

Université Polytechnique  
de Bobo Dioulasso



Centre National de Recherche  
Scientifique et Technologique

Institut de Développement Rural

Institut de Recherche en Science de la Santé.

## MEMOIRE

Présenté par : Mr Issaka **YOUGBARE**  
Maître ès Sciences biochimie-Microbiologie

Pour l'obtention du

## Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques

Sur le thème :

**Impact de la prise quotidienne de *Spirulina platensis* sur le status immuno-biologique et nutritionnel des personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience (PvVIH) à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso).**

Soutenu le 05 février 2007, devant le Jury :

**Président** : Professeur Hamidou Boly

**Membres** : Professeur agrégé Georges Anicet OUEDRAOGO,  
Professeur Jean Bosco OUEDRAOGO

Directeur de mémoire : Pr Jean Bosco OUEDRAOGO Directeur de l'IRSS

Co-directeur de mémoire : Dr Zékiba TARNAGDA, Chargé de recherche

## DEDICACE

AUX PERSONNES LES PLUS CHERES QUI M'ONT QUITTE:

YOUGBARE Bagbila, Zénabou ET WAONGHO Bombédo.

A MA FAMILLE, particulièrement à mes sœurs YOUGBARE

Alimata, Rasmata, Fatimata et

à ma bien-aimée KOADEMA Monique

A MON COUSIN ET CHER AMI GNADA Kobo Daniel et toute

sa famille (Elisabeth et Debora).

Ce mémoire est le vôtre.

*2011-2012*

*2013*

*2014*

## REMERCIEMENTS

Ce présent mémoire est la résultante de tant d'efforts consentis par plusieurs structures et personnes. J'attache en conséquence du prix à ces quelques lignes à travers lesquelles je tiens à leurs exprimer toute ma profonde reconnaissance.

Je remercie le Professeur **Jean Bosco OUEDRAOGO** Directeur de l'IRSS/DRO qui nous a accueilli dans son institut de recherche et à accepter de diriger ces travaux. Nous avons bénéficié tout au long de notre formation de vos enseignements théoriques à l'Unité de Formation et de Recherche en Science de la Santé et au DEA de biologie appliquée. Votre rigueur dans le travail et vos connaissances scientifiques forcent l'admiration.

Je voudrais de façon toute particulière exprimer mes remerciements les plus sincères aux **Dr TARNAGDA Zékiba** et **Dr Hermann SORGHO** pour leurs encadrements scientifiques malgré leurs multiples obligations. Je vous reste redevable pour vos conseils, vos encouragements et votre rigueur scientifique. Vos qualités humaines et scientifiques ont fini de nous séduire. Infiniment merci pour tout.

Il m'est particulièrement agréable de remercier messieurs les Professeurs **Anicet Georges OUEDRAOGO** et **Jean Bosco OUEDRAOGO** responsables de la formation DEA BA-MSB pour la lourde tâche qu'ils ont abattue pour mener à bien cette formation. Votre disponibilité et ardeur au travail sont hautement appréciables. Permettez-nous de vous témoigner toute notre reconnaissance.

J'exprime ma reconnaissance aux Drs **ZONGO I**, **ZEBA N**, **ROUAMBA N**, ainsi que tous les chercheurs, le personnel, les étudiants et techniciens de laboratoire de l'IRSS pour leurs soutiens de tous genres et la formation reçue au cours des animations scientifiques.

Je ne saurai terminer sans remercier nos professeurs pour leur détermination sans faille à la réussite de la formation de cette première promotion. Vos qualités humaines et scientifiques sont hautement appréciables. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

J'exprime ma reconnaissance à la famille **GNADA** pour le soutien inconditionnel à ma réussite tout au long de mon cursus universitaire. Puisse notre amitié durer plus que nos vies et celles de nos enfants.

Je suis redevable à ma bien-aimée **Monique KOADEMA** pour son soutien inestimable et ses précieux conseils. Que les fruits de nos combats et de notre amitié soient celles de nos enfants.

Mes vifs remerciements s'adresse également à la famille **SOUBEIGA** à **FADA N'GOURMA** pour son soutien inconditionnel à ma réussite au Secondaire. Qu'elle en soit infiniment remerciée.

Je remercie de façon spéciale mes frères et cousins **YOUGBARE Sibiri**, **NIADA Jean**, **LANKOANDE Mahomed**, **SAWADOGO Philippe** et **YOUGBARE Mamadou** pour leur soutien sur tous les plans à ma réussite.

Je voudrais renouveler ma très profonde reconnaissance à mes amis, parents et camarades qui n'ont cessé de me soutenir sur tous les plans. Qu'ils en soient remerciés; je m'adresse particulièrement à **SOUBEIGA K. Joseph**, **KABORE Abdou**, **KOADEMA Clarisse**, **S<sup>R</sup> Emilienne SOUBEIGA** toute la première promotion de DEA BA-MSB 2005-2006.

---

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

---

### Tableaux

Tableau I : Principaux acides gras de deux souches de spiruline, <i>S. maxima</i> et <i>S. platensis</i> .....	9
Tableau II : Répartition des patients par groupe selon la classification OMS de leur indice de masse corporelle IMC (en kg/m <sup>2</sup> ).....	27
Tableau III : Variation de la moyenne de l'IMC par groupe selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	27
Tableau IV : Variation du nombre moyen des lymphocytes CD4/ $\mu$ L par groupe et selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	28
Tableau V : Classification des patients par groupe selon le déficit leucocytaire : leucopénie, lymphopénie et neutropénie. ....	29
Tableau VI : Classification des patients par groupe et selon leur taux d'hémoglobine (Hb) avant et après supplémentation. ....	29
Tableau VII : Variation du nombre moyen de l'hémoglobine selon les différents groupes au cours des 6 mois de supplémentation. ....	30
Tableau VIII : Répartition par groupe selon leur vitesse de sédimentation (VS) au début et à la fin de 6 mois de supplémentation. ....	31
Tableau IX : Variation de la moyenne de la vitesse de sédimentation VS en fonction des groupes après 6 mois de supplémentation.....	31
Tableau X : Variation des moyennes de rétinolémie des patients du groupe I et leurs statuts nutritionnel en vitamine A.....	32
Tableau XI : Variation du pourcentage des patients ayant l'hypercréatininémie, l'hyperamylasémie et les transaminases ALAT élevée en fonction du traitement ARV.....	32

### Figure

Figure 1: Le cycle des carences en oligoéléments et la pathogénie du VIH.....	2
Figure2 : Ultrastructure du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	6
Figure3 : Variabilités génétiques du VIH-1 et VIH-2.....	7
Figure 4 : Récapitulatif des effets biologiques de la spiruline (d'après Khan <i>et al.</i> , 2005) .....	12
Figure 5 : Répartition des sérotypes de VIH dans la population d'étude.....	26

---

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

---

### Tableaux

<b>Tableau I :</b> Principaux acides gras de deux souches de spiruline, <i>S. maxima</i> et <i>S. platensis</i> .....	9
<b>Tableau II :</b> Répartition des patients par groupe selon la classification OMS de leur indice de masse corporelle IMC (en kg/m <sup>2</sup> ).....	27
<b>Tableau III :</b> Variation de la moyenne de l'IMC par groupe selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	27
<b>Tableau IV :</b> Variation du nombre moyen des lymphocytes CD4/ $\mu$ L par groupe et selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	28
<b>Tableau V :</b> Classification des patients par groupe selon le déficit leucocytaire : leucopénie, lymphopénie et neutropénie. ....	29
<b>Tableau VI :</b> Classification des patients par groupe et selon leur taux d'hémoglobine (Hb) avant et après supplémentation. ....	29
<b>Tableau VII :</b> Variation du nombre moyen de l'hémoglobine selon les différents groupes au cours des 6 mois de supplémentation. ....	30
<b>Tableau VIII :</b> Répartition par groupe selon leur vitesse de sédimentation (VS) au début et à la fin de 6 mois de supplémentation. ....	31
<b>Tableau IX :</b> Variation de la moyenne de la vitesse de sédimentation VS en fonction des groupes après 6 mois de supplémentation.....	31
<b>Tableau X :</b> Variation des moyennes de rétinolémie des patients du groupe I et leurs statuts nutritionnel en vitamine A.....	32
<b>Tableau XI :</b> Variation du pourcentage des patients ayant l'hypercréatininémie, l'hyperamylasémie et les transaminases ALAT élevée en fonction du traitement ARV.....	32

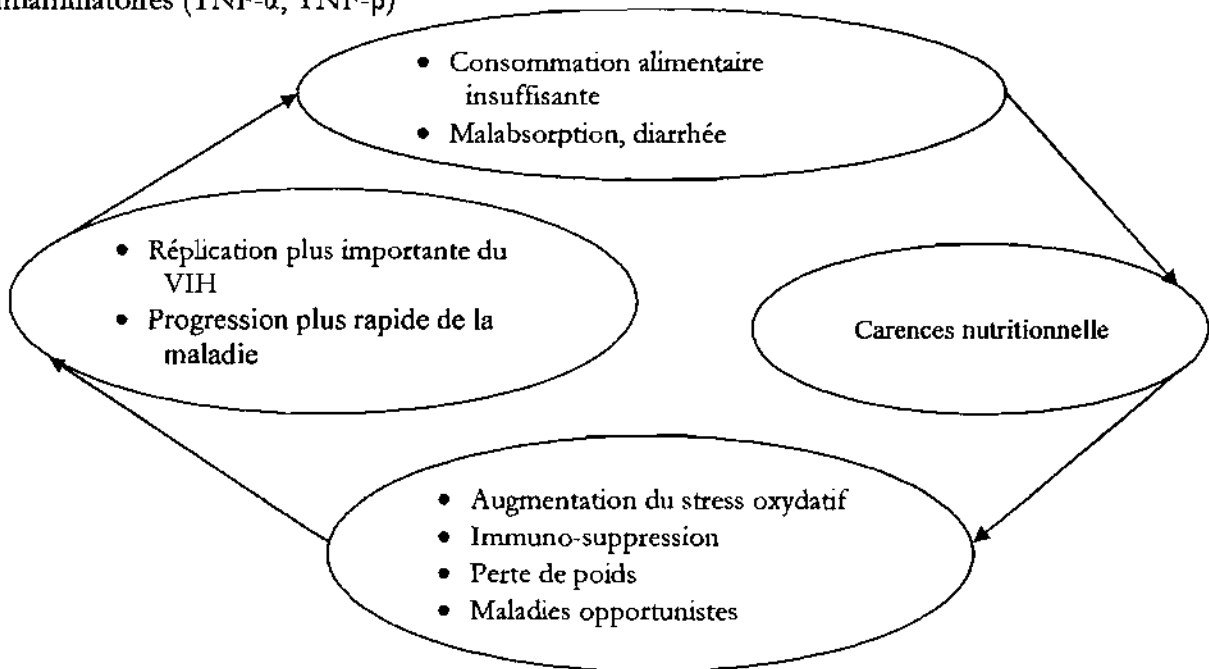
### Figure

<b>Figure 1:</b> Le cycle des carences en oligoéléments et la pathogénie du VIH.....	2
<b>Figure2 :</b> Ultrastructure du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	6
<b>Figure3 :</b> Variabilités génétiques du VIH-1 et VIH-2.....	7
<b>Figure 4 :</b> Récapitulatif des effets biologiques de la spiruline (d'après Khan <i>et al.</i> , 2005) .....	12
<b>Figure 5 :</b> Répartition des sérotypes de VIH dans la population d'étude.....	26

## INTRODUCTION

La malnutrition est un problème clinique commun chez les malades séropositifs avancés. Il y a différents processus pathologiques qui contribuent à l'amaigrissement dans les cas d'infection par le VIH. La présence d'infection et d'autres maladies opportunistes augmentent les besoins de l'organisme en substances nutritives tout en diminuant le taux d'absorption. Beaucoup d'infections réduisent l'appétit. Avec une infection de la bouche (candidose buccale), il est difficile ou pénible de manger, et de plus les problèmes psychologiques et la pauvreté réduisent la quantité et la qualité de nourriture consommée. Ainsi la malnutrition peut endommager la fonction d'un organe, affaiblir indépendamment le fonctionnement immunitaire, compromettre l'efficacité des médicaments et diminuer la qualité de vie du malade (Anabwani *et al.*, 2005)

Il a été largement démontré que l'infection par le VIH est liée à des taux sériques plus bas en éléments nutritifs suivants : vitamines A, complexe B, C, et E, les minéraux comme le sélénium, le zinc, le Fer, le Magnésium, les folates et les caroténoïdes. La fonction immunitaire est hautement dépendante du statut nutritionnel. De plus les infections, les tumeurs, le stress et la malnutrition peuvent significativement altérer la production d'hormones par les organes. La réaction de l'organisme à l'infection se traduit par l'augmentation du taux sanguin de glucagon, insuline et d'hormone de stress comme l'épinephrine et le cortisol. Ces hormones adrénales ont la propriété particulière d'altérer le métabolisme. L'anorexie, la malabsorption et l'altération du métabolisme peuvent être dus au processus inflammatoire résultant de la surproduction de cytokines inflammatoires (TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ )



**Figure 1 :** Le cycle des carences en oligoéléments et la pathogénie du VIH : Comment l'infection par le VIH affaiblit le statut alimentaire.

## PROBLEMATIQUE ET JUSTIFICATION DE L'ETUDE

Le Syndrome de l'Immunodéficience Acquise (SIDA) représente le stade le plus évolué de l'infection par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH). Cette maladie est caractérisée par la destruction de lymphocytes (CD4 auxiliaires) de l'immunité. Il en découle un déficit immunitaire à l'origine des infections opportunistes associées et/ou de tumeurs (Klatzman *et al.*, 1989). L'évolution du VIH/SIDA à travers le monde reste préoccupante avec 33,4 à 46,0 millions de personnes vivant avec le VIH/SIDA dont 2,4 à 3,3 millions de décès en 2005 et environ 3,4 à 6,2 millions de nouvelles infections (UNAIDS, 2006). L'Afrique Subsaharienne reste la partie du monde la plus touchée par cette pandémie avec 25,4 millions de personnes vivant avec le VIH/SIDA, soit 64,5% des personnes infectées dans le monde (UNAIDS, 2006). Depuis la déclaration du premier cas du SIDA en 1986 au Burkina Faso, la situation demeure préoccupante. La prévalence du VIH dans la population générale est passée de 7,17 % en 1997 à 6,5 % en 2002 (SP/CNLS-IST, 2004).

Au Burkina Faso, malgré un remarquable engagement du politique et de la société civile dans la prise en charge (médicale, psycho-sociale) des personnes vivant avec le VIH (PvVIH), celle nutritionnelle est encore timide. Cependant la prise en charge nutritionnelle des PvVIH par une alimentation adéquate pourrait apporter un plus à l'amélioration de l'état sanitaire de ces malades (Chlebouski *et al.*, 1985). D'autres auteurs ont également rapporté l'importance de la nutrition dans la prise en charge générale des PvVIH. Selon Bogden *et al* (2000), la dénutrition s'accompagne d'une perte de poids et une dégradation de l'état général. La perte de poids est due à la réduction de la prise alimentaire par manque d'appétit et les infections opportunistes responsables de la diarrhée. La dénutrition altère l'immunité cellulaire par une diminution de la fonction phagocytaire, de la production d'anticorps, du complément et du nombre de lymphocytes totaux (Bogden *et al.*, 2000). Il a été démontré que la dénutrition est fortement corrélée avec la progression de la maladie. (Jiamton *et al.*, 2003 ; Villamor *et al.*, 2000).

Les macronutriments jouent un rôle important au cours de l'infection par le VIH. Une carence protéino-énergétique est capable de provoquer des dysfonctionnements de l'immunité cellulaire. Le tissu lymphoïde est très sensible au statut alimentaire. Des études ont montré qu'une telle malnutrition est capable de provoquer une atrophie du thymus, une perte des cellules lymphoïdes et une hypersensibilité cutanée (Kotler *et al.*, 1998).

Les micronutriments tels que les vitamines et les sels minéraux sont d'importants indicateurs de mesure de l'état nutritionnel de l'homme et exercent aussi un effet direct sur la fonction



immunitaire. Le déficit de ces micronutriments est associé à une réduction du nombre de cellules immunitaires pouvant entraîner un désordre de la fonction immunitaire (Gomo *et al.*, 2003). L'hypovitaminose A par exemple entraîne une baisse du nombre de lymphocytes CD4+. L'administration de la vitamine A pourrait réduire de façon significative la morbidité et la mortalité chez les malades du SIDA. Fawzi *et al.* (1998) ont remarqué une baisse de la sévérité de la diarrhée et une réduction de la mortalité infantile et maternelle après un traitement des femmes enceintes où la vitamine A était associée. D'autres auteurs ont rapporté que la prise d'autres vitamines (B, C et E) peut diminuer le risque de transmission verticale du VIH de la mère à l'enfant et ralentir la progression du VIH, renforcer la fonction immunitaire au niveau de la barrière placentaire et améliorer la fonction immunitaire maternelle et infantile par la réduction de la charge virale dans le sang, dans les sécrétions génitales et dans le lait maternel (Jiamton *et al.*, 2003).

Cependant une administration séparée de chaque macronutriment ou micronutriment à un patient est fastidieuse vu le nombre important des nutriments utilisés comme suppléments au cours des traitements des PVVIH. L'utilisation d'un complexe vitaminé associé à des sels minéraux et autres macro et micronutriments telle que la spiruline serait plus simple et pratique.

La spiruline (*Spirulina platensis*) est une cyanobactérie filamenteuse possédant diverses activités biologiques et nutritionnelles importantes due à la forte concentration en nutriments naturels ayant des fonctions bio-modulatrices et immuno-modulatrices (Changhu *et al.*, 2002). Différentes préparations de spiruline influent sur le système immunitaire en augmentant l'activité phagocytaire des macrophages, en stimulant la production des anticorps et des cytokines. La prise de la spiruline augmenterait l'accumulation des cellules NK dans les tissus et activerait la mobilisation des cellules T et B (Hirahashi *et al.*, 2002).

La spiruline a montré aussi un rôle régulateur dans le métabolisme des lipides et des carbohydrates (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2001). Des préparations à base de spiruline ont été trouvées actives contre plusieurs virus enveloppés incluant les Herpès virus, le Cytomégalovirus, le virus influenza et le VIH (Armida *et al.*, 2002). La spiruline est aussi capable d'inhiber la carcinogenèse grâce aux propriétés anti-oxydantes qui protègent les tissus et réduisent la toxicité du foie, des reins et des testicules (Salazar *et al.*, 1998 ; Premkumar *et al.*, 2004).

Cette algue microscopique contenant 60-65% de protéines, des micronutriments (vitamine A, B, E, du Fer, calcium, phosphore et des acides gras essentiels) présente de nombreuses vertus nutritionnelles et thérapeutiques. L'intérêt d'une supplémentation par la spiruline réside dans les potentiels bénéfiques sanitaires et économiques visant à rétablir le déficit nutritionnel et retarder aussi l'entrée des patients dans la phase de traitement aux anti-rétroviraux (ARV).

# I. GENERALITES

## 1. 1. LE VIRUS VIH

### 1.1.1. Historique

La découverte en 1983 du VIH-1 sous le nom de Lymphadenopathic Associated Virus (LAV) revient à Françoise Barré-Sinoussi et à ses collègues cliniciens, virologistes et immunologistes oeuvrant autour de Luc Montagnier de l'institut Pasteur (Barré *et al.*, 1983). Le virus découvert l'année suivante par Robert Gallo n'est que cette même souche, reçue de Luc Montagnier. La plus ancienne souche caractérisée rétrospectivement par polymérase chain réaction (PCR) du matériel génétique conservé remonte à 1959. En 1986 un deuxième type de VIH a été découvert par l'équipe de virologiste de l'hôpital Claude Bernard sous la direction de Françoise Brun-Vezinet et caractérisé par François Clavel de l'institut Pasteur comme VIH-2 en raison de différences sensibles dans la structure virale (Clavel *et al.*, 1986).

### 1.1.2. Morphologie et ultrastructure

Le VIH est un *Lentivirus* de la famille des *Retroviridae*.

La particule virale mature mesure 80 à 120 nm diamètre et constituée par (Figure 1) :

- Une enveloppe recouverte de spicules (glycoprotéines Transmembranaire TM, surface SU)
- Une membrane interne appelée matrice protéique (MA)
- Une couche protéique recouvrant le core
- Le core protéique (capside CA) en forme de cône trapézoïde contenant :
- Des enzymes :
  - Transcriptase inverse (TI)
  - Intégrase (INT)
  - Protéase (PR)
  - Des protéines :
    - Viral protein R (VPR)
    - Viral infectivity factor (VIF)
    - Negatif expression factor (NEF)
    - Cyclophiline A (impliquée dans la réplication)

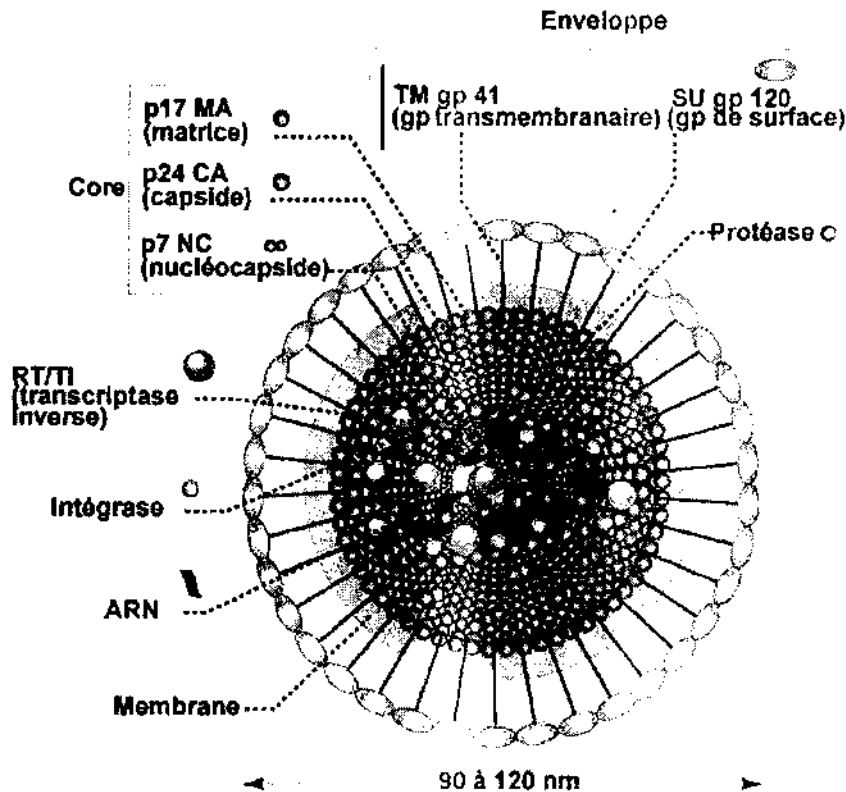


Figure 2 : Ultrastructure du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) d'après Reveillard 1998.

### I.1.3. Organisation du génome

On retrouve les 3 gènes caractéristiques des rétrovirus :

- Group antigen (GAG) codant pour: la protéine de core (CA), la nucléocapside (NC) et la matrice protéique (MA),
- Polymérase (POL) codant pour la protéase (PR) et la transcriptase inverse (TI),
- Enveloppe (ENV) codant pour la protéine de surface (SU), et la protéine transmembranaire(TM).

Outre ces 3 gènes caractéristiques des rétrovirus il y a 6 autres gènes dits "accessoires":

- les gènes VIF: facteur d'infectivité du virus
- les gènes NEF facteur d'expression négative
- les gènes VPU protéine virale U ; VPX protéine virale X
- les gènes TAT transactivateur
- les gènes REV régulateur différentiel

### I.1.3.1. Variabilités génétiques du VIH

Il existe deux types de VIH : le VIH-1 et le VIH-2. Il y a des variations de taille des génomes pour le VIH-1. Du point de vue variations géniques le VIH-1 possède un gène accessoire VPU qui n'existe pas chez le VIH-2 (Figure 2). A l'inverse le VIH-2 possède le gène accessoire VPX qui n'existe pas chez le VIH2 (Choppin *et al.*, 1991). Quant aux variations de séquences nucléotidiques: globalement, il existe 40-50% d'homologie de séquences nucléotidiques entre VIH-1 et le VIH-2. Les homologies entre séquences nucléotidiques des gènes gag et pol de VIH-1 et de VIH-2 sont plus importantes (>50%) que celles existant entre leur gène env (<40%) et leurs gènes accessoires non-vpu et non-vpx.

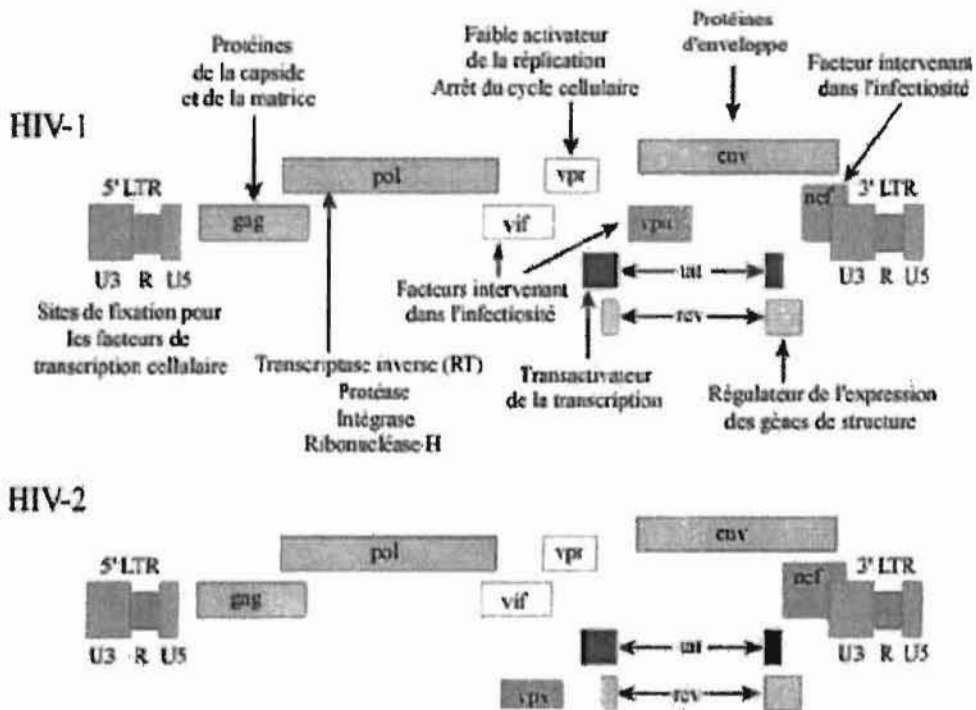


Figure 3 : Variabilités génétiques du VIH-1 et VIH-2 (d'après Jane Way ; immunobiologie 6<sup>e</sup> édition 2003)

### I.1.3.2. Groupes et sous groupes

Le VIH-1 est divisé en trois groupes: le groupe M (major ou main), O (outlier ou génétiquement isolé) et N (nouveau ou non-M, non-O). Les souches du groupe M sont responsables de plus de 99 % des infections dans le monde. Des variants du VIH-1 classés dans le groupe O, ont été identifiés dans des échantillons en provenance du Cameroun, de ses pays voisins en Afrique centrale et de l'Europe (Gurtler *et al.*, 1994). Le groupe N semble essentiellement présent chez des patients Camerounais. Le VIH-1 comprend 9 sous types notés: A, B, C, D, F, G, H, J et K. Le VIH-2 quant à lui est homogène. Il comprend 7 sous types: A, B, C, D, E, F, G.

## 1.2. LA SPIRULINE

Les spirulines sont des cyanobactéries filamenteuses qui appartiennent à la famille des *Oscillatoraceae*, au genre *Arthrospira* ou *Spirulina*. Ce sont des algues bleu-vertes, planctoniques, unicellulaires et microscopiques mesurant 0,2 à 0,3 mm de long. Elles croissent à l'état naturel dans les lacs des régions chaudes dont le sous-sol ou les terrains volcaniques enrichis en sels minéraux. Elles sont un des mets traditionnels de certains peuples mexicains (les Aztèques) et africains (les Kanembou du Tchad). Il existe près de 1500 espèces d'algues bleues et de 36 espèces d'algues de spiruline comestibles. Les espèces communément utilisées comme suppléments nutritionnels sont : *Spirulina maxima*, *Spirulina fusiformis* et *Spirulina* ou *Arthrospira platensis*. Ces algues possèdent une étonnante capacité de prospérer dans les conditions beaucoup rudes pour les autres algues. La spiruline peut avoir des propriétés antivirales, anti-bactériennes, anti-fongiques, et anti-parasitaires. Elle est utilisée comme supplément alimentaire pour diverses raisons comme : la perte de poids, pour la santé, la croissance corporelle (Falquet, 1996).

### 1.2.1. Les valeurs nutritionnelles de la spiruline

Certaines espèces de spiruline contiennent d'importante quantité de protéines, d'acides aminés indispensables, des vitamines, de  $\beta$ -carotène, de substances minérales, des acides gras essentiels, des polysaccharides, de glycolipides et de sulfolipides (Xue *et al.*, 2002).

L'addition de la spiruline à un repas peut fournir une large gamme de nutriments vitaux. La spiruline contient une forte teneur de vitamine B, sels minéraux incluant le calcium, le fer, le magnésium, le manganèse, le potassium et le zinc. Elle est une bonne source d'acide gras essentiel ( $\gamma$ -acide linoléique) (Miguel *et al.*, 2004). La composition en protéines de la spiruline est très bonne et supérieure à 70% de poids sec. Chez les rats, la spiruline apparaît être efficace dans l'augmentation du statut en fer durant la grossesse et la lactation.

#### 1.2.1.1. Composition en macroéléments

##### 1.2.1.1.1. Les protéines

La teneur en protéines de la spiruline oscille entre 50 et 70% de son poids sec (Morist *et al.*, 2001). Du point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont plus complètes, car tous les acides aminés y figurent (47% du poids total des protéines). La valeur de l'Efficacité Protéique (PER) de la spiruline (estimé par le gain de poids de l'animal ou de l'individu, divisé par le poids de protéines ingérées), déterminée chez le rat en croissance est estimée entre 1,80 et 2,6.

### 1.2.1.1.2. Lipides

**Lipides totaux** : leur teneur est estimée entre 5,6 à 7% du poids sec (Morist *et al.*, 2001). Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%). La fraction insaponifiable contient essentiellement une paraffine, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols. La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyl-diglycérides et de digalactosyl- diglycérides, de sulfoquinovosyl- diglycérade et de phosphatidyl-glycérol (Yaqoob *et al.*, 1998)

**Acides gras** : les acides gras essentiels de la spiruline sont rangés en deux groupes :  $\omega 3$  et  $\omega 6$  caractérisés par la position de l'insaturation. La spiruline peut être considérée comme une des meilleures sources connues d'acide  $\gamma$ - linoléique, après le lait humain et quelques huiles végétales (Tableau I). L'acide  $\gamma$ - linoléique est le précurseur des prostaglandines, des leucotriènes et des tromboxanes qui sont autant de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires. Les autres acides gras essentiels sont : l'acide linoléique 18:2 $\omega 6$ , l'acide palmitique 16:0. Les sulfolipides tels que les sulfoquinovosyl-diglycérades, ont montré une activité protectrice contre l'infection des cellules helper-T par le VIH (Armida *et al.*, 2002).

Tableau I : Principaux acides gras de deux souches de spiruline, *S. maxima* et *S. platensis*

Acides gras	Pourcentage des acides gras	
	<i>Spirulina maxima</i>	<i>Spirulina platensis</i>
Palmitique (16:0)	63	25,8
Palmitoléique (16:1 $\omega 6$ )	2	3,8
Stéarique (18:0)	1	1,7
Oléique (18:1 $\omega 6$ )	4,1	6,6
Linoléique (18:2 $\omega 6$ )	9	12
$\gamma$ - linoléique (18:3 $\omega 6$ )	13	40,1
$\alpha$ -linoléique (18:3 $\omega 3$ )	traces	traces

Source : d'après Falquet, 1996.

### 1.2.1.1.3. Glucides.

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines (Morist *et al.*, 2001). Les glucides simples sont le glucose, le fructose et le saccharose. On a des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol. Notons que les polysaccharides de la spiruline auraient des effets de stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN ce qui pourrait expliquer un effet

radio-protecteur (Hirahashi *et al*, 2002). Ces polysaccharides auraient également des propriétés immunostimulantes et immuno- régulatrices.

#### ***1.2.1.1.4. Acides nucléiques***

La teneur en acides nucléiques (ADN et ARN) est un point nutritionnel important car la dégradation biochimique d'une partie de leurs composants (les purines: adénine et guanine) produit en dernier lieu de l'acide urique. Or une élévation du taux d'acide urique plasmatique peut produire à la longue des calculs rénaux et des crises de goutte.

#### **1.2.1.2. Composition en micro-éléments**

Les micro-éléments rencontrés dans la spiruline sont essentiellement des vitamines et co-facteurs ( $\beta$ -carotène, provitamine A, vitamine E, acide folique, biotine, acide pantothénique, vitamine E, thiamine B-1, riboflavine B-2, vitamine B-6) des sels minéraux (fer, zinc, cuivre, calcium, phosphore, magnésium, sodium et potassium).

### **1.2.3. Les activités biologiques de la spiruline**

Au-delà des valeurs nutritives, la spiruline est un aliment qui possède des propriétés thérapeutiques spécifiques et un effet régulateur positif sur le système immunitaire.

#### **1.2.3.1. Les effets de la spiruline sur l'immunité innée et spécifique**

Des études sur des modèles animaux ont montré que la phycocyanine contenue dans la spiruline stimule l'hématopoïèse, spécialement l'érythropoïèse par induction de l'hormone érythropoïétique (EPO). Aussi la c-phycocyanine et les polysaccharides de la spiruline renforcent la production des leucocytes. Par exemple l'administration d'une solution aqueuse d'extrait de spiruline chez le chat se traduisait par une augmentation du pourcentage de macrophage phagocytaire (Falquet, 1996). En plus les polysaccharides sulfatés extraits de la spiruline nommés calcium de spiruline ont montré des activités immuno-modulatrices et anti-virales qui s'effectuent chez la souris par un renforcement de la production de la moelle, la croissance du thymus et de la rate (Toshiyuki *et al*, 2004). D'une manière générale, la spiruline régule les organes et les cellules clés du système immunitaire en augmentant leur capacité de fonctionnement malgré le stress et les agents infectieux environnementaux.

L'effet de la spiruline sur l'immunité humorale et cellulaire est montré par le fait qu'elle stimule la mobilisation des lymphocytes et autres cellules immunes du sang. L'administration de la spiruline aux souris provoque une augmentation significative en cellules spléniques produisant les

immunoglobulines de classe M (IgM), IgA et IgE. L'addition d'extraits aqueux de spiruline augmenterait aussi la prolifération de cellules spléniques en culture (**Hirahashi *et al.*, 2002**).

#### **1.2.3.2. Les effets anti- virales de la spiruline**

Les polysaccharides inhibent la réplication de plusieurs virus enveloppés incluant les Herpes Simplex Virus (HSV), le virus influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-1 (**Armida *et al.*, 2002**). Des hamsters traités avec des extraits solubles de spiruline ont montré une bonne guérison de la rate quand ils étaient infectés par certains herpes virus très pathogènes. L'allophycocyanine neutralise les Entérovirus du singe vert de l'Afrique. L'extrait aqueux de la spiruline peut inhiber la réplication du VIH-1 dans les lymphocytes T CD4+ et les cellules mononuclées périphériques (**Armida *et al.*, 2002**). Trois composantes de la spiruline à savoir Calcium de Spiruline, phycocyanine- N et sulofolipide ont montré des propriétés anti-VIH. Cependant le mécanisme des activités antivirales de ces composés n'est pas encore bien élucidé.

#### **1.2.3.4 Propriétés anti-cancéreuses de la spiruline**

Des préparations à base de spiruline ont montré une activité anti-cancéreuse dans un nombre de modèles expérimentaux. La spiruline est une source naturelle riche en  $\beta$ -carotène et phycocyanine deux composés ayant des activités anti-cancéreuses. L'administration de la phycocyanine stimule la fonction hématopoïétique rehaussant la population de thymocytes, qui à son tour augmente la résistance naturelle contre le cancer, l'ulcère et autres maladies. La phycocyanine peut aussi prévenir le cancer en inhibant les agents dommageants l'ADN comme le peroxy-nitrite (**Salazar *et al.*, 1998 ; De Rosa *et al.*, 2000**)

Dans une étude *in vitro* les polysaccharides sulfatés (Ca-Sp) paraissent inhiber l'invasion tumorale et métastatiques du myélome B16- BL-6. Cette activité anti-métastatique est attribuée au blocage de l'adhésion et la migration des cellules tumorales aux substrats de la laminine et à l'activité de l'héparanase (**Wang *et al.*, 2005 ; Kaji *et al.*, 2004**)

#### **1.2.3.5. Les effets métabolisants de la spiruline**

La spiruline a des effets régulateurs sur le métabolisme des lipides et des carbohydrates. En plus d'un effet hypocholestérolémique, la spiruline montre aussi un effet hypoglycémique (**Rodríguez-Hernández *et al.*, 2001**). Chez les patients souffrant du diabète sucré de type 2 une alimentation supplémentée en spiruline baisserait la glycémie basale, le glucose post-prandial, et la réduction de l'hémoglobine glyquée (HbA 1c). Chez l'homme la spiruline peut réduire le niveau de cholestérol, triacylglycéril et LDL-cholestérol (**Rodríguez-Hernández *et al.*, 2001**).



### I.2.3.6. Autres effets de la spiruline

La consommation de  $\gamma$ -acide linoléique (GLA) peut aider dans les arthrites, maladies cardiaques, obésité. La spiruline est une bonne source de GLA et présente de bonnes propriétés anti-oxydantes (Changhu *et al*, 2002). Le GLA réduit la toxicité rénale et testiculaire par les métaux lourds comme le mercure le plomb et les médicaments.

Des préparations à base de spiruline sont largement utilisées en cosmétique, dans les composés pharmaceutiques en raison son activité anti- bactérien, anti- fongique et anti- parasitaire. Le sodium de spiruline et calcium de spiruline montrent des effets inhibiteurs dans la progression de l'artériosclérose par inhibition de la prolifération des muscles lisses vasculaires.

D'autres études montrent que la spiruline pourrait aider dans la perte de poids et la cicatrisation des plaies (Simporé *et al*, 2006). Une synthèse des effets biologiques de la spiruline est présentée dans la Figure 3.

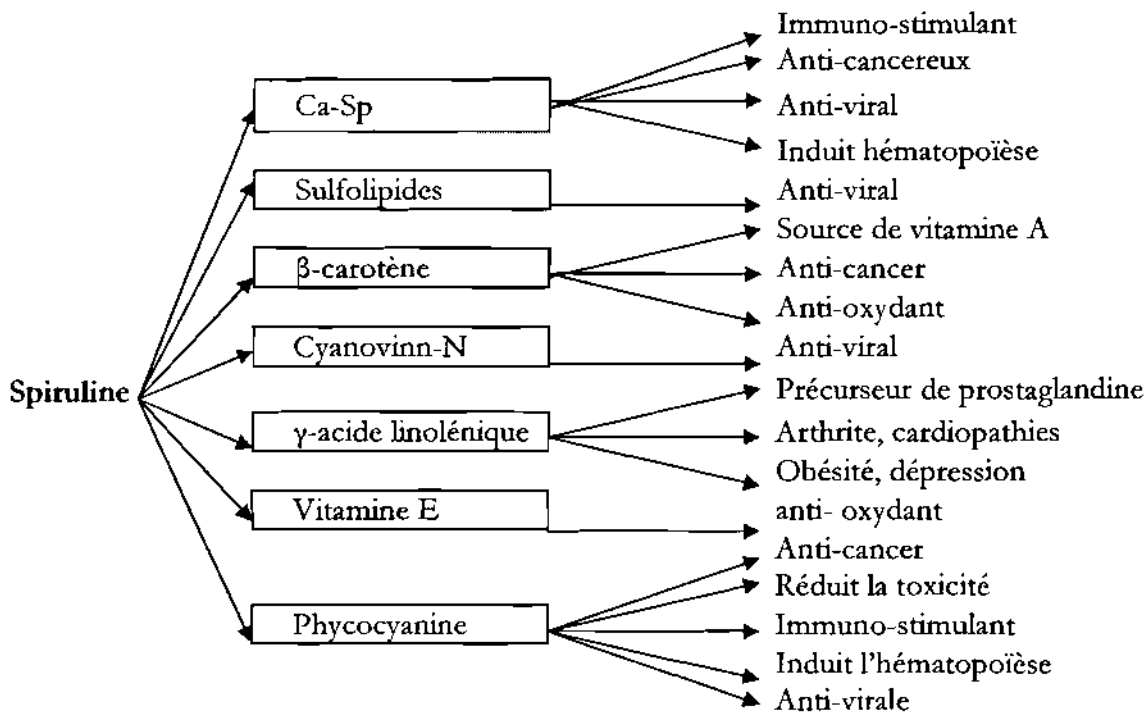


Figure 4 : Récapitulatif des effets biologiques de la spiruline (d'après Khan *et al*, 2005)

## **II. OBJECTIFS**

### **II.1. OBJECTIF GENERAL**

L'objectif primaire de cette étude était d'évaluer l'impact de la prise quotidienne de la spiruline sur l'état général et physique des personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (PvVIH).

### **II.2. OBJECTIFS SECONDAIRES**

1. Analyser le statut immuno-biologique et nutritionnel des PvVIH au cours de la prise quotidienne de spiruline.
2. Analyser l'impact de la spiruline sur les effets secondaires de la thérapie anti-rétrovirale.

### III. MATERIEL ET METHODES

#### III. 1. TYPE D'ETUDE

Il s'agissait d'un essai randomisé contrôlé par placebo en double aveugle avec une stratification en 3 groupes selon le nombre de CD4 des PvVIH.

#### II.2. LOCALITE ET POPULATION D'ETUDE

La collecte des données épidémiologiques et cliniques de la présente étude s'est effectuée sur le site de l'Association Responsabilité Espoir Vie et Solidarité (REVS+) à Bobo-Dioulasso de Février à Décembre 2006. Les analyses biologiques ont été pratiquées à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS). REVS+ est une organisation non gouvernementale dont les principales activités sont la prévention, le soutien psychosocial, socioéconomique, le plaidoyer et la formation des malades du SIDA. Cette ONG dispose d'un centre médical qui s'occupe des consultations et assure le suivi d'environ trois cent (300) personnes sous traitement antiretroviral et plus de cinq cent patients sur la file active en juin 2006.

Notre population d'étude était composée de sujets des deux sexes âgés de plus de 18 ans, habitant la ville de Bobo-Dioulasso et villes environnantes, infectés par le VIH. Leur statut VIH est pré-établi lors de leur entrée dans REVS+ et est confirmé ultérieurement lors de leur inclusion dans notre étude.

**Critères d'inclusion :** Ont été inclus dans cette étude tous les patients séropositifs pour le VIH âgés d'au moins 18 ans, disposés à utiliser le produit de l'étude selon les instructions du médecin, à respecter le calendrier de suivi et les procédures de l'étude et ayant fourni un consentement éclairé matérialisé par la signature d'une fiche établie à cet effet.

**Critères d'exclusion :** Ont été exclus de cette étude les patients ayant moins de 18 ans et présentant des pathologies associées (cardiopathie, cancer) ou ayant violés le protocole. Ont été également exclus de cette étude les femmes enceintes et les personnes ayant marqué un refus de participer ou s'étant retirées volontairement ; enfin ceux exclus par décision du médecin pour raison de sécurité et/ou du bien-être du patient.

#### III.3. COLLECTES DES DONNEES

##### III.3.1. Caractéristiques de la population d'étude :

Les patients ont été repartis en 3 groupes en fonction du nombre de leur CD4/ $\mu$ l :

**Groupe I** : 66 PVVIH avec un nombre de CD4 < 200/μl de sang repartis :

- Sous groupe A : 33 PvVIH sous spiruline.
- Sous groupe B : 33 PvVIH sous placebo.

**Groupe II** : 67 PvVIH avec 200 < CD4 < 400/μl de sang subdivisé en :

- Sous groupe B: 35 PvVIH sous spiruline.
- Sous groupe A: 32 PvVIH sous placebo

**Groupe III** : 59 PvVIH ayant un nombre CD4 > 400/μl de sang subdivisé en :

- Sous groupe B: 28 PvVIH sous spiruline.
- Sous groupe A: 31 PvVIH sous placebo.

Au plan clinique, selon l'échelle de performance OMS on avait :

- 40 patients asymptomatiques avec une activité professionnelle normale
- 95 patients symptomatiques avec une activité professionnelle normale
- 37 patients étaient alités au moins 50% de la journée durant le dernier mois
- 20 patients étaient alités au plus 50% de la journée durant le dernier mois

Selon la combinaison thérapeutique anti-rétrovirale les patients ont été regroupés de la façon suivante :

- 46 patients ne recevaient aucun traitement anti-rétrovirale ARV
- 54 recevaient la combinaison 3TC + D4T + NVP
- 33 recevaient la combinaison AZT + 3TC + NVP
- 28 recevaient la combinaison AZT + 3TC + EFV
- 26 recevaient la combinaison 3TC + D4T + EFV
- 2 recevaient la combinaison AZT+ +3TC+ IDV
- 3 recevaient autre combinaison

3TC = Lamivudine (Inhibiteur de reverse transcriptase IRT), D4T = Stavudine (IRT), NVP = névirapinev (IRT) EFV = Efavirenz (IRT). IDV = indinavir (IP)

### **III.3.2. Procédure d'inclusion et déroulement de l'étude**

Le recrutement des sujets a consisté en une interview, des examens médicaux et la confirmation du statut VIH (sérotypage). Les patients retenus ont été randomisés et repartis en 3 groupes selon le nombre de CD4/μL. La prise quotidienne par patient était de 12 gélules (420 mg/ gélule) de spiruline soit environ 5,04 g/j. Chaque patient recevait sa dotation mensuelle en spiruline tous les mois pendant les visites médicales ordinaires planifiées mensuellement. D'autres visites médicales

ont été accordées par la permanence médicale aux patients qui le désiraient. La mesure des paramètres anthropométriques (poids, la taille, périmètre brachial et abdominal) a été faite avant la prise de spiruline à l'inclusion et à chaque suivi clinique mensuel pendant 6 mois. Les examens de suivi biologique (numération lymphocytaire T CD4+, numération formule sanguine (NFS) et vitesse de sédimentation (VS), dosage des paramètres biochimiques de routines (glycémie, créatininémie, transaminases, et  $\alpha$  amylase) ont été réalisés à l'inclusion (M0), 6 mois après la prise de la spiruline (M6).

### **III.3.3. Prélèvements sanguins et traitement des échantillons de sang**

Du sang a été prélevé chez tous les participants à l'étude dans des tubes EDTA et tubes secs sous vides en utilisant le système vacutainer. Les tubes de sang sont transportés au laboratoire dans le quart suivant le prélèvement dans les glacières contenant des icebox.

Ensuite les tubes de sang sont laissés à sédimenter à température ambiante puis centrifugés à 3000 rpm pendant 5 mn. Après centrifugation les sérums et plasma sont aliquotés dans les microtubes stériles sous une hotte à flux laminaire. Ils sont alors conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'à leurs utilisations. Il est important de noter qu'un tube de sang prélevé dans un tube EDTA est gardé séparément pour la réalisation des formules sanguines et le dosage des lymphocytes CD4

### **III.3.4. Procédure de réalisation des examens de laboratoire**

Au recrutement des patients une prise de sang de 4 ml sur tube sec a été réalisée pour confirmation du statut sérologique. Les tests utilisés étaient le « Determine » (Abott laboratories, Germany) le Standard Diagnostic (SD) Bioline (Bioline Laboratories, USA), conformément à l'algorithme de dépistage du VIH en vigueur au Burkina Faso. A chaque suivi biologique nous avons réalisé une prise de sang sur tube EDTA (4 ml pour la NFS et CD4) sur tube sec (4 ml pour la biochimie) et sur tube citraté (3 ml pour la VS).

Nous avons utilisé la technique de comptage par les billes magnétiques Dynalbeads pour le comptage des lymphocytes T CD4+, un compteur automatique de cellules Pentra 60 utilisant le système ABX pour la numération sanguine; un spectrophotomètre (Microlab 600) pour le dosage des paramètres biochimiques de routine. Enfin nous avons utilisé un appareil de chromatographie haute performance en phase liquide (High Performance Liquid Chromatography) HPLC de JASCO pour dosage du rétinol sérique.

### III.3.4.1. Technique Dynalbeads pour le dénombrement des lymphocytes CD4

**Principe de la méthode :** la technique dynalbead pour la numération lymphocytaire T CD4+ consiste à séparer cette sous population lymphocytaires du reste des cellules sanguines et à la quantifier. Des billes magnétiques marqués par des anticorps monoclonaux anti-CD14 débarrassent le sang des monocytes (qui ont les marqueurs CD14 et CD4) qui sont retenus sur la paroi des microtubes. D'autres anticorps monoclonaux anticorps CD4 sont utilisés pour retenir les cellules T CD4+ du sang démonocyté sur la paroi des microtubes. La dernière étape consiste à lyser et colorer les noyaux des cellules TCD4+ à l'aide d'un fluorochrome (l'acrydine orange) et effectuer un comptage des noyaux au microscope à fluorescence.

#### III.3.4.1.1. Préparation des échantillons sanguins et déplétion monocyttaire

- Le sang prélevé dans un tube avec anticoagulant k3EDTA ou ACD est mélangé doucement par retournements. Puis mis en agitation pendant 5min à température ambiante sur l'agitateur rotatif Dynal MX1.
- Après avoir identifié un microtube Dynal T1 pour chaque échantillon, introduire dans ces tubes 350 µl de PBS puis 125 µl de sang total du patient et enfin 25µL d'anticorps monoclonal anti-CD14. Fermer hermétiquement les microtubes et laisser agiter doucement les microtubes T1 pendant 10min à température ambiante sur l'agitateur.
- Récupérer les microtubes Dynal T1 et les positionner correctement sur le portoir aimantée Dynal. Laisser incuber 2 min à température ambiante.
- Numeroter d'autres microtubes Dynal T2. Déposer 200µL de BPS dans chaque microtubes et transférer 200µl avec une P200 de sang démonocyté provenant des microtubes T1 correspondants dans chaque microtube T2.

#### III.3.4.1.2. Séparation des lymphocytes CD4+

- Ajouter 25µL d'anticorps monoclonal anti-CD4 non dilué dans les microtubes T2 fermer hermétiquement et agiter les microtubes Dynal T2 pendant 10 minutes à température ambiante sur l'agitateur rotatif (vitesse moyenne).
- Récupérer les microtubes Dynal T2 et les positionner correctement sur le portoir aimanté Dynal et laisser incuber 2 min à température ambiante.
- Eliminer le surnageant par 3 pipetages de 200 µL et retirer les microtubes Dynal T2 du portoir aimanté.
- Distribuer rapidement 500 µL de PBS dans chaque microtube T2 (du côté cellules) et resuspendre doucement pendant 10 secondes (par retournement)

- Positionner correctement l'aimant sur le portoir Dynal et incuber pendant 2 min à température ambiante.
- Eliminer le surnageant par 3 pipetages de 200 µL.

### III.3.4.1.3. Dénombrement des lymphocytes CD4+

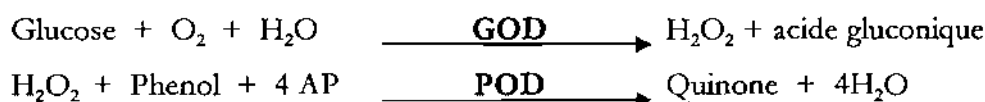
- Récupérer les microtubes Dynal T2 et distribuer rapidement 50 µL de tampon de lyse dans chaque microtube T2 (du coté cellules).
- Agiter au vortex pendant 10 sec.
- Laisser reposer pendant 5 mn et agiter au vortex pendant 10 sec.
- Ajouter 50 µL de tampon d'acridine orange dans chaque microtube T2
- Agiter au vortex pendant 10 sec et laisser reposer pendant 2 min
- Resuspendre le contenu des microtubes et prélever 25µl dans chaque microtube T2 pour remplir une cellule de Malassez précédemment recouverte d'une lamelle.
- Placer sous un microscope à fluorescence G x 40. Les noyaux des lymphocytes CD4+ apparaissent sous forme de point vert fluorescent.

## III.3.4.2. Les dosages biochimiques

### III.3.4.2.1. Glucose

**Signification clinique :** Le glucose est le carbohydrate majeur présent dans le sang périphérique. L'oxydation du glucose est la principale source de l'énergie cellulaire dans l'organisme. La détermination de la glycémie sert de prime abord au diagnostic et au traitement du diabète sucré.

**Principe :** Le glucose est oxydé suite à l'action du glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) résultant est détecté par réaction avec phénol-aminophénazone en présence de peroxydase (POD).



L'intensité de la coloration lue à la longueur d'onde 505 nm est proportionnelle à la concentration de glucose de l'échantillon.

Mode opératoire :	Blanc	Standard	Spécimens
Etalon	----	10 µl	----
Spécimens	----	----	10 µl
Solution de travail	1 ml	1 ml	1 ml

La concentration du Glucose (mg/dl) = (Abs spécimen/ Abs Etalon) x100

Facteur de conversion : mg/dl x 0,0555 = mmol/l

Les valeurs de référence dans le sérum ou plasma varient de 60 – 110 mg/dl soit 3,33 - 6,105 mmol. Celui du LCR : 60 à 80% de la valeur du sang.

### III.3.4.2.2. Créatinine

**Signification clinique:** La créatinine, un anhydre de la créatine est un produit de fin de catabolisme formée par une déshydratation spontanée dans le rein. La grande partie de la créatine est retrouvée dans le tissu musculaire où il est présent sous forme de créatine phosphate et sert comme un réservoir de stockage d'énergie pour la conversion de l'ATP. Indépendamment de la diète, la créatinine sérique dépend principalement de son taux de sécrétion par le rein. Pour cette raison son élévation est hautement spécifique des pathologies rénales (Australasian Working Group 2005).

**Principe:** La créatinine forme un complexe rouge dans une solution picrate basique comme décrit par Jaffé. La variation de l'absorbance, à des temps prédéterminés pendant la conversion, est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans les spécimens. Les intervalles de temps optés pour la mesure évitent des interférences d'autres constituants de sérum. Lire la coloration à la longueur d'onde de 492nm pour les intervalles de temps de 30 et 90 secondes.

Mode opératoire :	Blanc	Standard	Spécimens
Etalon	----	100 µl	----
Spécimens	----	----	100 µl
Solution de travail	1 ml	1 ml	1 ml

La concentration de la créatinine sérique ou plasmatique en µmol/L est égale :

$$C = (\Delta\text{Abs spécimen} / \Delta\text{Abs Etalon}) \times 2$$

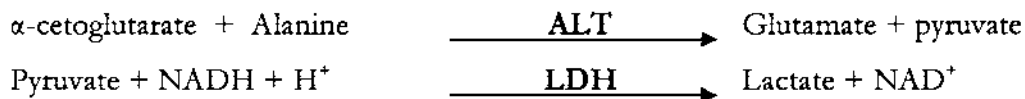
Les valeurs de référence dans le sérum ou plasma varient de 61,8 – 123,7µmol/L chez l'homme et de 53- 97.2 µmol/L chez la femme.

### III.3.4.2.3. Transaminases ALAT/ GPT

**Signification clinique :** L'enzyme alanine amino-transférase (ALAT) ou Glutamo-pyruvate transférase (GPT) est largement répartie dans une variété de tissu source. La majeure source de l'ALAT est d'origine hépatique et sa détermination est utilisée dans l'exploration fonctionnelle hépatique. Les taux sériques élevés sont trouvés dans les hépatites, cirrhoses et ictères (Mardini *et al*, 2005)



**Principe :**



La vitesse de consommation de NADH lue 340 nm est proportionnelle à l'activité de l'ALAT dans le spécimen. Lire chaque minute pendant 3 minutes.

**Mode opératoire :** Solution de travail 1 ml  
Spécimens 0,1 ml

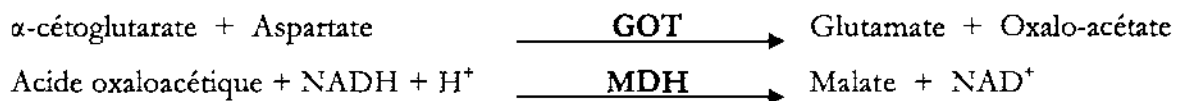
**Calcul:** l'activité ALAT (U/L) =  $\Delta$  Abs/min x 1750

Les valeurs de référence à 25°C pour l'homme < 22 U/L et la femme < 18 U/L.

#### **III.3.4.2.4. Transaminases ASAT/GOT**

**Signification clinique:** L'aspartate-amino-transférase (ASAT) ou glutamo-oxalo-acétique Transaminase (GOT) est une enzyme tissulaire qui catalyse l'échange de la fonction aminée d'un  $\alpha$ -amino-acide contre la fonction cétone d'un  $\alpha$ -ceto-acide (transamination). L'ASAT est largement distribuée dans les tissus, principalement le tissu myocardique, hépatique, musculaire et rénal. La lésion de ces tissus entraîne la libération de l'enzyme ASAT dans la circulation générale. A la suite d'un infarctus du myocarde, les taux sériques d'ASAT s'élèvent et atteignent un pic, 48 à 60 heures après la survenue de l'infarctus. Les affections hépato-biliaires, telles que cirrhose, cancer métastatique et hépatite virale, provoquent également une élévation des taux sériques d'ASAT.

**Principe :**



La vitesse de consommation de NADH lue 340 nm est proportionnelle à l'activité de l'ASAT dans le spécimen. Lire chaque minute pendant 3 minutes.

**Mode opératoire :** Solution de travail 1 ml  
Spécimens 0,1 ml

**Calcul:** l'activité ASAT (U/L) =  $\Delta$  Abs/min x 1750

Les valeurs de références à 25°C pour l'homme < 22 U/L et la femme < 18 U/L.

### III.3.4.2.5. $\alpha$ -Amylase

**Signification clinique :** l' $\alpha$ -amylase est une enzyme qui aide à la digestion du glucagon. Il est produit principalement par le pancréas exotique et les glandes salivaires. Sa détermination est principalement utilisée dans le diagnostic ou pour le contrôle des cholestases.

**Principe :**



L'  $\alpha$ -amylase hydrolyse le 2-Chloro-4-nitrophenol- $\alpha$ D-maltotrioside (CNPG3) afin de donner du 2-chloro-4-nitrophenol (CNP) et 2-chloro-4-nitrophenol- $\alpha$ D-maltoside (CNPG2) maltotriose (G3) et glucose (G). La vitesse d'apparition de CNP lue à 405 nm est proportionnelle à l'activité de l' $\alpha$ -amylase présente dans l'échantillon. Lire les absorbances toutes les minutes pendant 3 minutes.

**Mode opératoire :** Solution de travail 1 ml

Spécimens 20 ml

**Calcul :** l'activité  $\alpha$ - Amylase (U/L) =  $\Delta$  Abs/min x 3954

Les valeurs de référence 25°C < 90 U/L.

### III.3.4.3. Numération formule sanguine et vitesse de sédimentation NFS-VS

Le sang prélevé sur tube citraté a été homogénéisé puis monté sur un portoir de VS et lu après 30 mm. La numération sanguine a été faite par un compteur automatique Pentra 60. Il utilise le principe suivant :

La mesure repose sur la variation d'impédance engendrée par le passage de la cellule au travers d'une micro- orifice calibrée. L'échantillon est dilué dans un diluant électrolytique (conducteur de courant). La conductivité du diluant est très différente de celle des cellules. La dilution est aspirée au travers d'une micro- orifice calibrée. De chaque côté de l'orifice sont placées deux électrodes au travers desquelles circule un courant constant. Quand la cellule traverse l'orifice, la résistance électrique (ou impédance) entre les deux électrodes augmente de façon proportionnelle au volume de la cellule.

### III.3.4.4. Dosage du rétinol par HPLC (High Performance Liquid Chromatographie)

#### III.3.4.4.1. Principe de la technique :

La chromatographie en phase liquide est une méthode physico-chimique basée sur des différences d'interactions. Les molécules des produits à séparer (solutés) sont mises en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire contenue dans une colonne

chromatographique. Ces interactions provoquent des échanges qui aboutissent à la séparation désirée. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt en permanence le système chromatographique. Le mélange, dissous dans un solvant est injecté par l'intermédiaire d'une vanne, puis transporté au travers du système chromatographique, dont fait partie la colonne. Les composés en solution se répartissent suivant leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. La théorie de la séparation montre que le signal enregistré à la sortie d'un détecteur approprié en fin de colonne a la forme d'un pic. Si la séparation est bonne, chaque pic représente un constituant du mélange à séparer. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

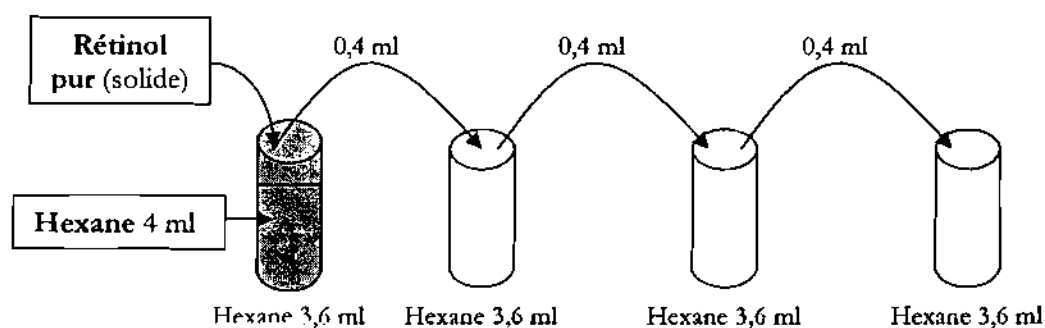
#### ***III.3.4.4.2. Collection des spécimens et conservation***

Les prélèvements sont réalisés par ponction veineuse au pli du coude. Pour chaque patient recueillir le sang dans un tube sec et le mettre à l'abri de la lumière en le recouvrant de papier aluminium. Centrifuger les tubes contenant le sang à 3000 rpm pendant 5 min. Aliquoter le sérum sous hotte à flux laminaire dans l'obscurité. Les microtubes doivent être recouverts de papier aluminium ou utiliser des microtubes ambrés. Enfin stocké le sérum à  $-81^{\circ}\text{C}$  pour une utilisation ultérieure.

#### ***III.3.4.4.3. Préparation du standard interne et du mélange de calibration***

On procède à des dilutions en cascades au  $1/10^{\text{ème}}$

- Prélever une très petite quantité de rétinol pur qu'on dissout dans 4 ml d'hexane pour préparer la solution mère.
- Prélever ensuite 0,4 mL de la solution mère et procéder à des dilutions en cascade au  $1/10^{\text{ème}}$  dans 3 tubes (jusqu'au  $1/1000^{\text{ème}}$ ).



- Procéder aux mêmes dilutions pour l'acétate de rétinol.
- Lire les différentes dilutions au spectrophotomètre à 325 nm
- Retenir les dilutions ayant une densité comprise entre 0,1 et 0,9.
- Calculer les concentrations  $C_0$  des dilutions retenues

$$Co = \frac{\text{Densité Optique}}{E \times L}$$

Avec E = coefficient d'extinction molaire (E rétinol = 0,1832 et E-acétate-rétinol = 0,1560)

L = trajet optique ou longueur de la cuve (L = 1)

#### III.3.4.4.4. Préparation de 200 µl du standard interne (acétate de rétinol à 150 pmoles/ 500 µl d'éthanol)

Le standard interne doit être à la concentration de 150 pmoles pour 500 µl d'éthanol. Prenons en exemple les densités optiques suivantes de solutions de rétinol et acétate de rétinol :

Composé	DO1	DO2	DO3	DO4
Rétinol	2,810	0,618	0,084	0,012
Acétate de rétinol	2,758	0,808	0,093	0,014

Conformément à ce qui avait été annoncé plus haut seules les solutions dont les densités optiques sont comprises entre 0,1 et 0,9 sont retenues (Ret2 = 0,618 et Ac2 = 0,808).

Le calcul de leurs concentrations respectives est alors :

$$C_{Ret2} = \frac{0,618}{0,1832} = 3,3733 \mu\text{g/ml}$$

$$C_{Ac2} = \frac{0,808}{0,1560} = 5,1794 \mu\text{g/ml}$$

Calcul de la quantité d'acétate de rétinol à prélever pour préparer la solution de standard interne (150 pmoles pour 500 µl d'éthanol).

$$\begin{array}{ccc} 150 \text{ pmoles} & \longrightarrow & 0,5 \text{ ml} \\ X & \longleftarrow & 200 \text{ ml} \end{array}$$

$$X = (150 \times 200) / 0,5 = 60.000 \text{ pmoles}$$

La masse correspondante à 60.000 pmoles est égale à

$$60.000 \text{ pmoles} \times 328 = 19680.000 \text{ pg} = 19,68 \mu\text{g}$$

Le poids moléculaire PM de l'acétate de rétinol est 328

La concentration de l'acétate de rétinol Ac2 = 5,1794 µg/ml

$$\begin{array}{ccc} 5,1794 \mu\text{g} & \longrightarrow & 1 \text{ ml} \\ 19,68 \mu\text{g} & \longrightarrow & X \end{array}$$

$$X = 19,68 / 5,1794 = 3,8 \text{ mL ou } 3800 \mu\text{l d'acétate de rétinol}$$

- Prélever 3800  $\mu\text{l}$  de Ac2 puis évaporer sous l'azote gazeux.
- Si la quantité disponible de Ac2 est insuffisante, alors prélever 380  $\mu\text{l}$  de Ac1 qui est une solution 10 fois plus concentrée.
- Ajouter 4 ml d'éthanol dans le tube pour resuspendre l'Ac2.
- Vortexer vigoureusement.
- Transférer dans un flacon gradué.
- Répéter les trois étapes précédentes 4 fois pour rincer le tube.
- Compléter le volume avec de l'éthanol jusqu'à 200 ml.
- Transférer dans un flacon teinté ou recouvert de papier aluminium.
- Conserver à 4°C pendant au plus deux semaines.

### Exemple de préparation du mélange de calibration

Le mélange de calibration doit être à la concentration de 15 pmoles/20  $\mu\text{l}$ . Préparons 2 ml.

**Quantité de rétinol (Ret2) à prélever :**

$$\begin{array}{ccc} 15 \text{ pmoles} & \longrightarrow & 20 \mu\text{l} \\ X & \longleftarrow & 2000 \mu\text{l} \end{array}$$

$$X = (15 \times 2000)/20 = 1500 \text{ pmoles}$$

$$\text{Sa masse est alors } 1500 \times 286 = 429000 \text{ pg} = 0,429 \mu\text{g}$$

Le volume de Ret2 à prélever

$$\begin{array}{ccc} 3,33733 \mu\text{g} & \longrightarrow & 1 \text{ ml} \\ 0,429 \mu\text{g} & \longrightarrow & X \end{array}$$

$$X = 0,429/3,3373 = 127,17 \mu\text{l de rétinol (Ret2)}$$

**Quantité d'acétate de rétinol (Ac2) à prélever :**

$$\begin{array}{ccc} 15 \text{ pmoles} & \longrightarrow & 20 \mu\text{l} \\ X & \longleftarrow & 2000 \mu\text{l} \end{array}$$

$$X = (15 \times 2000)/20 = 1500 \text{ pmoles}$$

$$\text{Sa masse est alors } 1500 \times 328 = 492000 \text{ pg} = 0,492 \mu\text{g}$$

Le volume de Ac2 à prélever

$$\begin{array}{ccc} 5,1794 \mu\text{g} & \longrightarrow & 1 \text{ ml} \\ 0,492 \mu\text{g} & \longrightarrow & X \end{array}$$

$$X = 0,429/5,1794 = 94,99 \mu\text{l d'acétate de rétinol (Ac2)}$$

- Introduire 127,17  $\mu\text{l}$  de Rétinol (Ret2) dans un tube à essai.
- Ajouter 94,99  $\mu\text{l}$  d'acétate de rétinol (Ac2).
- Evaporer sous flux d'azote.
- Resuspendre dans 200  $\mu\text{l}$  de Méthanol.
- Vortexer puis injecter 20  $\mu\text{l}$  dans la colonne.
- Enregistrer les aires correspondantes des deux composés.
- Connaissant leurs concentrations respectives on peut alors calculer la concentration des échantillons à tester à partir de leurs aires.

La phase mobile est composée de 93 % de méthanol, 5 % d'acétonitrile et 2 % d'eau distillée.

#### ***III.3.4.4.5. Extraction du rétinol du sérum et dosage***

- Décongeler les sérums à température ambiante sous la hotte.
- Vortexer les spécimens.
- Centrifuger les sérums à 8000 rpm pour 30 sec.
- Numéroter des tubes correspondant aux sérums à analyser.
- Distribuer 200  $\mu\text{l}$  de sérum dans les tubes.
- Ajouter 500  $\mu\text{l}$  de standard interne (Acétate de rétinol dilué dans de l'éthanol à la concentration de 150 pmoles/500  $\mu\text{l}$ ).
- Ajouter 1 mL d'hexane : le rétinol et acétate de rétinol passe dans la phase hexanique (c'est l'extraction).
- Vortexer les tubes pendant 30 sec et centrifuger à 3000 rpm pendant 5 mn
- Prélever soigneusement la phase hexanique (sans toucher au méthanol).
- Ajouter 1 ml d'hexane, vortexer et centrifuger à 3000 rpm pendant 5 mn et prélever soigneusement la phase hexanique.
- Evaporer l'extrait sous flux d'azote gazeux.
- Resuspendre dans 200  $\mu\text{l}$  de méthanol bien vortex
- Injecter 20  $\mu\text{l}$  dans le HPLC

### **III.4. ANALYSE DES DONNEES**

Les données ont été saisies sur le logiciel Excel au fur et à mesure du déroulement de l'étude. Ces données ont été analysées grâce aux logiciels Excel, Epi info version 6 et SPSS.

## IV. RESULTATS

### IV.1. STRUCTURE DE LA POPULATION D'ETUDE

Au total 192 patients ont été randomisés et enrôlés dans cette étude dont 45 hommes (23,43 %) et 147 femmes (76,56 %) soit un sexe ratio de  $\frac{1}{4}$  en faveur des femmes.

Au total 171 patient ont été suivi jusqu'à la fin de l'étude ce qui donne une compliance de 89,06%.

Après confirmation du statut sérologique, le sérotypage des échantillons a permis de montrer que la majeure partie des patients étaient infectés par le VIH-1 (Figure 5).

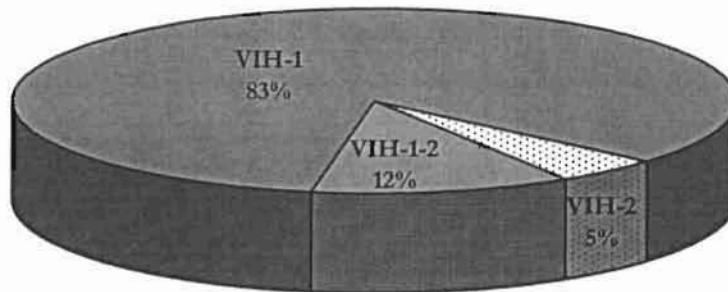


Figure 1 : Répartition des sérotypes de VIH dans la population d'étude

### IV.2. LES PARAMETRES ANTHROPOMETRIQUES

#### IV.2.1. Les indices de masse corporelle (IMC)

Ces résultats montrent qu'au départ les patients du groupe I ayant un taux  $CD4 < 200/\mu l$  étaient les plus dénutris (Tableau II). Après 6 mois de supplémentation dans les 3 groupes, la proportion de ceux qui avaient un indice de masse corporelle (IMC) inférieur à la normale a diminué. Cependant le pourcentage des personnes dénutris a augmenté dans le groupe III sous placebo. Ces améliorations traduisent une récupération nutritionnelle plus visible dans le groupe supplémenté en spiruline que celui du placebo. Les calculs de la récupération nutritionnelle au sein des groupes a montré que celle-ci était de 10,7 % chez sujets du supplémentés avec de la spiruline. Ce chiffre était par contre de 2,34% pour le groupe placebo.

**Tableau II : Répartition des patients par groupe selon la classification OMS de leur indice de masse corporelle IMC (en kg/m<sup>2</sup>).**

		Spiruline M0 (n=96)	Spiruline M6 (n=85)	P	Placebo M0 (n=96)	Placebo M6 (n=86)	P
<b>Groupe I :</b>	Dénutris (IMC < 18,5)	22,1%	14,1%	0.96	13,4%	10,8%	0.73
	Normo-nutris 18,5 < IMC < 25	63,2%	68,2%	0.51	71,1%	68,7%	0.75
	Surpoids 25 < IMC < 30	14,7%	17,7%	0.93	15,4%	20,3%	0.87
<b>Groupe II :</b>	Dénutris (IMC < 18,5)	20,6%	18,8%		12,1%	10,3%	
	Normo-nutris 18,5 < IMC < 25	81,8%	65,6%	0.23	64,7%	69,0%	0.73
	Surpoids 25 < IMC < 30	6,1%	15,6%		14,7%	20,7%	
<b>Groupe III :</b>	Dénutris (IMC < 18,5)	21,4%	13,6%		6,5%	12,0%	
	Normo-nutris 18,5 < IMC < 25	60,7%	72,7%	0.32	64,5%	56,0%	0.64
	Surpoids 25 < IMC < 30	17,9%	13,6%		29%	32,0%	

Nous aussi avons observé une augmentation de la moyenne de l'IMC dans le groupe I et II supplémentés en spiruline (Tableau III). En revanche il a été observé une légère baisse de cette moyenne dans le groupe III recevant le même supplément. Les patients recevant le placebo des groupes II et III ont montré une baisse de leurs IMC respectives.

**Tableau III : Variation de la moyenne de l'IMC par groupe selon le type de supplémentation au cours des 6 mois.**

	Spiruline M0 (n=96)	Spiruline M6(n=85)	P	Placebo M0 (n=96)	Placebo M6 (n=86)	P
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	20,93 ± 3,41	21,32 ± 4,9	0,71	21,14 ± 4,14	21,70 ± 2,86	0,43
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	21,25 ± 3,22	21,88 ± 3,5	0,45	21,86 ± 3,64	21,11 ± 6,8	0,58
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	21,44 ± 3,66	20,78 ± 5,48	0,48	22,79 ± 3,62	21,94 ± 5,72	0,43



## IV.2. RESULTATS DU SUIVI DES PARAMETRES BIOLOGIQUES

Après 6 mois de supplémentation en spiruline, le nombre moyen de CD4/ $\mu$ l de sang périphérique a connu une augmentation et est passé de  $143,88 \pm 45.59$  à  $174,9 \pm 94.47$  dans le groupe I sous spiruline mais de façon non significative ( $p=0,09$ ). Cette moyenne du nombre de CD4/ $\mu$ l de sang est restée constante pour les patients du sous-groupe placebo du groupe I et ceux du groupe II (sous groupes spiruline et placebo, (Tableau IV)). Cependant nous avons observé une baisse significative du nombre moyen de CD4/ $\mu$ l de sang périphérique chez les patients du sous groupe placebo du groupe III ( $p = 0,0005$ ) alors que pour le sous groupe spiruline du même groupe, la moyenne des CD4 est restée inchangée (Tableau IV).

**Tableau IV :** Variation du nombre moyen des lymphocytes CD4/ $\mu$ l par groupe et selon le type de supplémentation au cours des 6 mois.

	Groupe Spiruline M0 (n=96)	Groupe Spiruline M6 (n=85)	p	Groupe Placebo M0 (n=96)	Groupe Placebo M6 (n=86)	p
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	$143,88 \pm 45.59$	$174,9 \pm 94.47$	0,09	$118,19 \pm 8.41$	$180,55 \pm 86.24$	0,07
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	$280,97 \pm 47.36$	$274,55 \pm 196.57$	0,85	$272,06 \pm 46.36$	$246,13 \pm 104.17$	0,20
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	$552,0 \pm 131.23$	$450,09 \pm 253.19$	0,19	$546.60 \pm 138.3$	$379,92 \pm 199,92$	0,0005

Les résultats de la numération formule sanguine (NFS) ont montré que la neutropénie a été la cytopénie la plus observée dans tous les groupes que ce soit chez les sujets supplémentés ou non (Tableau V). On a aussi observé un plus grand nombre de patients ayant une lymphopénie dans les groupes I et II. Contrairement dans le groupe III, la leucopénie et la lymphopénie ont été observées chez peu de patients (Tableau V). Par ailleurs nous avons observé un gain de leucocytes totaux chez les patients du groupe I sous spiruline.

**Tableau V :** Classification des patients par groupe selon le déficit leucocytaire : leucopénie, lymphopénie et neutropénie.

		<b>Spiruline M0</b> (n=96)	<b>Spiruline M6</b> (n=85)	<b>Placebo M0</b> (n=96)	<b>Placebo M6</b> (n=86)
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	Leucopénie	21	18	18	15
	Lymphopénie	11	16	12	13
	Neutropénie	20	22	22	23
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	Leucopénie	13	15	13	12
	Lymphopénie	9	10	6	7
	Neutropénie	22	23	22	20
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	Leucopénie	3	6	4	7
	lymphopénie	2	3	1	1
	neutropénie	16	13	13	13

L'estimation de l'anémie dans notre population d'étude à travers la mesure des taux d'hémoglobine au début (M0) et à six mois (M6) a montré que l'anémie a été plus rencontrée dans le groupe I et II que dans le groupe III (Tableau VI).

**Tableau VI :** Classification des patients par groupe et selon leur taux d'hémoglobine (Hb) avant et après supplémentation.

		<b>Spiruline M0</b> (n=96)	<b>Spiruline M6</b> (n=86)	<b>Placebo M0</b> (n=96)	<b>Placebo M6</b> (n=86)
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	Hb < 11	13	14	13	14
	Hb >11	20	18	20	15
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	Hb < 11	10	10	13	14
	Hb >11	22	20	20	17
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	Hb < 11	8	5	7	6
	Hb >11	23	19	23	18

Le calcul de la moyenne de taux d'hémoglobine dans les différents groupe et en fonction du temps a montré que dans le groupe III où on avait constaté un nombre réduit de patients anémiés la

moyenne du taux d'hémoglobine a été plus ou moins stable et supérieur ou égal à la valeur de référence chez l'adulte (Hb=11g/dl, Tableau VI). Dans ce même groupe, les patients sous placebo n'ont pas pu maintenir stable leur taux d'hémoglobine. Il y a eu légère hausse du taux d'hémoglobine chez les patients prenant la spiruline par rapport à ceux recevant le placebo même si cette différence n'était pas significative (p= 0,38).

**Tableau VII : Variation du nombre moyen de l'hémoglobine selon les différents groupes au cours des 6 mois de supplémentation.**

	<b>Spiruline M0 (n=96)</b>	<b>Spiruline M6 (n=86)</b>	<b>Placebo M0 (n=96)</b>	<b>Placebo M6 (n=84)</b>
<b>Groupe I (CD4&lt;200)</b>	11,69 ± 1,56	11,56 ± 1,43	11,52 ± 1,52	11,53 ± 1,44
<b>Groupe II (200&lt;CD4&lt;400)</b>	11,74 ± 1,39	11,57 ± 1,34	11,29 ± 1,51	11,47 ± 1,27
<b>Groupe III (CD4&gt;400)</b>	12,02 ± 1,75	12,10 ± 1,28	11,90 ± 1,58	11,72 ± 1,69

Au cours de notre étude, la vitesse de sédimentation (VS) a également été mesurée. Les résultats ont montré que le nombre de patients ayant une vitesse de sédimentation supérieure à la valeur normale (< 20 mm à la première heure) a été le plus observée dans les groupes I et II. On a constaté néanmoins dans les différents groupes une baisse de la vitesse de sédimentation après 6 mois de supplémentation en spiruline (Tableau VII).

La moyenne de la vitesse de sédimentation de tous les groupes suivis au cours de cette étude était supérieure à la valeur normale (< 20 mm à la première heure, Tableau VIII). Chez les patients du groupe I, sous spiruline, une baisse de la moyenne de la VS a été constatée contre son augmentation chez les patients du groupe II sous placebo (Tableau VIII).

**Tableau VIII :** Répartition par groupe selon leur vitesse de sédimentation (VS) au début et à la fin de 6 mois de suivi.

		Spiruline M0 (n=96)	Spiruline M6 (n=86)	Placebo M0 (n=96)	Placebo M6 (n=86)
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	VS < 20	14	11	11	9
	VS > 20	18	21	23	20
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	VS < 20	14	14	11	12
	VS > 20	19	16	21	19
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	VS < 20	20	18	16	16
	VS > 20	10	6	14	8

**Tableau IX :** Variation de la moyenne de la vitesse de sédimentation VS en fonction des groupes après 6 mois de suivi.

	Groupe Spiruline M0 (n=96)	Groupe Spiruline M6 (n=85)	p	Groupe Placebo M0 (n=96)	Groupe Placebo M6 (n=86)	p
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	43,85 ± 26,27	33,13 ± 23,23	0.08	60,94 ± 35,68	35,69 ± 23,74	0,07
<b>Groupe II</b> (200<CD4<400)	25,62 ± 13,97	31,09 ± 24,71	0.26	40,73 ± 27,49	39,00 ± 26,6	0,80
<b>Groupe III</b> (CD4>400)	25,21 ± 22,9	23,41 ± 22,27	0.75	25,29 ± 18,55	23,27 ± 17,99	0,68

La mesure de la rétinolémie a été réalisée chez les sujets les plus dénutris seulement. Le Tableau IX montre que la moyenne de la rétinolémie n'a pas significativement baissé au cours des 6 mois que ce soit chez les patients sous spiruline ou placebo.

La plupart des patients avaient une rétinolémie supérieure à la valeur seuil. Un seul patient atteint d'une carence sévère d'avitaminose A (< 0.35µmol/l) a été identifié.

**Tableau X :** Variation des moyennes de rétinolémie des patients du groupe I et leur répartition en fonction du statuts nutritionnel en vitamine A.

	Spiruline M0 (n=33)	Spiruline M6 (n=31)	Placebo M0 (n=33)	Placebo M6 (n=29)
<b>Groupe I</b> (CD4<200)	1,541 ± 0,528	1,343 ± 0,492	1,650 ± 0,816	1,365 ± 0,513
< 0,35 µmol/l	1	0	0	0
< 0,7 µmol/l	1	3	1	1
> 0,7 µmol/l	31	28	32	28

Après 6 mois de suivi biologique on a constaté que les quatre combinaisons tri- thérapeutiques anti- rétrovirales entraînaient chez un grand nombre de patients une élévation des transaminases (GPT/ALAT) supérieures à la valeur de référence (3,33 – 6,105 mmol). Après 6 mois de suivi on constate également que les valeurs élevées de  $\alpha$ - amylasémie ont baissé. Cette baisse est encore plus importante pour la créatininémie.

**Tableau XI :** Variation du pourcentage des patients ayant l'hypercréatininémie, l' hyperamylasémie et les transaminases ALAT élevées en fonction du traitement ARV.

Type de combinaison ARV*	Hyperamylasémie		Transaminase (ALAT) élevée		Hyper-créatininémie	
	M0	M6	M0	M6	M0	M6
3TC+D4T+NVP	58,7%	45,7%	66,7%	100%	29,62%	6,52%
AZT+3TC+NVP	53,7%	50,0%	54,5%	90,0%	16,27%	6,63%
AZT+3TC+EFV	63,6%	48,1%	60,7%	92,6%	25,0%	13,33%
3TC+D4T+EFV	64,3%	48,1%	69,2%	83,3%	42,85%	15,0%

\* : 3TC = Lamivudine, D4T = Stavudine, NVP = Névirapine, EFV = Efavirenz, IDV = Indinavir

## V. DISCUSSION

### V. 1. INDICE DE MASSE CORPORELLE ET L'ETAT NUTRITIONNEL

La mesure de l'indice de masse corporelle reflétant l'état nutritionnel a relevé que le groupe I (ayant moins de 200 CD4/ $\mu$ l) cumulait le plus grand nombre de dénutris (ayant une IMC < 18,5kg/m<sup>2</sup>) 22,1% pour le groupe spiruline contre 13,4% pour le groupe placebo. La dénutrition sévère est caractéristique des stades les plus avancés du VIH/SIDA. A ce stade la perte de poids est souvent associée à la malabsorption, l'anorexie, les infections opportunistes et les troubles métaboliques (Young, 1997). Après 6 mois de supplémentation en spiruline, la récupération nutritionnelle dans le groupe I a été plus importante pour les patients recevant la spiruline (10,71%) que ceux qui ont pris le placebo (2,35% Tableau II). La dénutrition est très souvent associée à la perte de poids due à la carence protéo-calorique mais aussi la forte dépense énergétique sollicitée par le système immunitaire. (Grinspoon *et al.*, 1998). Administrer à 5 g/j, la spiruline est un supplément alimentaire riche en protéine et aussi en micro-élément ( $\beta$ -carotène, zinc et Fer) qui offrirait des effets bénéfiques énormes. Elle permettrait un regain d'appétit et une correction du déficit nutritionnel. Simporé *et al.* (2005) au Burkina Faso avaient aussi observé une récupération nutritionnelle chez les enfants de moins de 5 ans supplémentés en spiruline pendant 6 semaines avec un gain de poids de 25 g/j. De plus pour ces mêmes auteurs la récupération nutritionnelle était plus importante avec une ingestion de  $767 \pm 5$ Kcal lorsqu'il s'agissait d'une supplémentation en spiruline plus le Misola (Simporé *et al.*, 2006). En restaurant le métabolisme et les perturbations physiologiques la spiruline contribuerait de façon notable à l'amélioration de l'état physique du patient. Dans les modèles animaux les  $\beta$ -carotènes, l'acide  $\gamma$ -linoléinique et la phycocyanine de la spiruline ont montré des activités anti- oxydant (Wang *et al.*, 2005). Ces composés permettraient la réduction des troubles métaboliques et la perte énergétique. C'est cette baisse de l'activité anti-oxydante et la perte d'énergie qui expliqueraient la diminution du nombre de patients dénutris plus remarquable chez ceux recevant la spiruline.

La proportion de patients dénutris recevant le placebo dans le groupe III a presque doublé ; elle est passée de 6,5% à 12%. Alors que dans ce même groupe la proportion des dénutris recevant la spiruline a baissé presque de moitié (elle est passée de 21,4% à 13,6%). La dénutrition au stade précoce de l'infection chronique par le VIH expose ces patients à une baisse de l'immunité et à des désordres métaboliques (Kotler *et al.*, 1998) De l'observation de nos résultats il ressort que la prise en charge nutritionnelle précoce chez les personnes asymptomatiques est d'intérêt capital. Elle permettrait de retarder leur rentrée dans le traitement par les ARV. Bogden *et al.* (2000) observaient qu'un déficit en nutriment et en anti-oxydant commence au stade précoce de l'infection

à VIH et peut contribuer à la progression de la maladie. Il est reconnu que le statut immunitaire est fortement dépendant de l'état nutritionnelle (Chlebouski *et al.*, 1985). C'est ce qui explique le fait que le gain de poids et la prévention de la dénutrition sont des enjeux à gagner avant tout traitement ARV intensif quant cela est nécessaire.

## V. 2. SOUS POPULATION LYMPHOCYTAIRE T CD4+

Dans le groupe des patients ayant moins de 200 CD4/ $\mu$ l il y a eu une augmentation non significative du nombre moyen de CD4 dans le groupe spiruline comme placebo ( $p = 0.09$  et  $0.07$  respectivement). Cette moyenne est restée stable pour les patients du groupe II et III supplémentés en spiruline. L'observation de nos résultats permet de constater que la spiruline contribuerait à hausse du nombre de CD4/ $\mu$ l soit à son maintien. En effet la spiruline est une bonne source de b- carotène (convertible en vitamine A.) mais aussi en sels minéraux (zinc magnésium). Ces micronutriments ont un effet positif sur système immunitaire cellulaire. Des observations similaires avaient été rapportées en Tanzanie par Fawzi *et al.* (1998) ; Fawzi *et al.* (2004). Ils ont montré que la supplémentation en multi-vitamine chez les femmes enceintes permettait une réduction du faible poids à la naissance et une augmentation significative des lymphocytes CD4, CD8 et CD3.

Au cours de notre étude on a noté une diminution significative ( $p = 0,0005$ ) du nombre de CD4/ $\mu$ l chez les patients du groupe III prenant le placebo. Cette moyenne est passée de 546,6 à 379,92 CD4/ $\mu$ l. Dans ce même sous groupe on avait observé une augmentation du nombre de patients denutris. La dénutrition provoque une baisse de la prolifération des cellules sanguines. En effet les organes lymphoïdes du système immunitaire sont sensibles à la perte de poids (Chlebouski *et al.*, 1985). La perte moyenne de 166 au cours de 6 mois précipite l'entrée des patients sous placebo dans la phase de thérapie anti- rétrovirale. Cette baisse du nombre de CD4 pourrait s'expliquer par le stress oxydatif accru, par l'apoptose, l'anergie et la formation de syncytia (Kotler *et al.*, 1998 ; Bogden *et al.*, 2000).

L'intérêt de la supplémentation en spiruline résiderait dans le bénéfice double de retarder la progression des patients dans la phase maladie mais aussi de réduire la morbidité de l'infection par son pouvoir antioxydant (Jiamton *et al.*, 2003)

### V. 3. MODIFICATIONS DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES :

La cytopénie la plus rencontrée dans tous les groupes sans distinction était la neutropénie (59,89% à M0 et 66,66% à M6). Les cytopénies sont fréquentes au cours de l'infection par VIH et souvent imputables à la thérapie intensive (Lacombe et Girard, 2004). La neutropénie est la plus courante chez les malades à VIH et elle expliquerait les fréquentes infections bactériennes.

D'autres mécanismes telle que la cytotoxicité de la thérapie anti-rétrovirale pour ces cellules peut expliquer la modification des séries hématologiques (Chang *et al.*, 2004).

Dans notre étude on avait plus de 76% de nos patients qui étaient sous trithérapie de différentes combinaisons ARV souvent associées t à d'autres traitements telles que hépatite virale B et tuberculose. La chimiothérapie modifie la morphologie des cellules les rendant plus susceptibles à la lyse. Chez les patients co-infectés par le VIH et le virus de l'hépatite C. Arzcorreta *et al.*, (2004) ont remarqué que le traitement par l'interféron et la ribavirine réduisait en moyenne de 45% le nombre de neutrophile, de 50% le nombre de leucocytes totaux, de 54% le nombre de lymphocytes CD4, de 9% le taux d'hémoglobine et enfin de 31% le nombre de thrombocytes. De plus ils observaient que les patients retrouvaient leurs numérations formules sanguines de départ après arrêt du traitement. Moore *et al.*, 1998 expliquent mieux la neutropénie par le dysfonctionnement des neutrophiles au cours de l'infection par le VIH. Ces auteurs observent une baisse significative de l'expression de la L-selectine (CD62L), CD11a chez les patients infectés par le VIH surtout ceux en dessous de 100 CD4/ $\mu$ l. La baisse de l'expression de ces molécules d'adhésion détériore leur fonction.

La lymphopénie quant à elle résulte dans un premier temps de la haute activité immunitaire en réaction à la défense de l'intégrité de l'organisme. Il s'ensuit une déplétion en nutriment et une perte d'énergie énorme (Bogden *et al.*, 2000). Ceci débouche sur l'anergie du système immunitaire, la baisse de production de cytokine et de molécules du système immunitaire (anticorps, cytokine) influençant fortement la production de cellules. Trautmann *et al.*, 2006 font ces mêmes observations en montrant que l'infection chronique par le VIH associé à la dénutrition entraînait un dysfonctionnement dans cellules CD8+ et une incapacité à produire des cytokines d'où une baisse de la prolifération lymphocytaire.

### V. 4. VITESSE DE SEDIMENTATION (VS) ET PROCESSUS INFLAMMATOIRE

Une VS élevé témoigne d'un processus inflammatoire en cours. Le nombre VS élevé (> 20 mm à une première heure) était rencontré dans les groupes I et II qui sont les plus exposés aux infections opportunistes. Ce processus inflammatoire reflète également l'altération de l'état général



de ces patients car il s'agit ici d'un déséquilibre protéique. Chez des adolescents infectés par le VIH et asymptomatiques, **Farook et al., (2003)** ont aussi décrit une baisse de la balance protéique par incapacité de réguler le catabolisme protéique. Dans l'infection par le VIH l'inflammation est très souvent associée à une surproduction de cytokine inflammatoire que  $TNF\alpha$ ,  $TNF\beta$ . L'anorexie, la malabsorption et l'altération du métabolisme peuvent être dus au processus inflammatoire. Dans les modèles animaux des études plus poussées ont révélé que la phycocyanine de la spiruline inhibe la libération de l'histamine et fonctionne comme un composé anti-inflammatoire (**Qureshi et al., 1995**). La supplémentation en spiruline en permettant une baisse de la VS contribue ainsi un rétablissement du bien-être physique des patients.

## V. 5. L'ANEMIE :

Au cours de cette étude l'anémie a le plus touché les patients du groupe I et II. Au début l'étude au mois M0 on avait 32,3% (31/96) de patients prenant la spiruline anémiés contre 34,74% (33/96) prenant le placebo. Après 6 mois de supplémentation on pouvait observer que le pourcentage de patients anémiés sous spiruline restait statique 33,72% (29/86) alors qu'elle a augmenté dans le groupe des placebos 40,47% (34/84). Les causes de l'anémie sont dues à la carence martiale et/ou à la carence en acide folique (vitamine B12). En effet ces deux micro-éléments que sont le fer et la vitamine B12 sont des composés essentiels à la synthèse de l'hémoglobine. Leur carence au cours de l'infection chronique par le VIH/SIDA est la principale cause de l'anémie généralement observée chez les PvVIH (**Grinspoon et al., 1998**). La comparaison des groupes supplémentés et non supplémentés en spiruline après 6 mois indiquait qu'il y avait une amélioration de l'état de l'anémie dans le groupe de ceux prenant la spiruline. Dans une étude menée au Burkina Faso chez des nourrissons dénutris **Simporé et al., 2005** observaient que chez les enfants supplémentés en spiruline ; la récupération de l'anémie était de 81,8% contre 63,6% chez ceux qui ne recevaient pas la spiruline. La spiruline apparaîtrait être un bon supplément alimentaire car elle contribue par sa richesse en fer et en acides foliques à baisser le niveau de l'anémie.

L'anémie au cours de l'infection chronique à VIH/SIDA complique la prise en charge médicale et est d'un pronostic vital pour le malade. En effet, les taux d'hémoglobine les plus bas dans notre étude ont été observés chez les patients au stade avancé de la maladie. L'anémie s'installe progressivement avec les carences martiales et foliques mais aussi avec la modification morphologique des hématies qui leur rendent plus fragile à l'hémolyse. L'utilisation d'anti-rétroviraux associée souvent à certains interférons (Peg IFN) dans le traitement de la co-infection VIH-VHB ou VHC entraîne une anémie chez ces patients. **Alvarez et al. (2005)** nous font remarquer que l'utilisation de la zidovudine en thérapie intensive associée à la ribavirine durant le

traitement du VHC chez les patients infectés par le VIH réduisait le taux d'hémoglobine. Ces auteurs rapportaient une réduction significative de 3,13 g/dl d'hémoglobine chez les patients sous zidovudine comparativement à 2,13 g/dl chez ceux recevant autres traitements.

#### V. 6. TRAITEMENTS SUIVIS BIOLOGIQUES DE ROUTINES :

Les combinaisons thérapeutiques les plus utilisées pour les patients sous ARV avaient un effet sur la fonction hépatique et pancréatique. Plus de la moitié des patients recevant ces thérapies avaient des transaminases ALAT >40 UI ou une amylasémie > 90 UI. De plus au cours des 6 mois de chimiothérapie le pourcentage de patients ayant une transaminase ALAT >40 UI avait augmenté. En plus de la toxicité cellulaire déjà signalée dans les modifications hématologiques, la trithérapie par les ARV posent un problème d'hépatotoxicité et de pancréatite. **Raiten *et al.* (2006)** font remarquer que la déficience en micronutriment préexistante peut affecter l'absorption, la pharmacocinétique et augmenter la toxicité des drogues. Il paraîtrait nécessaire de rétablir l'état nutritionnel du patient par une supplémentation en complexe multi-vitaminique et en oligo-éléments pour que le traitement soit plus efficace.

#### V. 7. RETINOLEMIE

Dans le groupe I où la dénutrition était la plus rencontrée nous avons mesuré la rétinolémie au début de l'étude et 6 mois après supplémentation. On constate qu'au cours des 6 mois que la rétinolémie est restée stable. De plus dans ce groupe un seul cas de dénutrition sévère par carence en vitamine A a été rencontré au début de l'étude. La rétinolémie est régulée par homéostasie. Lorsque son taux est inférieur à 0,7  $\mu\text{mol/l}$  l'organisme puise dans les réserves hépatiques pour compenser le manque. Lorsque son taux inférieur à 0,35  $\mu\text{mol/l}$  cela signifie que les réserves hépatiques sont épuisées et qu'une malnutrition est bien installée. Cette stabilité de la rétinolémie expliquerait le gain de lymphocytes CD4 enregistré dans ce groupe. La vitamine A a des propriétés antioxydantes et immunostimulantes ( **Fawzi *et al.*, 1998 ; Chlebouski *et al.*, 1985**). Le bon statut nutritionnel en vitamine A pour ce groupe de patients à risque est un avantage.

## VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude de l'impact la spiruline (*Spirulina platensis*) sur le statut immuno- biologique et nutritionnel des PVVIH au cours de la prise quotidienne de spiruline pendant 6 mois nous a permis d'obtenir les résultats préliminaires suivants:

### Paramètres anthropométriques et dénutrition

- la récupération nutritionnelle était plus importante chez les patients recevant la spiruline 10,71% contre 2,43% pour le groupe placebo.
- Dénutrition chez les patients sous placebo au stade précoce de l'infection les expose à une progression rapide vers la maladie.

### Déplétion lymphocytaire :

- Gain ou maintien du taux de lymphocytes CD4/ $\mu$ l chez les patients supplémenté en spiruline
- Diminution significative du taux de lymphocytes CD4/ $\mu$ l chez les patients asymptomatiques recevant le placebo

### Modifications des paramètres hématologiques

La neutropénie était la cytopénie la plus observée chez 59% et 66% des patients à M0 et M6 respectivement.

### Trithérapie et toxicité

Les différentes combinaisons thérapeutiques (ARV) affectaient le plus la fonction hépatique et pancréatique : plus de 54,5% des patients suivis avaient une ALAT élevée et plus de 45% avaient des amylases élevées à M0 comme à M6.

### Vitesse de sédimentation et processus inflammatoire

Le processus inflammatoire a baissé au cours des 6 mois de supplémentation en spiruline.

En perspective il serait souhaitable de mesurer l'impact de la spiruline sur la charge virale plasmatique et aussi sur le stress oxydatif (par le dosage du glutathion réduit).

## VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alvarez D., D.T. Dieterich, N. Brau, L. Moorehead, L. Ball and M.S. Sulkowski. 2006. Zidovudine use but not weight-based ribavirin dosing impacts anaemia during HCV treatment in HIV-infected persons. *Journal of Viral Hepatitis*, 13, 683–689.
2. Anabwani G., M.B., Ch.B., Peter Navario. 2005. Nutrition and HIV/AIDS in sub-Saharan Africa: an overview. *Nutrition*, 21, 96–99.
3. Arizcorreta A., F. Brun, C. Fernandez-Gutierrez, R. Garcia Juarez, F. Guerrero, E. Perez-Guzman and J. A. Giron-Gonzalez. 2004. Modifications of haematological series in patients co-infected with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus during treatment with interferon and ribavirin: differences between pegylated and standard interferon. *Clinical Microbiology and Infection*, 10, 1067–1074.
4. Barré-Sinoussi F., J.C. Chermann, F. Rey, M.T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum and L. Montagnier. 1983. Isolation of T lymphotropic retrovirus from patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 224, 497-500.
5. Bogden J.D., F.W. Kemp, S. Han, W. Li, K. Bruening, T. Denny, J.M. Oleske, J. Lloyd, H. Baker, G. Perez, P. Kloser, J. Skurnick and D.B. Louria. 2000. Status of selected nutrients and progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 809–815.
6. Chang Y. and S. Tyring. 2004. Therapy of HIV infection. *Dermatologic Therapy*, 17, 449–464.
7. Chlebowski R.T., 1985. Significance of altered nutritional status in acquired immune deficiency syndrome. *Nutrition Cancer*; 7:395-402 In: Young JS, 1997. HIV and medical nutrition therapy. *Journal of American Dietetic Association*, S16.
8. Choppin J., F. Martinon, F. Connan, M. Pauchard, E. Gomard, J.P. Levy. 1991. HLA-binding regions of HIV-1 protein. II. A systematic study of viral protein. *Journal of Immunology*, 147, 575-83.
9. Clavel F.D. Guetard Brun-Verzinet F., S. Chamaret, M.A. Rey, M.O. Santos-Ferreira, A.G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux et al., 1986. Isolation of new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*, 233, 343-346.
10. De Rosa S.C., M.D. Zaretsky, J.G. Dubs, M. Roederer, M. Anderson, Green, D. Mitra, N. Watanabe, H. Nakamura, I. Tjioe, S.C. Deresinski, W.A. Moore, S.W. Ela, D. Parks, L.A. Herzenberg and L.A. Herzenberg. 2000. N-acetylcysteine replenishes glutathione in HIV infection. *European Journal of Clinical Investigation*, 30, 915-929.

11. Diabougba S., C. Chazallon, M.D. Kazatchkine, P. Van de Perre, A. Inwoley, S. M'Boup, M.P. David, A.T. Tenin, R. Soudre, J-P. Aboulker and L. Weiss. 2003. Successful implementation of a low-cost method for enumerating CD4 T lymphocytes in resource-limited settings: the ANRS 12-26 study. *AIDS*, 17, 2201-2208
12. Falquet J. Genève, mai1996. Antenna Technologie. <http://www.spirunet.org/wp-content/uploads/2006/pdf/spiruline-aspects-nutritionnels-1996.pdf>
13. Fawzi W.W., G.I. Msamanga, D. Spiegelman, E.J.N. Urassa, N. McGrath, D. Mwakagile, G. Antelman, R. Mbise, G. Herrera, S. Kapiga, W. Willett, D.J Hunter. 1998. Randomised trial of effects of vitamin supplements on pregnancy outcomes and T cell counts in HIV-1 infected women in Tanzania. *Lancet*, 351, 1477-1482.
14. Fawzi W.W., G.I. Msamanga, D. Spiegelman, R. Wei, S. Kapiga, E. Villamor, D. Mwakagile, F. Mugusi, E. Hertzmark. 2004. Randomized trial of multivitamin supplements and HIV disease progression and mortality. *New England Journal of Medicine*, 351, 23-32.
15. Fawzi W.W., R. Mbise, D. Spiegelman, M. Fataki, E. Hertzmark, G. Ndossi. 1998. Vitamin A supplements and diarrheal and respiratory tract infections among children in Dar es Salaam, Tanzania. *The Journal of Pediatrics*, 137, 5, 660- 667.
16. Friis H. 2006. Micronutrient interventions and HIV infection : a review of current evidence. *Tropical Medicine and International Health*, 11, 12, 1849-1857
17. Grinspoon S., C. Corcoran, K. Miller, E. Wang, J. Hubbard, D. Schoenfeld, E. Anderson, N. Basgoz, and A. Klibanski. 1998. Determinants of increased energy expenditure in HIV-infected women<sup>1-3</sup>. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 720-5.
18. Gürtler L.G., P.H. Hausser, J. Eberle, A. von Brunn, S. Knapp, L. Zekeng, J.M. Tsague, L. Kaptue. 1994. A new subtype of human immunodeficiency virus type-1 (MVP-5180) from Cameroon. *Journal of Virology*, 68, 1581.
19. Hernandez-Corona A., I. Nieves , M. Meckes , G. Chamorro , B.L. Barron. 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Research*, 56, 279-285.
20. Herrero M., E. Ibanez, J.S.A. Cifuentes. 2004. Pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis* microalga. Determination of their antioxidant activity and preliminary analysis by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1047, 195-203.
21. Jahoor F., Stuart Abramson, and William C Heird. 2003. The protein metabolic response to HIV infection in young children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 182-189.
22. Jiamton S., J. Pepin, R. Suttent, S. Filteau, B. Mahakkanukrauh, W. Hanshaoworakul, P. Chaisilwattana, P. Suthipinittharm, P. Shetty, S. Jaffar. 2003. A randomized trial of the

- impact of multiple micronutrient supplementation on mortality among HIV-infected individuals living in Bangkok. *AIDS*, 17, 2461-2469.
23. Kaji T., M. Okabe, S. Shimada, C. Yamamoto, Y. Fujiwara, J-B. Lee, T. Hayashi. 2004. Sodium spirulan as a potent inhibitor of arterial smooth muscle cell proliferation in vitro. *Life Sciences*, 74, 2431-2439.
  24. Khan Z., Pratiksha Bhadouria and P.S. Bisen. 2005. Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 6, 373-379.
  25. Klatzman L., Rosenheim, Gluckman W. Jc eds. 1989 SIDA et infection par VIH. Paris: *médecine-science Flammarion*: 123-32.
  26. Kotler D. and S.B. Heymsfield. 1998. HIV infection: a model chronic illness for studying wasting diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*; 68, 519-520.
  27. Lacombe K., P-M. Girard. 2004. Treatment and prophylaxis of opportunistic infections in the course of HIV disease: a state of the art in 2004. *Médecine et maladies infectieuses*, 34, 246-256.
  28. Luder E., E. Godfrey, J.Godbold, D. M. Simpson. 1995. Assessment of nutritional, clinical, immunologic status of HIV- infected, inner- city patients with multiple risk factor. *Journal of American dietetic association*. 95, 6, 655-660.
  29. Mardini H. and C Record. 2005. Detection assessment and monitoring of hepatic fibrosis: biochemistry or biopsy? *Annal of Clinical Biochemistry*; 42: 441-447.
  30. Moore D.A.J., D. Henderson and B. G. Gazzard. 1998. Neutrophil adhesion molecules in HIV disease. *Clinical Experimental Immunology*, 114,73-77
  31. Morist A., J.L. Montesinos , J.A. Cusido, F. Godia. 2001. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in acontinuous photobioreactor to be used as food. *Process Biochemistry*, 37, 535-547
  32. Ostrowski S.R., H. Ullum, B.K., Pedersen, J. Gerstoft and T.L. Katzenstein. 2005. 2B4expression on natural killer cells increases in HIV-1. Infected patients followed prospectively during highly active antiretroviral therapy. *Clinical and Experimental Immunology*, 141, 526-533
  33. Premkumar K., S.K. Abraham, S.T. Santhiya , A. Ramesh. 2004. Protective effect of *Spirulina fusiformis* on chemical-induced genotoxicity in mice. *Fitoterapia*, 75, 24-31.
  34. Salazar M., E. Martinez , E. Madrigal , L.E. Ruiz , G.A. Chamorro. 1998. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 62, 235-241

35. Simpoire J., F. Kabore, F. Zongo, D. Dansou, A. Bere, S. Pignatelli, D. Biondi, G. Ruberto, S. Musumec. 2006. Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing Spirulina and Misola. *Nutrition Journal*, 23, 5 , 3164- 30775
36. The Australasian Creatinine Consensus Working Group. 2005. Chronic kidney disease and automatic reporting of estimated glomerular filtration rate : a position statement. *Medical Journal of Australia*. MJA, 183, 3, 138-141.
37. Trautmann L., L. Janbazian, N. Chomont, E.A Said, S. Gimmig, B. Bessette, M-R.d Boulassse, E. Delwart, H. Sepulveda, R.S. Balderas, J-P. Routy, E.K Haddad and R-P. Sekaly. 2006. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nature Medicine*, 12, 10, 1198- 1202.
38. Tribble D.L. 1998. Further evidence of the cardiovascular benefits of diets enriched in carotenoids<sup>1,2</sup>. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 521–522.
39. United Nations Programme on HIV/AIDS. 2006 Report on the Global AIDS epidemic 8 (UNAIDS, Geneva, 2006).
40. Villamor E., E. Saathoff, B. Msamanga, D.J. Hunter and W.W. Fawzi. 2000. Vitamin supplements, socioeconomic status, and morbidity events as predictors of wasting in HIV-infected women from Tanzania<sup>1–3</sup>. *European Journal of Clinical Investigation*, 30, 915-929.
41. Wang Y., C-F. Chang, J. Chou, H-L. Chen, X. Deng, B.K. Harvey, J.L. Cadet, P.C. Bickford. 2005. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or spirulina reduces ischemic brain damage. *Experimental Neurology*, 193, 75– 84
42. Xue C., Y. Hu, H. Saito<sup>1</sup>, Z. Zhang, Z. Li, Y. Cai, C. Ou, H. Lin and A.B. Imbs. 2002. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 77, 9–13.
43. Yaqoob P., J.A. Knapper, D.H. Webb, C.M. Williams, E.A. Newsholme and P.C. Calder. 1998. Effect of olive oil on immune function in middle-aged men<sup>1–3</sup>. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 129–35.

## TABLE DES MATIERES

Liste des Tableaux et Figures .....	1
Problématique et Justification de l'étude .....	2
I. GENERALITES.....	5
1. 1. Le virus VIH .....	5
1.1.1. Historique.....	5
1.1.2. Morphologie et ultrastructure .....	5
1.1.3. Organisation du génome .....	6
I.2. La spiruline .....	8
I.2.1. Les valeurs nutritionnelles de la spiruline .....	8
I.2.1.1. Composition en macroéléments.....	8
I.2.1.2. Composition en micro-éléments.....	10
I.2.3. Les activités biologiques de la spiruline.....	10
I.3. Malnutrition et VIH. ....	2
II. OBJECTIFS.....	13
II.1. Objectif général .....	13
II.2. Objectifs Secondaires.....	13
III. MATERIEL ET METHODES.....	14
III. 1. Type d'étude .....	14
II.2. Localité et population d'étude.....	14
III.3. Collectes des données .....	14
III.3.1. Caractéristiques de la population d'étude : .....	14
III.3.2. Procédure d'inclusion et déroulement de l'étude.....	15
III.3.3. Prélèvements sanguins et traitement des échantillons de sang .....	16
III.3.4. Procédure de réalisation des examens de laboratoire.....	16
III.3.4.1. Technique Dynalbeads pour le dénombrement des lymphocytes CD4 .....	17
III.3.4.2. Les dosages biochimiques.....	18
III.3.4.3. Numération formule sanguine et vitesse de sédimentation NFS-VS.....	21
III.4. Analyse des données .....	25
IV. RESULTATS.....	26
IV.1. Structure de la population d'étude .....	26
IV.2. Les paramètres anthropométriques .....	26
IV.2.1. Les indices de masse corporelle (IMC) .....	26
IV.2. Résultats du suivi des paramètres biologiques .....	28
V. DISCUSSION.....	33
V. 1. Indice de masse corporelle et l'état nutritionnel .....	33
V. 2. Sous population lymphocytaire T CD4+.....	34
V. 3. Modifications des paramètres hématologiques : .....	35
V. 4. Vitesse de sédimentation (VS) et processus inflammatoire.....	35
V. 5. L'anémie : .....	36
V. 6. Traitements suivis biologiques de routines : .....	37
V. 7. Rétinolémie .....	37
VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	38
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	39



---

## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

---

### Tableaux

Tableau I : Principaux acides gras de deux souches de spiruline, <i>S. maxima</i> et <i>S. platensis</i> .....	9
Tableau II : Répartition des patients par groupe selon la classification OMS de leur indice de masse corporelle IMC (en kg/m <sup>2</sup> ).....	27
Tableau III : Variation de la moyenne de l'IMC par groupe selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	27
Tableau IV : Variation du nombre moyen des lymphocytes CD4/ $\mu$ L par groupe et selon le type de supplémentation au cours des 6 mois. ....	28
Tableau V : Classification des patients par groupe selon le déficit leucocytaire : leucopénie, lymphopénie et neutropénie. ....	29
Tableau VI : Classification des patients par groupe et selon leur taux d'hémoglobine (Hb) avant et après supplémentation. ....	29
Tableau VII : Variation du nombre moyen de l'hémoglobine selon les différents groupes au cours des 6 mois de supplémentation. ....	30
Tableau VIII : Répartition par groupe selon leur vitesse de sédimentation (VS) au début et à la fin de 6 mois de supplémentation. ....	31
Tableau IX : Variation de la moyenne de la vitesse de sédimentation VS en fonction des groupes après 6 mois de supplémentation.....	31
Tableau X : Variation des moyennes de rétinolémie des patients du groupe I et leurs statuts nutritionnel en vitamine A.....	32
Tableau XI : Variation du pourcentage des patients ayant l'hypercréatininémie, l'hyperamylasémie et les transaminases ALAT élevée en fonction du traitement ARV.....	32

### Figure

Figure 1: Le cycle des carences en oligoéléments et la pathogénie du VIH.....	2
Figure2 : Ultrastructure du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).....	6
Figure3 : Variabilités génétiques du VIH-1 et VIH-2.....	7
Figure 4 : Récapitulatif des effets biologiques de la spiruline (d'après Khan <i>et al.</i> , 2005).....	12
Figure 5 : Répartition des sérotypes de VIH dans la population d'étude.....	26

## Resumé:

la malnutrition est un problème clinique commun chez les malades infectés par le VIH et provoque une immuno-suppression et une déplétion des lymphocytes T CD4. La spiruline à travers de nombreuses études a montré des vertus nutritionnelles et thérapeutiques. Aussi l'administration de ce complexe vitaminé associé à des sels minéraux à un patient serait simple et pratique que celle des micronutriments conventionnels. L'objectif de cette étude était de mesurer « Impact de la prise quotidienne de *Spirulina platensis* sur le statut immuno-biologique et nutritionnel des PvVIH à Bobo-Dioulasso ».

Il s'agit un essai randomisé contrôlé par placebo en double aveugle; avec une stratification en 3 groupes selon le nombre de CD4 des PvVIH. Groupe I ayant  $CD4 < 200/\mu l$  de sang ; Groupe II  $200 < CD4 < 400/\mu l$  et Groupe III  $CD4 > 400/\mu l$ . Au total 192 patients âgés d'au moins 18 ans ont été inclus dans cette étude, avec un sexe ratio de  $\frac{1}{4}$  en faveur des femmes. Chaque patient recevait 5g/j de Spiruline ou de placebo pendant les 6 mois. Les patients ont également bénéficié d'un suivi clinique (avec la mesure des paramètres anthropométriques) et biologique (NFS-VS, lymphocytes TCD4, glycémie, transaminase, amylase, créatinine et rétinol) à l'inclusion et après six mois.

Les résultats obtenus ont montré qu'il y a eu une récupération nutritionnelle de **10,71%** pour les groupes supplémentés en spiruline contre **2,35%** pour le placebo. On a aussi observé une baisse significative de la moyenne des lymphocytes passant de **546,60** à **379,92 CD4/ $\mu L$**  de sang dans le groupe III sous placebo ( $p=0,0005$ ). La récupération nutritionnelle plus importante dans les groupes supplémentés en spiruline serait dû à l'apport en protéine et micronutriments de cet aliment permettant de lutter contre les troubles métaboliques et le stress oxydatif. Ces micronutriments (vitamines, Mg, phycocyanine) ont des propriétés immunostimulantes qui permettraient un gain ou une stabilisation du nombre de lymphocytes CD4 dans les groupes supplémentés en spiruline.

La spiruline offrirait d'énormes avantages dans la récupération nutritionnelle (gain de poids), la stabilisation ou le gain de lymphocytes contribuant ainsi au bien-être des PVVIH.

**Mots clés :** Spiruline, PVVIH, récupération nutritionnelle, gain de CD4 Burkina Faso.

**Abstract :**

Malnutrition is a common clinical problem among HIV infected persons and lead to an immuno-supression and TCD4 lymphocytes depletion. Spirulina a blue algae has been shown to possess several nutritional and therapeutic vertus. The administration this complex rich in vitamin and mineral salt to a patient would be therefore more simple and pratical than those of conventional micronutrients. From February to December 2006 we have assessed the "impact of daily intake of spirulina platensis on the immunobiological and nutritional status of persons living with HIV/AIDS at Bobo Dioulasso".

It's was a randomised control double blind trial with stratification in 3 groups. Group I with  $CD < 200$  cell/ $\mu L$ , group II:  $200 < CD < 400$  and group with  $CD > 400/\mu L$ . A total of 192 patients aged than less 18 were enroled in this study (sex-ration egals  $\frac{1}{4}$  favour of women). Each patient receive daily 5g of spirulina or placebo during 6 months. Before suppelementation and six months after intervention all patients were subjected to clinical examination and the following parameters were measured (hemogram, CD4 count, glyucose ALAT, amylase, creatinine, serum retinol and anthropometric parameters).

The results showed a nutritional recovery of 10,71% among spirulina supplemented patients versus 2,35% for placebo group. We have observed also a significantive decrease of the mean lymphocyte CD4 count passing 546,60 to 379,92 CD4/ $\mu L$  among placebo groupIII ( $p=0,0005$ ).

The nutritional recovery was more important among spirulina supplemented group and may be due the protein and micronutrients provied by spurilina that helps in metabolic troubles and oxydative stress management. Micronutrients such as vitamin, phycoyanin and magnesuim have imunostimulating properties which could enhance or stabilize CD4 count.

Spirulina supplementation has therefore positive impact on nutritional recovery (weight gain), gain or stabilization of CD4 cell count and contritbue to HIV infected person well-being.

**Key words:** Spirulina, VIH, nutritional recovery, CD4 cell gain, Burkina Faso.