et la fièvre
Importante pour :	
- La muqueuse gastrique	
- Le rein	Produite sur le site de l'inflammation
- Les plaquettes	
- L'endothélium vasculaire	
Dans une grande majorité de cellules	L'expression constitutive est surtout dans le cerveau et le rein

2.2.5. **Activité sélective sur la cyclo-oxygénase 2**

Romay *et al.* (1998) ont mis en évidence que l'inhibition de la réaction inflammatoire par induction à l'AA était la plus efficace. Hors le test d'induction à l'AA est réputé pour être un test représentatif pour la détection des inhibiteurs de cycloxygénase et/ou lipoxygénase. Deux ans plus tard, ces mêmes auteurs ont réalisés des études complémentaires sur les tests d'induction à l'AA et au TPA. Ils ont démontré que la phycocyanine inhibait de manière dose dépendante la production de prostaglandine E2 (métabolite de l'AA) et de manière modérée sur l'activité de la phospholipase A2 [72]. Ces résultats permettent d'émettre l'hypothèse d'une possible action sélective de la phycocyanine sur le mécanisme inflammatoire et plus particulièrement sur les cyclo-oxygénases.

Afin d'étudier cette présomption d'activité sélective sur les cyclo-oxygénases, Reddy *et*

al. (2000) ont comparé l'action anti-inflammatoire de la phycocyanine à celle d'inhibiteurs non spécifique comme l'indométacine (Indocid®) et d'inhibiteurs spécifiques connus de la Cox-2 comme le rofécoxibe (Vioxx®) et le célécoxibe (Célébrex®). Pour cela, ils ont mesuré les concentrations inhibitrices des cyclo-oxygénases 1 et 2 et évalué les activités relatives de molécules en calculant le rapport des concentrations inhibitrices Cox-2/Cox-1 permettant d'avoir des activités relatives comparables entre plusieurs molécules. Un ratio faible démontrant une inhibition préférentielle sur la Cox-2. Néanmoins, les mesures du ratio des IC₅₀ Cox-2/Cox-1 sont à pondérer. En effet, une variation peut s'observer selon le type cellulaire sur lequel elles sont effectuées (cellules intactes, homogènes) et selon l'espèce animale (cellules bactériennes, d'insectes ou des cellules animales)[73].

L'inhibition de la Cox-1 a été la plus importante pour l'indométacine avec une IC₅₀ basse de 0,22 µM suivi par la phycocyanine (IC₅₀ à 4,5 µM) et le célécoxibe (IC₅₀ à 16,3 µM) (Tableau 33). L'inhibition de la Cox-1 est proportionnelle à la concentration de phycocyanine administrée et comme pour le célécoxibe, l'inhibition totale est atteinte pour une concentration de 100 µM alors qu'il n'a fallu seulement que 1 µM pour l'indométacine.

Tableau 33 : Comparaison des valeurs inhibitrices de différentes molécules sur les Cox-1 et Cox-2 [73]

Médicaments	IC ₅₀ (µM)		Cox-2/Cox-1
	Cox-1	Cox-2	
Phycocyanine	4,5	0,18	0,04
Phycocyanine réduite	5,6	9,7	1,73
Phycocyanobiline	9,9	39,0	3,93
Célécoxibe	16,3	0,26	0,015
Rofécoxibe	>300	0,4	<0,0013
Indométacine	0,22	1,74	7,9

Pour inhiber la Cox-2, la phycocyanine s'est montrée la plus efficace avec une IC₅₀ de 0,18 µM contre seulement 0,26 µM pour le célécoxibe et 0,4 µM pour le rofécoxibe. Le calcul du rapport Cox-2/Cox-1 permet de comparer facilement l'affinité de la molécule pour ces enzymes. Un rapport Cox-2/Cox-1 faible, exprimant une affinité importante pour la Cox-2. Le ratio obtenu pour la phycocyanine de 0,04 est largement comparable à celui des inhibiteurs spécifiques connus comme le célécoxibe et le rofécoxibe (respectivement 0,015 et 0,0013). Contrairement à l'indométacine, inhibiteur spécifique de la Cox-1 pour lequel la rapport Cox-

2/Cox-1 atteint 7,9, le ratio calculé pour la phycocyanine permet de conclure que son action anti-inflammatoire est spécifique de la cyclo-oxygénase 2.

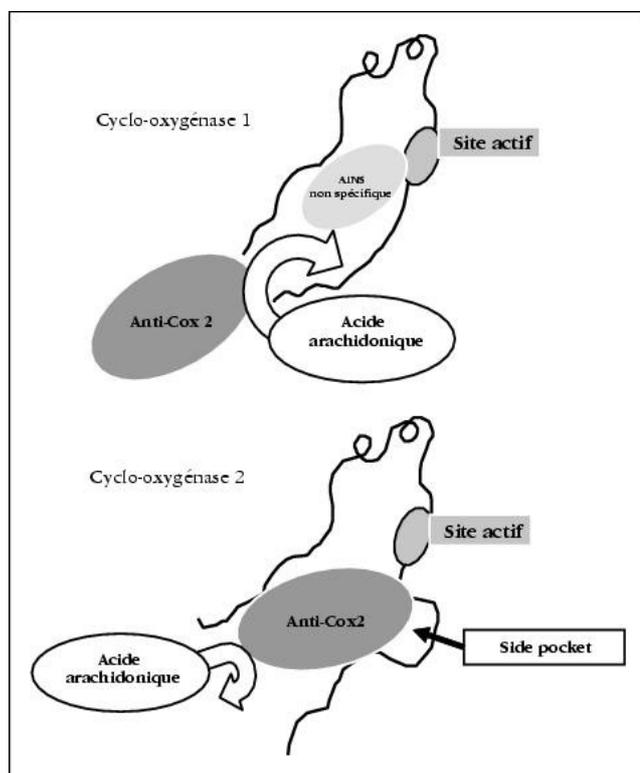
La détermination de l'activité inhibitrice de la Cox-2 a aussi été analysée sur du sang total humain après stimulation de l'inflammation par des lipopolysaccharides. Cette stimulation induit la production de PGE₂ par les monocytes. L'inhibition de leur production a été proportionnelle à la quantité de phycocyanine avec une IC₅₀ définie à 80 nM contre 28 nM pour le célécoxibe. L'étude réalisée par Reddy *et al.* (2000) confirme l'affinité préférentielle de la phycocyanine pour la cyclo-oxygénase 2, majorée dans la sang total et comparable aux inhibiteurs sélectifs les plus connus de la classe des coxibs [73].

2.2.6. Activité spécifique et conformation moléculaire

L'étude de la structure tridimensionnelle de la molécule permet d'apporter l'explication de cette sélectivité pour l'enzyme. Il est connu que la conformation de la Cox-2 lui confère un site actif est plus grand que celui de la Cox-1 (Figure 29). Les inhibiteurs spécifiques de la Cox-2 sont donc des molécules plus volumineuses, exploitant ainsi cette différence de structure. Hors, la phycocyanine (~37,5 kDa) a une taille plus importante que les AINS, ainsi cette propriété structurale expliquerait probablement la plus grande affinité de la molécule pour le site enzymatique de la Cox-2.

Toute molécule dispose d'une configuration spatiale spécifique. Une modification structurale de la phycocyanine devrait alors engendrer des changements d'affinité de la molécule pour le site actif de la cyclo-oxygénase. La confirmation de cette hypothèse est venue des mesures des activités de la phycocyanine réduite et de son chromophore bilin comparées à celle de la phycocyanine native. Le rapport Cox-2/Cox-1 de ces deux composés a augmenté respectivement de près de 50 et 100 fois (rapport Cox-2/Cox-1 1,73 et 3,93 respectivement) traduisant une baisse d'affinité pour la Cox-2. La réduction de la phycocyanine a favorisé une autre conformation moléculaire qui n'est plus favorable à la liaison sur le site actif de la Cox-2 [73]. De la même façon, le chromophore seul en comparaison à la phycocyanine réduite a aussi perdu son affinité pour le site actif suggérant que l'apolipoprotéine joue également un rôle significatif dans l'inhibition de la Cox-2.

L'inhibition sélective de la Cox-2 est exclusive pour la phycocyanine native et cette spécificité est fortement liée à sa conformation moléculaire.



L'acide arachidonique, en l'absence d'inhibiteur, se fixe sur le site actif pour produire les prostaglandines. Son site de dégradation est à l'intérieur de la cyclo-oxygénase. La configuration spatiale des deux cyclo-oxygénases va sélectionner les inhibiteurs selon leur encombrement. Grâce à sa poche latérale, la Cox-2, va accepter les anti-Cox-2 qui ne sont pas acceptés par la Cox-1. Les AINS non spécifiques, parce qu'ils ont une petite taille, inhibent les deux cyclo-oxygénases.

Figure 29 : Représentation schématique des sites actifs des cyclo-oxygénases 1 et 2 et inhibition spécifique [70]

Les propriétés anti-inflammatoires de la phycocyanine ont largement été démontrées. Le mode d'action invoqué semble être similaire à celui des coxibs. Hors la phycocyanine a aussi des propriétés antioxydantes qui pourraient jouer un rôle dans l'inhibition des réactions inflammatoires.

En effet, il est acquis que certains dommages tissulaires inflammatoires ont comme intermédiaire des espèces réactives à l'oxygène. Les oxydants comme les radicaux hydroxyles, superoxydes ou le peroxyde d'hydrogène sont formés sur le site de l'inflammation et contribuent au maintien des dommages tissulaires dans certaines maladies inflammatoires aiguës et chroniques.

Ainsi par exemple, il est connu que les radicaux libres oxydants sont impliqués dans l'arthrite rhumatoïde et des inhibiteurs du métabolisme de l'acide arachidonique peuvent être utilisés dans le traitement de l'arthrite. La spiruline a par ailleurs montré des effets inhibiteurs,

chez la souris, sur l'arthrite induite par du zymosan, (bétaglucane extrait des levures) [74] et chez le rat, sur la colite induite par de l'acide acétique [75]. Ces effets ont été possibles par l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique mais aussi grâce aux propriétés antioxydantes de la spiruline agissant contre les espèces réactives à l'oxygène et participant ainsi à la diminution du stress oxydant. Stress qui fait partie intégrante des conditions pathologiques des maladies inflammatoires.

L'activité inhibitrice sur l'inflammation de la phycocyanine est donc une combinaison d'action non enzymatique par des propriétés antioxydantes et enzymatique, par inhibition sélective de la cyclo-oxygénase 2. L'action spécifique sur la Cox-2 donne en outre l'avantage au pigment de la spiruline de traiter le mécanisme inflammatoire sans provoquer les effets secondaires qu'apportent les AINS courants.

Ces différents résultats observés *in vitro* sur les Cox-2, devront cependant être reproduits *in vivo* afin de mesurer l'activité réelle de la phycocyanine sur le mécanisme inflammatoire.

2.3. Activité anticancéreuse

Certaines formes communes de cancers sont le résultat d'un ADN cellulaire endommagé, provoquant une croissance cellulaire anarchique. En temps normal, ce phénomène est évité grâce à un ensemble de processus enzymatiques par lesquels une cellule identifie et corrige les dommages du génome. Cependant, sous l'effet de différentes toxines les enzymes peuvent être désactivées et les brins d'ADN endommagés ne sont pas réparés, c'est dans ces conditions que le cancer peut se déclarer.

Après avoir développé des médicaments antinucléoplasiques à visée curative, la recherche sur le cancer cherche aujourd'hui à développer des molécules capables de prévenir cette maladie. C'est ainsi que s'est développée la chimioprévention, une pratique consistant en l'utilisation de molécules synthétiques ou substances naturelles ayant pour but d'inhiber la carcinogénèse.

2.3.1. Présomption d'activité

Depuis quelques années, il y a un regain d'intérêt pour l'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) en chimioprévention, car des études épidémiologiques ont montré que l'utilisation d'aspirine ainsi que d'autres AINS pouvait réduire le risque de cancer de 40 à 50 %.

Effectivement, dans les tissus malins des cancers colorectaux, gastriques ou pulmonaires, les taux de cyclo-oxygénase 2 et de prostaglandines sont augmentés et l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs de la cyclo-oxygénase 2 peut permettre d'induire l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules cancéreuses [76] [77].

Les polyphénols alimentaires comme la catéchine ont été parmi les premières molécules naturelles à avoir montrées des actions bénéfiques sur la prévention des cancers. Or, la phycocyanobiline a montré des activités similaires à certains polyphénols en inhibant l'action délétère de l'ion peroxy-nitrite sur l'ADN et en montrant une capacité antioxydante similaire à celle de la catéchine [78].

De la même façon, d'autres recherches ont montré que des polysaccharides sulfatés pouvaient réduire les cancers du poumon métastasés par le sang chez les rats en interférant avec la formation des embolies tumorales provoquées par l'agrégation plaquettaire. D'autres encore ont rapporté que les dérivés sulfatés de chitines ont inhibé la contamination pulmonaire par des cellules de mélanome B16-BL6 [60].

A partir de ces différents éléments et connaissant l'activité anti-Cox-2 de la phycocyanine et la composition du calcium-spirulan, l'hypothèse d'une possible activité anticarcinogénique de la spiruline devait être étudiée.

2.3.2. Activité anticancéreuse et mode d'action de la phycocyanine

a) Activité anticancéreuse

Plusieurs études ont mis en évidence que la phycocyanine était capable d'activer l'apoptose dans différents types de lignée cellulaire. La phycocyanine a ainsi stimulé l'apoptose sur des cellules macrophagiques de souris de lignée RAW 264.7 [79], connues pour exprimer un niveau élevé de cyclo-oxygénase 2 après stimulation par le lipopolysaccharide, sur des cellules tumorales histiocytaires de rat de lignée AK-5 [80] et sur des cellules K562 de leucémie myéloïde chronique humaine ($IC_{50} = 72,5$ mg/L) [81]. Cette caractéristique a été corrélée par l'analyse microscopique de ces cellules après traitement à la phycocyanine. Cette analyse a mis en évidence une augmentation du nombre de cellules apoptotiques [77] ainsi que des modifications structurales tel que des rétrécissements cellulaires, des formations de bulles sous les membranes, des micronucléus caractéristiques d'une apoptose et des lésions de l'ADN cellulaire par fragmentation des brins [80].

b) Mode d'action

La phycocyanine a provoqué d'une manière générale une diminution dose-dépendante de la prolifération et de la viabilité des cellules cancéreuses ainsi qu'une baisse du niveau des prostaglandines E_2 [79]. Cette baisse, sans changement du niveau protéique de la Cox-2, ne peut s'expliquer que par l'inhibition sélective de la Cox-2 et c'est donc cette voie qui a été étudiée de façon plus précise.

L'analyse cytométrique sur les cellules K562 traitées avec de la phycocyanine a mis en avant une diminution du nombre de cellules en phase S et G2 du cycle cellulaire [77] et une augmentation des cellules en phase G1 [77] suggérant que l'induction de l'apoptose par la phycocyanine se déroulerait en phase S et G2 (Figure 30).

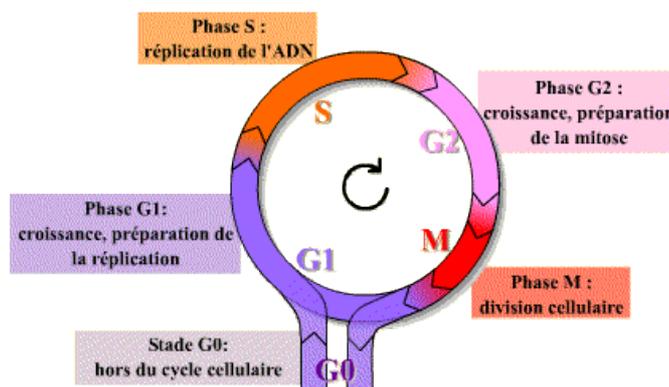


Figure 30 : Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0

Grâce à l'étude de marqueurs spécifiques de l'apoptose, le mécanisme biochimique mis en cause dans ce phénomène a pu être en partie expliqué.

Ainsi, une des principales voies biochimiques de la mort cellulaire programmée est activée par la libération de l'AIF (Facteur Inducteur de l'Apoptose) et du cytochrome c par la mitochondrie dans le cytosol. Le cytochrome c est connu pour être un signal initiant de manière irréversible l'apoptose cellulaire. Sa libération va déclencher une cascade de réactions aboutissant à l'activation de caspases qui par clivage des protéines cellulaires seront directement responsables du phénomène apoptotique (Figure 31).

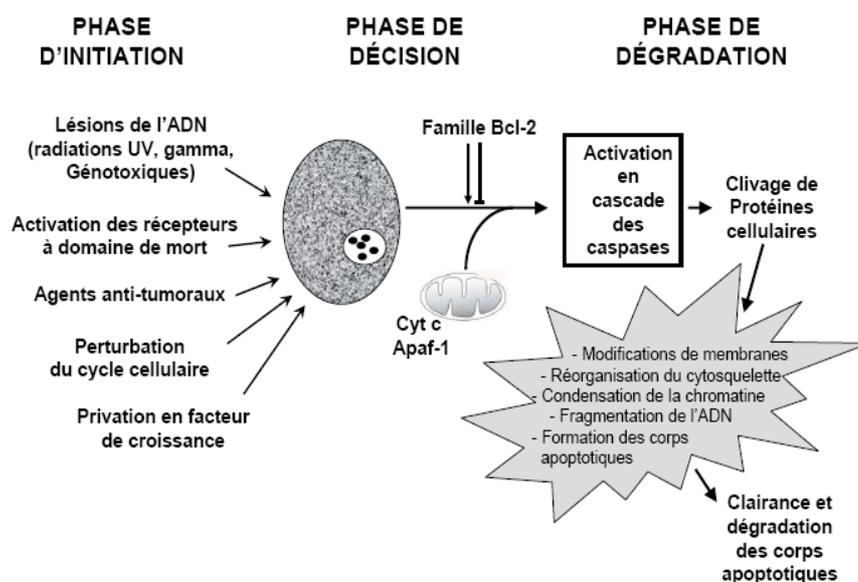
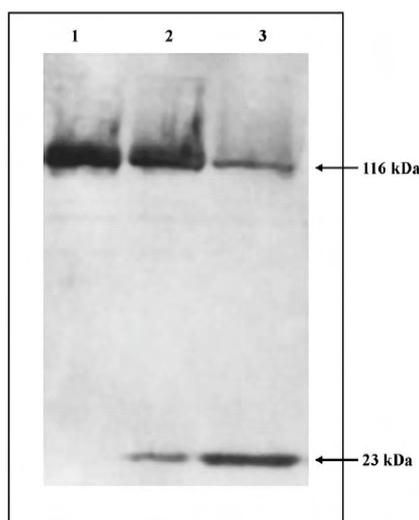


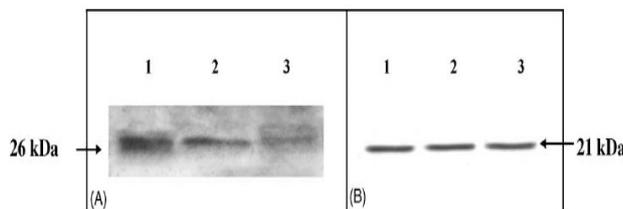
Figure 31 : Les 3 phases de l'apoptose [82]

Utilisant l'analyse par Western blot, les scientifiques ont observé que la libération de cytochrome c des mitochondries était l'un des premiers événements qui découlait de l'induction de l'apoptose par la phycocyanine. Cet événement fut naturellement suivi par la libération de capsases. Ces protéases ont ensuite provoqué le clivage du PARP (Poly (ADP-Ribose) Polymérase), une variété d'enzymes qui détectent et réparent l'ADN (Figure 32-33) lorsqu'il est endommagé [79] [77]. Cette inhibition de la réparation génomique, consécutive à l'action de la phycocyanine, aboutit logiquement à la dégradation de l'ADN en fragments oligonucléotiques et donc à la mort cellulaire programmée.



Reconnaissance du PARP par un anticorps anti-PARP; L'anticorps reconnaît le PARP non-clivé (116 kDa) et le PARP clivé (23 kDa). 1 : Témoin négatif, 2 : Cellules traitées avec 25 μM de phycocyanine, 3 : Cellules traitées avec 50 μM de phycocyanine

Figure 32 : Analyse Western Blot du clivage du PARP dans les cellules K562 traitées à la phycocyanine [79] [77]



Les protéines sont reconnues par des anticorps anti-Bcl-2 et anti-Bax. 1 : Témoin, 2 : Cellules traitées avec 25 μM de phycocyanine, 3 : Cellules traitées avec 50 μM de phycocyanine

Figure 33 : Analyse Western Blot des protéines Bcl-2 et Bax des cellules K562 traitées à la phycocyanine (50 μM) [79]

Parallèlement à cela, un dosage des protéines de la famille des Bcl-2 a été effectué. Les protéines Bax et Bcl-2 sont associées avec la membrane mitochondriale externe, le réticulum endoplasmique et la membrane nucléaire externe et jouent un rôle majeur dans la régulation de l'apoptose. Les protéines Bax ont un rôle pro-apoptique alors que les protéines Bcl-2 ont un rôle anti-apoptique, c'est pourquoi le ratio Bcl-2/Bax est important pour la survie cellulaire car il détermine la susceptibilité à l'apoptose.

Outre l'observation d'une régulation négative de l'expression des protéines Bcl-2 [80], l'évaluation par Western-blot sur des cellules K562 traitées avec de la phycocyanine (25 et 50 μ M pendant 48h) a mis en exergue une baisse significative de ce ratio consécutif à la diminution du niveau protéique en Bcl-2 sans changement du niveau des protéines Bax (Figure 33). Cette dérégulation en faveur du mécanisme pro-apoptogène ajoutée au mécanisme détaillé plus haut peut expliquer la vulnérabilité des cellules cancéreuses face à un traitement avec de la phycocyanine.

Bien que le mécanisme d'entrée de la phycocyanine dans la cellule ne soit pas encore connu, la molécule est spécifiquement capturée par les cellules cancéreuses qui prolifèrent activement [77] et des études immunologiques ont permis de la localiser non pas dans le noyau cellulaire mais dans le cytosol.

En résumé, l'induction de l'apoptose par la phycocyanine sur les cellules cancéreuses est réalisée grâce à l'action inhibitrice sur la Cox-2 en interférant avec la cascade de l'acide arachidonique et par l'intermédiaire de la libération du cytochrome c, du clivage du PARP et par la dérégulation des protéines de la famille des Bcl-2.

De nombreuses tumeurs se sont montrées résistantes au mécanisme de l'apoptose et ceci serait principalement attribué à l'expression des protéines de la famille des Bcl-2 et à la balance Bcl-2/Bax. Dans ce contexte et compte tenu du mécanisme cité ci-dessus, la spiruline par l'intermédiaire de sa biliprotéine pourrait avoir un intérêt non négligeable dans l'espoir d'augmenter la sensibilité de certaines tumeurs résistantes aux différents traitements antinucléoplasiques.

2.3.3. Activité anticancéreuse et mode d'action du calcium-spirulan

Le calcium-spirulan en tant qu'inhibiteur de tumeurs cancéreuses a fait l'objet de peu d'études. Mishima *et al.* ont montré que le calcium-spirulan inhibait l'invasion de différentes tumeurs (mélanome B16-BL6, carcinome du colon, cellules de fibrosarcome) sur des membranes basales reconstituées[60]. Le polysaccharide réduirait les métastases pulmonaires des cellules de mélanome B16-BL6 en inhibant l'invasion tumorale de la membrane basale, probablement du à une activité anti-héparinase et par prévention de l'adhésion et de la migration des cellules tumorales vers la lame basale. L'explication possible serait que le calcium-spirulan se lierait aux récepteurs de laminine (protéines constituants majeurs de la lame basale) comme des intégrines sur la surface cellulaire tumorale et par conséquent conduirait à l'inhibition de l'adhésion et de l'invasion des cellules tumorales. Il a été démontré que des récepteurs spécifiques au rhamnose étaient présents sur les cellules tumorales de métastases de poumon. Or, comme le principal composant du calcium-spirulan est le rhamnose, il est possible qu'il soit reconnu par ces récepteurs présents à la surface des cellules tumorales [60].

Le calcium-spirulan posséderait un potentiel d'inhibition de l'invasion tumorale, cependant, ces résultats prometteurs ne sont pas suffisants et d'autres études devront être menées pour démontrer et expliquer les propriétés antitumorales de ce polysaccharide sulfaté extrait de la spiruline.

2.4. Hépatoprotection

2.4.1. Hépatoprotection : *In vivo*

Dans le foie le cytochrome P450 est chargé de neutraliser les molécules chimiques. Cependant leur toxicité peut réduire le fonctionnement du cytochrome et perturber sa fonction détoxifiante.

Pour étudier l'action de la phycocyanine sur le foie, une hépatotoxicité a été induite chez des animaux avec ou sans prétraitement à la spiruline.

Ainsi, des rats, prétraités par ingestion de phycocyanine (200 mg/kg), ont montré une amélioration significative de l'hépatotoxicité induite par du tétrachlorure de carbone (CCl₄) ou par du R-(+)-pulégone (cétone monoterpène). Le prétraitement a eu un meilleur effet sur la toxicité provoquée par le R-(+)-pulégone que par le CCl₄. Pour comprendre le mécanisme d'action, des échantillons d'urine ont été collectés et analysés par chromatographie gazeuse. Les résultats ont montré que le niveau de menthofurane a pu baissé d'environ 70 % grâce à l'ingestion préliminaire de phycocyanine. Le menthofurane est une toxine formée dans le cytochrome P450 qui dérive immédiatement du R-(+)-pulégone après oxydation, cyclisation et déshydratation. Elle est responsable de près de la moitié des nécroses cellulaires hépatiques induites par le R-(+)-pulégone.

La phycocyanine interférerait donc directement avec ces espèces dérivant du R-(+)-pulégone voire du CCl₄ en inhibant leur biotransformation dans le cytochrome P450 [83]. Cette hypothèse étant appuyée par le pouvoir scavenger démontré de la phycocyanine qui peut interagir avec les radicaux libres d'haloalcanes générés par le CCl₄ et les métabolites réactifs formés à partir du R-(+)-pulégone.

De ce fait, l'effet hépatoprotecteur de la phycocyanine est principalement possible grâce à son pouvoir scavenger des radicaux libres et l'inhibition de la peroxydation lipidique. Ces différentes propriétés permettent de réduire les pertes enzymatiques dans le foie et par conséquent protège celui-ci d'une éventuelle lyse cellulaire.

2.4.2. Hépatoprotection : In vitro

Les cellules de Küpffer, bordant les sinusoides hépatiques, représentent la majorité des macrophages fixés de l'organisme. Elles sont impliquées dans des mécanismes d'immunomodulation, de phagocytose et d'intoxication chimique. Leur stimulation par des stimuli inflammatoires et cytotoxiques provoque la production de cytokines, de médiateurs lipidiques et peptidiques et de radicaux libres tels que l'anion superoxyde et l'oxyde nitrique. Ces molécules auront en temps normal des rôles bactéricides et anticancéreux. Cependant lorsque les macrophages ont des activités exacerbées les effets produits pourront avoir des conséquences néfastes comme une cytotoxicité et une inflammation. C'est dans ces cas particuliers que l'utilisation d'un modérateur d'activité prend tout son intérêt.

Pour démontrer l'activité de la phycocyanine sur l'activité phagocytaires des cellules de Küpffer, des foies de souris ont reçu une perfusion de phycocyanine avant une perfusion de carbone-colloïdal. Le prétraitement (0,25 mg/ml) a montré que la phycocyanine provoque une inhibition dose-dépendante de la phagocytose du carbone avec plus de 50 % de diminution de la libération de LDH (lactate déshydrogénase) démontrant une augmentation de la viabilité cellulaire (Tableau 34). Ces résultats sont corrélés avec l'effet de la phycocyanine sur les niveaux du TNF α et sur la calorigénèse. Elle a permis la réduction de 77% de l'effet calorigène et a supprimé la libération de TNF α (facteur de nécrose tumoral) induits par l'injection d'une dose unique d'hormone thyroïdienne T₃ (triiodothyronine), une condition connue pour être à l'origine du stress oxydant en une augmentant l'activité de l'oxyde nitrique synthétase (NOS) et des cellules de Küpffer [84].

Tableau 34 : Effet d'une perfusion de phycocyanine (0,25 mg/ml) sur la libération de LDH d'un foie isolé de souris initialement perfusé avec du carbone colloïdal [84]

	Contrôle	Phycocyanine	<i>p</i>
Libération du LDH (mU/g Foie/min)	308 ± 56	149 ± 33	0,05
Activité du LDH du foie (U/g foie)	277 ± 7	318 ± 38	Non significatif
Libération fractionnée du LDH (%/min)	0,11 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05

La libération de LDH a été déterminée pendant l'injection de carbone après 30 à 35 min de perfusion. Les résultats représentent la moyenne ± écart-type pour 6 animaux pour chaque groupe expérimental. La signification des différences entre les valeurs moyennes a été évaluée par un test de Student

La phycocyanine a permis d'inhiber la phagocytose du carbone, d'augmenter la viabilité des cellules de Küpffer et d'inhiber totalement la libération de TNF α .

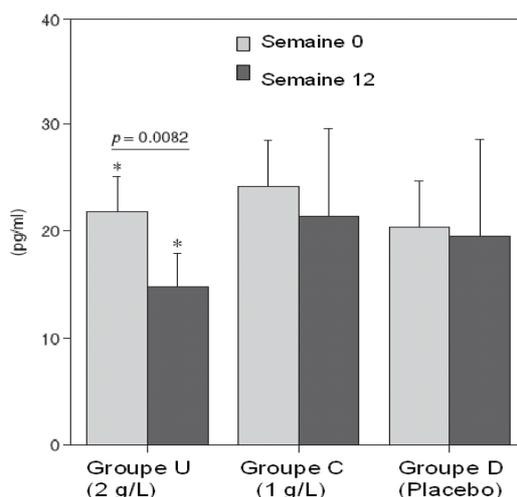
Plus qu'un simple effet hépatoprotecteur, par son action spécifique sur les macrophages du foie, la spiruline permet la régulation de l'activité macrophagique de l'organisme et est ainsi capable de limiter les effets délétères (cytotoxicité et inflammation) liés à une activité exacerbée.

2.5. Activité sur le système immunitaire

La capacité de la spiruline à agir comme immunomodulateur a été pour la première fois démontrée en 1994 sur des souris. Depuis de nombreuses autres études ont été réalisées, sur des souris, hamsters, poulets, dindes, chats et poissons [85] [86] [87]. Toutes ont démontré que la spiruline était incontestablement un puissant tonifiant du système immunitaire. Bien évidemment, cette action positive s'explique par la présence de vitamines du groupe B, d'oligo-éléments comme le fer, d'acide gamma-linolénique, d'antioxydants puissants et à doses importantes comme le bêta-carotène, la vitamine E, le zinc et le sélénium, ce qui n'a rien de révolutionnaire. Mais le véritable intérêt de la spiruline en tant qu'agent « dopant » du système immunitaire repose sur la présence de ces molécules complexes, polysaccharidiques et polypeptidiques, dont les effets immuno-stimulants ont été étudiés depuis le milieu des années 90.

2.5.1. Modulation de la sécrétion de cytokine

In vitro, un extrait aqueux de spiruline a montré qu'il pouvait moduler la sécrétion de cytokines (interleukine IL-1 β , IL-4 et interféron gamma) des cellules mononucléaires du sang périphérique humain stimulées avec du PHA (phytohématagglutinine). Au cours d'un essai randomisé en double aveugle, la supplémentation de 2 g/jour pendant 12 semaines de spiruline a permis de réduire de 32 % la sécrétion d'IL-4 chez des patients atteints de rhinite allergique [88] (Figure 34) (l'IL-4 est une cytokine sécrétée par les lymphocytes T de type CD4+ notamment au cours des réactions allergiques immédiates (hypersensibilité de type I) en favorisant la production d'IgE).



Les sujets atteints de rhinite allergique ont reçu ou non quotidiennement pendant 12 semaines de la spiruline. Les suspensions de cellules mononucléaires du sang périphérique isolées à 10⁶ cellules ont été cultivées et stimulées dans une plaque à 48 puits en présence ou absence de PHA pendant 48h à 37°C et 5% de CO₂. Les données sont exprimées en concentration d'IL-4 retrouvée dans le surnageant cellulaire après 48h d'incubation en présence ou absence de PHA

Figure 34 : Effet d'un régime alimentaire à base de spiruline sur la sécrétion d'IL-4 des cellules mononucléaires du sang périphérique humain stimulées avec du PHA [88]

In vivo, l'administration à des patients de 50 ml/jour d'extrait aqueux de spiruline pendant 12 semaines a favorisé la sécrétion d'interféron gamma (IFN gamma) par les cellules tueuses naturelles (NK). L'activité cytolytique de ces lymphocytes NK a, elle aussi, été augmentée. Après l'administration régulière d'extrait aqueux, les cellules mononucléaires du sang périphérique des individus ont été isolées et l'activation des lymphocytes NK a été ensuite réalisée par l'intermédiaire de différentes cytokines (IL-12 et IL-18). La réponse à cette activation, mesurée par le taux d'IFN gamma libéré, a été majorée lorsque l'IL-18 a été utilisée après une première activation par l'IL-12 (effet observé 2 à 3 mois après le début de l'administration de l'extrait) [89]. L'IL-18 a potentialisé l'action de l'IL-12 sur la production d'IFN gamma par les cellules NK.

La spiruline a aussi permis l'induction de la production d'IL-12 sécrétée par les cellules myéloïdes (monocytes). La spiruline agirait donc d'abord sur les monocytes en stimulant la production d'IL-12 qui agiront ensuite sur l'activation de la production d'IFN gamma par les cellules tueuses naturelles.

Il est aujourd'hui admis que les micro-organismes pathogènes (bactéries, virus ou parasites) sont reconnus par les récepteurs des cellules immunitaires par l'intermédiaire de leur partie lipidique composé d'acides gras. Hors, l'étude de la composition de la spiruline a mis en évidence la présence de glycolipides tels que l'acide palmitique, l'acide linoléique ou encore l'acide linoléique, il est alors concevable que la spiruline interagisse avec les cellules de l'immunité grâce aux glycolipides qui la composent.

2.5.2. Modulation de la multiplication des cellules immunitaires

Les organes lymphoïdes primaires comme le thymus et la moelle osseuse sont le siège de la production des lymphocytes. A maturité, ces acteurs de l'immunité spécifique migrent dans les organes et tissus lymphoïdes secondaires (rate, ganglions lymphatiques) siège de la réponse spécifique à l'antigène. Chez la souris, l'ingestion pendant 6 semaines de phycocyanine a permis l'augmentation du niveau total des IgA présents dans les plaques de Peyer (follicules lymphoïdes de la muqueuse intestinale) et dans les cellules de rate [90]. La spiruline et ses composants tels que la phycocyanine affecteraient les fonctions immunitaires en stimulant la prolifération ou la différenciation des cellules immunitaires dans les organes lymphoïdes. Cette hypothèse a été vérifiée sur des cellules souches hématopoïétiques de moelle osseuse de souris. Lors de leur mise en culture, la prolifération cellulaire a pu être favorisée grâce à un traitement par un extrait aqueux de spiruline mais aussi par un extrait à base de phycocyanine ou par un extrait des composants de membrane cellulaire de l'algue [91]. De la même façon, le surnageant de culture cellulaire de rate préalablement stimulées avec de la phycocyanine ou avec l'extrait des composants de membrane cellulaire (20 µg/mL) a favorisé la formation des colonies cellulaires de moelle osseuse. Des quantités plus élevées en facteurs de croissance hématopoïétique GM-CSF (Granulocyte macrophage-colony stimulating factor) et d'interleukine-3 (IL-3) ont été retrouvées dans le surnageant des cultures cellulaires de rate, principalement dans le surnageant des cellules cultivées avec l'extrait des composants membranaires (GM-CSF, 1206 pg/ml et IL-3, 481,7 pg/ml). (Tableau 35). Il est connu que les facteurs de croissance hématopoïétique multipotents tel que le GM-CSF et l'IL-3, produits par une variété de cellules tels que les monocytes et lymphocytes, peuvent induire la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques encore immatures dans la moelle osseuse. Ces facteurs ont été augmentés grâce à la stimulation induite par les extraits à base de spiruline sur les cellules de rate. Ils ont ensuite favorisé la multiplication des cellules de moelle osseuse.

La spiruline agirait alors directement et indirectement sur la prolifération et la différenciation des cellules souches multipotentes de la moelle osseuse.

Tableau 35 : Contenus en GM-CSF et IL-3 retrouvés dans le surnageant des cultures cellulaires de rate stimulées avec différents extraits spiruliniques [91]

<i>Stimulation avec :</i>	<i>Colonies cellulaire/puit</i>	<i>GM-CSF (pg/mL de surnageant)</i>	<i>IL-3 (pg/mL de surnageant)</i>
Témoin	0,5 ± 0,7	< 4	47,3 ± 4,0
Extrait aqueux	2,8 ± 2,6	< 4	76,7 ± 8,0
Phycocyanine	14,0 ± 5,9	9,2 ± 0,7	94,7 ± 10,8
Extrait de composants membranaires	28,2 ± 5,5	1206 ± 333	481,7 ± 144,4

Cellules cultivées sur une plaque de culture en 96 puits avec ou sans présence de facteurs stimulants pendant 8 jours à 37°C (10⁵ cellules/0,2 mL/puit)

Des résultats similaires ont été trouvés *in vivo* où l'ingestion par des souris de ces différents extraits à base de spiruline pendant 5 semaines a permis l'augmentation du nombre des neutrophiles et lymphocytes dans le sang périphérique. Le nombre de réticulocytes après ingestion d'extrait aqueux et le nombre de lymphocytes après ingestion de phycocyanine ont eux aussi été augmentés dans la moelle osseuse [91].

Ces différents résultats confirment les réelles capacités immunomodulatrices de la spiruline. Son utilisation comme complément alimentaire pour moduler ou maintenir le système immunitaire permettrait d'améliorer les fonctions immunitaires de patients présentant une immunodéficience provoquée par des médicaments tels que des anticancéreux ou des anti-infectieux.

2.6. Activité antivirale

Hayashi T. et Hayashi K. (1996) ont découvert que le Ca-SP permettait d'inhiber la réplication de plusieurs virus à enveloppe, dont le virus herpès simplex du type 1, le cytomégalo virus humain, le virus de la rougeole et des oreillons, le virus de la grippe A et le VIH-1 (Tableau 36). L'étude indique qu'un prétraitement 3h avant l'infection est plus efficace qu'un traitement juste après l'infection. Ceci suggère que le polysaccharide doit agir à un stade précoce de la réplication virale soit à la phase d'adsorption ou de pénétration. Le tableau (Tableau 36) indique que le Ca-SP a inhibé de façon sélective la pénétration du virus dans les cellules hôtes et à une concentration de plus de 40 µg/mL, il est capable de bloquer presque totalement la pénétration du virus HSV-1 (Tableau 37). La rétention de la conformation moléculaire grâce à la chélation de l'ion calcique avec les groupes sulfatés serait indispensable à son effet antiviral car lorsque l'ion calcium ou les sulfates sont retirés au polysaccharide, l'activité antivirale est diminuée et la toxicité augmentée (Tableau 38).

Tableau 36 : Effet inhibiteur du Calcium-spirulan sur la réplication de différents virus [26]

Virus	Culture sur cellule	Cytotoxicité (ID ₅₀ , µg/mL) ^a	Activité antivirale (ED ₅₀ , µg/mL) ^b		Indice de sélectivité (ID ₅₀ /ED ₅₀)	
			0h ^c	- 3h ^d	0h	-3h
			HSV-1	HeLa	7900	16,5
HCMV	HEL	4800	41	8,3	117	578
Rubivirus (Rubéole)	Vero	6300	39	17	162	371
Paramyxovirus (oreillon)	Vero	6300	92	23	68	274
Influenzavirus	MDCK	5400	230	9,4	23	574
Poliovirus	Vero	6300	2300	2200	2,7	2,9
Virus Coxsackie	Vero	6300	2600	1850	2,4	3,4
VIH-1	MT-4	2900	11,4	2,3	254	1261

a : concentration exigée pour réduire la croissance cellulaire de 50 %, valeur moyenne pour deux expériences. b : concentration exigée pour réduire la reproduction virale de 50 % valeur moyenne pour deux expériences. c : Ca-SP a été ajouté à la moyenne immédiatement après l'infection virale.

d : Ca-SP a été ajouté en moyenne 3 heures avant l'infection virale.

ED₅₀ = Dose efficace 50% ; ID₅₀ = Dose inhibitrice 50%

Tableau 37 : Effet du Calcium-spirulan sur la pénétration du HSV-1 [26]

<i>Temps de traitement (h)</i> <i>(post infection)</i>	<i>Calcium-spirulan (µg/mL)</i>					
	<i>0</i>	<i>0,32</i>	<i>1,6</i>	<i>8</i>	<i>40</i>	<i>200</i>
0	0,8 ^a					
1	97	88	67	31	0,8	0,8
6	100	89	70	33	0,8	0,8

a : Pourcentage de pénétration, en prenant la pénétration maximale de virus sur des cellules témoins non traitées à 6 heures de post-infection à 100%.

Tableau 38 : Comparaison de l'activité Anti-HSV-1 du Calcium-spirulan, du spirulan, et le polysaccharide désulfaté dérivé du Calcium-spirulan [26]

<i>Composants</i>	<i>Cytotoxicité</i> <i>(ID₅₀, µg/mL)</i>	<i>Activité antivirale</i> <i>(ED₅₀, µg/mL)^a</i>	<i>Indice de</i> <i>sélectivité</i> <i>(ID₅₀/ ED₅₀)</i>
Calcium-spirulan	5200	0,86	6047
Spirulan	505	155	3,3
Polysaccharide désulfaté dérivé du Calcium-spirulan	146	24	6,1

^a Chaque composé a été ajouté en moyenne 3h avant l'infection virale.

L'action antivirale du calcium-spirulan est surtout préventive en agissant sur l'adsorption et pénétration des virus dans la membrane cellulaire. L'ingestion de spiruline et par conséquent de calcium-spirulan dans le cas d'une possible contamination pourrait être bénéfique pour diminuer le risque infectieux et ainsi prévenir la maladie.

2.7. Autres activités

La spiruline a fait l'objet à moindre échelle d'autres études que celles déjà présentées. Les différents sujets de recherches sont nombreux mais les études ne sont pas aussi rigoureuses que celles sur l'immunomodulation, l'effet antiviral, l'effet anticancéreux ou antioxydant. Néanmoins, elles permettent de se rendre compte du potentiel thérapeutique très riche de l'algue bleue.

2.7.1. Effets contre le diabète, l'obésité et la circulation sanguine

D'après Takai *et al.* (1991), la fraction soluble dans l'eau de la Spiruline a la propriété de diminuer le taux de glucose dans le sérum. Par ailleurs, Becker *et al.* ont montré en 1986 qu'une supplémentation en Spiruline de 2,8 g 3 fois par jour pendant 4 semaines entraînait une réduction du poids corporel chez les obèses. Iwata *et al.* (1990) ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats, suite à un apport de Spiruline. Cheng-Wu Z *et al.* ont montré que la phycocyanine et les polysaccharides de la spiruline possédaient une activité érythropoïétine [92].

2.7.2. Effets protecteurs contre les radiations

D'après Schwartz *et al.*, les molécules protectrices présentes dans l'extrait de Spiruline agissent comme facteurs stabilisants de l'ADN. On observe alors une diminution des micronucléus induits par les rayons γ . Des expériences conduites sur des enfants victimes de Tchernobyl auxquels on a administré de la Spiruline pendant 45 jours, ont montré une augmentation des cellules-T supresseurs et d'hormones. La radioactivité de leurs urines a diminué de 83% [92].

2.7.3. Effets contre l'hyperlipidémie

Le premier rapport sur la réduction du cholestérol sanguin par la Spiruline a été réalisé sur des rats par Devi et Venkataraman en 1983. Depuis, plusieurs chercheurs ont confirmé ces hypothèses par des expérimentations sur l'homme. En 1984, Kato *et al.* ont démontré que le taux de cholestérol diminuait lorsque l'alimentation était complétée de 16% par de la Spiruline. Dans une étude réalisée sur des rats en 1987, Iwata *et al.* ont montré qu'une alimentation enrichie à 5, 10 et 15% de Spiruline engendrait une diminution significative du cholestérol total, du HDL-cholestérol, des triglycérides et des phospholipides. Sur les essais réalisés sur l'homme, on a remarqué qu'un régime régulier à la Spiruline de 4,2 g/jour pendant 4 semaines engendrait une diminution du LDL-cholestérol et une baisse significative de dépôts graisseux dans les artères. Ce phénomène a été observé encore pendant les 4 semaines suivant la fin de l'ingestion. Cependant, si l'administration de Spiruline est discontinuée, le taux de cholestérol reprend sa valeur de départ.

Ce phénomène serait dû à l'augmentation de l'activité d'une enzyme, la lipoprotéine lipase, enzyme clé dans le métabolisme des triglycérides et des lipoprotéines [92].

Toutes les activités qui viennent d'être énumérées démontrent le grand potentiel de la spiruline et de ces constituants. Cependant pour une utilisation alimentaire ou pharmaceutique, il est nécessaire de savoir s'il existe un risque toxicologique ou bactériologique pour une consommation courante chez l'homme.

3. Toxicité et surdosage de la spiruline

La dose létale 50 (DL₅₀), évaluée par administration orale de phycocyanine à des rats et des souris, est estimée être supérieure à 3 g/kg. Aucun animale n'est mort après 14 jours suite à l'administration orale de phycocyanine et aucune différence physique et comportementale n'a pu être observée entre le groupe test et le groupe témoin [71].

En ce qui concerne les métaux lourds, la spiruline d'origine naturelle peut présenter une certaine contamination liée à la nature géologique des régions où elle croît. Or, la spiruline commercialisée en Europe provient exclusivement de bassins industriels ou artisanaux dont les milieux de culture sont strictement contrôlés et exempts de tout contaminant chimique.

Quant à l'éventuelle contamination microbiologique, elle est impossible dans une culture habituelle, puisque le milieu utilisé présente des conditions de vie telles (pH fortement basique) qu'aucune bactérie autre que la spiruline ne peut s'y développer. La spiruline a pendant des siècles servi d'alimentation traditionnelle au peuple tchadien des Kanembous et aux Aztèques mexicains de la vallée du Texcoco, sans que jamais ne soit décrite dans la littérature une seule complication pour surdosage [93].

4. Conclusion Intermédiaire

Spirulina platensis est une cyanobactérie aux multiples propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antivirale, stimulatrice du système immunitaire, protectrice du foie. Au vu des différentes études exposées, il semble que la spiruline agisse plutôt en amont de la maladie. Ainsi, son activité anti-oxydante a pour effet de diminuer le stress oxydant, son action anti-inflammatoire est constatée lors d'une administration *per os* avant l'induction de la réaction inflammatoire. Le calcium-spirulan agit par prévention de l'adhésion et de la migration des cellules tumorales vers la lame basale ou sur l'adsorption et pénétration virale dans la membrane cellulaire. La consommation régulière de spiruline diminue le taux de cholestérol et de glucose sanguin. Elle module ou maintient aussi le système immunitaire. Les actions de la spiruline ou de ses composants sont donc plus préventives que curatives, c'est pourquoi il semblerait plus juste de parler d'activités fonctionnelles que d'activités thérapeutiques.

VI. Production et marché de la spiruline

1. Production de spiruline

1.1. Développement artisanal

La spiruline est consommée depuis des siècles par différents peuples à travers le monde. Aujourd'hui de nombreux pays la cultivent artisanalement pour une consommation locale. Ainsi, des fermes artisanales se sont créées un peu partout dans le monde, principalement dans les pays du Tiers-monde où sévissent la famine et la malnutrition (Burkina Faso, Burundi, Cameroun, Kenya, Madagascar, Mali, Niger, Inde, Congo...) (Figure 35) [94] [95]. Dans ces pays, la spiruline contribue à aider les populations qui n'ont pas une diversité alimentaire suffisante, à apporter les protéines, vitamines et oligoéléments nécessaires à une nutrition équilibrée. De nombreuses ONG participent au développement local des fermes à spiruline dans le but d'apporter une solution simple et efficace à la malnutrition. La consommation de spiruline n'est pas un moyen de substitution de l'alimentation courante mais réellement un complément alimentaire riche, facile à cultiver et économiquement très avantageux pour ces peuples souvent très pauvres. Différents chercheurs, passionnés par cette algue et croyant à son potentiel pour éradiquer la malnutrition dans le monde, ont d'ailleurs écrits des ouvrages expliquant comment produire soi-même sa spiruline. Ainsi, Jean-Paul Jourdan, ingénieur en chimie et diplômé du M.I.T (Massachusetts Institute of Technology) a publié « Cultivez votre spiruline » en 1999 (revue en 2006) [96] et Ripley D. Fox, docteur à l'université Louis Pasteur de Strasbourg et du collège Pomona en Californie a publié deux ouvrages intitulés : « *Spirulina*, production et potentiel » et « Spiruline, Technique, Pratique et Promesse » aux éditions Edisud [5].

Les bassins peuvent être nombreux sur un même site et se développent par phases successives. Ici, 6 bassins sont exploités et d'autres (en haut à gauche) attendent toujours un financement.



Après quelques semaines, la récolte commence. Un bassin peut être récolté tous les 2 ou 3 jours, pendant toute l'année



La spiruline récoltée est pressée, extrudée puis séchée au soleil.



La spiruline est conditionnée en sachet, flacon ou gélules puis distribuée au famille dans les CREN (centres de récupération et d'éducation nutritionnelle) pour nourrir leurs enfants et apprendre aux mamans comment l'utiliser

Figure 35 : Culture et distribution de spiruline dans une ferme locale au Burkina Faso [94]

1.2. Développement industriel

Industriellement, la spiruline n'a connu qu'un réel essor dans les années 70 lorsque sa culture a été reprise sur le lac Texcoco au Mexique en 1976 par la société Sosa Texcoco. Depuis, plusieurs entreprises se sont implantées un peu partout : Siam Algae Company appartenant au groupe Dainippon Ink and Chemicals, Inc à Bangkok en 1979, Earthrise farm aux Etats-Unis en 1983, Cyanotech Corporation à Hawaï, etc. En 1995, il existait déjà une vingtaine d'exploitations industrielles dans le monde [5] (Figure 36). En France, d'une dizaine de producteurs en 2005, on est passé à une quarantaine de fermes de taille artisanale ou industrielle (Figure 36).

VI. Production et marché de la spiruline



Photo des bassins de production de micro-algues de la société Earthrise situés sur les côtes Californienne

Earthrise est une entreprise créée il y a 25 ans, pionnière dans la production de spiruline, elle distribue différents compléments alimentaires à base de spiruline dans 20 pays à travers le monde. Le laboratoire est agréé FDA, ISO 9001: 2000 et respecte les GMP. Leurs compléments alimentaires sont considérés comme GRAS



Photo des bassins de production de micro-algues de la société Cyanotech situés sur les côtes Hawaïenne

Cyanotech est une entreprise située à Hawaï qui développe et commercialise des produits naturels à base de micro-algues. La production de spiruline se fait dans des bassins qui s'étendent sur plusieurs hectares (cf photo). Cette société est agréé FDA, ISO 9001:2000 et respecte les normes GMP. Tous leurs compléments alimentaires sont considérés comme GRAS [97].



Photo des bassins de production de micro-algues de la société Alpha Biotech situés sur les côtes normandes

Alpha Biotech est une société française spécialisée dans la production et la commercialisation de microalgues et phytoplanctons. La spiruline est développée selon des procédés écologiques (engrais bio, chauffage solaire)

Figure 36 : Principales exploitations de micro-algues à travers le monde [97] [98] [99]

1.3. Milieu et conditions de croissance

Pour se développer, la cyanobactérie a besoin de lumière, d'une eau alcaline, avec un pH allant de 8,5 à 11 (pH optimum = 9,5), riche en azote et en carbone, et d'une température comprise en 25 et 40°C (Tableaux 39 et 40). Elle est produite dans des bassins, dans une eau peu profonde, brassée en permanence pour assurer une répartition régulière des éléments nutritifs. Une intensité lumineuse élevée sans agitation conduirait à la photolyse des microalgues. Une forte intensité lumineuse conjuguée avec une forte agitation donnera la croissance optimale. A l'inverse, en lumière et agitation faibles, la croissance sera lente, mais la pigmentation plus marquée, c'est-à-dire que la couleur sera d'un vert plus foncé et le bleu de la phycocyanine apparaîtra [5].

Tableau 39 : Milieu de culture de référence, le milieu Zarrouk [5]

COMPOSITION DU MILIEU DE BASE	
<i>(en g/l de solution aqueuse)</i>	
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO ₄	0,5
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1
NaCl	1
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,2
CaCl ₂	0,04
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	0,01
EDTA (acide éthylène diamino tétracétique)	0,08
1ml de A5 + 1ml de B6 pour chaque litre de milieu de base	
COMPOSITION DE LA SOLUTION A5	
<i>(en g/l)</i>	
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ , 4 H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	0,22
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,08
MoO ₃	0,02
COMPOSITION DE LA SOLUTION B6	
<i>(en mg/l)</i>	
NH ₄ VO ₃	22,9
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ , 24 H ₂ O	96
NiSO ₄ , 7 H ₂ O	47,8
Na ₂ WO ₄ , 2 H ₂ O	17,9
Ti ₂ (SO ₄) ₃	40
Co(NO ₃) ₂ , 6 H ₂ O	44

Le milieu de culture de référence est le milieu Zarrouk. Ce milieu est fabriqué à partir d'eau distillée, il n'est cependant pas très économique.

Tableau 40 : Autres milieux d'ensemencement et milieu d'entretien [96]

<i>Exemple d'une nourriture d'entretien</i>	
<i>(en kg d'intrants par kg de spiruline récoltée)</i>	
Bicarbonate	2,000
Sucre	0,400
Nitrate de potassium	0,045
Urée	0,300
Phosphate diammonique	0,050
Sulfate ferreux	0,005
Sulfate de magnésium	0,005
Chaux	0,010

<i>Exemple type de milieu d'ensemencement</i>	
<i>(g/litre)</i>	
bicarbonate	8
chlorure de sodium	3
nitrate de potassium	2
phosphate diammonique	0,12
sulfate de magnésium	0,1
urée	0,02
Chaux, sulfate de fer	0,02

1.4. Récolte de la spiruline

La productivité moyenne d'un bassin classique est de 10g de spiruline par m² et par jour. Après croissance, la spiruline est ensuite récupérée par filtration et séchée.

Dans les productions industrielles, le séchage se fait à haute température alors que dans les productions artisanales, le séchage se fait à basse température. Cette dernière méthode assure une meilleure préservation des vitamines et phytonutriments. Certaines industries ont développé le séchage par atomisation afin, justement, d'empêcher l'oxydation des vitamines et acides gras (Figure 37).

Partout où elle est cultivée, la spiruline se multiplie à une vitesse incroyable et augmente sa masse de 20% par jour. Son élevage est simple, efficace et sûr, car le milieu alcalin dans lequel elle se développe empêche tout développement bactérien.

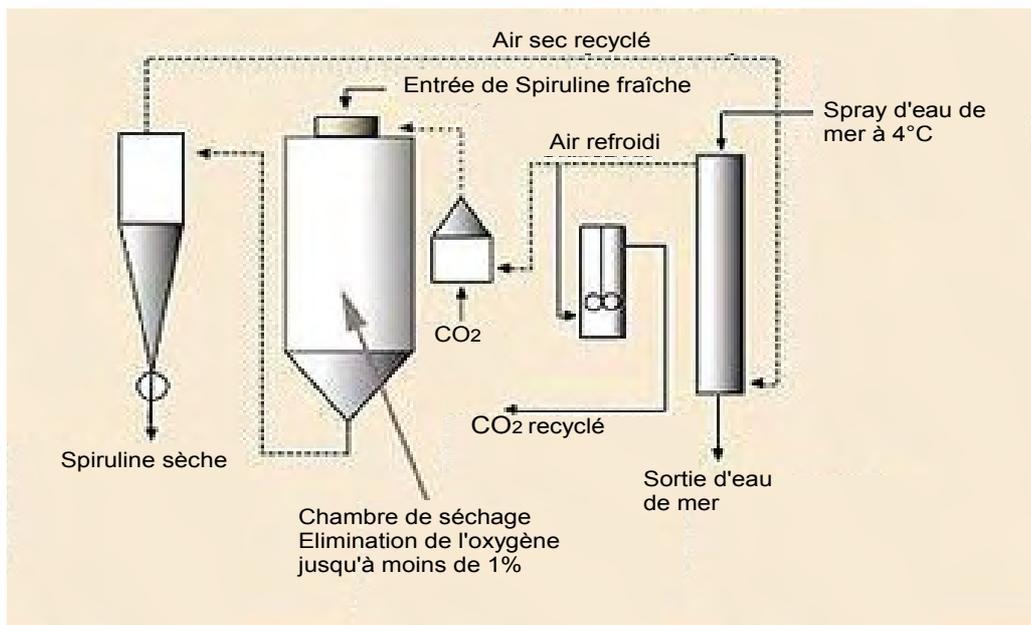


Figure 37 : Séchage par atomisation développé par la société Cyanotech [98]

2. Marché de la spiruline

Le marché des micro-algues a connu une croissance exponentielle au début des années 90 (Figure 38) et en 2004, il s'élevait à 5000 tonnes par an générant un chiffre d'affaire d'environ $1,25 \cdot 10^9$ \$ par an. Aujourd'hui le marché atteint près de 10000 tonnes par an. La spiruline est la micro-algue la plus cultivée dans le monde avec plus de 5000 tonnes par an [100]. Le marché de la spiruline est occupé par de grandes entreprises, qui produisent de forts tonnages et possèdent de grands bassins de culture. Le premier pays producteur est la Chine qui fournit près de la moitié du marché, suivie par les États-Unis. La France y tire également des bénéfices à travers les fermes de production ou les organismes revendeurs.

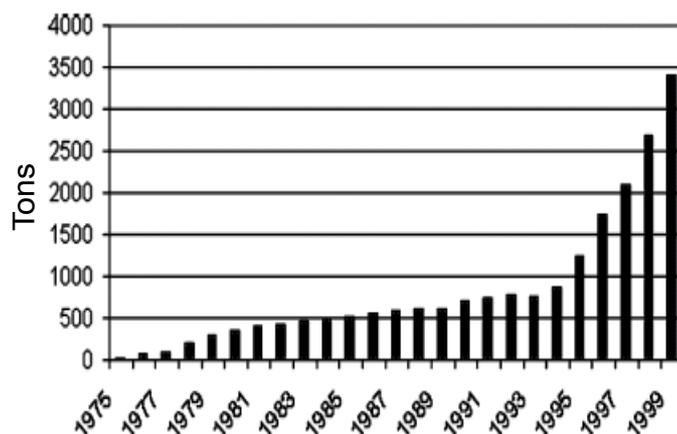
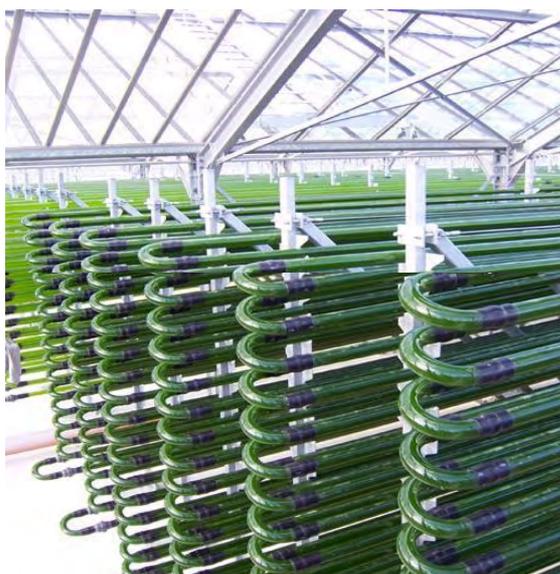


Figure 38 : Production mondiale de Spiruline entre 1975 et 1999 (1 tons = 1,016 tonnes) [100]

Récemment en octobre 2008, le groupe français Roquette, spécialiste de la transformation des matières premières agricoles, a annoncé le lancement d'un programme de recherche et développement sur les micro-algues afin de se positionner sur les marchés de la nutrition, de la santé et de la cosmétique. Ce programme, baptisé "Algohub", bénéficiera d'un budget de 28,4 millions d'euros sur cinq ans, a précisé Marc Roquette, PDG du groupe éponyme, lors d'une conférence de presse à Paris. Début 2008, le groupe a racheté une société allemande, BPS (Bioprodukte Prof. Steinberg), premier producteur européen spécialisé dans la culture des micro-algues à des fins alimentaires (Figure 39). L'objectif est de faire émerger une industrie autour de ce secteur encore peu développé: "nous visons le marché mondial", a assuré M. Roquette qui a affiché sa volonté d'être l'un des leaders de ce marché en devenir. Il a aussi annoncé être prêt à acheter d'autres sociétés qui sont sur ce domaine [101]. Le marché de la spiruline a donc de beaux jours devant lui.



En 1999, une installation ultra moderne basée sur une technique de culture de microalgues en photobioréacteurs a été mise au point en Allemagne à Klötze par la société BPS. Reposant sur un système fermé de tubes de verres assurant un apport de lumière optimal aux algues. Long de 500 kms sur une superficie de 1,2 ha, le volume de culture, réparti en 20 unités séparées, est d'environ 600 000 litres.

Figure 39 : Photo d'une unité de production de micro-algues par photobioréacteur [102]

VII. Discussion

Les éléments exposés jusqu'ici illustrent le grand potentiel de l'algue *Spirulina platensis* et de ses constituants. Mais toutes ses qualités ouvrent-elles la voie d'une exploitation de l'algue par les industries pharmaceutiques pour le développement d'un médicament ou par les industries alimentaires ou cosmétiques pour le développement d'aliment fonctionnel, de complément alimentaire ou de cosmétiques. Pour répondre à cette question, il est important de connaître et comprendre les enjeux et les contraintes de chaque type de marché.

Le marché des produits naturels est porteur et les professionnels de l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique l'ont compris. Tous ont développé des gammes de produits à base de composés naturellement actifs. Aux vues de ses nombreuses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques, la spiruline ne devrait pas y échapper.

1. *Spirulina platensis* et l'industrie cosmétique

On entend par "cosmétique" tout produit destiné à être mis en contact avec les parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres, organes génitaux externes, dents), en vue de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles. (Code de la Santé publique, article L.5131-1). Peu de produits à base de spiruline et à visée cosmétique existent actuellement sur le marché. Seules quelques crèmes à base d'algue spiruline existent (cf annexe) mais leur démonstration d'efficacité n'est basée que sur les publications scientifiques étudiées ultérieurement à savoir sur les propriétés de la spiruline utilisée par voie orale. A l'heure actuelle, aucune étude n'a été réalisée pour mesurer la biodisponibilité par la peau des molécules actives de la spiruline. Néanmoins, comme pour tous les produits cosmétiques, avant d'être proposés au consommateur, ils doivent faire l'objet d'un "dossier", dossier qui est en permanence tenu à la disposition des Autorités Sanitaires, notamment de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS) et du Service de la Répression des Fraudes (DGCCRF). Par ce dossier, l'industriel qui souhaite commercialiser un produit cosmétique assure qu'il a vérifié que

sa composition est en accord avec la réglementation européenne et nationale et donc que la sécurité et l'innocuité du produit a été prouvée.

Le marché de l'industrie cosmétique est un marché où le turn-over des actifs est important et où la concurrence est âpre. Ainsi, les nouveaux actifs mis sur le marché ne le restent pas longtemps, d'autant plus s'ils ne rencontrent pas le succès escompté. En outre, un investissement sur des actifs cosmétiques demande beaucoup d'argent et de temps, le nombre de molécules passant par tous les stades d'essais cliniques avant mise sur le marché est donc très limité. Le plus souvent d'ailleurs, il s'agit d'actifs développés en interne et donc brevetable. La spiruline, en tant que produit naturel, ne peut pas être brevetée, elle est alors potentiellement utilisable par tous les laboratoires cosmétiques. Ainsi, peu de laboratoires se risqueront à effectuer des recherches coûteuses pour démontrer son action sur la peau. Les laboratoires se baseront le plus souvent sur la littérature scientifique et les nombreuses études dont la spiruline a fait l'objet. Les qualités avérées de la spiruline associées à son faible coût de production et au fait que la tendance actuelle est à la commercialisation d'actifs naturels, donnent à la spiruline un excellent pouvoir marketing qui pourrait intéresser un grand nombre d'industriel de la cosmétique.

2. *Spirulina platensis* et l'industrie pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique, toujours en quête de nouvelles molécules, a été l'une des pionnières à observer la nature, à l'utiliser et à la copier. Plus de 60% des anticancéreux et 70% des antibiotiques utilisés aujourd'hui dérivent de produits naturels. Aujourd'hui la recherche de nouvelles molécules apportant un réel bénéfice thérapeutique est de plus en plus difficile et coûteuse. Les grands laboratoires pharmaceutiques ont besoin de trouver des molécules innovantes qu'ils pourront protéger par des brevets pendant plusieurs années et sur lesquelles ils pourront avoir un retour sur investissement rapide et de longue durée. C'est pourquoi, la tendance est aux médicaments biotechnologiques ou nanotechnologiques dérivés de la biologie moléculaire permettant le développement de molécules à action ciblée pour une réelle avancée thérapeutique.

La spiruline en tant que telle n'intéressera pas les industries pharmaceutiques car, malgré ses propriétés démontrées comme anti-inflammatoire, elle n'apporte pas de réelle avancée thérapeutique et ses effets sont surtout préventifs et non curatifs. Néanmoins, l'étude du mode

d'action et de la conformation des molécules actives de l'algue pourrait permettre le développement de nouvelles molécules synthétiques qui pourraient être exploitées dans des médicaments apportant un réel bénéfice thérapeutique.

La nature reste encore un grand champ de recherche à explorer et les industriels du médicament ne manqueront pas de s'en inspirer.

3. *Spirulina platensis* et l'industrie alimentaire

3.1. *Spirulina platensis*, un complément alimentaire ?

Depuis près de 10 ans, la spiruline a déjà été référencée dans de nombreux produits et formes galéniques différents (comprimés, gélules, poudre...) (cf annexe). Parfois appelés à défaut « cosmétique par voie orale », ces produits vantent les mérites de l'algue aux milles vertus sans pour autant avoir fait l'objet d'études scientifiques. Comme pour les cosmétiques, les industriels se fondent sur les nombreuses études dont la spiruline a fait l'objet. Cependant, comme illustré dans les paragraphes précédents, la spiruline et ses constituants ont réellement été testées *in vivo*, la transposition d'activité est donc possible, seule reste à démontrer que la dose active pour l'effet escompté a été atteinte.

Aujourd'hui, la quasi-totalité des compléments alimentaires à base de spiruline sur le marché ont comme indication de traiter la fatigue ou d'apporter une supplémentation protéique. Ces indications utilisent seulement les propriétés nutritionnelles de l'algue à savoir sa composition riche en protéines et en vitamines. Aucun ne fait part des propriétés thérapeutiques. En effet, il est légalement interdit pour un complément alimentaire de vanter des propriétés curatives ou thérapeutiques auquel cas, il serait considéré comme un médicament.

Dans le décret 2006-352, publié au Journal Officiel de la République Française le 20 mars 2006 : «on entend par complément alimentaire, les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses destinées à être prises en unités mesurées de faible

quantité”. Cette définition confirme que les compléments alimentaires sont bien des denrées alimentaires et apporte des éléments supplémentaires, notamment le fait que des substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique, tels certains phytoconstituants, ou des plantes... peuvent entrer dans leur composition [103]. La spiruline ou ses constituants extraits répondent donc parfaitement à cette définition, d'autant plus que sa composition est conforme à la liste des substances autorisées pour les compléments alimentaires (Tableau 41).

Tableau 41 : Liste des substances nutritionnelles autorisées en compléments alimentaires [103]

Arrêté du 9 mai 2006 relatif aux nutriments pouvant être employés dans la fabrication des compléments alimentaires (Décret 2006-352 du 20 mars 2006)

- Vitamines A, D, E, K, B1, B2, PP, B3, B5, B6, B8, B9, B12, C
- Minéraux (calcium, magnésium, fer, cuivre, iode, zinc, manganèse, sodium, potassium, sélénium, chrome, molybdène, fluorure, chlorure, phosphore...)
- Acides Aminés
- Acides Gras Essentiels
- Antioxydants
- Polyphénols
- Extraits de plantes

Dans les pays industrialisés, les carences en nutriments ou en vitamines sont rares, ceci étant lié à la diversité des aliments consommés qui assure la totalité des besoins et souvent même les dépasse. Certaines populations peuvent cependant avoir certaines carences. Ainsi, des carences peuvent apparaître dès suite d'un comportement alimentaire particulier (ex : carences en vitamine B12 chez les végétaliens). D'autres populations dites à risque peuvent avoir des carences du fait de certaines pathologies telles qu'une malabsorption intestinale ou un cancer. Enfin durant certaines périodes au cours de la vie, des carences peuvent aussi survenir (carence en fer et vitamine B9 chez les femmes enceintes, besoins accrus au cours de la croissance ou lors de la vieillesse par des pertes augmentées).

Pour toutes ces populations, la prise de compléments alimentaires peut être conseillée. La spiruline, grâce à sa composition nutritionnelle unique peut ici jouer un rôle bénéfique et pallier à la plupart des carences en nutriments. D'autant plus qu'aucun effet indésirable n'ait été déclaré chez l'homme, elle est donc totalement sûre sous sa forme native pour tous les types d'individus (à condition que sa culture ait été faite dans un environnement contrôlé sans métaux lourds).

Pour le reste de la population, le bénéfice nutritionnel de la spiruline est limité. Cependant la tendance actuelle dans les sociétés modernes va vers une consommation alimentaire déstructurée et de moins en moins diversifiée. La spiruline pourrait alors voir sa consommation augmentée dans les prochaines années.

Dans les pays où la diversité alimentaire est assurée, la spiruline consommée sous forme de complément alimentaire a donc un bénéfice limité. Seule une faible population est réellement concernée par les bienfaits nutritionnels de l'algue. Cependant, les compléments alimentaires ont aujourd'hui un tout autre intérêt que le simple fait de combler les carences nutritionnelles et cet intérêt peut concerner une cible beaucoup plus large de consommateurs.

En effet, les compléments alimentaires peuvent aussi avoir des effets fonctionnels c'est là où la consommation régulière de spiruline prend toute son importance. Ainsi, les effets antioxydants de la phycocyanine ou des vitamines (vitamines E et A), les effets protecteurs des membranes cellulaires et l'action sur le système immunitaire des acides gras essentiels (oméga 3 et 6) ou de la phycocyanine font entre autre parti des fonctionnalités apportées par la spiruline.

Il a été démontré lors de l'étude SU-VI-MAX (étude de cohorte réalisée durant 8 années sur 13017 individus sains), le lien de cause à effet entre l'apport de nutriments antioxydants (vitamines et minéraux) et le risque de cancer. Ainsi, il a été constaté une diminution de 31% du risque de cancer chez les hommes ayant reçu des antioxydants à doses nutritionnelles. Par contre, chez la femme aucun effet significatif n'a été observé, ceci s'expliquant par l'alimentation naturellement plus équilibrée des femmes par rapport aux hommes [104].

Les autres effets présentés dans le chapitre 3 (anti-inflammatoire, hépatoprotecteur...) permettent à la spiruline d'obtenir d'autres indications en terme de prévention de maladies inflammatoires, hépatiques, immunitaires ou cancéreuses, ce qui intéressera sans nul doute de nombreux industriels agro-alimentaires.

Tous ces effets fonctionnels démontrés donnent à cette algue de véritables atouts commerciaux pour que son développement en tant que complément alimentaire soit multiplié. D'autant que le marché des compléments alimentaires est porteur avec un accroissement exceptionnel des ventes en France de plus de 20 % par an.

3.2. Mise en garde sur la supplémentation

La consommation de compléments alimentaires, associée à une alimentation comprenant des aliments enrichis en vitamines et minéraux (de manière consciente ou par manque d'attention du consommateur vis à vis de cet enrichissement), peut conduire au dépassement des doses maximales autorisées. Il suffit par exemple, de consommer des aliments riches en zinc complétés par la prise d'un complément alimentaire, pour multiplier par deux les apports nutritionnels conseillés (ANC) et approcher ainsi la limite de sécurité.

Les compléments alimentaires peuvent donner le sentiment aux consommateurs qu'une alimentation déséquilibrée est sans conséquence, pourvu qu'ils consomment des vitamines et minéraux apportés par ces derniers. Il convient de rester prudent quant à la consommation des compléments alimentaires et de favoriser des aliments à forte densité nutritionnelle afin de bénéficier d'un apport optimal en vitamines, minéraux et micronutriments [105].

3.3. *Spirulina platensis*, un aliment fonctionnel ?

Ayant détaillé plus haut les différentes propriétés fonctionnelles de la spiruline en tant que complément alimentaire, se pose alors la question de savoir si cette algue peut être considérée comme un aliment fonctionnel.

Depuis ce nouveau millénaire, il y a un intérêt croissant pour le concept d'aliment fonctionnel. Les aliments dits fonctionnels doivent apporter des bénéfices physiologiques pour la santé autre que des apports nutritionnels ou énergétiques. Pour comprendre ce qu'est précisément un aliment fonctionnel, il est nécessaire de connaître tout d'abord la définition d'un aliment.

Un aliment est défini selon quatre valeurs : une valeur énergétique, une valeur nutritionnelle, une valeur sensorielle et une valeur fonctionnelle [106].

La spiruline peut-elle répondre à tous ces critères ?

3.3.1. Valeur nutritionnelle

La valeur nutritionnelle est une condition nécessaire d'un aliment. Tout aliment a un rôle nutritif à remplir. Il doit pour cela apporter les substances indispensables que l'organisme ne peut pas synthétiser tel que les acides aminés et acides gras indispensables, les oligoéléments, les vitamines et les minéraux.

La composition nutritionnelle de la spiruline répond donc parfaitement à ce critère.

3.3.2. Valeur énergétique

Un aliment se doit d'apporter de l'énergie à l'organisme sous forme de calories. Cette énergie est apportée principalement par les lipides, les protides et les glucides qui fournissent respectivement 9 kCal, 4kCal et 4kCal (1 kilocalorie (kCal) = 4,18 kilojoules (kJ)).

La composition nutritionnelle de la spiruline, riche en protéines, répond là aussi parfaitement à ce critère.

3.3.3. Valeur sensorielle

Chaque aliment doit convenir à nos 5 sens :

- La vue par son aspect esthétique, il doit plaire à nos yeux avant de plaire à notre bouche.
- Le toucher par sa texture. Une viande trop dure semblera moins appétissante qu'une viande tendre et juteuse.
- L'ouïe, le croustillant du pain, le croquant de la pomme pendant la mastication sont des éléments importants qui augmentent l'envie de manger.
- L'odorat, c'est avec le goût certainement le sens le plus important, une bonne odeur ouvre l'appétit et excite les papilles gustatives. L'odorat, grâce au mécanisme de rétro-olfaction, permet l'appréciation des saveurs des aliments.
- Le goût, sans nul doute le sens le plus important pour apprécier ou non un aliment. Bien

que chaque individu ait sa propre perception du goût et que selon les cultures cette perception peut changer, des constantes existent comme l'amertume, le salé, le sucré, le piquant. Le goût est très culturel et est très dépendant des habitudes alimentaires, c'est un sens qui s'apprend et qui évolue au cours de la vie.

Sur ce point, la spiruline ne répond pas forcément à ces critères. En effet, la vue de l'algue n'a rien d'appétissant ou du moins dans la culture occidentale. Il peut en être autrement dans les cultures africaines plus habituées à des nourritures à base d'ingrédients naturels, non transformés.

La texture de la spiruline séchée ressemble à celles des herbes de provence mais sans leurs odeurs caractéristiques. Par contre la texture de la spiruline mouillée, ressemblant à une bouillie verte et n'a rien d'attirant non plus.

De même le goût et l'odeur de l'algue séchée sont fades et ne risquent pas d'attirer le consommateur occidental.

La spiruline n'est donc pas un aliment qui excitera les sens du consommateur des pays développés.

3.3.4. Valeur fonctionnelle

Tout aliment est susceptible d'avoir une valeur fonctionnelle lorsqu'il a la propriété d'interférer sur les fonctions vitales de l'organisme et de moduler l'état de santé et au bien être d'un individu [106].

La fonctionnalité d'un aliment est apportée par une ou plusieurs molécules identifiables et présentant des activités spécifiques mesurables. Ces molécules ne sont pas forcément des molécules indispensables au même titre que certains acides aminés. Elles n'entrent pas non plus en jeu pour la régulation du métabolisme énergétique. La fonctionnalité d'un aliment est innée contrairement à l'aliment fonctionnel où l'action sur la fonction cible est acquise par transformation (ajout de composant, concentration...).

Sur ce dernier point, là encore la spiruline répond parfaitement à ce critère avec la présence innée de molécules actives telles que la phycocyanine et le calcium-spirulan. Ces molécules ayant démontrées tout leur potentiel fonctionnel sur des fonctions cibles de l'organisme.

En définitive, la spiruline peut être considérée comme un aliment fonctionnel malgré sa faible valeur sensorielle, valeur qui pourra être compensée par un mélange avec un autre aliment plus appétent.

Cependant Jean Trémolières, ancien directeur du laboratoire de nutrition humaine à l'hôpital Bichat a défini aussi l'aliment comme : « une denrée alimentaire comestible, nourrissante, appétente et coutumière » [107]. Concernant ce dernier point, bien que la spiruline soit en passe de devenir un aliment coutumier des pays où sévit la malnutrition, elle n'est assurément pas un aliment coutumier des assiettes des consommateurs des pays développés. Ceci s'explique en partie par le fait que selon les pays, les besoins alimentaires ne sont pas les mêmes. Dans certaines régions des pays pauvres, la spiruline était déjà consommée de manière traditionnelle. Aujourd'hui, la compréhension des peuples défavorisés qu'il faille lutter contre la malnutrition et que la spiruline peut les y aider, est un élément nouveau qui a favorisé le développement de la culture de l'algue spiruline dans ces pays. A l'inverse dans les pays riches, la consommation d'algue n'est pas coutumière des habitudes alimentaires et il n'y a pas de problème de manque de nourriture. Ainsi, le développement de la consommation de spiruline en tant qu'aliment ne semble pas nécessaire. Néanmoins, la spiruline pourra profiter du marché actuellement porteur des aliments santé. En effet, la nouvelle tendance pour les aliments fonctionnels va favoriser l'émergence et l'acceptation de nouveau aliment dans l'assiette des consommateurs et la spiruline pourrait bien en faire partie. Des industriels de l'alimentation comme le groupe Roquette, ont d'ailleurs, parié sur l'émergence du marché des micro-algues alimentaires en lançant un programme de développement appelé « Algohub ». Ce projet bénéficiera d'un budget à hauteur de 28,4 millions d'euros sur cinq ans [101] et permettra au groupe de devenir le leader européen des micro-algues alimentaires.

4. Conclusion de la discussion

La spiruline, compte tenu de ses activités nutritionnelles et fonctionnelles, peut être considérée comme un aliment fonctionnel.

A l'heure actuelle, bien que développée dans les pays pauvres pour son pouvoir nutritif, l'utilisation de la spiruline en tant qu'aliment reste limitée dans les pays riches où elle est majoritairement utilisée en tant que complément alimentaire. Ceci s'expliquant par des enjeux différents. Certains l'utilisent dans un but de survie, d'autre dans un but d'amélioration de qualité et de durée de vie, c'est pourquoi son développement suit des routes différentes.

L'industrie pharmaceutique n'a pas pour le moment développé de médicament à base de spiruline ou de ses dérivés. Mais compte tenu de ses effets préventifs, elle peut constituer un complément de choix pour améliorer les traitements médicamenteux parfois lourdes liés à certaines maladies (cancer, VIH, immunodépression...). De plus, la faible quantité de spiruline nécessaire à une ré-équilibration alimentaire, son risque toxique nul, ainsi que son faible coût de production pourrait rendre son utilisation régulière en milieu hospitalier.

L'utilisation seule des composés actifs de la spiruline tel que la phycocyanine ou le calcium-spirulan ne semble pas non plus un facteur déterminant pour améliorer son efficacité. Utiliser la spiruline sous forme d'extrait reviendrait à se priver de cette synergie qui est peut-être la principale cause de toute l'efficacité thérapeutique de la spiruline [93].

CONCLUSION

Depuis la nuit des temps, il existe sur Terre une source nutritionnelle et thérapeutique naturelle sans égale. Richesse protéique, acides aminés essentiels, acides gras essentiels, complexes vitaminiques multiples, fer biodisponible, activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immunomodulatrices, tout ceci condensé dans une simple algue bleue microscopique nommée *Spirulina platensis*.

Plus connue sous le nom de spiruline, cette cyanobactérie est aujourd'hui reconnue et utilisée dans les pays en voie de développement pour ses propriétés nutritionnelles pour lutter contre la malnutrition. Il est prouvé qu'une consommation régulière de spiruline permet à des enfants dénutris de suppléer aux besoins nutritionnels essentiels qu'une alimentation peu diversifiée ne peut leur apporter. C'est aussi dans le but de lutter contre la malnutrition que de nombreuses ONG viennent apporter leur aide, de part le monde, aux populations pauvres pour permettre un développement local et une gestion autonome de la culture de spiruline.

Dans les pays développés, même si la spiruline n'a suscité l'intérêt des scientifiques que tardivement, elle jouit aujourd'hui d'un intérêt grandissant grâce à ses multiples propriétés thérapeutiques. Ces effets bien qu'étant plus préventifs que curatifs, en font un complément alimentaire de choix pour prévenir la survenue de maladies tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers ou les infections virales, mais aussi pour diminuer les effets secondaires de traitements médicamenteux lourds tels que le sont les traitements antinéoplasiques ou antirétroviraux. Pour une fois, le terme d'aliment fonctionnel pourrait être employé à juste titre, tant le nombre et la qualité des études scientifiques portant sur la spiruline attestent de sa réelle valeur nutritionnelle et de certains effets thérapeutiques.

Au vu de toutes ces propriétés, les professionnels de l'industrie cosmétique, pharmaceutique ou agro-alimentaire, ont pris conscience de l'énorme potentiel commerciale de l'algue bleue. Pour le moment, les produits à base de spiruline sont encore peu nombreux, mais à l'heure actuelle où fleurit le concept de la nutrition-santé, il est certain que le marché des micro-algues alimentaires, avec comme chefs de files *Spirulina platensis* et *Chlorella vulgaris*, est à l'aube d'une croissance mondiale importante. Dans les années à venir, nos assiettes risquent fortement d'être remplies de micro-algues alimentaires sous une forme ou sous une autre.

Spirulina platensis apparaît comme l'aliment santé de demain. Au vu de tous ces éléments, l'algue bleue semble donner tout son sens au célèbre aphorisme d'Hippocrate : « Que ta nourriture soit ton médicament ».

ANNEXE

Annexe : Principaux produits contenant de la spiruline sur le marché (1/3)

Laboratoire <i>Nom du produit</i>	Indications	Posologie <i>Quantité de spiruline par unité</i>	Photo Prix
ARKOPHARMA <i>Arkogélule Spiruline</i>	<ul style="list-style-type: none"> - fatigue, convalescence - complément diététique du sportif - apport protéiné en période d'amincissement 	2 gélules matin, midi et soir, à prendre avec un grand verre d'eau au moment des repas <i>390 mg par gélule de poudre totale cryobroyée, titrée à 55 % de protéines</i>	 1 boîte de 150 gélules= 22,92€
3 CHENES <i>Chrono energy 1000</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Fatigue - Baisses de forme régulières 	1 comprimé le matin au cours du petit-déjeuner et 1 comprimé le soir au cours du dîner. <i>100 mg par comprimé</i>	 1 boîte de 14 comprimés = 6,50€

Annexe : Principaux produits contenant de la spiruline sur le marché (2/3)

Laboratoire <i>Nom du produit</i>	Indications	Posologie <i>Quantité de spiruline par unité</i>	Photo Prix
BIORGA <i>Ecophane 60 cpr</i>	- Nourrir, fortifier et aider la croissance des ongles et des cheveux	2 comprimés par jour pendant 3 mois <i>7,5 mg par comprimé</i>	 1 boîte = 49,20€
MARCUS ROHRER <i>Marcus Rohrer Spirulina 540 cpr</i>	- Effet tonique général - Revitalisant	2 comprimés 3 fois par jour pendant 1 mois <i>300 mg par comprimé</i>	 1 boîte de 180 comprimés = 36,90€
FORTE PHARMA <i>100% Abdos Men</i>	- Activer la construction des muscles - Réduire la masse grasse	1 comprimé et 1 capsule matin et soir <i>50 mg par comprimé</i>	 1 boîte de 28 cp = 17,60€
ALPHA BIOTECH <i>Spirulysat</i>	- Recommandée pour un rétablissement plus rapide après des maladies inflammatoires, de grosses fatigues ou des carences importantes	1 ampoule par jour pendant 20 jours <i>110 mg d'extrait dont 8 mg de phycocyanine</i>	 20 ampoules de 10ml = 24€

Annexe : Principaux produits contenant de la spiruline sur le marché (3/3)

Laboratoire <i>Nom du produit</i>	Indications	Posologie <i>Quantité de spiruline par unité</i>	Photo Prix
ESTHEDERM <i>Intensif Spiruline</i>	- Crème revitalisante haute concentration spécifique pour les peaux fatiguées et dévitalisées	Appliquer la crème sur la peau propre et sèche du visage, cou et décolleté après le Sérum Intensif Spiruline.	 50 ml = 76€
ESTHEDERM <i>Intensif Spiruline Sérum</i>	- Sérum revitalisant haute concentration spécifique pour les peaux fatiguées et dévitalisées	Appliquer le Sérum Intensif à la Spiruline sur la peau propre et sèche avant la Crème Intensive à la Spiruline et faire pénétrer	 30ml = 76€

Bibliographie

- [1] Chorus I. and Bartram J. *Toxic cyanobacteria in Water : A guide to their public health consequences, monitoring and management*. http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanobacteria.pdf, page consultée le 11 décembre 2006.
- [2] Prat R. et Vonarx V. *La structure de chloroplaste : La théorie endosymbiotique*. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Chloroplaste/endosymbiose.htm>, page consultée le 23 octobre 2008.
- [3] Girardin-Andréani C. *Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer*. *Phytothérapie*. 2005; **4**: p. 158-161.
- [4] Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. *Risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau*. www.afsset.fr/upload/bibliotheque/085391856141331010617707867709/cyanobacteries.pdf, page consultée le 17 février 2007.
- [5] Fox R.D. *Spiruline, Technique pratique et promesse*. Aix en provence: Edisud; 1999.
- [6] Charpy L., Langlade M.J. et Vicente N. *CSSD : " Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement"*. Colloque international. 3-6 mai 2004. p. 1-6.
- [7] Falquet J. et Hurni J-P. *Spiruline : aspects nutritionnels*. www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf, page consultée le 20 janvier 2008.
- [8] Svcerk C., Smith D.W. *Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment option: a review*. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 2004; **3**: p. 155-184.
- [9] Farrar W.V. *Techuitlatl, A Glimpse of Aztec Food Technology*. *Nature*. 23 juillet 1966; **211**: p. 341-342.
- [10] Paniagua-michel J., Dujardin E. et Sironval C. *Le Tecuitlal, concentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques*. *Cahiers de l'Agriculture*. 1993; **2**: p. 283-287.
- [11] Leonard J. et Compere P. *Spirulina platensis (Gom.) Geitler, algue bleue de grande valeur alimentaire par sa richesse en protéines*. 1967; **37 (1)**: p. Suppl. 23 p.
- [12] Delpeuch F., Joseph A. et Cavelier C. *Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (Oscillatoris platensis) chez quelques populations du Kanem (Tchad)*. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*. 1975; **29**: p. 497-515.
- [13] Sautier C. and Tremolieres J. *Food value of spirulina in humans*. *Annales de la Nutrition*

et de l'Alimentation. 1976; **30**: p. 517-534.

[14] Geitler L. *Cyanophyceae*. Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz Leipzig, Akademie Verlagsges. New York: Johnson; 1932. Reprinted 1971. p. 1-1196.

[15] Nelissen B., Wilmotte A., Neefs J.M. and De Wachter R. *Phylogenetic relationships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal RNA gene sequence analysis*. Systematic and Applied Microbiology. 1994; **17**: p. 206-210.

[16] Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. *Form-genus I. Arthrospira Stizenberger 1852*. D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York, USA: Springer; 2001. **1**. p. 542-543.

[17] Wheeler D.L., Chappey C., Lash A.E., Leipe D.D., Madden T.L. and Schuler G.D. *Database resources of the National Center for Biotechnology Information*. 2000; **28 (1)**: p. 10-14.

[18] Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G.M. *The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria*. In: Boone D.R & Castenholz R.W. (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer-Verlag; 2001. **1**.

[19] Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J, Rapp BA, Wheeler DL *GenBank*. janvier 2000; **28 (1)**: p. 15-18.

[20] Australian government, Department of Health and Ageing Therapeutic. *Compositional guideline, Arthrospira platensis*. www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm, page consultée le 05 décembre 2006.

[21] Babadzhanov A.S., Abdusamatova N., Yusupova F.M., Faizullaeva N., Mezhlumyan L.G. and Malikova M.Kh. *Chemical composition of Spirulina platensis cultivated in Uzbekistan*. Chemistry of Natural Compounds. 2004; **40 (3)**: p. 276-279.

[22] AFAA, Association française pour l'algologie appliquée. *Actes du premier symposium sur la spiruline Spirulina Platensis (Gom)*. Geitler de l'AFAA. 1982.

[23] Ross E., Dominy W. *The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (Spirulina platensis) for poultry*. Poultry Science. May 1990; **69 (5)**: p. 794-800.

[24] Xue C., Hu Y., Saito H., Zhang Z., Li Z., Cai Y., Ou C., Lin H., Imbs A. *Molecular species composition of glycolipids from Spirulina platensis*. Food Chemistry. 2002; **77**: p. 9-13.

[25] Harriman G.R., Smith P.D., Horne M.K., Fox C.H., Koenig S., Lack E.E., Lane H.C.

Vitamin B12 malabsorption in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Archives of Internal Medicine. 1989; **149 (9)**: p. 2039-2041.

[26] Hayashi T. and Hayashi K. *Calcium Spirulan, an Inhibitor of Enveloped Virus Replication, from a Blue-Green Alga Spirulina platensis* . Journal of Natural Products. 1996; **59**: p. 83-87.

[27] Sall M.G, Dankoko B., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwin N. *Résultats d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec la Spiruline à Dakar (à propos de 59 cas)*. 1999; **46 (3)**: p. 143-146.

[28] Avino P., Carconi P.L., Lepore L., Moauro A. *Nutritional and environmental properties of algal products used in healthy diet by INAA and ICP-AES*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2000; **244 (1)**: p. 247-252.

[29] Li Z-Y., Guo S-Y., Li L., Cai M-Y. *Effects of electromagnetic field on the batch cultivation and nutritional composition of Spirulina platensis in an air-lift photobioreactor*. Bioresource Technology. 2007; **98**: p. 700-705.

[30] Al-Homaidan A.A. *Heavy metal levels in Saudi Arabian Spirulina*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2006; **9 (14)**: p. 2693-2695.

[31] Campanella L., Crescentini G. and Avino P. *Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on Spirulina*. Analisis. 1999; **27**: p. 533-540.

[32] Romay C., Armesto J., Ramirez D., González R., Ledon N. and García I. *Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae*. Inflammation Research. Janvier 1998; **47(1)**: p. 36-41.

[33] Biorigin. *Documentation Biorigin pour "Azina" et "Ferrina", spiruline enrichie en zinc ou en fer*. <http://www.biospirulina.ch/>, page consultée le 16 février 2007.

[34] Colla L.M., Bertolin T.E., Costa J.A. *Fatty acids profile of Spirulina platensis grown under different temperatures and nitrogen concentrations* . Zeitschrift für Naturforschung. 2004; **59c (1-2)**: p. 55-59.

[35] Bujard E., Braco U., Mauron J., Mottu F., Nabholz A., Wuhrmann J.J. et Clement G. *Composition and nutritive value of blue-green algae (spirulina) and their possible use in food formulations*. 3rd International Congress of Food Science & Technology. Washington, 1970.

[36] FAO/WHO/UNU. *Protein Quality Evaluation. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation: 1985 FAO/WHO/UNU 2- to 5-yearold requirement pattern*. FAO; 1991. **51**.

- [37] Anusuya D.M. et Venkataraman L.V. *Supplementary value of the proteins of the blue-green algae Spirulina platensis to rice and wheat proteins*. 1983; **28**: p. 1029-1035.
- [38] Jacotot B., Campillo B. *Nutrition humaine, Abrégés, Connaissances et pratiques*. Paris: Masson; 2003.
- [39] Hudson B.J.F. et Karis I.G. *The Lipids of the Alga Spirulina*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1974; **25**: p. 759-763.
- [40] Cnera-Afssa, coordinateur Martin A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. Paris: Lavoisier; 2001.
- [41] Cuny A. *La fonctionnalité d'un aliment est-elle la somme des fonctionnalités des ingrédients qui le composent ?*. Thèse Docteur en Pharmacie. Nancy: Faculté de Pharmacie; 2005.
- [42] Gireesh T., Jayadeep A., Rajasekharan K.N., Menon V.P., Vairamany M., Tang G., Nair P.P., Sudhakaran P.R. *Production of deuterated beta-carotene by metabolic labelling of Spirulina platensis*. Biotechnology Letters. 2001; **23 (6)**: p. 447-449.
- [43] Seshadri C.V. *Large scale nutritional supplementation with spirulina alga. All India Coordinated Project on Spirulina*. Madras, India: Shri Amm Murugappa Chettiar Research Center (MCRC); 1993.
- [44] Puyfoulhoux G., Rouanet JM., Besançon P., Baroux B., Baccou J.C., Caporiccio B. *Iron availability from iron-fortified spirulina by an in vitro digestion/ Caco-2 cell culture model*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001; **49**: p. 1625-1629.
- [45] Unicef. *Un quart des enfants du monde en développement souffre d'une insuffisance pondérale grave*. Communiqué de presse du 02 mai 2006.
- [46] Unicef. *Faire reculer la malnutrition, c'est faire avancer les droits de l'enfant*. www.unicef.fr/accueil/sur-le-terrain/themes/sante-et-alimentation/malnutrition, page consultée le 17 novembre 2008.
- [47] Unicef. *La situation des enfants dans le monde 1998*. <http://www.unicef.org/french/sowc98/>, page consultée le 5 décembre 2007.
- [48] Simporé J., Kabore F., Zongo F., Dansou D., Bere A., Pignatelli S., M Bondi D., Ruberto G. and Musumeci S. *Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing Spirulina and Misola*. Nutrition Journal. 2006 January; **5 (3)**: p. 1-7.
- [49] ISP. *Institution Intergouvernementale pour l'utilisation de la micro-algue Spiruline*

contre la malnutrition. http://www.cisri.net/isp_02_fra.htm, page consultée le 28 mars 2007.

[50] Simpore J., Zongo F., Kabore F., Dansou D., Bere A., Nikiema J-B., Pignatelli S., M Biondi D., Ruberto G., Musumeci S. *Nutrition Rehabilitation of HIV-Infected and HIV-Negative Undernourished Children Utilizing Spirulina*. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2005; **49**: p. 373-380.

[51] Unicef. *Progrès pour les enfants : Un bilan de la nutrition*. <http://www.unicef.fr/mediastore/7/1767-4.pdf>, page consultée le 18 octobre 2008.

[52] US Food and Drug Administration. *Agency Response Letter GRAS Notice N° GRN 000127*. <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g127.html>, page consultée le 03 mars 2007.

[53] Conseil économique et social des Nations Unies. *Demande d'octroi à une organisation intergouvernementale du statut consultatif auprès du Conseil économique et social*. Lettre du 10 janvier 2002.

[54] Degbey H., Hamadou B., Oumarou H. *Evaluation de l'efficacité de la supplémentation en Spiruline du régime habituel des enfants atteints de la malnutrition sévère*. International Symposium on Cyanobacteria for Health, Science and Development. 2006. p. 104-108.

[55] Kapoor R., Mehta U. *Iron bioavailability from Spirulina platensis, whole egg and whole wheat*. *Indian journal of experimental biology*. 1992; **30 (19)**: p. 904-907.

[56] Romay C., González R., Ledón N., Ramirez D., and Rimbau V. *C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects*. *Current Protein and Peptide Science*. 2003; **4**: p. 207-216.

[57] Wang X-Q., Li L-N., Chang W-R. Zhang J-P., Gui L-L., Gua B-J., Liang D-C. *Structure of C-phycocyanin from Spirulina platensis at 2.2Å resolution: a novel monoclinic crystal form for phycobiliproteins in phycobilisomes*. *Acta Crystallographica*. 2001; **D57**: p. 784-792.

[58] Chemgapedia. *Phycobiline*. <http://www.chemgapedia.de/vsengine/popup/vsc/de/glossar/p/ph/phycobiline.glos.html>, page consultée le 05 juin 2008.

[59] Bhat V.B., Madyastha K.M. *C-Phycocyanin: A Potent Peroxyl Radical Scavenger in Vivo and in Vitro*. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 2000; **275**: p. 20-25.

[60] Mishima T., Murata J., Toyoshima M., Fujii H., Nakajima M., Hayashi T., Kato T. and Saiki I. *Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, Spirulina platensis*. *Clinical and Experimental Metastasis*. 1998; **16**: p. 541-550.

- [61] Lee J-B., Srisomporn P., Hayashi K., Tnaka T., Sankawa U. *Effects of Structural Modification of Calcium Spirulan, a Sulfated Polysaccharide from Spirulina Platensis, on Antiviral Activity*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 2001; **49 (1)**: p. 108-110.
- [62] Zhang Y-M., Chen F. *A simple method for efficient separation and purification of c-phycoyanin and allophycoyanin from Spirulina platensis*. Biotechnology Techniques. 1999; **13**: p. 601-603.
- [63] Sarada R., Pillai M.G., Ravishankar G.A. *Phycocyanin from Spirulina sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies*. Process Biochemistry. 1999; **34**: p. 795-801.
- [64] Piñero Estrada J.E., Bermejo Bescòs P., Villar del Fresno A.M. *Antioxidant activity of different fractions of Spirulina platensis protean extract* . Il Farmaco. 2001; **56**: p. 497-500.
- [65] Patil G., Chethana S., Sridevi A.S., Raghavarao K.S.M.S. *Method to obtain C-phycoyanin of high purity*. Journal of Chromatography A. 2006; **1127**: p. 76-81.
- [66] Herrero M., Martin-Alvarez P.J., Señorans F.J., Cifuentes A. and Ibañez E. *Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from Spirulina platensis microalga*. Food Chemistry. 2005; **93**: p. 417-423.
- [67] Bhat V.B., Madyastha K.M. *Scavenging of Peroxynitrite by Phycocyanin and Phycocyanobilin from Spirulina platensis: Protection against Oxidative Damage to DNA*. Biochemical and Biophysical Research Communication. 2001; **285**: p. 262-266.
- [68] Hirata T., Tanaka M., Ooike M., Tsunomura T. and Sakaguchi M. *Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from Spirulina platensis*. Journal of Applied Phycology. 2000; **12**: p. 435-439.
- [69] Mohan I-K., Khan M., Shobha J.C., Naidu M.U.R., Prayag A., Kuppusamy P., Kutala V.K. *Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity by Spirulina in rats*. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2006; **58**: p. 802-808.
- [70] Jayr C. *Effet antalgique des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase 2* . Bulletin du cancer. Janvier 2004; **91 (1)**: p. 125-131.
- [71] Romay C., Ledon N. and Gonzalez R. *Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation*. Inflammation Research. 1998; **47**: p. 334-338.
- [72] Romay C., Ledon N., Gonzalez R. *Effects of phycocyanin extract on prostaglandin E2 levels in mouse ear inflammation test*. Arzneimittelforschung. Décembre 2000; **50 (12)**: p. 1106-

1109.

- [73] Reddy CM., Bhat VM., Kiranmai G., Reddy M.N., Reddanna P. and Madyastha KM *Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by C-Phycocyanin, a Biliprotein from Spirulina platensis*. Biochemical and Biophysical Research Communication. 2000; **277**: p. 599-603.
- [74] Ramirez D., Gonzalez R., Merino N., Rodriguez S., Ancheta O. *Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice*. Drug development research. 1999; **48**: p. 70-75.
- [75] Gonzalez R., Rodriguez S., Romay C., Anchet A O., Gonzalez A., Armesto J. *Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid induced colitis in rats*. Pharmacological research. 1999; **39 (1)**: p. 55-59.
- [76] Benamouzig R. *Connaître la place actuelle des AINS dans la prévention du cancer colorectal*. www.fmcgastro.org/default.aspx?page=166, page consultée le 22 août 2008.
- [77] Subhashini J., Mahipal S.V.K., Reddy M.C., Reddy M.M., Rachamalla A. and Reddanna P. *Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562*. Biochemical Pharmacology. 2004; **68**: p. 453-462.
- [78] Lissi E.A., Pizarro M., Aspee A. et Romay C. *Kinetics of phycocyanine bilin groups destruction by peroxy radicals*. April 2000; **28 (7)**: p. 1051-1055.
- [79] Reddy M.C., Subhashini J., Mahipal S.V., Bhat V.B., Srinivas Reddy P. *C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophage*. Biochemistry and Biophysics Research Communication. 2003; **304 (2)**: p. 385-392.
- [80] Pardhasaradhi B.V.V., Ali A.M., Kumari A.L., Reddanna P. and Khar A. *Phycocyanin-mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS*. Molecular Cancer Therapeutics. 2003; **2**: p. 1165-1170.
- [81] Liu Y., Xu L., Cheng N., Lin L. and Zhang C. *Inhibitory effect of phycocyanin from Spirulina platensis on the growth of human leukemia K562 cells*. Journal of Applied Phycology. 2000; **12**: p. 125-130.
- [82] Université de Rennes 1 - Faculté de Médecine. *Apoptose*. www.med.univ-rennes1.fr/resped/s/biochimie/moleculaire/Apoptose2005-1.pdf, page consultée le 05 août 2008.
- [83] Bhat B.V., Gaikwad N.W., Madyastha K.M. *Hepatoprotective Effect of C-Phycocyanin: Protection for Carbon Tetrachloride and R-(-)-Pulegone-Mediated Hepatotoxicity in Rats*. Biochemical and Biophysical Research Communication. 1998; **249**: p. 428-431.

- [84] Ramirez D., Fernández V., Tapia G., Gonzalez R. and Videla L.A. *Influence of C-phycocyanin on hepatocellular parameters related to liver oxidative stress and Kupffer cell functioning*. Inflammation Research. 2002; **51**: p. 351-356.
- [85] Qureshi M. *Immune enhancement potential of spirulina in chickens*. Journal of Poultry Science. 1994; **73**: p. 46.
- [86] Qureshi M.A., Ali R.A., Hunter R.L. *Immunomodulatory effects of Spirulina platensis supplementation in chickens*. Poultry Disease Conference. 1995; **44**: p. 171-121.
- [87] Qureshi M.A. *Spirulina platensis exposures enhances macrophage phagocytic function in cats*. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 1996; **18**: p. 457-463.
- [88] Mao T.K., Van de Water J., Gershwin M.E. *Effects of a Spirulina-Based Dietary Supplement on Cytokine Production from Allergic Rhinitis Patients*. Journal of Medicinal Food. 2005; **8 (1)**: p. 27-30.
- [89] Hirahashi T., Matsumoto M., Hazeki K., Saeki Y., Ui M., Seya T. *Activation of the human innate immune system by Spirulina: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water*. International Immunopharmacology. 2002; **2**: p. 423-434.
- [90] Nemoto-Kawamura C., Hirahashi T., Nagai T., Yamada H., Katoh T., Hayashi O. *Phycocyanin enhances secretory IgA antibody response and suppresses allergic IgE antibody response in mice immunized with antigen-entrapped biodegradable microparticle*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 2004; **50 (2)**: p. 129-136.
- [91] Hayashi O., Ono S., Ishii K., Shi Y., Hirahashi T. and Katoh T. *Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by Spirulina (Arthrospira) platensis in mice*. Journal of Applied Phycology. 2006; **18**: p. 47-56.
- [92] Belay A. *The potential application of Spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management*. The Journal of the American Nutraceutical. 2002; **5 (2)**: p. 26-49.
- [93] Girardin-Andréani C. *La spiruline*. Cours/conférence de 2007.
- [94] Antenna Technologies France. *La culture de spiruline en images*. <http://www.antenna-france.org/95931.html>, page consultée le 15 octobre 2008.
- [95] Charpy L. *Compte rendu du mini colloque sur la production de spiruline artisanale*. Colloque. 26 au 28 juin 2002. p. 1-7.

- [96] Jourdan J-P. *Cultivez votre spiruline : Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline*. <http://www.antenna.ch/Publications.htm>, page consultée le 14 juin 2008.
- [97] Earthrise. *Company*. <http://www.earthrise.com/company.asp>, page consultée le 11 novembre 2008.
- [98] Cyanotech. *Cyanotech : Spirulina Pacifica*. www.cyanotech.com/pdfs/spirulina/CyanotechSpirulina.pdf, page consultée le 05 novembre 2008.
- [99] Alpha Biotech. *Qui somme nous ?*. <http://www.spirulinet.com/index.php?page=nous>, page consultée le 11 novembre 2008.
- [100] Pulz O., Gross W. *Valuable products from biotechnology of microalgae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004; **65**: p. 635-648.
- [101] Dailybourse. *Roquette se diversifie dans les microalgues*. www.daily-bourse.fr/news.php?news=AFP081014113901.vxvn3hxl, page consultée le 08 octobre 2008.
- [102] Bioprodukte Prof. Steinberg. *Le plus grand producteur européen de microalgues à Klötze/Altmark*. <http://www.bioprodukte-steinberg.de/>, page consultée le 15 octobre 2008.
- [103] Legifrance. *Décret 2006-352 du 20 Mars 2006 relatif aux compléments alimentaires*. <http://www.legifrance.gouv.fr/>, page consultée le 30 septembre 2008.
- [104] UREN, « Unité de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle ». *SU-VI-MAX*. <http://istna.uren.smbh.univ-paris13.fr/sites/suvimax/>, page consultée le 03 octobre 2008.
- [105] Afssa. *Compléments alimentaires*. <http://www.afssa.fr/index.htm>, page consultée le 07 octobre 2008.
- [106] Mejean L. *Fonctionnalité des aliments*. www.iaa-lorraine.fr/media/article/document/218246__478c8089e5471_diaporama_luc_mejean.pdf, page consultée le 13 octobre 2008.
- [107] Dr Lecerf J-M., Institut Danone. *Les compléments alimentaires : intérêts et limites*. <http://www.institutdanone.org/comprendre/publications/objectif-nutrition/081/dossier.php>, page consultée le 26 octobre 2008.

Index des Figures

Figure 1 : Endosymbiose primaire.....	7
Figure 2 : Endosymbiose secondaire	7
Figure 3 : Photo d'une femme kanembou " écrémant " la spiruline de la surface du Lac Rombou [5].....	13
Figure 4 : Différentiation <i>Spirulina maxima</i> et <i>Spirulina platensis</i> : Filaments de spiruline observés au microscope optique.....	17
Figure 5 : Besoins nutritionnels et Apports Nutritionnels Conseillés.....	37
Figure 6 : Apports nutritionnels en nutriments et effets sur l'organisme.....	37
Figure 7 : Production endogène des prostaglandines.....	42
Figure 8 : Malnutrition et mortalité des enfants [47].....	62
Figure 9 : Ration diététique inadéquate et cycle de la maladie [47].....	63
Figure 10 : Causes de la malnutrition chez les enfants [47].....	65
Figure 11 : Photo d'un enfant dénutri ayant été traité avec 10g/j de spiruline pendant 3 mois [49]	72
Figure 12 : Les 8 Objectifs du Millénaire pour le Développement [51].....	73
Figure 13 : Représentation schématique d'un phycobilisome classique.....	79
Figure 14 : Molécules de phycocyanobiline (à gauche) et de phycocyanine (à droite) [58].....	80
Figure 15 : 2 hexamères de C-phycocyanine dans l'unité asymétrique vue selon l'axe b (a); vue selon l'axe a (b) [57].....	81
Figure 16 : structure chimique des chromophores bilins de phycocyanine (a) et bilirubine (b) [56]	88
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition de différentes fractions obtenues à partir d'extrait protéique pendant le procédé de purification de la phycocyanine [64].....	89
Figure 18 : Effets inhibiteurs de la phycocyanobiline, de la phycocyanine et du glutathion sur l'oxydation du rouge de pyrogallol induite par le ONOO- [67].....	91
Figure 19 : Modification du spectre d'absorption de la phycocyanine après oxydation par des AAPH [59].....	92
Figure 20 : Courbe d'inhibition de la phycocyanine sur la décoloration de la crocine induite par les radicaux peroxydes [59].....	93

Figure 21 : Comparaison de l'effet inhibiteur de la phycocyanine native (a) et réduite (b) sur la peroxydation lipidique induite par des radicaux peroxydes dans des microsomes de foie de rat [59].....	94
Figure 22 : Effets in vivo de la phycocyanine sur la peroxydation des lipides du foie induite par le CCl4 chez le rat [59].....	95
Figure 23 . Réduction de la phycocyanobiline en phycocyanorubine.....	96
Figure 24 : Modification de l'absorbance à 618 nm de la phycocyanine native (a) et réduite (b) suite à l'oxydation induite par des radicaux peroxydes [59].....	96
Figure 25 : Activités antioxydantes de la phycocyanobiline et de l' α -tocophérol sur les radicaux libres d'AAPH attaquant les liposomes de phosphatidylcholine [68].....	97
Figure 26 : Activités antioxydantes de la phycocyanobiline et de la phycocyanine sur les AAPH [68].....	98
Figure 27 : Activités antioxydantes de la phycocyanine entière et dénaturée sur l'oxydation induite par les AAPH [68].....	99
Figure 28 : Mécanisme de l'inflammation et cycle de l'acide arachidonique [70]	102
Figure 29 : Représentation schématique des sites actifs des cyclo-oxygénases 1 et 2 et inhibition spécifique [70].....	110
Figure 30 : Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0.....	114
Figure 31 : Les 3 phases de l'apoptose [82].....	114
Figure 32 : Analyse Western Blot du clivage du PARP dans les cellules K562 traitées à la phycocyanine [79] [77].....	115
Figure 33 : Analyse Western Blot des protéines Bcl-2 et Bax des cellules K562 traitées à la phycocyanine (50 μ M) [79].....	115
Figure 34 : Effet d'un régime alimentaire à base de spiruline sur la sécrétion d'IL-4 des cellules mononucléaires du sang périphérique humain stimulées avec du PHA [88].....	121
Figure 35 : Culture et distribution de spiruline dans une ferme locale au Burkina Faso [94].....	130
Figure 36 : Principales exploitations de micro-algues à travers le monde [97] [98] [99].....	132
Figure 37 :Séchage par atomisation développé par la société Cyanotech [98].....	135
Figure 38 : Production mondiale de Spiruline entre 1975 et 1999 (1 tons = 1,016 tonnes) [100]	136
Figure 39 : Photo d'une unité de production de micro-algues par photobioréacteur [102].....	136

Index des tableaux

Tableau 1 : Différences entre les cellules d'algue bleue spiruline, procaryote et celles d'algues vertes, eucaryote [5].....	10
Tableau 2 : Les diverses appellations de la spiruline [3].....	15
Tableau 3 : Différences morphologiques entre le genre <i>Spirulina</i> et <i>Arthrospira</i> [5].....	16
Tableau 4 :Taxonomie récapitulative [5] [17] [18] [19].....	18
Tableau 5 : Résumé de plusieurs descriptions d' <i>Arthrospira platensis</i> [5].....	20
Tableau 6 : Distribution géographique naturelle de <i>Spirulina platensis</i> [5].....	22
Tableau 7 : Composition en acides aminés de <i>Spirulina platensis</i> [21].....	24
Tableau 8 : Composition en acides gras des lipides totaux et des lipides polaires chez <i>Spirulina platensis</i> [24].....	27
Tableau 9 : Vitamines hydrosolubles contenues dans la biomasse de <i>Spirulina platensis</i> en fonction des saisons (mg/100g de matière sèche) [21].....	30
Tableau 10 : Vitamines liposolubles contenues dans la biomasse de <i>Spirulina platensis</i> (mg/100g de matière sèche) [21] [20].....	30
Tableau 11 : Minéraux et oligoéléments contenus chez <i>Spirulina platensis</i> [28].....	31
Tableau 12 : Niveaux des éléments traces chez <i>Spirulina platensis</i> [28].....	33
Tableau 13 : Comparaison de la composition en acides aminés essentiels du profil type FAO 1985 avec la composition en acides aminés essentiels du profil de <i>Spirulina platensis</i> [36].....	39
Tableau 14 : Apports nutritionnels conseillés des vitamines hydrosolubles [40].....	48
Tableau 15 : Comparaison des ANC avec les apports de la spiruline [40].....	48
Tableau 16 : Apports nutritionnels conseillés des vitamines liposolubles [40].....	51
Tableau 17 : Comparaison des ANC en vitamines liposolubles avec les apports de la spiruline [40].....	52
Tableau 18 : Apports Nutritionnels Conseillés en minéraux et oligoéléments [40].....	58
Tableau 19 : Comparaison des ANC avec les apports de la spiruline [40].....	58
Tableau 20 : Synthèse des actions des oligoéléments et leurs signes de carences [41].....	59
Tableau 21 : Évolution du taux d'hémoglobine [27].....	68
Tableau 22 : Évolution plasmatique de la préalbumine [27].....	68
Tableau 23 : Paramètres anthropométriques des enfants au début de l'étude [48].....	70

Tableau 24 : Statut nutritionnel de départ (1) et de fin d'étude (2) [48].....	71
Tableau 25 : Composition du calcium-spirulan [60].....	82
Tableau 26 : Données de purification de la phycocyanine obtenue à partir de <i>Spirulina platensis</i> (récapitulatif).....	84
Tableau 27 : Conditions optimales (EC50 mini et rendement maxi) déterminées statistiquement [66].....	85
Tableau 28 : Effet de la phycocyanobiline, de la phycocyanine, et du glutathion sur l'oxydation du rouge de pyrogallol induite par l'ONOO- [67].....	91
Tableau 29 : Effet de la phycocyanine sur l'inflammation induite par la glucose oxydase dans les pattes de souris [32].....	103
Tableau 30 : Effet de la phycocyanine sur l'oedème induit par l'AA dans l'oreille de la souris [71]	105
Tableau 31 : Effet de la phycocyanine sur l'inflammation induite par TPA et MPO [71].....	105
Tableau 32 : Comparaison des cyclo-oxygénases 1 et 2.....	107
Tableau 33 : Comparaison des valeurs inhibitrices de différentes molécules sur les Cox-1 et Cox-2 [73].....	108
Tableau 34 : Effet d'une perfusion de phycocyanine (0,25 mg/ml) sur la libération de LDH d'un foie isolé de souris initialement perfusé avec du carbone colloïdal [84].....	119
Tableau 35 : Contenus en GM-CSF et IL-3 retrouvés dans le surnageant des cultures cellulaires de rate stimulées avec différents extraits spiruliniques [91].....	123
Tableau 36 : Effet inhibiteur du Calcium-spirulan sur la réplication de différents virus [26].....	124
Tableau 37 : Effet du Calcium-spirulan sur la pénétration du HSV-1 [26].....	125
Tableau 38 : Comparaison de l'activité Anti-HSV-1 du Calcium-spirulan, du spirulan, et le polysaccharide désulfaté dérivé du Calcium-spirulan [26].....	125
Tableau 39 : Milieu de culture de référence, le milieu Zarrouk [5].....	133
Tableau 40 : Autres milieux d'ensemencement et milieu d'entretien [96].....	134
Tableau 41 : Liste des substances nutritionnelles autorisées en compléments alimentaires [103]	140

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 12/12/2008

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

présenté par : Sébastien SGUERA

Sujet :
 SPIRULINA PLATENSIS ET SES CONSTITUANTS :
 INTERETS NUTRITIONNELS ET ACTIVITES
 THERAPEUTIQUES

Jury :

Président : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur

Juges : M. Luc MEJEAN, Professeur
 M. Bruno GRIFFOUL, Chef de produit

Vu,

Nancy, le 20 novembre 2008

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse


 Mme Dominique
 LAURAIN-MATTAR,
 Professeur


 Mme Dominique
 LAURAIN-MATTAR,
 Professeur

Vu et approuvé,

Nancy, le 24 NOV. 2008

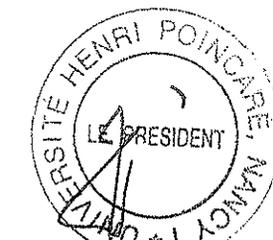
Doyen de la Faculté de Pharmacie
 de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,


 Chantal FINANCE
 FACULTE DE PHARMACIE

Vu,

Nancy, le 1.12.08

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,


 Jean-Pierre FINANCE

N° d'enregistrement :

N° d'identification :

TITRE

**SPIRULINA PLATENSIS ET SES CONSTITUANTS :
INTERETS NUTRITIONNELS ET ACTIVITES THERAPEUTIQUES**

Thèse soutenue le 12 Décembre 2008

Par Sébastien Sguera

RESUME :

Spirulina platensis, plus couramment appelée spiruline, est une cyanobactérie faisant partie des plus anciennes formes de vie connues sur Terre. Cette algue bleu-vert filamenteuse prolifère facilement dans les lacs alcalins et eaux saumâtres du monde entier. Déjà au 16^{ème} siècle, les peuples Aztèques la consommaient dans leur alimentation courante.

Grâce à ses qualités nutritionnelles complètes, incluant une valeur élevée en protéines (jusqu'à 70% en masse), des acides aminés et acides gras essentiels, des vitamines et des minéraux, associées à une haute digestibilité alimentaire, elle a fait ses preuves dans le cadre d'essais de réhabilitation nutritionnelle dans les pays où sévit la malnutrition. Elle serait ainsi un moyen de lutte pour éradiquer la faim dans le monde.

Dans les pays développés, son véritable essor n'est apparu qu'à partir des années 90 lors de la découverte de molécules actives comme la phycocyanine ou le calcium-spirulan. De nombreuses études leur ont reporté des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales ou encore des capacités hépatoprotectrices ou modulatrices de l'immunité.

Depuis plusieurs années, elle est cultivée artisanalement dans les pays en développement sous la tutelle d'ONG. Aujourd'hui, elle fait l'objet d'une culture intensive dans les pays développés. Des fermes industrielles modernes de plusieurs hectares exploitent cette cyanobactérie et commercialisent de nombreux compléments alimentaires vantant les mérites de l'algue aux milles vertus.

Les nombreuses qualités de cet algue en font sans nul doute un aliment fonctionnel qui intéressera les industries agro-alimentaires et cosmétiques. Cependant, il est difficilement concevable que cette algue non brevetable, intéresse en tant que telle, des laboratoires pharmaceutiques pour le développement d'un médicament. Ces derniers pourront néanmoins étudier le fonctionnement de ses molécules actives pour développer une molécule à activité thérapeutique ciblée.

L'ère de la nutrition-santé n'en est qu'à ses débuts, l'intérêt pour la spiruline et plus généralement pour les micro-algues va rapidement croître dans les années à venir.

MOTS CLES :

Spirulina platensis, spiruline, intérêts nutritionnels, phycocyanine, calcium-spirulan, aliment fonctionnel

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
<u>Mme Dominique LAURAIN-MATTAR</u> Professeur	Pharmacognosie	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème 4

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle