الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8مـــــاي1945قالمة
Université 08 Mai 1945 – Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et l'Univers

Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Département : Écologie et Génie de l'Environnement

Thème

Etude de la valeur nutritionnelle et microbiologique de *Spirulina Arthrospira Platensis*

Présenté par :

Ghaoui Ikram et Rahal Nourhane

Devant le jury composé de

Présidente : Dr. Abda Ahlem	**M.C.B**	**Université de Guelma**
Examinatrice : Dr. Abdi Soumia	**M.C.B**	**Université de Guelma**
Encadreur : Dr.Razkallah Zahra	**M.C.B**	**Université de Guelma**

Juin 2025

بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

Nous tenons à remercier les membres du jury : **Dr. Abda Ahlem**, Docteure à l'Université de Guelma, qui a accepté de présider le jury, ainsi que **Dr. Abdi Soumia**, Maître de conférences « B » à l'Université de Guelma, pour avoir bien voulu examiner notre mémoire.

Nous remercions aussi toutes les personnes qui nous ont aidés dans le travail de laboratoire. Nous pensons en particulier à **Amina,** ingénieure de laboratoire de microbiologie à l'Université de Guelma.

Nous adressons également nos chaleureux remerciements à **Dr. Doughmane**, Maître de conférences « B » à l'Université de Guelma, pour son soutien et sa disponibilité.

Nous souhaitons tout d'abord adresser nos sincères remerciements à notre encadreur de mémoire, **Dr. Razkallah Zahra**, Professeure à l'Université de Guelma. Nous lui sommes profondément reconnaissants pour le temps qu'elle nous a consacré, pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, ainsi que pour sa franchise et sa bienveillance. Nous avons énormément appris à ses côtés et nous lui exprimons toute notre gratitude.

Merci également à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Enfin, nous remercions tous les amis qui nous ont accompagnés tout au long de l'étape de l'éducation et tous ceux qui nous ont soutenus de notre famille.

Dédicace

Aux personnes les plus chères

À mon très cher père, merci pour ta patience, ton soutien indéfectible et ta foi en moi, même dans les moments difficiles. Ce travail est le fruit de tes sacrifices et de ton encouragement constant.

À ma très chère mère, merci pour ton amour, ton soutien sans faille et tous les sacrifices consentis pour ma réussite. Ce travail, aussi modeste soit-il, témoigne de ma profonde reconnaissance et de l'amour éternel que je te porte.

À mon binôme et meilleure amie Norhane, merci pour ta sagesse, ta patience et ton soutien tout au long de cette aventure, qui ont grandement contribué à ce mémoire et, je l'espère, marquent le début d'un grand succès pour toi.

À mon très cher frère, Abdou, Je te remercie infiniment et je te souhaite réussite et prospérité. Puissent nos liens fraternels se renforcer encore davantage.

À ma meilleure amie Yassmine, merci pour ton écoute, tes précieux conseils et la sincérité de tes sentiments. Tu as toujours été là pour m'encourager et me soutenir dans les moments difficiles ; en témoignage de cette belle amitié et des souvenirs partagés, je te dédie ce travail et te souhaite une vie remplie de santé, de bonheur et de réussite.

À mes cousines, merci d'être à mes côtés quand les temps étaient durs, merci de me faire rire quand je ne voulais pas sourire.

G.Ikram

Dédicace

À PAPA ET MAMA

À mes sœurs DARINE, SOUJOUD, FARAH

À Ma Binôme IKRAM

À QUI M’AIDE

À QUI JE T’AIME

À MOI

R. Nourhane

الملخص:

هدف هذا العمل إلى دراسة الجودة الغذائية والميكروبيولوجية لسبيرولينا (Arthrospira platensis) المزروعة محليًا في منطقة بسكرة. أظهرت النتائج ارتفاعًا في مستويات البروتين (11.9%) والكربوهيدرات1.87%)، مما يدل على جودة غذائية جيدة. كشف التحليل الميكروبيولوجي للسبيرولينا عن وجود جراثيم هوائية متوسطة الحرارة، والمكورات العنقودية الذهبية، والخمائر، والعفن. يشير هذا الوجود إلى احتمال تلوث المنتج بالميكروبات نتيجةً لفشل محتمل في شروط النظافة أثناء مراحل التصنيع أو التعبئة أو التغليف. يمكن القول إن هذا المنتج التجاري، سبيرولينا (Arthrospira platensis) ، ذو جودة متوسطة.

الكلمات المفتاحية: سبيرولينا، الجودة الغذائية ، تلوث برازي، النظافة، ظروف الزراعة, مؤشر ميكروبيولوجي

Résumé

Ce travail vise à étudier la qualité nutritionnelle et microbiologique de Spirulina *d'Arthrospira platensis* cultivés localement dans la région de Biskra. Les résultats ont révélé des teneurs importantes de protéines (11.9%) et carbohydrates (1.87%) ce qui signifie sa bonne qualité nutritionnelle. Les analyses microbiologiques sur la spiruline ont montré la présence des *germes totaux, Staphylococcus,* des levures et moisissures. Cette présence témoigne d'une contamination microbienne potentielle du produit à cause de défaillances possibles au niveau des conditions d'hygiène au cours des étapes de fabrication, de conditionnement ou d'emballage. On dire ce produit commercialisé dans le marché Algérien de la spiruline (*Arthrospira platensis*) est de qualité microbiologique moyenne.

Mots-clés : la spiruline, qualité nutritionnelle, indicateur microbiologique, hygiène, les conditions de culture.

Abstract

This work aimed to study the nutritional and microbiological quality of Spirulina from *Arthrospira platensis* grown locally in the Biskra region. The results revealed high protein (11.9%) and carbohydrate (1.87%) levels, indicating good nutritional quality. Microbiological analysis of spirulina revealed the presence of mesophilic aerobic bacteria, *Staphylococcus xylosus*, yeasts, and molds. This presence indicates potential microbial contamination of the product due to possible hygiene failures during the manufacturing, packaging, or conditioning stages. This product, marketed in the Algerian spirulina (*Arthrospira platensis*) market, is said to be of average microbiological quality.

Keywords : spirulina, nutritional quality, microbiological indicator, hygiene, cultivation conditions

Sommaire

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction générale

Première partie : Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *l'Arthrospira platensis*

Table des matières

Introduction **16**

Introduction générale **1**

Partie Bibliographique **1**

Chapitre I : Généralités sur la spiruline **1**

I.1. Définition des microalgues **4**

I.2 Histoire des spirulines **4**

I.2.1. Utilisation historique 4

I.3. Définition de la spiruline **6**

I.4.Taxonomie de *l'Arthrospira platensis* **6**

I. 4. Morphologie de *l'Arthrospira platensis* **7**

I.4. Ecologie de la spiruline **8**

I.5. Reproduction de *l'Arthrospira platensis* **9**

I.6. Cycle biologique de la spiruline **10**

I.7.Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition. **10**

I.7.1. Définition de la malnutrition 10

I.7.2. Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition dans le monde 11

I.7.3. Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition dans L'Afrique 11

A. Éthiopie 11

B. Afrique subsaharienne 12

Chapitre II : Valeurs nutritionnelles de la spiruline **13**

II.1. Composition nutritionnelle de la spiruline **14**
II.2. Protéines et acides aminés **14**
II.3. Lipides **15**
II.4. Glucides **16**
II.5.1. Bêta-carotène (provitamine A) 17
II.5.2. Vitamines du groupe B 17
II.5.3. Vitamine E 17
II.7. Minéraux et oligoéléments **17**
II.8. Pigments **19**
II.8.1. Caroténoïdes 19
II.8.2. Chlorophyle 19
II.9. Avantages et inconvénients de la consommation de la spiruline **20**
II.9.1. Mode de consommation de la spiruline 20
II.9.2. Avantages de la consommation de la spiruline 20
II.9.3. Inconvénients de la consommation de la spiruline 21
II.9.4. Applications de la spiruline 21
Partie expérimentale **23**
Chapitre I **23**
Matériel et Méthodes **23**
I. Matériel d'étude **24**
I.1. Matériel biologique 24
I.2. Matériel non Biologique 24
II. Méthodes **26**
II.1. Analyses des valeurs nutritionnelles de spiruline 26
II. 1.2. Extraction par macération dans l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide) 26
II.1.3. Dosage des sucres 27
II.1.4. Dosage des protéines 27
II.1.5. Détermination de la teneur en matière sèche et teneur d'humidité 28
II.2.8. Méthodes d'analyses microbiologiques 28
II.2.8.1. Recherche et Dénombrement des germes totaux (ISO4833-1, 2013) 28
II.2.8.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux. 30
II.2.8.3. Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux* 34
II.2.8.4. Recherche et dénombrement de Staphylocoques 36
II.2.8.5. Recherche et dénombrement des bactéries *anaérobies sulfito-reductrices (ASR)* 41

II.2.8.6. Recherche et dénombrement de Salmonelles 42
II.2.8.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures 44
Chapitre II : **48**
Résultats et discussion **48**
III. Résultats et discussion **49**
III.1.1Calcul des rendements d'extraits secs **49**
III.1.2. Dosage des sucres: 49
III.1.3. Dosage des protéines 50
III.1.4. Détermination de la teneur en matière sèche et en humidité 51
III.2. Résultats de la recherche et le dénombrement de des germes totaux **51**
III.2.1. Dénombrement des colonies 51
II.2.3. Coliformes totaux et fécaux 53
III.2.5. Staphylocoques 54
III.2.6. Anaérobies sulfito-réductrice (ASR) 57
III.2.7. Salmonelles 57
III.2.8. Levures et moisissures 58
Références Bibliographiques **64**
Annexes **78**

Liste des abréviations :

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

ARN: Acide Ribonucléique

BCPL: Bromocrésol Pourpre Lactose

D/S: double concentration

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

JORA : Journal Officielle de la République Algérienne

g : gramme

mg/kg: milligramme par kilogramme

mm : Millimètre

MS : Matière sèche

NPP : Nombre le Plus Probable

OMS: Organisation mondiale de la santé

pH: potentiel hydrogène

S/C : Simple concentration

SFB : Sélénite-f Broth

SM: suspension mère

SS : Gélose Salmonella-Shigella

UFC/ml : Unité formant colonie par millimètre

µL: microlitre

UNICEF : Fonds international des Nations Unies pour l'enfance.

VF: Viand foie

V/V : volume/volume

% : pourcentage

Liste de Tableaux

Tableau 01 : classification de la Spiruline.....6

Tableau 02 :Distribution géographique naturelle de Spirulina platensis.....9

Tableau 03 : Composition en acides aminés de Spirulina platensis 15

Tableau 04 : Analyses typiques pour la spiruline sèche 17

Tableau 05 : Les résultats et dénombrement des germes totaux dans la spiruline……..……52

Tableau 06 : Résultats de l'analyse microbiologique sur la spiruline.....61

Liste des Figures

Figure 01 : Diversité structurale et morphotypique des microalgues. 4

Figure 02 : La spiruline …….....5

Figure 03 : Morphologies typiques de la spiruline…….....7

Figure 04 : Cycle biologique de la Spiruline…….....09

Figure 05: Spiruline en ambalage utilisée dans notre étude.....24

Figure 06: Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à22°C dans les eaux…….....30

Figure 07 : Protocol de recherche et dénombrement des coliformes totaux, fécaux. (Méthode de NPP)…….....33

Figure 08: Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux ……...36

Figure 09 : Protocole de recherche de Staphylococcus aureus…….....37

Figure 10: La galerie API Staph 39

Figure 11: Recherches et dénombrement des spores clostridium sulfito-réducteur …….....42

Figure 12 : Protocole opératoire de la recherche des Salmonelles .....…...44

Figure 13: Protocole de Recherche et dénombrement des levures et moisissures …….....46

Figure 14 : Technique du drapeau : Empreinte sur ruban adhésif……..….47

Figure 15 : Teneurs en sucre de l'extraits de la spiruline 49

Figure16 : Teneurs des protéines de l'extrait de la spiruline.....50

Figure17: Aspect des colonies Aspect des colonies sur gélose(TGEA). 52

Figure18: Résultat de la recherche des coliformes totaux et fécaux en milieu liquide.....53

Figure19: Aspect des colonies des staphylocoques sur milieu Chapman.....54

Figure 20: Profil biochimique de Staphylococcus xylosus.....55

Figure 21: Observation microscopique après coloration des souche de Staphylococcus xylosu.55

Figure 22: Recherche d'oxydase chez Staphylococcus xylosus.....55

Figure 23: Recherche de la catalase sur le la souche Staphylococcus xylosus.....56

Figure 24 : Absence des colonies de Salmonella sur le milieu S.S.....56

Figure 25: Résultat de la recherche des Streptocoques fécaux après incubation.....57

Figure 26 : Résultats de recherche de sulfito-réducteurs dans notre échantillon de la spiruline ..57
Figure 27: Résultats des levures et moisissures sur le milieu de Sabouraud chloramphénicol.....58
Figure 28: Aspect des Colonies d'Alternaria alternata.....59
Figure 29 : Photo de référence…….....59
Figure 30 : Aspect des colonies Geotrichum candidum.....59
Figure 31 : Photo de référence……..……..…59

Introduction

Introduction générale

Les 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 et production d'oxygène **(Bernard.,2014)**. Dans ce groupe, existe le genre Spirulina ou Arthrospira, des cyanobactéries filamenteuses dénommée *Spirulina platensis (*ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de algues spiruline. **(Gomont., 1892).**

La Spiruline a été largement étudié et son usage maintenant est répandu dans le monde entier comme un produit alimentaire et comme un complément alimentaire **(Fox *et al*., 1996 ; Paleaz *et al*., 2006),** qui a attiré l'attention des chercheurs depuis de nombreuses années, comme indique les centaines de publications dans ses divers aspects. C'est une algue bleu-vert aux qualités nutritionnelles exceptionnelles par sa composition en protéines, lipides, glucides, vitamines et minéraux et qui fait beaucoup parler d'elle ces dernières années. **(Rogowski, 2008).**

La Spiruline fait l'objet d'un développement de cultures dans les régions où elle vie naturellement ; en Afrique, Asie et Amérique mais également dans des fermes spécialement conçues pour sa production à l'échelle industrielle, En Europe elle est produite sous serres ou en photo bioréacteurs **(Jourdan *et al*., 1999)**.

En Algérie, le premier mini-colloque sur la spiruline à était à Tamanrasset Avril 2004, des chercheurs et des scientifiques ayant une expérience de culture et des utilisations de spiruline sont venus de France. Dont la principale "matière première" de la spiruline est la lumière solaire et le natron c'est la base du milieu de culture puisque les régions à climat désertiques sont riches en natron, ce qui est le cas de Tamanrasset sont donc a priori bien placées pour cultive la spiruline **(Seguera *et al*, 2008).**

L'objectif de notre étude est valorisé la valeur nutritionnelle et microbiologique de *Spirulina Arthrospira Platensis.*

Elle se divise en deux principales parties :

La première est la synthèse bibliographique ; elle se divisé en deux chapitres :

Chapitre I : généralités sur la spiruline.

Chapitre II : Valeurs nutritionnelles de la spiruline.

La deuxième partie (étude expérimental) comprend deux chapitres :

Chapitre I : Intitulé matériel et méthodes

Chapitre II : Consacré aux résultats et discussions

Et enfin, nous terminons ce modeste travail par une conclusion.

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la spiruline

I.1. Définition des microalgues

Le terme « microalgues » (du grec, mikrós, qui signifie petit et du latin alga pour algue). Les microalgues sont définies comme des cellules microscopiques uniques, qui peuvent être procaryotiques, telles que les cyanobactéries (chloroxybactéries), ou eucaryotes. Ils sont semblables aux algues vertes (Chlorophyta). Les microalgues, présentent une classe d'organismes photosynthétiques, se trouvent généralement dans les milieux aquatiques ; marins et d'eau douce, notamment les rivières, les lacs, les eaux usées, les océans et les estuaires. La croissance de ces derniers est possible dans diverses conditions, niveaux de température, salinités, valeurs de pH et intensités lumineuses. Elles peuvent se développer seules ou en symbiose avec d'autres organismes aquatiques **(Barsanti *et al.*, 2008).**

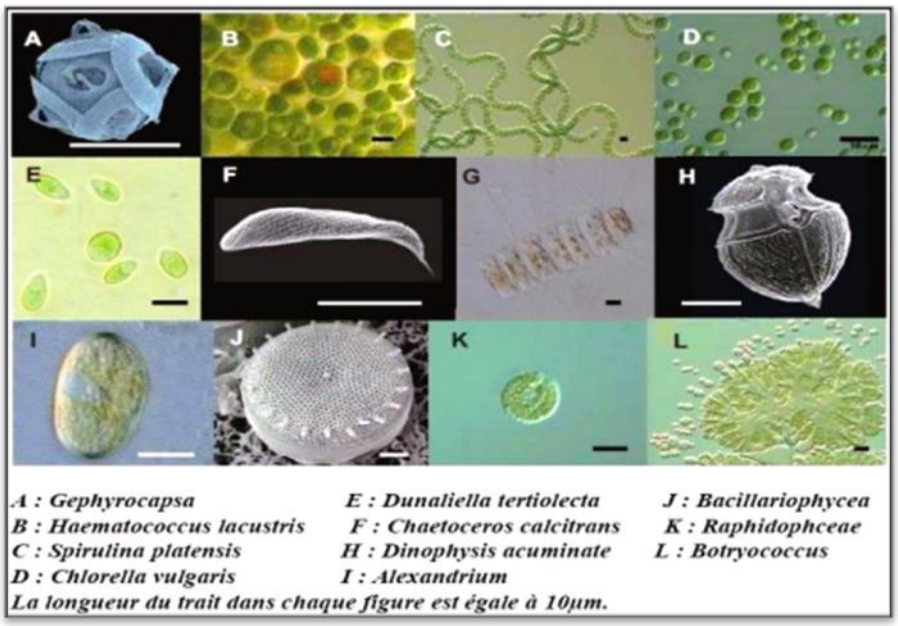

Figure 01 : Diversité structurale et morphotypique des microalgues (**Sumi, 2009**).

I.2 Histoire des spirulines

I.2.1. Utilisation historique

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 réussi à survivre pendant des siècles. Farrar en 1966 s'est interrogé sur les moyens qui ont permis à cette population de survivre. Le poisson et les oiseaux du lac Texcoco fournissent un apport protéique pas assez suffisant pour combler leurs besoins. Il suggéra que la source

complémentaire de protéines émanait d'une ressource qui provenait du lac, appelée Tecuitlatl **(Paniagua-michel *et al.*, 1993).**

De nombreux ouvrages de l'époque coloniale espagnole citaient déjà une certaine substance bleu-vert que les Aztèques utilisaient. Le tecuitlatl est une sorte de purée considérée par les colons comme minéral, une terre, un limon, consommée par les paysans après avoir été séchée et broyée. En réalité le tecuitlatl est un gâteau de spirulines, extrêmement riches en protéines, appartenant à l'espèce Spirulina maxima **(Paniagua-michel *et al.*, 1993).** L'algue ne fut vraiment redécouverte que quelques 450 ans après par le botaniste belge Léonard lors d'une expédition belgo-française basée au Tchad (1964 - 1965), bien que déjà décrite par Wittrock et Nordstedt en 1844 **(Fox. 1 999)**.

Léonard en 1968 a en effet constaté que les Kanembous (population d'Afrique centrale et occidentale vivant principalement à l'ouest du Tchad, dans la région du Kanem, sur la rive nord du lac Tchad) écumaient la surface des mares riches en carbonates de sodium, à la recherche de la fameuse algue abondante sur ce lac et la récoltée sous forme d'une purée bleuvert. Cette purée était ensuite utilisée dans la préparation des galettes appelées «dihé» (Girardin et Andréani, 2005). Compère et Leonard en 1968 constatèrent, en étudiant des échantillons qu'avait ramené Léonard de son expédition, qu'en effet les galettes contenaient essentiellement l'algue bleue Spirulina platensis.

Peu après, l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline. Ces chercheurs ont isolé des souches de spirulines, ils les ont purifiées, puis cultivées et en fin analysées. L'analyse a prouvé que les spirulines, qui en constituent la masse essentielle du «dihé», ont un contenu fabuleux: 50 à 60 % de protéines de bonne qualité alimentaire, 6 % de graisses et 15 à 20 % de sucres, ajouté à cela une multitude de vitamine 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**. (Delpeuch et al.,1975).**

I.3. Définition de la spiruline

Ce sont des cyanobactéries filamenteuses, non hétérocystiques qui sont généralement présent dans les régions tropicales et subtropicales des corps chauds d'eau à forte teneur en carbonate/bicarbonate, pH élevé, salinité. Leurs grands filaments vacuolés par le gaz (3 à 12 µm de diamètre) sont facilement recueillis par filtration et autres moyens physiques de séparation **(Ciferri *et al.*,1983).**

I.4.Taxonomie de *l'Arthrospira platensis*

La Spiruline est une cyanobactérie (anciennement désignée par le terme « algue bleue » puis cyanophycée). Elle appartient donc au domaine des bactéries (Bacteria) et se classe parmi les bactéries gram négatives. Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires.

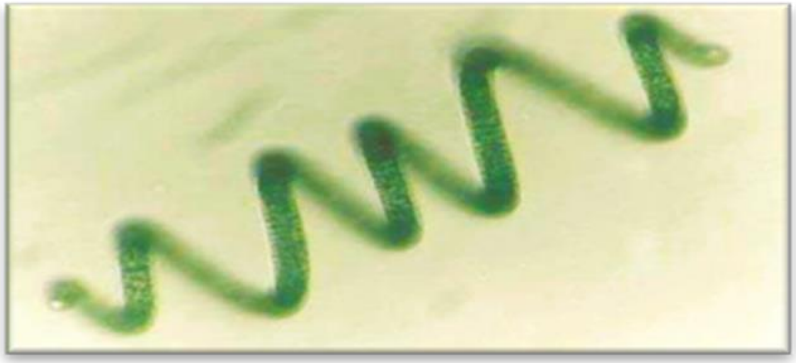

Figure.02 : La spiruline **(Jourdan, 2012).**

Elle est classée selon Ripley Fox (1999) dans :

Tableau 01 : classification de *Spiruline* (**Ripley Fox 1999**).

Règne	Monera
Sous règne	Prokaryota Phylum Cyanobacteria
Embranchement	Cyanophyta
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Nostocales
Famille	Oscillatoriceae
Sous Genre	Oscillatoriceae
Genre	Arthrospira
Espèce	*Arthrospira platensis*

I. 4. Morphologie de *l'Arthrospira platensis*

Arthrospira platensis est une microalgue multicellulaire et filamenteuse bleu-vert symbiotiques avec des bactéries qui fixent l'azote de l'air. Elles sont photosynthétiques, et donc autotrophes, et reproduits par fission binaire. Les trichomes (filaments*)* d'arthrospira, qui contiennent des cellules cylindriques alignées en spirales ou en lignes droites. La forme hélicoïdale des filaments est caractéristique du genre et n'est maintenue que dans un milieu liquide ou de culture. La présence de vacuoles remplies de gaz dans les cellules, ainsi que la forme hélicoïdale des filaments, donnent lieu à des tapis flottants. Ces filaments ont une longueur variable (généralement de 50 à 500 µm) et un diamètre proche de 3 à 12 µm, mais les dimensions des cellules, le degré d'enroulement et la longueur des filaments varient selon l'espèce. L'organisation cellulaire de Arthrospira est typique d'une bactérie procaryote à Gram négatif avec un manque d'organites liés à la membrane. La paroi cellulaire constitue une enveloppe faible composée d'un certain nombre de couches, principalement de nature peptidoglycane et lipopolysaccharide. Les cellules d'Arthrospira ont un certain nombre d'inclusions, telles que des membranes thylakoïdes avec des phycobilisomes, des carboxysomes, des ribosomes, des fibrilles d'ADN et des vacuoles de gaz, ainsi que des granules de polyglycogène, de polyphosphate et de cyanophycine. La surface corporelle d'Arthrospira est lisse et non recouverte, ce qui la rend facilement digestible par des systèmes enzymatiques simples **(Ciferri *et al.*, 1985 ; Habib *et al.*, 2008)**.

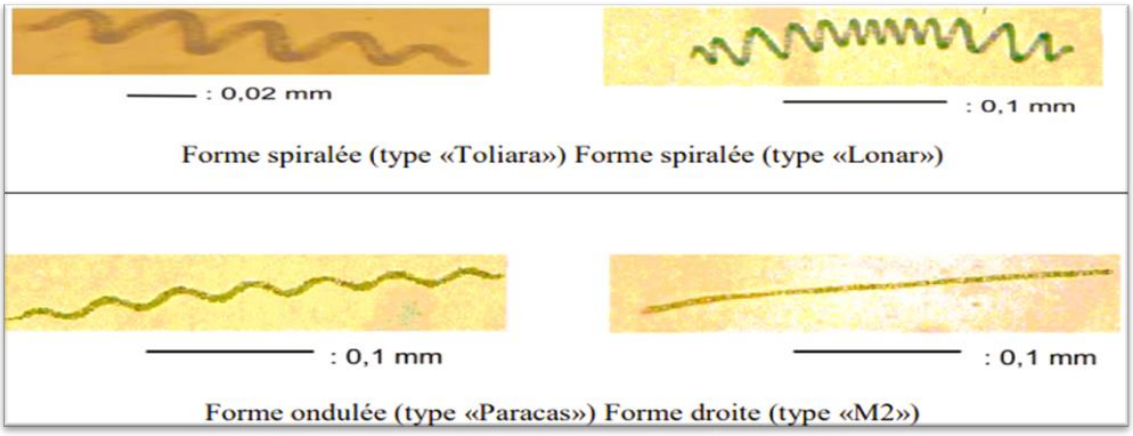

Figure 03 : Morphologies typiques de la spiruline **(Jarisoa, 2005**).

I.4. Ecologie de la spiruline

La spiruline se trouve dans les marais, l'eau douce, l'eau saumâtre, l'eau de mer et les sources thermales. Une eau saline alcaline (>30 g/l) à pH élevé (8,5-11,0) favorise la bonne production de spiruline, surtout lorsque le rayonnement solaire est élevé en altitude sous les tropiques. La *Spirulina platensis* a été isolée d'eaux contenant de 85 à 270 g de sel par litre, et une croissance optimale s'est produite entre 20 et 70 g de sel par litre. Un pH cytoplasmique relativement élevé (4,2 à 8,5) peut expliquer la capacité de ce micro-organisme d'utiliser l'ammoniac comme source d'azote à des valeurs élevées de pH alcalin **(Sasson., 1997).**

La spiruline est, comme la plupart des cyanobactéries, un photoautotrophe obligatoire, c.-à-d. qu'elle ne peut se développer dans l'obscurité sur des milieux contenant des composés de carbone organique. Il réduit le dioxyde de carbone dans la lumière et assimile principalement les nitrates. Le principal produit d'assimilation de la photosynthèse de la spiruline est le glycogène. La spiruline montre une croissance optimale entre 35°C et 37 °C dans des conditions de laboratoire. A l'extérieur, il semble qu'une augmentation de la température jusqu'à 39 °C pendant quelques heures ne nuise pas à l'algue bleu-vert, ni à sa capacité photosynthétique. Les souches thermophiles ou thermotolérantes de spiruline peuvent être cultivées à des températures comprises entre 35 et 40 °C. Une telle propriété a l'avantage d'éliminer les contaminants mésophiles microbiens. La température minimale de croissance de la spiruline est d'environ 15 °C pendant la journée. La nuit, la spiruline peut tolérer des températures relativement basses. La résistance de la spiruline aux rayons ultraviolets semble assez élevée **(Richmond., 1986).**

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. On la retrouve ainsi dans les lacs alcalins en Afrique, en Amérique latine, et en Asie du sud. Il s'agit certes d'un organisme cosmopolite mais il est beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe **(Charpy *et al.*, 2008**). Le tableau ci-dessous regroupe quelques sites où la spiruline est retrouvée naturellement :

Tableau 02 : Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis* **(Sguera *et al*.,2008)**

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
Azerbaidjan	*non précisé*
AMERIQUE DU SUD	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas
	Près de l'Ile d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lac Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac Quiliotoa : cratère de 1km de diamètre
AMERIQUE DU NORD	
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
EUROPE	
Hongrie	*non précisé*
France	Camargue
AUTRES SITES POSSIBLES	
Partout où vivent le flamant nain, *Phoenoconaias minor* (Afrique et Asie) et le flamant de James, *Phoenicoparrus jamesi* (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

I.5. Reproduction de *l'Arthrospira platensis*

La reproduction de *Spirulina platensis* est due à la fission binaire. *Spirulina platensis* ont un équipage comme les trichomes qui ont généralement fermé, uniforme et étroit diamètre de 0,5-3um. Les cellules à parois transversales sont visibles au microscope optique, sans vacuoles de gaz et avec des granules proéminents. Les trichomes ont une longueur de 50 à 500um et sa largeur est

jusqu'à 4um. Les bactéries à Gram négatif ont une paroi cellulaire similaire aux cyanobactéries qui contiennent du peptidoglycane, lysozyme hétéropolymère sensible **(M.Ahsan *et al*.,2008).**

I.6. Cycle biologique de la spiruline

La Spiruline se reproduit suivant un mode végétatif asexué, la multiplication ne se produit que par fragmentation, le trichome forme des cellules spéciales appelées Nécridies assimilées à des disques de séparation agirent comme des cellules spécialisées uniques (**Figure 4**), permettant la rupture du trichome, au niveau des quelles le trichome est divisé en plusieurs parties pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies **(Théodore., 2017).**Les cellules d'hormogonie subissent des processus d'agrandissement et de maturation, chaque individu va donner deux individus par scissiparité, qui sont identiques génétiquement et plus ou moins morphologiquement**(Théodore.,2017).**

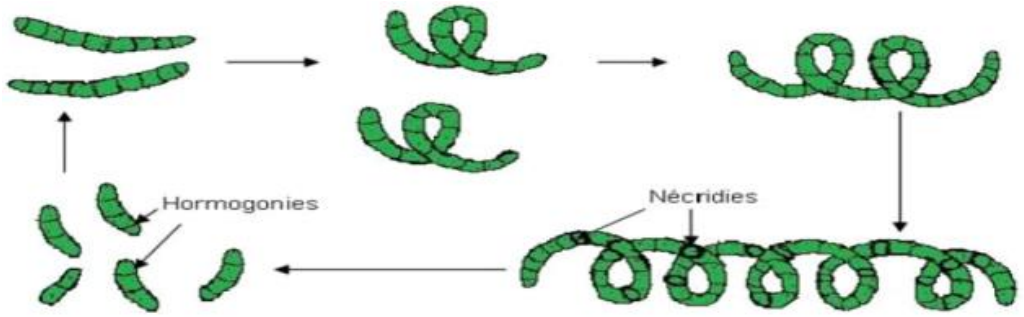

Figure 04 : Cycle biologique de la spiruline **(Charpy *et al.*, 2008**).

I.7.Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition.

I.7.1. Définition de la malnutrition

L'OMS définit la malnutrition comme l'état pathologique dû à la consommation prolongée d'une nourriture ne fournissant pas l'ensemble des éléments nécessaires à la santé **(Hug C *et al*.,2011)**. Elle est détectée de diverses manières, notamment par des mesures anthropométriques **(Themane *et al*.,2003)** et biochimiques. Les causes de la malnutrition des enfants sont complexes, et intimement liés entre elles, allant de la vulnérabilité économique jusqu'à des problèmes sanitaires tel que les infections respiratoires et les maladies diarrhéiques **(Smith *et al*., 2000)**.

Actuellement, il est bien admis que, la croissance physique, la morbidité, le développement cognitif, la reproduction et la capacité du travail physique sont influencées par l'état nutritionnel **(OMS, 1995).**

I.7.2. Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition dans le monde

Il apparaît aujourd'hui que la spiruline présente plus que jamais, un excellent potentiel dans la lutte contre la malnutrition chronique et pour le développement. Dans son rapport de 2008, la FAO avait émis deux recommandations à cet égard :

« Les organisations internationales travaillant avec la spiruline devraient envisager l'élaboration d'un guide pratique pour la production artisanale de spiruline **(FAO .,2008).**Cette production devrait être destinée à : (i) fournir des compléments nutritionnels pour une utilisation étendue dans les communautés rurales et urbaines où l'alimentation de base est pauvre ou inadaptée ; (ii) permettre la diversification par rapport aux cultures traditionnelles là où les ressources en terrain et en eau sont limitées **(FAO .,2008).**

Concernant cette recommandation de la FAO aux gouvernements et aux organisations intergouvernementales, il reste encore du chemin à parcourir. La Chine a déclaré la spiruline aliment d'intérêt national **(Henrikson, 2009)**, mais les autres gouvernements et les agences des Nations unies, telles que l'OMS, l'UNICEF et le PAM (Programme Alimentaire Mondiale), restent muettes. Des dizaines de milliers d'enfants à travers le monde sont traités avec succès avec la spiruline. Cette échelle est sans aucun doute une preuve suffisante de son efficacité et de son innocuité en situation réelle. Il est aujourd'hui absolument impératif que ces agences internationales prennent clairement position quant à l'utilisation de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition **(Hug C *et al*., 2011).**

I.7.3. Rôle de la spiruline dans la lutte contre la malnutrition dans L'Afrique

A. Éthiopie

La fourniture de compléments alimentaires alternatifs est essentielle pour améliorer la santé et l'état nutritionnel dans les pays à revenu faible ou intermédiaire comme l'Éthiopie, afin de prévenir la malnutrition due à un apport alimentaire inadéquat. La sous-nutrition, principale cause de mortalité infantile **(Adedokun *et al*., 2021 ; UNICEF, 2023),** nuit au développement de l'enfant et réduit le capital humain futur **(Mwene-Batu *et al*., 2020 Amir-ud-Din *et al*., 2022;).** En Éthiopie, cette dénutrition infantile est marquée par des inégalités socio-économiques et démographiques, notamment liées à l'éducation et au revenu **(Akombi *et al*., 2019), (Angdembe *et al*., 2019) ; (Zegeye *et al*., 2021).**

L'application de la Spiruline en poudre comme complément ou ingrédient alimentaire peut améliorer la nutrition des enfants en Éthiopie, notamment en l'intégrant dans le pain enrichi. Cette

microalgue, riche en protéines, acides aminés, vitamines et minéraux, permet de remédier aux carences nutritionnelles fréquentes, telles que la carence en iode chez les enfants **(Hassen *et al*., 2020)** et l'insuffisance en protéines, calcium, rétinol, thiamine, riboflavine, niacine et acide ascorbique chez les adultes urbains **(Amare *et al*., 2012).** En raison de ses propriétés hautement nutritives, la spiruline est un candidat approprié pour lutter contre la malnutrition dans les pays en développement **(Leal-Esteban *et al*., 2021).** Encourager sa production locale favoriserait également la recherche et le développement autour des microalgues en Éthiopie.

B. Afrique subsaharienne

L'Afrique subsaharienne affiche un taux élevé de malnutrition chronique, avec la Zambie enregistrant 45 % de retard de croissance chez les enfants de moins de cinq ans, dépassant la moyenne régionale **(OSC 2009 ; UNICEF 2013).** Environ 50 à 55 % des enfants souffrent de carences en vitamine A et en fer **(CSO 2009).** La spiruline contient divers nutriments tels que les protéines, le bêta-carotène, le fer et la vitamine B, qui sont généralement déficients dans les populations sous-alimentées **(Belay *et al*.,1993).** Facile à produire et intégrable aux aliments traditionnels, elle constitue un outil d'intervention prometteur contre les carences en protéines, vitamine A et fer **(Karkos *et al*., 2011 ; Hug *et al*, 2011).**

Chapitre II : Valeurs nutritionnelles de la spiruline

II.1. Composition nutritionnelle de la spiruline

L'analyse chimique de la spiruline a commencé en 1970 qui a montré que la spiruline était une excellente source de protéines, de vitamines et de minéraux **(Switzer *et al*.,1980).**

-Les protéines constituent environ 60 à 70 % de son poids sec (Ciferri *et al,* 1983). Contient une forte teneur en provitamine A (β-carotène) **(Belay, A. 1997)**, riche source de vitamine B12 et utilisée dans le traitement de l'anémie pernicieuse **(Belay, A, 1997 ; Becker *et al.*, 1984).**

- Les lipides constituent environ 4 à 7% **(Misbahuddin *et al.*, 2006).**

-- Les glucides représentent environ 13,6 % **(Shekharam *et al*.,1987).**

- Il a 2,2%-3,5% d'ARN et 0,6%-1% d'ADN **(Ciferri *et al*.,1983).**

- Il a aussi peu de pigments naturels tels que les carotènes, la chlorophylle et la phycocyanine et ces micro-organismes sont utilisés comme source de pigmentation pour les poissons, les œufs **(Henrikson *et al.*,1944 ;Ciferri *et al*.,1983 , Saxena *et al*.,1983).**

II.2. Protéines et acides aminés

La teneur en protéine de la spiruline varie entre 60 et 70% de son poids sec. Il s'agit d'une proportion exceptionnelle puisque la grande majorité des aliments à base de plantes (même ceux qui sont connus pour être « bonnes sources de protéines ») ne contiennent qu'environ 35 % **(Li ZY *et al.*, 2006)**. En fait, la C-phycocyanine, une molécule contenant de la phycocyanobilin, un homologue de la biliverdine **(McCarty M.,2007)**, est l'une des principales protéines présentes dans la spiruline. Dans une étude rapportant la présence d'environ 14 % de phycocyanine-C, une teneur de 4,7 % en phycocyanobiline a été mesurée **(McCarty., 2007)**, représentant environ 20 % du poids sec des algues **(Khan Z *et al.*,2005**).

Tableau 03 : Composition en acides aminés de *Spirulina platensis* **(Babadzhanov A.S *et al* .;2004).**

Acides aminés	**%**	**Acides aminés**	**%**
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

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, puisqu'on y retrouve tous les acides aminés essentiels comme l'indique le tableau ci-dessus (Tableau), (isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane), qui représentent 47% du poids total des protéines **(Falquet *et al*., 2006)**. Plusieurs études ont montré que la spiruline contient des acides aminés essentiels dans les proportions recommandées par la FAO (Food and Agriculture Organization ou Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture), pouvant être comparées à des normes de protéines telles que la viande, les œufs ou le lait, et avec une qualité supérieure à celles des protéines végétales **(Martínez-Galero *et al*., 2016 ; Lupatini *et al*., 2017).**

Les acides aminés soufrés, la méthionine et la cystéine, ainsi que la lysine, sont certes plus faiblement représentés **(Falquet *et al*., 2006),** mais il est important de noter la présence de méthionine, absente chez la plupart des autres « micro-algues » **(Lupatini *et al.*, 2017).** 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 (**AFAA, 1982).**

II.3. Lipides

La teneur en lipides totaux de la spiruline (principalement sous forme de di- et triglycérides) est généralement inférieure à 10 %. La composition en acides gras de la spiruline est très variable.

Les acides palmitique (25-60 %), γ-linoléique (4-40 %), linoléique (5-30 %) et oléique (5-17,5 %) sont majoritaires majoritaires), (**Hudson *et al.*,1974, Habib *et al.*,2008, Diraman *et al.*, 2009 ; Holman *et al.*, 2013)**. La présence d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne est inconstante (acides docosahexaénoïque et eicosapentaénoïque ; généralement < 5 %) **(Diraman *et al.*, 2009).** La littérature rapporte la présence de lipides soufrés (esters d'acides gras, de glycérol et de sucres sulfatés), minoritaires **(Kwei *et al.*, 2011).** La fraction lipidique insaponifiable (environ 13 % de la fraction lipidique totale) contient des stérols, des triterpènes pentacycliques, des hydrocarbures et des pigments **(Falquet *et al.*,2006).**

II.4. Glucides

Les glucides constituent 15 à 25 % de la matière sèche des spirulines (**Fox R.D *et al.*, 1999 ; Falquet J. *et al.*, 2008).** 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 (**Babadzhanov *et al.*,2004)**.

Les composés glucidiques importants de par leurs propriétés sont :

- Les cyclitols : le méso-inositol phosphate, une excellente source de phosphore organique intéressant aussi bien quantitativement que qualitativement ainsi qu'une quantité importante d'inositol, représentant environs 8 fois celle de la viande de bœuf, et des centaines de fois celles des végétaux qui en sont les plus riches **(Falquet *et al.*, 2006).**

- Deux polysaccharides complexes sulfatés et spécifiques de la spiruline, constitués de rhamnose, ribose, mannose, fructose, galactose, xylose, glucose, d'acides glucuronique et galacturonique, ainsi que d'ions calcium et sodium. Il s'agit du spirulane-calcique (Ca-Sp) et du spirulane-sodique (Na-Sp). Le Ca-Sp a fait l'objet de nombreuses études pour ses propriétés antivirales, anticoagulantes, et immunostimulantes **(Hayashi *et al.*, 1996 ; Hayakawa *et al.*, 2003 ; Furmaniak *et al.*, 2017).**

II.5. Vitamines

II.5.1. Bêta-carotène (provitamine A)

Parmi les caroténoïdes présents, le β-carotène (provitaminique A) est majoritaire (50 à 80 %). Les concentrations en β-carotène mesurées dans la spiruline sont de l'ordre de 1,4 à 1,7 mg/g **(Gershwin *et al*.,2008).** Une consommation de 5g/j de spiruline (quantité maximale préconisée par certains compléments alimentaires), apporte donc de 7 à 8,5 mg de bêta-carotène. Or la limite d'apport quotidienne en bêta-carotène par les compléments alimentaires a été estimée à 7 mg/j **(Afssa., 2009).**

II.5.2. Vitamines du groupe B

La spiruline contient des vitamines du groupe B **(Santillan et *al.*, 1982)**, B1 (environ 40-50 mg/kg), B2 (30-45 mg/kg), B3 (130-150 mg/kg), B5 (4,5-25 mg/kg), B6 (1-8 mg/kg) et B12 (0,1-2 mg/kg) **(Gershwin *et al*.,2008 ; Holman *et al*.,2013).** L'académie américaine de nutrition et de diététique considère que la spiruline ne constitue pas une source fiable de vitamine B12 pour les populations végétarienne et végétalienne **(Melina *et al.*, 2016).**

II.5.3. Vitamine E

La spiruline a une teneur en vitamine E de 100-190 mg/kg **(Santillan .,1982 ; Koru ,2012 ; Holman *et al*.,2013).**

II.7. Minéraux et oligoéléments

Tableau 04 : Analyses typiques pour la spiruline sèche (**Johnson P *et al* .,1986**).

Les minéraux	**Teneur en spiruline (mg/kg)**	**Dose quotidienne requise pour les adultes (47) (mg/jour)**
Calcium	1300-14000	1200
Phosphore	6700-9000	1000
Magnésium	2000-2900	250-350

Fer	580-1800	18
Zinc	21-40	15
Cuivre	8-10	1,5-3
Chrome	2,8	0.5-2
Manganèse	25-37	5
Sodium	4500	500
Potassium	6400-15400	3500

Les minéraux qui présentent un intérêt particulier pour la spiruline sont le fer, le calcium, le phosphore et le potassium. La très forte teneur en fer devrait être doublement soulignée car les carences en fer (anémies) sont très répandues, notamment chez les femmes enceintes et les enfants, et les bonnes sources alimentaires sont rares. À titre de comparaison, les céréales complètes, qui sont classées parmi les meilleures sources de fer, ne contiennent que 150 à 250 mg/kg.

Le calcium, le phosphore et le magnésium sont présents dans la spiruline en quantités comparables à celles du lait. Les quantités relatives de ces éléments sont équilibrées ce qui exclut le risque de décalcification par un excès de phosphore.

La teneur élevée en potassium mérite également d'être soulignée, car de nombreux nutritionnistes attaquent le rapport potassium/sodium très faible disponible dans la majorité des sources alimentaires.

Les autres minéraux présents comprennent le calcium, le magnésium, le zinc et le potassium, qui jouent tous un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire et le soutien des processus métaboliques (**Liestianty *et al*., 2019).** La biodisponibilité de ces minéraux dans la spiruline est généralement élevée, ce qui améliore sa valeur nutritionnelle en tant que supplément ou ingrédient alimentaire.

II.8. Pigments

L'une des caractéristiques distinctives de la spiruline est sa riche teneur en pigments, qui lui confère sa couleur bleu-vert (**Christaki *et al*.,2011)**.

II.8.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes présents dans la spiruline contribuent non seulement à l'activité photosynthétique, mais aussi aux effets antioxydants, neutralisant les radicaux libres et contribuant au potentiel général de promotion de la santé de l'organisme **(Sousa *et al*., 2008).**

-En ce qui concerne les caroténoïdes, le β carotène (pro vitamine A) est un précurseur de la vitamine A. Elle représente 40 à 80% des caroténoïdes de la spiruline. Le reste est composé de cryptoxanthine, de xanthophylle, d'échinénone, de zéaxanthine et de Lutéine. Les caroténoïdes étant très sensibles à l'oxydation, il est important de tenir compte des procédés de séchage **(Falquet *et al*.,2006).**

II.8.2. Chlorophyle

La chlorophylle est essentielle pour la photosynthèse et est présente en quantités importantes, contribuant à la capacité de la spiruline à prospérer dans divers milieux aquatiques **(Christaki *et al.*, 2011 ; Park *et al*., 2018).** Il s'agit plus précisément de la chlorophylle a, la seule chlorophylle présente chez les cyanobactéries. C'est une molécule de couleur verte commune aux plantes, capable de capter l'énergie lumineuse et intervenant dans les premières étapes de la photosynthèse.

Le taux de chlorophylle contenu dans la spiruline est de 1%. Le rapport phycobiliprotéines/chlorophylle varie de 2,5 à 4,5 en fonction de la salinité du milieu et des conditions de culture **(Leema *et al*., 2010).** Elle peut être détruite à haute température, d'où l'importance d'un séchage à basse température **(Manet *et al*., 2016).**

La chlorophylle aurait des propriétés digestives intéressantes :

- elle augmenterait le péristaltisme intestinal

- elle normaliserait aussi la sécrétion des acides digestifs et diminuerait la sécrétion de pepsine responsable d'ulcères digestifs, et apaiserait l'inflammation **(Furmaniak *et al*., 2017).**

II.8.3. Phycocyanine

Le pigment principal de la spiruline est la phycocyanine, un complexe pigment-protéine bleu qui peut représenter jusqu'à 47 % de son poids sec **(Sousa *et al* .,2008 ; Bortolini *et al*., 2022).** La phycocyanine joue un rôle clé dans les complexes de photosynthèse qui captent la lumière et est également reconnue pour ses propriétés antioxydantes (**Chaiklahan *et al*., 2022).** La publication de Liu et de ses collaborateurs portant sur les effets de la phycocyanine rapporte des effets antioxydant, anti-inflammatoire (par un mécanisme d'action anti COX-2), antitumoral et immunostimulant **(Liu *et al*., 2016).**

II.9. Avantages et inconvénients de la consommation de la spiruline

II.9.1. Mode de consommation de la spiruline

La consommation alimentaire traditionnelle de spiruline est bien documentée dans certains pays comme le Tchad et le Mexique. Les apports peuvent atteindre ou dépasser les 50 g par semaine (masse sèche) dans les aires de consommation traditionnelle **(Delpeuch *et al.*, 1976 ; Ciferri *et al* .,1985).** Une étude menée au Tchad rapporte la consommation de spiruline sous forme de sauce accompagnant le millet dans 1 à 6 collations sur les 10 prises alimentaires quotidiennes, à raison de 9 à 13 g par repas (masse sèche) **(Delpeuch *et al.*, 1976).**

Dans les études de supplémentation portant sur la prise en charge d'une malnutrition, les doses reçues étaient généralement de 5 à 10 g/j **(Simpore *et al*., 2006, Yamani *et al.*, 2009 ; Winter *et al.*, 2014 ; Gershwin *et al*., 2015).**

En France, la spiruline est commercialisée comme une denrée alimentaire en vrac, sous forme de poudre ou de compléments alimentaires, sous forme de gélules ou de comprimés pouvant apporter 0,25 à 5 g de spiruline par jour environ **(Cornillier *et a.,l* 2008).**

II.9.2. Avantages de la consommation de la spiruline

Pendant des siècles, les civilisations aztèques et mayas ont utilisé la spiruline comme principale source de nourriture **(López-Romero *et al*.,2018).** Aujourd'hui, elle est considérée comme sans danger pour la consommation humaine, a une très faible toxicité **(Gutiérrez-Salmeán**

***et al.*, 2015)** et représente plus de 30 % de la production mondiale de biomasse de microalgues. Elle est cultivée dans le monde entier comme ingrédient fondamental de nombreuses formulations nutraceutiques ou comme aliment **(Costa *et al.*, 2015).**

Plus récemment, la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis a attribué à la spiruline le statut de « généralement reconnue comme étant sans danger » (GRAS). En outre, le Dietary Supplements Information Expert Committee (DSI-EC) de la Pharmacopeial Convention des États-Unis (USP) a accordé à la spiruline une classification de « classe A » après analyse rigoureuse des rapports de cas cliniques, des données toxicologiques animales et des rapports d'événements indésirables, le rendant ainsi sans danger pour la consommation humaine **(Marles *et al*., 2011)** lorsqu'il est cultivé dans des conditions contrôlées **(Towatana *et al.*, 2010;Gutiérrez-Salmeán *et al*., 2015).**

II.9.3. Inconvénients de la consommation de la spiruline

Une étude menée sur 31 échantillons commerciaux de spiruline vendus sur le marché grec a mis en évidence des contaminations bactériennes **(Vardaka *et al.*, 2016)** : 469 espèces bactériennes hétérotrophes ont été mises en évidence, dont certaines peuvent être pathogènes parmi les genres identifiés *Pseudomonas, Flavobacterium, Vibrio, Aeromonas, Clostridium, Bacillus, Fusobacterium, Enterococcus.* La viabilité de ces espèces n'a pas été évaluée. Les lieux de production des échantillons étaient très variés. Des bactéries du genre *Clostridium* ont été identifiées dans des compléments alimentaires vendus en Europe et contenant de la spiruline : les trois lots testés, issus d'un même fabricant, excédaient les normes admises dans l'alimentation, deux présentant des teneurs supérieures à 107 UFC/g **(Hoekstra *et al*., 2011).**

II.9.4. Applications de la spiruline

A. Dans les aliments

La spiruline est largement utilisée dans l'industrie alimentaire comme complément et ingrédient fonctionnel en raison de sa haute valeur nutritionnelle **(Christaki *et al*., 2011 ; Abu-Ghannam *et al*., 2019)**. Présentée sous forme de poudre ou de comprimés, elle est ajoutée à divers produits comme les smoothies et les barres énergétiques **(Sommella *et al*., 2018)**. Grâce à sa teneur élevée en phycocyanine, elle sert aussi de colorant naturel **(Bastiaens *et al*., 2023).** Riche en acides

aminés essentiels, vitamines B, β-carotène, fer et calcium, elle améliore l'apport nutritionnel, surtout en contexte de malnutrition **(Wild *et al*., 2018 ; Bortolini,, 2022 ; AlFadhly *et al*., 2022).** Elle contribue également à la gestion du cholestérol, du sucre sanguin et possède des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, utiles pour la santé et la conservation des aliments **(Anvar *et al.*, 2021 ; Alshuniaber *et al.*, 2021 ; Calella *et al.*, 2022).**

B. Dans la médecine.

La spiruline présente un fort potentiel thérapeutique grâce à ses composés bioactifs tels que la phycocyanine, les polysaccharides sulfatés et les PUFA, qui lui confèrent des propriétés immunomodulatrices, antioxydantes, anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses (**Konícková *et al*., 2014 ; Bortolini *et al*., 2022 ; Chaiklahan *et al*., 2022)**. Elle stimule l'immunité innée et adaptative **(Calella *et al*., 2022)** et pourrait soulager les allergies en modulant la réponse immunitaire **(Gromek *et al*., 2024).** Le Ça-SP, un polysaccharide sulfaté de la spiruline, inhibe la réplication des virus enveloppés comme le VIH et la grippe **(Hayashi *et al*., 1996); (Carbone *et al.*, 2021).** Elle possède aussi des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries et champignons pathogènes **(Abdel-Moneim *et al*., 2022).** Son potentiel anticancéreux est lié à l'induction de l'apoptose et à l'inhibition de l'angiogenèse **(Fernandes *et al*., 2023).** De plus, la spiruline a des effets hypolipémiants, améliore le contrôle glycémique chez les diabétiques **(Torres-Duran *et al*., 2007**), et favorise la perte de poids en réduisant l'apport calorique **(DiNicolantonio *et al*., 2020**).

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I. Matériel d'étude

I.1. Matériel biologique

Le matériel biologique employé dans notre étude est de la spiruline en paillettes commercialisé dans le marché Algérien, conditionnées dans des sachets de 100 grammes. Cette spiruline a été cultivée au sein d'une ferme pédagogique locale située dans la wilaya de Biskra.

Figure 05: Spiruline en ambalage utilisée dans notre étude.

I.2. Matériel non Biologique

L'ensemble du matériel non biologique utilisé dans notre étude, comprenant l'appareillage, les verreries et les instruments, est présenté de manière détaillée.

Matériel

• Les verreries.

• Centrifugeuse.

•Rotavapor

•Soxhlet

• Balance de précision.

• Balance analytique.

• Spectrophotomètre.

• Etuve.

• Bain marie.

• Agitateur

• pH mètre

Verreries et instruments

•Béchers

•Papier aluminium

•Tubes à essai + support

•Coton

•Flacons

•Eprouvette graduée

•Entonnoir

•Verre de montre

•Pissette

•Pipette graduée

• Papier filtre

• Boite de pétri

•Lames

•Spatule

Milieux de culture et réactifs

•Gélose VF

•Milieu Chapman.

•Milieu SS.

•Milieu Sabouraud chloramphénicol

•Milieu TGEA

•Milieu BCPL.

•API Staph

•Reactifs de Kovacs.

II. Méthodes

II.1. Analyses des valeurs nutritionnelles de spiruline

II. 1.2. Extraction par macération dans l'éthanol aqueux (extraction solide/liquide)

L'extraction par macération est l'une des méthodes d'extraction les plus utilisées pour l'obtention des métabolites secondaires des plantes médicinales.

-La macération consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

-Un échantillon de 10 g de Spiruline en poudre est soumis à une extraction solide-liquide à l'aide d'un solvant hydro-alcoolique constitué d'éthanol et d'eau dans un rapport volumique de 80:20 (v/v). La macération est effectuée sous agitation continue, à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant une durée de 24 heures, afin de préserver l'intégrité des composés photosensibles. Le mélange obtenu est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre de type Whatman. Afin d'optimiser le rendement d'extraction et d'épuiser le substrat végétal, cette procédure est répétée deux fois sur le résidu solide. Les extraits successifs sont ensuite regroupés pour être utilisés dans les analyses ultérieures.

II.1.2.1. Calcul des rendements d'extraits secs

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage du principe actif dissout dans le solvant organique utilisé pour l'extraction déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche rendue en poudre utilisée pour l'extraction **(Abe *et al*., 2010).**

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule :

$$R\ (\%) = [M1 / M0] \times 100$$

R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche.

M1 : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

M0 : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g **(Abe *et al*., 2010).**

II.1.3. Dosage des sucres

La teneur en oses totaux est déterminée par la méthode de **(DUBOIS *et al.*, 1956).**

Dans des tubes à essai en verre :

•200 µl de la solution d'extrait brut ;

•Ajouter 200 µl de la solution de phénol 5% ;

•Ajouter 1mL d'acide sulfurique concentré au milieu réactionnel ;

•Vortexer les tubes puis les incuber dans le bain marie pendant 5 min a 90C°

•Laisser reposer à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min ;

•Mesurer l'absorbance à 490 nm Spectrophotomètre UV-Visible.

- La gamme d'étalonnage : on prépare une solution de glucose 0.01%

•1 ml de la solution de glucose 0.01% de différence concentration (0.02, 0,04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/ml).

II.1.4. Dosage des protéines

La méthode du biuret est une méthode de dosage colorimétrique des protéines.

II.4.1. Principe de méthode du biuret

Est une méthode colorimétrique décrite par **(Gornall *et al.*,1949)** Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu2+ en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

II.4.2. Préparation de la solution de Biuret

-Dissoudre 0.75g de sulfate de cuivre CuSO4 avec 3 g tartrate double de sodium et potassium NaKC4H4O6 .4H2O dans 250 ml d'eau distillée.

-Ajouter 0.5 g d'iodure de potassium KI et 150 ml de NaOH à 10% et continuer avec l'eau distillée à 250ml.

Dosage :

•Prélever 1 ml d'extrais dilué(10mg/100ml)

•Rajouter 2 ml de la solution de biuret

•Agiter et laisser agir pendant 30 minutes à l'obscurité.

•Lire l'absorbance par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 550 nm contre le blanc

• La concentration en protéines est calculée en se basant de la gamme d'étalonnage du BSA

II.1.5. Détermination de la teneur en matière sèche et teneur d'humidité

Les deux paramètres ont été déterminé après séchage à 103 ± 2 °C jusqu'au l'arrivée à un poids constant.

Teneur en MS % = (poids après séchage / poids avant séchage) * 100

Teneur d'Humidité % (g/100g d'extrait brut) = ((poids après séchage – poids avant séchage) / poids avant séchage) *100.

II.2.8. Méthodes d'analyses microbiologiques

Les analyses de microbiologie alimentaire destinées à détecter les agents pathogènes et d'altération présents dans les aliments permettent d'assurer la sécurité en continu des produits alimentaires. Ils peuvent être pathogènes ou toxinogènes pour l'homme s'ils ont susceptibles de détériorer ou bien de compromettre la quantité d'un produit ; ils peuvent aussi indiquer si un produit a été traité de façon adéquate ou inversement, a été contaminée.

II.2.8.1. Recherche et Dénombrement des germes totaux (ISO4833-1, 2013)

Microorganismes revivifiables nommés également mésophiles aérobies, Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance (après 24h à 37°C et 22 C°). Ce dénombrement est souvent considéré comme accessoire par rapport aux autres dénombrements réalisés dans le contrôle bactériologique des eaux (**Rodier, 2009**).

❖ **Mode opératoire**

A partir de notre (SM) à analyser et des dilutions décimales 10^{-1} et 10^{-2}, porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boites de Pétrie vides, numérotées et préparées à cet usage. Compléter ensuite chacune des boites avec environ 20 ml de gélose TGEA fondue puis refroidie à 45 °C. Le temps qui s'écoule entre le moment où l'on a distribué l'inoculum dans la boite et celui où le milieu est coulé ne doit pas excéder 15 minutes. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » sur une surface horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose, sans faire de bulles et sans mouiller les bords de la boîte. Laisser solidifier les boites sur la paillasse (**Figure07) (Lebres, 2002 ; Rodier, 2009).**

Les boites seront incubées couvercles en bas à 37 °C ± 0,5 °C pendant 24 ± 1 °C heures. Examiner les boites dès que possible après la période d'incubation, sinon les conserver à 4 °C pendant 48 heures au maximum. Les germes revivifiables se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse, ne dénombrer que les boites contenantes entre 30 et 300 colonies **(Rodier, 1996).**

❖ **Interprétation :**

Calculer la valeur du nombre N de microorganismes revivifiables à 37°C ± 2 °C en tenant que la moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante **(Rodier, 1996 ; Lebres, 2002**).

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1\ n2)\ d}$$

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs après la virgule. Le résultat final de microorganismes revivifiables dénombrés à 37 °C par ml d'eau est noté par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 10x où x est la puissance appropriée de 10.

Exprimer les résultats en UFC/ml (**Rodier, 2009**)

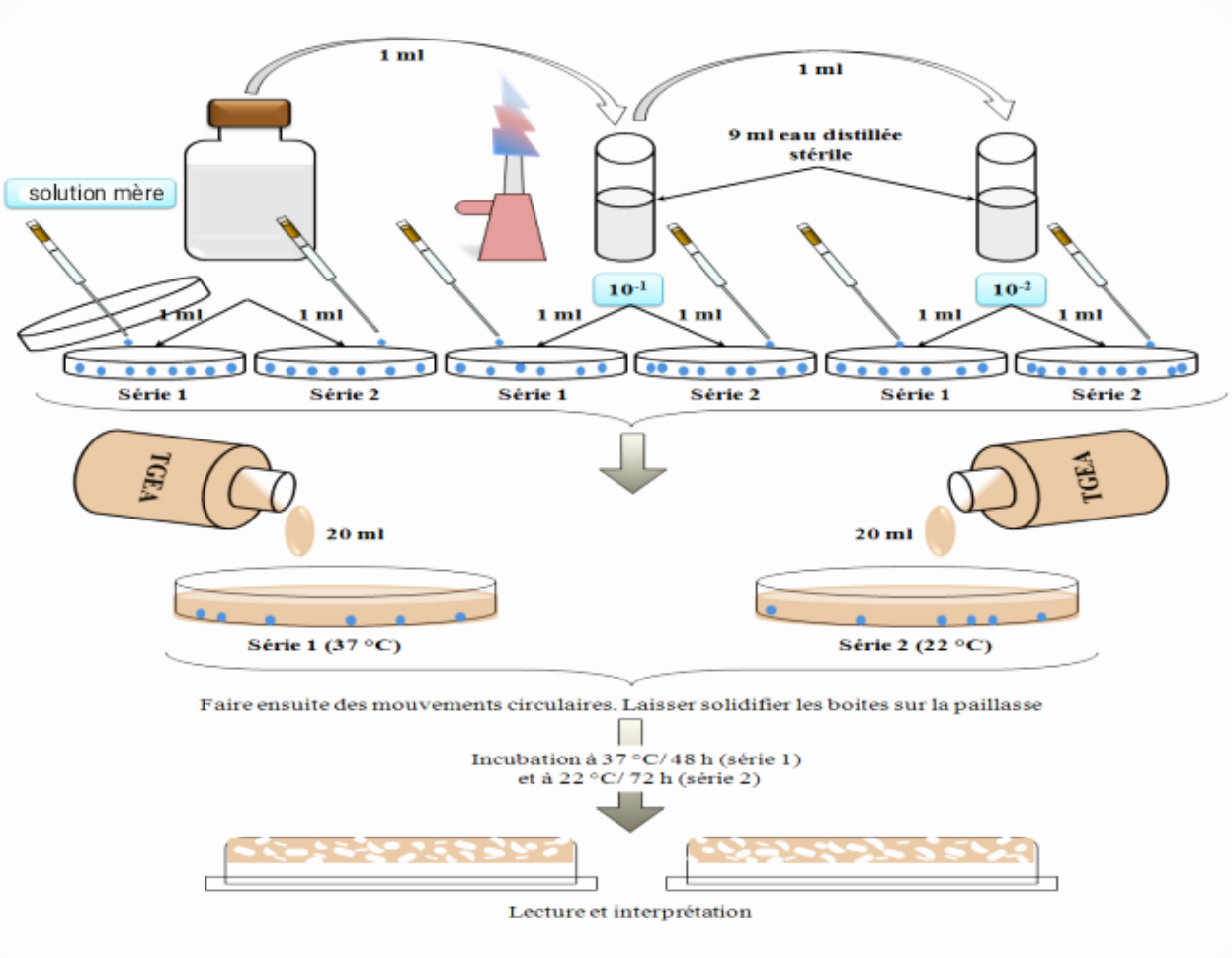

Figure 06 : Protocole de recherche et dénombrement des microorganismes revivifiables à 37°C et 22 C° **(Abdellioui *et al.*,2012)**

II.2.8.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.

Les coliformes fécaux appartiennent à la famille des *Enterobacteriacées* ; ce sont des bacilles Gram-, asporulés, oxydase-, aérobies ou anaérobies facultatifs possédant l'enzyme ß-galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35 ° C avec production de gaz **(Bourgeois *et al.*, 1991).**

b. Mode opératoire :

b.1. Test présomptif :

Après avoir bien homogénéisé l'échantillon (SM) afin d'obtenir une répartition homogène des microorganismes, nous avons réalisé cinq dilutions décimales successives (10^{-1}, $10^{-2,}$ 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}) avec trois répétitions par dilution. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques.

- Nous prenons les tubes de BCPL (bouillon lactose au pourpre de bromocrésol, simple concentration) munis d'une cloche de Durham.
- Prélever 1ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et la porte dans le premier tube de la série contenant 10 ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-1}.
- Nous prélevons 1ml de la dilution 1/10 précédente et l'ajouter à un tube contenant 10ml de BCPL, pour obtenir la dilution 10^{-2}.
- Transférer 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube contenant 10ml de BCPL, pour obtenir la dilution $10^{-3,}$ ……. etc

❖ **Lecture :**

Après incubation seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10éme de la hauteur de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- On retient le nombre caractéristique constitue par les trois chiffres écrit dans l'ordre des dilutions croissantes en commençant par le nombre correspondant à la plus grande dilution pour laquelle tous les tubes sont positifs.
- Ce nombre caractéristique obtenu correspond d'après la table de Mac Grady Annexe 03 au nombre de bactéries présentes (NPP) dans le prélèvement correspondant à la plus faible dilution prise en compte.
- Le calcul de concentration cellulaire dans la suspension initiale se fait en tenant compte les dilutions effectuées **(Rodier, 2009)**

b. Test confirmatif (test de Mac Kenzie)

Le test confirmatif est basé sur la recherche de coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence *d'Escherichia coli.*

Repiquer chaque tube de BCPL trouvé positif avec une anse bouclée ou une pipette Pasteur dans le BCPL de confirmation. Comme milieu de confirmation, on a utilisé dans le premier prélèvement : le milieu eau peptonée exempte d'indole et pour le deuxième prélèvement : le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait cette fois-ci à 44 °C pendant 24 h.

❖ **Lecture**

Seront considérés comme positifs, les tubes présentant :

- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

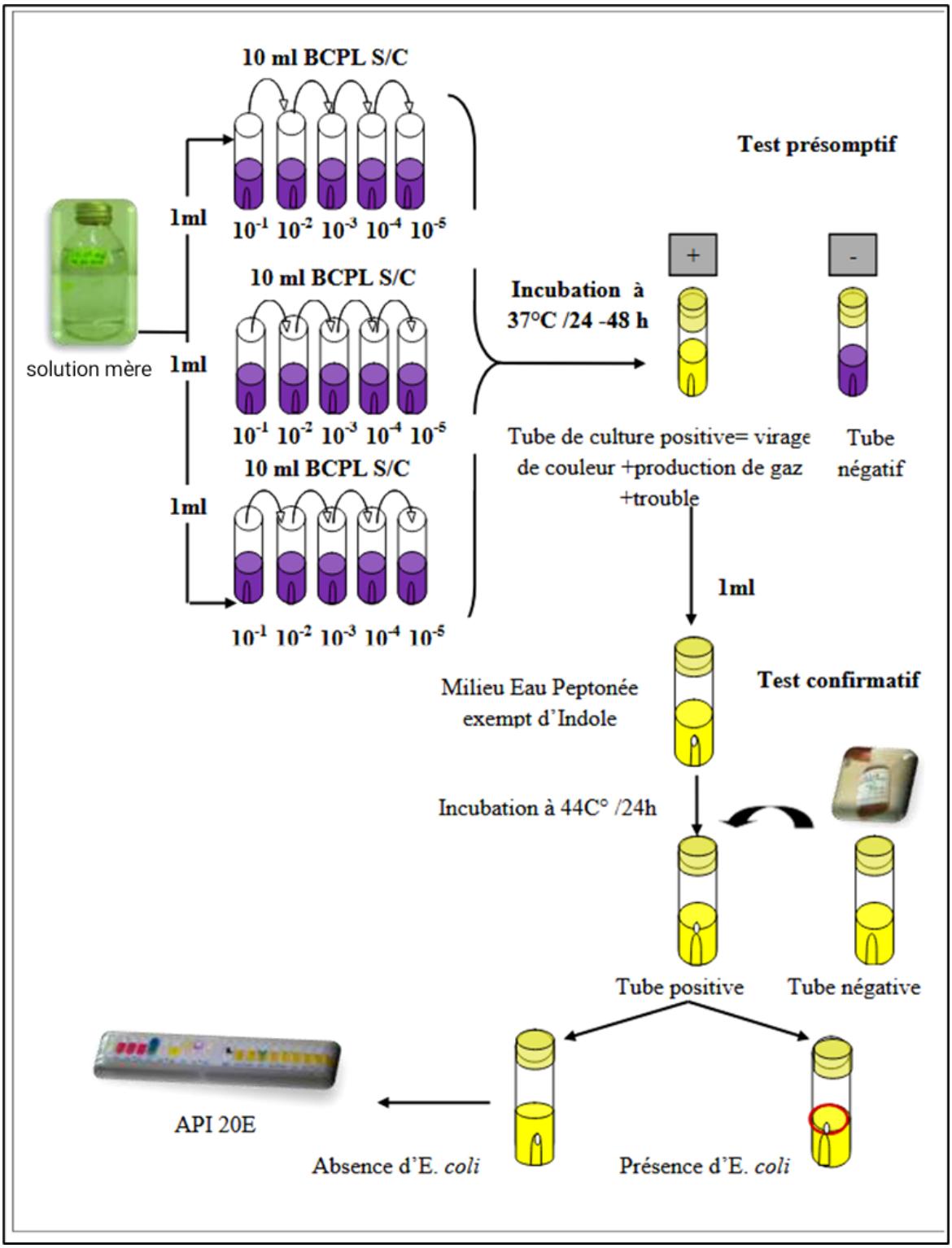

Figure 07: Protocol de recherche et dénombrement *des coliformes totaux, fécaux*.

(Méthod de NPP)

II.2.8.3. Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

Les streptocoques fécaux sont des bactéries de morphologie sphérique, organisées en chaînettes, et caractérisées par une coloration de Gram positive. Elles sont dépourvues d'activité catalasique et présentent un métabolisme de type anaérobie facultatif. Ce groupe bactérien se subdivise en deux sous-groupes distincts : *les entérocoques et les streptocoques*, selon des critères physiologiques et antigéniques spécifiques **(Rodier *et al.*, 2009).**

Cette méthode repose sur la réalisation de deux tests consécutifs : un test présomptif, visant à détecter la présence potentielle des microorganismes cibles, suivi d'un test de confirmation permettant de vérifier spécifiquement l'identité des *streptocoques fécaux* par des réactions biochimiques spécifiques **(Lebres *et al.*, 2008).**

a. Mode opératoire (Spectrométrie sur milieu liquide)

a.1. Test présomptif : Réservé à la recherche des streptocoques.

A partir de solution à analyser, on ensemence :

-3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C.

-3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

-3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

-Incuber les tubes à 37 °C pendant une durée de 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Après incubation, considérer comme positifs les tubes pour lesquels on observe un trouble dû à une croissance microbienne. Ces tubes doivent absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu Eva Litsky dans le but de confirmation des streptocoques du groupe D.

b. Test confirmatif

Destiné à la confirmation de la présence de streptocoques fécaux dans les tubes ayant donné un résultat positif lors du test présomptif.

-Agiter les tubes positifs afin d'homogénéiser le contenu.

-Prélever quelques gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur.

-Inoculer dans des tubes contenant le milieu Eva Litsky.

-Mélanger soigneusement le milieu de culture et l'inoculum pour assurer une répartition homogène des microorganismes.

-Incuber les tubes à 37 °C pendant une durée de 24 à 48 heures.

-Un tube est considéré comme positif en présence de :

-Un trouble lié au développement bactérien.

-Une pastille violette (ou blanchâtre) au fond du tube.

-Parfois, la culture peut s'agglomérer au fond du tube en fixant le colorant, formant ainsi une pastille violette **(Rodier *et al*., 2009).**

- **Lecture**

Sur le milieu de Eva Litsky, la présence de streptocoque du groupe D se caractérise par l'apparition d'un trouble dû au développement bactérien, avec ou sans dépôt violet. La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP de Mac Grady

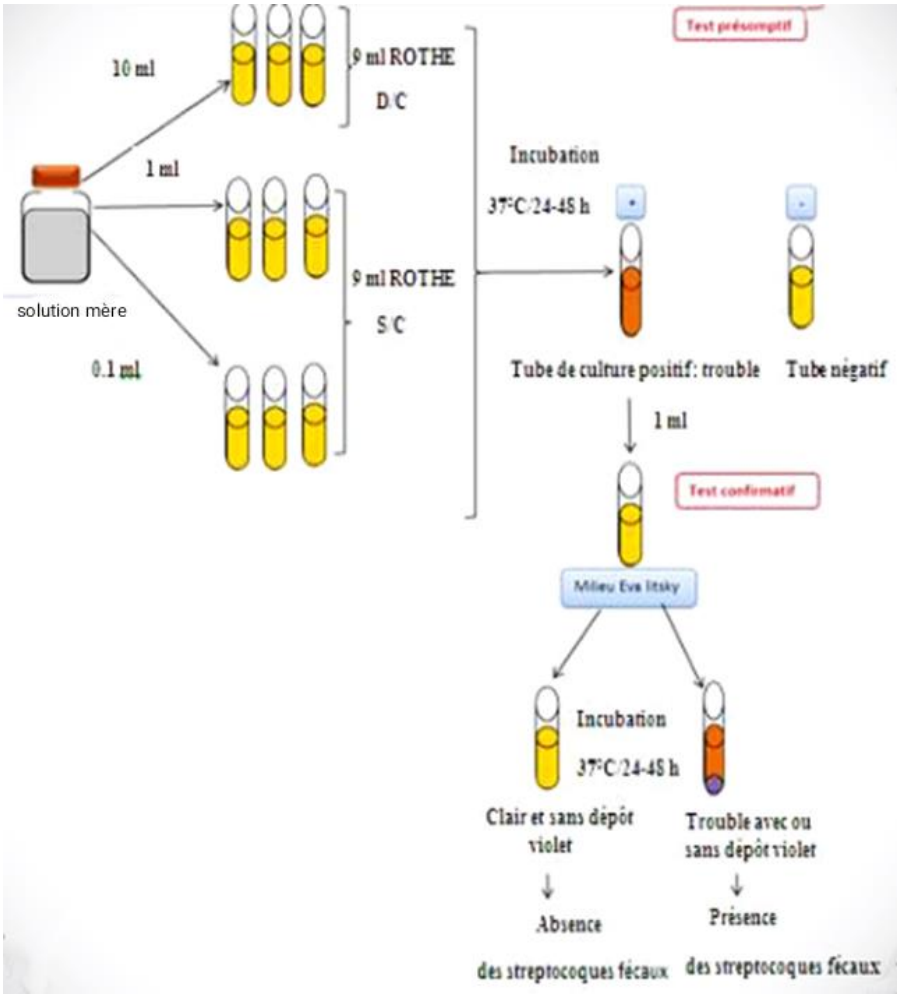

Figure 08 : Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux **(Labres *et al*.,2008).**

II.2.8.4. Recherche et dénombrement de Staphylocoques

a. Principe

Ensemencement en surface d'un milieu gélosé sélectif, avec une quantité déterminée de de la suspension mère. Dans les mêmes conditions, ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai.

b. Mode opératoire

- Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml de la suspension mère, dans une boîte de milieu gélosé Chapman.

- Étaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de la boîte de milieu gélosé, en évitant de toucher les bords de la boîte de Petri, à l'aide de pipette pasteur. Laisser sécher les boîtes, avec leur couvercle en place, pendant environ 15 min à température ambiante.

- Retourner les boîtes préparées selon les instructions ci-dessus et les placer dans l'étuve réglée à une température pendant 24 h ± 2 h. Puis incuber à nouveau pour atteindre une durée totale de 48 h ± 4 h.

c. Lecture des résultats

Pour les produits polymicrobiens, on a recours à des milieux sélectifs tels que le milieu

de Chapman qui est un milieu gélosé hypersalé (7,5 % de Na Cl) et contient du mannitol.

L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures **(Figure10) (Denis et al, 2007).**

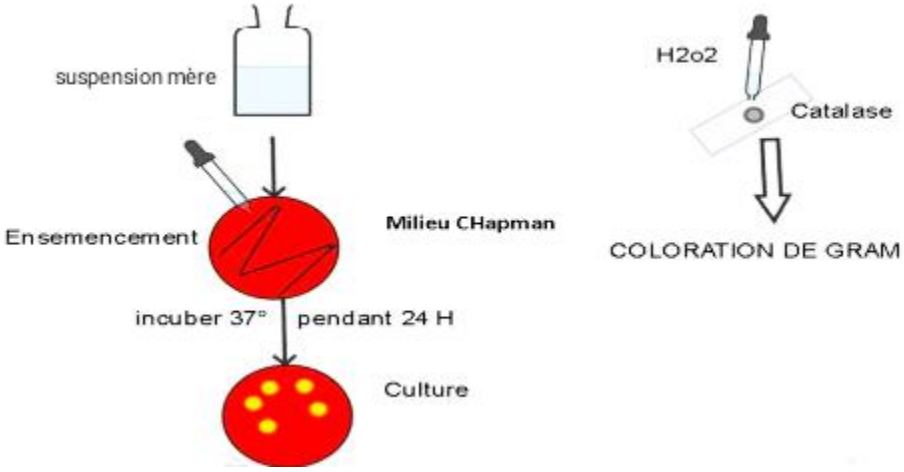

Figure 09 : Protocole de recherche de Staphylocoques **(Kaabach *et al*., 2018**).

D. Confirmation :

D.1.Coloration de Gram :

Cette technique a pour but de déterminer l'aspect microscopique de la bactérie et la nature de sa paroi (Gram positif et Gram négatif, on peut observer la disposition des germes et leur morphologie (cocci, bacille, cocobacille) **(BENT MOHAMED *et al* .,2008).**

Mode opératoire :

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme.

- Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.

- Ajouter le colorant et finir de la chasser par la solution de lugol ; laisser agir environ 1 min.

- laver à l'eau et faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau.

- Recolorer la préparation avec la Fushine, laissé agir environ 30secondes. Laver abondamment.

- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.

- observer au microscope à l'immersion après avoir déposé une goutte de l'huile de cèdre au centre de la lame(X100) **(BENT MOHAMED *et al.*, 2008).**

Lecture

A l'issue de cette coloration, on peut distinguer :

- Des bactéries colorées en violet foncé ; elles ont gardé le violet, elles sont dites 'Gram positif' ;

- Des bactéries colorées en rose ou rouge pâle ; elles ont perdu le violet, elles sont dites « Gram négatif » **(BENT MOHAMED *et al.*, 2008).**

E-Recherche des caractères biochimiques

-Les enzymes respiratoires :

D.2.Test Oxydase :

L'oxydase, appelée aussi la phénylène diamine oxydase, est une enzyme permettant d'oxyder les dérivés méthylés du paraphénylène diamine *(famille des cytochromes*). Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air. Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram **(PILLY E *et al.*, 2008**).

Techniques :

- Déposer un disque préimprégné par le réactif N diméthylparaphénylène diamine (disque oxydase) sur une lame propre.

- Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.

- Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur.

- Etaler la colonie sur le disque.

- Atteindre 3 à 5 secondes **(FRANCIAS N *et al.*, 2002).**

Lecture :

- Si la colonie prend une teinte rose, violette. Le germe possède une oxydase : le test est positif.

- Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif **(FRANCIAS *et al.*, 2002).**

D.3.Test de la catalase

Le test de catalase étant aussi un examen clé de confirmation de la pureté des souches, sur une lame propre et séchée déposer une goutte de l'eau oxygénée à 10 volumes puis à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien. Observer immédiatement

➢ **Lecture**

• Apparition de bulles et dégagements gazeux de dioxygène : catalase +

• Pas de bulles : catalase –

D.4.La galerie API Staph :

La galerie API Staph permet d'identifier 23 espèces de Cocci à Gram positif. Ce système se compose de 19 micro-ampoules qui contiennent des substrats déshydratés et/ou des milieux nutritifs **(Figure 12**). Ces tests sont importants dans la différenciation des Staphilocoques **(Brown AE *et al.*, 2014).**

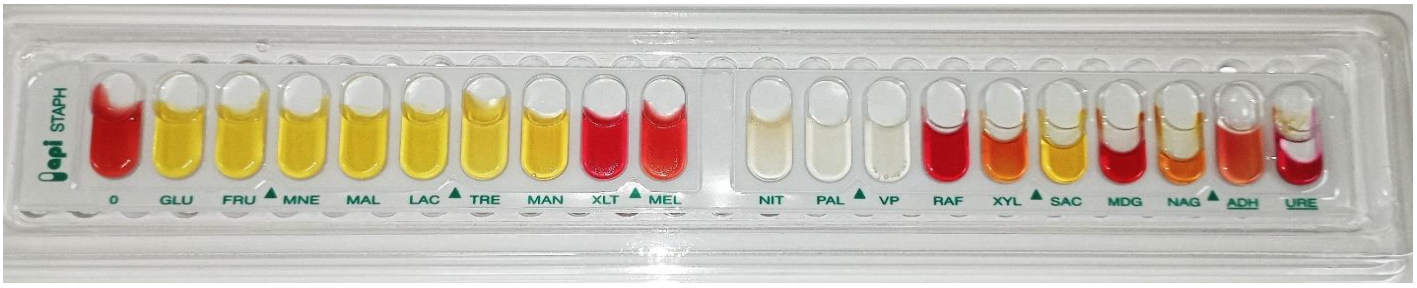

Figure 10 : La galerie *API Staph*

- **La préparation de l'inoculum**

- Prélever à l'aide d'une anse de platine une seule colonie bion isolée sur milieu gélosé (Chapman).

-Faire une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans une ampoule *API Staph* Medium **(Djebbari *et al*., 2009).**

- **Inoculation de la galerie**

Les puits de la galerie API Staph sont remplis avec la suspension bactérienne somme suit :

- Remplir les tubules des tests ADH et URE et remplir leurs cupules avec l'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose.

- Remplir uniquement les tubules des tests restants.

La galerie est incubée à 37°C pendant 24H **(BioMérieux , 2017)**.

- **Lecture de la galerie API Staph**

Les résultats de certains tests sont lus directement, d'autres, nécessitent l'addition de réactifs comme suit :

- Addition d'une goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 au test NIT.

- Addition d'une goutte des réactifs ZYM A et ZYM B au test PAL.

- Addition d'une goutte des réactifs VP 1 et VP 2 au test VP.

Après l'ajout des réactifs, attendre 10 minutes avant d'observer les virages de couleurs et de lire les résultats **(Brown *et al*.,2014).**

- **Identification**

- Chercher le code numérique obtenu dans le catalogue analytique de *l'API Staph* ou avec le logiciel d'identification afin de connaitre le nom de l'espèce identifiée.

II.2.8.5. Recherche et dénombrement des bactéries *anaérobies sulfito-reductrices (ASR)*

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des spores des bactéries *Anaérobies Sulfito-Réductrices* dans les deux souches de la spiruline, par incorporation en gélose en tubes profonds.

a. Principe

Les microorganismes sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies **(ISO14189., 2013).**

b. Mode opératoire

A partir de la dilution décimale de chaque souche :

Transférer environ 1 ml pour les dilutions (SM, 10^{-1}, 10^{-2} ,10^{-3},10^{-4}) dans des tubes stériles, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes ;

- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet ;

- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose viande foie préalablement fondue puis refroidie à 47 °C ± 1°C et additionnée de ses additifs spécifiques soit une ampouled'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium ;

- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène ;

- Laisser solidifier sur paillasse pendant environ 30 minutes, puis incuber à 37 °C pour les anaérobies sulfito-réductrices.

c. Lecture

Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse.

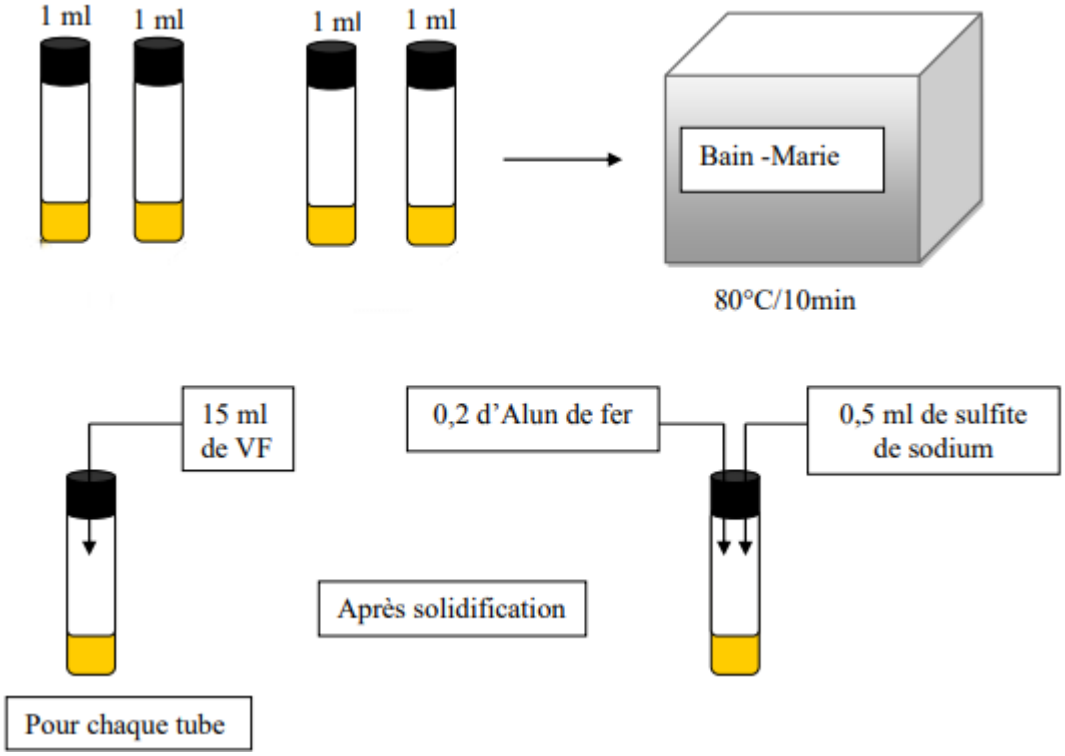

Figure 11 : Recherches et dénombrement des spores aerobies sulfito-réductrice **(Institut., 1999).**

II.2.8.6. Recherche et dénombrement de Salmonelles

Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif (BGN) **(Lebres, 2002)**, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, majoritairement mobiles grâce à la présence de flagelles péritriches. Elles sont incapables de fermenter le lactose, mais fermentent le glucose avec production de gaz et de sulfure d'hydrogène (H_2S) **(Pechère *et al.*, 1982 ; Carbonnelle *et al.*, 1988 ; Lebres., 2002 ; Labres *et al.*, 2008)**.

a. Principe

Pour la préparation de la suspension mère, utiliser dans le cas général comme diluant le milieu de Pré-enrichissement spécifié SFB ou de l'eau physiologique : 225 ml de l'eau physiologie dans une fiole jugée avec une masse de prise d'essai de 25g de notre souche.

b. Mode opératoire

La recherche de Salmonelle nécessite différentes phases successives :

✓ **Étape 1 :** Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans de l'eau physiologie à température ambiante, puis incubation à 37 °C ± 1 °C pendant 18 h ± 2 h.

✓ **Étape 2 :** Enrichissement en milieux sélectifs liquides

Ensemencement du tube SFB avec 0.1 ml de l'inoculum puis incubation à 44 °C ± 1 °C pendant 24 h ± 3 h.

✓ **Étape 3** : Isolement et identification

-À partir des cultures obtenues, ensemencement un milieu sélectif SS.

- Incubation du milieu SS à 37 °C ± 1 °C puis examen après 24 h ± 3 h.

- Après 24 h ± 3 h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies typiques de Salmonelles, ainsi que les colonies atypiques susceptibles d'être des Salmonelles. Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

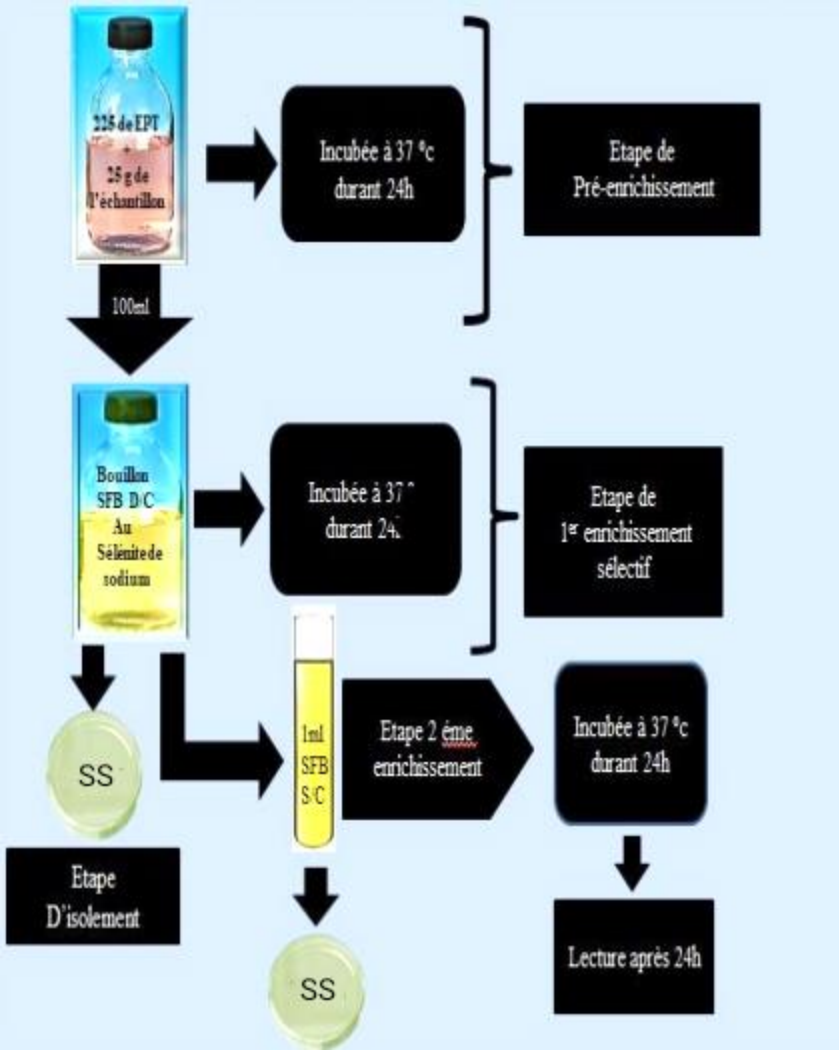

Figure 12 : Protocole opératoire de la recherche des Salmonelles **(Kaabach *et al.*, 2018)**

II.2.8.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

- **Principe**

Les levures et les moisissures sont capables de croître sur un milieu Sabouraud, rendu sélectif grâce à l'incorporation de chloramphénicol, un antibiotique efficace contre les bacilles à Gram négatif ***(*Bourgeois et Leveau, 198*0).***

- **Mode opératoire (NA 59 11., 1996)**

-Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère dans des boîtes de Pétri stériles.

-Verser environ 15 ml de gélose Sabouraud au chloramphénicol, fondue et maintenue à 47 ± 2°C dans un bain-marie, dans chaque boîte de Pétri.

-Mélanger soigneusement par des mouvements de va-et-vient et en formant un « 8 » pour assurer une homogénéisation complète du milieu et de l'inoculum.

-Laisser le mélange se solidifier sur une surface horizontale pendant environ 15 minutes.

-Incuber les boîtes, couvercle vers le bas, à 25 °C pendant une durée de 5 jours.

- **Lecture**

Pour le dénombrement des colonies, il est essentiel de distinguer les levures des moisissures en se basant sur leurs caractéristiques macroscopiques. Les moisissures se présentent sous forme de colonies pigmentées, à l'aspect velouté et parfois renflé. En revanche, les levures forment des colonies similaires à celles des bactéries, avec des bords réguliers ou irréguliers, des formes convexes ou plates, et une apparence souvent opaque. Le nombre de colonies dénombré est ensuite multiplié par l'inverse de la dilution, et les résultats sont exprimés en UFC/ml ou UFC/g du produit analysé, conformément à la loi de KOSS, à partir des dilutions décimales.

- **Identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton selon la technique du drapeau (**Figure 15**). Généralement, un examen à l'objectif x100 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants.

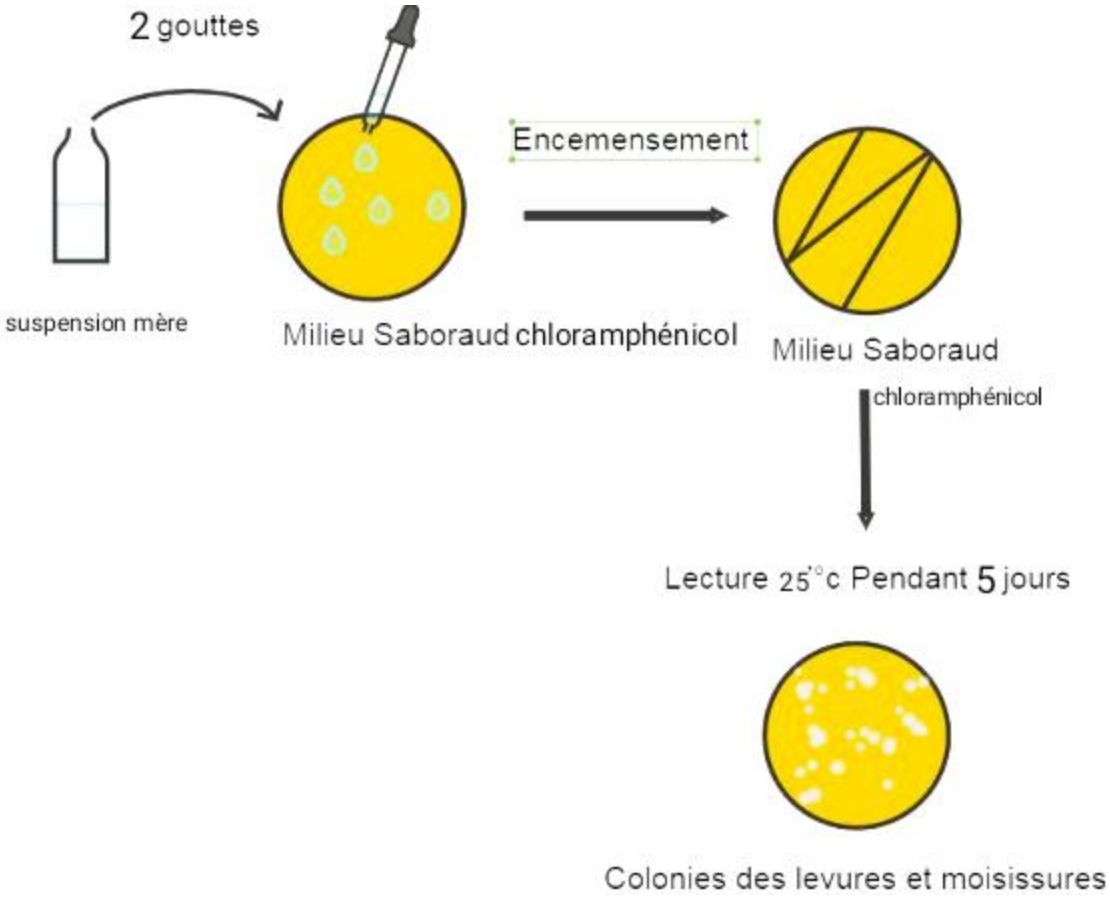

Figure 13 : Protocole de Recherche et dénombrement des levures et moisissures

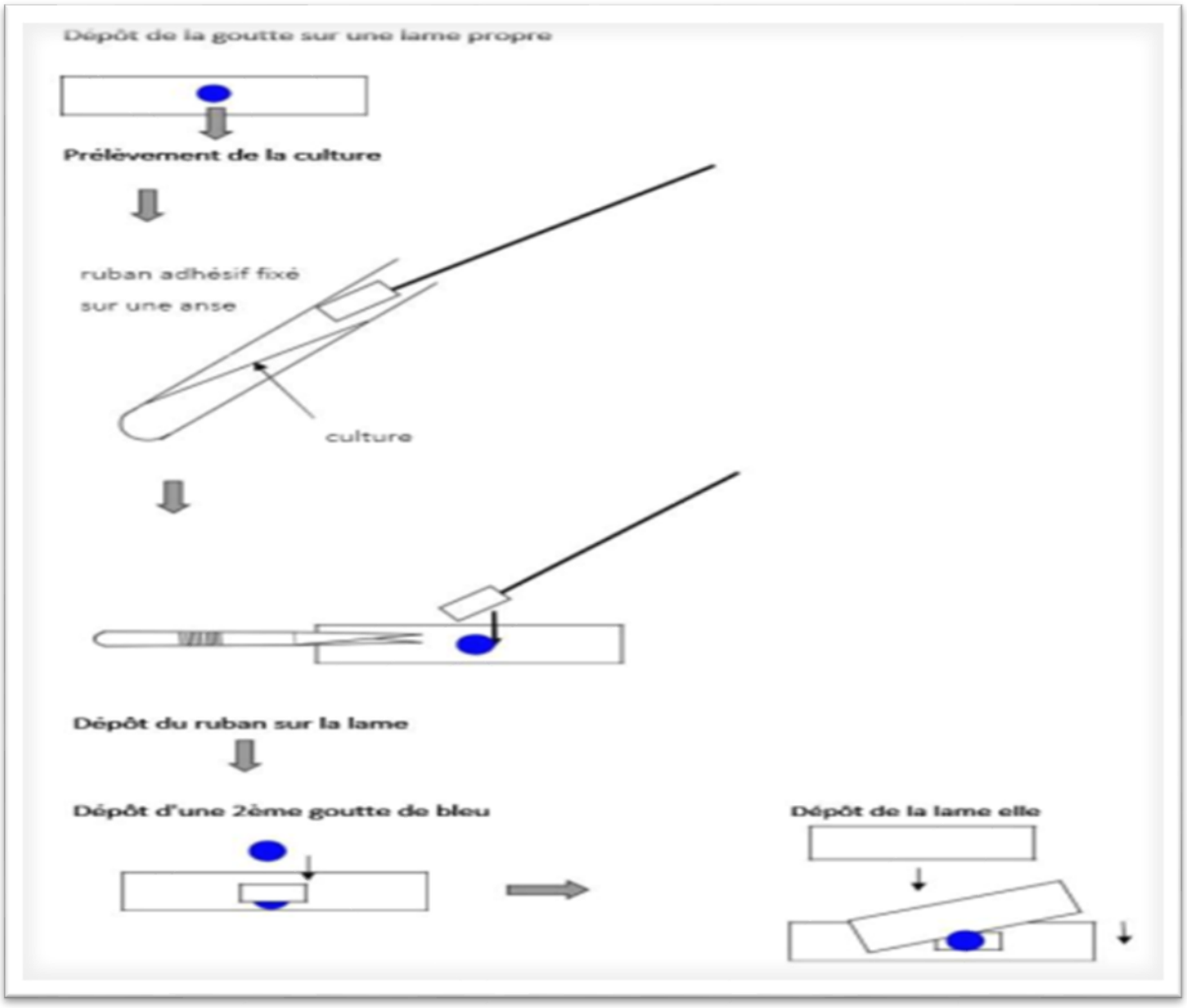

Figure 14 : Technique du drapeau : Empreinte sur ruban adhésif. **(Chabasse *et al*., 2002).**

Chapitre II :

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1.1Calcul des rendements d'extraits secs

Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche :

R (%) = 10.6%.

L'extraction des composés biochimiques *d'Arthrospira platensis* réalisé par un solvant hydroalcoolique a permis d'obtenir 0,530 g d'extrait sec à partir de 5 g de poudre de spiruline. Le rendement d'extraction a ainsi été calculé à 10,6 %. Ce rendement est considéré comme acceptable et compatible à ce qui a été rapporté dans les résultats mentionnés dans les études précédentes.

III.1.2. Dosage des sucres:

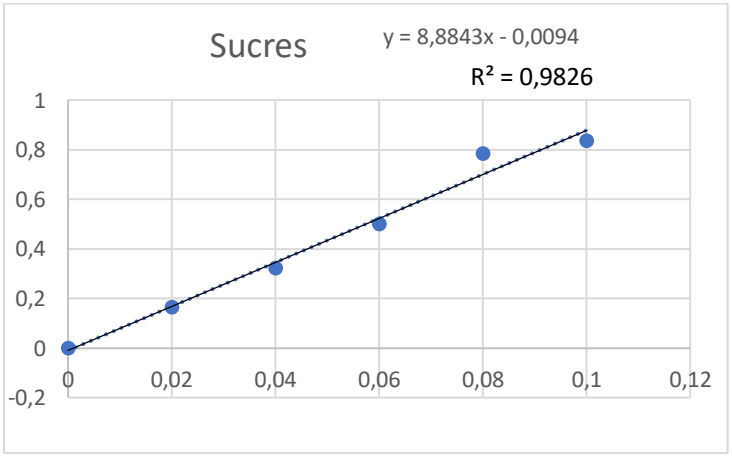

Figure 15 : Teneurs en sucre de l'extrait de la spiruline par Excel.

a. Description

Concentration de teneurs en sucre de l'extrait de la spiruline *d'Arthrospira platensis* est déterminée grâce à une courbe étalonnage effectué selon la méthode de **(Dubois *et al*.,1956)**. Connaissant la densité optique de l'extrait et l'équation d'étalon, le rendement a été calculé a donné une concentration de 0,187 mg équivalent glucose/mg d'extrait, avec un écart type très faible (± 0,001).

Les glucides représentent de la matière sèche de la spiruline. La paroi des spirulines, comme les bactéries à Gram négatif, est composé de glucosamine et d'acide muramique liés aux peptides **(LAFRI, 2018).**

III.1.3. Dosage des protéines

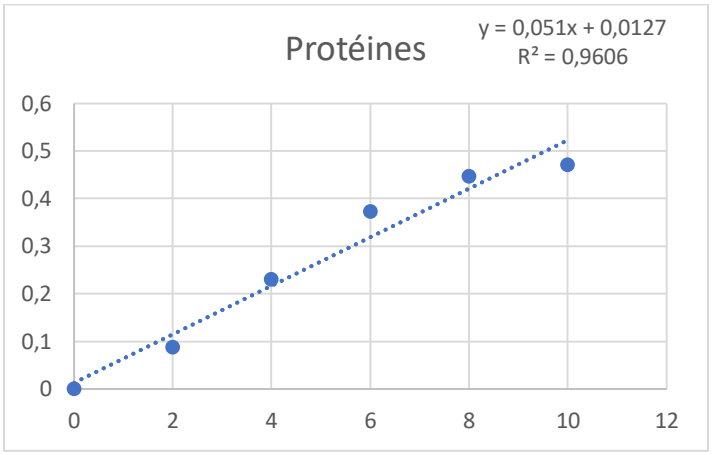

Figure 16 : Teneurs des protéines de l'extrait de la spiruline par Excel.

a. Description

Le dosage des protéines totales a été réalisé grâce à une courbe étalonnage selon la méthode colorimétrique de Biuret, une technique classique de quantification. La teneur en protéines dans notre extrait de *Spirulina platensis* a été mesurée à 0,119 mg /mg d'extrait sec, avec un écart type relativement élevé (±3,075 mg).

En comparaison ,cette quantité mesurée est inférieure à celle attendue théoriquement par rapport au poids la spiruline nutritionnellement appréciable dont la teneur en protéine oscille entre 50% et 70% de son poids sec **(Aviano *et al.*, 2000 ; Falquet *et al.*, 2006)** ce qui est nettement supérieur au résultat obtenu dans notre étude .Cette différence peut être expliquée par plusieurs facteurs: la souche utilisée , des variations en fonction les paramètres physico-chimiques (température, lumière, nutriments), l'état de conservation de l'échantillon.

III.1.4. Détermination de la teneur en matière sèche et en humidité

Après séchage de la spiruline à 105°C, la masse de l'échantillon est passée de 2,5 g à 2,285 g, soit une perte en eau de 0,215 g. La teneur en humidité calculée est de 8,60 %, ce qui correspond à une teneur en matière sèche de 91,40 %.

MS (%) = 91.4%

Humidité (%) = 8.60%

Les résultats de ces analyses ont montré que l'humidité qui caractérise la teneur en eau dans la spiruline varie de 5,42 à 7.08 %, la teneur en humidité est inférieure à 10%, condition recommandée pour le stockage à long terme des poudres de cette micro algue (**Becker., 1995**)

La teneur en matière sèche obtenue est élevée, observée reflète une faible humidité résiduelle après séchage, en accord avec les résultats mentionnés dans la littérature par d'autres auteurs (**Rangsayatorn *et al.*, 2004**) ont annoncé une valeur proche qui est de 88,08%.

Les produits secs doivent être conservés dans des sacs hermétiquement fermé et stockés à l'abri de l'humidité, pour éviter toutes influences dues aux facteurs extérieurs.

III.2. Résultats de la recherche et le dénombrement de des germes totaux

Les résultats des analyses effectués ont été exprimés en UFC/ml, représentent la charge de la microflore recherchée. Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

III.2.1. Dénombrement des colonies

Le dénombrement des colonies est réalisé à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1\ n2)\ d}$$

où

c: Somme totale des colonies comptées.

nl: Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d: Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

Après comptage des germes mésophiles aérobies totaux contenus dans des boites de Pétri (gélose TGEA) après 48h d'incubation aux températures à 37C° et 22C°.

On observe différents types de colonies des germes aérobie totale sur milieu (TGEA). Ces colonies sont de petite et de grande taille avec la même couleur : blanche de forme circulaire en masse et lisse (**Figure17**).

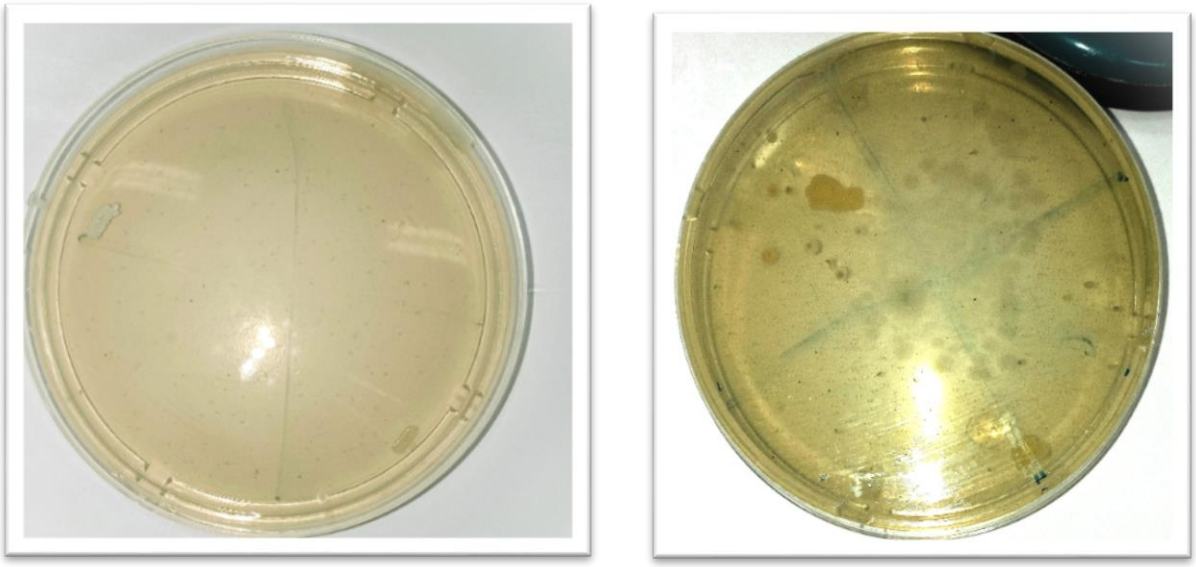

Figure 17 : Aspect des colonies des FAMT

Les analyses effectuées sur la poudre de spiruline utilisée montrent une conformité avec les

Normes établie sen France (Normes AFNOR ISO 4833-2:2013).

Tableau 5 : Les résultats dénombrement des germes aérobies totaux dans la spiruline.

	Les résultats	**Les normes**
Les germes aérobies à 37°C Ufc/ml	11.28. 10^1 Inférieur à	10^5
Les germes aérobies à 22°C Ufc/ml	Absence	10^5

Les résultats des analyses microbiologiques de la spiruline sont représentés dans le (**Tableau6).**

Les normes générales pour les germes aérobies dans la spiruline se situent habituellement en dessous de 10^5UFC/ml. Dans notre cas, les résultats de $11.28.10^1$ UFC/ml sont bien en dessous de cette limite, ce qui indique une faible contamination microbienne et donc une bonne qualité microbiologique de notre échantillon de spiruline.

II.2.3. Coliformes totaux et fécaux

Pour la recherche de Coliformes totaux et fécaux dans la spiruline, les résultats obtenus sont négatifs, est en adéquation avec les critères microbiologiques prescrits par la norme **JORA (1998**). Les résultats sont montrés dans **la Figure 18.**

Figure 18 : Résultat de la recherche des coliformes totaux et fécaux en milieu liquide.

Coliformes totaux : Norme J.O.R.A : ≤ 10 UFC/ml de

Coliformes fécaux : Norme J.O.R.A : Non spécifiée .

L'absence de coliformes totaux et fécaux dans l'ensemble d'échantillon de spiruline constitue un indicateur microbiologique favorable, traduisant de qualité sanitaire. Ce résultat suggère que les conditions de culture, de récolte et de traitement de la spiruline ont été rigoureusement contrôlées, excluant toute contamination d'origine coliforme.

III.2.4. Streptocoques fécaux

L'utilisation des streptocoques comme indicateur microbiologique. Ils sont considérés comme des indicateurs de pollution fécale beaucoup plus que les coliformes fécaux car ils ne sont pas aussi ubiquitaires mais toujours présents dans les fèces des animaux à sang chaud et leur disparition dans le milieu aquatique est moins rapide que les coliformes **(Chibani., 2009**).

-On observe l'absence des streptocoques sur le milieu ROTHE qui présente dans la **Figure19.**

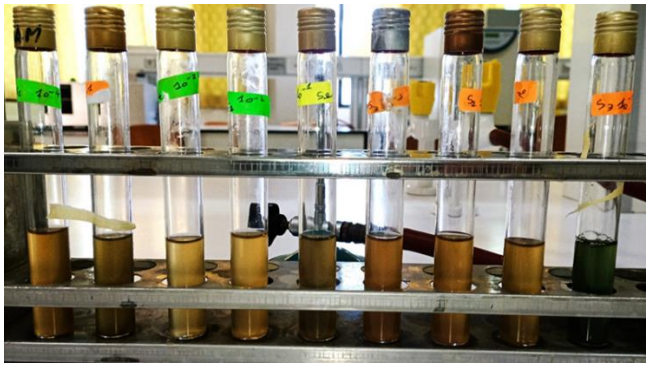

Figure 19 : Résultat de la recherche des Streptocoques fécaux après incubation

L'absence des streptocoques ce qui signifie que la qualité bactériologique de nos prélèvements est bonne et satisfaisante.

III.2.5. Staphylocoques

La recherche des staphylocoques à partir de notre échantillon de (la spiruline) sur le milieu Chapman et après identification macroscopique, microscopique ainsi que biochimique par la réalisation d'un *API Staph* ; Les résultats ont montré la présence la souches de *Staphylococcus xylosus* les résultats sont représentés dans la **Figure 20 et 21**.

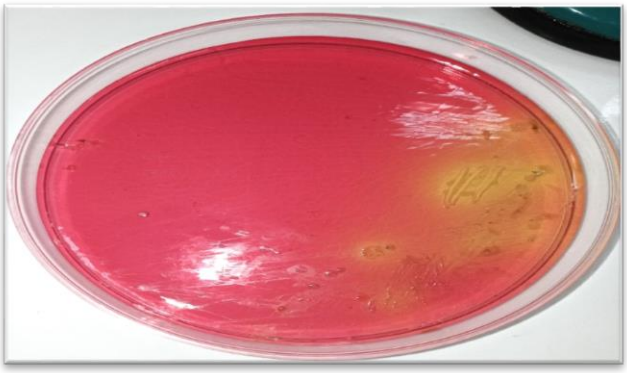

Figure 20 : Aspect des colonies des *Staphylococcus xylosus* sur milieu Chapman.

Figure 21 : Profil biochimique de *Staphylococcus xylosus.*

II.2.5.2. Identification phénotypique de *staphylococcus xylosus*

II.2.5.1. Etudes microscopiques

Après la coloration de Gram une observation microscopique avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement ×1000) a été effectué. Le Gram des souches a été confirmé (figure 22).

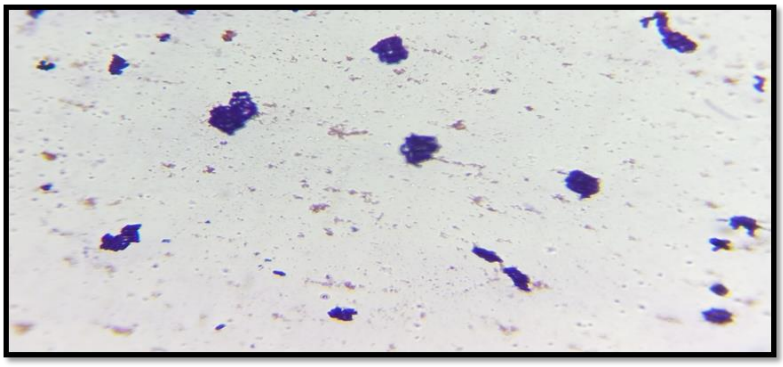

Figure 22 : Observation microscopique après coloration de la souche *Staphylococcus xylosus.*

I.2.5.2. Etudes biochimiques

II.2.5.2.1. Test d'oxydase

Le test d'oxydase a été réalisé sur une seule souche *Staphylococcus xylosus*. D'après les résultats obtenues la souche ne possède pas cet enzyme en raison de l'absence de l'apparition de la coloration violette (**Figure 23**).

Figure 23 : Recherche d'oxydase chez *Staphylococcus xylosus.*

II.5.2.3. Test de la catalase

La souche possède l'enzyme catalase. Il a donc la capacité de neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène (**Figure 24**).

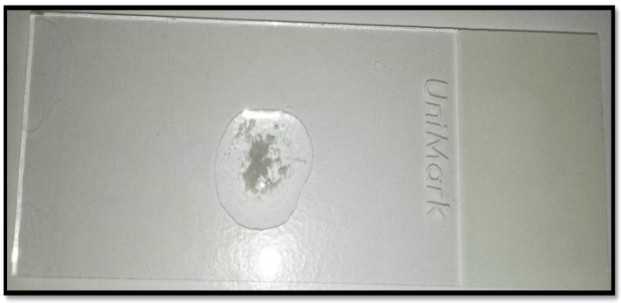

Figure 24 : Recherche de la catalase sur le la souche Staphylococcus *xylosus*

- **Discussion**

Les Staphylocoques a été détecté dans la spiruline précisément nous avons identifié *Staphylococcus xylosus*. Cette espèce est naturellement localisée au niveau de la peau et des muqueuses et n'est pas pathogène (flore commensale) . La présence de cet bactérie est due à l'absence d'hygiène et mauvaises conditions d'emballage. Il faut signaler que cette espèce possède

la capacité de former des biofilms, notamment sur les surfaces inaccessibles au nettoyage, ce qui constitue une source de contamination.

III.2.6. Anaérobies sulfito-réductrice (ASR)

Pour les Clostridium sulfito-réducteurs on remarque l'absence de Clostridium sulfito-réducteurs dans notre échantillon de spiruline (**Figure25).**

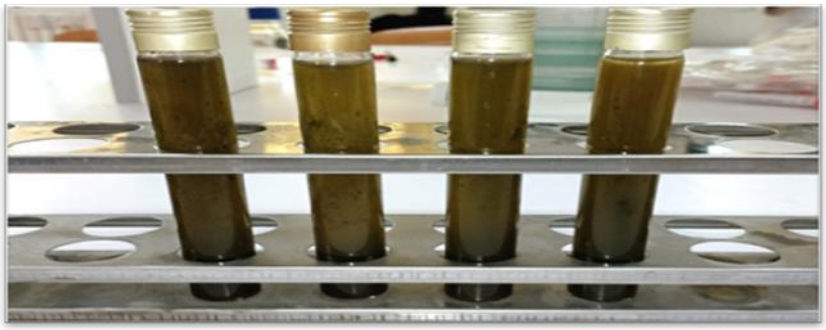

Figure 25 : Résultats de recherche de sulfito-réducteurs dans notre échantillon de spiruline.

L'absence des Clostridium sulfito-réducteurs indique que l'échantillon de spiruline est de qualité microbiologique bonne, et satisfaisants du point de vue hygiénique dû à une bonne hygiène lors des différentes étapes de fabrication, de conditionnement et de stockage.

III.2.7. Salmonelles

Pour les Salmonelles on remarque l'absence totale de ce germe dans notre échantillon de la spiruline. Les salmonelles sont des germes qui se mettent difficilement en évidence. Ceci peut être une explication possible de cette absence **(Dubois *et al*., 1982).**

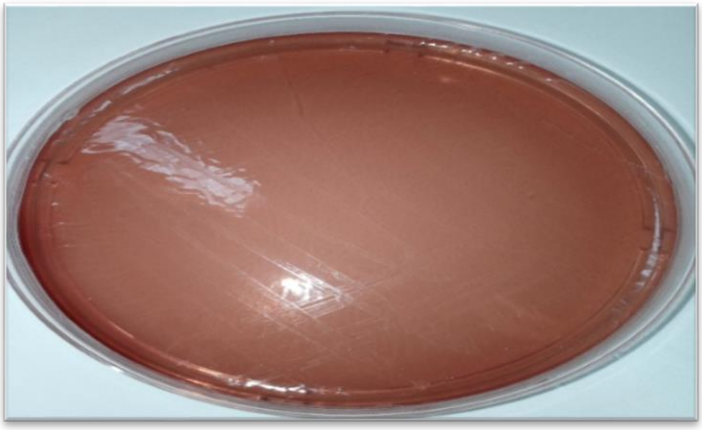

Figure 26 : Absence des colonies des Salmonelles sur le milieu S.S.

Norme J.O.R.A : Non spécifiée

L'absence des Salmonelles est un bon indicateur de sécurité sanitaire, car ces bactéries sont hautement pathogènes.

III.2.8. Levures et moisissures

À la suite d'une incubation sur gélose Sabouraud chlormaphénicole à environ 25 °C durant 5 jours (24 heures pour les levures), l'analyse microbiologique de l'échantillon de spiruline a permis d'évaluer la présence potentielle de contaminants fongiques, notamment des levures et des moisissures.

Les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure 27.**

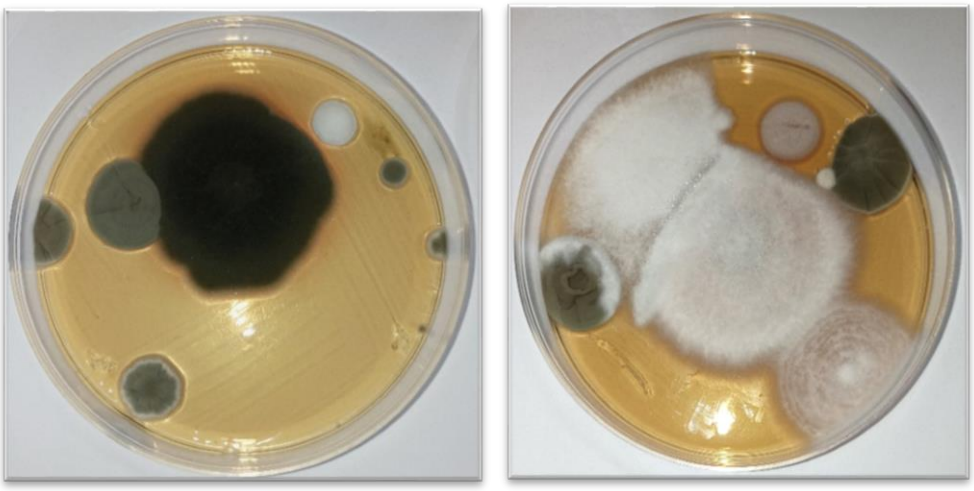

Figure 27 : Résultats des levures et moisissures sur le milieu de Sabouraud chloramphénicol.

II.2.8.1. Identification des levures et des moisissures

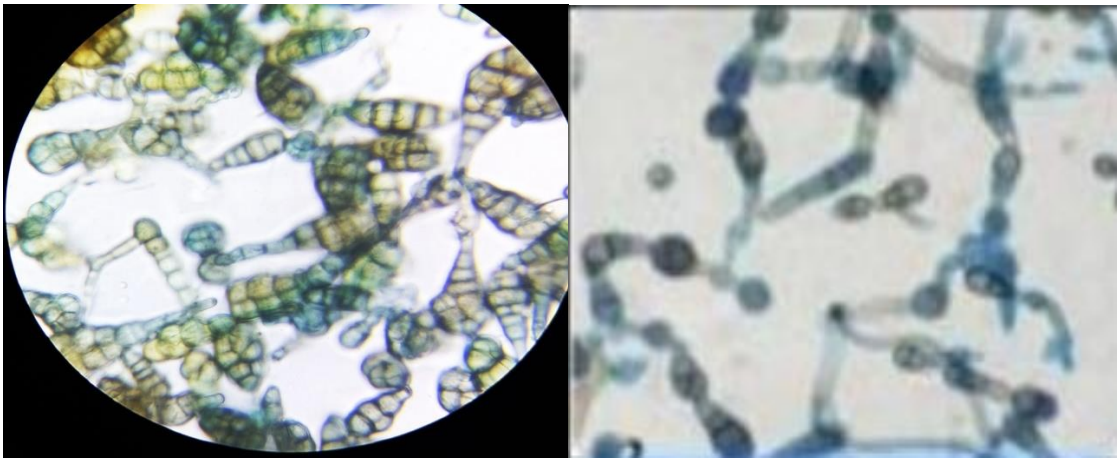

Figure 28: Aspect des Colonies *d'Alternaria alternata*. Et **Figure 29** *:* Photo de référence **(Hamid *et al.*,2015).**

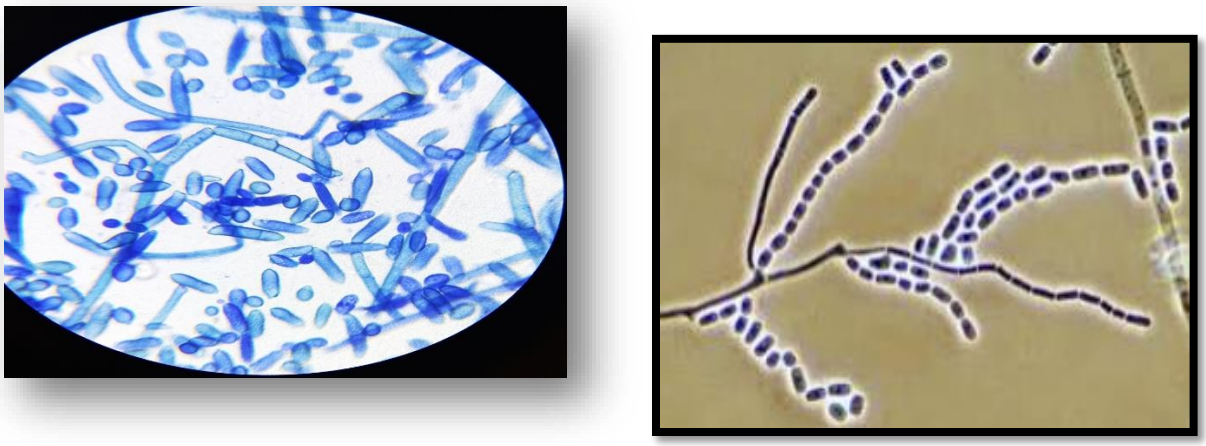

Figure 30 : Aspect des colonies *Geotrichum candidum et* **Figure 31** *:* Photo de référence **(Hoog *et al., 2004)***

Les Résultats montre la présence des colonies de : *d'Alternaria alternata* et *Geotrichum capitatum* ce qui signifie un certain danger pour le consommateur car :

Geotrichum spp : est une levure filamenteuse cosmopolite. Elle peut coloniser le tractus digestif, le tractus respiratoire ou la peau, sans conséquences cliniques. De rares cas de géotrichoses profondes dans un contexte d'immunodépression sont décrits : endocardites sur prothèse valvulaire

(Polacheck *et al.*, 1992), méningite **(A. Naficy *et al*.,1990),** infection articulaire, infection cutanée **(B. Hrdy *et al.*, 1995).**

III.2.9. Résultat finale des analyses microbiologiques dans la spiruline

Les résultats des analyses microbiologiques révèlent la présence des bactéries identifiées à partir de l'aspect des colonies et de l'identification des souches isolées sur des milieux de culture sélectifs. Ces germes appartenant à la flore aérobie mésophile totale, aux moisissures, et staphylocoques. L'absence des coliformes totaux, fécaux, des salmonelles, des spores de Clostridium qui sont des Indicateurs de contamination fécales.

Tableau 06: Résultats des analyses microbiologique sur la spiruline analysés.

Gérmes	**Aspect des colonies**
FTAM	Présence de colonies de couleur blanche de différentes tailles
Coliformes totaux et fécaux	Absence de colonies.
Staphylocoques	Présence de colonies de couleur jaune de différentes tailles
Salmonelles	Absence de colonies.
Streptocoques fécaux	Absence de colonies.
Spores des anaerobies sulfito-réducteurices	Absence de colonies
Levures et moisissures	Présence de colonies de levures rondes, de couleur blanche. Les colonies des moisissures sont épaisses, filamenteuses pigmentées.

Conclusion

Conclusion générale

La spiruline algue bleu-vert, cyanobactérie filamenteuse précisent comestible, utilisée en cure en tant que complément alimentaire dont l'espèce la plus répondu est *l'Arthrospira platensis* une source complète de protéines, vitamines, minéraux et autres nutriments, il fait l'objet d'une attention croissante en raison de sa haute valeur nutritionnelle. Dans notre étude menée sur la spiruline, nous avons constaté qu'elle contient des valeurs nutritionnelles importante, le composant le plus important est le protéine (60%), suivie les glucides (15%).

Dans l'ensemble, La spiruline *Arthrospira platensis* semble de bonne qualité nutritionnelle d'après les analyses effectuées. Les analyses microbiologiques de la spiruline montrent que l'échantillon étudié respecte les normes de sécurité microbiologique en vigueur en France des germe : *Coliformes fécaux et totaux, anaérobies Sulfito-réducteurs ,les clostridiums ,Salmonelles, Streptocoques fécaux* à l'exception notable de la présence des germes : *Staphylococcus xylosus.* , *levures et moisissures (d'Alternaria alternata et Geotrichum capitatum)*,et alors qu'il a donné un résultat (11.28.10 ^{1}UFC/ml) avec des *germes aérobies*.

Ces résultats ont prouvé que la spiruline présente certains dangers pour les consommateurs donc cette produit la spiruline (*Arthrospira platensis*) est de qualité moyenne.

Références Bibliographiques

1. **Abdel-Moneim, A.-M.E.; Shehata, A.M.; Selim, D.A.; El-Saadony, M.T.; Mesalam, N.M.; Saleh, A.A.** 2022. Spirulina platensis and biosynthesized selenium nanoparticles improve performance, antioxidant status, humoral immunity and dietary and ileal microbial populations of heat-stressed broilers. J. Therm. Biol. 104, 103195.
2. **A.B. Naficy, H.W. Murray Isolated meningitis caused by Blastoschizomyces capitatus, J Infect Dis**, (1990).161,pp. 1041-1042.
3. **Adedokun, S. Yaya.** (2021). Factors associated with adverse nutritional status of children in sub-Saharan Africa: Evidence from the demographic and health surveys from 31 countries Maternal & Child Nutrition, 17 (3) p. E13198, 10.1111/mcn.13198.
4. **Afssa.** 2009**.** "Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des teneurs en vitamines et minéraux des denrées enrichies et des compléments alimentaires : synthèse." Maisons-Alfort, Fr: Afssa, 38 p.
5. **Akombi, K.E. Agho, A.M. Renzaho, J.J. Hall, D.R. Merom.** (2019) Trends in socioeconomic inequalities in child undernutrition: Evidence from Nigeria demographic and health survey (2003–2013) plos One, 14 (2).
6. **Alfadhly, N.K.; Alhelfi, N.; Altemimi, A.B.; Verma, D.K.; Cacciola, F.; Narayanankutty, A.** 2022.Trends and technological advancements in the possible food applications of Spirulina and their health benefits: A Review. Molecules 27, 5584.
7. **Alshuniaber, M.A.; Krishnamoorthy, R.; alqhtani, W.H**. 2021.Antimicrobial activity of polyphenolic compounds from Spirulina against food-borne bacterial pathogens. Saudi J. Biol. Sci. 28, 459–464.
8. **Amare, B. Moges, F. Moges, B. Fantahun, M. Admassu, A. Mulu, et al**. (2012). Nutritional status and dietary intake of urban residents in Gondar, Northwest Ethiopia BMC Public Health, 12 (1), pp. 1-10.
9. **Amir-ud-Din, S. Fawad, L. Naz, S. Zafar, R. Kumar, S**. (2022).Pongpanich, Nutritional inequalities among under-five children: A geospatial analysis of hotspots and cold spots in 73 low-and middle-income countries International Journal for Equity in Health, 21 (1) , p. 135.
10. **Anses.** 2016. "Actualisation des repères du PNNS : élaboration des références nutritionnelles." Maisons-Alfort: Anses.

11. **M.R. Angdembe, B.P. Dulal, K. Bhattarai, S. Karn Trends** 2019**.**and predictors of inequality in childhood stunting in Nepal from 1996 to 2016 International Journal for Equity in Health, 18 (2019), pp. 1-17.
12. **Association française pour l'algologie appliquée (AFAA) (1982).** "Actes du premier symposium sur la spiruline Spirulina Platensis (Gom.) Geitler de l'afaa."
13. **Avino P, Carconi PL, Lepore L, Moauro.** 2000. Nutritionnelle et les propriétés écologiques des produits d'algues utilisés pour une alimentation saine. INAA et ICPAES., 244(1): 247-252.
14. **Babadzhanov A.S., Abdusamatova N., Yusupova F.M., Faizullaeva N., Mezhlumyan L.G. and Malikova M.Kh.** 2004. Chemical composition of Spirulina platensis cultivated in Uzbekistan . Chemistry of Natural Compounds. 40 (3): p. 276-279.
15. **Barsanti, L., Coltelli, P., Evangelista, V., Frassanito, A. M., Passarelli, V., Vesentini,N., & Gualtieri P**. (2008). Oddities and curiosities in the algal world. In Algal toxins: Nature, occurrence, effect and detection (p. 353-91). Dordrecht: Springer.
16. **Becker, E.W.** 198**4. Nutritional properties of microalgal potentials and constraints. In: Richmond A, Ed.** Handbook of microalgal mass culture. CRC Press, Inc, Boca Ratón; pp. 339- 408.
17. **Belay, A.** 1997. Mass culture of Spirulina outdoors – The Earthrise Farms experience. In: Vonshak, A., Ed. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor and Francis. London. Pp. 131-158.
18. **BENT MOHAMED A., A. MINT SIDA BABA**. (2008). « Manuel de travaux pratique microbiologie ». Université de nouakchott. P : 18-22.
19. **Bernard C., 2014.-** Les cyanobactéries et leurs toxines. Revue Francophone des Laboratoires, 460 : 53 – 68.
20. **Biomérieux SA** Système d'identification des staphylocoques, microcoques et
    a. Apparentés. Fiche technique galerie API Staph.
21. **Boudène C., Collas E. & Jenkins C.** (1975). "Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues spirulines de différentes origines, et évaluation de la toxicité a long terme chez le rat d'un lot d'algues spirulines de provenance mexicaine." Ann. Nutr. Aliment.29, 577-587.

22. **Bortolini, D.G.; Maciel, G.M.; Fernandes, I.A.A.; Pedro, A.C.; Rubio, F.T.V.; Branco, I.G.; Haminiuk, C.W.I.** 2022. Functional properties of bioactive compounds from Spirulina spp.: Current status and future trends. Food Chem. Mol. Sci. 5, 100134.
23. **Bourgeois, Claude-Marcel; Bourgeois, Claude-Marcel; Leveau, Jean-Yves Paris.**1980. : Technique et Documentation ; Paris : APRIA Association pour la Promotion Industrie-Agriculture.
24. **Brown AE, Smith H Benson's** microbiological applications: laboratory manual in
    a. General microbilogy, 13th ed. (short version). Mcgraw-Hill Higher Education, newyork.
25. **Calella, P.; Cerullo, G.; Di Dio, M.; Liguori, F.; Di Onofrio, V.; Galle, F.; Liguori, G.** 2022.Antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects of spirulina in .exercise and sport: A systematic review. Front. Nutr. 9, 1048258
26. **Carbone, D.A.; Pellone, P.; Lubritto, C.; Ciniglia, C.** 2021**.** Evaluation of microalgae antiviral activity and their bioactive compounds. Antibiotics 10, 746.
27. **Ciferri, O.** (1983). Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev. 47:551-578. Cordella, I. Moussa, A.C. Martel, N. Sbirrazzuoli and L. Lizzani-Cuvelier, Recent developments in food characterization and adulteration detection: Technique oriented perspectives, Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (7) (2002), pp. 1751–1764.
28. **Ciferri, O. And Tiboni, O**. (1985) The biochemistry and industrial potential of Spirulina. Annual Review of Microbiology, 39, 503–526.
29. **Chabasse D, Bouchara JP, De Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P.** 2002. Les Moisissures d'intérêt Médical. Cahier De Formation Biologie Médicale. Bioforma.; N° 25, Mars : 1-159.
30. **Chaiklahan, R.; Chirasuwan, N.; Srinorasing, T.; Attasat, S.; Nopharatana, A.; Bunnag, B**. 2022. Enhanced biomass and phycocyanin production of Arthrospira (Spirulina) platensis by a cultivation management strategy: Light intensity and cell concentration. Bioresour. Technol.343, 126077.
31. **Charpy L., Langlade M-J., Alliod R**. 2008. La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique? Marseille: IRD.

32. **Christaki, E.; Florou-Paneri, P.; Bonos, E**. 2011. Microalgae: A novel ingredient in nutrition. Int. J. Food Sci. Nutr. 62, 794–799.
33. **Clement, G., C. Giddey, et R. Menzi**. 1967. "Amino acid composition and nutritive valve of the alga Spirulina maxima." Journal of the Science of Food and Agriculture 18 (11):497-501.
34. **Cornillier, Y., S. Korsia-Meffre, et S. Senart**. 2008. "Les ingrédients de A à Z - Spiruline." Dans Le guide des compléments alimentaires, edité par Vidal.
35. - **CSO** (2009) Zambia Demographic and Health Survey, Lusaka: Central Statistical Office.
36. **Costa, J.A.V.; Freitas, B.C.B.; Rosa, G.M.; Moraes, L.; Morais, M.G.; Mitchell, B.G.** 2019. Operational and economic aspects of Spirulina-based biorefinery. Bioresour. Technol. 292, 121946.
37. **D.B. Hrdy, N.N. Nassar, M.G. Rinaldi** .1995., Traumatic joint infection due to Geotrichum candidum Clin Infect Dis 20, pp. 468-469.
38. **Delpeuch, F., A. Joseph, et C. Cavelier**. 1976. "Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (Oscillatoria platensis) chez quelques populations du Kanem (Tchad)." Annales de la Nutrition et de l'Alimentation 29:497-516.
39. **Denis.F**(2007). Bactériologie médicale techniques usuelles. Masson. 384p.
40. **Delpeuch F., Joseph A. Et Cavelier C**. 1975. Consommation alimentaire et apport Nutritionnel des algues bleues (Oscillatoris platensis) chez quelques populations du Kanem (Tchad). Annales de la Nutrition et de l'Alimentation; 29: p. 497-515.
41. **Djebbari N., Z.Boudjadi, et M .bensuilah.** (2009). L'infestation de l'anguille Anguilla
    a. Anguilla par le parasite + Anguillicolacrassus Kuwahara, Niimi et I tagaki, dans le
    b. Complexede Zones humide d'El Kala (Nord-Est algérien). Université Badjimokhtar Annaba, Faculté des sciences, Laboratoire d'écologie des milieux marins et littoraux. Annaba. P : 45-50.
42. **Dinicolantonio, J.J.; Bhat, A.G.; okeefe, J**.2020. Effects of spirulina on weight loss and blood lipids: A review. Open Heart.

43. **Diraman, H., E. Koru, et H. Dibeklioglu.** 2009. "Fatty acid profile of Spirulina platensis used as a food supplement." Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh 61 (2):134-142.
44. **Dubois et Smoragiewics,** 1982.l'inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par Streptococcus lactis, S. Thermophilus, Lactobacillus acidophilus et h. Helveticus. Le lait, 1982, N° 62. P: 681 – 687.
45. **Efsa.** 2015. "Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) ; Scientific Opinion on dietary Reference Values for vitamin A." The EFSA journal 13 (3):4028.
46. **Eykelenburg C**.1997. On the morphology and ultrastructure of the cell wall of Spirulina platensis. Antonie Van Leeuwenhoek 43(2): 89-99.
47. **Falquet J, Hurni JP.** 2006. Spiruline, Aspects Nutritionnels. Antenna Technologies;41.
48. **Fernandes, R.; Campos, J.; Serra, M.; Fidalgo, J.; Almeida, H.; Casas, A.; Toubarro, D.; Barros, A.I.**2023. Exploring the benefits of phycocyanin: From Spirulina cultivation to its widespread applications. Pharmaceuticals16, 592.
49. **Fox R.D** (1999). Spiruline, Technique pratique et promesse. Aix enprovence: Edisud; 1999.
50. **FRANCIAS N.** (2002). « Analyses microbiologiques des aliments de l'eau : directives pour l'assurance qualité ». Edition Tec et Doc. P : 87-134.
51. **Furmaniak MA., Misztak AE., Franczuk MD., Wilmotte A., Waleron M., Waleron KF**.2017. Edible Cyanobacterial Genus Arthrospira: Actual State of the Art in Cultivation Methods, Genetics, and Application in Medicine. Front Microbiol .
52. **EUZÉBY J-P.** (2007). « Travaux pratiques de bactériologie ». Abrégé de Bactériologie
    a. Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. P :16-20.
53. **Gershwin, M. E., et A. Belay.** 2008. "Spirulina in human nutrition and health." CRC Press:328 p.
54. **Gomont, M.** (1892). Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées). Deuxième partie. - Lyngbyées. Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 7 16: 91-264, pls 1-7
55. **Gromek, W.; Kołdej, N.; Kurowski, M.; Majsiak, E**.2024. Spirulina (Arthrospira platensis): Antiallergic Agent or Hidden Allergen? A Literature Review. Foods, 13, 1052.

56. **Gutiérrez-Salmeán, G.; Fabila-Castillo, L.; Chamorro-Cevallos, G**.2015. Nutritional and toxicological aspects of Spirulina (Arthrospira). Nutr. Hosp. 32, 34–40.
57. **Habib, M.A.B., M. Parvin, T.C. Huntington, et M. R. Hasan**. 2008. "A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals." Rome: FAO Fisheries and Aquaculture Circular. No. 1034.
58. **Harriman G.R., Smith P.D., Horne M.K., Fox C.H., Koenig S., Lack E.E., Lane H.C**.1989. Vitamin B12 malabsorption in patients with acquired immunodeficiency syndrome. Archives of Internal Medicine.149 (9): p. 2039-2041.
59. **H.Y. Hassen, J.H. Ali, S.H. Gebreyesus, B.S. Endris, A.M**.2020. temesgennational incidence, prevalence and disability-adjusted life years (dalys) of common micronutrient deficiencies in Ethiopia from 1990 to 2017: Estimates from the global burden of diseases study Global Health Action, 13 (1).
60. **Hayakawa Y., Hirashima Y., Yamamoto H., Kurimoto M., Hayashi T., Lee J-B., et al**.2003. Mechanism of activation of heparin cofactor II by calcium spirulan. Arch Biochem Biophys.
61. **Hayashi T., Hayashi K., Maeda M., Kojima I**.1996. Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga Spirulina platensis. J Nat Prod.
62. **Henrikson, R**.1994. Microalga Spirulina, superalimento del futuro. Ronore Enterprises. 2ª ed. Ediciones Urano, Barcelona, España.1994, pp. 222.
63. **Herbert, V., et G. Drivas**. 1982. "Spirulina and Vitamin B12." JAMA: The Journal of the American Medical Association 248 (23):3096-3097. Doi: 10.1001/jama.1982.03330230018017. 44- Dagnelie, P. C., W. A. Van Staveren, et H. Van den Berg. 1991. "Vitamin B-12 from algae appears not to be bioavailable." American Journal of Clinical Nutrition 53 (3):695-697.
64. **Hoekstra, D. T., H. Volschenk, M. Collins, et L. D. Mcmaster.** 2011. "An investigation of Clostridium species present in nutraceutical preparations of Arthrospira platensis (Spirulina) for human consumption." Journal of Applied Phycology 23 (4):777-787.
65. **Holman, B. W. B., et A. E. O. Malau-Aduli**. 2013. "Spirulina as a livestock supplement and animal feed." Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 97 (4):615-623.

66. **Hoog, G.S. and Smith, M.T.** (2004) Ribosomal Gene Phylogeny and Species Delimitation in Geotrichum and Its Teleomorphs. Studies in Mycology, 50, 489-515.

67. **Hug, C. And Weid, D.** (2011) Spirulina in the Fight Against Malnutrition: Assessment and Prospects, Fondation Antenna Technologies.
68. **Hutadilok-Towatana, N.; Reanmongkol, W.;Panichayupakaranant,P**.2010. Evaluation of the toxicity of Arthrospira (Spirulina) platensis extract. J. Appl. Phycol. 22, 599–605.
69. **Institut Pasteur.** 1999. Guide pratique d'analyse microbiologique des denrées alimentaire
70. **Jacquet, J.** 1975. "[Microflora of spiruline preparations]." Annales de la nutrition et de l"alimentation 29 (6):589-601.
71. **Jarisoa T.,** 2005. Adaptation de la spiruline du sud de Madagascar à la culture en eau
    a. De mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise, 188 p.
72. **Johnson P. & Shubert E.** (1986), "Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green algae." Nutrition Research 6, 85-94.
73. **Jourdan, J.P**. (2012). Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale . Publication Antenna Technologies.
74. **Kaabach Y. Et Berrebi A.** 2018. Contribution á l'étude de la qualité bactériologique du cachir. Mémoire de master. Université du 20 aout 1955-Skikda
75. **Karkos, P.D.; Leong, S.C.; Karkos, C.D.; Sivaji, N. And Assimakopoulos, D.A.** (2011) 'Spirulina in Clinical Practice: Evidence-based Human Applications', Evidence-based Complementary and Alternative Medicine ecam: 1–4.
76. **Khan Z, Bhadouria P, Bisen PS**.2005**.** Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. Curr Pharm Biotech 6: 373-9.
77. **Konícková, R.; Vanková, K.; Vaníková, J.; Vánová, K.; Muchová, L.; Subhanová, I.; Zadinová, M.; Zelenka, J.; Dvorák, A.; Kolár, M.;** et al.2014. Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. Ann. Hepatol. 13, 273–283.
78. **Koru, E.** 2012. "Earth food Spirulina (Arthrospira): Production and quality standarts." Dans Food additive, edité par Yehia El-Samragy. : intech, p.191-202.

79. **Kulshreshtha, A.; Zacharia, A.J.; Jarouliya, U.; Bhadauriya, P.; Prasad, G.B.K.S.; Bisen, P.S**.2008. Spirulina in health care management. Curr. Pharm. Biotechnol. 9, 400–405.
80. **Labres et Mouffok F,** 2008. Les cours national d'hygiène et de microbiologie des eaux de boisson. Manuel du traveaux pratiques des eaux. Institut pasteur d'Algérie. 53p.
81. **LAFRI, I. (n.d.).** Optimisation des conditions d'extraction de la phycocianine de laspiruline SP. Université Blida1-Saad Dahlab.
82. **Lebres E ;** (2002). Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des eaux, des boissons et des produits de la mer ». Institut Pasteurd'Algérie. P34.
83. **Leal-Esteban et al.,** 2021 **L.C. Leal-Esteban, R.C. Nogueira, M. Veauvy, B. Mascarenhas, M. Mhatre, S. Menon, et al.** Spirulina supplementation: A double-blind, randomized, comparative study in young anemic Indian women Clinical Epidemiology and Global Health, 12 (2021).
84. **Leema JTM., Kirubagaran R., Vinithkumar NV., Dheenan PS., Karthikayulu S**.2010. High value pigment production from Arthrospira (Spirulina) platensis cultured in seawater. Bioresour Technol .
85. **Liestianty, D.; Rodianawati, I.; Arfah, R.A.; Assa, A.; Patimah; Sundari; Muliadi**.2019. Nutritional analysis of Spirulina sp. To promote as superfood candidate. In Proceedings of the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, Semarang, Indonesia, 7–8 September p. 012031.
86. **Liu Q., Huang Y., Zhang R., Cai T., Cai Y**.2016. Medical Application of Spirulina platensis Derived C-Phycocyanin. Evid-Based Complement Altern Med ECAM 7803846.
87. **Li ZY, Guo SY, Li L, et al**.2006. Effects of electromagnetic field on the batch cultivation of spirulina platensis in an air-lift photobioreactor. Bioresour Technol.
88. **López-Romero, D.; Izquierdo-Vega, J.A.; Morales-González, J.A.; Madrigal-Bujaidar, E.; Chamorro-Cevallos, G.; Sánchez-Gutiérrez, M.; Betanzos-Cabrera, G.; Alvarez-Gonzalez, I.; Morales-González, Á.; Madrigal-Santillán, E**.1954.. Evidence of

Some Natural Products with Antigenotoxic Effects. Part 2: Plants, Vegetables, and Natural Resin. Nutrients 10.

89. **Lupatini AL., Colla LM., Canan C., Colla E**.2017. Potential application of microalga Spirulina platensis as a protein source. J Sci Food Agric.
90. **M.Ahsan, B.Habib, Mashuda Parvin** (2008), A Review on Culture, Production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish, ISSN 2070-6065.
91. **Mccarty M**.2007. Clinical potential of Spirulina as a source of phycocyanobilin. J Med Food .
92. **Melina, V., W. Craig, et S. Levin**. 2016. "Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Vegetarian Diets." Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics 116 (12):1970-1980.
93. **Misbahuddin, M. , Maidul Islam, A., Khandker, S., Ifthaker-almahmudc, Islam, N., Anjumanara**.2006.Efficacy of Spirulina extract plus zinc in patients of chronic arsenic poisoning: A randomized placebo-controlled study. Clinical Toxicology, Volume 44, Issue 2, 1 April Pages 135-141 .
94. **Manet A**.2016. La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. Thèse d'exercice. Université Grenoble Alpes.
95. **Marles, R.J.; Barrett, M.L.; Barnes, J.; Chavez, M.L.; Gardiner, P.; Ko, R.; Mahady, G.B.; Dog, T.L.; Sarma, N.D.; Giancaspro, G.I.; et al**.2011. United States pharmacopeia safety evaluation of spirulina. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.
96. **Marco Castro, E.; Shannon, E.; Abu-Ghannam, N**.2019. Effect of Fermentation on Enhancing the Nutraceutical Properties of Arthrospira platensis (Spirulina). Fermentation 5, 28.
97. **Martínez-Galero E., Pérez-Pastén R., Perez-Juarez A., Fabila-Castillo L., gutiérrezsalmeán G., Chamorro G**.2016. Preclinical antitoxic properties of Spirulina (Arthrospira). Pharm Biol 54:1345–53.
98. **P.Mwene-Batu, G. Bisimwa, M. Baguma, J. Chabwine, A. Bapolisi, C. Chimanuka, et al**.2020. Long-term effects of severe acute malnutrition during childhood on adult cognitive, academic, and behavioural development in African fragile countries: The Lwiro cohort study in democratic Republic of the Congo plos One, 15 (12).

99. **OMS** 1995. Utilisation et interprétation de l'anthropométrie. Rapport technique 854, 498 pp.

100. **Palla, J. C., et F. Busson.** 1969. "Carotenoids of Spirulina platensis (Gom.) Geitler
   a. (Cyanophyceae)." Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Académie des Sciences. Serie D: Sciences naturelles 269 .

101. **Park, W.S.; Kim, H.J.; Li, M.; Lim, D.H.; Kim, J.; Kwak, S.S.; Kang, C.M.; Ferruzzi, M.G.; Ahn, M.J**.2018. Two Classes of Pigments, Carotenoids and C-Phycocyanin, in Spirulina Powder and Their Antioxidant Activities. Molecules 23, 2065.

102. **Paniagua-michel J., Dujardin E. et Sironval C.** (1993). Le Tecuitlal, concentré de spirulines.

103. source de protéines comestibles chez les Aztèques. Cahiers de l'Agriculture; 2: p. 283-287.

104. **Parikh, P.; Mani, U.; Iyer, U.**2001.Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. J. Med. Food 2001, 4, 193–199.

105. **PILLY E.** (2008). « Maladies Infectieuses et Tropicales ». 21ème édition. Doin. P

106. **Polacheck, I. Salkin, R. Kitzes Cohen, et al**.1992. Endocarditis caused by Blastoschizomyces capitatus and taxonomy review of the genus J Clin Microbiol, 30 pp. 2318-2322.

107. **Rogowski J.** (2008) « Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques », Universite Henri Poincare - Nancy 1, 2008.

108. **Santillan, C.** 1982. "Mass production of spirulina." Experientia 38 (1):40-43.

109. **Saxena, P.N., Ahmad, M.R., Shyan, R., and Amla, D.V**.1983. Cultivation of Spirulina in sewage for poultry feed. Experientia,39:1077-1083.

110. **Shekharam, K., Ventakaraman, L., and Salimath, P**.1987.Carbohydrate composition and characterization of two unusual sugars from the blue-green algae Spirulina platens is. Phytochem.

111. **Sommella, E.; Conte, G.M.; Salviati, E.; Pepe, G.; Bertamino, A.; Ostacolo, C.; Sansone, F.; Prete, F.D.; Aquino, R.P.; Campiglia, P**.2018. Fast profiling of natural pigments in different Spirulina (Arthrospira platensis) dietary supplements by DI-FT-ICR

and evaluation of their antioxidant potential by pre-column DPPH-UHPLC assay. Molecules 23, 1152.

112. **Smith, L. C., Haddad, L. J.** 2000. Explaining child malnutrition in developing countries: A crosscountry analysis (Vol. 111). Intl Food Policy Res Inst.

113. **Simpore, J., F. Kabore, F. Zongo, D. Dansou, A. Bere, S. Pignatelli, D. M. Biondi, G. Ruberto, et S. Musumeci.** 2006. "Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing spiruline and misola."

114. **Singh-Y & Kumar-HD** .1994., "Adaptation of a strain of Spirulina platensis to grow in cobalt- and iodine-enriched media.

115. **Sousa, I.; Gouveia, L.; Batista, A.P.; Raymundo, A.; Bandarra, N.M**.2008. Microalgae in novel food products. In Food Chemistry Research Developments; Papadoupoulos, K., Ed.; Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, USA, pp. 75–112.

116. **Su, M.; Bastiaens, L.; Verspreet, J.; Hayes, M**.2023. Applications of microalgae in foods, pharma and feeds and their use as fertilizers and biostimulants: Legislation and regulatory aspects for consideration Foods.

117. **Subramaiam, H.; Chu, W.L.; Radhakrishnan, A.K.; Chakravarthi, S.; Selvaduray, K.R.; Kok, Y.Y**.2021. Evaluating Anticancer and Immunomodulatory Effects of Spirulina (Arthrospira) platensis and Gamma-Tocotrienol Supplementation in a Syngeneic Mouse Model of Breast Cancer. Nutrients.

118. **Sumi, Y.** (2009). Microalgae pioneering the future-application and utilization. NISTEP Science & Technology Foresight Center.

119. **Switzer, L**.1980. Spirulina, the whole food revolution. Proteus Corporation, USA;pp. 1-69.

120. **Themane, M.., Monyeki, K.., Nthangeni, M.., Kemper, H.C.., Twisk, J.W..,** 2003. The relationship between health (malnutrition) and educational achievements (Maths and English) in the rural children of South Africa International Journal of Educational Development 23, 637–643.

121. **Timmer, L. W., Peever, T. L., Solel, Z., Akimitsu, K.** 2003. Alternaria diseases of citrus-Novel pathosystems. Phytopa-thologia Mediterranea, 42: 14-14.

122. **Torres-Duran, P.V.; Ferreira-Hermosillo, A.; Juarez-Oropeza, M.A**.2007. Antihyperlipemic and antihypertensive effects of Spirulina maxima in an open sample of Mexican population: A preliminary report. Lipids Health Dis.

123. **UNICEF** (2013) Improving Child Nutrition: The Achievable Imperative for Global Progress.

124. **UNICEF.** (2023). Malnutrition in children.

125. **USP.** 2015. United States pharmacopeia dietary supplements compendium. Traduit par. Edité. Vardaka, E., K. A. Kormas, M. Katsiapi, S. Genitsaris, et M. Moustaka-Gouni. 2016. "Molecular diversity of bacteria in commercially available "Spirulina" food supplements." peerj 2016 .

126. **Vardaka, E., K. A. Kormas, M. Katsiapi, S. Genitsaris, et M. Moustaka-Gouni.** 2016. "Molecular diversity of bacteria in commercially available "Spirulina" food supplements." peerj 2016 .

127. **Venkataraman L.V., Bluegreen alga: Spirulina, Mysore, India**. 1983.

128. **Vidalo J-L. Spiruline**.2008. : l'algue bleue de santé et de prévention. Paris: Ed. Du Dauphin.

129. **Wang ZP**.2005. Morphological reversion of Spirulina (Arthrospira platensis) (cyanophyta): from linear to helical. Journal of Phycology.

130. **Wang, J., Y. Wang, Z. Wang, L. Li, J. Qin, W. Lai, Y. Fu, P. M. Suter, R. M. Russell, M. A. Grusak, G. Tang, et S. Yin.** 2008. "Vitamin A equivalence of spirulina β-carotene in Chinese adults as assessed by using a stable-isotope reference method." American Journal of Clinical Nutrition .

131. **Watanabe, F., H. Katsura, S. Takenaka, T. Fujita, K. Abe, Y. Tamura, T. Nakatsuka, et Y. Nakano.** 1999. "Pseudovitamin B12 is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets." Journal of Agricultural and Food Chemistry .

132. **Watanabe, F.** 2007. "Vitamin B12 sources and bioavailability." Experimental Biology and Medicine.

133. **Wild, K.J.; Steingaß, H.; Rodehutscord, M**.2018. Variability in nutrient composition and in vitro crude protein digestibility of 16 microalgae products. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.

134. **Winter, F. S., F. Emakam, A. Kfutwah, J. Hermann, M. Azabji-Kenfack, et M. B. Krawinkel.** 2014. "The Effect of Arthrospira platensis capsules on CD4 T-Cells and antioxidative capacity in a randomized pilot study of adult women infected with human immunodeficiency virus not under HAART in Yaoundé, Cameroon." Nutrients.

135. **Yamani, E., J. Kaba-Mebri, C. Mouala, G. Gresenguet, et J. L. Rey.** 2009. "Use of spirulina supplement for nutritional management of HIV-infected patients: Study in Bangui, Central African Republic." Medecine Tropicale.

136. **Yang, H.-N.; Lee, E.-H.; Kim, H.-M**.1997. Spirulina platensis inhibits anaphylactic reaction. Life Sci.

137. **Zegeye**, **G. Shibre, D. Idriss-Wheeler, S. Yaya2**.2021. Trends in inequalities in childhood stunting in Ethiopia from 2000 to 2016: A cross sectional study Journal of Public Health, 43 (3) , pp. 655-663.

Annexes

Annexes01 : Dosage de sucres **(DUBIOS *et al*.,1956).**

	blanc	0.002% 0.02 Mg/ml	0.004% 0.4 Mg/ml	0.006% 0.06 Mg/ml	0.008% 0.8 Mg/ml	0.001% 0.01 Mg/ml	Extrait de spirulina
G0.01% ul	0	200	400	600	800	1000	200
ED ul	1000	800	600	400	200	0	0
Phénol 5% ml	1	1	1	1	1	1	200
A.Sulfirique ml	5	5	5	5	5	5	1

Annexes 02: Dousage de protéines

Comcentration BSA (mg/ml)	0	2	4	6	8	10
Volume nécessaire pour le dousage (ml)	1	1	1	1	1	1
Volume ajouté de la solution Biuret (ml)	2	2	2	2	2	2

Annexe 04: Table de Mac Grady

Nombre de tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 mL	Limites de confiance à 95 %	
5 tubes de 10 mL	5 tubes de 1 mL	5 tubes de 0,1 mL		Limite inférieure	Limite supérieure
4	4	0	34	12	96
5	0	0	23	7	70
5	0	1	31	11	89
5	0	2	43	15	114
5	1	0	33	11	93
5	1	1	46	16	120
5	1	2	63	21	154
5	2	0	49	17	126
5	2	1	70	23	168
5	2	2	94	28	219
5	3	0	79	25	187
5	3	1	109	31	253
5	3	2	141	37	343
5	3	3	175	44	503
5	4	0	130	35	302
5	4	1	172	43	486
5	4	2	221	57	698
5	4	3	278	90	849
5	4	4	345	117	999
5	5	0	240	66	754
5	5	1	348	118	1 005
5	5	2	542	180	1 405
5	5	3	918	303	3 222
5	5	4	1 609	635	5 805