الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جـامـعـــة عـبـد الحـمـيـد بـن بـاديـــس - مـسـتـغـــانـم

UNIVERSITE ABD ELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE DE DOCTORAT 3ème Cycle (Doctorat LMD)

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Sciences Alimentaires

Présentée par : AMIER Leila épouse Nasri

Thème

Impact de la flore bactérienne lactique du blé fermenté Hamoum sur les propriétés métaboliques, le diabète de type 2 et l'obésité dans un modèle animal.

Soutenue le 21 / 10 / 2026

Devant le Jury

Président : CHADLI Rabah	Professeur	Université de Mostaganem
Examinatrice : BELKAALOUL Kawthar	Professeur	Université Oran 1
Examinatrice : GRAR Hadria	MCA	Université de Mostaganem
Directeur de thèse : BENAKRICHE BenMehel	Professeur	Université de Mostaganem
Co -Directeur : BOUFERKAS Youcef	MCA	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2025-2026

REMERCIMENTS

Nous remercions en premier lieu **ALLAH** le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre reconnaissance envers nos honorables membres du jury, devant qui nous avons l'honneur de présenter notre travail,

Professeur CHADLI Rabah, Professeur à l'Université de Mostaganem, à qui nous souhaitons exprimer notre gratitude d'avoir accepté de présider notre jury.

Professeur BELKAALOUL Kawthar, Professeur à l'Université Oran1, à qui nous souhaitons exprimer notre gratitude d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Docteur GRAR Hadria, Maitre de Conférences A, à l'Université de Mostaganem, à qui nous souhaitons exprimer notre gratitude d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Professeur BENAKRICHE Ben Mehel, Professeur à l'Université de Mostaganem. Merci d'avoir accepté de diriger notre travail. Merci pour votre confiance. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté au cours de toutes ces années de recherche.

Nos profonds remerciements s'adressent à mon Co-encadreur **Docteur BOUFERKAS Youcef,** Maitre de Conférences A à l'université de Mostaganem**,** d'avoir accepté de co-diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.

Toute ma gratitude et remercîments au **Professeur BESTANI Benaouda** qui nous a apporté son aide précieuse et ses judicieux conseils.

Toute ma gratitude à **Mr GERARD Philippe,** Directeur de recherche à INRAE Paris pour son aide et sa collaboration.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire sous la direction de **Professeur ADDOU-BENOUNNANE Samia** et

Professeur KHEROUA Omar a qui nous exprimant notre gratitude pour tous les efforts fournis.

Un grand merci à **Dr TANI Kahia** ainsi que **Dr Dib** et **Dr REGUIG Khadidja** pour leurs collaborations et leurs conseils.

On remercie également les ingénieurs de LPNSA, **M^{me} BOUTIBA Nawel** et **M^{r} ZEBIRATE Miloud**, à tous les ingénieurs de l'université Oran1 pour tous les efforts fournis.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre gratitude envers tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté leur contribution à la réalisation de ce modeste travail.

DEDICACES

Louange à Dieu seul,

Ce modeste travail est dédié spécialement à la personne qui m'a donné l'envie et la volonté de poursuivre mes études.

À mon cher défunt père ***Mohamed dit Abdelkader****. Merci papa et j'espère que tu es fier de moi. Repose en paix dans les plus vastes paradis,*

À ma chère maman ***Bensalah Kheira****, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.*

À mon cher époux ***Abdelouahab*** *pour son soutien, patience et ces encouragements.*

À mes chers enfants ***Zahra et Adem*** *à qui j'espère avoir donner la volonté.*

À mon cher beau-frère ***BESTANI Benaouda*** *pour son soutien, aide précieuse et motivation.*

À mes chères sœurs ***Amina, Samira, Fatima*** *et* ***Rachida*** *et à mes chers frères* ***Foued, Zoheir , Amine*** *et mon petit frère adoré* ***Mohamed****.*

À mes chers beaux-frères et à ma belle-sœur.

À mes chers petits neveux et nièces.

À ma belle-famille.

À mes amis ***LAKHDARI Fatiha, BOUAZIZ Kawthar, LABADI Imene , DIB Soulaf****,*

À mes enseignants.

À mes collègues.

Liste des abréviations

- **Abs :** Absorbance
- **ALAT** : L'alanine Aminotransférase
- **ASAT** : L'aspartate Aminotransférase
- **BFH** : Blé fermente Hamoum
- **BL** : Bactéries Lactiques
- **BNF :** Blé Non Fermente
- **DG** : Diabète Gestationnel
- **DMSO :** Diméthylsulfoxyde
- **DPPH** : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
- **DT1** : Diabète Type 1
- **DT2** : Diabète Type 2
- **HbA1c :** Hémoglobine glyquée
- **HL** : Hyperlipidique
- **IC50** : Concentration inhibitrice médiane.
- **IR** : Insolino-Resistance
- **ISO** : Organisation internationale de normalisation
- **MRS :** De Man, Rogosa et Sharpe
- **Ms** : Matière sèche
- **NA** : Normes Algériennes
- **NADPH :** Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène
- **NF** : Normes Françaises
- **ONAB :** L'office National Des Aliments De Bétail
- **PC** : Poids Corporal
- **PMG** : Poids de mille grains
- **POD :** Peroxydase
- **SAB** : Sérum Albumine Bovine.
- **STZ** : Streptozotocine
- **TFA :** Acide Tri-Fluoro-Aacétique
- **TGO** : La glutamate-Oxaloacétate -Transaminase
- **TGP** : La glutamate-Pyruvate-Transaminase
- **UFC** : Unité formant colonies

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Analyses physico-chimique du grain de blé (Doukani *et al.*, 2013)……..4

Tableau 2. Analyses physico-chimiques du blé fermenté (Doukani *et al.*, 2013)……10

Tableau 3. Classification de l'obésité par L'IMC (OMS, 2003).....21

Tableau 4. Les différentes phases de la physiopathologie de l'obésité (Morio, 2011).....24

Tableau 5. Composition des gels Polyacrylamide Sodium Dodecyl Sulfate.……...……37

Tableau 6. Composition du tampon d'échantillon …….38

Tableau 7. Composition du tampon de migration (pour 2 litres)……...38

Tableau 8. Composition des solutions de coloration et de décoloration (pour 1 litre)……..39

Tableau 9. Composition pondérale et énergétique des régimes expérimentaux diabète……...46

Tableau 10. Composition pondérale et énergétique du régime cafétéria……...56

Tableau 11. Résultats des paramètres physicochimiques et biochimiques du BFH et BNF….63

Tableau 12. Paramètres physiques, qualitatifs et technologiques du BNF et BFH……...64

Tableau 13. Concentrations en métaux lourds des échantillons BNF et BFH par rapport aux limites réglementaires **(NF EN 13650)**…….65

Tableau 14. Résultats des tests d'identification des bactéries lactiques…….70

Tableau 15. Evaluation de la prise alimentaire, hydrique chez les differents groupes expérimentaux……..71

Tableau 16. Détermination des paramètres anthropométriques chez les différents groupes expérimentaux……...74

Tableau 17. Evaluation du poids absolu des organes des rats Wistar des différents groupes...75

Tableau 18. Evaluation du poids relatif des organes des rats Wistar des différents groupes…75

Tableau 19. Evaluation de la prise alimentaire et hydrique……...96

Tableau 20. Détermination des paramètres anthropométriques des différents groupes expérimentaux……...98

Tableau 21. Comparaison des indices de l'obésité entre les groupes expérimentaux après 28 jours de régimes……..……..99

Tableau 22. Evaluation du poids absolu des différents organes……100

Tableau 23. Evaluation du poids relatif des différents organes……..101

Tableau 24. Evaluation de l'indice d'athérogénicité (IA) chez les différents groupes (N=6)…… 108

LISTES DES FIGURES

Figure 1. Structure du grain de blé **(Surget A *et al.,* 2005)** 3

Figure 2. Photos du Matmora et du blé fermenté. 6

Figure 3. Estimation de la prévalence du diabète en fonction de l'âge chez les adultes âgés de 20 à 79 ans (FID, 2021)……13

Figure 4. Physiopathologie du diabète de type 2 (Chevalier et Fénichel, 2016)…….19

Figure 5. Prévalence de l'obésité chez l'adulte (FIO, 2022)……...……22

Figure 6. Photos du (a) blé tendre fermenté (BFH) et du (b) blé tendre non fermenté (BNF) (Prises par **Amier *et al.,* 2020**)…… ……..25

Figure 7. Photos d'une Matmora (prises par **Amier *et al.,* 2020**)……..……25

Figure 8. Localisation géographique du lieu d'échantillonnage (Mazouna, Algérie) (36° 07′ 32″ Nord, 0° 52′ 35″ Est) **(**Google Maps)…….……...26

Figure 9. Schéma du Protocole d'extraction des différentes protéines du blé…….35

Figure 10. Structure chimique de la Streptozotocine **(Weiss ,1982)**……44

Figure 11. Protocole expérimental du diabète Le protocole expérimental du diabète……..45

Figure 12. Protocole expérimental de l'obésité……57

Figure 13. Profil électrophorétique sur gel de polyacrylamide à 15% en présence de SDS des albumines/ globulines……...…….……..65

Figure 14. Profil électrophorétique sur gel de polyacrylamide à 10% en présence de SDS des gliadines……...66

Figure 15. Profil Chromatographique des gliadines natives (kit de référence-Sigma) par RP-HPLC…….…..67

Figure 16. Profil Chromatographique du BFH et BNF par RP-HPLC…….……68

Figure 17. Activité anti-oxydante du radical DPPH du BNF et BFH……..…68

Figure 18. Activité anti-inflammatoire du BFH et BNF…….…69

Figure 19. Evaluation du poids corporel des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……72

Figure 20. Évolution du gain pondéral moyen exprimé en grammes (g) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..73

Figure 21. Dosage de la glycémie à jeun (g/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……77

Figure 22. Dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) (%) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……78

Figure 23. Dosage de l'insulinémie (mU/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……79

Figure 24. Indice de Homa-IR chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..…….80

Figure 25: Indice Homa-β chez les ratsWistar des différents groupes experimentaux (N=6)……...……..……..……81

Figure 26. Dosage de l'urée (g/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……..82

Figure 27. Dosage de créatinine (g/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……83

Figure 28. Dosage du cholestérol total (mmol/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……84

Figure 29. Dosage des Triglycérides (mmol/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……85

Figure 30. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (UI/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……86

Figure 31. Dosage de l'Alanine Aminotransférase (ALAT) (UI/l) chez les rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6)……..……..……87

Figure 32. Dénombrement de la flore bactérienne totale sur milieu GN (A) et des bactéries lactiques sur milieu MRS (B) du contenu buccal, intestinal et fécal chez les différents groupes expérimentaux……88

Figure 33. Composition relative des principaux phylums bactériens dans les différents groupes……..……..…89

Figure 34. Composition relative des principales familles bactériennes dans les différents groupes…….……90

Figure 35. Comparaison de la diversité alpha du microbiote intestinal des rats de différents groupes……91

Figure 36. Observations au microscope optique de coupes histologiques du pancréas de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……92

Figure 37. Observations au microscope optique de coupes histologiques du foie de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×100)……93

Figure 38. Observations au microscope optique de coupes histologiques du tissu adipeux de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……....94

Figure 39. Observations au microscope optique de coupes histologiques du rein de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……95

Figure 40. Evolution du poids corporel des rats Wistar des différents groupes expérimentaux……...97

Figure 41. Evolution du gain de poids corporel (g) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux…….……97

Figure 42. Dosage de la glycémie chez 4 groupes expérimentaux (g/l)…….102

Figure 43. Dosage de CRP (µg/ml) chez 4 groupes expérimentaux)…….……103

Figure 44. Dosage de l'urée (g/l) chez les quatre groupes expérimentaux……104

Figure 45. Dosage de la créatinine (g/l) chez les quatre groupes expérimentaux…….…..105

Figure 46. Dosage du Cholestérol total (mmol/l) chez les quatre groupes expérimentaux...106

Figure 47. Dosage des HDL-C (mmol/l) chez les quatre 4 groupes expérimentaux…….107

Figure 48. Dosage des LDL-C (mmol/l) chez les quatre 4 groupes expérimentaux……..107

Figure 49. Dosage des triglycérides (mmol/l) chez les quatre 4 groupes expérimentaux…..109

Figure 50. Dosage du taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (UI/l) chez les quatre groupes expérimentaux…….…..110

Figure 51. Dosage de l'ALAT (UI/l) chez les quatre groupes expérimentaux (UI/l)……110

Figure 52. Dénombrement de la flore bactérienne totale sur milieu GN (A) et des bactéries lactiques sur milieu MRS (B) du contenu buccal, intestinal et fécal chez les différents groupes expérimentaux……112

Figure 53. Composition relative des principaux phylums bactériens dans les différents groupes……113

Figure 54. Composition relative des principales familles bactériennes dans les différents groupes……114

Figure 55. Comparaison de la diversité alpha du microbiote intestinal des rats de différents groupes……115

Figure 56. Observations au microscope optique de coupes histologiques du foie de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……116

Figure 57. Observations au microscope optique de coupes histologiques du tissu adipeux de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……117

Figure 58. Observations au microscope optique de coupes histologiques des reins de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400)……..……118

Sommaire

Introduction 1

Rappel bibliographique

1. Généralités sur le blé 3
   1.1. Taxonomie 3
   1.2. Composition physico-chimique et biochimique du grain de blé 3
      a. Les glucides (60 et 80%) 4
      b. Les protéines 4
      c. Les lipides 5
      d. Autres composants 5
      e. Enzymes 5
      f. Polyphénols 5
   1.3. Le blé tendre *(Triticum æstivum*) 6
   1.4. Stockage du blé en Matmora 6
2. La fermentation 7
   2.1. Microorganismes intervenant et classification des aliments fermentés 7
   2.2. Fermentation des céréales 8
   2.3. Les bactéries lactiques (BL) 8
      2.3.1. Caractéristiques principales des bactéries lactiques 9
      2.3.2. Classification des bactéries lactiques 10
3. Le blé fermenté (BFH) 10
   3.1. Modifications visuelles et olfactives 11
      3.1.1. La décoloration 11
      3.1.2. L'odeur 11
      3.1.3. Le goût 11
   3.2. Les bienfaits de blé fermenté (BFH) 11
4. Microbiote intestinal 12

1. Le diabète 13
   1.1. Définition 13
   1.2. Epidémiologie 13
   1.3. Classification 14
      1.3.1. Diabète de type 1 (DT1) 14
         1.3.1.1. Définition 14
         1.3.1.2. Les facteurs de risque de DT1 cas des antécédents familiaux 14

1.3.1.3. Les symptômes du DT1 14
1.3.2. Diabète de type 2 (DT2) 14
1.3.2.1. Définition 14
1.3.2.2. Les facteurs de risque de DT2 15
1.3.2.3. Les symptômes de DT2 15
1.3.3. Diabète gestationnel (DG) 15
1.3.4. Autres types de diabète 15
1.3.4.1. Diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) 16
1.3.4.2. Diabète LADA (Latent Auto-immune Diabetes in Adults) 16
1.3.5. Les complications du diabète 16
1.3.5.1. Hyperglycémie diabétique 16
1.3.5.2. Hypoglycémie diabétique 17
1.3.5.3. Acidocétose diabétique 17
1.3.6. Diagnostic 17
2. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) 17
3. Physiopathologie du diabète type 2 18
4. Relation entre le diabète avec le BFH 19

1. L'obésité 21
1.1. Définition 21
1.2. Prévalence de l'obésité 21
1.2.1. En Europe 21
1.2.2. En Amérique 21
1.2.3. En Afrique 22
1.2.4. En Algérie 22
1.3. Pathologie du surpoids, de l'obésité et facteurs associés 23
1.3.1. Facteurs périnataux 23
1.3.1.1. Poids durant la grossesse 23
1.3.1.2. Diabète maternel 23
1.3.2. Les pathologies liées à l'obésité 24
1.4. Physiopathologie de l'obésité 24

Matériels et méthodes

Partie 1 : Caractéristiques du blé fermenté (BFH) et non fermenté (BNF)

1. Préparation du matériel végétal 25
1.1. Matériel végétal 25

1.2. Analyses nutritionnelles, physicochimiques et biochimiques....26
1.2.1. Détermination du pourcentage d'eau....26
1.2.2. Taux de cendres....27
1.2.3. Détermination de la teneur en protéines....27
1.2.4. Dosage des lipides totaux....28
1.2.5. Détermination du pourcentage de fibres totales, solubles et insolubles....28
1.2.6. Détermination de l'acidité grasse....29
1.2.7. Détermination du pH....29
1.2.8. Détermination la masse de mille grains....30
1.2.9. Détermination de la masse à l'hectolitre ou le poids spécifique....30
1.2.10. Détermination de taux de mitadinage....31
1.2.11. Dosage du gluten humide....31
1.2.12. Indice de Chute (Hagberg-Perten)....31
1.2.13. Dosage des métaux lourds....32
1.3. La mise en évidence de l'activité antioxydante du blé fermenté....33
1.3.1. Détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH....33
1.3.2. Détermination de l'IC50....33
1.4. Détermination de l'activité anti-inflammatoire....34
1.5. Caractérisation des différentes fractions protéiques du BFH....34
1.5.1.Extraction séquentielle des fractions albumines/globulines et gliadines....34
1.5.1.1. Extraction des albumines/globulines....35
1.5.1.2. Extraction des gliadines....35
1.6. Séparation des extraits de blé par SDS-PAGE....35
1.6.1. Principe....35
1.6.2. Préparation du gel....36
1.7. Chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC)....39
1.8. Etude bacteriologique....39
1.8.1. Cultures bactériennes....39
1.8.2. Observation macroscopique et microscopique....40
1.8.3. Test à la catalase....40
1.8.4. Croissance à différentes températures....40
1.8.5. test de croissance à différents pH....41
1.8.6. Test de croissance à différentes concentrations de NaCl....41
1.8.7. Type fermentaire....41
1.8.8. test Mannitol-Mobilité....42

1.8.9. Test de citrate de Simmons 42
1.8.10. Galeries API 20E 42

Partie 2 : Evaluation de l'effet d'un régime à base de blé fermenté (BFH) chez le rat diabète.

1. Animaux 43
2. Induction du Diabète 43
3. Streptozotocine (STZ) 43
   3.1. Rôle de Streptozotocine 44
4. Prélèvements du sang et des organes 47
5. Détermination des paramètres anthropométriques 47
6. Analyses biochimiques 47
   6.1. Dosage de la glycémie 47
   6.2. Détermination des indices HOMA-IR et HOMA-β 47
   6.3. Détermination du taux d'hémoglobine glyquée 48
   6.4. Dosage de l'insulinémie 48
   6.5. Dosage des transaminases 48
      6.5.1.Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) 48
         6.5.2.Dosage de l'alanine Aminotransférase (ALAT) 49
   6.6. Dosage de la créatinine 49
   6.7. Dosage de l'urée 49
   6.8. Profil lipidique 50
      6.8.1. Dosage des triglycérides sériques 50
      6.8.2. Dosage de Cholestérol total 50
7. Analyse bactériologique 51
   7.1. Dénombrement bactérien à partir de la bouche, intestin et fèces 51
   7.2. Caractéristiques macroscopiques 51
8. Analyse métagénomique 51
9. Etude histologique 53
   9.1. Fixation 53
   9.2. Déshydratation et la clarification 53
   9.3. Inclusion et enrobage 53
   9.4. Coupes et coloration des échantillons 53
   9.5. Observations microscopiques 53
10. Etude statistique 54

Partie 3 : Evaluation de l'effet d'un régime à base de blé fermenté (BFH) chez le rat rendu obèse.

1. Animaux 55
2. Induction de l'obésité 55
3. Répartition des animaux et régimes expérimentaux 56
4. Prélèvements du sang et des organes 57
5. Détermination des paramètres anthropométriques 58
6. Analyses biochimiques 58
   - 6.1. Dosage de la glycémie 58
   - 6.2. Dosage de C-reactive protein (CRP) 58
   - 6.3. Dosage des transaminases 58
     - 6.3.1. Dosage l'aspartate aminotransférase (ASAT) 58
     - 6.3.2. Dosage l'alanine aminotransférase (ALAT) 59
   - 6.4. Dosage de la créatinine 59
   - 6.5. Dosage de l'urée 59
   - 6.6. Profil lipidique 60
     - 6.6.1. Dosage des triglycérides sériques 60
     - 6.6.2. Dosage de Cholestérol total 60
     - 6.6.3. Dosage de C-HDL 61
     - 6.6.4. Détermination du C-LDL 61
     - 6.6.5. Indice d'athérogénicité 61
7. Analyse bactériologique 61
   - 7.1. Dénombrement bactérien à partir de la bouche, intestins et fèces 61
     - 7.1.1. Caractéristique macroscopique 61
8. Analyse métagénomique 62
9. Analyse histologique 62
10. Etude statistique 62

Résultats

Partie 1 : Caractéristiques du blé fermenté (BFH) et non fermenté (BNF)

1. Evaluation qualitative du blé fermenté 63
   - 1.1. Analyses physico-chimiques et biochimiques 63
   - 1.2. Paramètres physiques, qualitatifs et technologiques 64
   - 1.3. Détermination des métaux lourds 64
   - 1.4. Analyses électrophorétiques des protéines du BNF et BFH 65
   - 1.5. Analyses chromatographiques des protéines du BFH par RP-HPLC 66

2. Evaluation des activités biologiques *in vitro* du BFH 68
2.1. Détermination de l'activité antioxydante 68
2.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire du BFH 69
3. Etude bacteriologique 69

Partie 2 : Evaluation de l'effet d'un régime à base de blé fermenté (BFH) chez le rat diabète.

1. Impact de la consommation d'un régime expérimental à base de blé fermenté sur la prise alimentaire et hydrique journalière 71
2. Paramètres anthropométriques 72
2.1.Evaluation de la croissance pondérale 72
2.2. Gain de poids 72
2.3. Détermination des paramètres anthropométriques 73
3. Evaluation du poids absolu et relatif des organes 74
3.1. Poids absolu des organes 74
3.2. Poids relatif des organes 75
4. Analyses des paramétres hémato-biochimiques 76
4.1. Dosage de la glycémie 76
4.2. Détermination du taux d'hémoglobine glyquée 77
4.3. Dosage de l'insulinémie 78
4.4. Détermination de l'indices HOMA-IR 79
4.5. Détermination de l'indices HOMA-β 80
4.6. Dosage de l'urée 81
4.7. Dosage de la créatinine 82

5. Evaluation du bilan lipidique sérique 83
5.1. Dosage de Cholestérol total 83
5.2. Dosage des triglycérides sériques 84
6. Dosage de la fonction hépatique 85
6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) 85
6.2. Dosage de l'alanine Aminotransférase (ALAT) 86
7. Analyse bactériologique 87
7.1. au niveau buccal 87
7.2. au niveau jéjunal 87
7.3. au niveau fécal 88
8. Analyse métagénomique 89

8.1. au niveau du phylum 89
8.2. au niveau de famille 90
8.3. la diversité alpha du microbiote 91
9. Etude histologique....92
9.1. effet du BFH sur l'architecture du pancréas 92
9.2. effet du BFH sur l'architecture hépatique 93
9.3. effet du BFH sur l'architecture du tissu adipeux....93
9.4. effet du BFH sur l'architecture des treins....94

Partie 3 : Evaluation de l'effet d'un régime à base de blé fermenté (BFH) chez le rat rendu obèse.

1. Evaluation de la prise alimentaire et hydrique journalière 96
2. Paramètres anthropométriques....96
2.1.Evaluation de la croissance pondérale....96
2.2. Gain de poids des animaux 97
2.3. Détermination des paramètres anthropométriques 98
2.4. Evaluation de l'efficacité du régime caféteria 98
3. Evaluation du poids absolu et relatif des organes 99
3.1. Poids absolu des organes 99
3.2. Poids relatif des organes 100
4. Analyses des paramétres biochimiques sanguins....101
4.1. Dosage de la glycémie....101
4.2. Dosage de C-reactive protein (CRP)....102
4.3. Dosage de l'urée 103
4.4. Dosage de la créatinine....104
5. Evaluation du bilan lipidique sérique....105
5.1. Dosage de Cholestérol total....105
5.2. Dosage des lipoprotéines (HDL et LDL) 106
5.3. Indice d'athérogénicité……..108
5.4. Dosage des triglycérides sériques 108
6. Dosage de la fonction hépatique 108
6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)....108
6.2. Dosage de l'alanine Aminotransférase (ALAT)....110

7. Analyse bactériologique 111
7.1. au niveau buccal 111
7.2. au niveau jéjunal 111
7.3. au niveau fécal 111
8. Analyse métagénomique 113
8.1. au niveau du phylum 113
8.2. au niveau de famille 114
8.3. la diversité alpha du microbiote 115
9. Etude histologique 116
9.1. effet du BFH sur l'architecture hépatique 116
9.2. effet du BFH sur l'architecture du tissu adipeux 116
9.3. effet du BFH sur l'architecture des reins 117
Discussion 119
Conclusion et perspectives
Références bibliographiques
Annexes
Article

Introduction

La nutrition constitue un déterminant majeur de l'état de santé des populations, contribuant à la survenue ou à la prévention de diverses pathologies. En outre, elle représente aussi un facteur de protection naturelle vis-à-vis des grandes carences alimentaires qui persistent dans de très nombreux pays en développement, mais aussi vis-à-vis de nombreux désordres métaboliques complexes tels que les maladies chroniques, comme le diabète, l'ostéoporose et l'obésité. En effet, l'apparition de ces pathologies est liée principalement à l'environnement et au mode de vie : tabagisme, alcoolisme et sédentarité **(Boirie Y, 2009)**.

A l'échelle mondiale, le diabète est l'une des maladies non transmissibles les plus courantes. Avec sa fréquence croissante, ses symptômes brutaux, sa mortalité et son coût économique en font un véritable problème de santé publique (**Sharma M *et al.*, 2016 ; Zghebi SS *et al.*, 2017).** Les données et les prévisions épidémiologiques de la maladie montrent une augmentation préoccupante. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le nombre de personnes diabétiques est passé de 170 millions de personnes en 2000 à 366 millions en 2030 **(Alioune C, 2014)**. La prévalence mondiale a ainsi connu une augmentation remarquable, passant de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014 **(Zghebi SS *et al.*, 2017)**. En 1990 l'OMS et IDF prévoyaient 240 millions de diabétiques en 2025 par contre en 2024, ils ont dénombré déjà 589 millions et prévoient 853millions **(IDF., 2025).**

Le diabète continue de progresser en Algérie et atteint aujourd'hui des niveaux préoccupants .En 2025 La prévalence du diabète en Algérie est estimée à 17.5% chez les adultes de 19-79 ans, soit 4.8 millions de personnes touchées, d'où 31,7 % l'ignorent encore **(IDF., 2025).**L'obésité demeure l'un des principaux facteurs aggravants.74,1% des diabétiques en Algérie sont en surpoids ou obéses **(IDF., 2025)**.

En raison de l'accélération rapide de son incidence, l'obésité engendrée par un déséquilibre énergétique est considérée comme une épidémie par l'OMS, qui estime que plus de 650 millions d'adultes, soit environ 13% de la population mondiale sont obèses **(Wiley J, 2023)**. Selon les données de l'OMS mises à jour en février 2024, la prévalence de l'obésité chez les adultes algériens est estimée à 27,4% et celle des enfants et adolescents âgés de 5 à 19 ans est de 5,6%.

Ces situations épidémiologiques soulignent l'urgence de développer des stratégies préventives et thérapeutiques innovantes, notamment dans le domaine nutritionnel.

Dans ce contexte, une nouvelle médecine a vu le jour, c'est la médecine intégrative. C'est une approche qui combine les pratiques médicales conventionnelles avec des thérapies

alternatives et complémentaires pour traiter les causes des problèmes de santé, en tenant compte de tous les aspects de la personne, y compris l'alimentation, le physique, l'émotionnel, le mental, le social et le spirituel **(Koithan MJ et Kreitzer M, 2019)**.

Les aliments fermentés sont de plus en plus reconnus comme étant bénéfiques pour la santé humaine, en raison de multitude de recherches scientifiques, qui ont démontré leurs bienfaits sur l'organisme. Ils sont également considérés comme des « aliments fonctionnels.

Ces derniers sont obtenus par fermentation microbienne. Ils existent depuis des millénaires et étaient très appréciés pour leur longue durée de conservation et leurs vertus thérapeutiques.

Il convient de mentionner que les céréales fermentées tels que le blé fermenté (BFH) naturellement de type Hamoum, pourrait présenter des bénéfices préventifs et thérapeutiques potentiels dans le cadre de certaines pathologies métaboliques. Cette approche est fondée principalement sur la richesse de ce dernier en probiotiques **(Benakriche B.M *et al*., 2015)**.

L'objectif de notre étude est de valoriser un produit de terroir Algérien, le blé fermenté traditionnellement type Hamoum (BFH) obtenu après une fermentation naturelle dans un grenier souterrain « Matmora » et d'évaluer son potentiel thérapeutique sur quelques pathologies métaboliques (Diabète type 2 et Obésité), ainsi que sur le microbiote intestinal chez un modèle expérimental (rat Wistar).

Synthèse Bibliographique

1. Généralités sur le blé

1.1. Taxonomie

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des *Gramineæ*. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscent, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments **(Feuillet P, 2000)**. Le blé est caractérisé par des critères morphologiques particuliers (chaume - épillet - présence de scutellum…). Il est composé de deux espèces : le blé dur ***Triticum durum***, un tétraploïde au génome de type AABB, composé de 28 chromosomes (2n=4x=28), et le blé tendre ***Triticum æstivum***, un héxaploide au génome de type AABB DD, composé de 42 chromosomes (2n=6x=42) **(Belaid D, 1996 ; Feillet P, 2000).** Les climats méditerranéens favorisent la culture du blé dur, qui est la céréale la plus cultivée en Algérie **(Boudreau A et Menard J, 1992 ; Fredot F, 2005)**.

1.2. Composition physico-chimique et biochimique du grain de blé

Le grain de blé a une forme ovale, avec une couleur variant du roux au blanc et un poids de 30 à 50 mg. Sa longueur varie de 1 à 9 mm, et une largeur de 2 à 3 mm et une épaisseur 4 à 5 mm. On distingue plusieurs types de blés dont l'utilisation commerciale est différente, cela est dû à l'aspect des graines (vitreux ou translucide), et du degré de dureté à la mouture. Le grain de blé comprend trois parties essentielles (Figure 1).

- Les enveloppes : représentent environ 13 à 16 % de la masse totale du grain, y compris l'assise protéique.
- L'amande farineuse qui représente 82 à 84 %.
- Le germe qui représente 2 à 3 %.

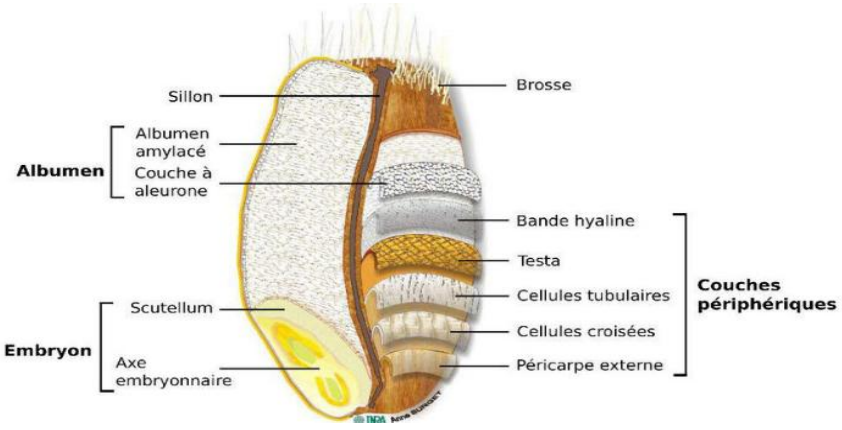


Figure 1: Structure du grain de blé (Surget A *et al.*, 2005).

Les grains de blé sont reconnus comme des sources fondamentales de glucides, de protéines, de vitamines, de minéraux et de fibres alimentaires. En revanche, leurs teneurs en eau et en lipides est relativement faible **(Blandino A *et al.*, 2003)**.

Les principaux constituants du grain de blé et leurs pourcentages approximatifs sont représentés dans le tableau 1. Les valeurs indiquées peuvent varier en fonction de plusieurs éléments, tels que la variété de blé, les conditions de culture et les méthodes de traitement.

Tableau 1: Analyses physico-chimique du grain de blé (Doukani K *et al.*, 2013).

Paramètres testés	Valeur
pH	6,5
Acidité (mEq/kg)	0,01
Humidité (%)	10,73
Cendres (%)	0,6
Lipides (%)	1,09
Sucres totaux (%)	71,12
Sucres réducteurs (mg)	1,11
Fibres (%)	2,52
Protéines (%)	17,17
Polyphénol (mg)	1,30

a. Les glucides (60 et 80%)

L'amidon est le glucide prédominant dans l'albumen, tandis que le germe contient divers sucres tels que les oses, dioses et trioses. Les enveloppes renferment principalement de la cellulose, de l'hémicellulose, des pentosanes et de la lignine **(Dunford N.T, 2012)**.

b. Les protéines

Le blé est reconnu comme une source essentielle de protéines pour l'alimentation humaine **(Battais F *et al.*, 2007)**. Les protéines de réserve représentent de 80 à 95% des protéines du blé et s'assemblent pour former le gluten, tandis que le reste est composé d'autres types de protéines (**Roudaut H et Lefrancq E, 2005**).

- **Les protéines métaboliques**

Les albumines et les globulines (15 et 20%), se dissolvent dans l'eau et dans les solutions salines, elles contribuent à la formation du grain et à l'accumulation des réserves dans l'albumen **(Vensel W.H *et al.*, 2005)**.

- **Les protéines de réserves**

Elles appartiennent aux prolamines et se composent d'un mélange complexe de protéines. Elles incluent d'une part les protéines monomériques, appelées gliadines, solubles dans une solution éthanolique, et d'autre part les protéines polymériques, connues sous le nom de gluténines, qui sont partiellement solubles dans des solutions acides diluées en présence de certains agents réducteurs **(Osborne T.B, 1924).**

c. Les lipides

La concentration des lipides dans le grain est faible et inégale (8 à 11%) se trouvant principalement dans le germe. Les graisses dominantes du blé sont constituées d'acides gras insaturés, de glycérides simples, de glycolipides et de phospholipides **(Feillet P, 2000)**.

d. Autres composants

- **L'eau :** le grain de blé présente une teneur en eau comprise entre 13 à 15%. Cette humidité favorise l'activité enzymatique et constitue un milieu propice au développement microbien **(Feillet P, 2000)**.
- **Les vitamines et les minéraux** : le blé constitue une source significative de vitamines du groupe B, à l'exception de la vitamine B12. Le germe concentre notamment la vitamine E, tandis que les vitamines A et D sont absentes. Les éléments minéraux, présents à des concentrations inférieures à 1%, incluent le fer, le magnésium, le manganèse, le cuivre et le zinc, localisés principalement dans les enveloppes externes et le germe **(Manay N et Shadaksharaswamy M, 2001)**.

e. Les enzymes: ces biocatalyseurs interviennent dans de nombreuses réactions chimiques. Leurs activités catalytiques dépendent de paramètres environnementaux tels que la température, le pH et l'activité de l'eau **(Feillet P, 2000).**

f. Les polyphénols: ces métabolites secondaires végétaux jouent un rôle de défense contre les agressions biotiques **(Tsao R, 2010)**. Leur structure chimique commune repose sur un cycle benzénique portant au moins un groupement hydroxyle (-OH). Cette famille comprend principalement les phénols simples, les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, ainsi que les lignines et les lignanes **(Martin S et Andrantsitohaina R, 2002)**.

1.3. Le blé tendre *(Triticum æstivum*)

Il se distingue par sa texture douce et la finesse de sa farine, ce qui en fait un choix privilégié pour les produits de boulangerie raffinés. Cette variété est souvent utilisée dans la fabrication de produits de haute gamme, tels que les gâteaux et autres délices. Sa farine, qui présente une teneur en protéines relativement faible contenant environ 8 à 10% de gluten, ayant de bonnes aptitudes pour la panification, favorise une texture moelleuse et une miette légère dans les produits finis. Grâce à ses propriétés distinctives, le blé tendre est particulièrement prisé par les artisans boulangers et pâtissiers, qui apprécient sa capacité à créer des produits de qualité supérieure, tant sur le plan visuel que gustatif **(Ait Kaki S, 2007)**.

Depuis des millénaires, le blé constitue l'aliment fondamental des civilisations anciennes **(Sleper D.A et Poehlman J.M, 2006)**. D'après l'Organisation Mondiale de l'Agriculture et de l'Alimentation (FAO), il s'agit de l'espèce la plus cultivée à l'échelle mondiale, nourrissant près de 40% de la population mondiale **(FAO, 2013)**.

1.4. Stockage du blé en Matmora

Face aux famines, nos ancêtres ont développé diverses méthodes de stockage traditionnelles, dont le stockage souterrain, qui est une technique ancestrale utilisée pour créer des réserves domestiques, sociales et commerciales **(Bartali E *et al.*, 1989)**.

La Matmora représente un mode de stockage traditionnel qui est couramment utilisé dans plusieurs pays d'Afrique, notamment l'Algérie et le Maroc, ainsi qu'en Asie et au Proche-Orient. Le grain est conservé en vrac, et son remplissage s'effectue par gravité depuis l'entrée, tout en assurant une étanchéité efficace et une isolation thermique satisfaisante (Figure 2) **(Bartali E *et al.*, 1989 ; Bartali F, 1995)**.



Figure 2: Photos du Matmora et du blé fermenté (Mokhtari S *et al.*, 2016).

Les systèmes de stockage utilisés nécessitent un contrôle minutieux de divers paramètres, en particulier la température et l'humidité **(Nique H, 2006)**. Ce mode de stockage présente plusieurs avantages :

- Le blé est conservé à une température stable d'environ 20°C.
- Il est conservé dans une atmosphère confinée (anaérobiose).
- Les conditions environnementales sont contrôlées, ce qui réduit les risques liés aux parasites **(Bartali E *et al.*, 1989)**.

En Algérie, cette méthode de stockage est largement reconnue par la population rurale et elle est mise en œuvre à petite échelle dans certaines exploitations familiales. Dans certaines conditions, ce mode de stockage peut être responsable de la fermentation des grains en contact avec les parois de la fosse. Les principaux facteurs impliqués dans cette fermentation sont :

- La composition biochimique des grains.
- Les conditions climatiques.
- La nature des matériaux utilisés pour la fabrication de la Matmora **(Cruz P *et al.*, 2002)**.
- L'humidité et la température, lorsqu'elles atteignent des niveaux élevés, jouent un rôle crucial dans le développement de certaines bactéries présentes dans les céréales. L'échange thermique entre le stock et l'environnement extérieur se réalise à travers les parois et les ouvertures **(Bartali E *et al.*, 1989)**.

2. La fermentation

La production d'aliments fermentés est l'une des techniques de transformation alimentaire les plus anciennes que l'humanité ait connues **(Caplice E et Fitzgerald G.F, 1999)**. Les aliments fermentés sont ceux qui ont été colonisés par des microorganismes, dont les enzymes hydrolysent les polysaccharides, les protéines et les lipides en produits non toxiques, offrant ainsi des saveurs, des arômes et des textures agréables pour les consommateurs **(Steinkraus K.H, 1997)**. Leur importance a considérablement augmenté ces dernières années, en raison de leurs caractères distinctifs et de leurs qualités organoleptiques indiscutables **(Bonnarme P, 2011)**.

2.1. Microorganismes intervenant et classification des aliments fermentés

Plusieurs types de microorganismes, tels que les bactéries, les moisissures et les levures, peuvent jouer un rôle dans le processus de fermentation des aliments. Les genres

les plus fréquemment observés sont respectivement : ***Streptococcus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Lactobacillus, Propionibacterium, Bacillus, Micrococcus, Acétobacter, Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Fusarium, Cladosporium, Saccharomyces et Candida*** **(Steinkraus K.H, 1997; Caplice E et Fitzgerald G.F, 1999)**. Deux types de fermentation peuvent affecter les aliments :

- La fermentation spontanée qui est le résultat de l'activité des microorganismes naturellement présents dans la matière première.
- La fermentation contrôlée qui est le résultat de l'utilisation de microorganismes spécifiquement choisis, appelés cultures starters **(Blandino A *et al.*, 2003 ; Yao A.A *et al.*, 2009 ; Tamang J.P et Kailasapathy K, 2010)**.

2.2. Fermentation des céréales

Au cours des dernières décennies, les céréales ont fait l'objet de plusieurs recherches approfondies, notamment en ce qui concerne leurs applications potentielles dans le développement d'aliments fonctionnels. Elles représentent plus de 60% de la production alimentaire mondiale, fournissant des fibres alimentaires, des protéines, des minéraux et des vitamines essentielles à la santé humaine **(Ozdemir S, 2007)**. La fermentation des céréales s'effectue généralement après leur hydratation **(FAO/WHO, 2004)**, et est de type lactique **(Yao A.A *et al.*, 2009 ; Tamang J.P et Kailasapathy K, 2010)**.

La contamination des aliments par des champignons entraîne des modifications organoleptiques (telles que l'aspect, le goût et l'odeur), ainsi que des changements biochimiques. De nombreuses espèces de moisissures, en particulier celles du genre *Aspergillus*, sont présentes dans l'air, le sol et sur les cultures, et sont capables de produire et de libérer des mycotoxines **(Bhanja S.N *et al.*, 2009)**.

2.3. Les bactéries lactiques (BL)

Il s'agit des cellules vivantes, de type procaryote, qui sont hétérotrophes ou chimio-organotrophes **(Axelsson L, 2004)**. Ce terme désigne le fait que l'acide lactique constitue le produit final de la fermentation des glucides par ces bactéries **(Björkroth J et Koort J, 2016)**.

2.3.1. Caractéristiques principales des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BL) sont des microorganismes omniprésents, que l'on peut retrouver dans divers types d'habitats. Elles sont classées comme des bactéries à Gram-positif, et présentent une teneur en guanine (G) et cytosine (C) inférieure à 53%, les plaçant ainsi dans la catégorie des bactéries à faible pourcentage de GC **(Gonzalez C.J *et al.,* 2000)**. Ces bactéries peuvent se présenter sous forme de bâtonnets ou de coques, immobiles et ne forment pas de spores. Leur métabolisme peut être aérobie ou anaérobie, et qui ne produisent pas de catalase. Elles ne possèdent pas de nitrate réductase ni de cytochrome oxydase, sauf pour certaines souches dans des conditions spécifiques. De plus, elles sont protéolytiques et ne génèrent ni indole ni hydrogène sulfureux, et elles ne fermentent pas le glycérol **(Dellaglio H *et al.,* 1994 ; Salminen K.M *et al.,* 2004 ; Zhang H et Cai Y, 2014)**.

Les bactéries lactiques (BL) fermentent les sucres en acide lactique. Certaines d'entre elles sont qualifiées d'homo-fermentaires, car elles génèrent principalement de l'acide lactique, tandis que d'autres, appelées hétéro-fermentaires, produisent simultanément d'autres substances, telles que l'acétate et l'éthanol, en plus de l'acide lactique **(Drouault S et Corthier G, 2001)**. Pour leur développement, ces bactéries nécessitent des sources de carbone organique. De nombreuses BL présentent des besoins nutritionnels complexes, incluant des acides aminés, des peptides, des vitamines et des acides gras **(Prescott M *et al.,* 1999)**. Elles peuvent croître à des températures allant de moins de 5°C à plus de 45°C, avec un pH optimal de croissance situé entre 4 et 4,5, bien que leur prolifération soit possible dans une plage de pH allant de 3,2 à 9,6 **(Caplice E et Fitzgerald G.F, 1999)**.

Même si elles ne sont pas pathogènes, leur "identité bactérienne" encourage le système immunitaire en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes, les premiers moyens de défense contre toute infection extérieure **(Gourbeyre P *et al.*, 2011)**. Elles contribuent donc à l'amélioration du système immunitaire chez le bébé et chez les individus ayant une immunodéficience **(Cross M.L *et al.*, 2001)**.

Les bactéries lactiques du blé fermenté type Hamoum jouent un rôle dans la restructuration de la muqueuse intestinale et la sensibilisation des lymphocytes intra-épithéliaux chez le jeune rat malnutris (**Yssaad D *et al.,* 2019**). Plusieurs travaux ont également étudié le rôle préventif des probiotiques contre différents types de cancer, en produisant des enzymes et des antioxydants **(Commane D.M *et al*., 2005)**.

Pendant la fermentation, l'action des bactéries lactiques a été principalement liée à la création de l'arôme et de la texture du produit final, ainsi qu'au maintien d'une sécurité alimentaire optimale grâce aux acides organiques produits **(Yao A.A *et al*., 2009)**.

2.3.2. Classification des bactéries lactiques

Elles englobent une diversité considérable, tels que *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus* et *Streptococcus* **(Stiles M.E et Holzapfel W, 1997 ; Axelsson L, 2004)**. À l'heure actuelle, les BL se composent de treize genres bactériens distincts : ***Lactobacillus, Bifidobacterium, Leuconostoc, Lactococcus, Enterococcus, Streptococcus, Pediococcus, Carnobacterium, Oenococcus, Weissella, Aerococcus, Tetragenococcus*** et ***Vagococcus*** **(Dortu C et Thonart P, 2009)**. Les genres les plus étudiés sont ***Lactobacillus, Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc*** et ***Pediococcus*** **(Drouault S et Corthier G, 2001)**.

3. Le blé fermenté (BFH)

Le BFH est issu d'un processus de fermentation naturelle se déroulant dans un grenier souterrain traditionnel appelé Matmora. Ce procédé favorise le développement d'une flore microbienne complexe, dominée par une diversité élevée de bactéries lactiques et de levures **(Benakriche B.M *et al.*, 2023)**. Le BFH est particulièrement riche en flore endogène potentiellement bénéfique pour la santé digestive (Tableau 2) **(Yssaad D *et al.*, 2019)**.

Tableau 2: Analyses physico-chimiques du blé fermenté (Doukani K *et al.*, 2013).

Paramètres testés	Valeur
pH	4,45
Acidité (mEq/kg)	1,51
Humidité (%)	11,89
Cendres (%)	0,85
Lipides (%)	1,08
Sucres totaux (%)	67,87
Sucres réducteurs (mg)	1,13
Fibres (%)	1,12
Protéines (%)	10,29
Polyphénol (mg)	1,49

3.1. Modifications visuelles et olfactives

3.1.1. La décoloration

La dégradation des grains de blé peut résulter à l'action des champignons présents lors de l'étape de stockage, provoquant ainsi un noircissement du germe **(Heredia N *et al.*, 2009)**. Ces champignons peuvent également entraîner une décoloration des grains, souvent désignée sous le terme de point noir ou tâche du noyau **(Hanson E.W et Christensen J.J, 1953)**. Des espèces telles que l'*Aspergillus glaucus* et *Penicillium* peuvent causer une décoloration du grain **(Brooker D.B *et al.*, 1992)**.

3.1.2. L'odeur

La contamination fongique des grains de blé est à l'origine de l'émission d'odeurs désagréables. Des études ont montré que les grains conservés dans des conditions d'humidité élevée dégagent une odeur de moisi.

3.1.3. Le goût

Le blé fermenté développe une saveur légèrement acidulée, accompagnée de notes douces et parfois terreuses. Ces caractéristiques gustatives varient en fonction de la variété du blé utilisée, de la durée de fermentation ainsi que des conditions environnementales au cours du processus fermentaire.

3.2. Les bienfaits de blé fermenté (BFH)

Le BFH, dans son état naturel et grâce à la fermentation effectuée par sa flore bactérienne endogène, pourrait jouer un rôle essentiel dans le bon fonctionnement des mécanismes physiologiques de l'intestin, en particulier dans des contextes physiopathologiques. Il pourrait aussi être envisagé comme un adjuvant nutritionnel et diététique, dans le but de prévenir les septicémies liées à la translocation bactérienne intestinale chez les enfants malnutris **(Benakriche B.M *et al.*, 2017)**.

La supplémentation en BFH dans un régime approprié diminue de façon significative la translocation bactérienne intestinale chez le jeune rat malnutri. Elle entraine une restructuration satisfaisante de la muqueuse intestinale durant la phase de réalimentation par le BFH chez les rats malnutris **(Benakriche B.M *et al.*, 2019)**.

De plus, les effets des aliments fermentés sur la santé humaine ont été étudiés dans le cadre de plusieurs situations pathologiques et désordres métaboliques, y compris

l'obésité, le syndrome métabolique, le diabète, les maladies cardiovasculaires et l'hypertension **(Lortal S *et al.*, 2020)**.

Il est vraisemblable que le BFH renferme des post-biotiques ayant des propriétés antimicrobiennes et anti cancérigènes, ainsi que des peptides bioactifs présentant des effets antioxydants, antagonistes et anti-allergènes. Les probiotiques contribuent à la formation d'une barrière protectrice au niveau de la muqueuse intestinale, offrant une protection contre des agents pathogènes tels que la Salmonelle et *E.coli*.

La consommation d'aliments fermentés joue un rôle important dans la modulation du système immunitaire, notamment en stimulant la production d'anticorps. Ces aliments sont également impliqués dans la régulation de l'appétit et peuvent contribuer à diminuer les envies de sucre et de glucides raffinés **(Levy J, 2022)**. Par ailleurs, ils peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé digestive et métabolique, en diminuant notamment le risque de pathologies chroniques telles que le diabète de type 2 et les maladies cardiovasculaires **(Jennings MSC et Vetter C, 2024)**.

4. Microbiote intestinal

Désigne l'ensemble des microorganismes (bactéries, virus, champignons, protozoaires) colonisant le tractus gastro-intestinal, formant un écosystème taxonomiquement et fonctionnellement complexe, considéré comme un « organe externe » métabolique et immunologique. Le tube digestif abrite des trillions de microorganismes, dominés par les phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria et Proteobacteria. La colonisation débute à la naissance, influencée par le mode d'accouchement, l'allaitement, les infections, les antibiotiques et l'alimentation. Vers 2-3 ans, le microbiote devient plus stable et ressemble à celui de l'adulte, même s'il reste propre a chaque individu. Sa densité et sa composition varient selon les segments, les conditions physicochimiques ainsi que les substrats disponibles. Il a plusieurs fonctions majeures spécialement au niveau du métabolisme telles que la fermentation des fibres, la production d'AGCC, vitamines et métabolites endocrino-actifs.

1. Le diabète

1.1. Définition

Le diabète regroupe un ensemble de troubles métaboliques qui se traduisent par une hyperglycémie chronique, causée par un dysfonctionnement de sécrétion ou d'action de l'insuline, voire les deux. Cette condition peut engendrer des complications sévères touchant divers organes, notamment les yeux, les reins, les nerfs, le cœur ainsi que le système vasculaire **(Caban A *et al.*, 2006)**.

1.2. Epidémiologie

En 2021, les épidémiologistes ont estimé que 573 millions de personnes dans le monde souffrent de diabète, un chiffre en forte hausse par rapport aux 150 millions en 2000 et aux 366 millions en 2010 **(Asmelash D *et al.*, 2019)**. Les prévisions pour 2030, indiquent que ce nombre pourrait atteindre 643 millions, et 743 millions en 2045. En outre, 6,7 millions de personnes sont décédées en 2021 par cette maladie, ce qui représente une augmentation de 2,5 millions en seulement deux ans.

Aujourd'hui, le diabète est la deuxième maladie chronique la plus répandue en Algérie, après l'hypertension artérielle. D'après les données de l'OMS, 6 millions de personnes étaient atteintes de diabète en 2021, représentant 15% de la population algérienne selon la Fédération Internationale du Diabète (FID) en 2021. La dernière version de l'Atlas du diabète FID **(2025)** indique que 11,1% soit 1 personne sur 9 de la population adulte (20-79 ans) vit avec le diabète, et plus 4 sur 10 ignorent qu'elles en sont atteintes (Figure 3).

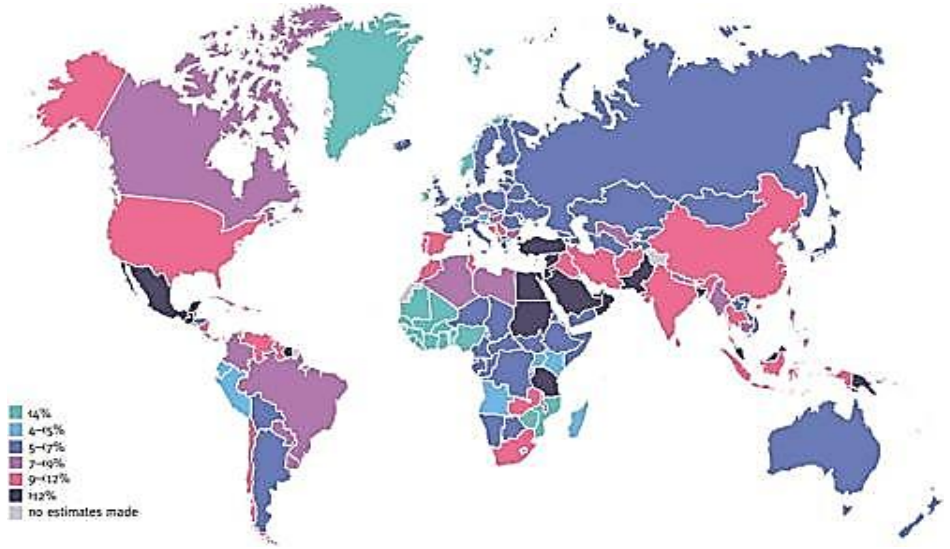


Figure 3: Estimation de la prévalence du diabète en fonction de l'âge chez les adultes âgés de 20 à 79 ans (FID, 2021).

1.3. Classification

En 1997, The American Diabetes Association (ADA) a publié une classification éthologique du diabète, remplaçant celle établie en 1979 par le National Diabetes Data Group et reconnue par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1980 **(Rodier M, 2001)**. Cette classification inclut les catégories suivantes :

1.3.1. Diabète de type 1 (DT1)

1.3.1.1. Définition

Le DT1 se manifeste dès le plus jeune âge. Il résulte d'une dégénérescence auto-immune des cellules β du pancréas, entraînant une absence totale d'insuline endogène. Cela explique la fréquence des épisodes d'hyperglycémie et d'hypoglycémie, ainsi que le besoin d'une insulinothérapie **(Dimeglio H *et al.*, 2018)**. En d'autres termes, le diabète juvénile est une maladie discrète qui touche principalement les enfants et les jeunes adultes, représentant environ 10 % des cas de diabète dans le monde **(ADA, 2010)**.

1.3.1.2. Les facteurs de risque de DT1 cas des antécédents familiaux

Avoir un parent ou un frère ou une sœur atteinte de diabète de type 1 accroît le risque de contracter cette maladie. Si les deux parents sont touchés, le risque devient encore plus significatif. Le diabète de type 1 se manifeste principalement chez les jeunes adultes et les enfants, étant l'une des maladies chroniques les plus fréquentes chez les moins de 14 ans. Il est peu courant de développer un diabète de type 1 à l'âge adulte. En outre, certains gènes peuvent prédisposer à cette maladie, augmentant ainsi le risque de son apparition **(Mc Bean B, 2019)**.

1.3.1.3. Les symptômes du DT1

On distingue, la perte de poids, la polydipsie, l'asthénie et la pollakiurie. Dans le DT1, les symptômes peuvent se manifester de manière très intense, entraînant parfois un état comateux **(Quesnel J, 2023).**

1.3.2. Diabète de type 2 (DT2)

1.3.2.1. Définition

Le diabète de type 2 (DT2), ou diabète non insulinodépendant, résulte d'une réponse inadéquate de l'organisme à l'insuline produite par le pancréas, un phénomène appelé insulino-résistance (**Romali H, 2016**). Cette résistance à l'insuline peut progressivement évoluer vers une insulinopénie, due à un dysfonctionnement des cellules β

pancréatiques, entraînant une réduction de la sécrétion d'insuline. Cette altération du métabolisme glucidique conduit à une hyperglycémie chronique. Le DT2 constitue la forme la plus fréquente de diabète, représentant environ 90 % des cas diagnostiqués dans le monde **(Javeed N *et al.*, 2018)**.

1.3.2.2. Les facteurs de risque de DT2

Parmi les facteurs de risque figurent l'hypertension artérielle, des taux élevés de triglycérides, un cholestérol HDL insuffisant, le diabète gestationnel, le prédiabète, les maladies cardiovasculaires, une alimentation riche en graisses et en glucides, une consommation excessive d'alcool, la sédentarité, ainsi que l'obésité ou le surpoids **(Poonam S, 2023)**.

1.3.2.3. Les symptômes de DT2

Le DT2 se développe généralement sans symptômes apparents, et ce sont souvent les signes de complications qui alertent les patients, comme des infections au niveau des pieds, des problèmes de vision ou une envie fréquente d'uriner. D'après **Bouvet D** (**2023**), il y a entre 20% et 30% de patients diagnostiqués avec le diabète sont déjà confrontés à des complications.

1.3.3. Diabète gestationnel (DG)

L'intolérance aux glucides est identifiée comme une anomalie dans la signalisation de l'insuline, survenant de la première phase de la grossesse. Ce phénomène résulte d'une inadaptation physiologique à l'insulino-résistance, qui se développe généralement au cours du deuxième trimestre. Elle peut être causée par une réponse insulinique trop faible à une charge glucidique, par une résistance marquée à l'insuline, ou par l'interaction des deux facteurs **(Plows S *et al.*, 2018)**.

1.3.4. Autres types de diabète

Divers types de diabète peuvent être identifiés, y compris ceux provoqués par des atteintes du pancréas exocrine, telles que la pancréatite, des traumatismes, des infections, le cancer du pancréas ou la pancréatectomie. De plus, des troubles endocriniens peuvent entraîner une surproduction d'hormones, perturbant ainsi la régulation de l'insuline **(OMS, 2019)**.

1.3.4.1. Diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young)

C'est une forme de diabète familial, à transmission autosomique dominante et à début précoce chez l'enfant ou le jeune adulte non obèse avant 25 ans **(Hoffman L.S *et al.*, 2023)**, associé à des anomalies primaires de l'insulino-sécrétion. Les phénotypes MODY représentent 1 à 2% des cas de diabète. Une dizaine de gènes impliqués dans la régulation de la sécrétion d'insuline au niveau des cellules bêta pancréatiques sont déjà connus. La majorité des phénotypes MODY (85%) met en cause des mutations hétérozygotes sur les gènes de la glucokinase **(Fajans S.S et Bell G.I, 2011)**.

1.3.4.2. Diabète LADA (Latent Auto-immune Diabetes in Adults)

C'est une pathologie auto-immune qui apparait à l'âge adulte. Ce type de diabète partage les mêmes caractéristiques que le DT1 et DT2. Il est nommé des fois DT 1,5 **(Buzzeti R *et al.*, 2022**). La société d'immunologie du diabète a défini trois critères pour son diagnostic :

- la présence d'auto-anticorps dirigés contre les cellules β pancréatiques.

- un âge au diagnostic supérieur à 30 ans.

- l'absence de nécessité d'un traitement insulinique durant au moins les six premiers mois suivant le diagnostic **(Fourlanos S *et al.*, 2005)**.

1.3.5. Les complications du diabète

Une prise en charge inadéquate ou insuffisante du diabète peut conduire à une progression de la maladie, entraînant ainsi diverses complications, notamment des atteintes tissulaires, y compris ceux des nerfs, des reins, de la rétine et du cœur. Des complications peuvent être classées comme dégénératives, infectieuses ou métaboliques aiguës **(Bouldjaj R, 2009)**.

1.3.5.1. Hyperglycémie diabétique

L'hyperglycémie se produit lorsque le niveau de glucose dans le sang dépasse les valeurs normales (0,8-1,2 g/l), généralement en raison d'une production ou d'une utilisation inappropriée de l'insuline, qui est essentielle pour réguler le taux de sucre sanguin **(Begum A , Reddy S., 2023)**. Si elle n'est pas traitée, l'hyperglycémie peut engendrer divers problèmes de santé à long terme, tels que les maladies cardiovasculaires, neuropathie, néphropathie diabétique ou une insuffisance rénale, rétinopathie diabétique, des problèmes

au niveau des os et des articulations, des phlébites et Infections des dents et des gencives **(Begum A , Reddy S., 2023).**

1.3.5.2. Hypoglycémie diabétique

Une glycémie inférieure à 0,6 g/l (3,3 mmol/l) est définie comme une hypoglycémie **(Brue T, 2005)**. Cette situation, fréquemment observée au cours de l'insulinothérapie, constitue la principale complication associée à l'administration d'insuline et de sulfamides hypoglycémiants **(Grimaldi A, 2000)**.

1.3.5.3. Acidocétose diabétique

La survenue de l'acidocétose diabétique est liée à un déficit en insuline, entraînant une hyperglycémie qui provoque une déshydratation et une augmentation de la lipolyse. Le catabolisme des acides gras libres est à l'origine d'une acidose métabolique, résultant d'une production accrue de corps cétoniques. Cette pathologie est donc plus fréquente chez les patients atteints de diabète de type 1, incapables de produire de l'insuline **(Blickle J.F, 2014)**.

1.3.6. Diagnostic

Le diagnostic repose sur une analyse sanguine réalisée à jeun, permettant de mesurer la glycémie à jeun. Les seuils diagnostiques sont définis comme suit :

- Une glycémie < 1,10 g/L indique un état non diabétique ;
- Une glycémie comprise entre 1,10 g/l et 1,25 g/l est évocatrice d'un état de prédiabète ;
- Une glycémie ≥ 1,26 g/l, confirmée par deux mesures réalisées à au moins deux mois d'intervalle, permet de poser le diagnostic de diabète sucré.

On peut aussi définir le diabète par une glycémie dépassant 2 g, à n'importe quel moment de la journée, comme après un repas. En ce qui concerne les femmes enceintes, cette limite est abaissée à 0,92 g/l à jeun et à plus de 1,4 g/l après une charge en glucose **(Quesnel J, 2023).**

2. L'hémoglobine glyquée (HbA1c)

C'est une variante de l'hémoglobine qui se forme lorsque le glucose se lie de manière irréversible à la chaîne bêta de l'hémoglobine A. Ce marqueur indique la concentration moyenne de glucose dans le sang sur une période de deux à trois mois avant

le test. La mesure de l'HbA1c constitue un instrument fondamental pour évaluer le contrôle de la glycémie chez les individus souffrant de diabète sucré (**ADA, 2023**).

3. Physiopathologie du diabète type 2

Le diabète de type 2 résulte de l'association de deux mécanismes physiopathologiques majeurs : l'insulino-résistance et le déficit progressif de la sécrétion insulinique. L'insulino-résistance, qui précède généralement l'apparition clinique de la maladie, se caractérise par une diminution de l'efficacité de l'insuline à stimuler l'utilisation du glucose par les tissus périphériques, notamment les muscles et le tissu adipeux. Cette altération est notamment liée à une réduction du nombre de récepteurs membranaires à l'insuline dans ces tissus. Par ailleurs, au niveau hépatique, elle se manifeste par une augmentation inappropriée de la production endogène de glucose à jeun, normalement inhibée par l'insuline. Bien que l'insulino-résistance constitue un facteur déterminant dans la genèse du diabète de type 2, elle ne suffit pas à elle seule à provoquer la maladie. Elle contribue cependant à aggraver un second mécanisme central : le déficit de l'insulinosécrétion. Ce dernier est lié à une altération progressive des cellules bêta des îlots de Langerhans, responsables de la sécrétion d'insuline. Au moment du diagnostic, ces cellules ont déjà perdu environ 50% de leur masse fonctionnelle. Cette détérioration s'explique notamment par des phénomènes de glucotoxicité et de lipotoxicité, impliquant respectivement un excès chronique de glucose et d'acides gras libres. La glucotoxicité en particulier favorise l'apoptose des cellules bêta, contribuant ainsi à leur déclin progressif, inéluctable et s'étalant sur plusieurs années, voire décennies (Figure 4) (**ADA, 2019** ; **FID, 2019 ; OMS, 2019**).

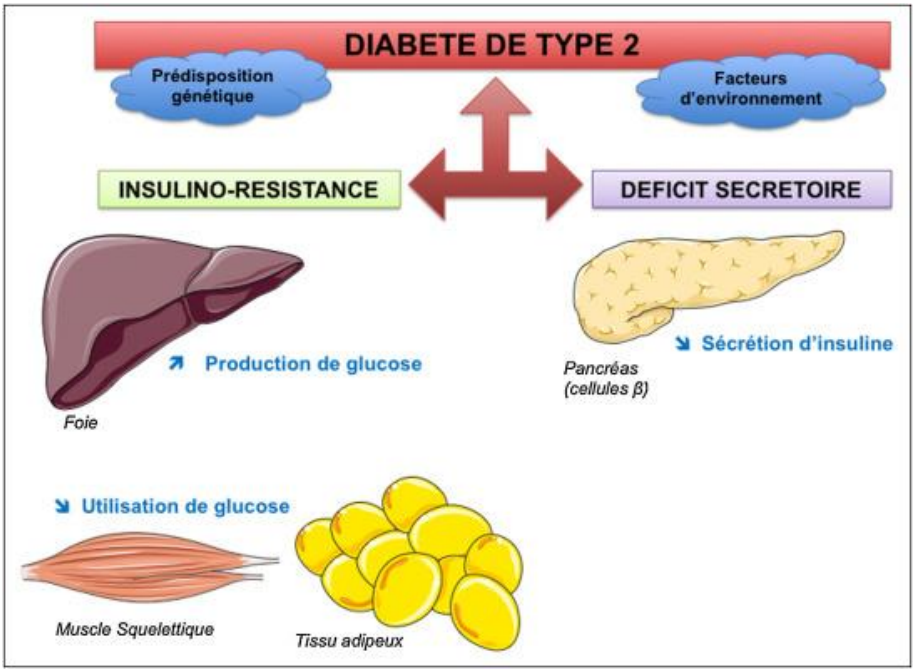


Figure 4: Physiopathologie du diabète de type 2 (Chevalier N et Fénichel P, 2016).

4. Relation entre le diabète avec le BFH

Les aliments fermentés spécialement le BFH ont des avantages potentiels pour les diabétiques tels que :

- Indice glycémique plus bas : Des revues systématiques indiquent que les aliments fermentés peuvent réduire de manière significative la glycémie à jeun et la résistance à l'insuline chez les patients diabétiques **(Zhang X.F *et al.*, 2023)**.
- Amélioration de la digestion : La fermentation favorise la biodisponibilité des fibres, des minéraux et des enzymes, contribuant ainsi à une meilleure digestion et à une réponse glycémique optimale. Il a été démontré que le BFH abaisse les taux de triglycérides et améliore les profils lipidiques, contribuant ainsi à une meilleure santé métabolique global **(Zhang X.F *et al.*, 2023)**. Un mélange de céréales fermentées a démontré son efficacité pour contrôler le poids corporel et améliorer le métabolisme des lipides.
- Modulation du microbiote intestinal : La fermentation entraîne des changements dans la composition du microbiote intestinal, ce qui favorise la prolifération de bactéries bénéfiques, améliorant ainsi les fonctions métaboliques et la sensibilité à l'insuline **(Costabile A *et al.*, 2022)**.

Les modifications du microbiote induites par la fermentation des céréales ont été associées à une amélioration de la performance des cellules bêta pancréatiques, ce qui favorise un meilleur contrôle de la glycémie **(Costabile A *et al.*, 2022)**.

1. L'obésité

1.1. Définition

L'obésité est une maladie chronique, évolutive et récidivante très répandue, caractérisée par une accumulation anormale de graisses corporelles **(Berthold O, 2020)** et une augmentation de l'IMC (Tableau 3). Son étiologie est complexe et résulte d'une combinaison de plusieurs facteurs, génétiques, environnementaux, socioculturels et hormonaux **(Wright S.M et Aronne L.J, 2012)**. La prévalence ne cesse d'augmenter à l'échelle mondiale.

Tableau 3: Classification de l'obésité par l'IMC (OMS, 2003).

Classe de l'obésité IMC (kg/m^2)		
Poids normal	/	18,5-24,9
Surpoids	/	25,0-29,9
Obésité	Modérée	30,0-134,9
	Sévère	35,0-39,9
	Morbide	≥40

1.2. Prévalence de l'obésité

1.2.1. En Europe

L'augmentation du surpoids et de l'obésité constitue une préoccupation majeure au sein des pays européens. D'après le rapport de l'IOTF (International Obesity Task Force), une tendance à la hausse de l'obésité infantile a été observée, particulièrement marquée dans les pays d'Europe du Sud. En Europe du Nord, la prévalence du surpoids se situe entre 10 et 20%, tandis qu'en Europe du Sud, elle atteint des niveaux de 20 à 35% **(Niesten L *et al.*, 2007)**. Les enfants en âge scolaire, tous sexes confondus, affichent les taux les plus élevés de surcharge pondérale au Portugal (32% pour l'âge entre 7-9 ans), en Espagne (31% pour les enfants à l'âge de 2-9 ans) et en Italie (27% pour les 6-11 ans), tandis que les taux les plus bas se trouvent en Allemagne (13% pour les 5-6 ans) et à Chypre (14% pour les 2-6 ans) **(OMS, 2006)** (Figure 6).

1.2.2. En Amérique

Les recherches de surveillance nutritionnelle aux États-Unis, notamment celles menées par le NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) en 2000, ont

révélé une augmentation continue du nombre d'enfants en surpoids depuis le début des années 1970 **(Inserm, 2000)**. Entre 1973 et 1994, le taux de surpoids chez les jeunes âgés de 5 à 24 ans a presque doublé. L'analyse des données concernant l'indice de masse corporelle (IMC) des enfants américains de 6 à 11 ans, entre 1963 et 1994, qui a montré une hausse significative, passant de 15% en 1963 à 22% en 1994 **(Caballero B *et al.*, 2003)**. De plus, une étude réalisée en 1994 par le NHANES a révélé qu'environ trois enfants et adolescents américains sur cinq sont en surpoids ou obèses **(Ramos DLP *et al.*, 2004)** (Figure 6).

1.2.3. En Afrique

Les statistiques en Afrique du Nord sur les deux rives méditerranéennes présentent des similitudes. Les informations concernant l'obésité infantile en Afrique subsaharienne sont rares, car les initiatives en matière de nutrition et de santé publique se sont principalement orientées vers la malnutrition et les enjeux de sécurité alimentaire. Dans la majorité des pays, la prévalence de l'excès de poids chez les enfants est relativement faible, à l'exception de l'Afrique du Sud **(Lobstein T, 2004)** (Figure 6).

1.2.4. En Algérie

La prévalence de cette maladie continue d'augmenter, notamment chez les enfants, dont un sur six en souffrirait. D'après l'experte Bouchrit Ghania, la situation dans les écoles algériennes en 2013 était particulièrement alarmante et nécessite une action de la part des autorités publiques (Figure 6).

Ceci est dû à l'augmentation des importations de produits alimentaires de l'occident, qui sont riches en glucides et lipides, ainsi que les mauvaises habitudes alimentaires qui sont à l'origine des troubles du comportement alimentaire.

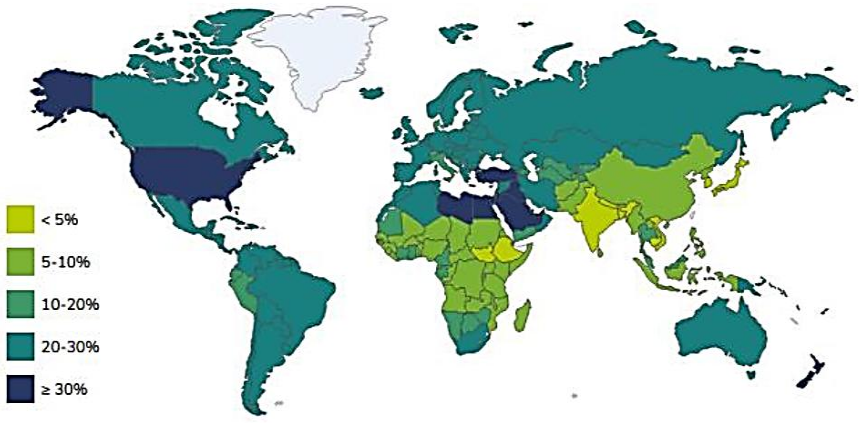


Figure 5: Prévalence de l'obésité chez l'adulte (FIO, 2022).

1.3. Pathologie du surpoids, de l'obésité et facteurs associés

Les tissus adipeux jouent un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie énergétique, mais un excès de ces tissus peut provoquer des dysfonctionnements et augmenter le risque de divers problèmes de santé, tels que : les maladies de la vésicule biliaire, la goutte et le diabète de type 2.

Un excès de graisses corporelles entraîne une production significative d'adipocytokines et de médiateurs inflammatoires. Ces substances peuvent altérer le métabolisme des glucides et des lipides, augmentant ainsi le risque de développer des maladies cardiovasculaires, métaboliques et certains types de cancer. Elles peuvent également réduire l'espérance de vie de 6 à 14 ans de la durée de vie sans maladie **(Rempel P*et al.*, 2015)**.

Selon les estimations, environ 20% des cas de cancer sont liés à l'obésité (chez les femmes post-ménopausées), du côlon, du rein et de l'endomètre **(Carson K, 2010)**.

Plusieurs gènes sont susceptibles d'influencer l'obésité. Il est évident qu'il existe une hétérogénéité entre les individus face à cette condition. Selon les recherches de **Thibault P *et al.*, en 2009**, les facteurs épigénétiques pourraient représenter une part significative de cette variabilité, avec une prédisposition à l'obésité variant entre 50 et 80%. De nombreuses études ont montré une forte corrélation entre l'IMC des enfants et celui de leurs parents biologiques par rapport à ceux des parents adoptifs. L'hérédité est estimée avoir un impact de 50 à 90% dans les études sur les jumeaux, avec une concordance plus élevée chez les jumeaux monozygotes **(Thibault P *et al.*, 2010; HAS, 2011).**

1.3.1. Facteurs périnataux

1.3.1.1. Poids durant la grossesse

De nombreuses recherches indiquent qu'un indice de masse corporelle (IMC) maternel élevé avant ou au début de la grossesse est associé à un risque accru d'obésité chez les enfants. Ce facteur pourrait doubler le risque d'obésité chez les enfants âgés de 2 à 4 ans **(Choi HKJ *et al.*, 2005).**

1.3.1.2. Diabète maternel

Les enfants nés de mères ayant connu un diabète gestationnel sont susceptibles de présenter un IMC élevé. Cependant, lorsque l'IMC maternel est pris en compte avant la grossesse, ce risque semble moins significatif chez les femmes diabétiques dont l'IMC était normal au début de la grossesse **(Phillips L.H *et al.*, 2011).**

1.3.2. Les pathologies liées à l'obésité

L'obésité est un facteur déterminant dans le développement ou l'aggravation de plus de 200 pathologies, ce qui entraîne une augmentation de la morbidité et de la mortalité. Parmi les comorbidités les plus significatives liées à l'obésité, on peut citer les troubles suivants : thrombose, dyslipémie, hypertension, maladie coronarienne **(Romero-Corral A *et al.*, 2010).**

La relation prédominante entre l'adiposité et les maladies cardiovasculaires s'explique par des facteurs de risque et des modifications métaboliques. Toutefois, ce sont surtout les obésités à haut risque qui exercent une influence significative sur ces médiateurs de risque métabolique altérés **(Piché M, 2020)**.

1.4. Physiopathologie de l'obésité

L'obésité constitue aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique, en raison de son augmentation alarmante observée au cours de la dernière décennie. La gestion de l'obésité ainsi que des comorbidités qui y sont liées doit donc être considérée comme une priorité. Il s'agit d'une pathologie chronique complexe, tant sur le plan physiopathologique que dans son traitement. L'obésité se manifeste sous des formes hétérogènes, avec des évolutions en plusieurs phases (Tableau 4) et des déterminants variés **(Fasshauer P *et al.*, 2016).**

Tableau 4: Les différentes phases de la physiopathologie de l'obésité (Morio B, 2011).

Phase	Description
Constitution	Facteurs génétiques prédisposant environnement obésogène, comportement alimentaire et niveau d'activité physique.
Maintien	Déséquilibre énergétique avec apport calorique excédant les besoins
Aggravation	Complications métaboliques telles que le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires, l'apnée du sommeil, les troubles articulaires, les cancers, etc.

Matériels

&

Méthodes

1. Préparation du matériel végétal

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est le blé tendre (*Triticum æstivum*), étudié sous deux formes : fermentée (BFH) et non fermentée (BNF) (Figure 6). L'échantillonnage a été effectué en Juin 2020 dans un grenier souterrain traditionnel de type Matmora (Figure 7), à l'issue d'une période de stockage de 12 mois, dans la région de Mazouna de la wilaya de Relizane, Algérie (Figure 7).



Figure 6: Photos du (a) blé tendre fermenté (BFH) et du (b) blé tendre non fermenté (BNF) (prises par Amier, 2020).



Figure 7: Photos d'une Matmora (prises par Amier, 2020).



Figure 8 : Localisation géographique du lieu d'échantillonnage (Mazouna, Algérie) (36° 07′ 32″ Nord, 0° 52′ 35″ Est) (Google Maps).

1.2. Analyses nutritionnelles, physicochimiques et biochimiques

Les échantillons sont broyés manuellement afin d'évaluer les différents paramètres nutritionnels, physicochimiques et biochimiques.

1.2.1. Détermination du pourcentage d'eau

La teneur en eau des échantillons est déterminée par la méthode de dessiccation, selon le protocole décrit par **Audigie C.L *et al.* (1980)**. Cinq grammes de chaque échantillon est déposé dans un creuset en porcelaine, préalablement pesé et placé dans une étuve (NUVE EN 400, Turque) à 105°C, pendant 5 h. Le creuset est ensuite mis dans un dessiccateur avant d'être pesé à l'aide d'une balance analytique (Kern ALS 220-4, Allemagne). Le pourcentage d'eau est déterminé selon la formule ci-dessous :

$$\textbf{Humidité (\%)} = [(M_1-M_2) / (M_1-M_0)] \times 100$$

$\mathbf{M_0}$: Masse du creuset vide (g).

$\mathbf{M_1}$: Masse du creuset et de l'échantillon avant séchage (g).

$\mathbf{M_2}$: Masse du creuset et de l'échantillon après séchage (g).

1.2.2. Taux de cendres

Le taux de cendres (sels minéraux) est estimé selon la méthode décrite par **Audigie C.L *et al.* (1980)**, qui est basée sur la destruction totale de toutes matière organique sous l'effet de l'incinération à haute température, suivie de la pesée du résidu minéral. Pour cela, cinq grammes de chaque échantillon sont placés dans un creuset en porcelaine, puis incinérés dans un four à moufle (Stuart BIBBY, UK) à 550°C pendant 5h, jusqu'à obtention de cendres de couleur blanches. Le creuset contenant les cendres est ensuite placé dans un dessiccateur pour refroidissement, puis pesé immédiatement. Le pourcentage des sels minéraux est évalué à partir de la formule suivante :

$$\textbf{Taux de cendres (\%)} = [(M_2 - M_0) / (M_1 - M_0)] \times 100$$

$\mathbf{M_0}$: Masse du creuset vide (g).

$\mathbf{M_1}$: Masse du creuset et de l'échantillon (g).

$\mathbf{M_2}$: Masse du creuset et des cendres (g).

1.2.3. Détermination de la teneur en protéines

La teneur en protéines est déterminée selon la méthode de Kjeldahl, qui consiste à mesurer la teneur en azote total dans un échantillon, puis à convertir cette valeur en teneur en protéines à l'aide d'un facteur de conversion spécifique. Pour le blé, ce facteur est généralement de 6,25.

Le principe de cette méthode repose sur la minéralisation de l'échantillon par l'acide sulfurique concentré à chaud, en présence d'un catalyseur, qui transforme l'azote organique en ion ammonium (NH_4^+). L'alcalinisation du digestat par l'ajout d'une solution de soude (NaOH), libérant l'ammoniac (NH_3). La distillation de l'ammoniac libéré, qui est ensuite capté dans une solution d'acide borique, en présence d'un indicateur coloré.

La teneur en protéine a été déterminée en suivant le protocole décrit selon la norme NA.1185/1990, ISO.1871 (NF V03-050).

$$\textbf{N (\%)} = [(0,0014 \times V \times 100\ m) / (100 - H)] \times 100$$

$$\textbf{TP (\%)} = N \times 6,25$$

V: Volume de la solution d'acide, versé à la burette lors du titrage (en millimètre).

m: Masse en gramme de la prise d'essai.

H : Teneur en eau de la prise d'essai.

N : Taux d'azote en pourcentage.

TP : Taux de protéines en pourcentage.

1.2.4. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux sont dosés par la méthode de Soxhlet, telle est décrite dans le Journal Officiel des Communautés Européennes n° L.279/17. Cette méthode correspond à la NF V03-713/1984, ISO 7302/1982. Il s'agit d'une méthode gravimétrique, basée sur la pesée de l'échantillon initial, suivie de l'extraction des matières grasses, puis de la pesée du résidu lipidique obtenu après évaporation du solvant.

Une quantité de 15 g d'échantillon est placée dans une capsule de cellulose. L'extraction est réalisée en continu pendant 6h, à une température de 100 à 110 °C, à l'aide de l'hexane comme solvant. Après l'extraction, les ballons contenant l'extrait lipidique sont soumis à évaporation du solvant à l'aide d'un hydro-distilleur. Une fois refroidis, les ballons sont pesés afin de déterminer la quantité de lipides extraite. La différence de masse permet de calculer la teneur en lipides totaux de l'échantillon.

$$\mathbf{MG\ (\%) = [(P_2 - P_1) / P_0] \times 100}$$

$\mathbf{P_1}$: Poids du ballon à vide.

$\mathbf{P_2}$: Poids du ballon contenant les lipides

$\mathbf{P_0}$: Poids de la prise d'essai.

1.2.5. Détermination du pourcentage de fibres totales, solubles et insolubles

La teneur en fibres totales dans nos échantillons est déterminée par la méthode de Weende **(Wiederkäuer I, 1860)**. Une quantité de 0,5 g d'échantillon est finement broyée dans un bécher puis un volume de 100 ml d'acide sulfurique dilué (0,128 M) est ajouté. Le bécher est placé ensuite dans l'appareil Dosi-Fiber puis l'hydrolyse acide est programmée à 100°C pendant 30 min. Le contenu du bécher est filtré à chaud sur un filtre en verre fritté. Le résidu est rincé abondamment avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'un pH neutre. Ensuite un volume de 100 ml d'hydroxyde de potassium dilué (0,223M) est ajouté dans un Erlenmeyer contenant le résidu. Ce dernier est placé dans l'appareil Dosi-Fiber, puis une deuxième hydrolyse acide est programmée à nouveau à 100°C pendant 30 min. Le contenu est ensuite filtré sur un filtre en verre fritté, puis rincer avec de l'eau distillé jusqu'à neutralité (pH=7). Le résidu est séché dans une étuve (Nuve EN400, Turquie) à 105 °C pendant une heure, puis incinérer dans un four à incinération (Stuart BIBBY.UK) à 500°C

pendant 3 heures. Les cendres sont laissées refroidir dans un dessiccateur puis peser avec une balance analytique (Kern ALS 220-4, Allemagne).

$$\textbf{Teneur en fibres totales (\%)} = [(P_0 - P_1) / P_0] \times 100$$

P0 : Poids initial de l'échantillon (g).

P1 : Poids des cendres (g).

1.2.6. Détermination de l'acidité grasse

L'acidité grasse est une mesure de la teneur en acides gras libres présents dans un échantillon alimentaire. Elle reflète le degré d'hydrolyse des lipides et constitue un indicateur important de la fraîcheur et de la qualité de conservation des matières grasses.

L'acidité grasse est une mesure de la quantité d'acides gras libres présents dans un échantillon. Elle est exprimée en grammes d'acide sulfurique (H_2SO_4) pour 100 grammes de matière sèche (MS). Cette méthode, décrite dans la norme NA.1182/1990 correspondant aux normes NFV03-712 et ISO7305/1986, permet de déterminer l'acidité grasse d'un échantillon alimentaire.

Une quantité de 5 g d'échantillon est broyée est placé dans un bécher, puis un volume de 30 ml d'éthanol est ajouté, agiter pendant une heure à une température ambiante (20 ± 5°C). Le mélange est centrifugé à 3500 tours/min pendant 2 min pour séparer les particules solides. Ensuite, 20 ml du surnageant limpide est prélevé. Quelques gouttes de phénophtaléine sont ajoutées. Le liquide est titré avec une solution d'hydroxyde de sodium (0,05N), jusqu'à l'obtention d'un virage rose pâle persistant pendant quelques secondes.

$$\textbf{Acidité grasse (g } H_2SO_4\textbf{/100g MS)} = [(V \times N \times 0{,}049) / P] \times 100$$

V : Volume de NaOH utilisé (ml).

N : Normalité de la soude (0,05 N).

0,049 : Masse équivalente de H_2SO_4 en grammes.

P : Masse de l'échantillon en grammes (matière sèche).

1.2.7. Détermination du pH

La méthode consiste à mesurer l'activité ionique des ions hydrogène (H^+) présents dans une suspension aqueuse du blé broyé à l'aide d'un pH-mètre. La mesure est réalisée à température ambiante, après mise en suspension de l'échantillon dans de l'eau distillée, selon un rapport poids/volume défini. Une quantité de 5 g de l'échantillon est broyé puis

mélangé avec 50 ml de l'eau distillée. Le mélange est ensuite agité pendant 5 à 7 min puis filtré (NF V 05-108, 1970).

1.2.8. Détermination la masse de mille grains

La méthode consiste à compter manuellement 1000 grains représentatifs d'un échantillon et à peser leur masse totale. Cette mesure permet d'évaluer la taille moyenne des grains, leurs potentiels de rendement et leur état sanitaire (grains atrophiés ou déshydratés) et de donner le degré d'échaudage. Selon la norme ISO 520/ NA731/1990.

Un prélèvement au hasard d'une quantité approximativement égale à la masse de 500 grains de l'échantillon, à sélectionner uniquement les grains entiers. Ces derniers sont pesés, puis le calcul est extrapolé pour déduire la masse de 1000 grains entiers. Un comptage manuel est effectué pour déterminer la masse moyenne d'un grain entier, puis le résultat obtenu est rapporté à 1000 grains. La teneur en eau est mesurée séparément par les méthodes de référence.

$$\mathbf{mH\ (g) = (m_0 \times 1000) / N}$$

m_0 : Masse des grains entiers de la quantité prélevée (g).

N : Nombre de grains entiers trouvés dans la masse m.

1.2.9. Détermination de la masse à l'hectolitre ou le poids spécifique

La masse à l'hectolitre, ou poids spécifique, est la masse d'une quantité de grains qui occupe un volume de 100 litres. Cette méthode sert à mesurer la densité apparente des grains et permet d'évaluer la qualité commerciale des céréales. La méthode ISO 7971-1:2019 spécifie le remplissage du récipient de manière non tassée et un nivellement précis des grains afin de garantir une mesure précise et reproductible.

Si le récipient est de 1 litre, la masse à l'hectolitre (kg/hl) est directement obtenue par multiplication de la masse mesurée par 100 :

$$\mathbf{Masse\ en\ hectolitre\ (kg/hl) = (m/V) \times 100}$$

m : Masse du récipient rempli (kg).

V : Volume du récipient (l).

1.2.10. Détermination de taux de mitadinage

Le taux de mitadinage représente le pourcentage de grains de blé dont l'amande est farineuse (opaque), par opposition aux grains vitreux, qui sont translucides et brillants.

C'est un indicateur de qualité technologique important pour la transformation meunière et boulangère. Un grain mitadin est souvent moins riche en protéines et absorbe différemment l'eau, ce qui altère la qualité du gluten et du pain.

La détermination du taux de mitadinage s'effectue sur un échantillon de 300 grains entièrement homogène (ni cassés ni contaminés). L'échantillon est ensuite étalé sur une plaque et examiné à l'œil nu. La viscosité des grains est vérifiée en coupant le grain transversalement au milieu, puis un comptage total des grains mitadinés est effectué selon les normes NA 1183/1990 et ISO-5532/1987. Le pourcentage des grains mitadinés par différents catégories (10, 50 et 100%) est calculé suivant la formule suivante :

Taux de mitadinage (%) = (nombre de grains mitadinés/nombre totale de grains) x 100

1.2.11. Dosage du gluten humide

Le dosage du gluten consiste à extraire le gluten humide d'un échantillon en poudre en lavant la pâte à l'eau pour éliminer l'amidon et les matières solubles. Le gluten humide ainsi obtenu est ensuite pesé. Ce test permet d'évaluer la qualité panifiable des farines et la teneur en protéines insolubles liées à la formation du réseau glutineux.

La teneur en gluten a été déterminée selon le protocole décrit par **Mauze C *et al***. (**1972**) et selon la norme NA 735/1990.

Mettre 10 g de farine dans 5 ml d'une solution de NaCl à 10%. La solution obtenue est mélangée à l'aide d'une spatule pour former une pâte ferme et homogène. L'extraction du gluten est effectuée par un lavage de la pâte avec de l'eau jusqu'à l'obtention du gluten humide. Ce dernier est ensuite séché à 105°C pendant une heure à l'étuve puis peser pour déterminer le gluten sec.

Gluten humide (%) = [masse du gluten (g) / masse de farine initiale (g)] x100

1.2.12. Indice de Chute (Hagberg-Perten)

La méthode effectuée selon la norme NF V 03-703 (1972), qui repose sur la mesure de la viscosité d'un empois d'amidon formé par gélatinisation d'une suspension aqueuse de

farine placée dans un bain d'eau bouillante. L'évolution de la viscosité est liée principalement à l'activité enzymatique de l'α-amylase.

Une quantité de 7 g de farine est mélangée avec de l'eau distillée agité. Puis l'immergé dans un bain marie bouillant à 100°C à l'aide d'un appareil Hagberg, puis laisser chauffer. Un chronomètre est déclenché. Le temps de chute mesuré est pris quand l'agitateur tombe dans la pâte liquéfiée. Le temps de chute correspond au temps de descendre de l'agitateur, et correspond aussi à l'indice d'Hagberg, qui est exprimé en secondes.

1.2.13. Dosage des métaux lourds

Le but est de déterminer la présence éventuelle de métaux lourds (tels que le plomb, le cadmium, le mercure, l'arsenic, etc.) dans les échantillons de blé avant et apres fermentation. Cette analyse permet de vérifier la conformité des échantillons aux normes de sécurité alimentaire en vigueur, en identifiant la présence de polluants toxiques pouvant résulter de contaminations environnementales (sols, eaux, traitements agricoles ou industriels).

Un gramme de chaque échantillon (BNF et BFH) est minéralisé avec un mélange de 10 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) et 5 ml d'acide nitrique (HNO_3) à 250 °C pendant 60 minutes à l'aide d'une unité de digestion Kjeldahl automatique (VELP Scientifica DKL 129). L'eau distillée est ajoutée pour compléter le volume suffisant pour 50 ml. Le mélange est ensuite filtré pour éliminer toutes les impuretés. Les filtrats sont transférés dans des tubes en verre. Les échantillons sont analysés par Spectroscopie d'Absorption Atomique (SAA) (Shimadzu AA-7000). Selon **Shaltout A.F *et al.,* (2015)**, les concentrations de plomb (Pb), de mercure (Hg) et d'arsenic (As) sont déterminées en milligramme de métal analysé.

Les niveaux de la présence des métaux lourds sont enregistrés et ensuite calculés selon l'équation suivante :

$$\mathbf{C = R \times (D / W)}$$

C : Concentrations de l'élément ($mg.kg^{-1}$).

R : Lecture de l'échelle numérique du spectromètre d'absorption atomique.

D : Dilution de l'échantillon préparé.

W : Poids de l'échantillon.

1.3. La mise en évidence de l'activité antioxydante du BFH

1.3.1. Détermination de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de nos échantillons a été réalisée en utilisant la méthode du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), un radical libre stable, selon le protocole décrit par **Mansouri A *et al.*, (2005)**. Cette méthode repose sur la capacité des composés antioxydants à donner un proton au radical DPPH, entraînant ainsi une réduction de sa coloration violette intense en une forme réduite de couleur jaune pâle, le diphényl-picrylhydrazine.

La diminution de l'intensité de la couleur violette est mesurée par spectrophotométrie, généralement à une longueur d'onde de 517 nm, et elle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon analysé **(Sanchez-Moreno C, 2002)**. Ce test est reconnu pour sa simplicité, sa rapidité, et le fait qu'il s'effectue à température ambiante, ce qui préserve la stabilité des composés thermosensibles **(Brand-Williams W *et al.*, 1995)**.

Une solution méthanoïque de DPPH est préparée en dissolvant 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 50 µl de chaque extraits et standard est ajouté à 1,95 ml de la solution de DPPH. Le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité à température ambiante, puis la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm **(Morales F.J et Jimenez-Perez S, 2001)**. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\textbf{Activité antiradicalaire (\%)} = [(Abs_{control} - Abs_{échantillon}) / Abs_{control}] \times 100$$

$Abs_{control}$: absorbance de la solution DPPH sans échantillon (Témoin).

$Abs_{échantillon}$: absorbance de la solution DPPH en présence de l'échantillon.

1.3.2. Détermination de l'IC50

L'IC50 (Inhibitory Concentration 50%) correspond à la concentration de l'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH initialement présent dans la solution. Elle constitue un indice quantitatif de l'efficacité antioxydante, plus la valeur de l'IC50 est faible, plus le pouvoir antiradicalaire de l'extrait est élevé.

La valeur de l'IC50 est déterminée graphiquement, en traçant la courbe pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits testés. Le point d'intersection de la courbe avec la ligne horizontale représentant 50% d'inhibition permet d'estimer l'IC50.

1.4. Détermination de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits de BFH et de BNF est réalisée par le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines, une méthode couramment utilisée *in vitro*. Ce test repose sur le principe selon lequel la dénaturation des protéines, provoquée par des conditions de stress (notamment la chaleur), peut être inhibée par des substances ayant une activité anti-inflammatoire. Pour étudier l'activité anti-inflammatoire de nos échantillons (BFH et BNF), le sérum albumine bovine (SAB).

Dans ce cadre, nous avons appliqué le protocole décrit par **Karthik K.N *et al*. (2013)**, en utilisant le Sérum Albumine Bovine (SAB) comme une gamme étalon. La dénaturation est induite par chauffage à 72 °C, et l'effet protecteur des extraits est mesuré par leur capacité à inhiber cette dénaturation.

Une solution de SAB à 1% (p/v) est préparée dans de l'eau distillée. Les échantillons sont préparés à différentes concentrations dans l'eau distillée ou solvant DMSO. Dans un tube, 0,5 ml de SAB est mélangé avec 0,5 ml des extraits de nos échantillons à différentes concentrations. Un blanc est préparé avec de 0,5 ml de SAB et 0,5 ml d'eau (ou solvant). Le mélangé est incubé à 72°C pendant 10 minutes au bain-marie, puis laisser refroidir à température ambiante. La turbidité résultant de la dénaturation est mesurée par spectrophotométrie à 660 nm. Dans ce test, le Diclofénac sodique a été utilisée comme anti-inflammatoire de référence.

$$\textbf{Inhibition (\%)} = [(Abs_{control} - Abs_{échantillon}) / Abs_{control}] \times 100$$

$Abs_{control}$: Absorbance de la solution de SAB seule chauffée.

$Abs_{échantillon}$: Absorbance de la solution de SAB incubée avec l'échantillon.

1.5. Caractérisation des différentes fractions protéiques du BFH

1.5.1. Extraction séquentielle des fractions albumines/globulines et gliadines

L'extraction des protéines du BFH et BNF est réalisée à partir de la farine de grains de blé obtenue après broyage et recueillie dans des tubes stériles. La technique d'extraction est basée sur la différence de solubilité des trois classes principales des protéines du blé (albumines/globulines, gliadines et gluténines).

Les albumines et globulines sont solubles dans des solutions salines et sont extraites dans un tampon phosphate NaCl selon le protocole décrit par **Marion D *et al.* (1994)**, tandis

que les gliadines et gluténines précipitent. Les gliadines sont extraites selon le protocole de **Singh SP *et al*. (1991)** avec une solubilisation alcoolique (Figure 9).

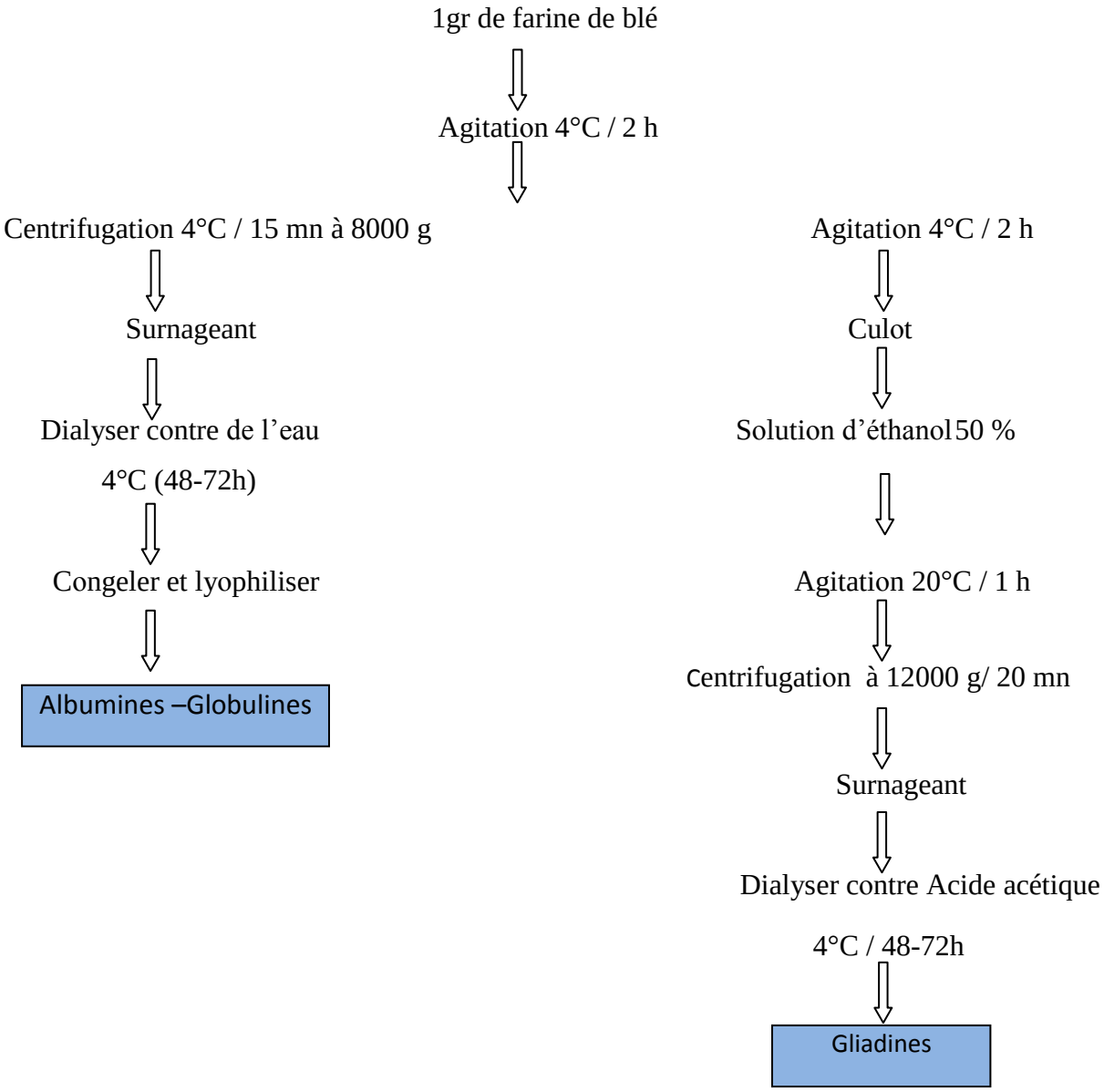


Figure 9: Schéma du protocole d'extraction des différentes protéines du blé.

1.5.1.1. Extraction des albumines/globulines

L'extraction des albumines et globulines est réalisée en dissolvant 1 g de farine dans un tampon phosphate / NaCl à pH 7,8. La solution est agitée à 4°C pendant 2 heures. Ensuite, l'échantillon est centrifugé à 4°C pendant 15 minutes à 8000 g pour séparer les protéines solubles (albumines et globulines) du culot (qui contient les gliadines et gluténines). Le surnageant obtenu est dialysé à 4°C pendant 48 à 72 heures contre de l'eau distillée afin d'éliminer les sels et petites molécules. Après dialyse, le surnageant est congelé puis lyophilisé. En parallèle, plusieurs lavages du culot sont réalisés avec le tampon phosphate, suivis de centrifugations successives à 8000 g pendant 10 minutes à chaque étape pour récupérer les protéines restantes.

1.5.1.2. Extraction des gliadines

L'extraction des gliadines est réalisée en suspendant le culot obtenu lors de l'extraction des albumines/globulines dans de l'éthanol à 50%. La solution est agitée à température ambiante (20°C) pendant 2 heures. Après agitation, le mélange est centrifugé à 12 000 t/min pendant 20 minutes à température ambiante pour séparer les gliadines du surnageant. Ce dernier est ensuite dialysé contre de l'acide acétique 0,01N pendant 48 à 72 heures pour éliminer les impuretés. Enfin, le surnageant dialysé est congelé puis lyophilisé pour obtenir les gliadines.

1.6. Séparation des extraits de blé par SDS-PAGE

L'extrait d'albumines/globulines est séparé sur un gel à 15% d'acrylamide par contre les gliadines sont séparées sur un gel à 10% d'acrylamide en conditions non réductrices.

1.6.1. Principe

L'électrophorèse constitue une méthode analytique permettant de caractériser le profil protéique des extraits de blé tendre, en particulier les fractions d'albumines/globulines et de gliadines, dans les échantillons fermentés (BFH) et non fermentés (BNF). La technique utilisée repose sur le protocole mis au point par **Laemmli U.K. (1970)**, dans lequel la séparation des protéines s'effectue en milieu basique (pH 8,8) en présence de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), un détergent anionique. Ce dernier se fixe aux protéines en masquant leurs charges intrinsèques grâce à sa propre charge négative, permettant ainsi une migration électrophorétique dépendante essentiellement du poids moléculaire et de la conformation des protéines.

Dans un premier temps, les protéines sont dénaturées et uniformément chargées négativement par le détergent anionique SDS (Sodium Dodecyl Sulfate). Le β-mercaptoéthanol est ensuite ajouté afin de rompre les liaisons disulfures intramoléculaires et intermoléculaires, assurant ainsi une dénaturation complète des protéines. Les complexes SDS-protéines ainsi obtenus sont ensuite soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide **(Trivin F et Le Bricon T, 2003)**. L'électrophorèse est réalisée à l'aide d'un appareil Mini-Protean II Gel Electrophoresis (Bio-Rad, Hercules, CA), selon le protocole de **Schägger H et Von Jagow G. (1987)**.

1.6.2. Préparation du gel

La séparation des protéines par SDS-PAGE nécessite la préparation de deux types de gels de polyacrylamide : un gel de concentration (Stacking gel) contenant 5 % d'acrylamide, permettant de retenir les impuretés et de tasser les protéines, et un gel de séparation (Resolving gel) dont la concentration en acrylamide varie selon la résolution souhaitée. Ce second gel permet la séparation des protéines et de leurs sous-unités en fonction de leur poids moléculaire. Les protéines des extraits des échenillions (BFH et BNF) sont évalués par un SDS-PAGE (10% d'acrylamide pour les gliadines et 15% d'acrylamide pour les albumines/globulines) (Tableau 5).

Un volume de 20 µl de chaque échantillon est déposé dans les puits à l'aide d'une seringue Hamilton (Tableau 6).

Tableau 5: Composition des gels de Polyacrylamide Sodium Dodecyl Sulfate.

	Gel de concentration 5%	Gel de séparation 10%	Gel de séparation 15%
Acrylamide 40% (ml)	0,2	1	1,5
Tris 2M (pH 8,8) (ml)	/	0,665	0 ,665
Tris 0,5M (pH 6,8) (ml)	0,3	/	/
SDS 10% (µl)	25	40	40
APS 10% (µl)	20	40	40
TEMED (µl)	8	8	8
Eau distillée (ml)	2	2,135	1,835

Tableau 6: Composition du tampon d'échantillon.

Composition
Tris-HCl 50 mM pH 6,8
SDS 4%
Mercaptoéthanol 3%
Glycérol 20%
Traces de bleu de Bromophénol

La migration électrophorétique est effectuée sous une tension constante de 80V dans un tampon de migration composé de Tris-glycine-SDS, assurant un pH stable et une conductivité optimale. Le bleu de bromophénol, présent dans le tampon de charge, sert de marqueur de front de migration. L'électrophorèse est arrêtée lorsque ce marqueur atteint la limite inférieure du gel, assurant ainsi une séparation optimale des protéines en fonction de leurs poids moléculaires (Tableau 7).

Tableau 7: Composition du tampon de migration (pour 2 litres).

Composition (en g)	
Tris 50 Mm	12
Glycine 0,384 M	57,6
SDS 0,1%	2

À l'issue de la migration, le gel est délicatement démoulé, puis incubé dans une solution de coloration contenant du bleu de Coomassie, permettant la révélation des bandes protéiques. Une étape de décoloration est ensuite réalisée à l'aide d'une solution de décoloration, afin d'éliminer l'excès de colorant non fixé et de faire ressortir distinctement les profils protéiques (Tableau 8).

Tableau 8: Composition des solutions de coloration et de décoloration (pour 1 litre).

Solution de coloration	Solution de décoloration
Eau distillée 65%	Eau distillée 65%
Ethanol 30%	Ethanol 30%
Acide acétique 5%	Acide acétique 5%
Bleu de Coomassie R250, 0,2%	/
Dissoudre le bleu de Coomassie R250 dans l'éthanol, agiter au moins une heure ensuite acide acétique et l'eau.	

1.7. Chromatographie Liquide à Haute Performance en Phase Inverse (RP-HPLC)

Afin de vérifier la présence des gliadines dans les extraits de BNF et BFH, une analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) est réalisée. La séparation est effectuée à l'aide d'une colonne analytique C18 (250 mm × 4,6 mm de diamètre interne, 5 µm de taille de particules).

Les échantillons sont préparés dans l'éluant A, puis injectés à raison de 20 µl par analyse, à un débit constant de 1 ml/min. L'élution par gradient est réalisée, passant de 20% à 60% d'éluant B sur une durée de 70 minutes. L'éluant A est constitué de 0,1% (v/v) d'acide Tri-fluoro-acétique (TFA) dans de l'eau ultra-pure, tandis que l'éluant B contenait 0,1% (v/v) de TFA dans un mélange d'acétonitrile. La séparation chromatographique est conduite à une température constante de 60°C, et la détection des composés est effectuée par mesure de l'absorbance à 214 nm.

1.8. Etude bactériologique

1.8.1. Cultures bactériennes

Neuf grammes de BFH et BNF sont pesés et mélangés avec 90 ml d'eau peptonnée stérile. Le mélange est homogénéisé et laissé à reposer pendant 24 heures à température ambiante **(De Man J *et al.*, 1960)**. Une série de dilutions au 1/10 de la solution mère a été réalisée, allant de 10^{-1} à 10^{-5}. Un volume de 0,1 ml de chaque dilution est étalé sur la surface d'une boîte de Pétri contenant le milieu de culture. Les milieux de culture utilisés sont cités dans les Annexes 01-02-04-05-06 et 07.

Le milieu MRS (Gélose Man, Rogosa et Sharpe, pH 5,4 et pH 6,4) est utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques et la gélose nutritive pour la flore bactérienne totale et fongique peu exigeante. La composition détaillée des milieux est présentée en annexe 1 et 2. Pour l'identification des bactéries pathogènes, nous avons étudié celles exigées par la réglementation algérienne. Les milieux de cultures utilisés sont cités dans les annexes 3, 4, 5, 6 ,7 et 9.

Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures pour l'isolement des bactéries lactiques et à 30C° pour la flore bactérienne et fongique peu exigeante **(De Man J *et al.*, 1960)**. Seules les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre 30 et 300 sont retenues pour le dénombrement. Les résultats sont exprimés en log UFC/g de poids frais (Unité Formant Colonie).

Une série de repiquage sur milieu solide-liquide est effectuée afin d'avoir des colonies distinctes et purifiées. Les boîtes avec des colonies bien distinctes et présentant des caractéristiques morphologiques typiques des bactéries lactiques sont sélectionnées.

Selon **Samelis J.F *et al.* (1994)**, deux méthodes de conservation sont utilisées pour tous les isolats bactériens, soit à 4°C ou à -20°C.

1.8.2. Observation macroscopique et microscopique

La caractérisation macroscopique offre la possibilité de décrire l'apparence des colonies cultivées sur un milieu solide et d'évaluer les critères associés aux colonies bactériennes, tels que la taille, la pigmentation, le contour, l'aspect et la viscosité.

Une coloration de Gram est réalisée pour observer la morphologie des différents isolats bactériens afin d'observer la forme, les arrangements, et le caractère Gram-positif ou Gram-négatif.

Les colonies sont observées au microscope optique (x100) pour visualiser les différents caractères morphologiques ; bacillaire ou cocci. Les bactéries lactiques présentent généralement des colonies rondes, blanches ou crèmes, et de taille variable. Elles sont Gram-positif.

1.8.3. Test à la catalase

La catalase est une enzyme capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène gazeux. La présence de bulles de gaz indique une activité catalasique positive **(Carip C, 2008)**.

Une goutte d'eau oxygénée est déposée sur une lame de verre contenant une petite quantité de culture bactérienne à gram positif. Des bulles de gaz sont formées immédiatement **(Carip C, 2008)**. Selon **Idoui T. (2010)**, les bactéries lactiques sont généralement des catalases négatives.

1.8.4. Croissance à différentes températures

La croissance bactérienne est fortement influencée par la température, chaque espèce présentant une gamme thermique optimale de développement **(Leveau J.Y, 1991)**. Des isolats bactériens sont incubés à différentes températures (15°C, 37°C et 45°C) pendant 24 à 72 heures, permet de déterminer leur profil thermique et d'identifier leur température optimale de croissance **(Guiraud J.P, 1998)**.

1.8.5. Test de croissance à différents pH

Le test consiste à ensemencer chaque tube à essai contenant du bouillon MRS à un pH de 6 avec une culture bactérienne pure. Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 24 heures. La croissance bactérienne est évaluée par l'observation de la turbidité du milieu de culture.

1.8.6. Test de croissance à différentes concentrations de NaCl

Des tubes à essai contenant le bouillon MRS à différentes concentrations (2- 4 et 6,5%**)** sont inoculés avec une culture bactérienne pure, puis incubés à 37°C pendant 24 à 72 heures. La croissance bactérienne est indiquée par un trouble dans le milieu de culture

(Carr F.J *et al.*, 2002).

1.8.7. Type fermentaire.

Les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique comme principal produit final de leur fermentation. Cependant, certaines souches produisent également du gaz carbonique (CO_2). Ce test permet de différencier les bactéries lactiques selon leur mode de fermentation et la production de gaz.

Des tubes à essai contenant le bouillon MRS sont inoculés avec une culture bactérienne pure. Une cloche de Durham est placée inversement dans chaque tube, puis incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures, afin d'observer la présence ou l'absence de gaz dans les cloches de Durham **(Carr F.J *et al.*, 2002).**

1.8.8. Test Mannitol-Mobilité

La technique consiste à ensemencer le milieu au mannitol par une unique piqûre centrale. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant 24 heures. La fermentation du mannitol se manifeste par un changement de couleur du milieu, qui vire au jaune **(Guiraud J.P, 2003)**.

1.8.9. Test de citrate de Simmons

Ce milieu ne renferme qu'une seule source de carbone, le citrate. Ainsi, seules les bactéries dotées de l'enzyme citrate-perméase peuvent s'y développer. La pente du milieu est ensemencée, puis incubée à 28 °C pendant cinq jours. Dans le cas où les bactéries sont citrate-positives un virage de l'indicateur vers le bleu est observé (**Marchal N *et al.*, 1991**).

1.8.10. Galeries API 20E

Les galeries API 20 E sont utilisées pour compléter l'identification des bactéries par l'étude de l'ADH (Arginine Dihydrolase) et de TSI (Agar Glucose Lactose-Sucrose-H2S). Elles sont inoculées avec la suspension bactérienne préparée, puis incubées à 37 °C pendant 48 heures. Les réactions métaboliques sont ensuite lues et interprétées selon les changements de couleur observés, puis comparés à la base de données API afin d'identifier la souche bactérienne.

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie de l'Université Oran1 Ahmed Ben Bella.

L'objectif principal de cette partie de travail est d'évaluer l'impact d'une supplémentation alimentaire en blé tendre fermenté traditionnellement dans une Matmora sur les paramètres anthropométriques, morphométriques, biochimiques, histologiques et sur le microbiote intestinal chez le rat Wistar mâle rendu diabétique.

1. Animaux

Les animaux utilisés dans cette étude sont des rats de souche Wistar mâles, obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Algérie. Ces rats congénériques ont été élevés et acclimatés avant toute manipulation dans l'animalerie du Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire (LPNSA). Ils ont été maintenus dans des conditions d'hébergement conformes à la réglementation en vigueur (température : 23 ± 1°C, humidité : 55 ± 5%, cycle lumineux de 12 h jour/nuit), avec un accès libre à l'eau et à la nourriture (*Ad-libitum*).

Les protocoles expérimentaux ont été réalisés en respectant scrupuleusement les principes du bien-être animal, en minimisant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats **(Council of European Communities, 1987)**.

2. Induction du Diabète

Afin d'induire un diabète de type 2 (DT2), les rats ayant un poids de 160 ± 10gr âgés de 7 semaines sont soumis à un régime hyper-lipidique (HL) composé de 30% de graisses de mouton pendant une période de 10 semaines. À l'issue de cette phase, une injection intra-péritonéale de Streptozotocine (STZ) fraichement préparée à faible dose (Sigma-Aldrich, G3375, USA) est administrée. Un prélèvement sanguin est ensuite effectué au niveau de la veine caudale chez les rats à jeun, à l'aide d'un glucomètre (Diagno-Check), afin de confirmer l'hyperglycémie 48 heures après l'injection de STZ. Les rats présentant une glycémie à jeun supérieure à 16,70 mmol/L avec un poids allant de 264 ± 25 gr sont considérés comme diabétiques, conformément à la classification de **Zhao L *et al.* (2014)**.

3. Streptozotocine (STZ)

La Streptozotocine (STZ) est une substance chimique largement utilisée comme agent inducteur de diabète, tant pour les modèles de diabète de type 1 que de type 2. Elle est

couramment utilisée chez les animaux de laboratoire pour établir des modèles expérimentaux diabétiques **(Ghasemi A *et al.*, 2014 ; Samuel R.O *et al.*, 2014)**. La solution de STZ est préparée à une concentration de 35 mg/kg de poids corporel (PC) dans du tampon citrate (0,05 M à pH=4,5).

3.1. Rôle de Streptozotocine

La Streptozotocine (STZ), également connue sous le nom de streptococcie, est un agent chimique présentant des effets spécifiques sur les cellules bêta pancréatiques. Ces cellules, qui possèdent des concentrations élevées du transporteur de glucose 2 (GLUT2), sont sélectivement sensibles à la toxicité de la Streptozotocine. Cet agent est un alkylant de nitrosourée, dont la structure chimique similaire à celle du glucose permet une absorption sélective au sein des cellules bêta pancréatiques (Figure 10).

La Streptozotocine induit un diabète sucré chez les animaux normaux, bien qu'elle soit principalement utilisée pour créer des modèles de diabète de type 1 chez les animaux de laboratoire.

La Streptozotocine présente une demi-vie rapide dans les organismes **(Mark G, 2016).**

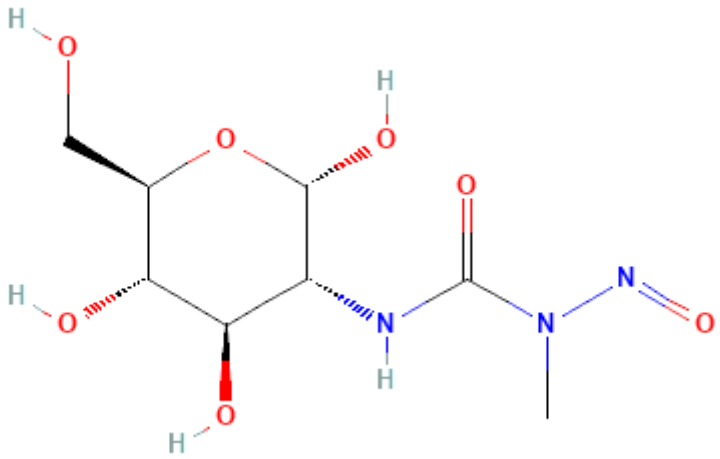


Figure 10: Structure chimique de la Streptozotocine (Weiss R.B, 1982).

4. Répartition des animaux et régimes expérimentaux

Dans le cadre de cette étude, 24 rats mâles Wistar sont utilisés, répartis en quatre groupes de six rats chacun. Le premier groupe, constitué de six rats, reçoit un régime iso-calorique ONAB tout au long de l'expérimentation et sert de groupe témoin négatif.

Les 18 rats rendus diabétiques, avec un poids moyen de 265g, sont répartis en trois groupes de six rats. Deux groupes de rats diabétiques sont soumis à un régime hyper-lipidique (HL) contenant respectivement 45% de blé non fermenté (BNF) et de blé fermenté de type Hamoum (BFH). Le troisième groupe diabétique non traité continue à consommer le régime HL pendant 28 jours et sert de groupe contrôle positif. Le protocole expérimental du diabète est schématisé dans la Figure 11.

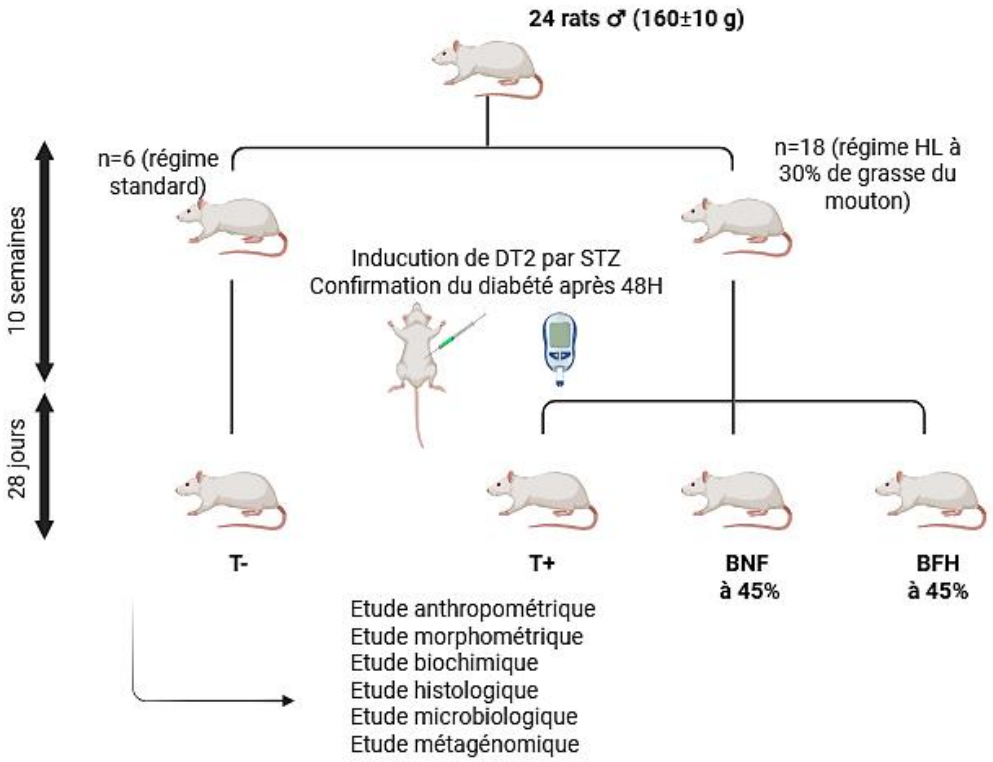


Figure 11: Protocole expérimental du diabète.

A la fin de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés. Des analyses anthropométriques, morphométriques, biochimiques, histologiques, microbiologiques et métagénomiques sont effectuées. La composition pondérale et énergétique des régimes utilisés est présentée dans le tableau 9. Le régime à base de BFH et BNF est supplémenté à 45% au régime hyperlipidique.

Tableau 9: Composition pondérale et énergétique des régimes expérimentaux.

Ingrédients (g/kg)	Régime Isocalorique [9]	Valeur énergétique (kcal/kg)	Régime Hyperlipidique	Valeur énergétique (kcal/kg)
Caséine [1]	200	800	200	800
Amidon de maïs [2]	550	2200	250	1000
Saccharases [3]	40	160	40	160
Mélange minéral [4]	40	0	40	0
Mélange vitaminique [5]	20	0	20	0
Cellulose [6]	50	0	50	0
Huile de tournesol [7]	100	900	100	900
Graisse du mouton [8]	-	-	300	2700
Total	**1000**	**4060**	**1000**	**5560**

(Régime iso-énergétique 20% de protéines (17 MJ/kg de régime) et du régime hyper-lipidique à 30% de graisse).

1. Prolabo-Paris, France.
2. ONAB, Sidi Bel Abbes, Algérie.
3. Sucre cristallisé, SARL SUKOR Algérie.
4. Mélange minéral (mg/kg de régime) $CaHPO_4$ 17200 ; KCl 4000; Na Cl 4000; MgO_2 420; $MgSO_4$ 2000; Fe_2O_3 120 ; $FeSO_4$, $7H_2O$ 200; $MnSO_4$, H_2SO_4, H_2O 98; $CuSO_4$, $5H_2O$ 20; $ZnSO_4$ 80 ; $CuSO_4$ 80; $CuSO_4$, $7H_2O$; KI, 0,327 UAR 200 (Villemoisson,91360, Epinay/S/Orge, France),
5. Mélange vitaminique (mg/kg de régime): Vit A 39600 UI; Vit D3 5000UI; Vit B1 40; Vit B2 30; Vit B3 140; Vit B6 20; Vit B7 300; Vit B12 0,1; Vit C 1600; Vit E 340; Vit K 3,80; Vit PP 200; Choline 2720; acide folique 10; para-amino-benzoïc-acid (PABA) 180; Biotine 0,6;
6. Cellulose qsp 20g (Prolabo-Fontenay sous-bois, France).
7. Huile de tournesol (13% AGS, 22% AGMI, 65% AGPI avec 65% oméga 6) Cévital, SPA, Béjaia, Algérie.
8. Graisse du mouton.
9. Régime iso-calorique (d'après **Boualga A, 2008)**.

4. Prélèvements du sang et des organes

Après 28 jours d'expérimentation, les six rats de chaque groupe sont anesthésiés, après un jeûne de 12 heures, par injection intra-péritonéale d'une solution de chloral (3 ml/kg) de poids corporel. Le sang est prélevé par ponction cardiaque, recueilli dans des tubes, puis centrifugé à 3500 tr/min pendant 20 minutes à 4 °C (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Allemagne). Le sérum obtenu est utilisé pour les différentes analyses biochimiques.

Les organes des différents groupes sont soigneusement prélevés et conservés dans une solution de formol tamponnée à 10% (pH 7). Les organes collectés comprennent : le foie, pancréas, tissu adipeux (viscéral et épididymaire) et reins.

5. Détermination des paramètres anthropométriques

À la fin de l'expérimentation, les rats sont soumis à plusieurs mesures morphométriques, incluant la circonférence abdominale, la circonférence thoracique et la longueur corporelle (distance nez-anus).

6. Analyses biochimiques

6.1. Dosage de la glycémie

La concentration de glucose sérique est déterminée par une méthode colorimétrique enzymatique utilisant la glucose oxydase (GOD) (Kit Biolabo, France). La GOD catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier réagit avec le chloro-4-phénol et le 4-aminoantipyrine en présence de peroxydase pour former une quinonéimine de couleur rouge. L'absorbance du complexe coloré, proportionnelle à la concentration en glucose, est mesurée à 500 nm. La concentration du glucose dans le sérum est calculée par la formule suivante :

$$\textbf{Glucose (mg/dl)} = \Delta \textbf{ DO échantillon x 100 } \Delta \textbf{ DO étalon}$$

6.2. Détermination des indices HOMA-IR et HOMA-β

L'indice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) a été calculé selon la méthode décrite par **Matthews D.R *et al*., (1985)** afin d'évaluer la résistance à l'insuline. Cet indice repose sur les valeurs de la glycémie et de l'insulinémie mesurées à jeun.

$$\textbf{HOMA-IR} = [\textbf{Glucose (mmol/L)} \times \textbf{Insuline (mU/L)}]/22{,}3$$

L'indice HOMA-β (Homeostasis Model Assessment of β-cell function) permet d'estimer la fonction des cellules β-pancréatiques productrices d'insuline. Le calcul a été réalisé selon la formule :

HOMA-β = (20 × insuline (µU/ml) / (glucose (mmol/l) - 3,5

6.3. Détermination du taux d'hémoglobine glyquée

Le degré de glycosylation de l'hémoglobine est déterminé par une méthode chromatographique (kit Bio Systems, Costa Brava, Espagne). Après préparation d'un hémolysat dont la fraction labile a été éliminée, les différentes formes d'hémoglobine sont retenues sur une résine échangeuse de cations. L'hémoglobine A1c (HbA1c) est ensuite éluée spécifiquement, après élimination par lavage de l'hémoglobine A1a+b (HbA1a+b), puis quantifiée par spectrophotométrie (Spectrophotomètre Jasco, Royaume-Uni) à une longueur d'onde de 415 nm. La concentration relative de l'HbA1c est exprimée en pourcentage de l'hémoglobine totale.

6.4. Dosage de l'insulinémie

La concentration d'insuline sérique est déterminée par une technique immuno-enzymatique (Rat Ins1 Insulin ELISA Kit, RAB0904.USA). Le principe de cette méthode repose sur une compétition entre l'insuline libre et l'insuline couplée à l'acétylcholinestérase (AChE) pour des sites de liaison spécifiques à l'insuline, présents dans un antisérum de rat. Le complexe formé entre l'anticorps de rat et l'insuline libre se fixe à un anticorps (rat) immobilisé sur les puits de la plaque. Après un lavage à l'aide d'un tampon, le réactif d'Ellman, contenant le substrat enzymatique de l'AChE et un chromogène, est ajouté.

L'AChE réagit avec le réactif d'Ellman pour former un composé de couleur jaune. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à 405 nm, est inversement proportionnelle à la concentration d'insuline libre dans l'échantillon de sérum.

6.5. Dosage des transaminases

6.5.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

L'activité des ASAT (TGO) est déterminée par une méthode cinétique utilisant un kit commercial (Biolabo, France). La réaction entre l'acide L-aspartique et l'acide α-cétoglutarique est catalysée par l'enzyme transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO/ASAT). L'acide oxaloacétique formé est ensuite réduit en acide malique par l'enzyme malate déshydrogénase (MDH), en présence du cofacteur NADH. Cette réaction induit une

diminution de l'absorbance liée à l'oxydation du NADH en NAD^+ . De plus, de la lactate déshydrogénase (LDH) est ajoutée à la formulation afin de neutraliser le pyruvate endogène et prévenir toute interférence.

La variation d'absorbance par minute (ΔAbs/min) est directement proportionnelle à l'activité de la GOT dans l'échantillon, dans des conditions de réaction optimales.

La lecture de la DO se fait à une longueur d'onde λ=340 nm. La concentration de la TGO dans le sérum est déduite par la formule suivante :

TGO (U/L) = 1746 x Δ DO échantillon / min

6.5.2. Dosage de l'alanine Aminotransférase (ALAT)

Pour évaluer l'activité de la TGP, la méthode cinétique est utilisée pour mesurer l'ALAT (Kit Biolabo, France). La TGP/ALAT est une enzyme qui catalyse la réaction entre l'alanine et l'acide a-cétoglutarique. En présence de l'enzyme auxiliaire LDH, le cofacteur NADH réduit l'acide pyruvique, ce qui entraîne une modification de l'Abs du milieu dans des conditions optimales de réaction. La concentration d'enzyme TGP dans l'échantillon est directement corrélée à la ΔAbs/min.

La lecture de la DO se fait à une longueur d'onde λ=340 nm. La concentration de la TGP dans le sérum est déduite par la formule suivante :

TGP (U/L) = 1746 x Δ DO échantillon / min

6.6. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine est réalisé selon une méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation, à l'aide d'un kit commercial (Biomagreb), selon la méthode décrite par **Henry JB. (1984)**. En milieu alcalin, la créatinine forme un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration en créatinine.

La lecture de la densité optique (DO) s'effectue à une longueur d'onde de 492 nm. La concentration de créatinine sérique est calculée à l'aide de la formule suivante :

Créatinine (mg/dL) = (ΔDO échantillon × 2) / ΔDO étalon

6.7. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée est réalisé selon la méthode de Berthelot modifiée (1859), à l'aide d'un kit commercial (Biomagreb). Les ions ammonium, issus de l'hydrolyse de l'urée,

réagissent en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium pour former un composé de couleur verte, le dicarboxylindophénol. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration en urée.

La lecture de la densité optique (DO) s'effectue à une longueur d'onde de 590 nm. La concentration d'urée sérique est calculée à l'aide de la formule suivante :

Urée (mg/dl) = (DO échantillon × 50) / DO étalon

6.8. Profil lipidique

6.8.1. Dosage des triglycérides sériques

Les concentrations des triglycérides (TG) sériques sont estimées par une méthode colorimétrique enzymatique, à l'aide d'un kit GPO-POD (Spinreact, Gérone, Espagne). Après hydrolyse enzymatique et oxydation, les TG contenus dans l'échantillon produisent un complexe coloré, dont l'intensité est proportionnelle à leur concentration, mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 505 nm. Le composé coloré, la quinonéimine, est formé à partir du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et d'un mélange de 4-aminoantipyrine et de chlorophénol, sous l'action de la peroxydase (POD).

La lecture de la densité optique (DO) se fait à une longueur d'onde λ=505 nm. La concentration des triglycérides dans le sérum est déduite par la formule suivante :

Triglycérides (mg/dl) = (DO échantillon × 200) / DO étalon

6.8.2. Dosage de Cholestérol total

Le dosage du cholestérol total est réalisé par une méthode enzymatique colorimétrique, à l'aide d'un kit commercial (Biolabo, France). Le cholestérol présent dans le sérum ou le plasma est hydrolysé par le cholestérol estérase, puis oxydé par le cholestérol oxydase, produisant du cholest-4-én-3-one et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier réagit avec un chromogène en présence de peroxydase, formant un complexe coloré. L'intensité de la coloration, proportionnelle à la concentration en cholestérol total, est mesurée par spectrophotométrie.

La lecture de la densité optique (DO) se fait à une longueur d'onde λ=500 nm. La concentration du cholestérol total dans le sérum est calculée par la formule suivante :

Cholestérol total (mg/dL) = (DO échantillon × 200) / DO étalon

7. Analyse bactériologique

À l'issue d'une période expérimentale de 10 semaines, des prélèvements sont réalisés sur les animaux avant leur euthanasie. La flore buccale est échantillonnée par écouvillonnage. Après euthanasie, des prélèvements de chyme intestinal sont effectués au niveau du jéjunum et du côlon. Toutes les manipulations sont menées dans des conditions strictement stériles, afin de préserver l'intégrité microbiologique des échantillons.

7.1. Dénombrement bactérien à partir de la bouche, intestin et fèces

Une série de dilutions décimales est réalisée à partir de chaque prélèvement fraîchement collecté. Un millilitre (1 ml) des dilutions 10^{-1}, 10^{-3} et 10^{-5} est ensemencé en surface sur des boîtes de Pétri contenant différents milieux de culture : le milieu MRS (gélose Man, Rogosa et Sharpe, pH 5,4 et pH 6,4) pour l'isolement des bactéries lactiques, **(De Man JC *et al.*, 1960)**, et la gélose nutritive pour la flore bactérienne et fongique peu exigeantes.

Pour les bactéries lactiques, les boîtes sont incubées à 37 °C / 24 à 48 heures et à 30°C pour la flore bactérienne et fongique peu exigeantes. Seules les boîtes ayant un nombre de colonies entre 30 et 300 sont considérées comme positive, et retenues pour le dénombrement. Les résultats sont exprimés en log UFC/g de poids frais (Unité Formant Colonie).

7.2. Caractéristiques macroscopiques

L'examen macroscopique offre la possibilité de caractériser l'apparence des colonies bactériennes cultivées sur un milieu solide, en se basant sur divers paramètres : dimension, couleur, forme, contour, relief, texture et consistance (viscosité). Ces caractéristiques offrent des indices préliminaires concernant l'identité des micro-organismes isolés.

8. Analyse métagénomique

Le protocole employé s'appuie sur les recommandations méthodologiques de l'INRAE pour l'étude du microbiote intestinal chez les rats.

L'analyse métagénomique du microbiote intestinal a été réalisée à partir d'échantillons fécaux collectés chez les rats expérimentaux. Immédiatement après excrétion, les fèces ont été prélevées à l'aide d'une pince stérile, transférées dans des tubes Eppendorf, puis rapidement congelées à -80 °C afin de préserver l'intégrité de l'ADN microbien. Pour chaque extraction, environ 150 mg de fèces ont été utilisés. L'extraction de l'ADN total a été

réalisée à l'aide du kit QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit (QIAGEN, Hilden, Allemagne), couramment utilisé pour les matrices complexes et riches en inhibiteurs comme les fèces de rongeurs. La lyse cellulaire a été optimisée par un traitement mécanique intensif (bead-beating) dans un appareil FastPrep-24™, en présence de billes de zirconium/silice de 0,1 mm, permettant une désintégration efficace des parois bactériennes, notamment celles des bactéries Gram-positives.

Les étapes de purification ont été conduites selon les instructions du fabricant. La qualité et la concentration de l'ADN extrait ont été évaluées par spectrophotométrie (Nanodrop™) pour déterminer la pureté (rapport A260/A280 compris entre 1,8 et 2,0) et par fluorométrie (Qubit™ dsDNA HS Assay Kit, Thermo Fisher Scientific) pour une quantification précise. L'intégrité de l'ADN a été vérifiée sur gel d'agarose 1%.

Pour la caractérisation du microbiote, deux approches ont été envisagées. Dans le cadre de l'approche amplicon 16S rRNA, les régions hypervariables V3-V4 du gène codant pour l'ARN ribosomique 16S ont été amplifiées par PCR à l'aide des amorces universelles 341F (5′-CCTACGGGNGGCWGCAG-3′) et 806R (5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′), avec l'ajout d'adaptateurs Illumina. Les produits de PCR (~460 pb) ont été purifiés à l'aide de billes magnétiques (AMPure XP), quantifiés, indexés et regroupés en pool pour un séquençage en paired-end (2×300 pb) sur la plateforme Illumina MiSeq.

Dans l'approche shotgun, l'ADN génomique a été fragmenté, puis les librairies ont été préparées à l'aide du kit Nextera XT DNA Library Prep (Illumina), incluant l'étape de ligation d'adaptateurs et d'indexation. Le séquençage a été réalisé en paired-end (2×150 pb) sur un séquenceur Illumina NovaSeq 6000 ou MGI DNBSEQ-T7, permettant une couverture de 5 à 10 millions de lectures par échantillon.

Les fichiers bruts issus du séquençage ont été traités selon un pipeline bioinformatique adapté. Pour les séquences 16S, l'analyse a été conduite sous R avec le package DADA2 pour l'identification des séquences variantes (ASV), et l'annotation taxonomique a été effectuée à l'aide de la base SILVA. Pour les données shotgun, les séquences ont été prétraitées avec Trimmomatic, puis classifiées taxonomiquement via MetaPhlAn3 ou Kraken2, et annotées fonctionnellement à l'aide de HUMAnN3 en se basant sur les bases KEGG, EggNOG et CAZy. Les analyses de diversité (alpha, bêta) et d'abondance différentielle ont été réalisées sous R à l'aide des packages phyloseq, vegan et DESeq2.

9. Etude histologique

La présente étude vise à vérifier l'existence d'altérations au niveau de la structure histologique des divers organes prélevés en se référant à la méthode de **Houlot R. (1984)**.

9.1. Fixation

Les tissus sont collectés et immédiatement placés dans des récipients contenant une solution de formol tamponné à 10%, puis laissés à température ambiante pendant 48 heures. Ce processus de fixation empêche la détérioration des tissus tout en préservant leur structure.

9.2. Déshydratation et la clarification

À la suite de la fixation, les tissus sont immergés dans des bains d'alcool à des degrés croissants (70%, 95%, 100%), puis dans deux bains de xylène. L'objectif de ces étapes est d'une part d'infiltrer l'eau dans les tissus et d'autre part de purger l'alcool des tissus.

9.3. Inclusion et enrobage

Ensuite, chaque tissu est immergé dans des bains de paraffine liquide à une température de 56°C pendant 1h30. Grâce à cette étape, la cire de paraffine pénètre dans les zones "vides" des tissus. Les tissus imprégnés sont ensuite incorporés dans des blocs de paraffine afin d'obtenir des blocs homogènes contenant les fragments des tissus.

9.4. Coupes et coloration des échantillons

Les tissus sont coupés à l'aide d'un microtome d'une épaisseur de 5 µm. Par la suite, étalées et fixées les coupes sur une lame de microscope en utilisant une eau gélatineuse. Déparaffiner et réhydrater par une série de bains de xylène et d'un bain d'alcools de degré décroissant, respectivement. La coloration des lames est assurée par l'hématoxyline (bleu-violet du noyau) et l'éosine (rose du cytoplasme).

9.5. Observations microscopiques

L'observation microscopique s'effectue à différents grossissements (x10, x20 et x40) à l'aide d'un microscope optique.

10.Etude statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ($X \pm ES$). La comparaison des moyennes entre les groupes expérimentaux est réalisée à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA), suivie du test post hoc de Tukey pour les comparaisons multiples. Le seuil de signification statistique est fixé à 5 % ($p < 0,05$). L'analyse statistique est effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism (Version 9.00).

Notre recherche expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de Sécurité Alimentaire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie de l'Université Oran1 Ahmed Ben Bella.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'impact d'une supplémentation alimentaire en blé tendre fermenté traditionnellement dans une Matmora sur les paramètres biochimiques, microbiologiques, histologiques et sur le microbiote intestinal, chez le rat Wistar mâle rendu obèse.

1. Animaux

Dans le cadre de cette étude, nous avons utilisé des rats mâles de souche Wistar, provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie. Ces rats ont été élevés et habitués à leur environnement dans l'animalerie du Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire (LPNSA) avant toute manipulation. Ils ont été gardés dans des conditions d'hébergement respectant les normes en vigueur (Température : 23 ± 1 °C, Humidité : 55 ± 5 %, cycle lumineux de 12 h jour/nuit), avec un accès libre à l'eau et à la nourriture (*Ad-libitum*).

Les protocoles expérimentaux ont été réalisés en respectant les principes du bien-être animal, en minimisant le stress et l'agitation susceptibles d'interférer avec les résultats **(Council of European Communities, 1987)**.

2. Induction de l'obésité

Afin d'induire l'obésité, les rats pesant 120 ± 10 g âgés de 6 semaines sont soumis à un régime hyper-calorique de type cafétéria, composé d'un mélange de pâté, de biscuit, de fromage, de chips, de chocolat et de cacahuètes, salami avec les proportions de 2:2:2:1:1:1:1 respectivement **(Darimont C *et al.*, 2004)** pendant une période de 10 semaines (Tableau 10).

Tableau 10 : Composition pondérale et énergétique du régime Cafétéria.

Composition	Quantité (1000 g)	Valeur énergétique (Kcal/100 g)
Pâté	100	350
Biscuit	100	480
Fromage	100	400
Chips	50	540
Chocolat	50	545
Cacahuètes	50	575
Salami	50	400
Régime iso-calorique	500	2030
Total	**1000**	**5320**

Dans le régime Cafeteria les proportions de protéines est a 16%, Glucides 24% et Lipides 60%.

3. Répartition des animaux et régimes expérimentaux

Dans le cadre de cette étude, 24 rats mâles Wistar sont utilisés, répartis en quatre groupes de six rats chacun. Le premier groupe, constitué de six rats, reçoit un régime iso-calorique ONAB tout au long de l'expérimentation (28 jours) et sert de groupe T$^-$.

Les 18 rats rendus obèses, avec un poids initial moyen de 120 ±10 g, sont répartis en trois groupes de six animaux. Deux groupes de rats obèses sont soumis à un régime hyper calorique de type Cafétéria contenant respectivement 45% (g/100 g de régime) de blé non fermenté (BNF) et de blé fermenté de type Hamoum (BFH) pendant 28 jours. Le troisième groupe obèse non traité continue à consommer le régime Cafétéria pendant 28 jours et sert de groupe contrôle positif. Le protocole expérimental d'obésité est schématisé dans la figure 12.

A la fin de l'expérimentation, les animaux sont sacrifiés. Des analyses anthropométriques, morphométriques, biochimiques, histologiques, microbiologiques et métagénomiques sont effectuées.

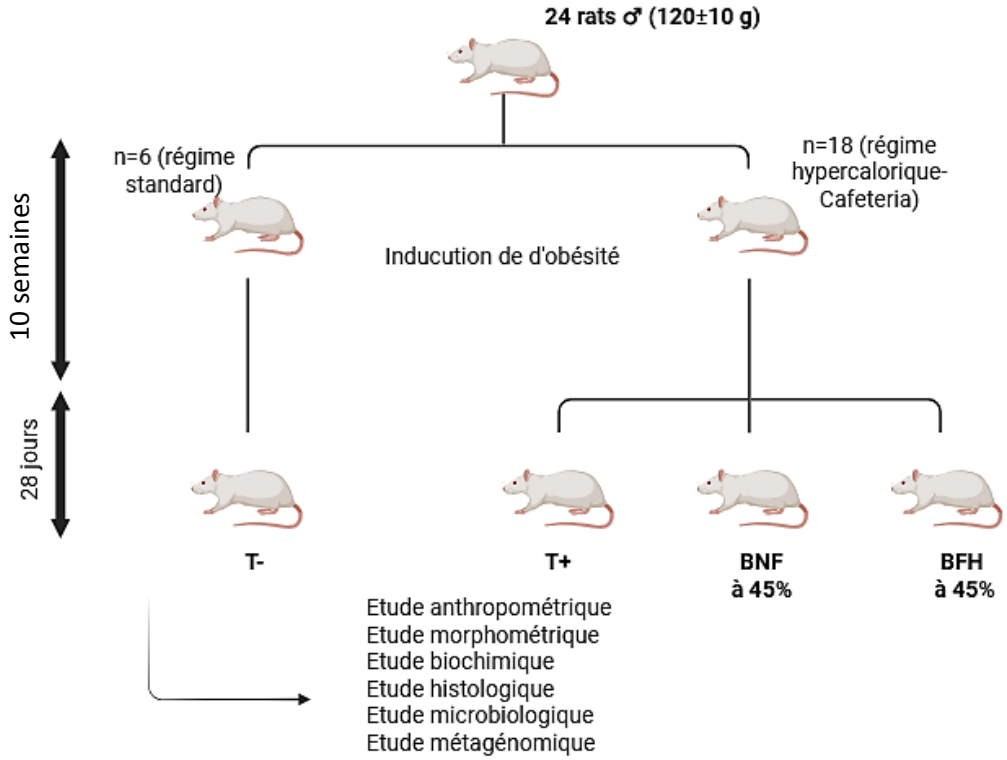


Figure 12: Protocole expérimental de l'obésité.

4. Prélèvements du sang et des organes

Conformément au protocole, à l'issue de l'expérience, chaque groupe de six rats est anesthésié avec une injection intra-péritonéale de chloral (3 ml/kg de poids corporel), après un jeûne de douze heures. Le prélèvement sanguin s'effectue par ponction cardiaque, et les échantillons sont ensuite centrifugés à 3500 tr/min pendant 20 minutes à 4 °C (Sigma, 4K10 Bioblock Scientific, Allemagne). Le sérum obtenu est utilisé pour les différentes analyses biochimiques.

Les organes des différents groupes (foie et les tissus adipeux (viscéral et épididymaire) et les reins ont été prélevés avec soin et conservés dans une solution de formol tamponné à 10 %, avec un pH de 7.

5. Détermination des paramètres anthropométriques

À la fin de l'expérimentation, les rats sont soumis à plusieurs mesures morphométriques, incluant la circonférence abdominale, la circonférence thoracique et la longueur corporelle (distance nez-anus).

6. Analyses biochimiques

6.1. Dosage de la glycémie

Ce dosage est mesuré par une méthode enzymatique colorimétrique basée sur l'utilisation de la glucose oxydase (GOD) (Kit Biolabo, France). Cette enzyme catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le H_2O_2 ainsi formé réagit ensuite avec le chloro-4-phénol et le 4-aminoantipyrine, en présence de peroxydase, pour produire une quinonéimine de couleur rouge. L'intensité de cette coloration, est proportionnelle à la concentration en glucose, elle est évaluée par une mesure d'absorbance à 500 nm. La concentration du glucose dans le sérum est calculée par la formule suivante :

$$\textbf{Glucose (mg/dl)} = (\Delta DO \text{ échantillon} \times 100) / \Delta DO \text{ étalon}$$

6.2. Dosage de C-reactive protein (CRP)

La CRP est un biomarqueur important de l'inflammation, car son taux augmente considérablement en cas d'inflammation. C'est un dosage immunologique turbidimétrique permettant la mesure quantitative de la CRP sérique (C-reactive Protein, Mindray, CRP0102).

6.3. Dosage des transaminases

6.3.1. Dosage l'aspartate aminotransférase (ASAT)

L'activité des ASAT (TGO) est évaluée à l'aide d'une méthode cinétique utilisant un kit commercial (Biolabo, France). La réaction enzymatique implique la catalyse de l'acide L-aspartique par l'acide α-cétoglutarique sous l'action de la transaminase glutamique-oxaloacétique (TGO/ASAT), produisant de l'acide oxaloacétique. Ce dernier est ensuite réduit en acide malique par la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH, dont l'oxydation en NAD^+ entraîne une diminution mesurable de l'absorbance. De la lactate déshydrogénase (LDH) est également incorporée pour éliminer le pyruvate endogène et éviter les interférences. La variation d'absorbance par minute (ΔDO/min), mesurée dans des

conditions optimales, est proportionnelle à l'activité enzymatique de la TGO dans l'échantillon.

La lecture de la DO se fait à une longueur d'onde λ=340 nm. La concentration de la TGO dans le sérum est déduite par la formule suivante :

TGO (U/L) = 1746 x Δ DO échantillon / min

6.3.2. Dosage de l'alanine Aminotransférase (ALAT)

L'activité de la TGP (ALAT) est déterminée par une méthode cinétique à l'aide d'un kit commercial (Biolabo, France). L'enzyme TGP/ALAT catalyse la réaction entre l'alanine et l'acide α-cétoglutarique, produisant de l'acide pyruvique. En présence de la lactate déshydrogénase (LDH), ce pyruvate est réduit en lactate grâce au NADH, dont l'oxydation entraîne une diminution de l'absorbance du milieu réactionnel. Cette variation d'absorbance par minute (ΔAbs/min), mesurée dans des conditions optimales, est proportionnelle à la concentration d'ALAT dans l'échantillon.

La lecture de la DO se fait à une longueur d'onde λ=340 nm. La concentration de la TGP dans le sérum est déduite par la formule suivante :

TGP (U/L) = 1746 x Δ DO échantillon / min

6.4. Dosage de la créatinine

La concentration de créatinine est déterminée par une méthode colorimétrique cinétique sans déprotéinisation (Kit Biolabo, France), selon la méthode décrite par **Henry JB. (1984)**. En milieu alcalin, la créatinine réagit avec l'acide picrique pour former un complexe coloré. La vitesse de formation de ce complexe est directement proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.

La lecture de la densité optique (DO) s'effectue à une longueur d'onde de 492 nm. La concentration de créatinine sérique est calculée à l'aide de la formule suivante :

Créatinine (mg/dl) = (ΔDO échantillon × 2) / ΔDO étalon

6.5. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée est effectué selon la méthode de Berthelot modifiée (1859), à l'aide d'un kit commercial (Biolabo, France). L'hydrolyse de l'urée libère des ions ammonium, qui réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium pour former un

composé coloré vert, le dicarboxylindophénol. L'intensité de la coloration obtenue, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon.

La lecture de la densité optique (DO) s'effectue à une longueur d'onde de 590 nm. La concentration d'urée sérique est calculée à l'aide de la formule suivante :

Urée (mg/dL) = (DO échantillon × 50) / DO étalon

6.6. Profil lipidique

6.6.1. Dosage des triglycérides sériques (TG)

La concentration des TG sériques est déterminée par une méthode enzymatique colorimétrique à l'aide d'un kit GPO-POD (Biolabo, France). Les TG présents dans l'échantillon sont d'abord hydrolysées enzymatiquement, puis oxydés, produisant du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier réagit avec un mélange de 4-aminoantipyrine et de chlorophénol, sous l'action de la peroxydase (POD), pour former une quinonéimine, un composé coloré. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie à 505 nm, est proportionnelle à la concentration en triglycérides.

La lecture de la densité optique (DO) se fait à une longueur d'onde λ=505 nm. La concentration des triglycérides dans le sérum est déduite par la formule suivante :

Triglycérides (mg/dl) = (DO échantillon × 200) / DO étalon

6.6.2. Dosage de Cholestérol total

Le cholestérol total est dosé à l'aide d'une méthode enzymatique colorimétrique, utilisant un kit commercial (Biolabo, France). Le cholestérol contenu dans le sérum ou le plasma est d'abord hydrolysé par la cholestérol-estérase, puis oxydé par la cholestérol-oxydase, générant du cholest-4-én-3-one et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce peroxyde réagit ensuite avec un chromogène, en présence de peroxydase, pour former un complexe coloré. L'intensité de cette coloration, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en cholestérol total.

La lecture de la densité optique (DO) se fait à une longueur d'onde λ=500 nm. La concentration du cholestérol total dans le sérum est calculée par la formule suivante :

Cholestérol total (mg/dl) = (DO échantillon × 200) / DO étalon

6.6.3. Dosage du C-HDL

Le cholestérol HDL est dosé à l'aide de kits commerciaux (Prolab, France), la lecture est effectuée à une longueur d'onde de 505 nm.

6.6.4. Détermination du C-LDL

Le cholestérol LDL est calculé selon la formule de **Friedewald W.T *et al*. (1972).**

LDL-C = CT-(HDL-C + TG/5)

6.6.5. Indice d'athérogénicité

L'indice d'athérogénicité plasmatique est un paramètre prédictif du risque cardiovasculaire. Il est calculé selon la formule suivante :

IA (%) = CT/C-HDL

7. Analyse bactériologique

Après une période expérimentale de 10 semaines, des prélèvements sont réalisés sur les animaux avant leur euthanasie. La flore buccale est prélevée par écouvillonnage. Après euthanasie, des échantillons de chyme intestinal sont prélevés au niveau du jéjunum mais aussi du côlon. Toutes les manipulations sont réalisées dans des conditions d'asepsie en vue de maintenir l'intégrité microbiologique des prélèvements.

7.1. Dénombrement bactérien à partir de la bouche, intestins et fèces

À partir de chaque échantillon prélevé fraîchement, une série de dilutions décimales a été réalisée ; 1 ml d'une dilution 10^{-1}, de 10^{-3} et pour 10^{-5} sont ensemencés en surface sur des boîtes de Pétri contenant le milieu MRS (Gélose Man, Rogosa et Sharpe, pH 5,4 et pH 6,4) pour l'isolement des bactéries lactiques et la gélose nutritive pour la flore bactérienne et fongique peu exigeante.

La température d'incubation est de 37 °C pendant 24 à 48 heures pour les bactéries lactiques et de 30 °C pour la flore bactérienne et fongique. Seules les boîtes ayant un nombre de colonies entre 30 et 300 sont prises en compte pour le dénombrement. Les résultats sont exprimés en log UFC/g de poids frais (Unité Formant Colonie).

7.1.1. Caractéristique macroscopique

L'observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies bactériennes développées sur milieu solide, en s'appuyant sur plusieurs critères : taille, pigmentation,

forme, bord, relief, surface et consistance (viscosité). Ces caractéristiques fournissent des indications préliminaires sur l'identité des micro-organismes isolés.

8. Analyse métagénomique

Le protocole employé s'appuie sur les recommandations méthodologiques de l'INRAE pour l'étude du microbiote intestinal chez les rats.

L'analyse métagénomique du microbiote intestinal a été réalisée à partir d'échantillons fécaux collectés chez les rats obèses (voir partie 2 : Diabète).

9. Etude histologique

Cette étude a pour objectif d'évaluer les éventuelles modifications de la structure histologique des organes prélevés. Les coupes histologiques ont été réalisées conformément à la méthode décrite par **Houlot R. (1984)** (voir la partie 2 : Diabète).

10.Etude statistique

Les résultats sont décrits sous la forme de moyennes ± erreur standard (X±ES). Afin de procéder à la comparaison des moyennes entre les groupes, une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée, associé au test post hoc de Tukey pour les comparaisons multiples. Le seuil de signification statistique a été fixé à $p<0,05$. Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism (Version 9.00).

Résultats

1. Evaluation qualitative du blé fermenté

1.1. Analyses physico-chimiques et biochimiques

Les différents paramètres physico-chimiques et biochimiques du blé sont analysés avant et après fermentation traditionnelle, ils sont présentés dans le tableau 11. Nous avons observé que la teneur en eau est supérieure dans le BFH par rapport au BNF (11,28% *Vs* 10,30%). Cette teneur élevée en eau est due principalement au taux d'humidité élevée dans la matmora (un environnement confiné), favorisant principalement la fermentation naturelle spontanée.

La teneur en protéines est inférieure dans le BFH par rapport au BNF, cela peut être expliqué par l'utilisation des protéines comme un substrat énergétique par la flore microbienne. Nos résultats sont confirmés par le dosage du gluten dans lequel nous avons constaté une dégradation totale dans les échantillons de BFH.

Les teneurs en lipides, les cendres et les fibres totales sont considérablement inferieures dans le BFH comparé au BNF. Cette différence pourrait être expliquée par le processus de fermentation.

On a constaté également une augmentation de l'acidité grasse dans le BFH par rapport au BNF, ceci est due vraisemblablement à la libération des acides gras volatiles, entrainant une diminution du pH (6,68 *Vs* 5,73).

Tableau 11: Caractéristiques physico-chimiques comparatives de BNF et BFH.

Paramètres	BNF	BFH	Normes
Teneur en eau (%)	10,30	11,28	*ISO 712 :2009*
Teneur en cendres (%)	2,99	1,52	*ISO 2171 :1980*
Teneur en lipides (%)	3,67	2,76	*ISO 7302 :1982*
Teneur en protéines (%)	16,82	9,32	*ISO 16634 : 2008*
Acidité grasse (%)	0,16	1,08	*ISO 7305 :2019*
pH	6,68	5,73	*NF: V05-108/1970*
Teneur en fibres totales (%)	4,28	3,45	*ISO 5498 :1981*

1.2. Paramètres physiques, qualitatifs et technologiques

Les résultats du tableau 12 montrent que la masse de 1000 grains du BFH est légèrement élevée par rapport au BNF (40,44 g *Vs* 39,59 g). La fermentation aboutit à l'intégration de la flore bactérienne lactique avec ses biofilms dans les graines, ce qui entraine une augmentation de sa masse (poids spécifique). Par contre, la masse à l'hectolitre du BFH est faible par rapport au BNF (50,4 kg/HI *Vs* 80 kg/HI), cela est due vraisemblablement à la détérioration de la structure interne des grains après fermentation (moins denses voir même vides).

Nous avons remarqué que le taux de mitadinage du BFH est de 100% comparé au BNF avec 0,05%. Quasiment, tous les grains de BFH sont mitadinés farineux non vitreux. Selon Hagberg-Perten, l'indice de chute de BNF est supérieur par rapport au BFH. Cette dégradation peut être due principalement à la forte activité métabolique de la flore microbienne.

Tableau 12 : Paramètres physiques, qualitatifs et technologiques du BNF et BFH.

Paramètres	BNF	BFH	Normes
Masse de 1000 grains (g)	39,59	40,44	*NF EN ISO 520*
Masse à l'hectolitre ou le poids spécifique (kg/Hl)	80	50,4	*ISO 7971-3/2019*
Taux de mitadinage (%)	0,05	100	*ISO 11051 :1994*
Taux du gluten (%)	27,15	0	*ISO5531*
Indice de chute (Hagberg-Perten) (Seconde)	270	80	*NFV.03.703 :1972*

1.3. Détermination des métaux lourds

Les résultats de la détermination des métaux lourds (Tableau 13) révèlent des différences notables entre les deux échantillons. En ce qui concerne le mercure, la teneur observée dans le BFH est plus élevée que celle détectée dans le BNF. Une tendance similaire est observée pour le plomb, dont la concentration dans le BFH dépasse celle mesurée dans le BNF. En revanche, l'analyse de l'arsenic met en évidence une concentration plus importante dans le BNF comparativement au BFH. Ces métaux existent

à l'état naturel dans le sol en l'occurrence dans nos échantillons sont sans impact éco-toxicologiques et restent donc conformes aux normes (NF EN 13650).

Tableau 13 : Comparaison des concentrations en métaux lourds des échantillons de BNF et BFH par rapport aux limites réglementaires (NF EN13650).

Paramètres	BNF	BFH	Normes (selon NF EN 13650)
Mercure (mg/kg/ms)	0,006	0,03	*< 1mg/kg/ms*
Plomb (mg/kg/ms)	0,006	0,029	*< 100 mg/kg/ms*
Arsenic (mg/kg/ms)	0,17	0,08	*< 10 mg/kg/ms*

1.4. Analyses électrophorétiques des protéines du BNF et BFH

L'analyse électrophorétique réalisée par SDS-PAGE a permis de séparer les principales fractions protéiques du blé, à savoir les albumines/globulines et les gliadines. L'analyse du profil électrophorétique des albumines/globulines du BFH a révélé une absence totale de ces protéines. Le profil obtenu par le BNF montre les différentes bandes correspondant aux fractions protéiques qui sont bien visibles (Figure 13).

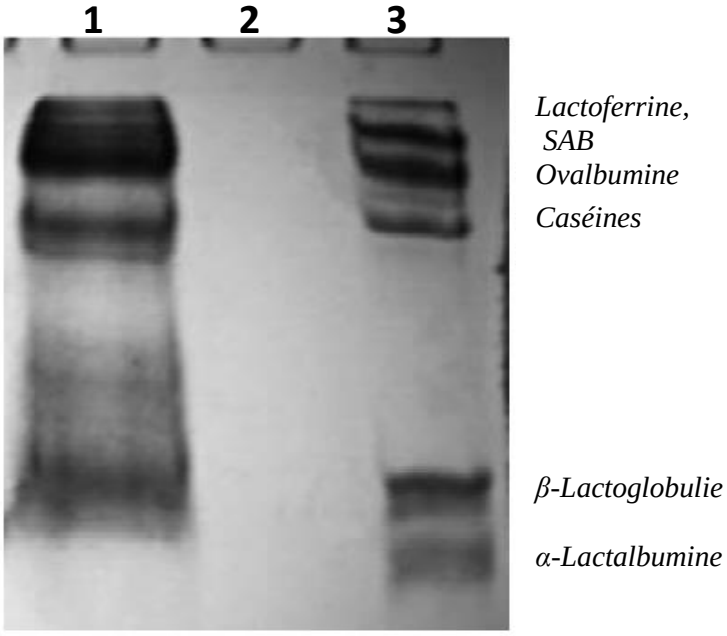


Figure 13 : Profil électrophorétique sur gel de polyacrylamide à 15% en présence de SDS des albumines/globulines.

1- *Blé tendre non fermenté (BNF) avec β-mercaptoéthanol.*
2- *Blé tendre fermenté (BFH) avec β-mercaptoéthanol.*
3- *Kit protéique (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45 kDa, Caséines 19-25 kDa, β-Lactoglobuline18 kDa, α-Lactalbumine 14 kDa).*

La figure 14 illustre le profil électrophorétique des gliadines des échantillons BNF et BFH. L'analyse révèle que, dans le cas du BFH, les bandes correspondant aux gliadines sont totalement absentes, traduisant une dégradation totale. En revanche, l'échantillon BNF présente des bandes bien définies, indiquant l'intégrité relative de ses gliadines.

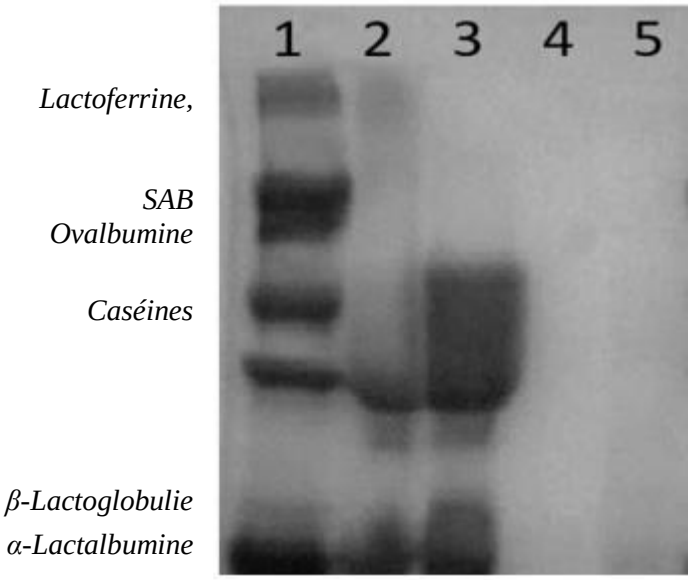


Figure 14: Profil électrophorétique sur gel de polyacrylamide à 10% en présence de SDS des gliadines.

1- Kit protéique (Lactoferrine 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumine 45 kDa, Caséines 19-25 kDa, β-Lactoglobuline18 kDa, α-Lactalbumine 14 kDa).

2- Blé tendre non fermenté (BNF) sans β-mercaptoéthanol.

3- Blé tendre non fermenté (BNF) avec β-mercaptoéthanol

4- Blé tendre fermenté (BFH) sans β-mercaptoéthanol.

5- Blé tendre fermenté (BFH) avec β-mercaptoéthanol.

1.5. Analyses chromatographiques des protéines du BFH par RP-HPLC

La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse donne d'excellentes séparations des polypeptides des gliadines basées sur les différences d'hydrophobicité de surfaces.

Les profils chromatographiques des gliadines natives ainsi que ceux du blé tendre fermenté de type Hamoum (BFH) et ceux du blé tendre non fermenté (BNF) sont illustrés dans les figures 15 et 16.

Le profil chromatographique des gliadines natives (Sigma Aldrich, G-3375 USA) présente plusieurs séries de pics, ils sont divisés en deux groupes en fonction de leurs temps de rétention et leurs interactions avec le support de la phase stationnaire. Les ω-gliadines sont les polypeptides appariés en premier sur le chromatogramme à un temps de rétention compris entre 20 et 26 min, Cela est du à leurs faibles hydrophobicités.

Le mélange des α – β et γ-gliadines apparait après les ω-gliadines entre un temps de rétention de 28 à 54 min. La surface des pics est plus importante par rapport à celle des ω-gliadines, ce qui nous mène à dire que l'interaction entre les gliadines et le support est plus élevée par son degré d'hydrophobicité élevé.

Le profil chromatographique du BFH montre une dégradation quasi-totale de ces fractions et la disparition des pics des gliadines (20-54 min) qui s'explique par la dégradation des gliadines par la flore microbienne du BFH par rapport au profil de BNF et au gliadines de référence.

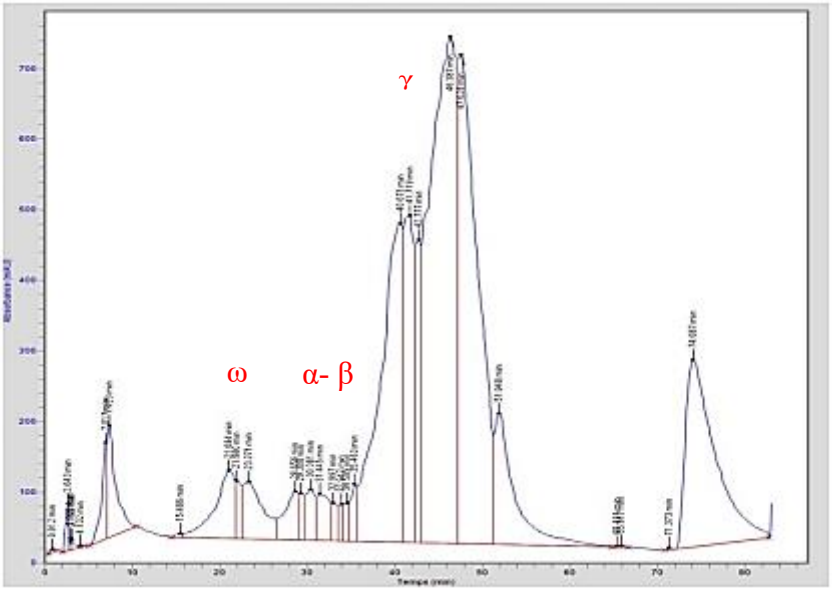


Figure 15 : Profil Chromatographique par RP-HPLC des gliadines natives (Standard de référence *(Sigma Aldrich, G-3375 USA)*.

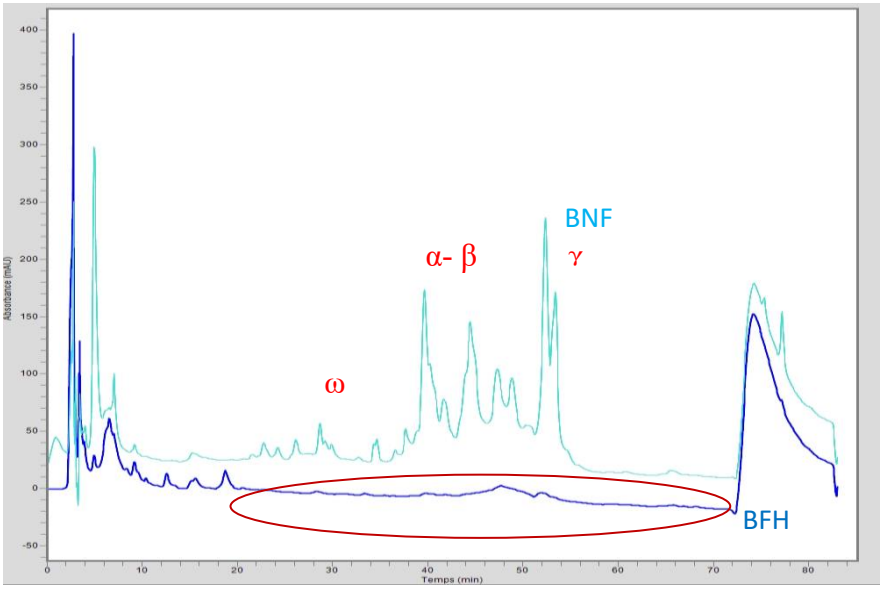


Figure 16: Profil Chromatographique par RP-HPLC des gliadines du BFH et du BNF.

2. Evaluation des activités biologiques *in vitro* du BFH

2.1. Détermination de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a révélé une capacité de piégeage des radicaux libres pour les deux échantillons analysés. Comme l'illustre la figure 17, le pourcentage d'inhibition du DPPH est plus élevé dans le BFH par rapport au BNF (27,61 ± 0,62 mg/ml *Vs* 24,56 ± 0,51 mg/ml) traduisant une meilleure efficacité antioxydante. Nous avons observé que la concentration inhibitrice médiane (IC50) du BFN est plus élevée (0,339 mg/ml) que celui du BFH (0,263 mg/ml). Ces résultats indiquent que le BFH possède un meilleur effet antioxydant.

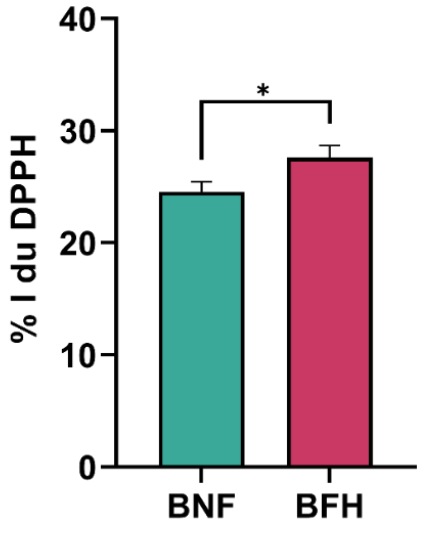


Figure 17 : Activité antioxydante du radical DPPH du BNF et du BFH.

*Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES). * p<0,05*

2.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire du BFH

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire sont présentés dans la figure 18. On a constaté que le BFH à un pouvoir anti-inflammatoire plus élevé d'une manière hautement significative. Les IC50 obtenues pour les deux échantillons sont respectivement de 0,122 mg/ml et 0,136 mg/ml, et qui ne présente aucune signification entre nos deux échantillons.

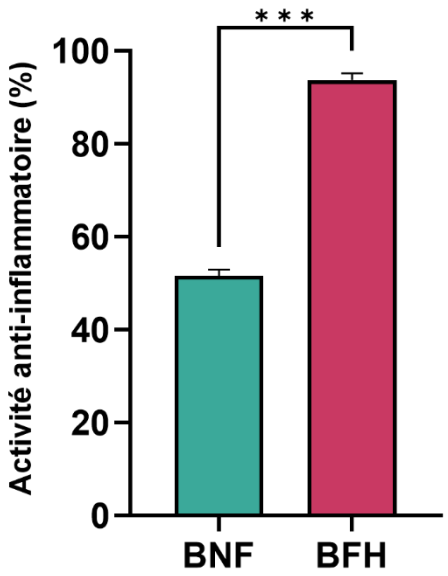


Figure 18 : Activité anti-inflammatoire du BNF et BFH.
*Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs standards (X±ES). *** p<0,001*

3. Etude bactériologique

Le dénombrement des colonies des bactéries lactiques isolées du BFH est de 2×10^5 UFC/g d'extrait de BFH (exprimé en Log_{10} UFC/g). Ces bactéries isolées et purifiées ont une forme sphérique, de taille uniforme, petite à moyenne, d'un aspect blanchâtre clair. L'observation microscopique a révélé des bactéries sous forme de bâtonnets, de coques avec un regroupement en chainettes, diplocoques isolés en chaines ou en grappes avec une coloration de Gram positive (Tableau 14) (voir annexe 08).

L'étude microbiologique du BNF n'a montré aucune croissance bactérienne calculable (inférieur à 30) sur les milieux sélectifs des bactéries lactiques. Nos deux échantillons BNF et BFH sont dépourvus de bactéries pathogènes selon les Normes Algériennes (Annexe 09).

Tableau 14 : résultats des tests d'identification des bactéries lactiques.

Paramètres	Résultats
Coloration de Gram	+
Catalase	-
Type de fermentation	Homo-fermentaire
Citrate	-
H_2S	-
Mannitol-mobilité	+/-
pH= 6	+
Température15 et 45°C	+/-
NaCl 2- 4 et 6,5 (%)	+/-
ADH (Arginine DiHydrolase)	-

1. Impact de la consommation d'un régime expérimental à base de blé fermenté sur la prise alimentaire et hydrique journalière

Pendant toute la période du protocole expérimental, la quantité de la ration alimentaire (exprimé en g/j/rat) ainsi que celle de l'eau consommée (exprimé en ml/j/rat) sont mesurées quotidiennement. Les résultats ont montré que les rats diabétiques soumis à un régime hyper lipidique ont ingérée une quantité d'aliment supérieure par rapport aux rats du groupe T^- (18,61%). Nous n'avons remarqué aucune différence significative chez les rats du groupe BNF et BFH comparé au groupe T^-. Cependant, une diminution significative de la consommation de 15,14% a été observée chez le groupe BFH comparé au groupe T^+. Aucune différence significative n'a été détecté entre le groupe BNF et BFH (Tableau 15).

Les rats diabétiques T^+ et les rats soumis à un régime à base de 45% de BNF et de 45% de BFH ont consommé une quantité d'eau plus importante ($p<0,001$) par rapport aux rats non diabétiques (87,25%, 71,61% et 75,73% respectivement). Par contre, une diminution significative a été observé entre les groupes BNF et BFH par rapport au groupe T positif (9,11% *Vs* 6,55% respectivement).

Tableau 15 : Evaluation de la prise alimentaire et hydrique chez les différents groupes expérimentaux.

	T^- (Régime Standard)	**T^+ (Régime Hyper-lipidique)**	**BNF**	**BFH**
Nourriture ingérée (g)	24,87 ± 0,97	29,5 ± 0,26 **	27,00 ± 0,90	25,62 ± 0,73 $^{££}$
Volume d'eau (ml)	30,37 ± 0,62	56,87 ± 0,66 ***	52,12 ± 0,76 $^{***,£££}$	53,37 ± 0,92 $^{***,£}$

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) *Vs* T^- : ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.

$^{£}$: Témoin (T^+) *Vs* groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ $p<0,05$; $^{££}$ $p<0,01$, $^{£££}$ $p<0,001$

2. Paramètres anthropométriques

2.1. Evaluation de la croissance pondérale

Les animaux de chaque lots étudiés (T^-, T^+, BNF et BFH) sont pesés hebdomadairement à jeun et à la même heure. La cinétique pondérale des animaux est étalée sur une période de 28 jours.

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel chez tous les rats diabétiques dès la première semaine par rapport aux rats témoins. Par contre, lors de la supplémentation du régime par le BNF et BFH et après une phase d'adaptation, nous avons constaté que le poids corporel des animaux s'est amélioré de façon significative.

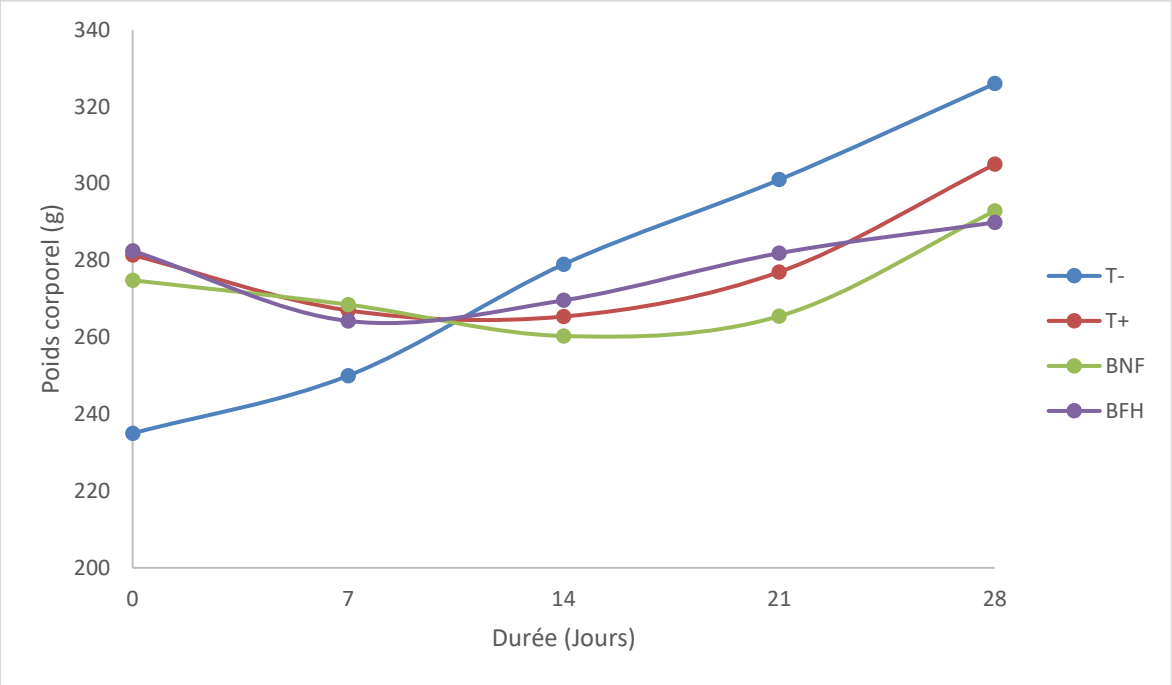


Figure 19 : Evaluation du poids corporel des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

T^- : *témoin négatif.*
T^+ : *témoin positif (rats diabétiques).*
***BNF** : rats diabétiques ayant consommés du BNF à 45 %.*
***BFH** : rats diabétiques ayant consommés du BFH à 45 %.*

2.2. Gain de poids

Après 28 jours de régime expérimental, nous avons constaté une augmentation significative du gain de poids entre les groupes T^- et T^+. Cependant, aucun changement significatif n'a été remarqué entre les groupes soumis au régime supplémenté de BNF et

celui de BFH. Par contre, nous avons remarqué une diminution significative du gain de poids entre les rats du groupe soumis au BFH comparé au groupe T^+ (figure 20).

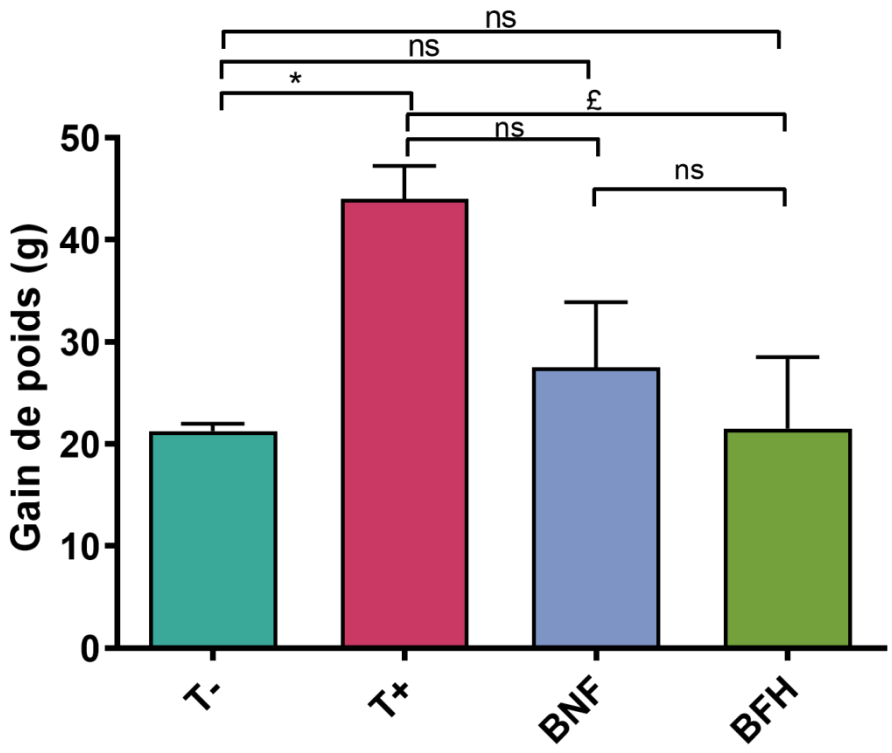


Figure 20 : Évolution du gain pondéral moyen (g) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X ± ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : * p<0,05.

$^£$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^£$ p<0,05.

2.3. Détermination des paramètres anthropométriques

Au cours de toute la période expérimentale, les rats ont subi différentes mensurations, la circonférence abdominale, la circonférence thoracique et la longueur du corps (nez-anus). Nos résultats ne montrent aucun changement statural de la longueur naso-anale et la circonférence thoracique. Par contre une augmentation hautement significative de la taille abdominale chez les rats du groupe T^+ par rapport au groupe T^- (p<0,001), et une diminution significative des rats soumis aux régimes expérimentaux BNF et BFH par rapport aux T^+ (Tableau 16).

Tableau 16 : Détermination des paramètres anthropométriques chez les différents groupes expérimentaux (N=6).

Paramètres	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime hypercalorique)	BNF	BFH
Longueur du corps (nez-anus) (cm)	23,31 ± 0,36	22,31 ± 0,23	22,31 ± 0,13	22,25 ± 0,36
Circonférence abdominale (cm)	20,37 ± 0,41	17,5 ± 0,25***	19,06 ± 0,37$^{£}$	19 ± 0,37$^{\$}$
Circonférence thoracique (cm)	17,75 ± 0,25	16,68 ± 0,29	16,5 ± 0,31	17 ± 0,38

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : *** p<0,001.
$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05.
$^{\$}$: BNF Vs BFH : $^{\$}$ p<0,05.

3. Evaluation du poids absolu et relatif des organes

3.1. Le poids absolu des organes

Le poids absolu des organes est mentionné dans le tableau 17, nous avons noté une diminution du poids des différents organes tels que le foie, les reins, le cœur et le pancréas chez les rats diabétiques du groupe témoin positif soumis à un régime hyper lipidique. Contrairement aux tissus adipeux dans lesquels on a remarqué une augmentation hautement significative (T^+ *Vs* T^-).

Il y a une amélioration du poids des organes par une augmentation du poids du foie, des reins, cœur et le pancréas des rats diabétiques soumis à un régime hyper lipidique supplémenté avec 45% de BFH à 45% de BNF, avec une diminution significative du poids des différents tissus adipeux (abdominal et épididymaire) par rapport au groupe T^+.

Tableau 17 : Evaluation du poids absolu des organes des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Organes	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime Hyper-lipidique)	BNF	BFH
Foie	12,09 ± 0,22	$10,18 \pm 0,18^{***}$	$11,17 \pm 0,27^{£}$	$11,21 \pm 0,27^{£}$
Rein droit	1,06 ± 0,04	$0,80 \pm 0,02^{**}$	$0,95 \pm 0,04^{£}$	$0,9\ 3\pm 0,03^{££}$
Rein gauche	0,92 ± 0,01	$0,76 \pm 0,02^{***}$	$0,90 \pm 0,04^{£}$	$0,91 \pm 0,02^{£}$
Pancréas	0,80 ± 0,02	$0,63 \pm 0,02^{*}$	$0,80 \pm 0,04^{£}$	$0,81 \pm 0,04^{££}$
Cœur	1,11 ± 0,04	$0,82 \pm 0,02^{*}$	0,98 ± 0,04	1,04 ± 0,08
Tissu adipeux abdominal	4,08 ± 0,2	$5,60 \pm 0,23^{***}$	$4,56 \pm 0,23^{££}$	$4,49 \pm 0,14^{££}$
Tissu adipeux épididymaire	2,83±0,17	$5.44 \pm 0,15^{***}$	$3,56 \pm 0,13^{£££}$	$3,33 \pm 0,27^{£££}$

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.
$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{££}$ p<0,05, $^{£££}$ p<0,05.

3.2. Le poids relatif des organes

Le poids relatif des organes [(poids de l'organe/poids corporel du rat) ×100] permet de renseigner sur l'évolution pondérale de l'organe par rapport au poids total de l'animal. Le tableau 18 montre les résultats obtenus des différents organes étudiés dans lequel on a constate une diminution hautement significative du poids relatif du foie, des reins, du pancréas et du cœur des rats des groupes diabétiques par rapport aux rats de groupe Témoin négatif (T^-). Par contre, une augmentation hautement significative de poids relatif des tissus adipeux (abdominal et de l'épididyme) des rats soumis à un régime hyper lipidique(T^+) par rapport aux rats soumis à un régime iso-calorique (T^-).

Les rats soumis à un régime supplémenté à 45% de BFH ont montré une amélioration significative du poids relatif du pancréas et des reins (23,80% *vs* 11,53%

respectivement) avec une diminution du poids relatif du tissu adipeux abdominal comparé au témoin positif (29,93 %).

Les rats soumis au régime supplémenté à 45% de BNF ont montré une diminution du poids relatif du tissu adipeux abdominal et de l'épididyme seulement (36,42% et 69,72%) par rapport au témoin négatif.

Tableau 18 : Evaluation du poids relatif des organes des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Organes	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime Hyper-lipidique)	BNF	BFH
Poids corporel (g)	289,87 ± 5,96	292,83 ± 4,67	326 ± 3,88	289,87 ± 5,96
Foie	4,17 ± 0,07	3,47 ± 0,06 ***	3,42 ± 0,08	3,67 ± 0,07
Rein droit	0,36 ± 0,004	0,27± 0,009***	0,29 ± 0,01	0,30 ± 0,003
Rein gauche	0,31 ± 0,004	0,26 ± 0,009***	0,27 ± 0,01	0,29 ± 0,002
Pancréas	0,27 ± 0,007	0,21 ± 0,007**	0,24 ± 0,01	0,26 ± 0,007
Cœur	0,38 ± 0,01	0,28 ± 0,009**	0,30 ± 0,01	0,34±0,02
Tissu adipeux abdominal	1,40 ± 0,06	1,91 ± 0,07***	1,40 ± 0,07£££	1,47 ± 0,04£££
Tissu adipeux épididymaire	0,97 ± 0,06	1,85 ± 0,05***	1,09 ± 0,04£££	1,09 ± 0,08

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : ** p<0,01, *** p<0,001.
$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{£££}$ p<0,05.

4. Analyses des paramètres hémato-biochimiques

4.1. Dosage de la glycémie sanguine

Le dosage de la glycémie a montré une augmentation hautement significative chez le groupe T^+ par rapport au groupe T^- (58,86%) (p<0,01), ce qui confirme l'installation du diabète. La glycémie des rats soumis au régime supplémenté à 45% de BNF ou de BFH, est nettement inférieure par rapport aux rats du groupe T^+ (p<0,01), le taux est de 55,99% chez le groupe BNF et de 84,55% chez le groupe BFH. Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre le groupe BNF et le groupe BFH (figure 21).

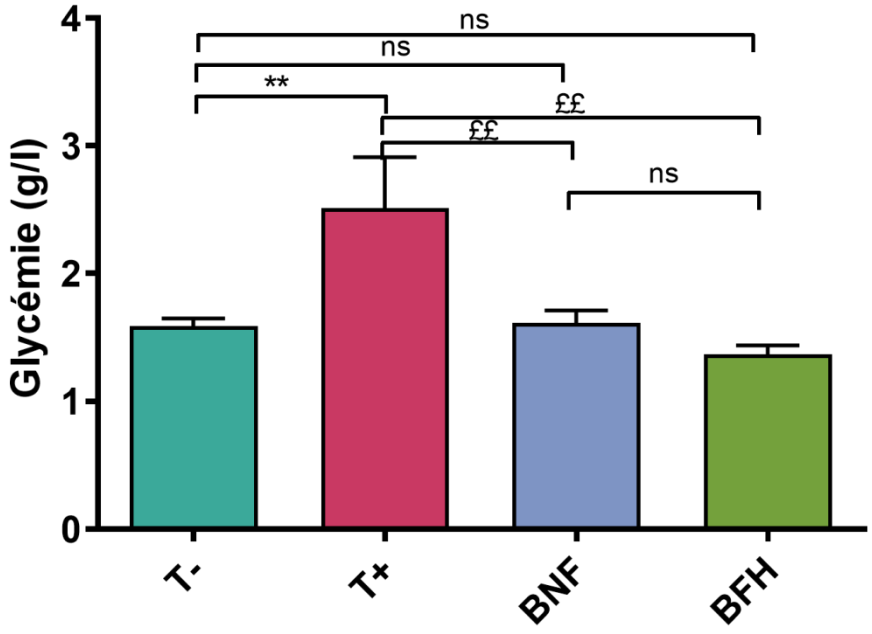


Figure 21 : Dosage de la glycémie à jeun (g/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : ** p<0,01.
$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{££}$ p<0,01.

4.2. Dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c)

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est un biomarqueur glycémique essentiel permettant de prouver l'existence d'une hyperglycémie chronique.

Les résultats relatifs au dosage de l'HbA1c montrent que les animaux du groupe T^{+} présentent un taux très significatif par rapport au groupe T^{-} ($p<0,001$). Ceci traduit un état d'hyperglycémie chronique. L'administration des régimes expérimentaux enrichis en BNF ou en BFH entraîne une réduction hautement significative d'HbA1c ($p<0,001$). Cependant, aucune différence notable n'a été observée entre les effets du BNF et BFH, lesquels demeurent comparables à ceux induits par le régime standard (Figure 22).

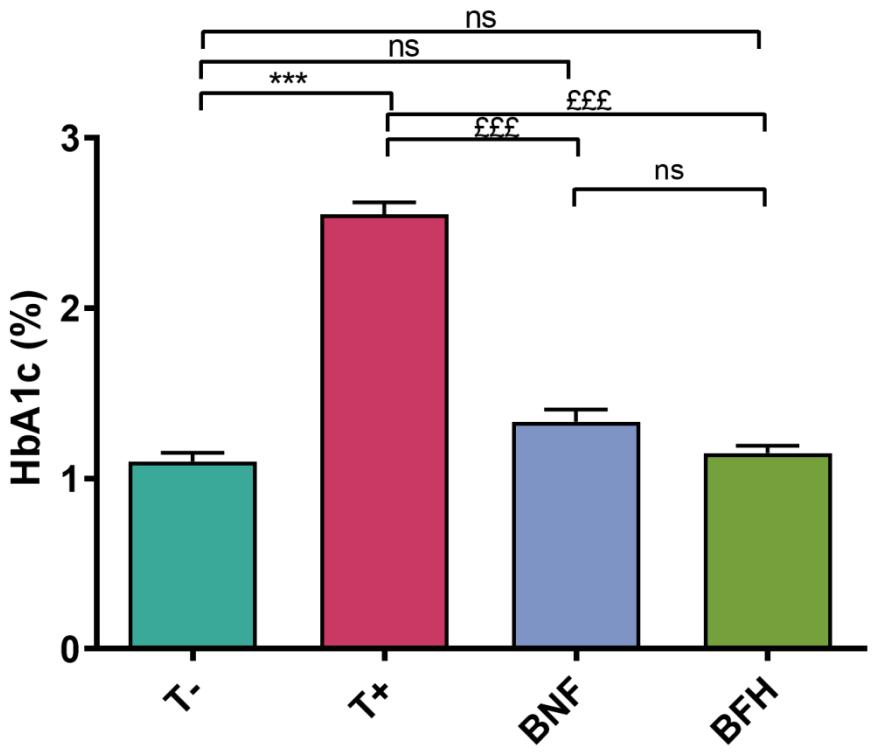


Figure 22 : Dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) (%) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.
$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

4.3. Dosage de l'insulinémie

Le dosage de l'insulinémie a montré une augmentation hautement significative du taux de l'insuline chez les T^{+}rapport aux T^{-} (p<0,001). Par contre, nous avons remarqué une diminution hautement significative de l'insulinémie des groupes diabétiques traités T^{+} par le BNF et le BFH comparés au groupe diabétique non traité. La différence est insignifiante entre les groupes T^{-}, BNF et BFH (figure 23).

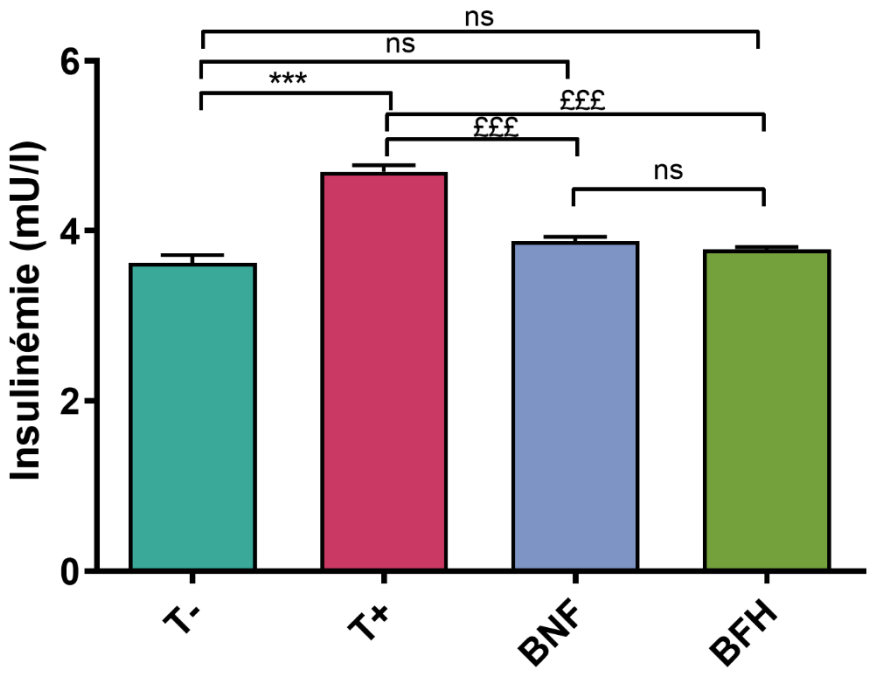


Figure 23 : Dosage de l'insulinémie (mU/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N= 6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).
* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.
$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

4.4. Détermination de l'indice Homa-IR

Le calcul de l'indice Homa-IR montre que les rats de groupe T^{+} présentent un indice plus élevé par rapport aux rats de groupe T^{-} (p<0,001). Par contre, on a observe une baisse significative de l'indice Homa-IR chez le groupe de BNF et de BFH comparé au T^{+} (p<0,001). Les groupes BNF et BFH ne montrent aucune différence significative entre eux ; leurs valeurs restent statistiquement similaires à celles observées dans le groupe T^{-} (Figure 24).

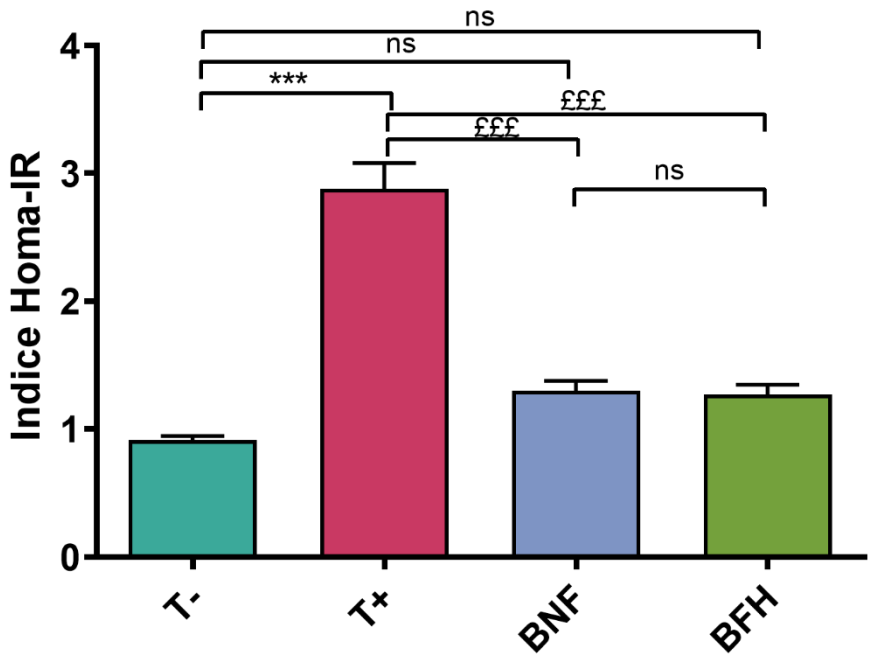


Figure 24 : Indice de Homa-IR des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £££ p<0,001.

4.5. Détermination de l'indice Homa-β

La valeur de l'indice Homa-β montre une diminution hautement significative chez le groupe T^+, BNF et BFH par rapport au groupe T^- (p<0,001). Ces valeurs sont significativement supérieures chez le groupe BNF et BFH comparé au groupe T^+. Les rats soumis à un régime à base de 45% de BFH présentent un indice Homa-β comparable aux rats soumis à un régime à base de 45% de BNF (Figure 25).

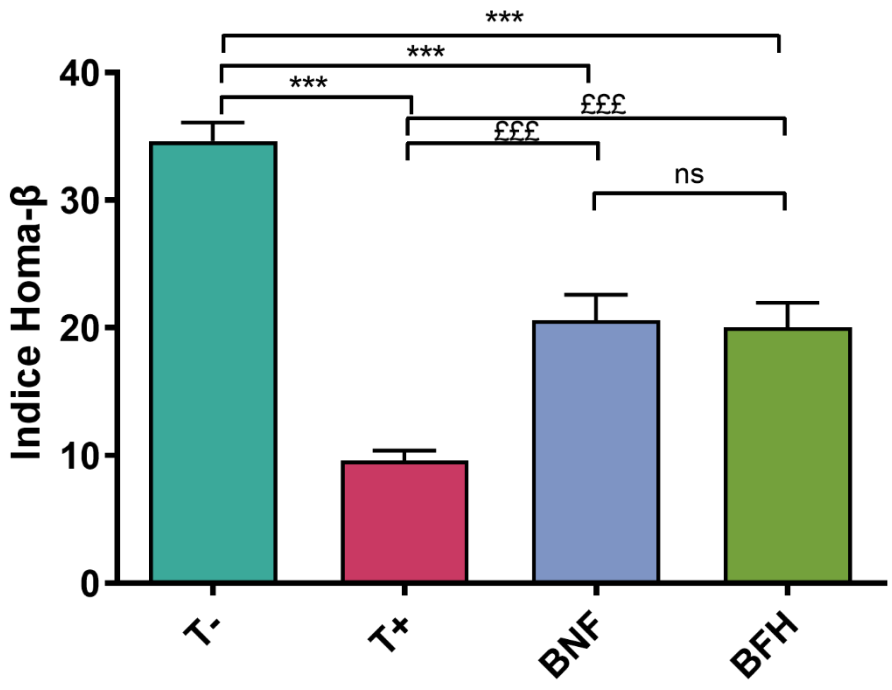


Figure 25 : Indice Homa-β des rats Wistar des différents groupes expérimentaux(N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

4.6. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée est illustré dans la figure 26. On a remarqué un taux très élevé avec une augmentation significative à hautement significative chez le groupe T^{+}, BNF et BFH par rapport au groupe T^{-}. Après la supplémentation du régime expérimental à 45% de BNF, on a constaté une diminution de 37,5% de taux de l'urée par rapport au T^{+}, par contre, les rats soumis au régime expérimental à BFH à 45% ont montré une diminution hautement significative de 78,37% comparé au groupe T^{+} (p<0,001). Cependant, aucune signification n'a été observé entre le groupe BNF et BFH.

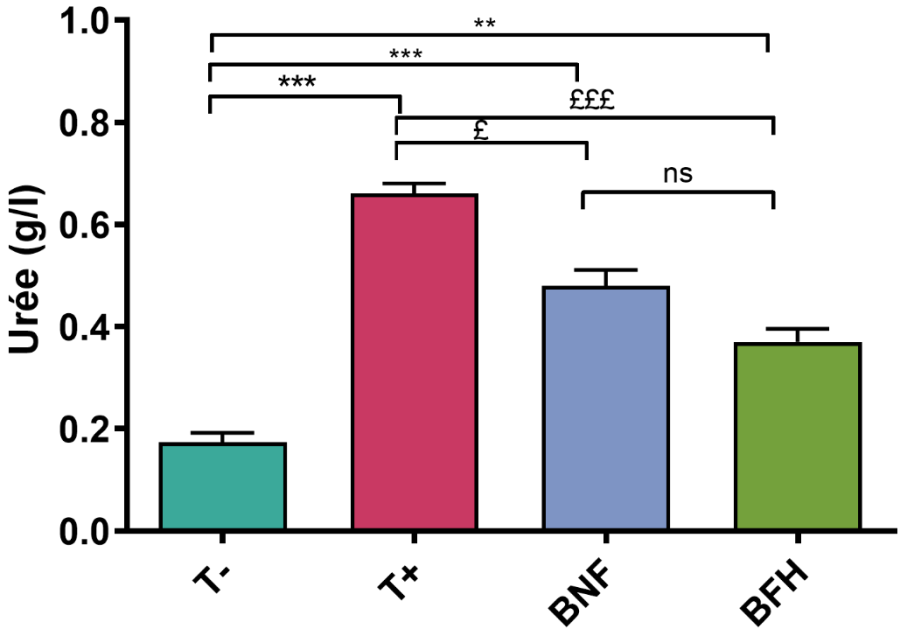


Figure 26 : Dosage de l'urée (g/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : ** p<0,01, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{£££}$ p<0,001.

4.7. Dosage de créatinine

La figure 27 montre une augmentation nette du taux de créatinine chez les rats soumis à un régime hyper-lipidique (T^{+}) par rapport au groupe T^{-} et a ceux qui sont traités avec 45% de BNF et de BFH (p<0,001).

Après 28 jours de traitement par le BNF et le BFH à 45%, on a remarqué une diminution très significative du taux de créatinine (p<0,001) par rapport au T^{+}. Les résultats obtenus sont significativement comparables entre le groupe BNF, BFH et T^{-}.

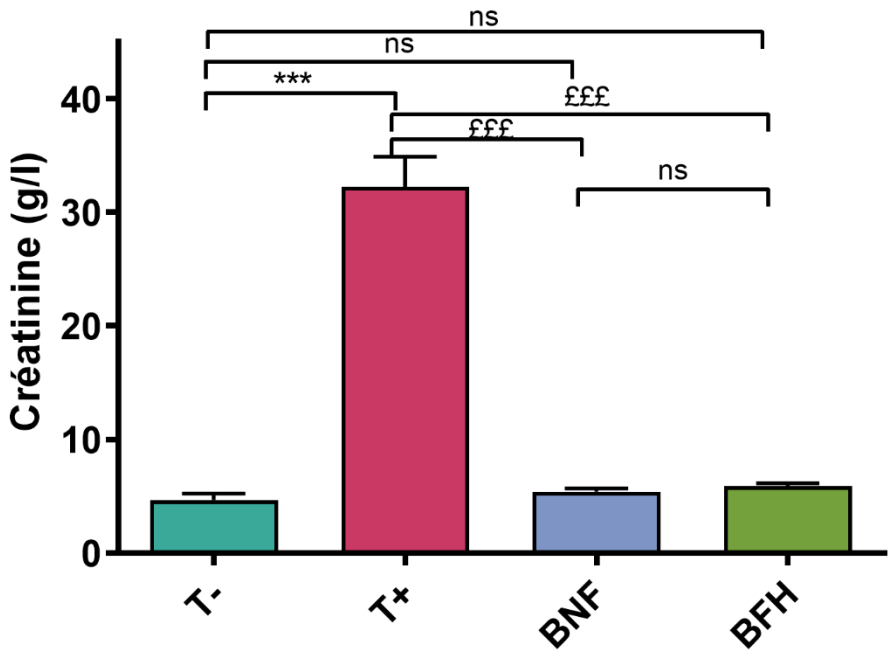


Figure 27 : Dosage de créatinine (g/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £££ p<0,001.

5. Evaluation du bilan lipidique sérique

5.1. Dosage du cholestérol total

La figure 28 montre les résultats du dosage du cholestérol total chez les différents groupes expérimentaux. On constate un taux élevé de cholestérol total chez le groupe T^+ par rapport au groupe T^- ($p<0,05$), qui représente 49,18%. Par contre, on note une amélioration significative (diminution) du taux du cholestérol total chez les rats du groupe BNF (30%) et de BFH (44,44%) par rapport aux rats diabétiques non traités.

L'évaluation du cholestérol total n'a montré aucune différence significative entre les groupes T^-, BNF et BFH. Ces résultats montrent que la consommation de BNF et de BFH altère la concentration du cholestérol total en le diminuant d'une façon significative respectivement de $p<0,05$ et $p<0.01$.

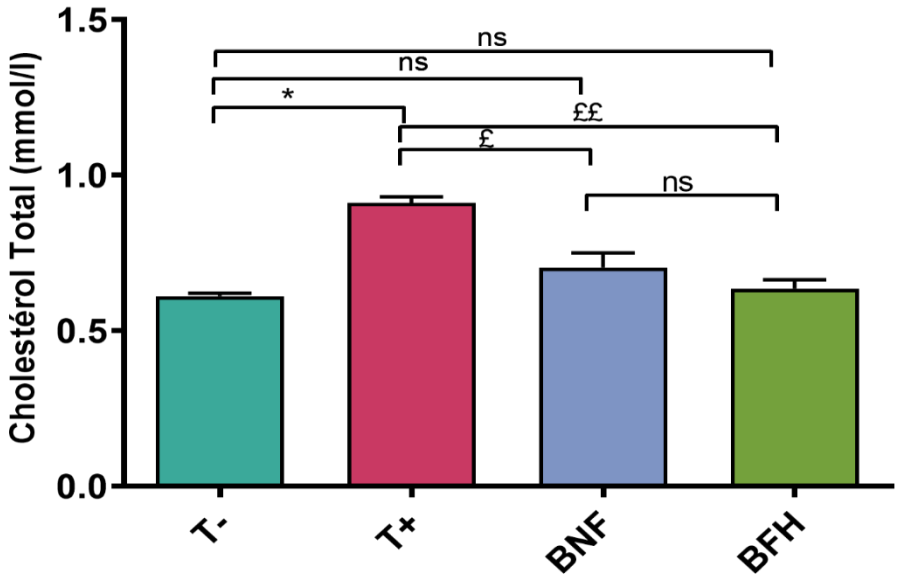


Figure 28 : Dosage du cholestérol total (mmol/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : * p<0,05.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{££}$ p<0,01.

5.2. Dosage des triglycérides (TG)

La figure 29 montre les résultats du dosage des TG dans laquelle on a constaté une augmentation de ces derniers chez les rats T^{+} par rapport au T^{-} (56,48%). Par contre, une diminution significative des TG est observée chez les rats soumis à un régime à base de BFH (104.28 %) et de BNF (54.25 %) par rapport aux rats T^{+}.

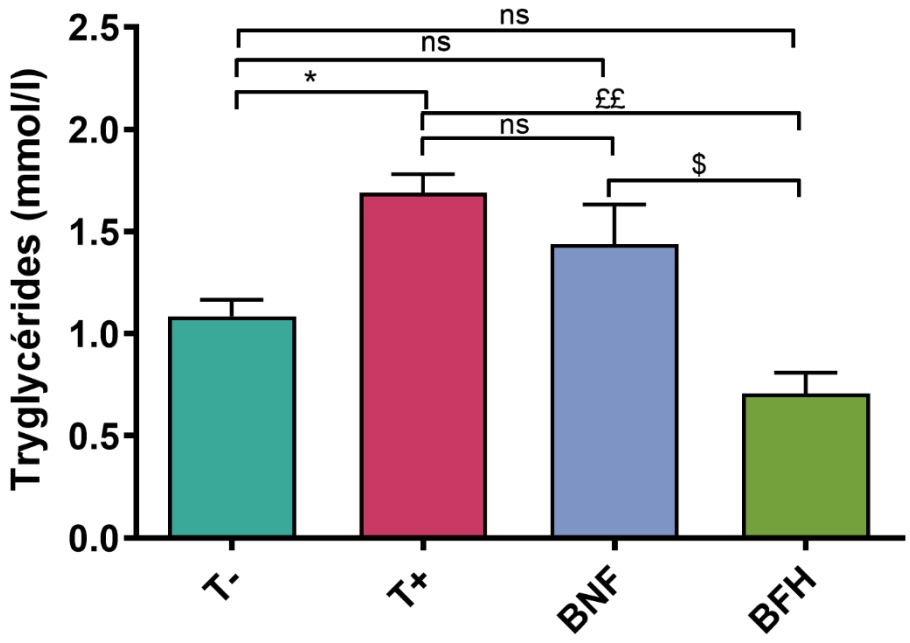


Figure 29 : Dosage des Triglycérides (mmol/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : * p<0,05.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{£££}$ p<0,001.

$^{\$}$: BNF Vs BFH : $^{\$}$ p<0,05.

6. Dosage de la fonction hépatique

6.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

La figure 30 montre une réduction hautement significative de l'ASAT dans les groupes traités avec le BFH (p<0,001) et le BNF (p<0,01) par rapport au groupe T^{+}. En comparant les rats diabétiques et ceux qui sont seins, on confirme l'augmentation hautement significative du taux de l'ASAT chez le groupe T^{+} par rapport au groupe T^{-} (225,72%) (p<0,001).

On remarque aussi une augmentation significative du taux de l'ASAT chez les rats soumis au BNF par rapport au groupe T^{-} (p<0,05). Par contre, Les analyses comparatives n'ont révélé aucune différence significative entre le témoin négatif, BNF et BFH.

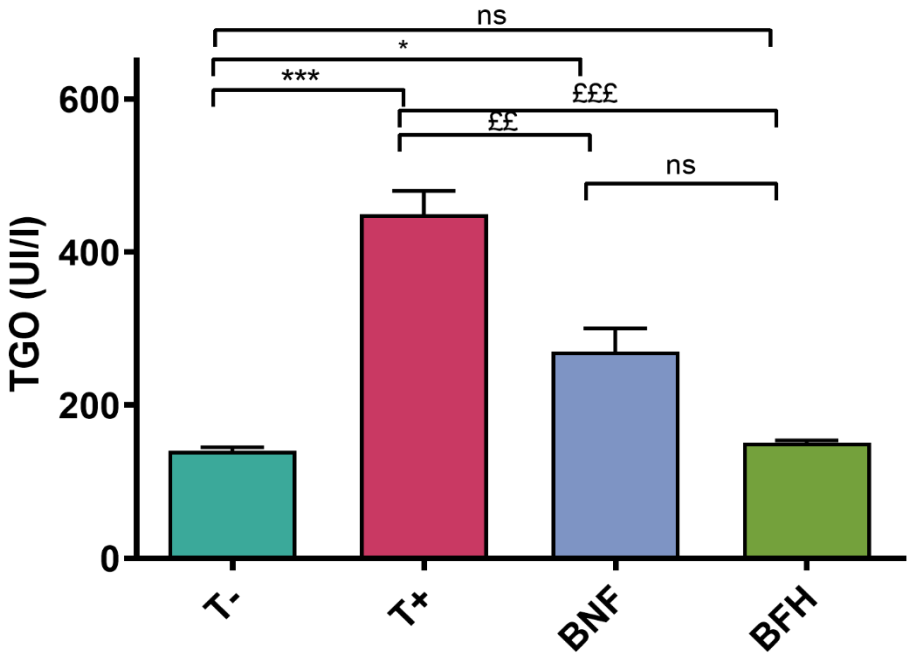


Figure 30 : Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (UI/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : * p<0,05, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{££}$ p<0,01, $^{£££}$ p<0,001.

6.2. Dosage de l'Alanine Aminotransférase (ALAT)

Concernant le dosage de l'ALAT, on note une augmentation hautement significative du taux de l'ALAT chez le groupe T^{+} par rapport au groupe T^{-} (p<0,001), ainsi qu'une diminution significative du taux de l'ALAT chez le groupe traité avec le BNF par rapport au groupe T^{+} (P<0,05). On remarque une diminution hautement significative du taux de l'ALAT chez le groupe traité avec le BFH par rapport au groupe T+ (p<0,01).

En revanche, une augmentation significative du taux de l'ALAT chez le groupe de rats soumis au BNF par rapport au groupe T^{-} (p<0,05) a été observé. Cependant, aucune différence n'a été remarqué entre les deux groupes de BNF et BFH (Figure 31).

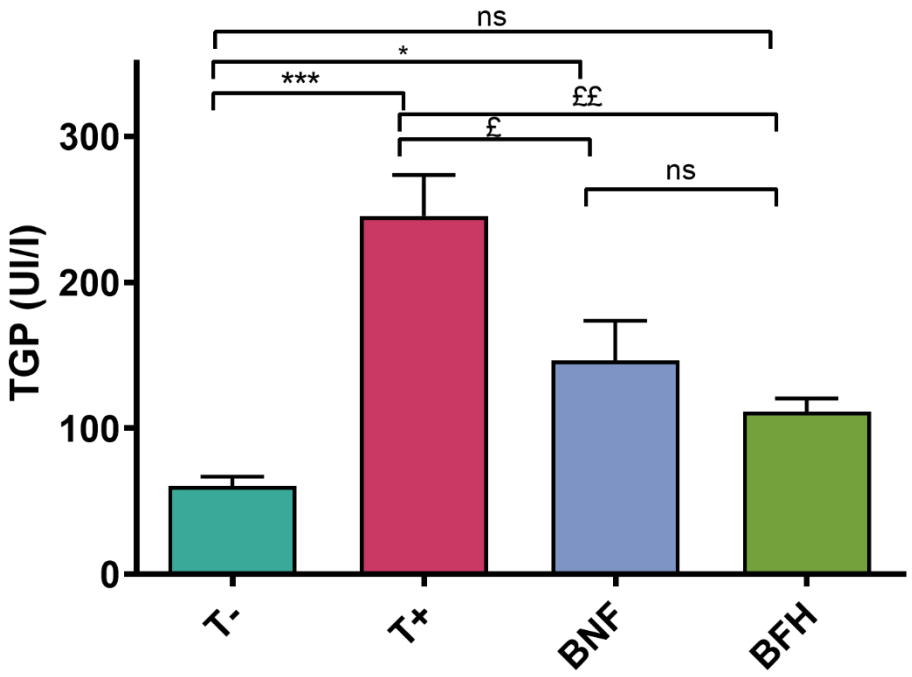


Figure 31 : Dosage de l'Alanine Aminotransférase (ALAT) (UI/l) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : * p<0,05, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{££}$ p<0,01.

7. Etude bactériologique

L'étude bactériologique a été réalisée par l'isolement et le dénombrement de la flore totale et les bactéries lactiques sur leurs milieux sélectifs (Figure 32A et 32B).

7.1. Au niveau buccal

Le dénombrement bactérien est de Log_{10} UFC/g de la concentration viable en micro-organisme. La supplémentation en BFH à 45% dans un régime hyper lipidique a induit une augmentation hautement significative de la flore bactérienne, spécialement les bactéries lactiques par rapport aux T^{-}, T^{+} et BNF.

7.2. Au niveau jéjunal

On a constaté que la consommation d'un régime hyper lipidique supplémenté à 45% de BFH favorise la croissance du microbiote intestinal, exclusivement les bactéries lactiques par rapport aux T^{-}, T^{+} et BNF.

7.3. Au niveau fécal

La figure 32 montre que la supplémentation de 45% de BFH favorise aussi la prolifération bactérienne spécialement les bactéries lactiques par rapport aux T^-, T^+ et BNF.

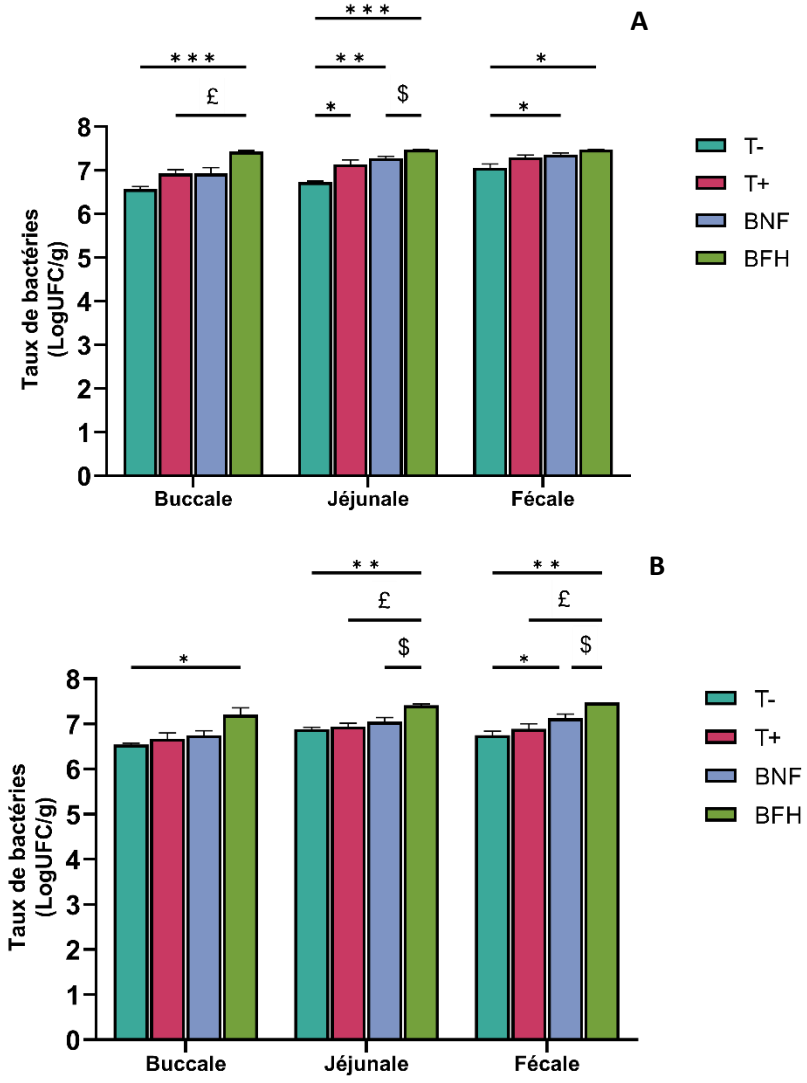


Figure 32 : Dénombrement de la flore bactérienne totale sur milieu GN (A) et des bactéries lactiques sur milieu MRS (B) du contenu buccal, intestinal et fécal chez les différents groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05.

$^{\$}$: BNF Vs BFH : $^{\$}$ p<0,05.

8. Analyse métagénomique du microbiote intestinal

8.1. Au niveau du phylum

La figure 33 représente la composition relative des principaux phylums bactériens dans les différents groupes expérimentaux.

On remarque que chez les rats T^-, le microbiote intestinal présente une structure équilibrée, avec une prédominance modérée des *Bacillota*, suivis des *Actinomycetota* et des *Bacteroidota*, indiquant un microbiote sain et diversifié. En revanche, chez les rats T^+ (diabétiques non traités), une nette domination des *Bacillota* est observée (>80 %), avec une diminution marquée des autres phylums, particulièrement des *Bacteroidota*, traduisant une dysbiose intestinale remarquable.

Dans le groupe BNF, bien que les *Bacillota* restent dominants, une légère augementation des *Bacteroidota* est visible, accompagnée d'une faible présence de *Verrucomicrobiota*, indiquant une réponse modérée au supplémentation alimentaire.

Enfin, le groupe supplémenté par le BFH montre un profil plus équilibré, avec une augmentation visible des *Bacteroidota* et *Actinomycetota*, suggérant une excellente restauration partielle de l'homéostasie microbienne. La présence discrète de V*errucomicrobiota*, bien que faible, renforce cette hypothèse, étant souvent associée à une amélioration des fonctions métaboliques et de la barrière intestinale.

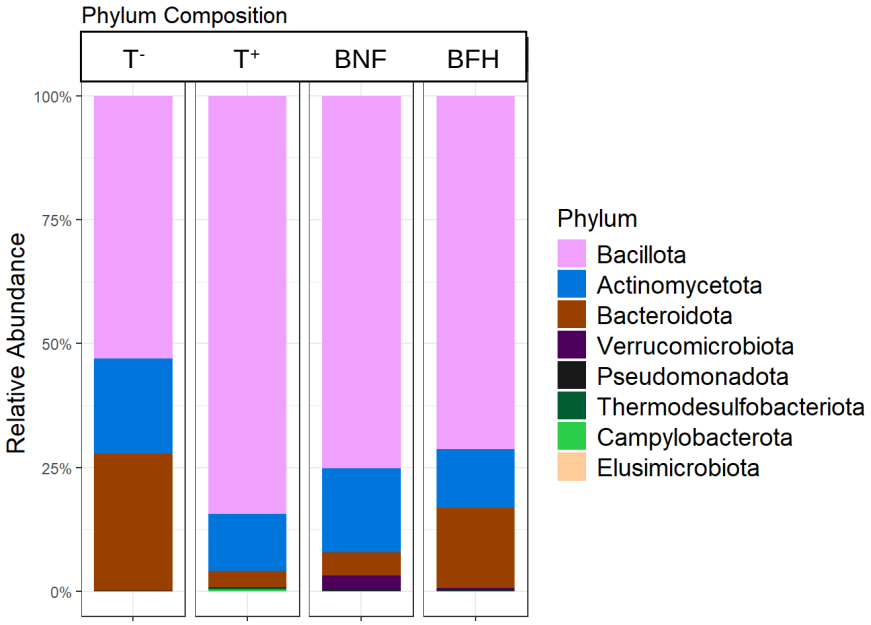


Figure 33 : Composition relative des principaux phylums bactériens dans les différents groupes.

8.2. Au niveau de famille

Dans le cadre de cette étude, une analyse comparative de la composition relative des familles bactériennes a été menée entre les différents groupes. Les profils microbiens observés révèlent des différences notables dans la structure des communautés bactériennes, suggérant une influence significative des conditions expérimentales ou des traitements appliqués (Figure 34).

Le groupe BFH se caractérise par une dominance marquée de la famille *Lactobacillaceæ*, représentant presque la moitié de la population bactérienne. Cette surreprésentation est typique des environnements fermentés riches en bactéries lactiques, connues pour leurs propriétés probiotiques et leur rôle dans l'acidification du milieu. En revanche, le groupe T^+présente une abondance prédominante de *Clostridiaceæ*, une famille souvent associée à des déséquilibres microbiens ou à des états pathologiques, ce qui pourrait suggérer un profil microbiotique altéré ou potentiellement délétère.

Le groupe BNF affiche quant à lui une composition plus hétérogène et équilibrée, avec une présence significative de *Muribaculaceæ, Streptococcaceæ* et d'autres familles en proportions modérées, traduisant une diversité microbienne accrue. Ce profil contraste avec celui du groupe T^-, qui, bien que dominé également par *Lactobacillaceæ*, montre une structure communautaire plus complexe avec une contribution notable de *Lachnospiraceæ, Peptostreptococcaceæ, et Prevotellaceæ.*

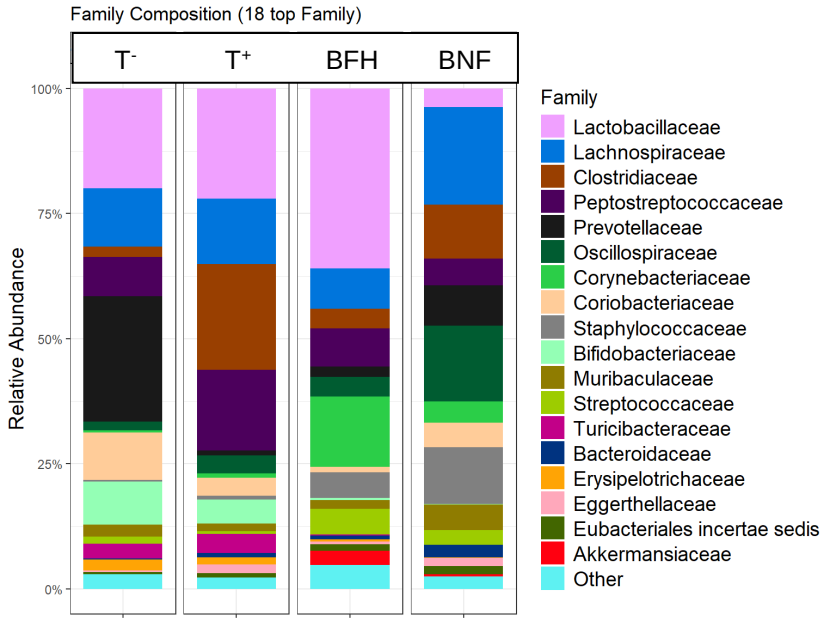


Figure 34 : Composition relative des principales familles bactériennes dans les différents groupes.

8.3. La diversité alpha du microbiote

Ce graphique présente une comparaison de la diversité alpha du microbiote entre quatre groupes expérimentaux : T^-, T^+, BNF et BFH, à travers quatre indices de diversité : Observed, Chao1, Shannon, et InvSimpson. Chacun de ces indices apporte une information complémentaire sur la richesse (nombre d'espèces) et l'équité (répartition des espèces) des communautés microbiennes existantes.

Les groupes T^- et BFH affichent les valeurs les plus élevées en termes de richesse observée et estimée, avec des médianes autour de 400, indiquant une grande diversité en nombre de taxons. À l'inverse, le groupe T^+ présente les valeurs les plus faibles pour ces deux indices, suggérant une communauté microbienne appauvrie, possiblement en lien avec un stress ou un déséquilibre environnemental. Le groupe BNF montre une variabilité importante, avec des valeurs allant de très faibles à très élevées, traduisant une hétérogénéité interindividuelle marquée.

L'indice de Shannon révèle que le groupe BFH a une diversité relativement élevée et homogène entre les échantillons, dépassant légèrement les autres groupes. Cela suggère non seulement une richesse importante mais aussi une répartition relativement équilibrée des espèces. L'indice InvSimpson, qui accorde plus de poids aux espèces dominantes, confirme cette tendance : les groupes BFH et BNF présentent les valeurs les plus élevées, tandis que le groupe T^+ se distingue par des scores faibles, ce qui reflète une dominance excessive de certaines espèces au détriment de l'équilibre global de la communauté (Figure 35).

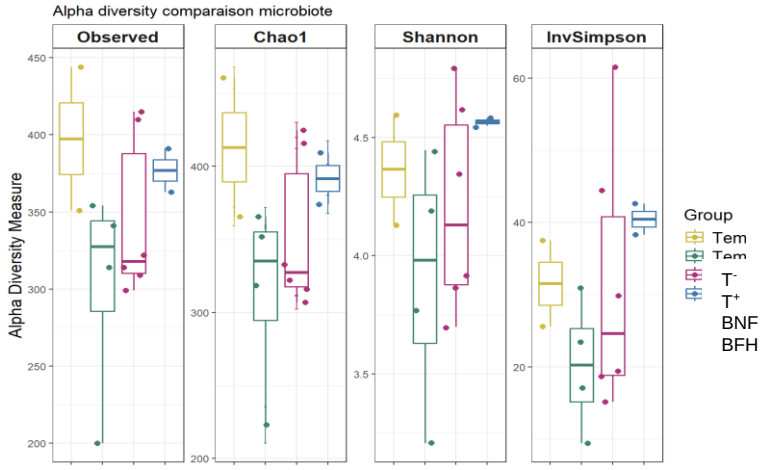


Figure 35 : Comparaison de la diversité alpha du microbiote intestinal des rats de différents groupes.

9. Etude histologique

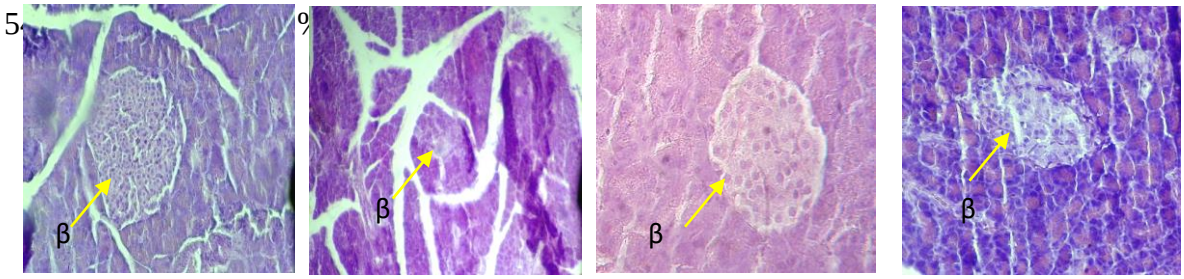
Dans cette partie, nous avons procédé à l'étude de l'architecture tissulaire de certains organes, dans le but d'évaluer l'impact de la supplémentation en BNF et BFH sur leur architecture histologique.

9.1. Effet du BFH sur l'architecture du pancréas

L'analyse histologique du pancréas a montré des différences notables entre les trois groupes étudiés. Le groupe témoin négatif a conservé une architecture normale, avec des acini bien structurés, des cellules régulières et un cytoplasme abondant, confirmant l'intégrité du tissu pancréatique.

Contrairement au groupe T^+, soumis à un régime hyper lipidique, qui a présenté des altérations marquées se traduisant par une atrophie du tissu adipeux et la présence de cellules accompagnées d'éléments inflammatoires, témoignant d'un processus de dégradation tissulaire.

En revanche, les rats soumis à un régime à 45 % de BNF et 45 % de BFH ont présenté une amélioration considérable de l'architecture pancréatique. Cette dernière s'est traduite par une organisation tissulaire plus proche de la normale et, surtout, par une régénération des cellules β des îlots de Langerhans, suggérant un effet protecteur et réparateur de la supplémentation vis-à-vis des lésions induites par le régime hyper lipidique (Figure 36).



A ***B*** ***C*** ***D***

Figure 36 : Observations au microscope optique de coupes histologiques du pancréas de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400).

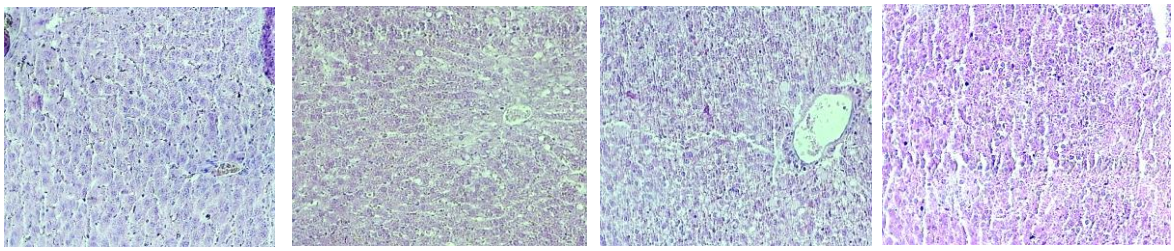
β : cellules β des ilots de Langerhans

9.2. Effet du BFH sur l'architecture hépatique

L'examen histologique du foie des rats du groupe T^- a révélé une architecture normale, caractérisée par des hépatocytes réguliers, des veines centrales lobulaires intactes et l'absence de signes inflammatoires.

En revanche, les coupes hépatiques des rats soumis au régime hyperlipidique T^+ ont montré des altérations importantes, marquées par une hypertrophie des hépatocytes, la présence d'un infiltrat inflammatoire au niveau de la veine centrale lobulaire, une clarification et une granulation du cytoplasme (vacuoles claires intracellulaires) ainsi qu'une stéatose hépatique.

Chez les rats soumis à un régime à 45 % de BNF, une amélioration notable de l'architecture hépatique a été observée, bien que quelques éléments inflammatoires persistent. Enfin, les animaux traités avec 45 % de BFH ont présenté un meilleur rétablissement, caractérisé par des hépatocytes d'aspect normal et l'absence d'infiltrat inflammatoire ou de vacuoles intra cytoplasmiques (Figure 37).



A ***B*** ***C*** ***D***

Figure 37 : Observations au microscope optique de coupes histologiques du foie de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×100).

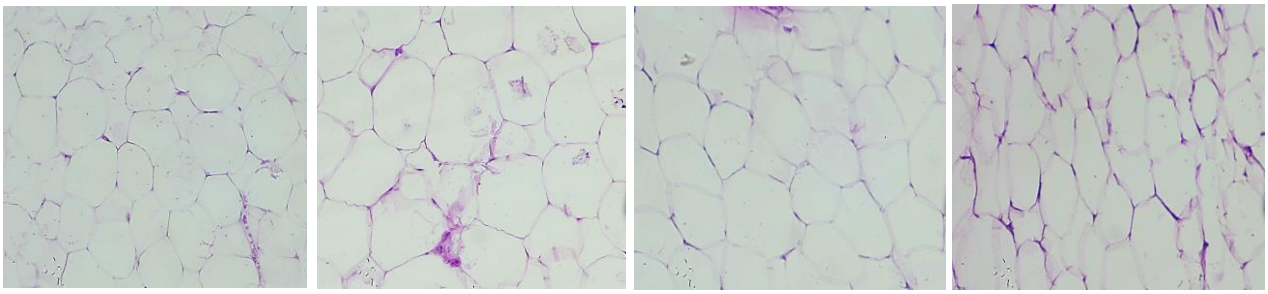
9.3. Effet du BFH sur l'architecture du tissu adipeux

L'examen histologique du tissu adipeux révèle des modifications structurales significatives en fonction des régimes alimentaires administrés (Figure 38).

Chez les rats du groupe T^-, le tissu adipeux présente une architecture normale caractérisée par des adipocytes de petite taille, à densité cellulaire élevée, et une absence totale de signes inflammatoires.

Contrairement aux rats du groupe T^+ présentent une hypertrophie adipocytaire marquée, objectivée par une augmentation significative du volume cellulaire accompagnée d'un amincissement de la membrane plasmique. Des ruptures cellulaires sont également observées, témoignant d'une fragilisation de l'intégrité membranaire.

L'analyse comparative des coupes histologiques des groupes recevant les régimes à base de BNF et de BFH met en évidence un effet protecteur notable. La structure tissulaire apparaît nettement améliorée, avec une réduction significative de la taille des adipocytes comparativement au T^+. Cette diminution du volume adipocytaire suggère une modulation favorable du métabolisme lipidique induite par ces régimes fermentés.



A **B** **C** **D**

Figure 38 : Observations au microscope optique de coupes histologiques du tissu adipeux de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400).

9.4. Effet du BFH sur l'architecture des reins

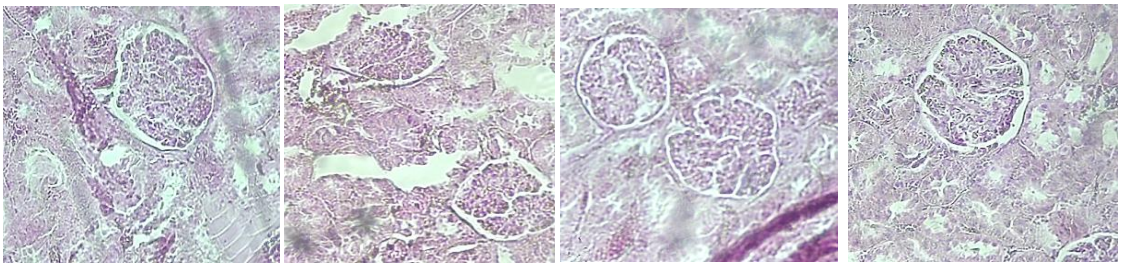
L'examen histologique du parenchyme rénal révèle des altérations structurales variables selon les régimes alimentaires administrés (Figure 58).

Chez les rats du groupe T^-, l'architecture rénale présente une morphologie normale, caractérisée par des glomérules bien délimités et organisés, des tubules contournés proximaux et distaux de calibre régulier, ainsi qu'une absence totale de signes inflammatoires ou de lésions dégénératives.

À l'inverse, les coupes histologiques du groupe T^+ révèlent des modifications pathologiques significatives : hypertrophie glomérulaire avec expansion mésangiale, dilatation tubulaire, hyperplasie de l'épithélium tubulaire ainsi qu'un infiltrat inflammatoire interstitiel. Ces observations témoignent d'une atteinte rénale caractéristique du modèle pathologique induit (DT2).

Les rats recevant le régime à base de BNF présentent une amélioration substantielle de la structure rénale, objectivée par une réduction significative des lésions glomérulaires et tubulaires, accompagnée d'une atténuation marquée de la réaction inflammatoire interstitielle. De manière similaire, le régime à base de BFH permet de préserver largement l'intégrité du parenchyme rénal, comme en attestent des glomérules présentant une morphologie proche de la normale et une diminution notable des altérations tubulaires et inflammatoires.

Ces observations histologiques convergentes suggèrent fortement que les régimes à base de BNF et de BFH exercent un effet néphroprotecteur en atténuant les lésions structurales induites par le modèle pathologique. Cette protection tissulaire pourrait résulter des modifications biochimiques générées par la fermentation, notamment l'enrichissement en métabolites bioactifs et en composés antioxydants.



A **B** **C** **D**

Figure 39 : Observations au microscope optique de coupes histologiques des riens de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400).

1. Evaluation de la prise alimentaire et hydrique journalière

Pendant tout le protocole expérimental, la quantité d'aliment ainsi que celle de l'eau consommée étaient mesurée quotidiennement. Le tableau 18 montre que les rats soumis un régime Cafétéria T^+ consomme une quantité d'aliment et d'eau très significative par rapport aux rats du groupe T^- soumis à un régime Standard. En revanche on a remarqué une diminution de la quantité de nourriture et quantité d'eau consommée chez les rats traités par 45 % de BFH et BNF par rapport au T^+.

Tableau 18: Evaluation de la prise alimentaire et hydrique.

	T^- (Régime Standard)	**T^+(Régime Cafétéria)**	**BNF**	**BFH**
Nourriture ingérée (g)	29,33 ± 0,33	38,33 ± 0,80 ***	31,00 ± 0,36 £££	31,33 ± 0,55 £££
Volume d'eau (ml)	24,5 ± 0,42	37,00 ± 0,93 ***	33,5 ± 0,67 ***,£££	33,83 ± 0,47 ***,£

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES)..

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ p<0,05 ; ££ p<0,01, £££ p<0,001

2. Paramètres anthropométriques

2.1. Evaluation de la croissance pondérale

Ce travail est effectué sur différents groupes expérimentaux contenants chacun six rats mâles Wistar soumis à différents régimes (Standards, Cafétéria, BNF à 45% et BFH à 45%). La figure 40 montre l'évolution du poids corporel sur une période de 28 jours. Dans laquelle on a constaté que le régime Cafétéria entraîne une augmentation hautement significative du poids corporel à partir de la deuxième semaine (p<0,001). En revanche, les régimes expérimentaux à base de BNF et de BFH à 45 % prévient de manière hautement significative la prise de poids à partir de la deuxième semaine (p<0,001).

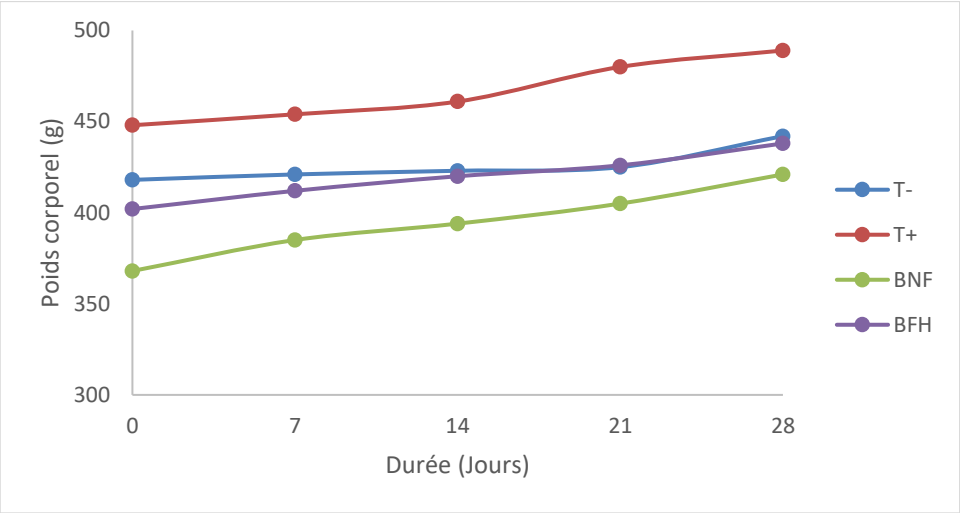


Figure 40: Evolution du poids corporel des rats Wistar des différents groupes expérimentaux (N=6).

2.2. Gain de poids des animaux

La figure 41 montre l'évolution du gain de poids corporel des rats Wistar des différents groupes pendant 28 jours de régime expérimental. On a remarqué une augmentation hautement significative du gain de poids corporel chez les rats soumis au régime Cafétéria T^+ par rapport à ceux soumis au régime iso-calorique T^-. Par contre on a constaté une perte de gain de poids plus importante chez ceux soumis à un régime à base de BFH que ceux qui sont soumis à un régime à base de BNF à 45 %.

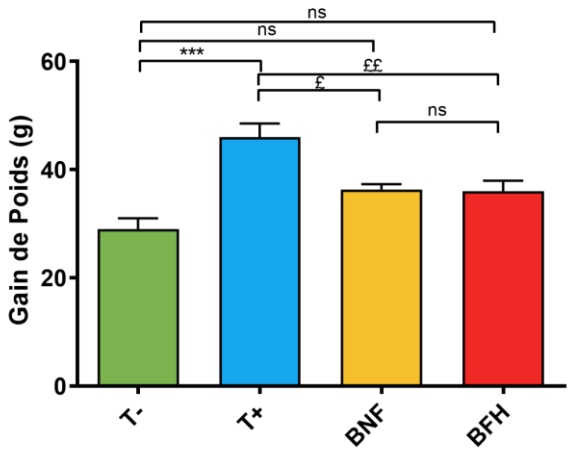


Figure 41: Evolution du gain de poids corporel (g) des rats Wistar des différents groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ p<0,05, ££ p<0,01.

2.3. Détermination des paramètres anthropométriques

Pendant toute la période l'expérimentation les rats ont subis les mesures suivantes : circonférence abdominale, circonférence thoracique et longueur du corps (nez-anus).

Les rats obèses ou ayant un surpoids du T^+ soumis à un régime Cafétéria ont montré une augmentation très significative de la longueur du corps (nez-anus), de la circonférence abdominale de la circonférence thoracique (5,48%, 6,73% et 14,66% respectivement) ($p<0,01$). En revanche, on remarque une diminution significative de ces trois paramètres anthropométriques chez les rats soumis aux régimes alimentaires à base de BNF et de BFH (Tableau 19).

Tableau 19 : Détermination des paramètres anthropométriques des différents groupes expérimentaux.

	T^- (Régime Standard)	**T^+ (Régime Cafétéria)**	**BNF**	**BFH**
Longueur du corps (nez-anus) (cm)	25,75 ± 0,11	27,16 ± 0,24 **	25,33 ± 0,40 $^{£££}$	25,75 ± 0,21 $^{££}$
Circonférence abdominale (cm)	21,08 ± 0,15	22,5 ± 0,28 **	21,25 ± 0,33 $^{£}$	21,08 ± 0,27 $^{££}$
Circonférence thoracique (cm)	17,66 ± 0,24	20,25 ± 0,38 **	17,75 ± 0,62 $^{££}$	18,00 ± 0,51 $^{£}$

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : ** $p<0,01$.

$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ $p<0,05$; $^{££}$ $p<0,01$, $^{£££}$ $p<0,001$

2.4. Evaluation de l'efficacité du régime Cafétéria

Les indices de l'obésité chez les rats du groupe T^+ (gain du poids, indice de masse corporel, indice de Lee et graisse corporelle) sont augmentés de façon significative (52,62%, 19,69%, 6,58% et 41,67% respectivement) par rapport aux rats du groupe T^-. En revanche, on a remarqué aussi une diminution de ces paramètres chez les rats soumis au BNF (21,02 % ,15,19%, 7,86% et 38,06% respectivement) et au BFH (21,74%, 18,99%, 9,77% et 39,32% respectivement) par rapport rats du groupe T^+ (Tableau 20).

Tableau 20 : Comparaison des indices de l'obésité entre les groupes expérimentaux après 28 jours de régimes.

Indices	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime Cafétéria)	BNF	BFH
Gain du poids (g)	29,0 ± 1,98	46,0 ± 2,50 ***	36,33 ± 0,98 £	36,0 ± 1,94 ££
Indice de masse corporel (g/cm²)	0,66 ± 0,005	0,79 ± 0,01 **	0,67 ± 0,03 ££	0,64 ± 0,01 £££
Indice de Lee (g/cm)	300,04 ± 3,29	319,79 ± 1,86 *	294,63 ± 6,48 ££	288,56 ± 2,69 £££
Graisse corporelle (%)	11,66 ± 0,54	19,99 ± 0,77 ***	12,38 ± 0,52 £££	12,13 ± 0,66£££

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ p<0,05 ; ££ p<0,01, £££ p<0,001.

3. Evaluation du poids absolu et relatif des organes

3.1. Poids absolu des organes

Les résultats du poids absolus des différents organes sont représentés dans le tableau 21 dans lequel on observe une augmentation du poids des différents organes des rats soumis à un régime Cafétéria par rapport à ceux nourris avec un régime iso-calorique (régime Standard), spécialement le tissu adipeux abdominal et épididymaire qui ont augmenté respectivement de 48,99% et 84,80%.

Par contre, les rats soumis aux régimes alimentaires à base de BNF et de BFH ont montré une diminution du poids des différents organes spécialement le tissu adipeux abdominal et épididymaire qui ont baissé de 26,38 % et 30,63 % respectivement chez le BNF par rapport à 22,03 % et 33,18 % chez ceux soumis au BFH.

Chez le groupe des rats soumis au régime Cafétéria additionné à 45% de BFH on a constaté une diminution hautement significative de 17,81% du poids du foie par rapport au T^+ ($p<0,001$).

Tableau 21 : Evaluation du poids absolu des différents organes.

Poids (g)	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime Cafétéria)	BNF	BFH
Foie	13,19 ± 0,45	14,99 ± 0,21 *	13,10 ± 0,48 $^{£}$	12,32 ± 0,35 $^{£££}$
Rein droit	1,25 ± 0,03	1,51 ± 0,08 *	1,26 ± 0,04 $^{£}$	1,25 ± 0,02 $^{£}$
Rein gauche	1,28 ± 0,03	1,50 ± 0,05 **	1,34 ± 0,02 $^{£}$	1,35 ± 0,02 $^{£}$
Cœur	1,23 ± 0,01	1,41 ± 0,03 **	1,25 ± 0,01 $^{££}$	1,27 ± 0,03 $^{£}$
Tissu Adipeux Abdominal	5,94 ± 0,09	8,85 ± 0,52 ***	6,51 ± 0,47 $^{£££}$	6,9 ± 0,35 $^{£}$
Tissu Adipeux épididymaire	5,07 ± 0,4	9,37 ± 0,22 ***	6,50 ± 0,38 $^{££}$	6,26 ± 0,46 $^{£££}$

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05 ; $^{££}$ p<0,01, $^{£££}$ p<0,001.

3.2. Poids relatifs des organes

L'analyse des poids relatifs des organes n'a révélé aucune modification notable au niveau du foie, des reins et du cœur. En revanche, une augmentation significative a été observée au niveau des tissus adipeux chez les rats du T^+, atteignant 34,33% pour le tissu abdominal et 67,54% pour le tissu épididymaire par rapport au groupe T^-. Par ailleurs, une diminution du tissu adipeux épididymaire a été enregistrée dans les groupes supplémentés, avec une réduction de 19,37% dans le groupe BNF et de 25,65% dans le groupe BFH (Tableau 22).

Tableau 22 : Evaluation du poids relatif des différents organes.

Poids relatif (g)	T^- (Régime Standard)	T^+ (Régime Cafétéria)	BNF	BFH
Poids corporel (g)	442,5 ± 4,5	489,16 ± 8,62	421 ± 25.86	438,5 ± 6,90
Foie	2,98 ± 0,10	3.06 ± 0,04	3,11 ± 0,11	2 ,81 ± 0,08
Rein droit	0,28 ± 0,008	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,005
Rein gauche	0,28 ± 0,006	0,30 ± 0,01	0,31 ± 0,006	0,30 ± 0,005
Cœur	0,27 ± 0.003	0,28 ± 0,007	0,29 ± 0,003	0,29 ± 0,008
Tissu Adipeux Abdominal	1,34 ± 0,02	1.80 ± 0,10 **	1,54 ± 0,11	1,57 ± 0,08
Tissu Adipeux épididymaire	1,14 ± 0,09	1.91 ± 0,04 ***	1,54 ± 0,09 £	1,42 ± 0,10 ££

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : ** p<0,01, *** p<0,001.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ p<0,05 ; ££ p<0,01.

4. Analyses des paramètres biochimiques sanguins

4.1. Dosage de la glycémie

Tout au long de la période expérimentale, la glycémie des animaux a été mesurée de manière hebdomadaire, systématiquement à jeun et à la même heure, à l'aide de l'appareil DiagnoChek. Les résultats obtenus n'ont révélé aucune différence significative des concentrations en glucose entre les différents groupes de rats (Figure 42).

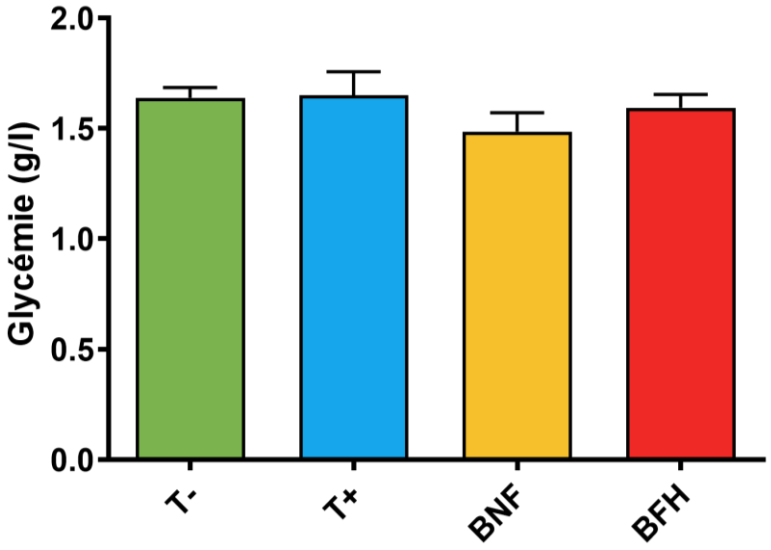


Figure 42 : Dosage de la glycémie (g/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

4.2. Dosage de C-reactive Protein (CRP)

La figure 43 montre les concentrations de CRP chez les différents groupes expérimentaux. Nous observons que les rats obèses non traités présentent un état inflammatoire chronique traduisant pas le taux plus élevé du CRP par rapport aux groupes témoin négatif, BNF et BFH. Cet état est amélioré lors de l'administration BNF et de BFH dans le régime. La concentration en CRP chez les rats du groupe BFH a diminué de façon significative par rapport aux rats du groupe BNF.

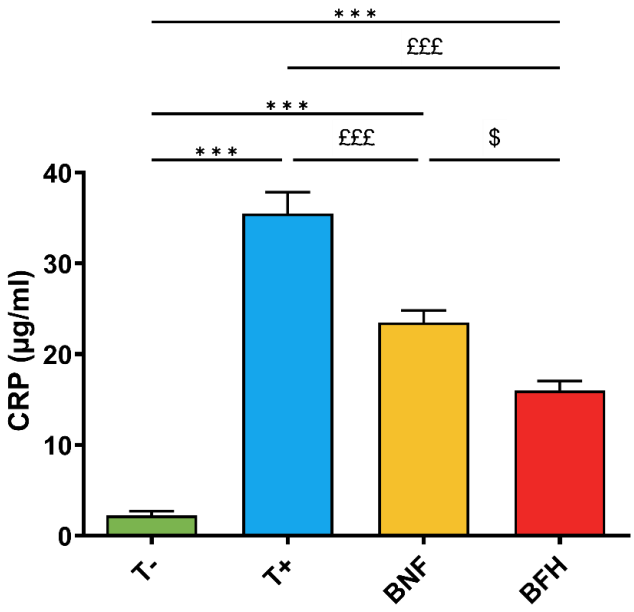


Figure 43 : Dosage du CRP (µg/ml) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* :groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.

$^{£}$: témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

$^{\$}$: BFH Vs BNF : $^{\$}$ p<0,05

4.3. Dosage de l'urée

Nos résultats indiquent que la concentration en urée est significativement plus élevée chez le groupe T^{+} (p<0,001) ainsi que chez le groupe BNF (p<0,01) comparativement au T^{-} (Figure 44). En revanche, une diminution hautement significative de ce paramètre est observée dans le groupe BFH (p<0,001) par rapport au groupe T^{+}, et également par rapport au groupe BNF (p<0,05).

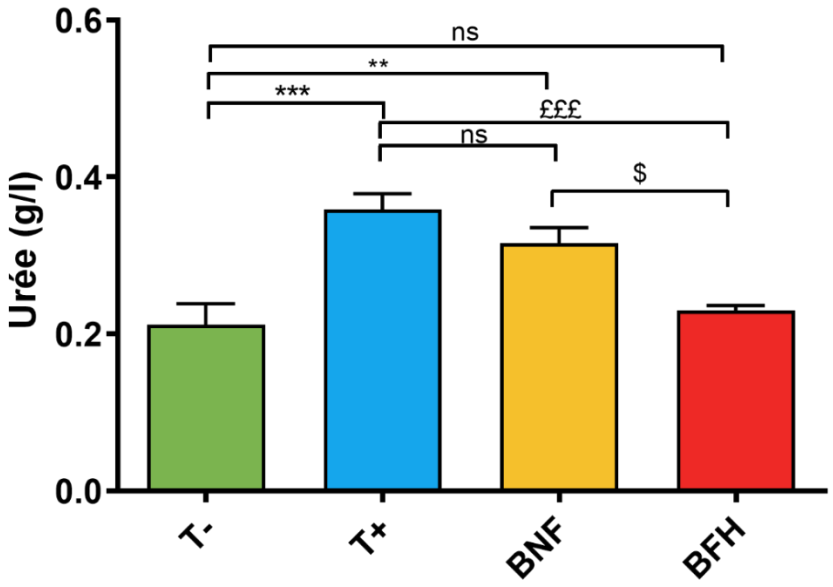


Figure 44 : Dosage de l'urée (g/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* :groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : ** p<0,01, *** p<0,001.

$^{£}$: témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{££}$ p<0,01.

$^{\$}$: BFH Vs BNF : $^{\$}$ p<0,05

4.4. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine a révélé une augmentation hautement significative chez les rats obèses comparativement aux rats sains (p<0,001). En revanche, une diminution marquée de la concentration en créatinine a été observée chez les rats obèses traités avec le BNF (p<0,05) par rapport aux rats obèses non traités ainsi qu'aux rats obèses recevant le BFH (p<0,01). Toutefois, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les groupes BFH et BNF (Figure 45).

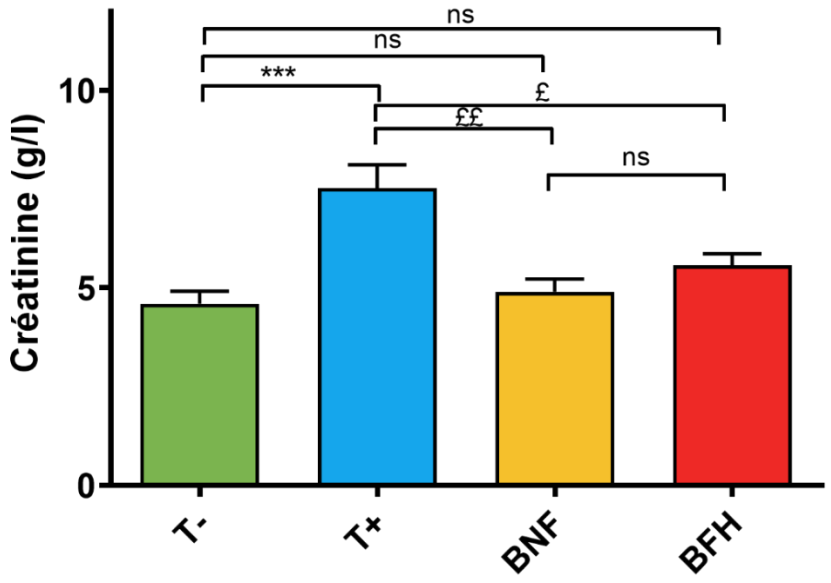


Figure 45: Dosage de la créatinine (g/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs (T^-) : *** $p<0,001$.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ $p<0,05$, ££ $p<0,01$.

4. Evaluation du bilan lipidique

4.1. Dosage du cholestérol total

La figure 48 illustre les concentrations en cholestérol total mesurées dans les différents groupes expérimentaux. Une augmentation hautement significative du cholestérol total est observée chez le groupe T^+ (rats obèses) comparé au T^- (rats sains) ($p<0,05$). En revanche, une diminution marquée de ce paramètre est constatée chez les groupes traités par BNF et BFH par rapport au groupe T^+. Par ailleurs, aucune différence statistiquement significative n'a été relevée entre les groupes BNF et BFH.

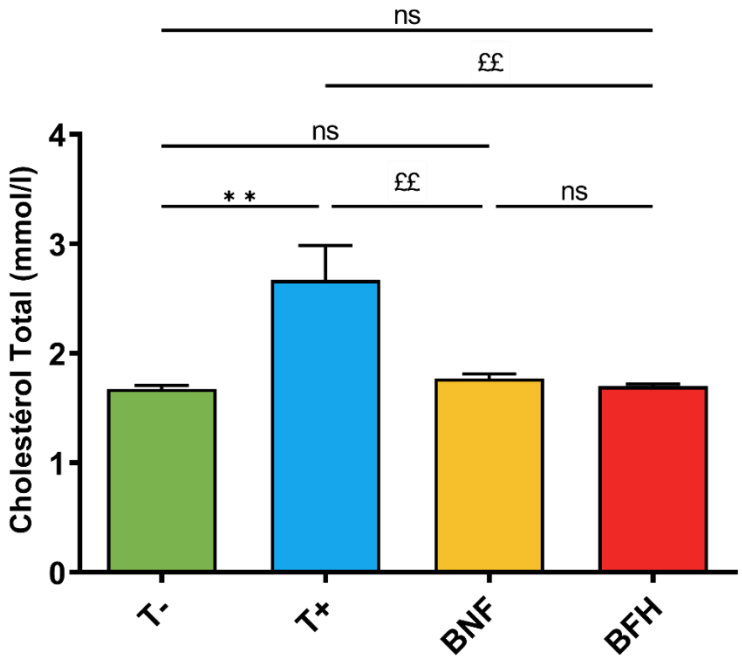


Figure 48: Dosage du Cholestérol total (mmol/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : ** p<0,01.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05.

4.2. Dosage des lipoprotéines (HDL et LDL)

Le dosage des HDL-C révèle une diminution hautement significative chez le groupe T^{+} par rapport au groupe T^{-} ainsi qu'aux groupes traités par BNF et BFH (p<0,001). En revanche, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les groupes BNF et BFH (Figure 50).

Le dosage des LDL-C montre une augmentation hautement significative chez le groupe T^{+} par rapport au groupe T^{-} ainsi qu'aux groupes traités par BNF et BFH (p<0,001). En revanche, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les groupes BNF et BFH (Figure 51).

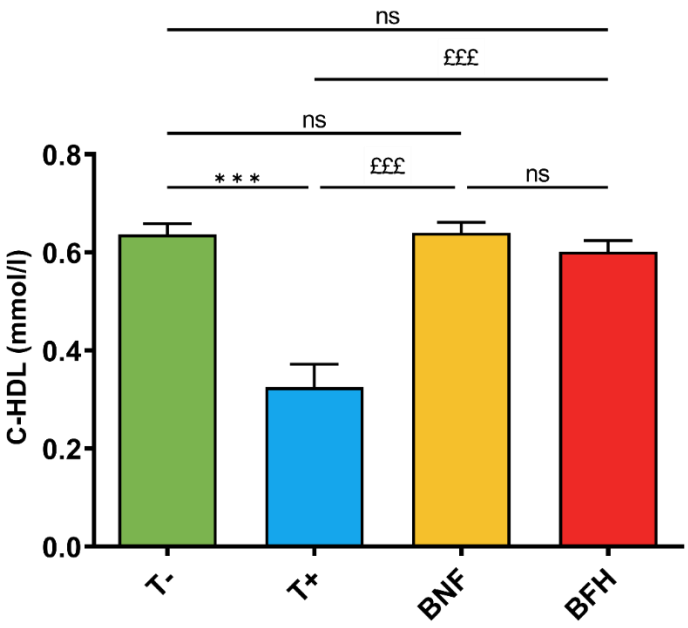


Figure 50 : Dosage des HDL-C (mmol/l) chez les quatre 4 groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

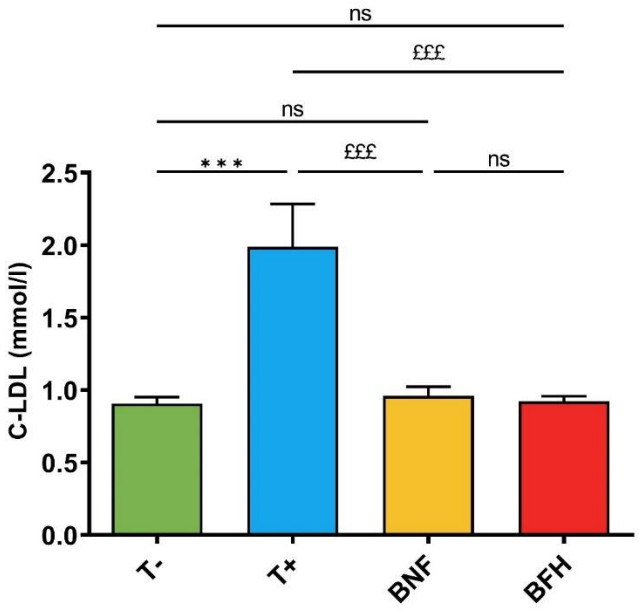


Figure 51 : Dosage des LDL-C (mmol/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£££}$ p<0,001.

4.3. Indice d'athérogénicité

Les résultats obtenus révèlent que les rats soumis au régime Cafétéria présentent un indice d'athérogénicité significativement plus élevé comparativement à ceux nourris avec un régime Standard. En revanche, l'administration d'un régime supplémenté en BNF ou en BFH a permis de réduire ce dernier, avec des valeurs proches de celles observées chez le témoin négatif. Par ailleurs, aucune différence statistiquement significative n'a été relevée entre les groupes BNF et BFH (Tableau 23).

Tableau 23: Evaluation de l'indice d'athérogénicité (IA) chez les différents groupes.

	T^- (Régime Standard)	**T^+ (Régime Cafétéria)**	**BNF**	**BFH**
Indice d'athérogénicité (IA)	2,65 ± 0,12	8,16 ± 1,17 **	2,79 ± 0,09 $^{££}$	2,75 ± 0,10 $^{££}$

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : ** p<0,01.

$^{£}$: Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{££}$ p<0,01.

4.4. Dosages des triglycérides (TG)

Les résultats relatifs au dosage des TG, présentés dans la figure 49, montrent une augmentation hautement significative de leur concentration chez les rats obèses par rapport aux témoins non obèses (p<0,001). En revanche, les groupes ayant reçu les régimes à base de BNF et de BFH révèlent une diminution marquée des taux des TG comparativement au groupe obèse. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été relevée entre les groupes BNF et BFH, leurs valeurs restant proches de celles observées chez le T^-.

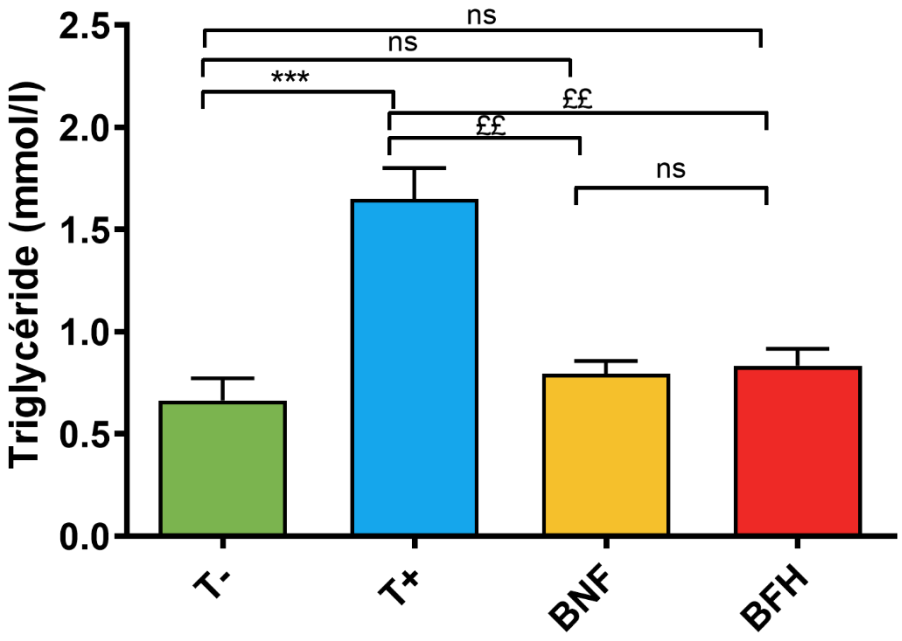


Figure 49 : Dosage des triglycérides (mmol/l) chez les quatre 4 groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{££}$ p<0,01.

5. Evaluation du bilan hépatique

5.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

La figure 46 représente les concentrations en ASAT dans les differents groupes expérimentaux. Nous observons que le taux d'ALAT est significativement plus élevé chez les rats obèses (T^{+}) comparativement aux rats non obèses T^{-} ($p<0,01$). Cette dernière est diminuée de manière significative chez les groupes BNF et BFH par rapport au T^{+} ($p<0,05$).

En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes soumis aux régimes à base de BNF et de BFH, qui présentent des valeurs comparables à celles du groupe T^{-}.

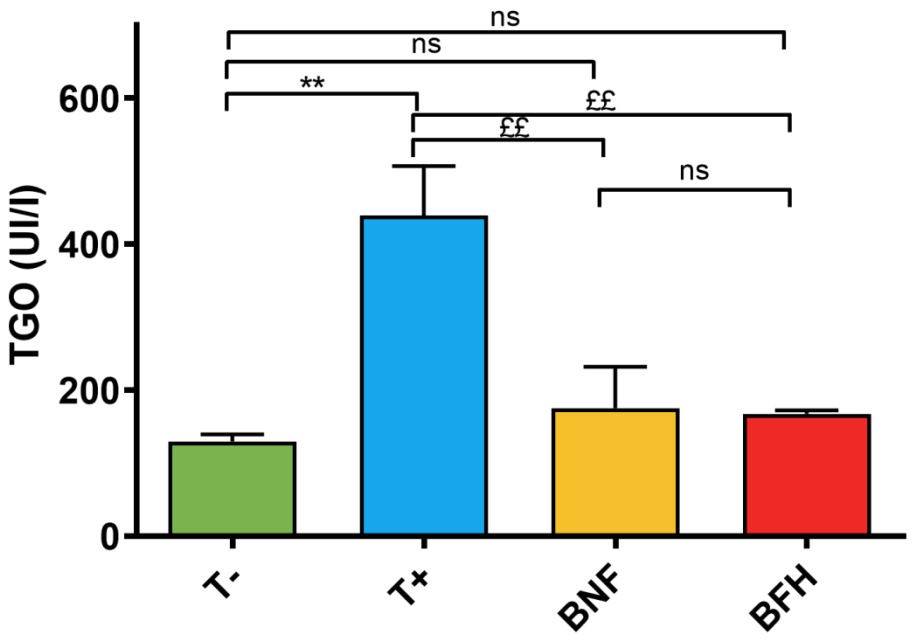


Figure 46 : **Dosage du taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT) (UI/l) chez les quatre groupes expérimentaux.**

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : ** p<0,01.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05.

5.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

D'après les résultats obtenus (Figure 47), on note une augmentation hautement significative de la concentration en ALAT chez les rats du groupe témoin positif (T^{+}) par rapport à ceux du groupe T^{-} (p<0,01). En revanche, cette augmentation a significativement diminué chez les groupes traités par le BNF et le BFH, dont les valeurs se rapprochent de celles enregistrées chez le groupe T^{-}. Il est à noter qu'aucune différence significative n'a été relevée entre les deux groupes traités (BNF et BFH).

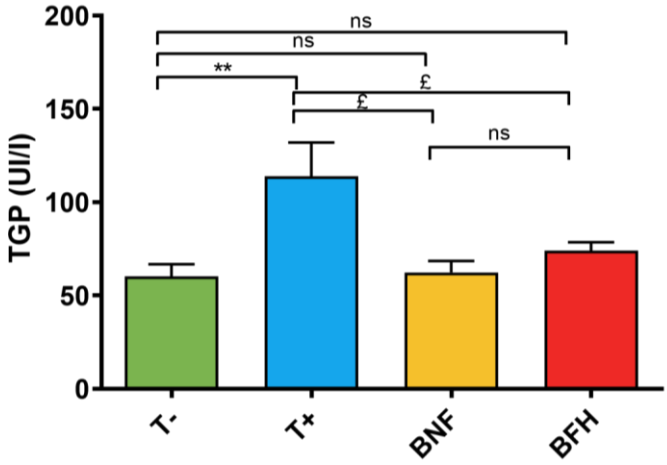


Figure 47 : Dosage de l'ALAT (UI/l) chez les quatre groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

** : Groupes expérimentaux (T^+, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^-) : ** $p<0,01$.*

£ : Témoin positif (T^+) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : £ $p<0,05$.

5. Etude bactériologique (dénombrement des bactéries)

5.1. Au niveau buccal

Le dénombrement bactérien est exprimé en Log10 UFC/g, de la concentration en micro-organismes viables. La supplémentation du BFH à 45 % dans un régime riche en lipides a provoqué une croissance considérable de la flore bactérienne, notamment des bactéries lactiques au niveau de la bouche par rapport aux T^-, T^+ et BNF (Figure 52).

5.2. Au niveau jéjunal

Il a été observé que l'adoption d'un régime riche en lipides, supplémenté à 45 % de BFH, stimule la prolifération du microbiote intestinal, en particulier les bactéries lactiques par rapport aux T^-, T^+ et BNF (Figure 52).

5.3. Au niveau fécal

La figure 52 montre que la supplémenté de BFH à 45 % dans un régime riche en lipides stimule particulièrement la multiplication des bactéries, notamment les bactéries lactiques par rapport aux T^-, T^+ et BNF.

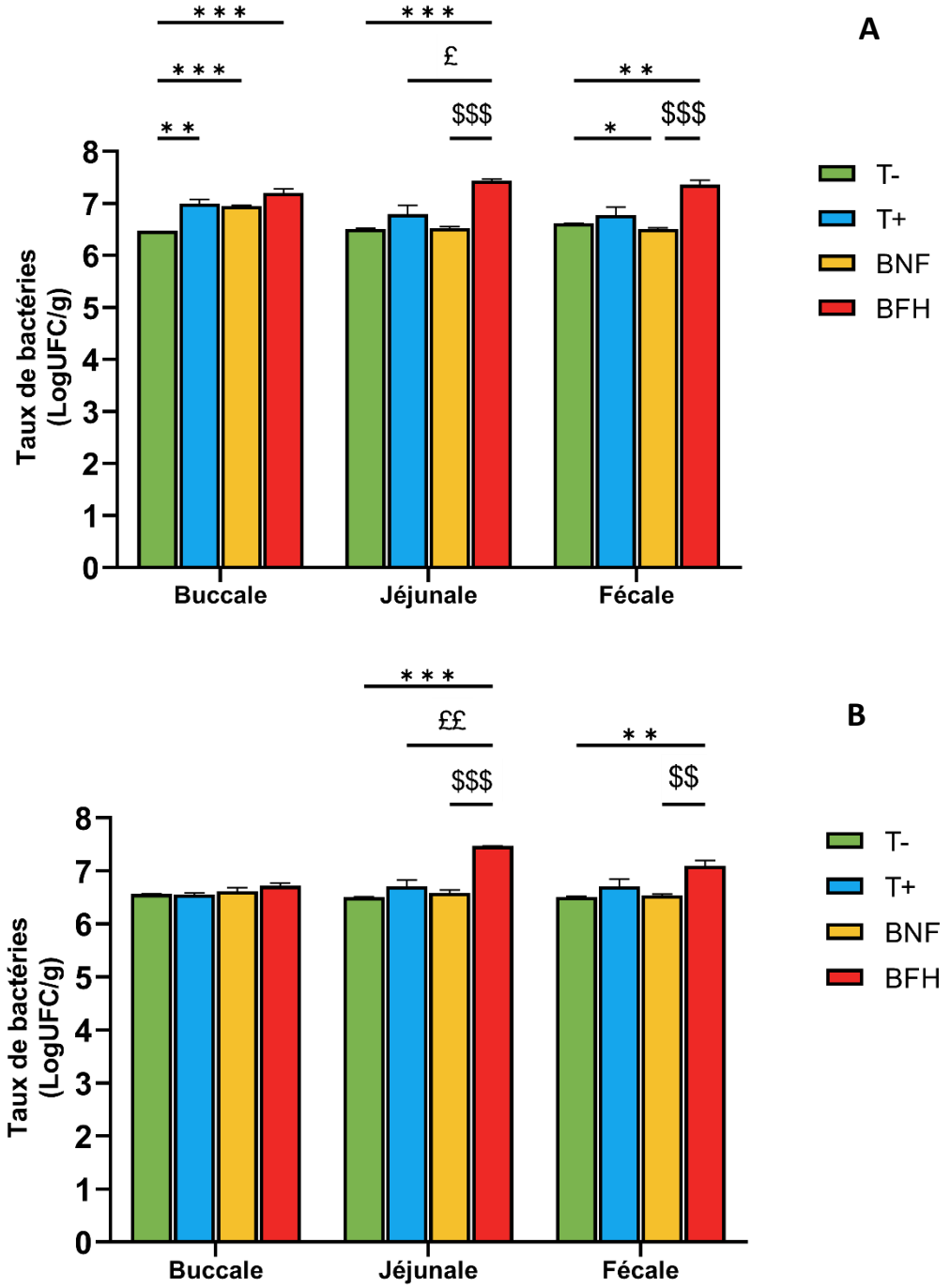


Figure 52 : Dénombrement de la flore bactérienne totale sur milieu GN (A) et des bactéries lactiques sur milieu MRS (B) du contenu buccal, intestinal et fécal chez les différents groupes expérimentaux.

Les valeurs exprimées sont des moyennes et leurs erreurs Standards (X±ES).

* : Groupes expérimentaux (T^{+}, BNF, BFH) Vs témoin négatif (T^{-}) : * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

$^{£}$: Témoin positif (T^{+}) Vs groupes expérimentaux (BNF, BFH) : $^{£}$ p<0,05, $^{££}$ p<0,01

$^{\$}$: BNF Vs BFH : $^{\$\$}$ p<0,01, $^{\$\$\$}$ p<0,001.

6. Etude métagénomique du microbiote intestinal

6.1. Au niveau du phylum

La figure 53 illustre la composition relative du microbiote intestinal au niveau du phylum chez les rats obèses (T^+) comparés à ceux traités avec le BFH. Chez le groupe T^+, le microbiote est principalement dominé par les Bacillota et les Bacteroidota, représentant ensemble la quasi-totalité des bactéries détectées, avec une proportion légèrement plus élevée de Bacillota. Cette prédominance traduit un déséquilibre microbien souvent associé à l'obésité et aux troubles métaboliques.

En revanche, dans le groupe ayant reçu le BFH, on observe un rééquilibrage du rapport Bacillota/Bacteroidota, marqué par une augmentation relative des Bacteroidota et une légère diminution des Bacillota. Ce changement est généralement considéré comme bénéfique, car un rapport Bacillota/Bacteroidota élevé est fréquemment corrélé à l'obésité, tandis qu'une augmentation des Bacteroidota est associée à une meilleure capacité de fermentation des fibres alimentaires et à une production accrue d'acides gras à chaîne courte, favorables à la santé intestinale et métabolique.

De plus, bien que minoritaires, d'autres phyla tels que les Actinomycetota, Pseudomonadota et Verrucomicrobiota apparaissent en proportions légèrement plus marquées dans le groupe BFH, traduisant une diversification microbienne accrue. Cette modulation du microbiote suggère que le BFH exerce un effet prébiotique, contribuant à restaurer un profil microbien plus équilibré et potentiellement protecteur contre les altérations métaboliques liées à l'obésité.

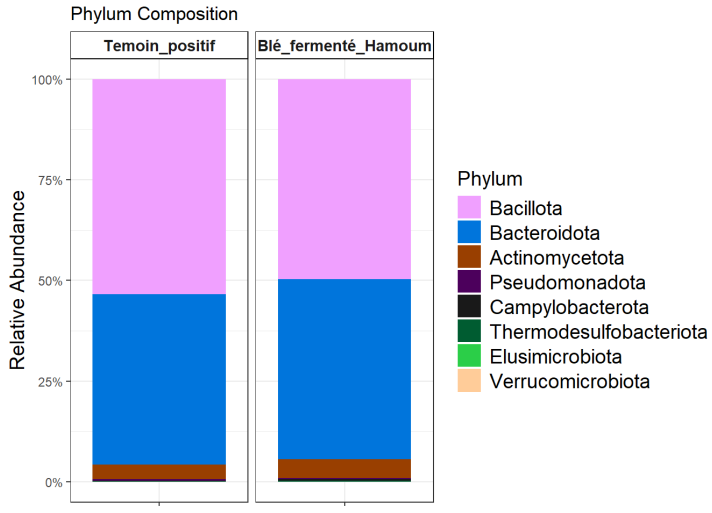


Figure 53 : Composition relative des principaux phylums bactériens dans les différents groupes.

6.2. Au niveau de la famille

La figure 54 représente la composition relative des principales familles bactériennes identifiées dans le microbiote intestinal des deux groupes expérimentaux, à savoir le groupe T^+ (rats obèses) et le groupe traité au BFH. L'analyse montre que le microbiote des rats T^+ est largement dominé par la famille des Prevotellaceae, suivie par les Lachnospiraceae et les Lactobacillaceae, reflétant un déséquilibre caractéristique d'un état d'obésité. En revanche, chez les rats ayant reçu le BFH, bien que la prédominance des Prevotellaceae et des Lachnospiraceae soit maintenue, on observe une redistribution notable des abondances relatives. En particulier, les familles Oscillospiraceae, Peptostreptococcaceae et Selenomonadaceae sont proportionnellement plus représentées dans ce groupe, traduisant une modulation favorable de la flore intestinale. Cette diversification microbienne, marquée par une augmentation des familles bénéfiques telles que les Bacteroidaceae, Muribaculaceae et Bifidobacteriaceae, suggère que la supplémentation en BFH contribue à restaurer un profil microbien plus équilibré et potentiellement protecteur contre les dérèglements métaboliques associés à l'obésité.

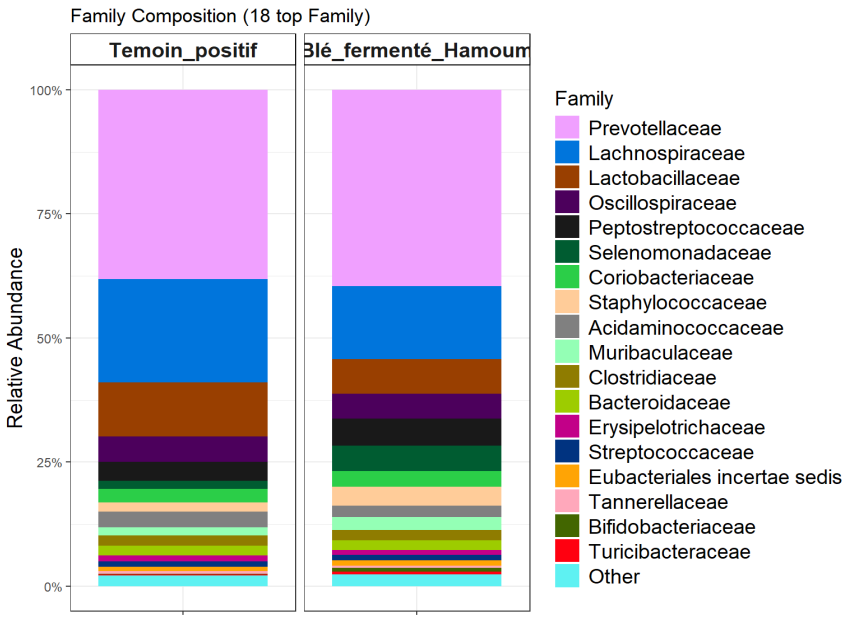


Figure 54 : Composition relative des principales familles bactériennes dans les différents groupes.

6.3. La diversité alpha du microbiote

La figure représente l'analyse de la diversité alpha du microbiote intestinal, comparant le groupe T^+ (rats obèses) et le groupe traité avec le BFH, selon différents indices (Observed, Chao1, Shannon et Inverse Simpson).

On constate que les indices Observed et Chao1, qui reflètent la richesse en espèces, sont globalement plus élevés dans le groupe T^+ par rapport au groupe BFH, indiquant une richesse microbienne initialement plus importante chez les rats obèses. Cependant, cette richesse est accompagnée d'un profil microbien déséquilibré.

En ce qui concerne la diversité prenant en compte à la fois la richesse et l'équité (indices Shannon et Inverse Simpson), les résultats montrent également des valeurs plus élevées dans le groupe T^+, suggérant une plus grande diversité apparente. Toutefois, dans le groupe BFH, bien que la diversité soit légèrement réduite, elle est orientée vers une composition plus équilibrée et potentiellement bénéfique, avec une augmentation de certaines familles bactériennes considérées comme favorables à la santé intestinale.

Ainsi, l'apport de BFH n'a pas conduit à une augmentation significative de la diversité alpha, mais semble plutôt avoir favorisé une réorientation qualitative du microbiote, privilégiant des taxa bénéfiques au détriment de communautés associées à l'obésité. Ce résultat suggère que l'effet du BFH repose davantage sur la modulation fonctionnelle du microbiote que sur une augmentation brute de la diversité microbienne.

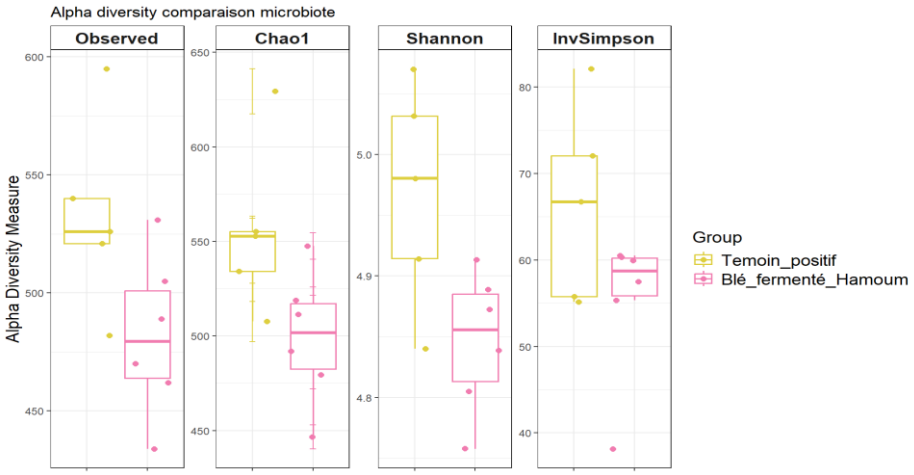


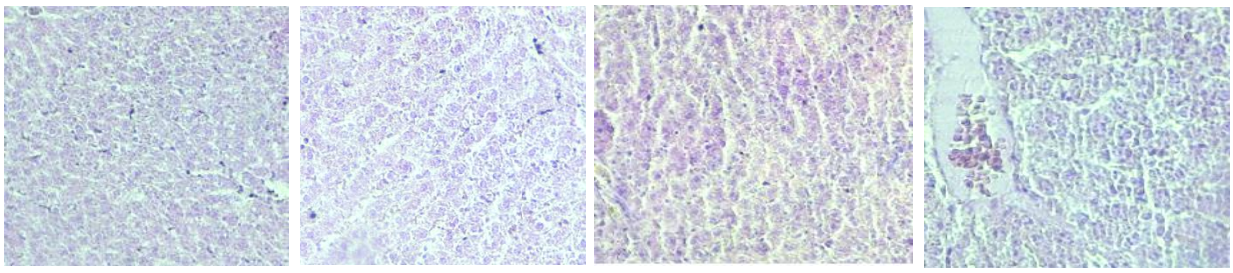
Figure 55 : Comparaison de la diversité alpha du microbiote intestinal des rats de différents groupes.

7. Etude histologique

7.1. Effet du BFH sur l'architecture du foie

L'analyse histologique des coupes du foie observées au microscope optique (au grossissement ×400) n'a révélé aucune altération de l'architecture hépatique dans l'ensemble des groupes étudiés.

Aucun signe de stéatose ni d'infiltrat inflammatoire n'a été mis en évidence (Figure 56).



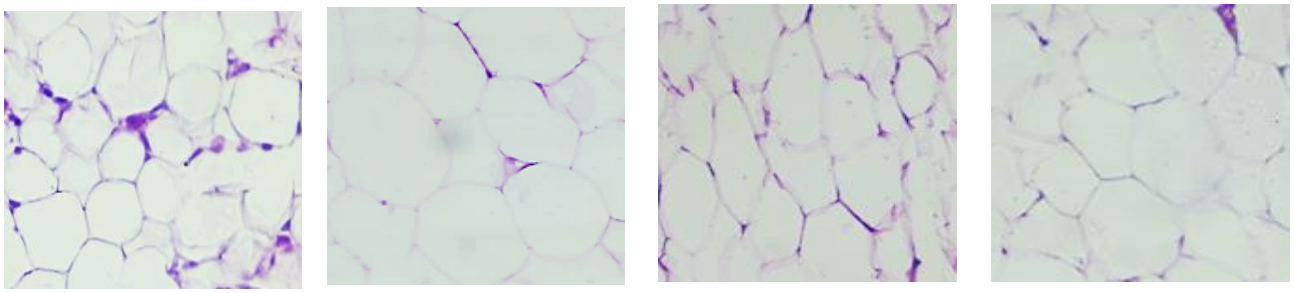
A **B** **C** **D**

Figure 56 : **Observations au microscope optique de coupes histologiques du foie de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400).**

7.2. Effet du BFH sur l'architecture du tissu adipeux

L'examen histologique du tissu adipeux des rats du groupe T^- révèle une architecture normale caractérisée par des adipocytes de petite taille, denses et exempts de toute réaction inflammatoire. En revanche, chez les rats du groupe T^+, les adipocytes apparaissent nettement hypertrophiés, avec une membrane amincie et la présence de quelques cellules rompues.

Par ailleurs, l'analyse des coupes des groupes ^{recevant} des régimes à base de BNF et de BFH met en évidence une amélioration notable de la structure tissulaire, traduite par une réduction de la taille des adipocytes par rapport au T^+ (Figure 57).



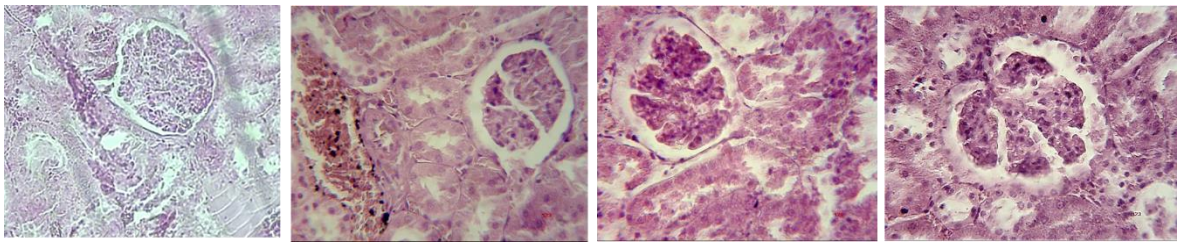
A **B** **C** **D**

Figure 57 : **Observations au microscope optique de coupes histologiques du tissu adipeux de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (coloration à l'H&E, ×400).**

7.3. Effet du BFH sur l'architecture des reins

L'examen histologique des reins (Figure. 58) a révélé des différences notables entre les groupes expérimentaux. Chez les rats du groupe T^-, l'architecture rénale apparaît normale, caractérisée par des glomérules bien organisés, des tubules rénaux réguliers et l'absence de tout signe d'inflammation ou de dégénérescence cellulaire. En revanche, les coupes issues du groupe T^+ montrent des altérations marquées, se traduisant par une hypertrophie glomérulaire, une dilatation tubulaire, un épaississement de l'épithélium ainsi qu'une infiltration inflammatoire, témoignant d'un état pathologique avancé.

Chez les rats soumis au régime à base de BNF, une amélioration de la structure rénale a été observée, avec une réduction significative des lésions glomérulaires et tubulaires, accompagnée d'une atténuation des signes d'inflammation. De même, le traitement par le BFH a permis de préserver en grande partie l'intégrité tissulaire, comme en témoignent des glomérules proches de la morphologie normale et une nette diminution des altérations tubulaires et inflammatoires. Ces résultats suggèrent que le BNF et le BFH exercent un effet protecteur sur le tissu rénal en limitant les dommages induits dans le modèle pathologique étudié.



A **B** **C** **D**

Figure 58 : **Observations au microscope optique de coupes histologiques des reins de rats du groupe témoin négatif (A), du groupe témoin positif (B), du groupe BNF (C) et du groupe BFH (D) (coloration à l'H&E, ×400).**

Discussion

Notre échantillon a été prélevé dans une région rurale de la commune de Mazouna, wilaya de Relizane, au cours du mois de juin 2020, après un stockage traditionnel dans un grenier souterrain d'une période de 12 mois à partir de la date de récolte.

L'analyse morphologique a révélé que les grains de BFH présentent une forme ovoïde de taille moyenne, avec une longueur comprise entre 6 et 8 mm et une largeur de 2 à 3 mm. Toutefois, le BFH se distingue par une coloration marron foncé, probablement attribuable à une contamination par des champignons de champ et de stockage, notamment *Aspergillus glaucus* et *Penicillium*, responsables du noircissement du germe de blé **(Brooker D.B *et al.*, 1992 ; Heredia N *et al.*, 2009)**. Parallèlement, une odeur prononcée, voire désagréable, a été observée, témoignant également d'une contamination fongique des grains. Cette observation corrobore les travaux de **Mathew S.H (2010)**, qui a démontré que les grains stockés dans des conditions d'humidité élevée développent une odeur de moisi caractéristique.

Les résultats des analyses physico-chimiques et biochimiques des grains du BFH a révélé une teneur en eau supérieure (11,28 *Vs* 10.30%), ce qui est en adéquation avec les recherches antérieures ayant confirmé que cette augmentation est due au fort taux d'humidité **(Bartali E et Debbarh A, 1991)**. En comparaison, la teneur en eau du BNF se situe dans l'intervalle de 9 à 13 % **(Boudreau A et Ménard G, 1992)**, mais reste inférieure aux valeurs rapportées par **Jeanet R *et al.* (2006)**, comprises entre 13 et 15 %. Cette variation peut être attribuée au processus de fermentation qui modifie la structure des grains par dégradation des parois cellulaires sous l'action d'enzymes bactériennes, libérant ainsi l'eau et augmentant la capacité de rétention hydrique des tissus **(Tian K *et al.*, 2024)**.

Le taux de cendres du BNF s'élève à 2,99 %, valeur qui excède l'intervalle de référence de 1,5 à 2,5% rapporté par **Feillet P (2000)**. En revanche, le BFH présente un taux de cendres nettement inférieur, soit 1,52 %. Cette diminution observée pourrait s'expliquer par les transformations biochimiques induites par le processus de fermentation. En effet, la fermentation peut conduire à la solubilisation de certains minéraux, qui sont susceptibles d'être entraînés par la phase aqueuse au cours du processus, entraînant ainsi une réduction de la teneur en matières minérales totales dans le BFH.

Nos résultats révèlent une diminution significative de la teneur en lipides dans le BFH comparant au BNF (2,76 % contre 3,67 %). Ce phénomène pourrait être attribué à la dégradation des lipides céréaliers au cours de la fermentation, notamment des triglycérides, sous l'action de la flore microbienne environnante. En effet, les lipases et estérases microbiennes catalysent l'hydrolyse des triglycérides en acides gras libres et en glycérol. Cette

activité lipolytique a été détectée chez de nombreux micro-organismes impliqués dans les processus fermentaires, notamment les moisissures (genres *Aspergillus, Penicillium, Rhizopus*), les levures (genres *Candida*, *Saccharomyces, Saccharomycopsi*s) ainsi que diverses bactéries (genres *Serratia, Pseudomonas, Xanthomonas, Chromobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*) **(Xia J.Z *et al.,* 2023)**.

La teneur en protéines constitue un paramètre déterminant tant sur le plan nutritionnel que technologique, dans la mesure où elle renseigne sur les propriétés fonctionnelles de la farine **(Chene A, 2001)** et influence considérablement la viscoélasticité des pâtes ainsi que la qualité finale du pain **(Feillet P, 2000)**.

Nos résultats mettent en évidence une teneur en protéines relativement faible dans le BFH (9,32%) comparativement au BNF (16,82%). Cette diminution substantielle peut être attribuée à l'utilisation des protéines comme substrat énergétique par la flore microbienne, celles-ci étant hydrolysées sous l'action des protéases et peptidases microbiennes. **Mugula J.K *et al.* (2003)** ont d'ailleurs observé que la fermentation des céréales par les bactéries lactiques s'accompagne d'une augmentation des acides aminés libres et de leurs dérivés, résultant de phénomènes de protéolyse et/ou de synthèse métabolique. Par ailleurs, la lyse cellulaire induite par une charge microbienne élevée peut également contribuer à la réduction de la teneur en composés azotés.

Néanmoins, les valeurs protéiques enregistrées demeurent conformes aux intervalles de référence rapportés par **Cheftel J.C. (1977)**, soit respectivement 7 à 18% et 8 à 20% de matière sèche. Il convient de rappeler que la panification devient technologiquement impossible lorsque la teneur en protéines des farines est inférieure à 7 %. Sur la base de ce critère, les blés sont généralement classés en trois catégories qualitatives : qualité supérieure (> 15 %), qualité moyenne (13 à 15 %) et faible qualité (< 13 %).

Nos résultats révèlent une augmentation marquée de l'acidité grasse dans le BFH par rapport au BNF (1,08 % contre 0,16 %). Cette élévation s'explique par la production d'acides gras volatils au cours du processus fermentaire, principalement sous l'action des bactéries lactiques. Les travaux de **Yssaad D *et al.* (2020)** ont d'ailleurs mis en évidence la présence d'une grande diversité d'acides gras volatils dans le BFH, notamment les acides acétique, butyrique et propionique.

Concernant le pH, nos mesures indiquent que le BNF présente un pH légèrement acide à neutre, résultat concordant avec les observations de **Jeantet *et al.,* (2006)** qui rapportent des

valeurs proches de la neutralité pour les farines non fermentées. Par contre, le BFH se caractérise par un pH nettement acide. Cette acidification résulte directement du processus fermentaire, la diminution du pH s'accompagne d'une augmentation simultanée de l'acidité grasse, traduisant l'accumulation d'acides organiques générés par l'activité métabolique microbienne. Ces acides organiques comprennent principalement l'acide lactique, mais également d'autres acides gras à chaîne courte tels que les acides acétique, propionique, butyrique et formique **(Kohajdova Z et Karovicova J, 2007)**.

Les résultats du dosage des fibres alimentaires révèlent des valeurs plus faibles dans le BFH comparativement au BNF. Ces observations concordent avec les travaux de **Feillet P. (2000)**. Cette diminution s'explique principalement par l'activité enzymatique de la flore fermentaire. Certaines bactéries lactiques et levures produisent des enzymes hydrolytiques (cellulases, hémicellulases et pectinases) capables de dégrader les fibres insolubles en sucres simples, qui sont ensuite métabolisés comme source énergétique pour la croissance microbienne **(Jespersen L, 2003)**.

Ainsi, le processus fermentaire contribue à l'amélioration de la digestibilité et de la valeur nutritionnelle du produit en réduisant la teneur en fibres insolubles. Parallèlement, cette transformation s'accompagne d'une augmentation relative de la fraction des fibres solubles, reconnues pour leurs effets bénéfiques sur le microbiote intestinal **(Liao A.M *et al.*, 2022)**.

Le BFH présente une masse de mille grains légèrement supérieurs à celle du BNF (40,44 *Vs* 39,59 %). Cette augmentation peut être attribuée à plusieurs phénomènes associés au processus fermentaire, notamment l'hydratation des grains, l'amélioration de la capacité de rétention d'eau **(Katina K *et al.*, 2006)**, les modifications structurales de la matrice céréalière, le développement de la biomasse microbienne ainsi que l'accumulation de métabolites issus de l'activité fermentaire.

La masse à l'hectolitre constitue un paramètre déterminant pour l'évaluation de la qualité commerciale et technologique du blé. En effet, cet indicateur permet d'estimer le rendement en farine, une masse à l'hectolitre élevée étant généralement associée à une qualité meunière supérieure.

Nos résultats révèlent que la masse à l'hectolitre du BNF est significativement plus élevée que celle du BFH. Cette diminution observée après fermentation pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs : d'une part, les modifications structurales induites par le processus fermentaire peuvent altérer la densité et la compacité des grains. D'autre part, la présence

potentielle de résidus fermentaires et de biomasse microbienne peut réduire la densité apparente du produit. Ces observations concordent avec les travaux de **Clavel R (1996)** ainsi qu'avec les normes établies par le Journal Officiel algérien (N°32, 1988).

Le mitadinage constitue un critère déterminant dans l'évaluation de la qualité technologique du blé, influençant directement le rendement meulier ainsi que la qualité de la semoule et de ses produits dérivés (pâtes alimentaires, couscous). Les grains mitadinés, caractérisés par une structure endospermique farineuse plutôt que vitreuse, présentent un poids spécifique réduit et diminuent considérablement le rendement de mouture.

Ce défaut résulte principalement de conditions climatiques défavorables, notamment un excès d'humidité ou une carence azotée du sol, entraînant un développement anormal de l'endosperme avec gonflement des grains et altération de leur structure vitreuse **(Desclaux D, 2005)**.

Nos résultats révèlent une disparité considérable entre les deux échantillons : le BNF présente un taux de mitadinage négligeable (0,05 %), tandis que le BFH atteint un taux de 100 %, indiquant que la totalité des grains analysés présente un endosperme de structure farineuse. Cette valeur maximale traduit une qualité technologique médiocre du BFH, d'autant plus que le règlement européen 824/2000 fixe à 27 % le seuil maximal acceptable pour les grains mitadinés, même partiellement **(ITCF, 2001)**.

Nos résultats révèlent une teneur en gluten quasiment absent dans le BFH au BNF, lequel présente une teneur conforme aux critères de qualité boulangère établis par la norme ISO 21415-1 (2006). Cette dégradation prononcée du réseau glutineux peut être attribuée à plusieurs mécanismes enzymatiques complémentaires.

Premièrement, la flore microbienne endogène, tant bactérienne que fongique, joue un rôle majeur dans la protéolyse des protéines de gluten **(Doumandji A *et al.*, 2003)**. Les bactéries lactiques, en particulier, sont capables de dégrader certains composés azotés en libérant de l'ammoniac gazeux. Deuxièmement, l'activité lipolytique contribue indirectement à cette dégradation : les lipases microbiennes libèrent des acides gras libres qui peuvent altérer la structure tridimensionnelle des protéines gluténiques et déstabiliser le réseau protéique.

Cette diminution drastique de la teneur en gluten présente des implications technologiques majeures, puisque ce paramètre conditionne directement les propriétés rhéologiques de la pâte et, par conséquent, la qualité du produit fini.

L'indice de chute constitue un paramètre essentiel dans la classification qualitative du

blé destiné à la transformation. Ce critère reflète l'activité alpha-amylasique du grain : un indice faible traduit une hydrolyse excessive de l'amidon, rendant la farine impropre à la panification en raison d'une fermentation déficiente de la pâte et d'une structure alvéolaire inadéquate du pain.

Nos résultats indiquent un indice de chute de 80 secondes pour le BFH, valeur significativement inférieure à celle du BNF qui s'établit à 270 secondes, cette dernière se situant dans l'intervalle caractéristique d'une activité enzymatique modérée (250-300 secondes). L'indice particulièrement bas du BFH (< 150 secondes) témoigne d'une activité alpha-amylasique très élevée, probablement accentuée par le processus fermentaire. Cette forte activité enzymatique, bien que préjudiciable à la panification traditionnelle, pourrait néanmoins être valorisée dans la fabrication de produits de biscuiterie et de pâtisserie, où une dégradation prononcée de l'amidon est souvent recherchée pour améliorer la texture et les propriétés organoleptiques **(Atwell W.A, 2001)**.

L'analyse des métaux lourds révèle que les concentrations mesurées dans nos échantillons demeurent conformes aux seuils réglementaires établis par la norme européenne NF EN 13650, attestant ainsi d'un état sanitaire satisfaisant. Néanmoins, certaines variations qualitatives sont observées entre le BNF et le BFH.

Concernant le mercure et le plomb, les teneurs détectées dans le BFH sont supérieures à celles du BNF. Cette accumulation pourrait s'expliquer par une contamination du BFH lors de son contact prolongé avec la microflore tellurique durant le processus de fermentation traditionnelle. En effet, les conditions d'humidité et le contact direct avec le sol peuvent favoriser le transfert de ces éléments traces métalliques vers la matrice céréalière.

À l'inverse, l'analyse de l'arsenic met en évidence une concentration plus élevée dans le BNF comparativement au BFH. Cette différence pourrait suggérer une mobilisation ou une volatilisation partielle de l'arsenic au cours du processus fermentaire, bien que ce phénomène nécessite des investigations complémentaires pour être pleinement élucidé. Ces résultats restent conformes aux normes internationales.

L'analyse électrophorétique par SDS-PAGE a permis de caractériser les différentes fractions protéiques du blé (albumines/globulines et gliadines) et de mettre en évidence des modifications majeures de leurs profils suite à la fermentation traditionnelle.

Les électrophorégrammes révèlent une disparition quasi complète des fragments polypeptidiques correspondant aux albumines et globulines dans le BFH, contrastant avec le

profil intact observé dans le BNF où l'ensemble de ces fractions demeure clairement identifiable. Cette dégradation protéolytique extensive résulte de l'activité enzymatique de la flore microbienne endogène, tant bactérienne que fongique, présente durant le processus fermentaire **(Doumandji A *et al.*, 2003)**. **Thiele C *et al.* (2004)** ont d'ailleurs rapporté un taux de dégradation de l'albumine atteignant 83,4 % dans des conditions fermentaires similaires.

L'ampleur de cette protéolyse dépend de plusieurs facteurs, notamment la durée de fermentation, la variété de blé utilisée et la composition de la flore microbienne impliquée **(Prückler M *et al.*, 2015)**. Par ailleurs, l'équilibre de la microflore endogène des grains peut être influencé par de nombreux paramètres environnementaux, modulant ainsi le développement des bactéries, levures et moisissures responsables de la fermentation spontanée **(Yao A.A *et al.*, 2009)**.

L'hydrolyse des protéines en polypeptides et acides aminés par les microorganismes s'opère généralement de manière lente dans les conditions de stockage conventionnelles **(Multon J.L, 1982)**. Les protéases microbiennes présentent une spécificité de substrat élevée et sont majoritairement de nature extracellulaire **(Guiraud J.P, 2003)**. Les variations de pH induites par le processus fermentaire peuvent activer certaines enzymes endogènes, favorisant ainsi l'hydrolyse des principales protéines céréalières : gliadines, gluténines, albumines et globulines **(Wang Y, 2024)**.

L'électrophorèse SDS-PAGE révèle également une dégradation quasi totale des gliadines, protéines solubles dans les solutions éthanoliques diluées et présentant un poids moléculaire compris entre 30 et 80 kDa. **Gourchala F *et al.* (2014)** ont rapporté un taux de dégradation des gliadines de 57,3 %, phénomène contribuant partiellement à la dépolymérisation du réseau glutineux.

Concernant les glutenines, les travaux de **Gourchala F *et al.* (2014)** ont établi un taux de dégradation de 20 %. En revanche, nos résultats démontrent une protéolyse complète du gluten (100 %), témoignant d'une transformation biochimique profonde du BFH. Cette dégradation extensive, bien que défavorable d'un point de vue technologique, pourrait présenter un intérêt nutritionnel en améliorant la digestibilité des protéines. L'intensité de cette protéolyse peut être attribuée à plusieurs facteurs : la variété de blé, la durée de stockage, les caractéristiques de la semence, les conditions climatiques, la richesse minérale du sol, ainsi que la diversité et l'activité de la flore lactique et levurienne endogène **(Prückler M *et al.*, 2015)**.

Les travaux de **Doukani K *et al.* (2013)** ont démontré que la fermentation bactérienne et fongique induit des modifications substantielles de la composition biochimique et de la valeur nutritionnelle du blé durant le stockage. Ainsi, comparativement au BNF, le BFH se caractérise par un pH acide, des teneurs élevées en eau, en matières minérales, en sucres réducteurs et en composés phénoliques totaux, mais des concentrations réduites en lipides, en sucres totaux, en fibres alimentaires et en protéines. Ces transformations biochimiques reflètent l'activité métabolique intense de la microflore fermentaire qui confère au BFH des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles distinctes de celles du BNF.

La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) permet une séparation efficace des polypeptides de gliadines basée sur leurs différences d'hydrophobicité de surface. Dans cette approche analytique, la séparation repose sur les interactions hydrophobes établies entre les acides aminés exposés à la surface des polypeptides et la phase stationnaire apolaire, dans des conditions d'élution rigoureusement contrôlées.

Le chromatogramme des gliadines natives du BNF révèle de nombreux pics pouvant être regroupés en deux ensembles distincts selon leur temps de rétention et leurs affinités pour la phase stationnaire. Les ω-gliadines, caractérisées par une hydrophobicité relativement faible, éluent en premier avec des temps de rétention compris entre 20 et 26 minutes. Le second groupe, constitué du mélange des α-, β- et γ-gliadines, élue ultérieurement entre 28 et 54 minutes. L'aire sous les pics de ce second groupe est nettement supérieure à celle des ω-gliadines, traduisant une interaction plus prononcée avec la phase stationnaire et, par conséquent, un degré d'hydrophobicité plus élevé.

L'analyse comparative du profil chromatographique du BFH révèle une dégradation quasi totale des fractions de gliadines, caractérisée par la disparition complète des pics dans l'intervalle 20-54 minutes. Cette protéolyse extensive résulte de l'activité de la flore bactérienne endogène, particulièrement riche en bactéries lactiques, présente dans le BFH **(Paul Ross R et *al.*, 2002 ; Nout MJR, 2009 ; Benakriche B.M *et al.*, 2016)**. Ces observations chromatographiques corroborent les résultats électrophorétiques précédemment décrits.

La comparaison des données électrophorétiques et chromatographiques confirme l'absence quasi totale de gliadines dans le BFH comparativement au BNF **(Bouferkas Y *et al.*, 2019)**, attestant ainsi de l'efficacité du processus fermentaire dans la dégradation de ces protéines.

L'évaluation de l'activité antioxydante montre que le BFH présente une capacité antiradicalaire significativement supérieure à celle du BNF (27,61 ± 0,62 % *Vs* 24,56 ± 0,51 %). Des études antérieures ont révélé que le BFH présentait une capacité de piégeage des radicaux DPPH de 28.64 ± 1.85 % contre seulement 3.51 ± 0.99 % chez le BNF (**Benhamada B & Idoui T, 2021).** Cette activité, notamment vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peut être attribuée à la richesse du BFH en composés phénoliques résultant du processus fermentaire. Les polyphénols jouent un rôle nutritionnel crucial en raison de leurs effets positifs sur la santé. En tant qu'antioxydants naturels, ils contribuent à la prévention et au traitement du cancer, ainsi que des maladies inflammatoires cardiovasculaires et neuro-dégénératives **(El-Saadony MT et *al.*, 2024).**

En effet, de nombreux travaux ont démontré le rôle protecteur des polyphénols, en particulier des flavonoïdes, contre la cytotoxicité induite par les espèces réactives de l'oxygène. Ces composés bioactifs exercent leur action protectrice tant chez les cellules de mammifères que chez les microorganismes, contribuant ainsi à la défense cellulaire contre le stress oxydatif **(Kim H.J *et al.*, 2022)**. L'augmentation de la teneur en composés phénoliques durant la fermentation pourrait donc expliquer l'activité antioxydante importante du BFH, conférant à ce produit traditionnel des propriétés fonctionnelles intéressantes d'un point de vue nutritionnel et thérapeutique.

L'accroissement de l'activité antioxydante observé dans le BFH peut être attribué à l'action conjuguée de diverses enzymes hydrolytiques produites par la microflore fermentaire et fongique. Ces enzymes, incluant des glycosidases, des estérases et des protéases, catalysent la libération des aglycones à partir de leurs formes glycosylées, conduisant ainsi à une augmentation de la fraction libre des composés phénoliques et, par conséquent, du potentiel antioxydant global **(Bhanja S.N *et al.*, 2009)**.

Dans les céréales, les acides phénoliques se trouvent majoritairement sous forme liée ou conjuguée, associés à des sucres (glycosides), des acides organiques (esters phénoliques) ou des protéines. Ces formes complexées présentent une accessibilité et une réactivité antioxydante réduites. L'hydrolyse enzymatique induite par la fermentation s'avère donc essentielle pour maximiser la libération et la biodisponibilité des composés phénoliques céréaliers **(Wojdyło A et Oszmiański J, 2007)**.

Dans le cas du blé, les composés phénoliques sont principalement concentrés dans les enveloppes périphériques du grain. Durant la fermentation traditionnelle en Matmora, le

consortium microbien produit un arsenal enzymatique diversifié directement au sein de la matrice céréalière solide. Ces enzymes hydrolytiques agissent de manière synergique pour dégrader les liaisons covalentes retenant les composés phénoliques dans les structures pariétales et libérer ainsi les formes bioactives.

De nombreuses études corroborent l'effet bénéfique de la fermentation sur l'enrichissement en composés phénoliques et l'amélioration de l'activité antioxydante des céréales **(Bonoli M *et al.*, 2004)**. Néanmoins, l'amplitude de cette biotransformation dépend étroitement de la composition et de l'activité enzymatique de la microflore. Dans le cas du BFH, la fermentation spontanée en conditions traditionnelles favorise le développement d'une flore microbienne complexe et diversifiée, dont l'activité enzymatique semble particulièrement efficace pour la libération des composés bioactifs, comme en témoignent nos résultats.

Les résultats obtenus montrent que le BFH à une activité anti-inflammatoire hautement significative par rapport au BNF (92,07 *Vs* 50,50 %). *Cela est dû probablement à* sa capacité à favoriser la santé des intestins et à réguler le système immunitaire. Ce procédé favorise la prolifération de bactéries bénéfiques, réduit l'inflammation intestinale, et certains éléments du blé fermenté, tels que les extraits de germe de blé fermenté, pourraient apporter des bienfaits pour l'arthrite et le système immunitaire des modèles animaux **(Telekes A *et al.*, 2007**). La fermentation contribue à la dégradation du gluten, facilitant ainsi sa consommation spécialement chez les personnes ayant une intolérance ou une allergie au gluten. Il fournit des probiotiques vivants qui favorisent un microbiote intestinal sain, contribuant de à la réduction de l'inflammation.

Selon **Rizzello C.G *et al.*, 2016**, le BFH réduit le taux des cytokines pro-inflammatoire (TNF-α, IL-6, IL-1β et IFN-γ). Il inhibe les voies de signalisation inflammatoires en libérant des composés bioactifs tels que les peptides et les acides phénoliques, Les peptides du BFH maintiennent l'intégrité des cellules intestinales empêchant ainsi la perméabilité accrue liée à l'inflammation. **Kim H.J *et al.* (2023)** ont montré que la fermentation favorise la production des IL-10.

De nos jours, les bactéries lactiques suscitent un vif intérêt en raison de leurs qualités nutritives et thérapeutiques dans les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique. La connaissance de ces BL pourrait nous donner la possibilité de les exploiter dans la bio-conservation, l'amélioration de la valeur nutritive, qualité sensorielle des aliments et les préparations probiotiques. Effectivement, les BL font partie intégrante de la flore intestinale normale et contribuent de manière significative à la préservation et à l'amélioration de la santé.

Après dilution, isolement et purification sur milieu MRS (incuber à 37°C/24 heures). Des colonies présentant les caractéristiques de BL ont été séparées. Cette phase a révélé la présence d'une flore lactique dans le BFH. Le dénombrement des colonies des BL isolées du BFH est de $2*10^5$ UFC/g avec 10^5 UFC/g pour les *Lactobacillus*. L'étude microbiologique a fait l'objet de plusieurs recherches antérieures prouvant la dominance des BL par rapport à la flore totale **(Bekouche F *et al.*, 2013 ; Benakriche B.M *et al.*, 2016 ; Kalbaza K *et al.*, 2016 ; Drabo M.S, 2019)**, spécialement les *Lactobacillus* **(Walsh A.M *et al.*, 2016 ; Meulen RVD *et al.*, 2007)**.

Il est évident que la charge microbienne présente dans notre substrat est considérablement élevée.

Le nombre des BL isolées à partir de blé italien varie de 1 à $16x10^2$ ufc/g. Dans le même ordre d'idée, les travaux effectués sur les farines de blé marocaines, le dénombrement des BL varie entre 10 et $6x10^2$ **(Ennadir J *et al.*, 2004)**. Cette différence peut être du a la période de fermentation et à la nature de sol.

L'identification des bactéries lactiques isolées à partir BFH a commencé par un premier screening basé sur la coloration de Gram et le test de catalase. Une batterie de tests portant sur les caractéristiques macroscopiques (aspect des colonies, la couleur et la taille) et microscopiques (formes coques ou bâtonnets et leurs modes de regroupements), physiologiques (croissance à différents pH, différentes concentrations de NaCl, différentes températures et le test de la thermo-résistance) et biochimiques (Citrate, H_2S, Mannitol-mobilité, Arginine dihydrolase) sur des cultures pures. L'évaluation du microbiote du BFH montre que les bactéries lactiques sont la flore dominante durant toute la période de fermentation, malgré leur charge très négligeable dans le blé non-fermenté.

1. Etude de diabète

Le diabète est une pathologie métabolique chronique qui se manifeste par une augmentation de la glycémie. Elle est due à un dysfonctionnement de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline **(Tenenbaum M *et al.*, 2018)**, Le diabète est classé comme la cause principale de diverses comorbidités et décès dans le monde **(Kandouli C *et al*., 2017)**.

Dans cette partie, notre objectif est d'évaluer l'effet thérapeutique d'un régime à base de BFH sur les paramètres anthropométriques, morphometriques biochimiques, métagénomiques et histologiques chez les rats rendus diabétiques.

Les modèles animaux sont indispensables afin d'analyser les mécanismes qui contribuent à la pathogénie du diabète et d'évaluer les différentes thérapies possibles **(Shatwan I.A *et al*., 2013)**. L'induction expérimentale du diabète de type 2 chez les rongeurs repose généralement sur l'administration d'un régime hypercalorique et/ou hyperlipidique, à court ou à long terme, associée à l'administration d'une faible dose de Streptozotocine (STZ) **(Atanasovska E *et al.*, 2014)**. Ce modèle expérimental permet de reproduire les caractéristiques métaboliques du diabète de type 2 humain en induisant une insulinorésistance périphérique (via le régime hyperlipidique) couplée à une dysfonction partielle des cellules β pancréatiques (via la STZ à faible dose) **(Guo X.X *et al*., 2018 ; Wang Y *et al*., 2019)**. Les doses les plus efficaces employées de STZ pour provoquer le DT2 sont de 30 à 40 mg/kg de poids corporel chez des rats soumis simultanément à des régimes alimentaires hyperlipidiques **(Wang Y *et al*., 2011 ; 2012 ; Shatwan I.A *et al*., 2013)**.

Dans notre recherche, nous avons induit le DT2 chez le rat Wistar male en utilisant un régime hyperlipidique contenant 30% de graisse de mouton pendant une période de 10 semaines, associé à une injection unique à fiable dose de STZ (35 mg/kg de PC) par voie intrapéritonéale **(Danda S *et al*., 2005)**. Le choix de la graisse de mouton comme source lipidique se justifie par sa composition en acides gras, caractérisée par une proportion élevée d'acides gras saturés (59 %), principalement représentés par l'acide palmitique (30%) et l'acide stéarique (25%), accompagnés en proportions moindres d'acide palmitoléique et d'acide myristique (2%) **(Hamza-Reguig S *et al.*, 2017)**. De nombreuses études ont démontré qu'un régime hyperlipidique administré sur une période de 8 à 12 semaine induite chez le rat des altérations métaboliques mimant les stades précoces du diabète de type 2 humain : gain pondéral excessif, hyperphagie, dyslipidémie (hypertriglycéridémie et hypercholestérolémie) et hyperglycémie **(Relling D.P *et al.*, 2006 ; Guo X.X *et al.*, 2018)**. De la même manière, d'autres études menées sur des périodes relativement courtes (1 à 2 mois) ont également

confirmé l'effet des régimes hypercaloriques/hyperlipidiques sur les facteurs de risque cardio-métaboliques chez le rat Wistar (**Besbes M *et al*., 2013 ; Chabane F.Z *et al*., 2013 ; Louala S *et al*., 2013 ; Hamza-Reguig S *et al*., 2017 ; Affane F *et al*., 2018; Harrat N.I *et al*., 2019).**

Les résultats du poids corporel montrent une diminution remarquable chez tous les rats diabétiques dès la première semaine par rapport au T^- **(Kim H.J, 2013).**

Après une phase d'adaptation, nous avons constaté une amélioration du poids chez les rats diabétiques soumis à un régime à base de BFH et BNF avec une augmentation plus importante chez ceux qui sont soumis à un régime hyperlipidique. Des études ont montré que chez les rats adaptés à l'hyperphagie périodique, la sensibilité du tissu adipeux à l'insuline est beaucoup plus élevée que chez les rats témoins nourris *ad-libitum*, cette sensibilité accrue à l'insuline entraîne une plus grande stimulation de la synthèse du glycogène et de la lipogenèse, entraînant une prise de poids lors de la phase d'adaptation **(Varna A *et al*., 1969).**

Nos résultats ont indiqué que le BFH diminue de manière significative les effets induit par le régime hyperlipidique sur le taux de glycémie. Selon des études précédentes, toutes les céréales contenant les fibres alimentaires, ralentissent de façon remarquable l'absorption des glucides assimilables et provoque un effet hypoglycémiant **(James M.L et Mark D.H, 2010)**. D'autres ont montré d'une réduction de la glycémie suite à une consommation régulière de prébiotiques **(Xiao J.Z *et al*., 2003)**.

Le dosage de l'HbA1c montre que les animaux du groupe T^+ présentent une élévation significative par rapport au groupe T^-, indiquant un état hyperglycémique chronique.

Par contre l'administration des régimes enrichis en BNF ou en BFH à 45 % entraîne une réduction hautement significative du taux d'HbA1c. Cela est dû à plusieurs causes principalement au ralentissement de la dégradation des glucides, et à la génération de composés biologiquement actifs appelés post-biotiques (peptides bioactifs, polyphénols, acides organiques, oligosaccharides). L'interaction de ces composés avec le microbiote intestinal, peut moduler positivement plusieurs paramètres physiologiques. Parmi eux, nous trouvons plus particulièrement l'acétate, le propionate et le butyrate **(Larraufie P, 2015)**.

L'acétate est un métabolite utilisé comme substrat énergétique par les tissus périphériques, Il est également impliqué dans la régulation de la glycémie et de la satiété.

Enfin, le propionate est utilisé comme substrat énergétique par le foie. Il est également impliqué dans la régulation de la gluconéogenèse. Le propionate a pour propriété de stimuler la

libération d'hormones intestinales telles que le peptide-1 de type glucagon (GLP-1) qui améliore la sécrétion d'insuline et la tolérance au glucose **(Edward S.C *et al.,* 2015).** Plusieurs études ont montré que la production de propionate est réduite chez les patients atteints de diabète de type 2. De plus, l'administration de propionate à des souris diabétiques réduit leur taux de sucre dans le sang et améliore leur sensibilité à l'insuline. Ces résultats suggèrent que le propionate pourrait jouer un rôle bénéfique dans la régulation du métabolisme glucidique et lipidique.

L'étude des indices HOMA-IR et HOMA-B issus de notre étude conduit à des interprétations précises concernant les impacts métaboliques sur l'incorporation du BFH dans les régimes alimentaires et thérapies mises en œuvre. Les rats du groupe T^- montre un profil métabolique stable, incluant une insulinémie normale, une sensibilité à l'insuline adéquate (HOMA-IR = 0,91) et une fonction β-pancréatique préservée (HOMA-β = 34,63).

Le groupe T^+ présente une résistance à l'insuline notable (HOMA-IR = 2,88), associée à une dégradation significative de la fonction pancréatique (HOMA-β = 9,58), caractéristiques d'un stade diabétique avancé. Il paraît que le régime hyperlipidique à 30% de graisse de mouton entraîne un grave déséquilibre métabolique.

Lactobacillus brevis contribue à l'amélioration du contrôle glycémique, de la sensibilité à l'insuline et de l'intégrité intestinale, ce qui souligne son importance dans la gestion des troubles métaboliques associés à l'obésité **(Ghosh S *et al.,* 2024)**. De plus, il a été corrélé à une amélioration des résultats dans les modèles de diabète de type 2 ainsi que dans ceux de carcinome hépatocellulaire **(Chen A *et al.,* 2024)**.

Les rats soumis aux régimes hyperlipidiques additionnés à 45 % de BNF ou BFH montrent une amélioration partielle (HOMA-IR 1.30 *Vs* 1.27), indiquant une résistance modérée, mais la fonction pancréatique supérieure à celle du T^+, suggérant un effet protecteur ou restaurateur partiel du traitement**.** La fermentation augmente la biodisponibilité de micronutriments essentiels (Zinc, Vitamine B et Magnésium) impliqués dans le métabolisme du glucose et la fonction pancréatique **(Katina K *et al* ., 2012)**.

Nos résultats ont montré une augmentation de la concentration de l'urée chez les rats diabétiques des groupes T^+, BNF et BFH par rapport au groupe T^-. Cette néphropathie diabétique, caractérisée par une hyperglycémie chronique, se manifeste typiquement dans le diabète, provoquant des dommages aux petits vaisseaux sanguins des reins ce qui altère leur fonction de filtration.

Après la supplémentation en BFH et BNF à 45%, on a observé une diminution hautement significative comparé au T^+. Le BFH pourrait avoir des effets bénéfiques sur la régulation de la glycémie et l'inflammation, ce qui pourrait réduire le stress oxydatif sur les reins et freiner l'évolution de la maladie rénale chronique.

Nos résultats montrent que les rats diabétiques non traités (T^+) ont un taux de créatinine significativement plus élevé que les rats témoins (T^-), ce qui indique une insuffisance rénale due au DT2.

Cependant, les rats diabétiques traités avec le BFH et BNF, ont des taux de créatinine comparables à ceux des rats témoins (T^-).

Le BFH exerce un effet protecteur ou de restauration partielle ou totale de la fonction rénale des rats diabétiques. Cette amélioration est du statut antioxydant qui contribue à la protection des néphrons, ce qui rétablit le débit de filtration glomérulaire normal **(Katina K *et al.*, 2012).**

La consommation d'un régime hyperlipidique, à base de graisse du mouton durant 28 jours entraine des perturbations métaboliques chez le rat. En effet, une hyperlipidémie, caractérisée par une augmentation de la cholestérolémie. Il existe plusieurs études sur l'efficacité de consommation de probiotiques ce qui provoque une amélioration du taux de cholestérol sanguin **(Yamashita K *et al.*, 1984 ; Larskin T.A *et al.*, 2009).** Il existe d'autres études qui ont montré l'implication positive des bactéries lactiques, des prébiotiques et des probiotiques sur la modulation des taux de cholestérol sérique **(Hepner G.R *et al.*, 1979 ; Pereira D *et al.*, 20002)**. Selon **Ooi, Liong, (2010)**, cinq mécanismes pourraient être impliqués dans la réduction du taux de cholestérol par les bactéries lactiques, premièrement, par l'inhibition de la synthèse enzymatique du cholestérol par les produits de fermentation des bactéries lactiques, principalement les acides gras à chaîne courte. Deuxiement, les bactéries peuvent faciliter l'élimination du cholestérol par les selles. Troisièmement, l'inhibition de l'absorption du cholestérol dans l'organisme en se liant à ce dernier. Les bactéries peuvent interférer aussi au cours de recyclage des sels biliaires, facilitant ainsi leur élimination. Dans cette situation, le cholestérol est mobilisé pour produire des sels biliaires, entraînant une baisse du taux de cholestérol sanguin. Finalement, une assimilation par l'acide lactique.

Le diabète est lié à des modifications substantielles des lipides plasmatiques, du taux de triglycérides et du profil des lipoprotéines. En général, le niveau des lipides sériques est accru (une hyperlipidémie) chez les individus diabétiques, et une telle hausse constitue un facteur de

risque pour les maladies coronariennes **(Krauss R.M, 2004 ; Daisy P et Kani G, 2013)**. On a constaté des valeurs élevées des triglycérides chez les rats T^+ par rapport au T^-. Cela est probablement attribuée à l'amplification du métabolisme des acides gras provenant des tissus adipeux **(Ravi K *et al.*, 2004)**, en raison d'un manque presque total d'insuline qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Elle stimule l'accumulation de lipides dans les cellules tout en empêchant la libération de triglycérides et d'acides gras libres dans le plasma, grâce à son effet inhibiteur sur la lipase qui entraîne une réduction de la lipolyse. De plus, l'insuline favorise également la transformation des acides gras libres en cholestérol et phospholipides au sein du foie **(Vergès B, 2007).**

Le dosage des triglycérides chez les rats soumis à un régime à base de BFH a diminué significativement. Suite au traitement, les taux de triglycérides ont regagné une valeur presque normale, cela reflète une amélioration du métabolisme lipidique. Nos résultats ont révélé que le BFH est efficace pour réguler le niveau des triglycérides grâce aux probiotiques qui exercent un effet hypolipémiant **(Adebo O.A *et al.*, 2020).**

Parallèlement à ces désordres métaboliques, nos résultats révèlent une augmentation significative de l'activité enzymatique des biomarqueurs des lésions hépatiques (ASAT et ALAT).

Certains composés phytochimiques présents dans les aliments d'origine végétale, et en particulier les céréales, ont la capacité d'affecter directement le métabolisme des lipides hépatiques **(Fardat A, 2010)**. Ces composés ont des effets dits lipotropes, c'est-à-dire, ont la capacité d'éliminer les graisses du foie et de réduire la synthèse des lipides hépatiques. Les résultats d'une étude cas-témoins portant sur trente-quatre patients atteints de stéatohépatite non alcoolique, suggèrent que les grains entiers du blé étaient potentiellement utiles pour améliorer la fonction des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT) et la stéatose hépatique **(Georgoulis M *et al*., 2014).**

Des études antérieures ont démontré les effets bénéfiques de la consommation des probiotiques avec des médicaments anti-diabétiques tel que le gliclazide (un sulfonylurée antidiabétique oral), ont montré des effets extra-pancréatiques bénéfiques lorsque l'insulinothérapie est insuffisante **(Al-Salami H *et al.*, 2008)**. Nous avons observé une réduction significative de l'ASAT et de l'ALAT dans les groupes traités avec le BFH. Selon les recherches de **Abhari K *et al.* (2020)**, les probiotiques et les prébiotiques utilisés chez des patients atteints de NAFLD provoquent des réductions de taux de l'ASAT et de l'ALAT.

Le BFH contient une flore bactérienne endogène dotée d'une grande richesse en bactéries lactiques : *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus pentossus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus Lactis, Lactococcus Lactis subsp cremoris, pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosueus,Streptococcus Bovis, Streptococcus thermophilus, Lactocoque Raffinolactis* **(Benakriche B.M *et al.*, 2016).** L'espèce *Leuconostoc mesenteroïdes* joue un rôle essentiel dans la fermentation de plusieurs produits alimentaires, générant du dextran, du mannitol et des oligosaccharides, qui possèdent des effets prébiotiques **(Zarour K *et al.*, 2024)**.

Une étude microbiologique a été menée pour mettre en évidence la relation entre DT2, BFH et le microbiote. Ce dernier joue un rôle crucial dans la régulation du métabolisme, de l'immunité et de leurs déséquilibres. Une stratégie prometteuse pour la prévention et la gestion du diabète consiste à manipuler le microbiote par l'alimentation, les probiotiques ou les aliments fermentés **(Wu J *et al.*, 2023)**.

L'étude *in vivo* s'est essentiellement basée sur l'addition du BFH et BNF à 45% à un régime hyperlipidique afin de voir la flore bactérienne dominante au niveau buccal, intestinal et fécal. Dans lesquels on a constaté une augmentation significative de la flore totale en général dans le groupe BFH par rapport au BNF et les témoins positifs et négatifs. Avec une dominance des BL dans le BFH par rapport au BNF, T^+ et T^-. Ces résultats concordent avec des recherches antérieures montrant la dominance des BL dans les aliments fermentés, d'une façon individuelle majoritairement transitoire selon **Guse K *et al.* (2023)**. Les aliments fermentés consistent la principale niche écologique des BL dans la nature selon **Ercolini D (2020)**. Plusieurs études ont suggéré récemment que la consommation des aliments fermentés est associée à une amélioration de l'humeur chez l'humain.

Il est devenu clair que nos bactéries intestinales peuvent communiquer avec le cerveau en produisant des substances chimiques « neurotransmetteurs » une méthode de communication qui a été appelée « axe intestin-cerveau **» (Pasolli E *et al.*, 2020)**. Les recherches de **Fan DKC *et al.* (2025)** mettent en évidence l'activité microbienne intestinale comme cible thérapeutiques potentielle pour atténuer la neurodégéréscence de la maladie d'Alzheimer.

L'étude métagénomique de l'ensemble des groupes montre une domination nette du phylum Bacillota, qui représente systématiquement la majorité des bactéries détectées, traduisant ainsi une communauté fortement orientée vers les Firmicutes, un phylum fréquemment associé à des fonctions fermentaires, digestives, et immunomodulatrices. Cette dominance est particulièrement accentuée dans les groupes T^+ et BFH, où Bacillota représente

plus de 80% de l'abondance relative totale, suggérant une forte sélection de cette lignée dans les conditions associées.

Le groupe T-, quant à lui, présente une plus grande diversité phylétique avec une part substantielle d'Actinomycetota et de Bacteroidota, ces derniers représentant ensemble environ 50% de la population bactérienne. Cela pourrait indiquer un microbiote plus équilibré ou moins influencé par des processus sélectifs extrêmes tels que la fermentation. Le groupe BNF partage une tendance similaire, bien que la proportion de Bacillota y reste plus élevée que dans T-.

Par ailleurs, la présence résiduelle mais non négligeable de Verrucomicrobiota, Pseudomonadota, Thermodesulfobacteriota, Campylobacterota, et Elusimicrobiota dans certains groupes on a constaté une diversité microbienne évidente, bien que minoritaire, pouvant jouer des rôles fonctionnels spécifiques dans l'écosystème intestinal.

Ces résultats indiquent que la fermentation, en particulier dans le groupe BFH, favorise le développement de Bacillota au détriment des autres phyla, traduisant une homogénéisation du microbiote. À l'inverse, l'absence de fermentation ou l'exposition à des conditions moins sélectives semble préserver une diversité taxonomique plus équilibrée, notamment entre Bacillota, Actinomycetota, et Bacteroidota. Ces observations renforcent l'idée que les interventions alimentaires ou environnementales peuvent profondément remodeler la composition microbienne intestinale à un niveau fondamental, avec des implications potentielles sur la santé et le métabolisme de l'hôte.

Selon les recherches de **Kim J (2025)**, après consommation de blé et du seigle noir le microbiote intestinal a montré une augmentation de l'abondance relative des genres Bifidobacterium, Faecalibacterium, Blautia et Lachnospiraceæ. Ces bactéries sont reconnues pour leur capacité à produire des acides gras à chaîne courte, ce qui indique un rôle potentiel dans le maintien de la santé de l'hôte. Lachnospiraceæ peuvent soulager les maladies inflammatoires et allergiques en modulant le système immunitaire par la production d'antigènes présentés par des cellules immunitaires innées et des métabolites immuno-modulateurs **(Zaplana T *et al.*, 2024).** On a remarqué aussi l'abondance d'Oscillospiraceae dans le BFH un genre capable de produire les AGCC tels que le butyrate qui est un indicateur important pour le dépistage des probiotiques de nouvelle génération présentant ainsi un grand intérêt de développement et l'application des produits alimentaires, de soins, de santé et biopharmaceutiques **(Yang G, 2021)**.

Dans le but de vérifier l'effet thérapeutique du BFH sur l'architecture tissulaire des différents organes, nous avons réalisé une étude anatomopathologique au niveau du pancréas,

foie, tissu adipeux et reins. L'observation microscopique du l'architecture hépatique montre que les rats du groupe T^+, les hépatocytes apparaissent hypertrophiés à cytoplasme clair et la présence d'alvéoles clairs intracytoplasmique. Nous avons observé également, la présence d'un infiltrat inflammatoire à prédominance lymphocytaire et quelques polynucléaires neutrophiles plus marqués autour de la veine centraulobulaire. Les rats du groupe T^+ révèlent une dégénérescence cellulaire au niveau du foie, une stéatose. Ces observations sont en concordance avec celles de **Masarone M *et al*. (2017).**

Le traitement à base de BFH a montré une amélioration des hépatocytes, apparaissent arrondis à limite nette. On note également la présence d'un léger infiltrat inflammatoire autour des espaces portes.

L'analyse histologique du pancréas est très prometteuse. Une importante amélioration avec une régénération des ilots des cellules β de Langerhans, avec une architecture normale chez les rats des groupes BNF et BFH, montrant une nette amelioration chez les rats soumis aux BFH par rapport au BNF.

L'analyse histologique du tissu adipeux chez les differents groupes expérimentaux montre une amélioration de sa structure des adipocytes, présentent une morphologie plus régulière et moins altérés chez les rats soumis à un régime à base de BFH **(Kamoun M *et al.*, 2008)**.

Les coupes histologiques des reins du groupe T^- montre une structure normale des glomérules, des tubes et de l'espace de Bowman. On a constaté que chez les rats soumis à un régime hyperlipidique (T^+) une néphropathie diabétique qui est expliqué par une nécrose glomérulaire, glomérules atrophiques (rétrécissement), augmentation d'espace de Bowman et une infiltration des cellules inflammatoires.

Par contre chez les rats traités avec du BFH et BNF, on a observé une amélioration qui est expliquée par la régénération des glomérules, diminution de la dilatation des tubules. Cette restauration est meilleure chez les rats traités avec du BFH.

2. Etude de l'obésité

Selon l'OMS, l'obésité est un état de surpoids causé par un excès de graisse qui a des conséquences néfastes sur la santé, à la fois sur le plan physique, psychologique et mental. De plus, l'obésité est une maladie persistante qui engendre de nombreuses complications, parfois graves, voire mortelles **(Gallissot-Pierrot E, 2013)**. Selon l'International Obesity Task Force (IOTF), l'obésité est le cinquième facteur de risque de décès à l'échelle mondiale. Chaque année, au moins 2,8 millions d'adultes sont touchés.

Les hommes représentent 39,6% de la population mondiale touchée par la surcharge pondérale et l'obésité, tandis que les femmes représentent environ 38% **(Matta J *et al*., 2018)**.

Afin d'étudier l'effet de l'introduction du BFH et du BNF sur l'obésité chez un modèle animal, le rat Wistar, qui a été soumis à un régime hypercalorique de type Cafétéria**.**

Le régime Cafétéria est prouvé comme un régime hypercalorique, qui conduit à l'installation des désordres métaboliques associées à l'obésité **(Cardenas J.C, 2017)**. Il représente un régime fiable d'obésité pour l'humain **(Tschop M et Heiman M.L ,2001)**. Il est associé aussi à une accumulation de tissu adipeux et une augmentation du poids chez l'homme et chez le rat **(Golay A, 1998).**

L'évolution du poids corporel des rats a été mesurée hebdomadairement à la même heure pendant la période d'expérimentation.

Nos résultats montrent une augmentation dans l'évolution du poids corporel chez tous les groupes, avec une évolution importante chez les rats obèses **(Shivaprasad H.N *et al.*, 2014)**. Nos résultats sont en accord avec d'autres études **(Laissouf A *et al.*, 2014).**

Nous remarquons aussi une diminution du poids des rats du groupe BNF et BFH par rapport aux rats du groupe T^+, qui est due à la teneur plus élevée en fibres des grains entiers, qui peuvent améliorer le métabolisme du glucose et de l'insuline. Des méta-analyses ont montré qu'une consommation accrue d'aliments à grains entiers diminue le risque de diabète de type 2 **(Munter JSL *et al*., 2007)** et des maladies cardiovasculaires **(Mellen P.B *et al*., 2008)**. Cette diminution est due soit à la présence de la flore bactériennes présentes dans le BFH **(Jalili P *et al*., 2023)**, soit aux peptides bioactifs issus de la dégradation des substrats nutritives **(Lortal S *et al*., 2020).**

Les rats qui sont soumis au régime à base de BNF et BFH ont eu presque la même évolution pondérale qu'aux rats soumis à un régime isocalorique T^-.

Le dosage de la glycémie n'a montré aucune différence significative entre les quatre groupes, car notre étude s'est basée essentiellement sur chaque pathologie séparément en prenant les rats obèses non diabétiques seulement. Des recherches antérieures ont montré que l'hyperlipidémie à des effets differents sur le glucose et les lipides. Selon **Yan-jun J *et al.*, (2013),** un régime hyperlipidique de quatre semaines peut augmenter le cholestérol total, triglycérides et le LDL-C sans changement significatif de la glycémie**.**

Nos résultats indiquent que chez les rats du groupe T^+ soumis à un régime hyper-chalorique, l'urée est significativement plus élevée. Cela est probablement du a la transformation des acides aminés excédentaires en urée**.** Ce régime induit une inflammation systémique (cytokines IL-6 et TNF-α) et un stress oxydatif, cela va perturber la fonction rénale **(Kim H.J *et al.*, 2020).**

En revanche, une diminution hautement significative de ce paramètre est observée dans le groupe BFH par rapport au groupe T^+, et également par rapport au groupe BNF. Cela est en accord avec les travaux de **Younes H *et al.* (1995)**, qui ont démontré que les glucides fermentescibles ont un effet hypouretique chez les rats normaux et nephrectomisés unilatéralement. Des études antérieures ont prouvé aussi que la fermentation peut être appliquée pour améliorer la qualité protéique des aliments d'où la réduction significative de l'urée sanguine chez les animaux **(Kikelomo P.A *et al.*, 2020)**.

Le dosage de la créatinine a révélé une élévation hautement significative chez les rats obèses comparés aux rats sains. Cela peut s'expliquer par plusieurs mécanismes physiopathologiques liés aux altérations métaboliques qui peuvent provoquer une hyperfiltration glomérulaire **(Hall J.E *et al.*, 2014 ; Agati V.D et Chagnac A, 2016)**. Chez les rats obèses, le tissu adipeux produit des cytokines inflammatoires et génère des radicaux libres qui endommage les cellules rénales induisant un déséquilibre de la fonction rénale donc une élévation de la créatinine plasmique **(Furukawa S *et al.*, 2004)**.

En revanche, une diminution marquée de la concentration en créatinine a été observée chez les rats obèses traités avec le BFH par rapport aux rats obèses non traités T^+ ainsi qu'aux rats obèses recevant le BNF. En effet la fermentation améliore la teneur en molécules bioactifs tels que les flavonoïdes qui exerce un effet néphroprotecteur en réduisant le stress oxydatif et l'inflammation systémique **(Adebo O.A *et al.*, 2020)**. Par ailleurs, la fermentation améliore la sensibilité à l'insuline et réduit la lipotoxicité rénale, en protégeant les glomérules et les tubules rénaux **(Declèves A.E et Sharma K, 2010)**. Le microbiote intestinal grâce a ces probiotiques spécialement *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* mène à la production des acides gras à chaine

courte (butyrate et propionate) connus pour leurs effets anti-inflammatoire et protecteur sur la fonction rénale (**Wang Y *et al.*, 2020).**

Nous avons observé une diminution significative de l'ASAT et ALAT chez les trois groupes : T^-, BNF et BFH par rapport au groupe soumis à un régime Cafétéria T^+ **(Harrat N.I *et al.*, 2015 ; Bouderbala S.H *et al.*, 2016**).

Chez les personnes obèses, une consommation excessive de calories sous forme de graisses entraîne une différenciation des adipocytes (hypertrophie), atteignant une taille critique au-delà de laquelle elles recrutent de nouveaux pré-adipocytes, ce qui peut entraîner une augmentation proportionnelle du taux de lipides, ce qui est connu sous le nom d'hyperplasie du tissu adipeux **(Basedevant A, 2003).**

D'après les résultats du dosage des triglycérides, une diminution hautement significative est observée chez les groupes T^-, BFH et BNF, par rapport au groupe T^+. Ces résultats pourraient indiqué l'effet du BFH sur le métabolisme des lipides.

L'induction de l'obésité par le régime Cafétéria conduit à une élévation du taux de triglycérides en C-LDL avec une diminution de C-HDL chez les rats, ce qui résulte à un changement de la composition des lipoprotéines **(Fernandez C *et al.*, 1996)**.

L'obésité expérimentale induite par un régime hyperlipidique ou de type « cafétéria » s'accompagne fréquemment d'un profil dyslipidémique caractéristique, marqué par une élévation des triglycérides et du cholestérol LDL, associée à une diminution du HDL-cholestérol. Cette altération du métabolisme lipidique est en grande partie due à une résistance à l'insuline, à une hyperproduction hépatique de lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et à une activité réduite de la lipoprotéine-lipase (LPL) dans les tissus périphériques **(Buettner R *et al.*, 2007)**. Dans ce contexte, plusieurs études ont montré que la supplémentation en céréales fermentés exerce un effet hypolipémiant notable chez le rat obèse, traduisant une amélioration du métabolisme lipidique hépatique et systémique. La fermentation du blé favorise la libération de composés bioactifs, notamment des peptides antioxydants, des acides phénoliques (acide férulique, vanillique) et des dérivés benzoquinoniques (comme le méthoxy-p-benzoquinone), capables de moduler l'expression des gènes impliqués dans la lipogenèse et la β-oxydation **(Hidvégi M *et al.*, 1999 ; Comai S *et al.*, 2011)**.

Chez le rat Wistar obèse nourri avec un régime riche en graisses, **Lee J.Y *et al.* (2019)** ont montré qu'une supplémentation orale en extrait de céréales fermentées pendant 8 semaines entraînait une réduction significative des triglycérides plasmatiques et du cholestérol total,

accompagnée d'une diminution du LDL-cholestérol et d'une augmentation du HDL-cholestérol par rapport au groupe contrôle obèse. Ces effets ont été associés à une amélioration de la fonction hépatique (baisse de l'ALT et de l'AST) et à une réduction du stress oxydatif, suggérant une régulation coordonnée de la synthèse et de la dégradation des lipides. De même, **Kim H.J *et al.* (2021)** ont rapporté chez le rat Sprague-Dawley une amélioration du profil lipidique après administration de céréales fermentés, avec une inhibition de la stéatose hépatique et une activation de la voie AMPK-PGC1α, impliquée dans la β-oxydation mitochondriale. La fermentation du blé pourrait ainsi limiter la lipogenèse de novo via la réduction de l'expression des gènes SREBP-1c et FAS, tout en stimulant l'expression de CPT-1, enzyme clé de la β-oxydation **(Zhou M *et al.*, 2020)**.

Par ailleurs, la modulation du microbiote intestinal par le BFH joue un rôle déterminant dans l'homéostasie lipidique. L'augmentation des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte (SCFA) telles que *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* favorise la signalisation hépatique via les récepteurs GPR41/43, conduisant à une réduction de la synthèse hépatique des triglycérides et à une amélioration du transport inverse du cholestérol **(Cani P.D *et al.*, 2008 ; Wang Y et *al.*, 2020)**. De plus, certains métabolites issus de la fermentation (comme les polyphénols libres et les peptides bioactifs) augmentent l'activité de la lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) et du récepteur SR-BI, favorisant le recyclage du HDL et l'élimination du cholestérol hépatique. Ces mécanismes expliquent la hausse du HDL et la baisse du LDL observées expérimentalement.

L'étude microbiologique de la flore bactérienne totale et lactique ou niveau buccal, intestinal et fécal montre une augmentation hautement significative entre les témoins négatifs et le groupe BFH.

L'analyse métagénomique du microbiote intestinal a été réalisée afin d'évaluer l'impact de la supplémentation en BFH. Cette évaluation a porté à la fois sur la composition taxonomique (aux niveaux du phylum et de la famille) et sur les indices de diversité alpha.

La structure microbienne au niveau du phylum montre une prédominance de Bacillota et Bacteroidota dans les deux groupes. Toutefois, une différence notable dans leurs proportions relatives est observée. Le groupe T+ présente une domination plus marquée de Bacillota, tandis que le groupe BFH présente une augmentation relative du phylum Bacteroidota. Ce changement se traduit par une légère diminution du ratio Bacillota/Bacteroidota, ratio souvent associé à l'état métabolique de l'hôte. Une diminution de ce ratio est généralement interprétée

comme un signe d'amélioration de la santé intestinale, en particulier dans les contextes métaboliques ou inflammatoires.

Par ailleurs, bien que présents en faibles proportions, d'autres phyla comme Actinomycetota montrent une légère augmentation dans le groupe traité, ce qui pourrait suggérer une stimulation de certains groupes bénéfiques tels que les Bifidobacteriaceæ. L'impact du BFH semble donc s'exercer à travers une restructuration de la composition phylotypique, sans altération majeure de l'équilibre global du microbiote.

Au niveau taxonomique plus fin, l'analyse de la composition microbienne par familles met en évidence la dominance des Prevotellaceae, Lachnospiraceæ et Lactobacillaceæ dans les deux groupes. Toutefois, la supplémentation en BFH induit des modifications subtiles mais significatives dans la composition relative de plusieurs familles bactériennes. Par exemple, une légère diminution des Lachnospiraceæ et une augmentation des Oscillospiraceæ, Peptostreptococcaceæ, ainsi que des Coriobacteriaceæ sont observées dans le groupe BFH.

Les Prevotella jouent un rôle important dans la dégradation des polysaccharides. Les membres de ce genre peuvent aider à prévenir l'inflammation et les maladies auto-immunes. Il existe une forte association entre la variation de l'abondance de l'Oscillospiraceæ et l'obésité. Des données de séquençage combinés au profilage métabolique indiquent que ce genre est capable de produire les AGCC.

Ces variations suggèrent que la consommation de BFH pourrait favoriser l'implantation de groupes microbiens ayant un rôle potentiel dans la fermentation des polysaccharides complexes ou dans la régulation immunitaire. Ainsi, la fermentation traditionnelle du blé semble exercer un effet prébiotique modulant sélectivement certaines communautés microbiennes intestinales.

Les indices de diversité alpha montrent une tendance à la réduction de la diversité microbienne dans le groupe BFH par rapport au groupe T^+. Les indices Observed et Chao1, indicateurs de richesse taxonomique, révèlent une diversité plus élevée chez les témoins, traduisant une plus grande variété d'espèces bactériennes. De même, les indices Shannon et Inverse Simpson, qui prennent en compte l'abondance relative et l'équité des espèces, confirment une diversité légèrement plus uniforme dans le groupe T^+.

Toutefois, les différences entre les groupes restent modérées, ce qui suggère que le blé fermenté n'entraîne pas de perte drastique de diversité, mais plutôt une réorganisation écologique orientée vers certaines fonctions spécifiques du microbiote. Une telle spécialisation

pourrait se révéler bénéfique dans le cadre d'une modulation ciblée de la flore intestinale, notamment dans des contextes pathologiques comme le diabète ou les maladies inflammatoires.

On a effectué l'étude histologique du foie, du tissu adipeux et des reins afin de connaitre l'effet de l'obésité chez quatre groupes différents des rats Wistar (T^-, T^+, BNF et BFH).

On a observé qu'il n'y a aucun changement au niveau de l'architecture du foie chez les quatre groupes. Une hypertrophie des hépatocytes avec une installation d'une stéatose (**Duclos M *et al.,* 2011**), qui se caractérise par une accumulation de graisses à l'intérieur des hépatocytes. Dans notre cas le foie n'est pas atteint il n'y a aucune altération ni présence d'infiltrat inflammatoire.

L'absence de l'inflammation au niveau des hépatocytes peut être expliquer par la courte durée du régime hypercalorique.

L'analyse histologique du tissu adipeux chez les quatre groupes des rats Wistar montre une amélioration du tissu adipeux spécialement chez les rats soumis à un régime à base de BFH et les adipocytes sont mieux structurés (**Kamoun H *et al.,* 2008)**.

Chez les rats T^-, l'analyse histologique des reins révèle une architecture tissulaire harmonieuse : les glomérules sphériques avec un espace de Bowman régulier, tissu tubulaire bien organisé, cytoplasme homogène sans vacuolisation et absence d'infiltration inflammatoire. On a constaté chez les rats soumis à un régime hypercalorique lipidique (T^+) une altération histologique significative, on a observé une hypertrophie glomérulaire, expliqué par un rétrécissement glomérulaire, un épaississement de la membrane basale, augmentation d'espace de Bowman et une infiltration des cellules inflammatoires. Ces altérations reflètent une hyperfiltation glomérulaire d'un stress oxydatif, d'une inflammation chronique et d'une lipotoxicité provoquant un disfonctionnement rénal progressif. La comparaison met en évidence les impacts fonctionnels et morphologiques de l'obésité sur les reins, d'où la nécessité de mettre en place des stratégies nutritionnelles afin de prévenir la néphropathie métaboliques **(D'Agati V.D et Chagnac A, 2019 ; Hall J.E *et al.,* 2019 ; Zhang M *et al.,* 2020)**.

Par contre chez les rats traités avec du BFH et BNF, on a observé une amélioration qui est expliqué par la régénération des glomérules, diminution de la dilatation des tubules par rapport à ceux qui sont soumis à un régime hyper lipidique T^+. Les peptides bioactifs et les flavonoïdes limite la peroxydation lipidique dans les membrane glomérulaires et tabulaire et protège les cellules contre la dégénérescence et la vacuolisation **(Hur S.J *et al.,* 2014 ; Adebo O.A *et al.,* 2020)**.

Conclusion

Le blé fermenté de type Hamoum (BFH), issu d'une fermentation traditionnelle en Matmora, représente une approche nutritionnelle innovante et prometteuse dans la prévention et la prise en charge du diabète et de l'obésité.

La première partie de ce travail a été consacrée à l'étude comparative des différents paramètres du BFH et du BNF. Les résultats obtenus ont révélé que le BFH présente des caractéristiques physicochimiques, nutritionnelles et technologiques nettement améliorées par rapport au BNF. Ces transformations, issues du processus de fermentation traditionnelle en Matmora, ont conduit à une meilleure biodisponibilité des nutriments, à une réduction des composés antinutritionnels et à l'enrichissement du produit en métabolites bioactifs tels que les acides organiques, les peptides et les polyphénols.

De par ces propriétés, le BFH peut être qualifié d'aliment fonctionnel, capable d'apporter des bénéfices physiologiques au-delà de sa simple valeur nutritionnelle. Par ailleurs, la diminution du taux de gluten et la dégradation totale des protéines de réserve observées au cours de la fermentation confèrent au BFH un intérêt diététique particulier pour les personnes présentant une intolérance au gluten ou atteintes de maladie cœliaque, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le développement de produits céréaliers fermentés à visée nutritionnelle et thérapeutique.

Dans une deuxième partie, nous avons évalué l'effet thérapeutique de la supplémentation BFH sur le diabète expérimental induit chez les rats Wistar. Cette étude visait à déterminer dans quelle mesure la consommation de BFH pouvait améliorer les altérations métaboliques caractéristiques du diabète, notamment l'hyperglycémie, la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et d'autres paramètres (hépatique, rénale et histologique et métagénomique). Les analyses anthropométriques, morphometriques, biochimiques, microbiologiques, métagénomique et histologiques réalisées ont permis d'apprécier l'impact du BFH sur le contrôle glycémique, la fonction hépatique et rénale, ainsi que sur les tissus cibles du métabolisme énergétique. Les résultats obtenus confirment le potentiel thérapeutique du BFH, suggérant qu'il pourrait constituer une approche nutritionnelle complémentaire prometteuse dans la prévention et la prise en charge du diabète.

Dans une troisième partie, nous avons étendu notre investigation à l'étude de l'effet du BFH sur l'obésité expérimentale, afin de déterminer si les propriétés fonctionnelles observées dans le modèle diabétique pouvaient également s'appliquer à d'autres troubles métaboliques associés. Un régime Cafétéria a été utilisé pour induire une obésité nutritionnelle caractérisée

par une prise pondérale excessive, une accumulation de tissu adipeux et une altération du profil lipidique. Les résultats obtenus montrent que la supplémentation en BFH a entraîné une réduction significative du gain de poids corporel, une diminution de l'adiposité viscérale, ainsi qu'une amélioration du profil lipoprotéique, traduisant un important effet anti-obésogène.

Ces observations suggèrent que le BFH agit non seulement sur la régulation du métabolisme glucidique, mais également sur celle du métabolisme lipidique, en modulant les voies énergétiques impliquées dans la lipogenèse et la β-oxydation. Ce double effet antidiabétique et anti-obésogène pourrait être attribué à la présence de métabolites bioactifs produits lors de la fermentation, notamment les acides organiques, les peptides antioxydants et les polyphénols libérés et les bactéries lactiques.

Ainsi, l'ensemble de ce travail met en évidence le rôle métabolique bénéfique du BFH, qui se distingue par son potentiel fonctionnel élevé et ses effets physiologiques multiples sur les principaux paramètres du syndrome métabolique. Ces résultats confirment que le BFH, au-delà de sa valeur culturelle et traditionnelle, peut être considéré comme un aliment fonctionnel (alicament) d'intérêt thérapeutique, offrant une alternative naturelle prometteuse pour la prévention et la gestion nutritionnelle du diabète et de l'obésité.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ouvrent plusieurs perspectives de recherche visant à approfondir la compréhension des mécanismes d'action du BFH et à valoriser son potentiel nutritionnel et thérapeutique.

Sur le plan expérimental, il serait pertinent de poursuivre l'étude en explorant les voies moléculaires et métaboliques impliquées dans les effets observés, notamment la modulation des voies de signalisation et la régulation de l'expression des gènes liés à la lipogenèse, à la gluconéogenèse et au stress oxydatif. Il serait judicieux d'étudier les deux pathologies associées afin de confirmer nos résultats.

Sur le plan clinique, la réalisation d'études interventionnelles chez l'homme représenterait une étape essentielle pour confirmer les effets métaboliques observés chez l'animal, en évaluant la tolérance, la biodisponibilité et l'efficacité du BFH dans le cadre de régimes contrôlés. Ces travaux pourraient déboucher sur le développement de formulations alimentaires fonctionnelles à base de Hamoum adaptées aux populations à risque (pré-diabétiques, obèses, ou présentant un syndrome métabolique).

Enfin, sur le plan agroalimentaire et socio-économique, la valorisation du BFH s'inscrit dans une démarche de souveraineté alimentaire durable, alliant savoir-faire ancestral et innovation scientifique. La standardisation du procédé de fermentation en Matmora et la caractérisation des souches microbiennes impliquées pourraient permettre d'optimiser la production d'aliments fermentés sains, contribuant ainsi à la prévention nutritionnelle des maladies métaboliques et à la promotion du patrimoine alimentaire local.

Annexe

Annexe 1. Composition du milieu Gélose MRS (Man, Rogosa, Sharpe)

.

Composition	Poids (g)
Peptone	10,0 g
Extrait de viande de bœuf	8,0 g
Extrait de levure	4,0 g
Glucose	20,0 g
Tween 80	1,0 ml
Hydrogéno-phosphate de potassium	2,0 g
Acétate de sodium 3 H_2O	5,0 g
Citrate d'ammonium	2,0 g
Sulfate de magnésium 7 H_2O	0,2 g
Sulfate de manganèse 4 H_2O	0,05 g
Agar	15,0 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	6,2 ± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe 2. Composition du milieu Gélose Nutritive

Composition	Poids(g)
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2,5 g
Peptone	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe 3. Composition du Milieu Gélose SS (gélose pour isolement de Salmonella-Shigella)

Composition	Poids(g)
Peptone	10,00g
Extrait de viande	5,00g
Lactose	10,00g
Sels biliaires	8,50g
Citrate de sodium	8,50g
Citrate de fer ammoniacal	1,00g
Thiosulfate de sodium	8,50g
Rouge neuter	25,0mg
Vert brilliant	0,33mg
Agar Agar bactériologique	13,00 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7,2 ± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe 4. Composition du Milieu Baird-Parker

Composition	Poids(g)
Peptone pancréatique de caséine	10,00g
Extrait de viande de bœuf	5,00g
Extrait de levure	1,00g
Chlorure de lithium	5,00g
Glycine.	12,00g
Pyruvate de sodium	10, 00g
Solution de jeune d'œuf (30%)	50,0ml
Tellurite de potassium	10 ml
Agar Agar bactériologique	20,00 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7,0 ± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe 5. Composition du milieu de Mac Conkey

Composition	Poids(g)
Chlorure de Na	5 g
Cristal violet	0,001 g
Lactose	10 g
Rouge neuter	0,03 g
Protéase peptone	3g
Sels biliaires	1,5g
Agar	13,5g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7,1± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe **6.** Composition du milieu Oxford

Composition	Poids(g)
Peptone	23 g
Amidon de maïs	1 g
NaCl	5 g
Esculine	1 g
Citrate de fer III ammoniacal	0,5 g
LiCl (chlorure de lithium)	15 g
Cycloheximide	0,4 g
Colistine (sulfate)	2 mg
Acriflavine (chlorhydrate)	5 mg
Céfotetan	2 mg
Fosfomycine	10 mg
Agar	12 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7,0± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Annexe 7. Composition du milieu TSC

Composition	Poids(g)
Tryptone	15 g
Bisulfite de sodium	1 g
Peptone de soja	5 g
Citrate ferrique ammoniacal	1 g
Extrait de levure	5 g
Agar	18 g
Eau distillée	qsp 1000ml
pH à 25°C	7,6 ± 0,2
Autoclavage	120°C /20 minutes

Tableau 8 : L'observation macroscopique, microscopique et biochimique des isolats bactériens.

Isolats	Formes	Couleurs	Tailles	Formes	Gram	Catalase
BL01	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Bacilles en chaînettes	+	-
BL 02	Ronde /régulière/ Profonde	Beige clair	Moyenne	Coques isolés et en chaînettes	+	-
BL 03	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Moyenne	Coques isolés et en chaînettes	+	-
BL 05	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Moyenne	Bacilles en paires	+	-
BL 06	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Moyenne	Bacilles en paires	+	-
BL 08	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Moyenne	Coques en chaînettes et isolés	+	-
BL 09	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Moyenne	Coques en diplocoques	+	-
BL 10	Ronde /régulière/ Profonde	Beige clair	Moyenne	Bacilles en chaînettes	+	-
BL 11	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Bacilles en diplocoques	+	-
BL 12	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Coques isolés	+	-
BL 13	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Bacilles en chaînettes	+	-
BL 14	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Bacilles en chaînettes	+	-
BL 15	Ronde /régulière/ Profonde	Beige clair	Moyenne	Bacilles en chaînettes	+	-
BL 16	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Coque en chainette	+	-
BL 17	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Coque en chainette	+	-
BL 18	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Coque isolés	+	-
BL 19	Ronde /régulière/ Profonde	Beige clair	Moyenne	Coque isolés, en chainette	+	-
BL 20	Ronde /régulière/ Profonde	Blanche	Petite	Coque en chainette	+	-

Annexe 9. Tableau des normes Algériennes pour l'identification des bactéries pathogènes et leurs milieux de cultures selectifs.

Bactéries	Normes Algériennes	Milieux selectifs
Listeria	NA15158	Gelose Oxford
Staphylococcus	NA15165	Gelose Baird Parker
Salmonelles	NA15274	Gelose ***Salmonelles /Shigella***
Clostridium	NA11025	Gelose TSC
Escherichia. Coli	NA15213	Gelose Mc Conkey

Références bibliographiques

A

- **Abhari K., Saadati S., Yari Z., Hosseini H., Hedayati M., Abhari S., Alavian SM, Hekmatdoost A. (2020).** Les effets de la supplémentation en *Bacillus coagulans* chez les patients atteints de stéatose hépatique non alcoolique : une étude randomisée, essai clinique contrôlé par placebo. Clin. Nutr. Espen. 39 : 53–60.
- **Adebo OA., Medina-Meza IG. & Dlamini BC. (2020).** Impact of fermentation on phenolic compounds and antioxidant activity of whole grains: review. Food Chemestry, 316,126050.
- **Affane F., Bensalah F., Harrat NI ., Chekkal H., Louala S. & Lamri-Senhadji MY. (2018a).** Les protéines purifiées à partir de sardines améliorent les chiffres tensionnels, l'équilibre glycémique, les voies métaboliques anti-athérogènes et la capacité antioxydante, chez le rat obèse. Ann Cardiol Angeiol. 67: 154-160.
- **Affane F., Louala S., Harrat NI., Bensalah F., Chekkal H., Allaoui A. & Lamri-Senhadji M. (2018b).** Hypolipidemic, antioxidant and anti-atherogenic property of sardine byproducts proteins in high-fat diet induced obese rats. Life Sci. 199: 16-22.
- **Ait-Kaki S. (2007).** Contribution à l'étude de l'interaction génotype x milieu, pour la qualité technologiques chez le blé dur en Algérie. Thèse de doctorat. Option : Biologie végétale et Amélioration des Plantes. Université Badji Mokhtar-Annaba : 33-37 p.
- **Ake LO., Soro GE., Soro T & Kouadio EY. (2016).** Evaluation de la Qualité Hydrochimique des Eaux Souterraines de la Région de Bonoua (Sud-Est de la Côte d'Ivoire). International Journal of Innovation and Applied Studies .14(4), 896.
- **Alioune C. (2014),** Facteurs associés au mauvais contrôle glycémique dans une population de diabétiques de type 2 de l'Afrique Sub-saharienne, Thèse, Université Rennes 1, P 16.
- **Al-Salami H., Butt G., Fawcett JP., Tucker IG., Golocorbin-Kon S., Mikov M. (2008).** Probiotic treatment reduces blood glucose levels and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin; 33:101–106.
- **American Diabetes Association. (2010).** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 33(Supplement_1), S62-S69.
- **American Diabetes Association. (2019)**. Rapport de consensus de 2018 intitulé : « Prise en charge de l'hyperglycémie dans le diabète de type 2 ». American Diabetes Association – ADA; European Association for the Study of Diabetes – EASD.

- **American Diabetes Association. (2023).** Classification et diagnostic du diabète: Normes de soins en diabétologie. 46 (Suppl 1): S19-S40.
- **Amit Khera MD., Tiffany M., Powell-Wiley MD., MPH. (2023).** Selection treatment dor cardiovascular obesity in the spotlight, New England Journal of Medicine;
- **Asghar Ghasemi 1, Jeddi S. (2023).** Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide.
- **Asmelash D., & Asmelash Y. (2019).** The Burden of Undiagnosed Diabetes Mellitus in Adult African Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Diabetes Research. 4134937.
- **Atanasovska E., Tasic V., Slaninka-Miceska M., Alabakovska S., Zafirov D., Kostova E., Pavlovska K., Filipce V. & Labacevski N. (2014).** Six week follow-up of metabolic effects induced by a high-fat diet and streptozotocin in a rodent model of type 2 diabetes mellitus. Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki). 35: 169-179.
- **Atwell W.A. (2001).** Wheat flour. Eagan press, Minnesota, USA, 123p.
- **Axelsson L. (2004).** Lactic acid bacteria: classification and physiology. Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects, 3rd edn (Salminen S, von Wright A & Ouwehand A, eds, pp. 1-66.
- **Axelsson L., Hansen E B., De Vuyst L., Laulund S., Lähteenmäki L. & von Wright A. (2004).** The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. Trends in food science & technology. 15(10), 498-505.

B

- **Barquissau V. & Morio B**. (2011). Physiopathologie de l'insulino-résistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. Nutrition clinique et metabolism. 25 (3), 114-130.
- **Bartali E. & Tlemcani K. (1989).** Environmental control in rural underground storage structures. Estimates of food losses and wastes at each node of the wheat value chain in Morocco: Implications on Food and energy security, natural resources, and greenhouse gas emissions. Sustainability. 14 (24), 16561.
- **Bartali E. (1995).** Systèmes post récolte des céréales au Maroc. FAO www.cd3wd.com/cd3wd_40/inpho/vlibrary/move_rep/x0289e/fr/x0289f0. HTM.
- **Basedevant A. (2003).** Histoire naturelle de l'obesité. Bull Acad Natl Med. 187(7):1343-52.

- **Battais F., Richard C., Leduc V. (2007)**. Les allergènes du grain du blé, Département recherche, Laboratoire Allerbio, Groupe ALK-Abello, 51140 Van deuil, France Revue française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique 47, p : 171- 174.
- **Begum A , Reddy S.(2023)**pprentissage automatique. Journal international d'ingénierie des connaissances et d'exploration de données Vol. 8, n° 1.
- **Belaid D. (1996).** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Ed. Office des publications universitaires, Ben Aknoun .Alger, 206 p.
- **Belobrajdic DP. & Bird AR. (2013).** The potential role of phyto-chemicals in wholegrain cereals for the prevention of type-2 diabetes. Nutr J. 12: 1-12.
- **Benakriche B., Benabdelmoumene D and Mortet A. (2016**). Lactic Acid Bacteria Divercity in the Fermented Wheat Hamoum in West Algeria. Pakistan Journal of Nutrition; Vol 15: 639 – 648.
- **Benakriche B., Khéroua O., Pochart P., Saidi D. (2015).** Valorisation nutritionnelle et thérapeutique d'un blé fermenté biologique type Hamoum sur la restructuration de la muqueuse intestinale chez le rat malnutris. JFHOD 008097.
- **Benakriche B.M., Amier L., Kheroua O. (2017).** Evaluation du profil protéique par Electrophorese sur gel SDS-Page d'un blé fermenté naturel type Hamoum compare au blé Normal. Résumé Journées Francophones d'Hépato-Gastroenterologie & d'Oncologie digestive. 361p.
- **Benakriche BM., Benstaali M., Benmaamar K. (2023).** Approche microbiologique de la flore indigène d'un blé fermenté type Hamoum : les levures comme caractère probiotique. 90e Congrès de l'Acfas.
- **Benhamada N. & Idoui T. (2021)**. Enhancement of antioxidant properties of Triticum durum obtained by traditional spontaneous fermentation in underground silos. Acta Scientiarum. Biological Sciences, *43*(1), e57080.
- **Besbes M., Taleb-Senouci D., Chabane FZ., Boukhari Nabila. & Lamri-Senhadji MY. (2013).** Effects of white lupin associated with wheat or oat on hyperglycemia, dyslipidemia and reverse cholesterol transport in obese rats. J Exp & Integrative Med. 3: 205-212.
- **Bhanja Dey T. & Kuhad RC. (2014).** Upgrading the antioxidant potential of cereals by their fungal fermentation under solid-state cultivation conditions. Letters in applied microbiology. 59 (5), 493-499.

- **Bhanja SN. (2018).** Long-term groundwater recharge rates across India by *in situ* measurements Hydrol. Earth Syst. Sci. Discus.
- **Björkroth J. & Koort J. (2016**). Lactic acid bacteria: Taxonomy and biodiversity. Reference Module in Food Science, 1–4.
- **Blandino A., Al-Aseeri ME., Pan diella SS., Cantero D. & Webb C. (2003).** Cereal based 435 fermented foods and beverages. Food Research International, 36 (6), 527–543. 436.
- **Blickle JF. (2014**). Chapitre 17 – Diabète. Nutrition Clinique Pratique (2ème édition). Pp 189206.
- **Block G. (2004).** Foods contributing to energy intake in the US: data from NHANES III and NHANES 1999–2000. Journal of Food Composition and Analysis. **V**ol. 17, no 3-4, p. 439-447.
- **Boirie Y. (2009).** Obésité physiopathologie et conséquences. Service de Nutrition Clinique.
- **Bonoli M., Marconi E., Caboni MF., Verardo V. (2004*)***. Composés phénoliques libres et liés dans la farine d'orge (*Hordeum vulgare* L.) évaluation de la capacité d'extraction de différents mélanges de solvants et méthodes liquides sous pression par chromatographie électrocinétique micellaire et spectrophotométrie Journal de chromatographie .
- **Bosschaert J., Van Maele-Fabry G., Clotman F., Gofflot, F. & Picard JJ. (2002).** Postimplantation mouse embryos cultured in vitro. Assessment with whole-mount immunostaining and in situ hybridization. International Journal of Developmental Biology, 41(2), 365-374.
- **Boualga A. (2008).** Influence de différentes sources de protéines et de leurs niveaux d'apport (10, 20 ou 30%) sur le métabolisme des lipides, en particulier celui du cholestérol, chez le rat en croissance. Thèse de doctorat, Université d'Oran; 30.
- **Bouderbala H., Kaddouri H., Kheroua O. & Saidi D. (2016).** Anti-obesogenic effect of apple cider vinegar in rats subjected to a high fat diet. In Annales de Cardiologie et d'Angéiologie**.** Vol. 65, No. 3, p 208-213.
- **Boudreau A. & Ménard G. (1992)**. Le blé : Eléments fondamentaux et transformation. Edition Presses Université Laval Paris 25-62p.

- **Bouferkas Y., Haddi A ., Mehedi N. (2019)**. Enzymatic treatment of gliadins triggers anaphylactic reaction in a murine model of wheat allergy in vivo and ex vivo study. In: Bioscience Research, vol. 16(2), pp.1377-1390.
- **Boukhari N., Taleb-Senouci D., Chabane FZ., Besbes M. & Lamri-Senhadji MY. (2013).** L'huile des co-produits de poisson corrige la dyslipidémie, améliore le transport inverse du cholestérol et stimule l'activité de la paraoxonase-1 chez le rat obèse. Ann Cardiol Angeiol. 62: 149-154.
- **Bouldjadj R. (2009).** Mémoire de magister .étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé Artemisia herba alba Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine .université Mentouri Constantine (Algérie) ,15 -17
- **Bousbahi S., Benakrich BM., Gerard P., Kheroua O. (2018)**. Fermented wheat «Hamoum» supplementation protects from bacterial translocation in malnourished rats. 15(4):3775-3785.
- **Bouvet D., Blondel A., de Sainte Agathe JM., Leroy G., Saint-Martin C. & Bellanné-Chantelot C. (2023).** Evaluation in Monogenic Diabetes of the Impact of GCK, HNF1A, and HNF4A Variants on Splicing through the Combined Use of In Silico Tools and Minigene Assays. Human Mutation, (1), 6661013.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M. E., & Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel - Wissenschaft und-Technologies, 28, 25–30.
- **Branlard G., Pujos E., Nadaud L., Bancel E., Piquet A. (2012).** Nouveaux outils pour une Analyse fine de la composition des grains. Innovations Agronomiques 19, 37-49.
- **Brenda MB. (2019**).Type 1, Type 2, and gestational diabetes risk factors. Medically reviewed by Valindq Riggins Nwadike, MD, MPH, OB/GYN.
- **Brooker DB., Bakker-Arkema FW . & Hall CW**. **(1992).** Drying and storage of grains and oilseeds. Springer Science & Business Media.
- **Brue T. (2005).** Diabètes, Edition Larousse. Paris: p160.
- **Buettner R., Parhofer KG., Woenckhaus M., Wrede CE., Kunz-Schughart LA., Schölmerich J. & Bollheimer LC. (2006).** Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. Journal of Molecular Endocrinology. 36: 485- 501.

C

- **Caballero B., Himes JH., Lohman T., Davis SM., Stevens J., Evans M. (2003).** Pathways Study **Research Group.** Body composition and overweight prevalence in 1704 schoolchildren from 7 American Indian communities. The American journal of clinical nutrition. 78 (2), 308-312.
- **Caban A. & Walker EA. (2006).** Une revue systématique de la recherche sur les questions culturellement pertinentes pour les Hispaniques atteints de diabète. L'éducateur en diabète, 32 (4), 584-595.
- **Calvel R. (1984).** Boulangerie moderne. 2éme. Ed. Eyrolles. Paris : 459.
- **Cani PD., Bibiloni R., Knauf C. (2008).** Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet induced obesity and diabetes in mice. Diabetes. 57: 1470-81.
- **Caplice E. & Fitzgerald GF. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International journal of food microbiology. 50(1-2), 131-149.
- **Cárdenas JC. & Melillanca PI. (2017).** La crise du modèle néolibéral chilien de la pêche1. Entre terre et mer. 24, 81.
- **Carip C. (2008).** Microbiologie hygiène bases microbiologiques de la diététique. Paris Lavoisier 2008. Description: 429 p. 978-2-7430-1010-2
- **Carr FJ ., Hill D., Mada N. (2002).** The lactic acid bacteria: A literature survey. Crit. Rev. Microbiol. 28, 281-370. 2
- **Chabane FZ., Louala S., Boukhari N., Besbes M. & Lamri-Senhadji MY. (2013).** Effects of two hypocaloric diets supplemented with lupine or oats on lipid peroxidation, paraoxonase activity and reverse cholesterol transport in obese rat. J Food Res. 2: 1-9.
- **Chacko P. (2016).** Development of Tenderized Fermented Squid Product in the Form of Spread and Pieces Using Kiwifruit Protease (Doctoral dissertation, Auckland University of Technology).
- **Chambers ES., Viardot A., Psichas A ., Morrison DJ., Murphy KG ., Zac-Varghese SEK ., MacDougall K., Preston T ., Tedford C ., Finlayson GS., Blundell JE., Bell JD., Thomas EL ., Mont Isa S., Ashby D .,Gibson GR ., Kolida S., Dhillo WS., Bloom SR., Morley W., Clegg S., Frost G. *(*2014).** Effects of Targeted Delivery of Propionate to the Human Colon on Appetite Regulation, Body Weight

Maintenance and Adiposity in Overweight Adults, Gut 64, no 11 (November 2015). 1744- 54.

- **Cheftel JC. (1977).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments vol 2 : Paris:Lavoisier. NA/4296/2. Visit us. Institut de la nutrition.
- **Chekkal H., Harrat NEI., Affane F., Bensalah F., Louala S. & Lamri-Senhadji M. (2020).** Cactus young cladodes improves unbalanced glycemic control, dyslipidemia, prooxidant/antioxidant stress biomarkers and stimulate lecithin-cholesterol acyltransferase and paraoxonase activities in young rats after cafeteria diet exposure. Nutrition & Food Science. 50 (2), 288-302.
- **Chekkal H., Harrat NI., Affane F., Bensalah F., Louala. S. & Lamri-Senhadji M. (2019).** Cactus young cladodes improves unbalanced glycemic control, dyslipidemia, prooxidant/antioxidant stress biomarkers and stimulate lecithin-cholesterol acyltransferase and paraoxonase activities in young rats after cafeteria diet exposure.
- **Chen A., Ryan J. & Shih DQ. (2024).**The Various Healthcare Applications of the Genus Lactobacillus.
- **Chene A. (2001)**. La farine. Journal de l'Adrianor, 26, 3-8.
- **Chevalier N. & Fénichel P. (2016)**. Endocrine disruptors: A missing link in the pandemy of type 2 diabetes and obesity?]. Presse Med. 45 (1):88-97.
- **Choi HKJ., Atkinson K., Karlson EW., Curhan G. (2005).** Obésité, variation de poids, hypertension, utilisation de diurétiques et risque de goutte chez les hommes : l'étude de suivi des professionnels de la santé. Arch Intern Med ; 165(7):742-8.
- **Clemens V., Berthold O., Witt A. (2020).** Lifespan risks of growing up in a family with mental illness or substance abuse. *Scientific reports*. Vol. 10, no 1, p. 15453.
- **Comai S., Bertazzo A., Costa CVL., Allegri G. (2011)**. Quinoa : teneur en tryptophane (protéines et composés non protéiques) comparée à celle d'autres farines de céréales et de légumineuses et du pain. Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention. P113-125.
- **Commane Daniel M., Colette T Shoertt., Cresci SA., Roisin M., Hughes lan R. (2005),** Effects of fermentation products of pro-and probiotics on trans-epithelial electrical resistance in an in vitro model of the colon , PMID :15749636.
- **Connor AE., Simon GA ., Woodward M., Rahimi K. (2015**). «Usual Blood Pressure and Risk of New-Onset Diabetes: Evidence from 4.1 Million Adults and a Meta

Analysis of Prospective Studies». Journal of the American College of Cardiology, 66:15521562.

- **Costabile A ., Corona G., Sarnsamak K., Atar-Zwillenberg D., Yit C., King AJ .,Vauzour D., Barone M., Turroni S., Brigidi P., Hauge-Evans AC. (2022).** Front. Microbiol. , Sec. Microbiologie alimentaire. Vol 13.
- **Couëdelo L ., Boué-Vaysse C ., Fonseca L ., Montesinos E ., Djoukitch S., Combe N. & Cansell M . (2011).** Lymphatic absorption of α-linolenic acid in rats fed flaxseed oil-based emulsion. British journal of nutrition. 105 (7), 1026-1035.
- **Council of European Communities (1987).** Council instructions about the protection of living animals used in scientific investigation. Official Journal of the European Communities. **358**: 1-28.
- **Cross ML., Stevenson LM., Gill HS. (2001)**. «Anti-allergy properties of fermented foods: An important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria» Int Immunopharmacol 1: 891–901.
- **Cruz P., Duru M., Therond O., Theau JP., Ducourtieux C., Jouany C., Ahaj khaled R., Ansquer P. (2002) :** Une nouvelle approche pour caractériser les prairies naturelles et leur valeur d'usage. Fourrages, 172, 335-354.

D

- **Daisy P. & KanI G. (2013)**. Hypo-lipidemic and hepato-protective effects of Cassia auriculata Linn bark extracts on streptozotocin induced diabetics in male Wister albino rats. Asian J Pharm Clin Res, 6**,** 43-48.
- **Danda S., Nusrath MH., Rincon-Choles H., Bhandari BK., Barnes JL., Abboud HE., Pergola E. (2005).** Kidney involvement in a nongenetic rat model of type 2 diabetes. Cell Biology - Immunology – Pathology. Kidney International Volume 68, Issue 6. P 2562-2571.
- **Darimont C., Turini M., Epitaux M. (2004).** β3-adrenoceptor agonist prevents alterations of muscle diacylglycerol and adipose tissue phospholipids induced by a cafeteria diet. Nutr. Metab. 1, 4.
- **De Lucas-Ramos P., de Miguel-Díez J., Santacruz-Siminiani A., González-Moro J MR., Buendía-García MJ. & Izquierdo-Alonso JL. (2004).** Benefits at 1 year of nocturnal intermittent positive pressure ventilation in patients with obesity-hypoventilation syndrome. Respiratory medicine. 98 (10), 961-967.

- **De Man J., Rogosa M., Sharpe MA. (1960).** Milieu de culture des lactobacilles. J. Appl. Bacteriol. 3:130–135.
- **Decleves AE, Sharma K. (2010).** New pharmacological treatments for improving renal outcomes in diabetes. Nat Rev Nephrol. 6 (6):371-80.
- **Dellaglio H., Roissart HD., Torriani S., Curk MC., Jansen D. (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: De Roissart H., Luquet F.M., (Eds), Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. Lorica, Uriage. 25-116.
- **Department of Agriculture (USDA). (2018b).** Composition of Foods Raw, processed, prepared USDA national nutrient database for standard reference. Available online: https://ndb.nal.usda.gov/ndb.
- **Desclaux D**. **(2005)**. Amélioration de la valeur technologique et commerciale du blé dur. vers une réduction des taux de moucheture et de mitadin. Rapport du projet de recherche. INRA. Montpellier. France, P. 120.
- **Design Ben-Harb S., Saint-Eve A., Panouillé M., Souchon I., Bonnarme P ., Dugat-Bony E. & Irlinger F. (2009).** Microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions. International journal of food microbiology. 293, 124-136.
- **Dortu C. & Thonart P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bio-conservation des produits alimentaires. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 13(1).
- **Doukani K., Tabak S., Gourchala F., Mihoub F., Ounes M & Benbaguara M. (2013).** Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par Stockage Souterrain (Matmora). Revue Ecologie-Environnement. 9, 1-10.
- **Doumandji A., Doumandji S., Doumandji M.B. (2003).** Technologie de transformation des blés et problème dus aux insectes en stock, Ed : Office des publications universitaires, P.129.
- **DRABO., Soungalo M., Khadem H., Benatmane NE. (2019).** Qualité microbiologique du blé dur fermenté de Matmor Hamoum : Indispositions Digestives, microflore avantageusement technologique et potentiels pathogènes. International Journal of Innovation and Applied Studies. Vol. 27, no 1, p. 11-18.
- **Drouault S. & Corthier G. (2001).** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. Veterinary research. 32 (2), 101-117.

- **Du XJ., Hewitson TD., Nguyen MN et Samuel CS. (2014).** Effets thérapeutiques de la sérélaxine dans l'insuffisance cardiaque aiguë - Nécessité d'une traduction bilatérale de la recherche -. Journal de diffusion, 78 (3), 542-552.
- **Duclos M ., Oppert J M ., Vergès B., Coliche V., Gautier J F., Guezennec CY & Strauch G.** (2012). Activité physique et diabète de type 2: Référentiel de la Société francophone du diabète (SFD). Médecine des maladies Métaboliques, 6(1), 80-96.
- **Dunford NT. (2012).** Bioproduits alimentaires et industriels et biotransformation : avancées dans la transformation des huiles et des oléagineux. Département de biosyst., ingénierie agricole, Université d'État de l'Oklahoma, John Wiley & Sons, Inc.
- **Duron F., Heurtier A. (2005)**. Complications du diabète en dehors des accidents metaboliques aigus. Faculté de Médecine, Pierre et Marie Curie. Paris, France.www.chusa.jussieu.fr. Avril.2010.
- **Dytz MG., Hamamoto Marcelino PA., Campanholo AL ., Albuquerque Pinto Rebello I., Conceição FL., Ortiga-Carvalho TM., Zajdenverg L., Rodack M . (2015).** Clinical features of diabetes mellitus in hereditary pancreatitis, Diabetology & Metabolic Syndrome.

E

- **El-Saadony MT., Yang T., Saad AM., Elkafas SS., Eldeeb GS., Mohammed DM., Salem HM., Korma SA., Loutfy SA., Alshahran MY., Ahmed AE., Mosa WFA., Abd El–Mageed TA., Ahmed AF., Fahmy MA., El- Tarabily MK., Mahmoud RM., AbuQamar SF. and Lorenzo JM. (2024).** Chemistry, bioavailability, bioactivity, nutritional aspects and human health benefits of polyphenols: A comprehensive review. International Journal of Biological Macromolecules, 134223.
- **Ennadir J., Hassikou R., Al Askari G., Arahou M., Bouazza F., Amallah L., Amine SA. & Khedid K. (2014).** Characterization phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine (Phenotypic and Genotypic Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Wheat Flour from Morocco). Journal of Materials and Environmental Science. Vol 5:1125-1132. Issn 2028-2508
- **Ercolini D. (2020).** Cartographier le microbiome pour améliorer la quantité, la qualité et la sécurité alimentaires. Nature communications.
- **Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus** (1997). Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 20, 1183-97

F

- **Fajans SS., Bell GI. (2011).** MODY: history, genetics, pathophysiology, and clinical decision making. Diabetes Care. 34 (8): 1878 - 1884.142.
- **Fan DKC., Lin CC., Chuang YF. (2025**). Altérations de la composition et de la fonction du microbiote intestinal dans les cognitifs légers : lien avec la maladie d'Alzheimer. Recherche et thérapie sur la maladie d'Alzheimer 17.n°122.
- **FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2004).** Combined Compendium of Food Additive Specifications: Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in food additive specifications (Vol. 4). Food & Agriculture Org.
- **Fardat, A. (2010)**. New Hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? Nutr. Res. Rev. 23: 65-134.
- **Faridi H. & Faubion JN. (1995).** Sols caillouteux et production végétale. éd., Dough Rheology ... sont le blé tendre (*Triticum aestivum*) et le blé. 921 p.
- **Fasshauer P. & Poitou C. (2013).** Physiopathologie de l'obésité. Physiopathology of obesity. Revue du Rhumatisme Monographies. Vol 83, Issue 1, Pages 6-12
- **Faucher P. & Poitou C. (2016).** Physiopathologie de l'obésité. Revue du rhumatisme monographies. 83 (1), 6-12.
- **Feillet P. (2000).** Le grain de blé, composition et utilisation. INRA, Paris, 308p.
- **Fernandez C. (1996).** Croissance et nutrition de Paracentrotus lividus dans le cadre d'un projet aquacole avec alimentation artificielle (Doctoral dissertation, Corte).
- **Fessard A. (2017).** Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
- **FFD : fédération Française de diabète 2021.**
- **FID. (2021).** IDF Atlas Report – IdF – Fédération internationale du diabète – publié en 2022.
- **Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).
- **Friedewald WT., Levy RI. & Fredrickson DS. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clinical Chemistry. 18 (6): 499–502.

G

- **Gallissot-Pierrot E. (2013).** Pratique d'une activité sportive et ses facteurs limitant dans une population d'adultes obèses: diminution des affects dépressifs et possibilités d'action par le médecin généraliste (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- **Georgoulis M., Kontogianni MD., Tileli N. (2014)**. L'impact de la consommation de céréales sur le développement et la gravité de la stéatose hépatique non alcoolique. Eur J Nutr 53, 1727 – 1735.
- **Ghasemi A., Khalifi S., Jeddy S. (2014).** Modèle de diabète de type 2 induits chez le rat par la streptozotocine et le nicotinamide. Acta Physica Hungarica. Heavy Ion Physics. DOI: 10.1556/A Physiol. 10.4.2.
- **Ghasemi Asghar G, Jeddi S. (2023**) : La streptozotocine comme outil pour l'induction de mouvements de diabète chez le rat 9 guides pratiques. 22. 274-294.
- **Ghosh S.**, **Islam R., Sarkar S. & Saha T. (2024).** Dietary supplementation of Lactobacillus brevis SAD ameliorates high-fat diet-induced hyperglycemia and associated metabolic issues in Swiss albino mice. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences. Vol 11:148-161.
- **Golay A. (1998).** The role of dietary fat in development of obesity. OCL. 5: 205-207. J. Physiol. 565: 3–8. 4**.**
- **Goldringer I., Bonnin I., Montalent P., Bonneuil C. & Goffaux R. (2013).** Quels indicateurs pour suivre la diversité génétique des plantes cultivées ? Le cas du blé tendre.
- **González CJ., Encinas JP., Garcia-López ML . & Otero A. (2000).** Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes. Food Microbiology 17(4): 383-391.
- **Gourbeyre P., Dénéry S., Bodinier M. (2011).** Probiotiques, prébiotiques et symbiotiques : impact sur le système immunitaire intestinal et réactions allergiques Affiliations developer .PMID : 21233408.
- **Gourchala, F., Hobamahoro AF., Mihoub F. & Henchiri C. (2014).** Effet de la fermentation naturelle sur la qualité nutritionnelle du blé dur « El hamoum » (*Triticum durum*), produit fermenté d'Algérie. International Journal of Bio-Technology and Research, 4 (4), 9-18.
- **Grimaldi A. (2000),** Diabétologie Questions d'internat. Université Paris-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière. .

- **Grover SA ., Kaouache M., Rempel P., Joseph L., Dawes M., Lau DC. & Lowensteyn I. (2015).** Years of life lost and healthy life-years lost from diabetes and cardiovascular disease in overweight and obese people: a modelling study. The lancet Diabetes & endocrinology. 3(2), 114-122.
- **Guiraud JP. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD. Paris volume 1. p136 et p.141 volume 2. P282 et p 292.
- **Guiraud JP. (2003).** Microbiologie alimentaire : Série agro-alimentaire. Ed Dunod: 696.
- **Guo XX., Wang Y., Wang K., Ji BP. & Zhou F. (2018).** Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. J Zhejiang Univ Sci B. 19: 559-569.
- **Guse K., Sharma A., Weyenberg E., Davison S., Ma Y., Choi Y., Johnson AJ.,Chen C., Gomez A. (2023).** La consommation régulière de légumes fermentés a des effets plus importants sur le métabolome intestinal que sur le microbiome. Nature communications.

H

- **Hamza-Reguig S., Boukhari Benahmed Daidj N., Louala S., Boualga A. & Lamri-Senhadji MY. (2017).** Effect of replacing sardine oil with margarine on dyslipidemia, dysglycemia and redox status of adipose tissue in high-fat diet-induced obesity in Wistar rats. Nutrition & Food Science. 17: 2-17.
- **Hanson EW. & Christensen JJ. (1953).** The black point disease of wheat in the United States.
- **Harley E. &. Maillard F. (2018).** Influence des modalités d'exercices sur le microbiote intestinal et la masse grasse abdominale: interrelation intestin/tissu adipeux sur des modèles de pathologies inflammatoires. Thèse de doctorat. Université Clermont Auvergne.
- **Harrat NI., Louala S., Bensalah F., Affane F., Chekkal H. & Lamri-Senhadji M. (2019).** Antihypertensive, anti-diabetic, hypo-cholesterolemic and antioxidant properties of prickly pear nopalitos in type 2 diabetic rats fed a high-fat diet. NFS. 49: 476-490.

- **Harrat NI., Tair ZI., Louala S., Boukhari N., Dehiba F., Lamri senhadji M. (2015).** La Supplémentation En Huile D'argan Atténue L'hyperglycémie, La Dyslipidémie Et Le Stress Oxydant, Chez Le Rat Obèse. Nutrition & Santé Volume 4, Numéro 1, Pages 16-26. 06-30.
- **Henry JB. (1984).** Clinical Diagnosis and management 17th édition , Sauders Publisher.
- **Hepner GR., Friend S., St-Jeor L., Fusetti Morin R, (1979)**. Effet hypocholestérolémiant du yaourt et du lait. Suis J Clin Nutr.; 32 : 19-24.
- **Heredia N., Wesley I and Santos G. (2009).** Aliments microbiologiquement sûrs. John Wiley ; 596P.
- **Hidvégi M. (1999)**. Fermented wheat germ extracts (Avemar): natural metabolic modulator. J. Altern. Complement. Med.
- **Hoffman LS., Fox TJ., Anastasopoulou C., Jialal I. *(*2023).** Diabète de type MODY chez les jeunes. StatPearls .
- **Houlot R. (1984).** Techniques d'histologie et de cytopathologie. Ed Maloine .19 :225-227.

I

- **IDF Diabetes Atlas**.diabetesatlas.org.
- **Idoui T., Benhamada N., Leghouchi E. (2010)** . Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional butter produced from cows' milk in East Algeria. Grasas y Aceites 61: 3.
- **INSERM Collective Expertise Centre (2000).** Childhood obesity: Screening and prevention.

J

- **Jalbert Y. & Mongeau L. (2006).** Prévenir l'obésité: un aperçu des programmes, plans d'action. Stratégies et politiques sur l'alimentation et la nutrition.
- **Jalili P., Narimisa H., Jalili B., Shateri A. & Ganji DD. (2023).** A novel analytical approach to micro-polar nanofluid thermal analysis in the presence of thermophoresis, Brownian motion and Hall currents. Soft Computing. 27(2), 677-689.
- **James ML. & Mark DH. (2010)**. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. Nutrients, 2: 12661289.
- **Javeed N. & Aleksey V. Matveyenko. (2009).** Circadian Etiology of Type 2 Diabetes Mellitus.

- **Jeanet R., Thomas C., Michel M., Pierre S., Gerard B. (2007)**. Produit laitières. Edition : Tec et Doc. La Voisier. 63.
- **Jennings Cecilia MSc. & Vetter C. (2024),** Top fermented food you can add to you diet 18th march.
- **Jespersen L. (2003)**. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of predominant in African indigenous fermented foods and beverages. FEMS Yeast Research 3: 191–200.
- **Ji J., Zhang C., Luo X., Wang L., Zhang R., Wang Z., Fan D., Yang H. & Deng J. (2015).** Effect of stay-green wheat, a novel variety of wheat in China, on glucose and lipid metabolism in high-fat diet induced type 2 diabetic rats. Nutrients. 7: 5143-5155.

K

- **Kamoun H., Hainault I ., Chabanon H ., Luquet S., Magnan C., Ferré P. & Foufelle F. (2008).** L'inhibition hépatique de la voie du stress du réticulum endoplasmique améliore la sensibilité à l'insuline des souris ob/ob. Diabetes & Metabolism. 35, A12-A13.
- **Kandouli C., Cassie M., Mercier A., Delehedde C., Ricquebourg E., Stocker P., Mekaouche M., Leumi Z., Mechakra A., Thétiot – Laurent S., Culcasi M. et Pietris. (2017)**. Anti-diabetic, antioxidant and anti-infalammatory properties of water and n-butanol.
- **Karthik KN., Rathna B., Kumar PS., Venupriya R., Sunilkumar KN. & Singh R. (2013)**. Evaluation of anti-inflammatory activity of Canthium parviflorum by in-vitro method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology, 1(5), 729-730.
- **Kaser S., Winhofer-Stöckl Y., Kazemi-Shirazi L., Hofer SE., Brath H., Sourij H. & Luger A. (2019).** Other specific types of diabetes and exocrine pancreatic insufficiency, Update. Wiener Klinis che Wochenschrift, 131(Suppl 1), 16-26.
- **Katina K., Salmenkallio-Marttila M., Partanen R., Forssell P., and Autio K. (2006).** Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread. LWT-Food Sci. Technol. 39: 479-491.
- **Katseres JR, Kreitzer MJ. (2019).** Integrative nursing in palliative care and end-of-life. *Integrative nursing*. p. 491-507.
- **Kezimana F. & Koman YBG. (2014).** Caractérisation physicochimique, phytochimique et microbiologique du blé dur fermente (el hammoum). .

- **Kime NH. (2013).** Weight loss in type 2 diabetes. Independent Nurse. 2-6 (5). ISSN 1747-9800.
- **Kim HJ *et al.*, (2021).** Fermented wheat germ attenuates oxidative stress and improves lipid metabolism in obese rats. J. Funct. Foods.
- **Kim J., Kim G., Kim S. & Shin H. (2025).** Potentiels prébiotiques du blé et du seigle foncé : modulation du microbiote intestinal et des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte. maison sciences et biotechnologies alimentaires.
- **kohajdová Z. & karovičová J**. **(2007).** Fermentation of cereals for specific purpose. Journal of Food and Nutrition Research. Vol. 46, n°2, 51-57.
- **Krauss RM. (2004)**. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. Diabetes. care, 27**,** 1496-1504.
- **Kreitzer MJ. & Koithan M. (2019)**. Soins infirmiers intégratifs. (2e éd.). Oxford Press. https://global.oup.com/academic/product/integrative-nursing.

L

- **Laemmli UK. (1970).** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature; 227: 680-685.
- **Laissouf A., Soulimane NAM. & Merzouk H. (2014).** L'effet thérapeutique de l'huile de lin «linumusitatissimum» sur l'hyper-triglycéridémie et l'hypercholestérolémie chez des rats obèses âgés. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie. 10 (2).
- **Larraufie P. (2015)**. Régulation de l'expression et de la sécrétion du Peptide YY par des produits du microbiote intestinal dans des cellules entéro-endocrines humaines de type L ».
- **Larskin TA., Astheimer LB., Price WE. (2009).** L'association alimentaire de soja avec un aliment probiotique ou prébiotique réduit significativement le cholestérol total et LDL chez le sujet moyennement hyper-cholestérolémique. Eur J Clin Nutr. 63 : 238-245.
- **Lee J Y. *et al.*, (2019).** Anti-obesity and hypo-lipidemic effects of fermented wheat germ extract in high-fat diet-fed rats. Nutrients.

- **Lee Kye Ho** ., **Han Seo Young ., Choi Mi Young ., Kim Jin Young ., Park Ki Joo**. **(2008)**. Une composition alimentaire saine pour améliorer et soulager le diabète comprenant le mélange de céréales fermentées comme ingrédient actif.
- **Leveau JY. & Bourgeois CM. (1991).** Produits végétaux. Dans : Plus quelle, A., Ed., Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, Lavoisier Tec et doc apria, Paris, 379-386.
- **Levy Jilian , CHHC. (2022).** 15 fermented food for healthy Gut and Overall Health.
- **Li C., Kaur H., Choi WS., Huang TTK., Lee RE. & Ahluwalia JS. (2005).** Additive interactions of maternal prepregnancy BMI and breast-feeding on childhood overweight. Obesity research. 13(2), 362-371.
- **Liao AM., Zhang J., Yang ZL., Huang JH. (2022).** Structural, physicochemical, and functional properties of wheat bran insoluble dietary fiber modified with probiotic fermentation. Sec. Nutrition et technologies des sciences alimentaires. Tome 9.
- **Lobstein T. (2004).** The prevention of obesity in children. Pediatric Endocrinology Reviews: PER, 1, 471-475.
- **Lobstein T., Baur L., Uauy R. (2004)**. Obesity in children and young people: a crisis in public health. Obesity reviews. Vol. 5.
- **Lortal S., El Mecherfi KE., Mariotti F., Eutamène H., Rul F., Champomier Vergès MC. & Savary-Auzeloux I. (2020).** Aliments fermentés & bénéfices santé: un défi pour la recherche. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 55(3), 136-148.
- **Louala S., Benyahia-Mostefaoui A. & Lamri-Senhadji MY. (2013).** La restriction énergétique réduit le stress oxydant de l'aorte et du cœur et corrige le risque athérogène chez le rat rendu obèse. Ann Cardiol Angeiol. 62: 155-160.
- **Luo J., Rizkalla S., Alamowitch C., Boussairi A., Barry AB. (1996**). La consommation chronique de fructo-oligosaccharides à chaîne courte par des sujets sains a diminué la production hépatique basale de glucose mais n'a eu aucun effet sur le métabolisme du glucose stimulé par l'insuline. Suis J Clin Nutr ; 63 : 939-945.

M

- **Mahmoud AM., Ashour MB ., Abdel-Moneim A & Ahmed OM. (2012).** Hesperidin and naringin attenuate hyper-glycemiamediated oxidative stress and pro-inflammatory cytokine production in high fat fed/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. J Diabetes Complications. 26: 483-490.

- **ManayShakuntala N. & Shadaksharasw amy M. (2001).** Foods: Facts and principles, Second Edition. New Age International Publishers.
- **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. & Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera). Food Chemistry, 89: 411–420.
- **Marchal N., Bourdon JL. et Richard CL. (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries 3ème Ed., Doin éditeurs,Paris.
- **Marion D., Mukerji T. & Mavko G. (1994).** Scale effects on velocity dispersion: From ray to effective medium theories in stratified media,Geophysics ; 59 :1613–1619.
- **Mark G. (2016).** Streptozocin. Saunders Handbook of Veterinary Drugs (Fourth Edition). Small and Large Animal. 2016, Pages 742-743
- **Mark G., Papich DVM., MS DACVCP. (2016)**.en Manuel Saunders des médicaments vétérinaires (quatrième édition) .Pharmacologie et mécanisme d'action.
- **Martin S. & Andriantsitohaina R. (2002)**. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des poly phénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéologie; 51: 304-315.
- **Masarone M., Rosato V., Aglitti A., Bucci T., Caruso R., Salvatore T. (2017).** Liver biopsy in type 2 diabetes mellitus: Steatohepatitis represents the sole feature of liver damage. PLoS ONE 12(6): e0178473.
- **Mathew B., Eastridge ML., Oelker ER., Firkins JL. & Karnati SKR. (2011).** Interactions of monensin with dietary fat and carbohydrate components on ruminal fermentation and production responses by dairy cows. Journal of dairy science. 4(1), 396-409.
- **Matta J., Carette C., Lange CR. & Czernichow S. (2018).** Épidémiologie de l'obésité en France et dans le monde. *La Presse Médicale*. *47*(5), 434-438.
- **Mattarelli P., Holzapfel W., Franz CM., Endo A., Felis GE., Hammes W. & Dellaglio F. (2014).** Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera Bifidobacterium, Lactobacillus and related genera. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.64 (Pt_4), 1434-1451.
- **Mattila P., Pihlava JM. & Hellström J. (2005).** Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. J Agric Food Chem. 53: 8290-8295.

- **Mayer C. (2019)**. Effets préventifs des micro-algues marines et de leurs molécules bioactives sur le syndrome métabolique et l'obésité.
- **McBean B. (2019**).Type 1,Type2, and gestational diabetes risk factors. Medically reviewed by Valindq Riggins Nwadike, MD, MPH, OB / GYN.
- **Mellen PB., Walsh TF. & Herrington DM. (2008).** Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 18(4), 283-290.
- **Mensah, P. (1997)**. Fermentation – the key to food safety assurance in Africa? Food Control, 8, pp. 271-278.17.
- **Moini J. (2019).** Physiopathologie du diabète. Epidémiologie du diabète .Chapitre 3.pp25-43.
- **Mokhtari S., Kheroua O. & Saidi D. (2016).** Isolation and identification of lactic acid bacteria from Algerian durum wheat (Triticum Durum) natural fermented in underground silos Matmora "El Hammoum" and their Antimicrobial Activity Again Pathogenic Germs. J Nutr Health Sci. 3(4), 1-12.
- **Morales FJ. & Jimenez-Perez S. (2001).** Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. Food Chemistry, 72, 119–125.
- **Morio B, Barquissau V. (2011).** Physiopathologie de l'insulino-résistance dans le muscle squelettique et implication des fonctions mitochondriales. Nutrition Clinique et Métabolism**e**. Vol 25, n° 3 pages 114-130.
- **Mugula JK ., Nnko SAM., Narvhus JA. & Sorhaug T. (2003).** Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. International Journal of Food Microbiology 80: 187–199.
- **Muls E., Kolanowski J., Scheen A. (2000).** Efficacy of orlistat treatment in obese patients with hypercholesterolemia. In: European Congress on Obesity. Int J Obesity. p. S97.
- **Multon JL. (1982).** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : céréales, protéagineux ; oléagineux, aliment pour animaux. Technique et Documentation Ed Lavoisier Paris : 576.
- **Munter JSL., Hu FB., Spiegelman D., Franz M &. Van Dam RM**. **(2007).** Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. PLoS medicine. 4 (8), 261.

N

- **Niesten L. & Bruwier G. (2007).** L'obésité chez l'enfant. Recommandations de bonne pratique.
- **Nique H**. **(2008).** Le stockage du grain dans le monde byzantin (VIIe-XIIe siècle). MEFRM: Mélanges de l'École française de Rome: Moyen Âge.2006 ; 120, 1. 1000-1031.
- **Nout. (2009)**. Rich nutrition from the poorest – Cereal fermentations in Africa and Asia. Food Microbiology; 26: 685-692.

O

- **Olayaki LA., Irekpita JE., Yakubu MT. & Ojo OO. (2015)**. Methanolic extract of Moringa oleifera leaves improves glucose tolerance, glycogen synthesis and lipid metabolism in alloxan-induced diabetic rats. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology, 26**,** 585-593.
- **OMS l'Organisation mondiale de la santé, 2000.**
- **Ooi LG, Liong MT. (2010).** Effets hypocholestérolémiants des probiotiques et des prébiotiques : un examen des résultats in vivo et in vitro. Int J Mol Sci ; 11 : 2499-2522.
- **Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). (2013**). https://news.un.org/fr/story/2013/07/270332.
- **Organisation mondiale de la santé (2003)**. Obésité : Prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale : Rapport d'une consultation de l'OMS. (Organisation mondiale de la santé. Obésité : Prévention et gestion de l'épidémie mondiale.
- **Osborne TB. (1924)**. The vegetables proteins 2nd Edition. Longmans, Green & Co-edition London, England; 154 p**.**
- **Ozdemir S., Gocmen D. & Yildirim Kumral A**. **(2007).** A traditional Turkish fermented cereal food: Tarhana. Food Reviews International. 23(2), 107-121.

P

- **Pasolli E., Dephilippis F., Mauriello L. & Coll. (2020).** Large scale genome wide analysis links lactic acid bacteria from food with gut microbiome. Nature communications.
- **Paul Ross R., Morgan S., Hill C. (2002).** Preservation and Fermentation: present and future, Journal of Food. Microbiol; 79: 3– 16.

- **Penner R., Fedorak RN., Madsen KL. (2005).** « Probiotics and nutraceuticals : nonmedicinal Treatments of gastrointestinal diseases. » Curr Opin Pharmacol 5 : 596-603.
- **Pereira D. & Gibson G. (2002)**. Effets de la consommation de probiotiques et de prébiotiques sur les taux de lipides sériques chez l'homme. Crit Rév Biochem Mol Biol ; 37 : 259-281.
- **Phillips LH., Bull R., Allen R., Insch P., Burr K. & Ogg W. (2011).** Life span aging and belief reasoning: Influences of executive function and social cue decoding. Cognition. 120(2), 236-247.
- **Piché M. (2019).** Circulation Research. Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. Vol 126, Issue: 11, Pages: 1477-1500.
- **Poonam S. (2023).** Type 2 Diabetes Causes and risk Factors, Medicaly Reviewed by web MD Éditorial Contributors.
- **Posner ES, Hibbs AN. (2000).** Wheat flour milling, 2éme edition. American Association of Cereal Chemists, Inc.
- **Prescott M., Nowakowski S., Nagley P., Devenish RJ. (1999).** La longueur du lieur polypeptidique affecte la stabilité des protéines de fusion fluorescentes vertes. *Anal Biochem* 273 (2) : 305-7.
- **Prescott. & Aibeche ABN. (2019).** Etude du pouvoir protéolytique des bactéries lactiques.
- **Prückler M., Cindy L., Akihito E., Manuel K., Klaus DK., Francisco S., Eric A., Wolfgang K. (2015)**. Comparison of homo- and hetero fermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread; 211-219.

Q

- **Quesnel J. (2023).**Comment savoir si on est diabétique ? Les symptômes qui doivent alerter ‹sante.jouranldesfemmes.fr .

R

- **Rahoui W., Merzouk H., El Haci IA., Bettioui R., Azzi R. & Benali M. (2018).** Beneficial effects of Aloe vera gel on lipid profile, lipase activities and oxidant/antioxidant status in obese rats. Journal of functional foods. 48, 525-532.
- **Ravi K., Ramachandran B. & Subramanian S. (2004).** Effect of Eugenia jambolana seed kernel on antioxidant defense system in Streptozotocin-induced diabetes in rats. Life sciences, 75**,** 2717-2731.

- **Relling DP., Esberg LB., Fang CX., Johnson WT., Murphy EJ., Carlson EC., Saari JT. & Ren J. (2006).** High-fat diet-induced juvenile obesity leads to cardiomyocyte dysfunction and upregulation of foxo3a transcription factor independent of lipotoxicity and apoptosis. J Hypertens. 24: 549-561.
- **Rizzello C.G., Lorusso A., Montemurro M., Gobbetti M (2016)**. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiol. 56*, 1–13.
- **Rodier M. (2001).** Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire – Imagerie Fonctionnelle et métabolique, 25(2) : 91-932020.
- **Roissart DH. (1986).** Bactéries lactiques, p. 343. In F. M. Luquet (ed.), Laits et Produits laitiers : vache, brebis, chèvre, vol. 3. Lavoisier, Paris.
- **Romali H. (2016).** (Prise en charge et traitement du diabète de type 2) These N° page (Jasmine F Plows 1ORCID, Joanna L Stanley 2, Philip N Baker 3,Clare M Reynolds 2 and Mark H Vickers 2. 2018 The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus .
- **Romero-Corral A., Somers VK., Sierra-Johnson J., Korenfeld Y., Boarin S., Korinek J. (2010).** Normal weight obesity: a risk factor for cardio-metabolic dysregulation and cardiovascular mortality. Eur Heart J. 31:737–46. 85. La
- **Roudaut H. & Lefrancq E. (2005).** Alimentation théorique: Sciences des aliments. Doin éditeurs. France; 303p.

S

- **Salminen KM., Rautelin H., Tynkkynen S., Poussa T. (2004).** Lactobacillus Bacteremia, Clinical Significance, and Patient Outcome, with Special Focus on Probiotic L. Rhamnosus GG.Clinical Infectious Diseases 38(1):62-9
- **Samelis J., Maurogenakis F. & Metaxopoulos J. (1994).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented.
- **Sanchez-Moreno C. (2002).** Méthodes d'évaluation de l'activité antiradicalaire des aliments et des systèmes biologiques. Food Sci Technol Int. 8(3):121–137.
- **Saraoui T., Leroi F., Björkroth J. & Pilet MF. (2016).** *Lactococcus piscium*: a psychrotrophic lactic acid bacterium with bioprotective or spoilage activity in food—a review. Journal of Applied Microbiology. 121(4), 907-918.

- **Schägger H, von Jagow G. (1987).** Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa Anal Biochem 166, 368- 379.
- **Shaltout AF., Hashim FM., El-nahas S. (2015).** Detection of some heavy metals in fish (Tilapia nilotica and Clarias lazera) at Menofia governorate. benha veterinary medical journal, Vol. 29, N° 1:124-128.
- **Sharma M., Nazareth I., Petersen I. (2016).** Trends in incidence, prevalence and prescribing in type 2 diabetes mellitus between 2000 and 2013 in primary care: A retrospective cohort study. BMJ Open, 6, e010210.
- **Shatwan IA., Ahmed LA. & Badkook MM. (2013)**. Effect of barley flour, crude cinnamon, and their combination on glycemia, dyslipidemia, and adipose tissue hormones in type 2 diabetic rats. J Med Food. 16: 656-662.
- **Shewry P. (2009).** Wheat. Journal of experimental botany, 60(6):1537.
- **Shivaprasad HN., Gopalakrishna S., Mariyanna B., Thekkoot M., Reddy R. & Tippeswamy BS. (2014).** Effect of Coleus forskohlii extract on cafeteria diet-induced obesity in rats. Pharmacognosy research. 6(1), 42.
- **Singh SP., Gepts P. & Debouk DG. (1991).** Races of common bean (Phaseolusvulgaris, Fabaceae). Economic Botany; 45 (3):379-396.
- **Sleper DA. & Poehlman JM. (2006).** Breeding field crops. (No. Ed. 5). Blackwell publishing.
- **Steinkraus KH. (1997)**. Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. Food Control. 8:311-317.
- **Stiles ME. & Holzapfel WH. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. International journal of food microbiology. 36 (1), 1-29.
- **Surget A. & Barron C. (2005)**. Histologie du grain de blé. Industrie des Céréales 145, 3-7
- **Surget A. & Barron C. (2005).** Histologie du grain de blé. Industries des céréales. (145), 3-7.

T

- **Tamang JP. & Kailasapathy K. (2010).** Aliments et boissons fermentés du monde . Presse CRC.
- **Tenenbaum M., Bonnefond A., Froguel P et Abberrahmani A. (2018)**. Physiopathologie du diabète, Revue Francophone des Laboratoires. (502) :26-32.

- **Thibault P. (2009).** L'obésité infantile. Expressions. (32), 49-63.
- **Thiele C., Gras S., Ganzle M. (2004).** Gluten hydrolys is and depolymerization during Sourdough fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry; 52: 1307-1314.
- **Tian K., Aldian D., & Yayota M. (2024)**. Metabolomic and morphologic surveillance reveals the impact of lactic acid-treated barley on in vitro ruminal fermentation. Animal Bioscience
- **Tilg ., Herber t., Kaser ., Arthur. (2010).** Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. The Journal of clinical investigation. Vol. 121, No 6, p. 2126-2132.
- **Trivin F. & Le Bricon T. (2003).** Nouvelles techniques d'électrophorèse : applications aux protéines et à l'ADN. Immuno-analyse & Biologie spécialisée, 18(1), 11-22.
- **Tsao R. (2010)**. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Guelph Food Research Centre, Agriculture et Agri-Food Canada. Nutriments; 2: 1231- 1246.
- **Tschop M., Weyer C., Tataranni P A., Devanarayan V., Ravussin E. & Heiman ML. (2001).** Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. Diabetes, 50(4), 707-709.
- **Tseng Chin_Hsiao (2004)**. The potential biological mechanisms of arsenic induced diabetes mellitus, Toxicology and Applied Pharmacology 197(2):67_83.

V

- **Varna A., Fiber P., Bu T. (1969).** Insulin Sensitivity of Adipose Tissue and of Diaphragm in Rats Adapted, diabetologia 5,300-303, physiology departement of the institut of Human Nutrition, Prague.
- **Vensel WH., Tanaka CK., Cai N., W1ong JH ., Buchanan BB., Hurkman WJ . (2005).** Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. Proteomics; 5:1594-1611.
- **Vergès B. (2007)**. Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. Nutrition clinique et métabolisme, 21**,** 9-16.
- **Vesela V., Maureen H., Tim G. & Cathy C. (2003).** Indicators for measuring environmental sustainability. A case study of the pharmaceutical industry. Benchmarking: An International Journal. *10*(2), 107-119.

- **Vieira da Silva B., Barreira JCM., Oliveira MBPP. (2016).** Commensal and probiotic Bacteria may prevent NEC by maturing intestinal host defenses. Trennds Food Sci Tech 50: 144-158.
- **Vierling E. (2008)**. Aliments et Boissons: Filière et Produits. Doin éditeurs.3éme édition; 277p.

W

- **Wang JB., Liu XR., Liu SQ., Mao RX., Hou C., Zhu N., Liu R., Ma HJ. & Li Y. (2019).** Hypoglycemic effects of oat oligopeptides in high-calorie diet/STZ-induced diabetic rats. Molecules. 24: 1-14.
- **Wang Y. (2020).** Short-chain fatty acids and lipid metabolism regulation. Nutrients.
- **Wang Y., Campbell T., Perry B., Beaurepaire C. & Qin L. (2011).** Hypoglycemic and insulinsensitizing effects of berberine in high-fat diet-and streptozotocin-induced diabetic rats. Metabolism. 60: 298-305.
- **Wang Z. (2024).** Impact of sourdough fermentation on nutrient transformation in cereal-based foods: Mechanisms, practical applications and health Implications.
- **Weiss RB. (1982).** Streptozotocin: a review of its pharmacology, efficacy and toxicity. Cancer Treat Rep. 66:427-438.
- **Wiederkaüer I, Braunschweig. (1860)**. JOSELEAU J.P. Les hémicelluloses. In : Les polymères végétaux. B. Monties. Ed. Gauthier-Villars, 1980, 87-121. MASKELL ...
- **Wojdylo A., Oszmianski J. and Czemerys R. (2007).** Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in 32 Selected Herbs. Food Chemistry, 105, 940-949.
- **Wolin KY., Carson K. & Colditz GA. (2010).** Obesity and cancer. The oncologist. 15(6), 556-565.
- **Wright SM. & Aronne LJ. (2012)**. Causes of obesity. Abdominal Radiology, 37(5), 730-732.
- **Wu J., Yang K., Fan H., W EI M., Xiong Q. (2023).** Targeting the gut microbiota and its metabolites for type 2 diabetes mellitus. Frontiers in Endocrinology.

X

- **Xiao JZ., Kondo S., Takahashi N., Miyaji K., Oshida K., Hiramatsu A., Iwatsuki K., Kokubo S., Hosono A. (2003).** Effets des produits laitiers fermentés par Bifidobacterium longu sur les lipides sanguins chez les rats et les volontaires mâles adultes en bonne santé. J Dairy Sci. 86 : 2452-2461.

- **Xiao JZ., Kondo S., Takahashi N., Miyaji K., Oshida K., Hiramatsu A., Iwatsuki K., Kokubo S., Hosono A. (2003).** Effets des produits laitiers fermentés par *Bifidobacterium longu* sur les lipides sanguins chez les rats et les volontaires mâles adultes en bonne santé. J Dairy Sci. 86 : 2452-2461.

Y

- **Yamashita K., Kawai K., Itakamura M. (1984).** Effet des frutooligosaccharides sur la glycémie et les lipides sériques chez les sujets diabétiques. Nutr Rés; 4 : 961-966.
- **Yang J., Li Y., Wen Z., Liu W., Meng L. (2021)**. Oscillospira –a candidate for the next generation probiotics. Gut Microbes. Vol 13, issue 1.
- **Yang Q ., Yao H ., Liu S. & Mao J . (2022)**. Interaction and application of molds and yeasts in Chinese fermented foods. Frontiers in Microbiology. 12, 664850.
- **Yan J., Liu J., Guo YL., Xu RX., Sun J., Li JJ. (2013)**. La dyslipidémie chez le rat nourri avec un régime riche en graisses n'est pas associée à la voie du récepteur PCSK9-LDL mais au vieillissement. J Geriatr Cardiol ; 10 (4) : 361-368.
- **Yao AA., Egounlety M., Kouame LP., Thonart P. (2009).** Les bactéries lactiques dans les aliments ou Boissons amylacés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest: leur utilisation actuelle. Ann1.Méd. Vét; 153: 54-65.
- **Yssaad D., Benakriche BM., Saidi D., Kheroua O. (2019)**. Évaluation de la flore bactérienne intestinale chez le rat wistar malnutris: impact de la réalimentation par un blé fermenté type Hamoum. Elsevier Masson. 33 (1) : 98.

Z

- **Zaplana T., Miele S. & Tolonen AC. (2024).** *Lachnospiraceae* are emerging industrial biocatalysts and biotherapeutics. Bioeng. Biotechnol. Section Biotechnologie industrielle. Vol 11 – 2023.
- **Zárate G., De Ambrosini VM., Chaia AP. & González S. (2002)**. Some factors affecting the adherence of probiotic *Propionibacterium acidipropionici* CRL 1198 to intestinal epithelial cells. Canadian journal of microbiology. *48*(5), 449-457.
- **Zarour K., Zeid AF., Mohedano M L., Prieto A., Kihal M. and López P.(2024)**. *Leuconostoc mesenteroides* and *Liquorilactobacillus mali* strains, isolated from Algerian food products, are producers of the postbiotic compounds dextran, oligosaccharides and mannitol. World Journal of Microbiology & Biotechnology, Vol .40.

- **Zazzo JF ., Talandier D., Brami M., Nègre V ., Thibault H., Treppoz S. & Tauber M. (2010)**. Le Programme national nutrition santé (PNNS) et système de santé. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 46(2), S48-S58.
- **Zghebi SS., Steinke DT., Carr MJ., Rutter MK., Emsley RA., Ashcroft, DM. (2017).** Examining trends in type 2 diabetes incidence, prevalence and mortality in the UK between 2004 and. Diabetes Obes. Metab. 19, 1537–1545.
- **Zhang H. & Cai Y. (2014)**. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In: Zhang, H., Cai, Y.editors. Lactic Acid Bacteria. Springer Netherlands; p.103-203.
- **Zhang XF., Qi Y., Zhang YP., Deng JL., Chen XL., Li RN. (2023).** Aliments fermentés et résultats métaboliques dans le diabète et le pré diabète : une revue systématique et une méta-analyse d'essais contrôlés randomisés. Revue critique en sciences alimentaires et en nutrition .pp1-18.
- **Zhou M., Xu X., Wang H., Yang G., Yang M., Zhao XY., Guo H., Jinlin CD., Zheng H, Ming Z., Li L. (2020).** AMPK and lipid metabolism regulation in hepatic steatosis. Metabolism. The faseb journal. Vol 34, n° 5. Pages 7058-7074.
- **Zong G., Gao A., Hu FB. & Sun Q. (2016).** Whole grain intake and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. Circulation. 133: 2370-2380.

Résumé

Ces dernières années, la médecine intégrative a suscité un intérêt croissant, notamment en ce qui concerne l'impact des régimes alimentaires spécifiques dans la prévention et le traitement des maladies métaboliques. L'Algérie, riche de son patrimoine agroalimentaire traditionnel, offre des produits locaux d'intérêt, tels que le blé fermenté de type Hamoum (BFH).

Le but fondamental de cette étude est de mettre en valeur le BFH en étudiant les effets de sa supplémentation alimentaire sur les paramètres biochimiques, histologiques et microbiologiques chez des rats Wistar mâles rendus obèses et/ou diabétiques.

Une première partie *in vitro* a permis de caractériser le blé avant et après fermentation, à travers des analyses physico-chimiques, nutritionnelles et microbiologiques.

Une seconde partie *in vivo* est conduite sur deux pathologies métaboliques : le diabète et l'obésité.
L'étude sur le diabète de type 2 est menée sur 24 rats mâles Wistar pesant 160 ± 10 g, répartis en deux lots. Les rats du premier lot ont reçu un régime alimentaire standard et ceux du deuxième, un régime hyperlipidique pendant dix semaines, suivi d'une induction du diabète par une injection intrapéritonéale de Streptozotocine (STZ) de 35 mg/kg. Les rats diabétiques sont divisés en trois groupes : un groupe témoin positif (régime hyperlipidique), un groupe diabétique soumis à un régime contenant le BNF à 45 % et un groupe diabétique soumis à un régime contenant le BFH à 45 % pendant 28 jours.

D'autre part, le protocole d'obésité est effectué sur 24 rats mâles Wistar pesant 120 ± 10 g, soumis à un régime hypercalorique de type Cafétéria pendant dix semaines afin de provoquer une obésité expérimentale. Ces animaux sont répartis en un groupe témoin négatif, un groupe témoin positif (régime cafétéria) et deux groupes traités (groupe au régime cafétéria avec 45 % de BNF, et groupe au régime cafétéria avec 45 % de BFH) pendant 28 jours.

Les analyses physicochimiques ont été très prometteuses. Le dosage du gluten, l'électrophorèse SDS-PAGE ainsi que la RP-HPLC ont montré une dégradation totale des gliadines du BFH. Ces résultats laissent à déduire que le BFH pourrait être une bonne alternative diététique ou thérapeutique pour les personnes ayant une allergie et/ou une intolérance au gluten.

Pour la prise en charge du diabète, les résultats soulignent l'importance de la nutrition dans sa gestion et suggèrent que le BFH pourrait être un ajout bénéfique aux stratégies thérapeutiques existantes. En effet, une amélioration significative des paramètres biochimiques est constatée, tels que : la glycémie, l'hémoglobine glyquée, l'insulinémie, l'urée, la créatinine, le cholestérol total, les triglycérides et les transaminases (ASAT et ALAT). L'étude microbiologique au niveau buccal, intestinal et fécal montre la présence de bactéries lactiques. L'analyse métagénomique du microbiote intestinal a confirmé la présence de bactéries lactiques de dernière génération. L'observation microscopique des différentes structures du pancréas, du foie, du tissu adipeux et des reins a montré une nette amélioration.

Pour la prise en charge de l'obésité, le poids corporel et l'adiposité des rats des groupes expérimentaux sont considérablement réduits par rapport au groupe témoin positif. Dans le groupe expérimental (BFH), les paramètres biochimiques (CRP, urée, créatinine, transaminases, cholestérol total, triglycérides, HDL et LDH) ont été significativement améliorés. L'analyse microbiologique a également permis l'observation de la présence de bactéries lactiques au niveau de la bouche, de l'intestin et des fèces. Selon l'analyse histologique, une amélioration de la structure du tissu adipeux et des reins est constatée. Par contre, aucun changement n'a été observé dans le foie. L'étude métagénomique des rats obèses confirme la diversité et la dominance de la flore bactérienne lactique bénéfique.

En conclusion, le régime à base de BFH a des effets positifs sur les différents paramètres morphologiques, anthropométriques, biochimiques, histologiques et microbiologiques liés aux pathologies métaboliques (diabète et obésité) chez les rats mâles Wistar. Selon ces résultats, il est possible que le BFH soit un aliment fonctionnel prometteur pour gérer l'obésité, le diabète de type 2 et leurs complications métaboliques.

Mots clé : Blé fermenté (BFH), Blé non fermente (BNF), Streptozotocine, Diabètes, Obésité, Microbiote, Régime Cafeteria, Rat Wistar.

Abstract

In recent years, integrative medicine has attracted growing interest, particularly with regard to the impact of specific diets on the prevention and treatment of metabolic diseases. Algeria, with its rich traditional agri-food heritage, offers interesting local products, such as Hamoum-type fermented wheat (BFH).

The fundamental objective of this study is to highlight the benefits of BFH by investigating the effects of its dietary supplementation on biochemical, histological and microbiological parameters in male Wistar rats made obese and/or diabetic.

Materials and Methods

An initial *in vitro* phase characterised the wheat before and after fermentation through physicochemical, nutritional and microbiological analyses.

A second *in vivo* part was conducted on two metabolic pathologies: diabetes and obesity. The study on type 2 diabetes was conducted on 24 male Wistar rats weighing 160 ± 10 g, divided into two groups. The rats in the first group were fed a standard diet and those in the second group were fed a high-fat diet for ten weeks, followed by induction of diabetes by intraperitoneal injection of Streptozotocin (STZ) at 35 mg/kg. The diabetic rats were divided into three groups: a positive control group (high-fat diet), a diabetic group fed a diet containing 45% BNF, and a diabetic group fed a diet containing 45% BFH for 28 days.

In addition, the obesity protocol was performed on 24 male Wistar rats weighing 120 ± 10 g, which were fed a high-calorie Cafeteria-type diet for ten weeks to induce experimental obesity. These animals were divided into a negative control group, a positive control group (cafeteria diet) and two treated groups (cafeteria diet group with 45% BNF and cafeteria diet group with 45% BFH) for 28 days.

Results

The physicochemical analyses were very promising. Gluten assay, SDS-PAGE electrophoresis and RP-HPLC showed complete degradation of BFH gliadins. These results suggest that BFH could be a good dietary or therapeutic alternative for people with gluten allergy and/or intolerance.

For the management of diabetes, the results highlight the importance of nutrition and suggest that BFH could be a beneficial addition to existing therapeutic strategies. Indeed, a significant improvement in biochemical parameters was observed, such as: blood glucose, glycated haemoglobin, insulin, urea, creatinine, total cholesterol, triglycerides and transaminases (ASAT and ALAT). Microbiological studies of the mouth, intestines and faeces showed the presence of lactic acid bacteria. Metagenomic analysis of the intestinal microbiota confirmed the presence of latest-generation lactic acid bacteria. Microscopic observation of the various structures of the pancreas, liver, adipose tissue and kidneys showed a clear improvement.

In terms of obesity management, the body weight and adiposity of the rats in the experimental groups were significantly reduced compared to the positive control group. In the experimental group (BFH), biochemical parameters (CRP, urea, creatinine, transaminases, total cholesterol, triglycerides, HDL and LDH) were significantly improved. Microbiological analysis also revealed the presence of lactic acid bacteria in the mouth, intestine and faeces. Histological analysis showed an improvement in the structure of adipose tissue and kidneys. However, no changes were observed in the liver. The metagenomic study of obese rats confirmed the diversity and dominance of beneficial lactic acid bacteria.

Conclusion

In conclusion, the BFH-based diet has positive effects on various morphological, anthropometric, biochemical, histological and microbiological parameters related to metabolic disorders (diabetes and obesity) in male Wistar rats. Based on these results, fermented wheat may be a promising functional food for managing obesity, type 2 diabetes and their metabolic complications.

Keywords: Fermented wheat (BFH), Unfermented wheat (BNF), Streptozotocin, Diabetes, Obesity, Microbiota, Cafeteria diet, Wistar rat.

ملخص

في السنوات الأخيرة، أثار الطب التكاملي اهتمامًا متزايدًا، لا سيما فيما يتعلق بتأثير الأنظمة الغذائية المحددة في الوقاية من الأمراض الأيضية وعلاجها. تتمتع الجزائر بتراث غني في مجال الأغذية التقليدية، وتقدم منتجات محلية مهمة، مثل القمح المخمر من نوع حموم.(BFH)

الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو تقييم BFH من خلال دراسة آثار تناوله كمكمل غذائي على التحاليل البيوكيميائية والنسيجية والميكروبيولوجية عند ذكور الجرذان Wistar التي أصبحت بدينة و/أو مصابة بالسكري.

المواد والأساليب

سمح الجزء الأول من الدراسة المختبرية بتحديد خصائص القمح قبل وبعد التخمير، من خلال التحاليل الفيزيائية الكيميائية, التكنولوجية والميكروبيولوجية.

أجري الجزء الثاني من الدراسة في الجسم الحي على مرضين استقلابيين: السكري والسمنة. أجريت الدراسة على السكري من النوع 2 على 24 جرذا ذكرًا من فصيلة Wistar يزن كل منها 160 ± 10 غرامًا، تم تقسيمهم إلى مجموعتين. تلقى الجرذان من المجموعة الأولى نظامًا غذائيًا عاديًا، بينما تلقى الجرذان من المجموعة الثانية نظامًا غذائيًا غني الدهون لمدة عشرة أسابيع، تلاه تحفيز السكري عن طريق حقنة داخل الصفاق من ستربتوزوتوسين (STZ) تبلغ 35 مجم/كجم. تم تقسيم الجرذان المصابة بالسكري إلى ثلاث مجموعات: مجموعة شاهد إيجابية (نظام غذائي عالي الدهون)، ومجموعة مصابة بالسكري خضعت لنظام غذائي يحتوي على 45٪ منBNF ، ومجموعة مصابة بالسكري خضعت لنظام غذائي يحتوي على 45٪ من BFH لمدة 28 يومًا.

من ناحية أخرى، تم تنفيذ بروتوكول السمنة على 24 جرذاً ذكراً من فصيلة Wistar يزن كل منها 120 ± 10 غرام، خضعوا لنظام غذائي عالي السعرات الحرارية من نوع الكافيتريا لمدة 10 أسابيع من أجل إحداث سمنة تجريبية. تم تقسيم هذه الحيوانات إلى مجموعة شاهد سلبية، ومجموعة شاهد إيجابية (نظام غذائي من نوع الكافيتريا) ومجموعتين معالجتين) مجموعة تتبع نظام غذائي من نوع الكافيتريا مع 45٪ منBNF ، ومجموعة تتبع نظام غذائي من نوع الكافيتريا مع 45٪ من (BFH لمدة 28 يومًا.

النتائج

كانت التحليلات الفيزيو الكيميائية واعدة للغاية. أظهر قياس الغلوتين SDS-PAGEو RP-HPLC تحللًا كاملًا للغليادين في .BFH تشير هذه النتائج إلى أن BFH قد يكون بديلاً غذائيًا أو علاجيًا جيدًا للأشخاص الذين يعانون من حساسية و/أو عدم تحمل الغلوتين.

بالنسبة لعلاج مرض السكري، تؤكد النتائج على أهمية التغذية في إدارته وتشير إلى أن BFH يمكن أن يكون إضافة مفيدة للاستراتيجيات العلاجية الحالية. في الواقع، لوحظ تحسن كبير في التحاليل البيوكيميائية، مثل: نسبة السكر في الدم، والهيموجلوبين السكري، والأنسولين، واليوريا، والكرياتينين، والكوليسترول الكلي، والدهون الثلاثية، والترانساميناسات ASAT) و ALAT) . أظهرت الدراسة الميكروبيولوجية على مستوى الفم والأمعاء والبراز وجود بكتيريا لاكتية. وأكدت التحليلات الميتاجينومية للميكروبيوتا المعوية وجود بكتيريا لاكتية من الجيل الأخير. أظهرت المراقبة الميكروسكوبية للهياكل المختلفة للبنكرياس والكبد والأنسجة الدهنية والكلى تحسنًا واضحًا.

بالنسبة لعلاج السمنة، انخفض وزن الجسم والدهون لدى الجرذان في المجموعات التجريبية بشكل كبير مقارنة +T. في المجموعة التجريبية(BFH) ، تحسنت التحاليل البيوكيميائية (CRP ، اليوريا، الكرياتينين، الترانساميناسات، الكوليسترول الكلي، الدهون الثلاثية، HDLو LDH) بشكل ملحوظ. كما سمح التحليل الميكروبيولوجي بملاحظة وجود بكتيريا الحليب في الفم والأمعاء والبراز. وفقًا للتحليل النسيجي، لوحظ تحسن في بنية الأنسجة الدهنية والكلى. في المقابل، لم يلاحظ أي تغيير في الكبد. تؤكد الدراسة الميتاجينومية للجرذان البدينة تنوع وهيمنة بكتيريا الحليب المفيدة.

في الختام، فإن النظام الغذائي القائم على BFH له آثار إيجابية على مختلف التحاليل المورفولوجية والأنثروبومترية والكيميائية الحيوية والنسيجية والميكروبيولوجية المرتبطة بالأمراض الأيضية (السكري والسمنة) لدى ذكور الجرذان .Wistar وفقًا لهذه النتائج، من الممكن أن يكون BFH غذاءً وظيفيًا واعدًا لإدارة السمنة والسكري من النوع 2 ومضاعفاتهما الأيضية.

الكلمات المفتاحية: القمح المخمر (BFH)، القمح غير المخمر (BNF)، ستربتوزوتوسين، السكري، السمنة، الميكروبيوتا، نظام كافيتريا، جرذ Wistar.

Bulletin of the *Transilvania* University of Brasov
Series II: Forestry • Wood Industry • Agricultural Food Engineering • Vol. 17(66) No. 1 – 2024
https://doi.org/10.31926/but.fwiafe.2024.17.66.1.9

THE GLIADIN ANALYSIS BY REVERSED-PHASE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY OF TRADITIONAL FERMENTED "*HAMOUM*" WHEAT IN WEST ALGERIA

Amier LEILA[1] Benakriche BENMEHEL[1]
Bouferkas YOUCEF[1,2] Bestani BENAOUDA[3]
Addou SAMIA[2]

Abstract: *Our ancestors had always used food fermentation without having a scientific explanation. Their natural phenomena with therapeutic potential became interesting only in the early twentieth century. A comparative study between the electrophoretic profiles of wheat proteins of fermented wheat type Hamoum (FWH) and regular unfermented wheat (NUW) was performed to identify the effect of fermentation realized by the traditional technique using underground storage (locally named Matmora) for 12 months. SDS-PAGE electrophoresis was performed after the sequential extraction of different proteins (albumins/globulins, gliadins and glutenins). The results showed a total degradation of the regular wheat proteins after fermentation. Fermented wheat type Hamoum (FWH) could be a good alternative for people with disorders related to gluten ingestion as compared to regular unfermented wheat (NUW).*

Key words: *FHW, fermentation; albumin; globulin; gliadins; SDS-PAGE; RP-HPLC.*

1. Introduction

Wheat is considered worldwide to be the most consumed foodstuff after rice. It provides about 15% of human energy needs, hence the importance of its storage to ensure its annual consumption [6, 25].

[1] Laboratoire de Physiologie Animale Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie, Université Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem, Algeria;
[2] Laboratoire de Physiologie de la Nutrition et de la Sécurité Alimentaire, Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algeria;
[3] Laboratoire de Structure, Elaboration at Application des Matériaux Moléculaires (SEA2M), Faculté des Sciences et de la Technologie, Université Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem, Algeria;
Correspondance: Bestani Benaouda, email: bestanib@yahoo.fr.

In Algerian rural areas, wheat is stored in underground granaries locally called "Matmora". It is highly appreciated for its organoleptic and especially medicinal properties due essentially to the action of fermentation by the endogenous lactic bacterial flora and to the underground conditions [13, 18, 19]. During the storage period, the wheat ferments in the outer layer, which is in close contact with the soil. Soil flora and fauna contribute to the emergence of lactic acid bacteria during the wheat fermentation process [2]. Regular consumption of fermented food may have beneficial effects on body weight regulation and certain metabolic functions through several mechanisms [12]. Fermented wheat has previously been used as an alternative therapy for several intestinal complications, inflammatory and metabolic pathophysiological problems [15, 23]. The lactic microbial flora obtained during FWH fermentation (fermented Hamoum-type wheat) could benefit the digestive system in certain pathophysiological situations. Recent works have shown that FWHcontributes to the mucosal barrier restructuring during intestinal bacterial translocation [1], and also a restructuring of intestinal morphometry induced by specific protein malnutrition for an improvement of the volatile fatty acids' synthesis, which is an energy source for colonic cells and the regulation of the physiology of the gastrointestinal tract in malnourished rats [29].

This work aims to evaluate the electrophoretic and chromatographic profile of albumin/globulin and gliadin issued from FWH compared to regular unfermented wheat (NUW) by the SDS-PAGE electrophoresis and reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) techniques. Also, by studying different protein fractions of fermented and non-fermented wheat. These fractions are involved in pathophysiological cases such as celiac disease (gluten intolerance), wheat protein allergy and non-celiac gluten sensitization [3, 17]. Therefore, finding a solution to these problems is always a wise choice regarding the nutritional and therapeutic value of natural food products like FWH.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material

Two types of common wheat (*Tritichum aestivium*) were sampled under aseptic conditions in the west of Algeria in June 2021 after one year's storage: fermented Hamoum type wheat (FHW) and unfermented wheat (NUW). After a year's storage in a natural granary away from vegetation and water run-off, the fermented wheat was taken from the peripheral zone of the granary (Matmora) in contact with the soil. The NUW was taken from the central spot.

2.2. Macroscopic Study

For the macroscopic study, an organoleptic test (generally, taste and smell) concerning visual macroscopic parameters such as the size and the color was carried out using a binocular magnifying glass.

2.3. Sequential Extraction of Albumin/Globulin, Gliadin and Glutenin Fractions

A protein extraction from FHW and NUW samples was performed from wheat

grain flour obtained after milling and collected in sterile tubes. The technique was based on the difference in solubility of the three main classes of wheat proteins.

Albumin and globulin were extracted in a NaCl phosphate buffer according to the protocol described by Kheroua et al. [13], while gliadins and glutenins precipitated. The latter were extracted according to the protocol proposed by Singh et atl. [25] with an alcoholic solubilization for gliadins and solubilization in the presence of acetic acid and a reducing agent, i.e. Dithiothreitol (DTT), for glutenin subunits [25].

2.4. The Sequential Extraction of Gliadin Fractions

1.0 g of flour was put for solubilisation in a phosphate/Nacl buffer solution at pH 7.8, under agitation at 4°C for 2 h, then centrifuged at 8000 rpm for 15 min; the supernatant was dialysed, frozen and freeze-dried.

The pellet was then suspended in a 70% ethanol solution to extract the gliadins and centrifuged at 12,000 rpm for 20 min at room temperature. The supernatant was dialyzed, frozen and lyophilized.

2.5. SDS-PAGE Electrophoresis

Sample preparation for electrophoresis involves adding a sample buffer (bromphenol blue) to the lyophilisates. A volume of 20 µL is added to each well. Proteins are separated into gels containing 10% acrylamide for gliadins and 15% acrylamide for albumin/globulins. After migration, the gels are stained with a staining solution of Coomassie Blue R250 and then bleached [21, 27].

2.5. Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

A reverse-phase chromatography separation was carried out to verify the presence of gliadins from NUW and FHW. The analysis used a C18 analytical column (250 mm x 4.5 mm internal diameter, 5 µm particle size).

The samples were mixed in eluent A. The flow rate was 1 mL/min, and the sample volume injected into the column was 20 µL. A linear elution gradient was applied using two mobile eluents: eluent A containing 0.1% trifluoroacetic acid (TFA) (v/v) in ultrapure water and eluent B containing 0.1% trifluoroacetic acid (TFA) (v/v) and acetonitrile. The gradient applied was 20-60% eluent B for 70 min. The temperature during separation was 60°C. Optical density was recorded at 214 nm.

3. Results and Discussion

3.1 Macroscopic Analysis

Macroscopically, FHW grains are oval, more or less elongated, 6 to 8 mm long and 2 to 3 mm wide. They have a strong, slightly acidic odour. These observations are consistent with the work of Feillet [8]. Morphological parameters depend on grain development conditions. The FHW sample was metadined/ metallic color (slightly brown) with a non-vitreous appearance.

Compared with NUW, the dark brown or even blackish discoloration may be caused by the microbiome of FHW, as storage conditions may lead to a darkening of the wheat germ [11].

Recent work on the endogenous flora of FHW has shown that it contains lactic acid

bacterial flora such as *Lactobacillus plantarum* and yeasts such as *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces pasturianus*which which are beneficial for digestive health [2], as well as *Lactococcus lactis* LLGKC18 having an important proteolytic power because it is capable of cleaving a certain number of gliadin epitopes responsible for wheat allergy by its proteolytic action [7].

3.2. Biochemical Analysis

The different electrophoretic profiles corresponding to the different fractions of wheat proteins (albumins/globulins and gliadins) are revealed by the SDS-PAGE electrophoretic technique. The FHW results show the presence of polypeptide fragments of albumins/globulins and gliadins that are very distinct and different from those of the NUW.

Electrophoresis shows that NUW contains different albumin/globulin fractions, unlike FHW. The latter has undergone total degradation, explained by its fermentation of endogenous bacterial and fungal flora [5]. According to the study by Thiele et al. [26], albumin is 83.4% degraded [22]. This difference in degradation can be explained by the duration of fermentation, which may involve one or more fermentation stages ranging from a few hours to several months, depending on the nature of the wheat and the bacterial species [22]. However, the balance of the total endogenous bacterial flora presented in wheat grains can be affected by numerous factors, influencing the development of certain bacteria, yeasts and moulds responsible for the spontaneous fermentation of the grains [28].

The microorganisms' hydrolysis of proteins into polypeptides and amino acids occurs very slowly under storage conditions [18]. Most microbial proteases are specific. They act on both proteins and oligopeptides and are generally exocellular enzymes [9] (Figure 1).

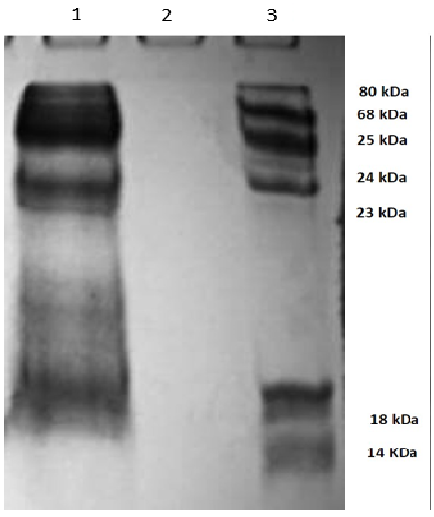


Fig. 1. *Electrophoresis on polyacrylamide gel (15%) in the presence of SDS of albumin/globulin with β-mercaptoethanol:* 1- NUW with β-mercaptoethanol; 2- FHW with β-mercaptoethanol; 3- Protein kit with β-mercaptoethanol

Electrophoresis on a 10% SDS-PAGE gel also showed an almost total degradation of gliadins, which are soluble proteins in dilute ethanol solutions and have a molecular weight of 30-80 kDa. Gourchala et al. [10] showed that the degradation of gliadins was 57.3%, partly explaining the depolymerisation of gluten [9] (Figure 2).

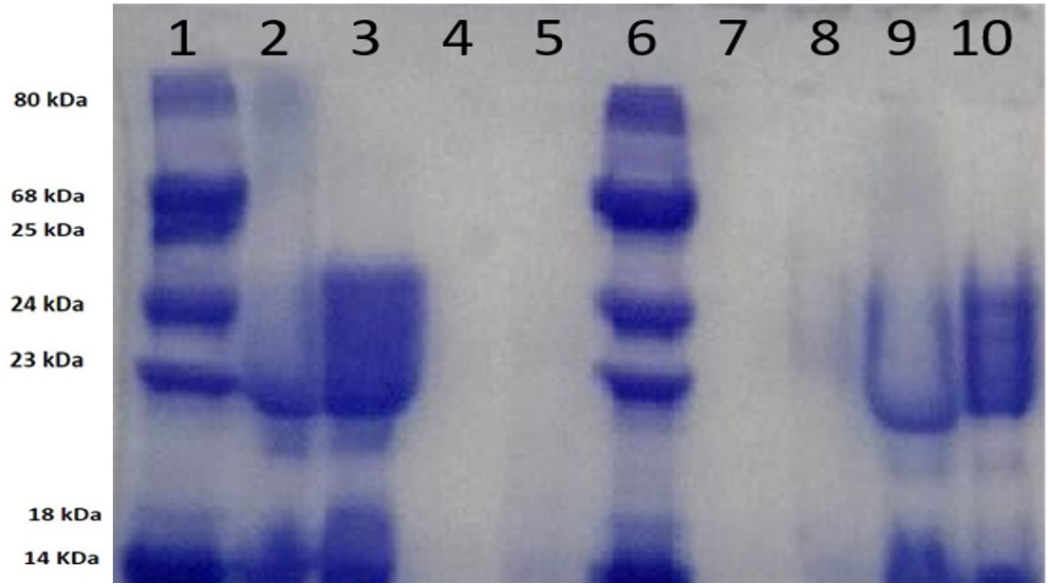


Fig. 2. *Polyacrylamide gel electrophoresis (10%) in the presence of SDS of gliadins in the presence and absence of β-mercaptoethanol: 1. Protein kit without β-mercaptoethanol (80 – 14 kDa); 2. NUW without β-mercaptoethanol; 3. NUW with β-mercaptoethanol; 4. FHW without β-mercaptoethanol; 5. FHW with β-mercaptoethanol; 6. Protein kit with β-mercaptoethanol (Lactoferrin 80 kDa, SAB 68 kDa, Ovalbumin 45 kDa, Caseins 19-25 kDa, β -Lactoglobulin 18 kDa, α-Lactalbumin 14 kDa); 7. NUW without β-mercaptoethanol; 8. NUW with β-mercaptoethanol; 9. FHW without β-mercaptoethanol; 10. FHW with β-mercaptoethanol*

Gourchala et al. [10] showed that the degradation of glutenins was 20%, which partly explains the depolymerisation of gluten [9]. This was contrary to our obtained results, which showed 100% gluten degradation, which reflects the good biochemical and, in this case, the nutritional quality of the FHW. This could be explained by the nature of the wheat, the storage period, the seed, the climate and the soil (biotope). Its richness in mineral elements and the diversity of the endogenous lactic bacterial flora and yeasts are beneficial to the health of the digestive system [22].

Previous studies from the literature [4, 16] showed that fermentation, due to the action of bacteria and fungi, is responsible for changes in the biochemical composition and nutritional value of wheat during storage [4]. FHW has an acid pH, is rich in water, ash, reduced sugars and total polyphenols, and is lower in

lipids, total sugars, fiber and protein than unfermented NUW wheat.

3.3. Chromatographic Profiles by RP-HPLC

Reverse-phase high-performance liquid chromatography provides excellent separations of gliadin polypeptides based on surface hydrophobicity differences.

This technique separates proteins based on hydrophobic forces between amino acids on the surface of polypeptides and apolar chromatographic supports under specific elution conditions. The chromatographic profiles of native gliadins and those of FHW and NUW are shown in Figures 3 and 4.

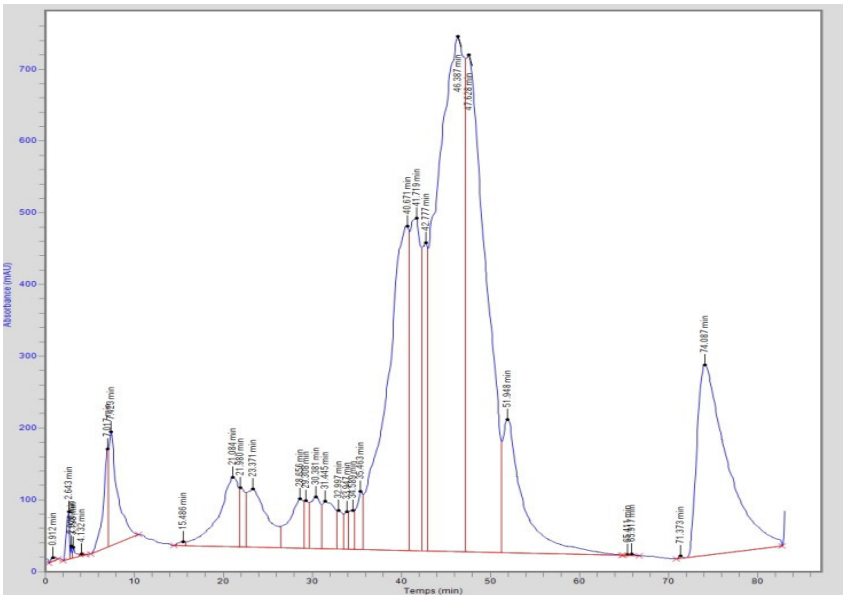


Fig. 3. *Chromatographic profiles of native gliadins by RP-HPLC*

We observe from these figures that the chromatographic profile of native gliadins is represented by several peaks, which can be divided into two major groups according to their retention time and interaction with the stationary phase support. The ω-gliadins are the polypeptides matched first on the chromatogram at a retention time ranging between 20 and 26 min, which is explained by their low hydrophobicity.

The mixture of α, β and γ-gliadins emerges after the ω-gliadins between a retention time of 28 and 54 min. The peak area is more significant than that of the ω-gliadins, which leads us to say that the interaction between the protein and the support is higher (a high degree of hydrophobicity).

The chromatographic profile of FHW compared with NUW shows an almost total degradation of these fractions and the disappearance of the gliadin peaks (20-54 min), which is explained by the degradation of gliadin by the endogenous bacterial flora rich in lactic acid bacteria present in FHW [2, 19, 20]. According to El Mecherfi et al. [7], **the RP-HPLC analysis of gliadins after fermentation** by *Lactococcus lactis* LLGKC18 revealed that

this strain hydrolyzed more than 90% of the gliadins. This is confirmed by the electrophoretic profile by both SDS PAGE and RP-HPLC. Cross-tabulating the results obtained by electrophoresis and the profiles obtained by HPLC; we conclude that gliadins are almost absent in FHW as compared to NUW [3].

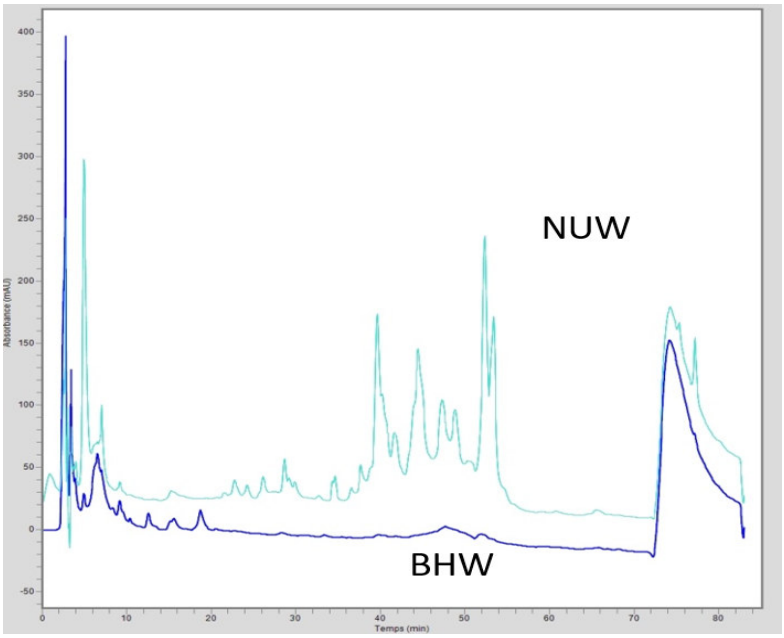


Fig. 4. *Chromatographic profiles of FHW and NUW by RP-HPLC*

4. Conclusion

This study aimed to compare the biochemical composition and nutritional value of two soft wheat samples before and after fermentation under traditional Matmora underground storage conditions for 12 months in western Algeria. Very little work has been done on FHW throughout the literature survey, which gave an idea on how to carry out this issue to determine the influence of fermentation by endogenous flora (lactic acid bacteria, yeasts and fungi) on the biochemical modification of soft wheat proteins.

The results obtained by SDS-PAGE gel electrophoresis for the different protein fractions after sequential extraction showed total degradation. This difference between FHW and NUW is due to fermentation, which partially or totally degrades wheat proteins, sugars, etc.

By cross-referencing the results obtained by electrophoresis and the profiles obtained by HPLC, we conclude that gliadins are virtually absent in FHW as compared with NUW.

FHW can be considered a dietary and medicinal product for people with diabetes, gluten allergy and intolerance.

References

1. Ben Mehel, B., Bousbahi, S., Gérard, P., 2019. Impact nutritionnel d'un blé fermenté type Hamoum sur la translocation bactérienne intestinale

chez le rat malnutri en phase de réalimentation. In: Nutrition Clinique et Metabolisme, vol. 33(1), ID article 102. DOI: 10.1016/j.nupar.2019.01.416.
2. Benackriche, B.M., Benabdelmoumen, D., Mortet, A., 2016. Lactic acid bacteria diversity in the fermented wheat Hamoum in west Algeria. In: Pakistan Journal of Nutrition, vol. 15(7), pp. 639-648. DOI: 10.3923/pjn.2016.639.648.
3. Bouferkas, Y., Haddi, A., Mehedi, N. et al., 2019. Enzymatic treatment of gliadins triggers anaphylactic reaction in a murine model of wheat allergy in vivo and ex vivo study. In: Bioscience Research, vol. 16(2), pp.1377-1390.
4. Doukani, K., Tabak, S., Gourchala, F. et al., 2009. Caractérisation physico-chimique du blé fermenté par stockage souterrain (Matmora). In: Revue Ecologie-Environnement, vol. 9, pp. 1112-5888.
5. Doumandji, A., Doumandji Mitiche, B., Salaheddine, D., 2003. Cours de technologie des céréales: technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stock. Office des Publications Universitaires Publishing House, Alger, Algeria, 67 p.
6. Druveforsd, U.Ä., 2004. Yeast bio control of grain spoilage moulds mode of action of *Pichia anomala*. PhD thesis. Université des Sciences Agronomiques, Uppsala, Sweden.
7. El Mecherfi, K.E., Lupi, R., De Albuquerque, M. et al., 2021. *Lactococcus lactis* LLGCK18: une bactérie lactique qui réduit l'antigénicité et l'allergénicité du gluten. In: Nutrition Clinique et Métabolisme, vol. 35(1), ID article 63. DOI: 10.1016/j.nupar.2021.01.088.
8. Feillet, P., 2000. Le grain de blé: Composition et Utilization. In: INRA. Paris, France.
9. Gourchala, F., Hobamahoro, A.F., Mihoub, F. et al., 2014. Effect of natural fermentation on the nutritional quality of "elhammoum" durum wheat (*Triticum durum*) fermented product of the Algerian country. In: International Journal of Bio-Technology and Research, vol. 4(4), pp. 9-18.
10. Guiraud, J.P., 2003. Microbiologie alimentaire. Série agro-alimentaire. Dunod Publishing House, Paris, France, 651 p.
11. Heredia, N., Wesley, I., García, S., 2009. Microbiologically safe foods. John Wiley and Sons Publication, New Jersey, U.S.A., 704 p.
12. Jalili, M., Nazari, M., Magkos, F., 2023. Fermented foods in the management of obesity: Mechanisms of action and future challenges. In: International Journal of Molecular Sciences, vol. 24(3), ID article 2665. DOI: 10.3390/ijms24032665.
13. Kheroua, O., Marion, D., Mukerji, T. et al., 1994. Scale effects on velocity dispersion: From ray to effective medium theories in stratified media. In: Geophysics, vol. 59(10), pp. 1613-1619. DOI: 10.1190/1.1443550.
14. Kohajdova, Z., Karovicova, J., 2007. Fermentation of cereals for specific purpose. In: Journal of Food and Nutritional Research, vol. 46(2), pp. 51-57.
15. Meresse, B., Malamut, G., Cerf-Bensussan, N., 2012. Celiac disease: an immunological jigsaw. In: Immunity Review, vol. 36(6), pp. 907-919. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.06.006.

16. Mokhtari, S., Taghouti, M., Saidi, D. et al., 2020. Traditional algerian fermented food: first data on nutritional characteristics of wheat (*Triticum durum*) fermented in underground silos Matmor (MASCARA-ALGERIA) compared to unfermented wheat. In: Advances in Biology and Earth Sciences, vol. 5(3), pp. 176-192.
17. Moussa, L., Bézirard, V., Salvador-Cartier, C. et al., 2012. A low dose of fermented soy germ alleviates gut barrier injury, hyperalgesia and faecal protease activity in a rat model of inflammatory bowel disease. In: PLoS One, vol. 7(11). ID article e49547. DOI: 10.1371/journal.pone.0049547.
18. Multon, J.L., 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés: céréales, protéagineux; oléagineux, aliment pour animaux. Lavoisier Publishing House, Paris, France.
19. Nout, M.J.R., 2009. Rich nutrition from the poorest-cereal fermentations in Africa and Asia. In: Food Microbiology, vol. 26(7), pp. 685-692. DOI: 10.1016/j.fm.2009.07.002.
20. Paul Ross, R., Morgan, S., Hill, C., 2002. Preservation and fermentation: present and future. In: International Journal of Food Microbiology, vol. 9(1-2), pp. 3-16. DOI: 10.1016/s0168-1605(02)00174-5.
21. Payne, P.I., Lawrence, G.J., 1983. Catalogues of alleles for the complex gene loci, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high molecular subunits of glutenin in hexaploids wheat. In: Cereal Research Communications, vol. 11(1), pp. 29-35.
22. Prückler, M., Cindy, L., Akihito, E. et al., 2015. Comparison of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread. In: Food Microbiology, vol. 49 pp. 211-219. DOI: 10.1016/j.fm.2015.02.014.
23. Ryan, E.P., Heuberger, A.L., Weir, T.L. et al., 2011. Rice bran fermented with *Saccharomyces oulardii* generates novel metabolite profiles with bioactivity. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 5(59), pp. 1862-1870. DOI: 10.1021/jf1038103.
24. Scholten, R.H.J., Rijnen, M.M.J.A., Schrama, J.W. et al., 2001. Fermentation of liquid coproducts and liquid compound diets, part 1, Effects on chemical composition during a 6-day storage period. In: Journal Animal Physiology and Animal Nutrition, vol. 85(5-6), pp. 111-123. DOI: 10.1046/j.1439-0396.2001.00309.x.
25. Singh, S.P., Gepts, P., Debouk, D.G., 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). In: Economic Botany, vol. 45(3), pp. 379-396. DOI: 10.1007/BF02887079.
26. Thiele, C., Gras, S., Ganzle, M., 2004. Gluten hydrolysis and depolymerization during Sourdough fermentation. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 52(5), pp. 1307-1314. DOI: 10.1021/jf034470z.
27. Vallega, V., Waines, J.G., 1987. High molecular weight glutenin subunit variation in *Triticum turgidum* var. *dicoccum*. In: Theoretical and Applied Genetics, vol. 74(6), pp. 706-710. DOI: 10.1007/BF00247545.
28. Yao, A.A., Egounlety, M., Kouame, L.P., et al., 2009. Les bactéries lactiques dans lesaliments ou Boissons amylacés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest: leur utilisation actuelle. In: Annales de

Médecine Vétérinaire, vol. 153, pp. 54-65.

29. Yssaad, D., Benakriche, B.M., Gérard, P. et al., 2020. Fermented wheat hamoum improves the recovery of intestinal mucosal and the short-chain fatty acids profile of colonic bacterial flora in malnourished rats. In: Bioscience Research, vol. 17(2), pp. 1166-1175.