

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

- KALAKHI KHOULOU
- KAOUBA HAYET

Thème

Prévalence de contamination des feuilles
séchées commercialisées de l'Armoise par des
moisissures mycotoxinogènes

Soutenu le 29/06/2020

Jury :

Grade

Présidente : Mlle. HAOUZI R.

« MAA »

Encadrant : Mr. YEZLI W.

« MCA »

Co-encadrant : Mr. MANSOURI D.

« MCB »

Examineur : Mr. HOCINE L.

« MCA »

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à **Dieu** qui nous a donné le courage et la volonté d'achever ce travail*

*Nous tenons à remercier **Dr.YEZLI. Wassim**, le rapporteur de ce mémoire, pour avoir encadré ce travail. nous tenons à le remercier pour son aide précieuse, son objectivité, sa disponibilité, et ses précieux conseils qui ont fait progresser ce travail. Il nos est aussi d'un agréable devoir de vous adresser un grand merci pour la sympathie, la confiance et la liberté d'action dont nos avons bénéficié tout au long de ce mémoire.*

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adressent à notre co-encadreur

***Dr. MANSOURI D.**d'avoir accepté de co-diriger ce travail*

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres de jury

***Mlle.HAOUZI R.**,pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury.*

*Un remerciement spécial à notre responsable de spécialité **Dr. HOUCINE Laredj**, pour sa disponibilité et sa sympathie.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de Microbiologie **Mlles SORAIA, FOUZIA**, pour leur gentillesse et serviabilité.*

Nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Du profond de mon cœur , je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

A Ma chère mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect ,mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours . Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés ,le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieux ,le très HAUT ,vous accorder santé ,bonheur et longue vie.

A Mon cher père

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude, mon amour, ma reconnaissance. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Qu'Allah, le tout miséricordieux, te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal

A mes très chers frères Khaled et El Hadi ,et mes très chères sœurs Nour elhouda et Fedwa

Merci de m'avoir accompagné pendant toute ma vie, d'être toujours là pour moi et de m'avoir supporté. Je vous aime tous. Qu'Allah le tout puissant, vous protège et vous exhausse tous vos vœux.

A La femme de mon frère Zahira

A mes nièces Sirine et Maria

A tous les membres de la famille Kalakhi et Brahimi

A mon binôme et très chère amie KAOUBA HAYET

En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs que nous avons passés ensemble, je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

À mes très chères amies

Chahra zed, Kamar, Fadhila ,Hayet .

Khouloud

Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que je dédie ce mémoire à :

A Ma tendre Mère : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A Mon très cher Père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

*A mes adorables soeurs : **Fadila ,Aicha** pour leur soutien moral et leur sacrifices tout au long de ma formation*

*A mes chers frères :**Mohamed amine ,Faycel** pour leur encouragement indéfectible.*

*A mes neveux :**Adem , Rayane***

*A mon binôme et très chère amie « **Khouloud Kalakhi** » pour les moments les merveilleux qu'ils étaient inoubliables et à toute sa famille*

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université: **Souad , Kamar, Hayet***

Hayet

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	iii
INTRODUCTION	

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur l'armoise	4
I.1.1. Description botanique.....	4
I.1.2. Histoire d'utilisation.....	4
I.1.3. Caractéristiques de l'armoise.....	5
I.1.4. Habitat.....	5
I.1.5. Propriétés de l'armoise.....	5
I.1.6. Usage de l'armoise.....	5
I.1.6.1. Usage culinaire.....	5
I.1.6.2. Usages traditionnels et médicaux.....	5
I.2. Généralités sur les mycotoxines.....	6
I.2.1. Définition.....	6
I.2.2. Principales moisissures mycotoxinogènes.....	6
I.2.2. Facteurs de développement des moisissures.....	6
I.2.2.1. Facteurs physicochimiques.....	6

A- Température.....	6
B- Composition de l'atmosphère gazeuse.....	6
C- Teneur en eau	7
D- pH.....	7
I.2.2.2. Facteurs biologiques	7
I.2.3. Principales mycotoxines.....	7
I.2.4. Principaux effets des mycotoxines sur l'Homme.....	8

CHAPITRE II : MATÉRIEL & MÉTHODES

II.1. Objectif du travail.....	10
II.2. Date et lieu de travail.....	10
II.3. Matériel et produits utilisés.....	10
II.3.1. Matériel biologique.....	10
II.3.2. Milieux de culture	11
II.3.3. Autre matériel	11
II.4. Protocole expérimental.....	12
II.4.1. Échantillonnagedes feuilles d'armoise.....	13
II.4.2. Isolement des champignons à partir des feuilles d'armoise.....	13
II.4.3. Repiquage des isolats	13
II.4.4. Purification des isolats	14
II.4.5. Identification des isolats fongiques.....	14
II.4.5.1. Identification macroscopique.....	14

II.4.5.2. Identification microscopique.....	14
II.4.6. Déroulement de l'enquête.....	16
II.4.6.1. Questionnaire commerçants.....	16
II.4.6.2. Questionnaire consommateur.....	16
II.4.7 Analyses statistiques	16

CHAPITRE III : RÉSULTATS & DISCUSSION

III.1. Isolement des champignons à partir des feuilles d'armoise.....	17
III.2. Identification des isolats fongique	18
III.2.1. Identification macroscopique	18
III.2.2. Identification microscopique.....	21
III.2.3. Enquête commerçants.....	21
III.2.4. Enquête consommateurs	25
III.5. Discussion générale.....	29
Conclusion.....	32
Références bibliographiques.....	34
Annexes.....	40

Liste des Tableaux

Tableau n° 01 :	Différentes mycotoxines rencontrées dans les aliments	8
Tableau n° 02 :	Effets probables des principales mycotoxines sur l'Homme	9
Tableau n° 03 :	La verrerie et l'appareillage utilisés dans notre travail	11
Tableau n° 04 :	Examen macroscopique des moisissures sur le milieu PDA et leur répartition sur les différentes localités	18
Tableau n° 05 :	Pourcentage de la population isolée des feuilles d'armoise séchées et commercialisés dans la région de Tiaret	44
Tableau n° 06 :	Analyse de variance de la population fongique isolée des feuilles d'armoise séchées et commercialisées dans la région de Tiaret	44
Tableau n° 07 :	Recueil de réponses des vendeurs	45

Liste des figures

Figure n° 01 :	Échantillons feuilles séchées et commercialisés d'armoises	10
Figure n° 02 :	Schéma du protocole expérimental	12
Figure n° 03 :	Isolement des moisissures à partir des feuilles d'armoise sur milieu PDA	13
Figure n° 04 :	Schéma des étapes de la purification des moisissures par culture monospore	15
Figure n° 05 :	Pourcentage de la population fongique isolée à partir des feuilles d'armoise dans dix (10) régions de Tiaret	17
Figure n° 06 :	Aspect macroscopique des moisissures à partir de la feuille d'armoise sur milieu PDA	17
Figure n° 07 :	Prix et source de l'armoise vendue dans les dix localités de Tiaret	23
Figure n° 08 :	Répartition de la durée moyenne de stockage et de la fréquence de rotation du produit dans les dix localités de Tiaret	23
Figure n° 09 :	Matière de fabrication des contenants d'armoise, température, ensoleillement des différents magasins des dix localités de Tiaret et quantité généralement achetée	24
Figure n° 10 :	Tranches d'âge et catégories socioprofessionnelles interrogées	26
Figure n° 11 :	Représentation des réponses fournies par les consommateurs	28

Liste des abréviations

ATB :Antibiotique

PDA :Potato Dextrose Agar

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

INTRODUCTION

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération à une autre, ils ont transmis leurs savoirs et leurs expériences simples en s'efforçant quand ils le pouvaient de les consigner par écrit. Ainsi, même actuellement, et malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti et al., 2003). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (Quyoun et al., 2003).

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia herba alba*. Cette plante largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée...etc. a constitué le sujet de plusieurs études qui ont déterminé leurs compositions chimiques (De Pascual et al., 1984 ; Rauter et al., 1998 ; Bermejo, J. B., 1998 ; Akrouf et al., 2001), ainsi que les propriétés biologiques (Memmi et al., 2007 ; Sefi et al., 2010 ; Akrouf et al., 2011).

De nombreuses moisissures, sont capables de contaminer cette plante, et au cours de leur développement, elles produisent des substances toxiques. Ces substances sont des métabolites synthétisés par les champignons eux-mêmes, appelés mycotoxines. Les mycotoxines peuvent être produites par des champignons croissant sur les plantes avant la récolte, par des espèces polluant les grains au moment de la récolte, ainsi que pendant le stockage, en raison de mauvaises conditions de conservation (Champion, 1997).

Il existe plusieurs de ces moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* ayant une capacité de produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier et al., 1998 ; Doyle et al., 2020 ; Meyer et al., 1984). Les moisissures réduisant la valeur nutritionnelle, diminuent la qualité technologique et modifiant l'aspect organoleptique (Challouf, 2012).

C'est dans cette perspective, qu'on a opté pour la recherche des moisissures mycotoxinogènes dans les feuilles d'armoise commercialisées dans différentes régions de la wilaya de Tiaret, ainsi que la réalisation d'enquêtes dans le but d'expliquer la

prévalence et contribuer à la réduction de la contamination des plantes aromatiques et médicinales par des moisissures mycotoxinogènes, ainsi des mycotoxines.

Chapitre I :

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur l'armoise

I.1.1. Description botanique

L'armoise blanche « d'*Artemisia herba-alba* » est une plante ligneuse basse. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides. Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau (Ourcival, 1992).

Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'armoise blanche est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies (Le Floc'h, E., 1989).

Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire (Floret et Pontannier, 1982).

Evenari et al. (1978), ont rapporté que chez les plantes âgées d'*Artemisia herba-alba*, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière (Schulze, E et al., 1980).

La floraison de cette espèce débute le plus souvent en mois de Juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été. Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'armoise blanche présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé (Nabli, 1989).

I.1.2. Histoire d'utilisation

Les premières utilisations de l'armoise remontent à l'antiquité. Cette plante herbacée, originaire des régions tempérées comme l'Europe, l'Amérique du Nord et l'Asie, a été à l'époque associée à la femme et à ses problèmes de santé. C'est la raison pour laquelle on l'a baptisée « Artémise », terme dérivé du nom de la déesse Artémis. Ses propriétés médicinales sont en effet similaires aux actions bénéfiques apportées par cette divinité grecque, comme la facilitation de l'accouchement, le soulagement des femmes ayant des règles douloureuses et la régularisation du cycle menstruel. En Orient, dans certains pays asiatiques comme la Chine, cette plante est utilisée en moxibustion (technique de stimulation par la chaleur de points d'acupuncture) pour apaiser les douleurs et cautériser les lésions. De nos jours, cette médication est surtout recommandée pour stimuler l'appétit, guérir les différentes affections

touchant l'appareil respiratoire et l'appareil digestif ;ainsi que pour favoriser la circulation veineuse(**Anonyme,2020**).

I.1.3. Caractéristiques de l'armoise

C'est une plantevivace aromatique pouvant mesurant jusqu'à 1,5m, à feuilles alternes pennées, de couleur vert foncé sur le dessus, mais entièrement blanches et cotonneuses en dessus. Les petits capitules floraux rouges ou jaunes sont groupés en panicules(**Mauguière,2007**).

I.1.4. Habitat

L'Armoise est largement répandue depuis les îles Canaries et le Sud-est de l'Espagne Jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique duNord, l'Arabie et le Proche-Orient. En Afrique du nord, cette espèce couvre d'immenses territoires évalués à plus de dix millions d'hectares.*Artemisia herba-alba* est absente des zones littorales nord et se raréfie dans l'extrême sud (**Nabli, 1989**).

I.1.5. Propriétés de l'armoise

L'armoise possède des propriétés aromatiques,amères,apéritives, digestives et sédatives.Les feuilles et les jeunes pousses peuvent être cueillies jusqu'à la floraison ;pour le séchage,on coupe les panicules à la fin de l'été juste avant la floraison(**Mauguière,2007**).

I.1.6. Usage de l'armoise

I.1.6.1. Usage culinaire

Les feuilles de l'armoise fraîches ou séchées sont utilisées pour agrémenter les viandes. Elles sont également très savoureuses en salade(**Mauguière,2007**).

I.1.6.2. Usages traditionnels et médicaux

L'*Artemisia herba alba* est très utilisée en médecine traditionnelle lors d'un désordregastrique, tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant queremède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal (**Gharabi& sand, 2008**).

De loin le remède leplus fréquemment cité dans la bibliographie est l'utilisation de l'*Artemisia herba alba* dans letraitement du diabète Sucré(**Djali,Fet al 2017**). Plusieurs études scientifiques ontégalement prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent

antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique (**Boudjelal, A. 2013**).

I.2. Généralités sur les mycotoxines

I.2.1. Définition

Du grec *mukos* (champignon) et du latin *toxicum* (poison), le terme mycotoxines désigne des substances naturelles produites par un métabolisme secondaire des moisissures tout en exerçant un pouvoir toxique réel pour le consommateur (Homme et animal) une fois ingérées, même en faibles concentrations (**Eskola, 2002**).

I.2.2. Principales moisissures mycotoxinogènes

Elles appartiennent principalement aux genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (**Van Pamel et al., 2010**). Parmi ces genres, seules certaines espèces et parfois, certaines souches au sein d'une espèce, sont capables d'excréter des mycotoxines (**Ruppel et al., 2004**). Les mycotoxines sont produites soit, dans le champ lors du développement de la plante (toxines du champ) soit, après la récolte (toxine du stockage) (**Afssa, 2009**).

I.2.2. Facteurs de développement des moisissures

Un certain nombre de facteurs favorisent la colonisation des aliments par les moisissures mycotoxinogènes, ainsi la sécrétion des mycotoxines. On distingue des facteurs physicochimiques et des facteurs biologiques.

I.2.2.1. Facteurs physicochimiques

A-Température

Une température entre 20 et 30°C est une zone optimale de croissance, mais les moisissures peuvent croître dans une gamme très large de températures (**Leyral et Vierling, 2007**). Tandis qu'*Aspergillus* peut se développer à des températures élevées au-delà de 50°C (**Samson et al., 1995**).

B- Composition de l'atmosphère gazeuse

Les moisissures sont généralement aérobies et l'augmentation de l'atmosphère en dioxyde de carbone limite leur croissance. Mais cela n'empêche pas leur sporulation et maintien en vie.

C- Teneur en eau

C'est le facteur essentiel. Les moisissures sont moins exigeantes en eau que les levures ou les bactéries, cependant un minimum d'eau du milieu leur est nécessaire. Ceci permet la prévention par le maintien à une hygrométrie faible des graines de céréales ou de légumineuses (arachide) en silos (**Leyral et Vierling, 2007**).

D-pH

Le développement le plus fréquemment observé se situe entre le pH 5,5 à 9. Certaines espèces peuvent se développer avec des pH très bas comme le *Penicillium roqueforti* sur le pain (**Samson et al., 1995**).

I.2.2.2. Facteurs biologiques

Les facteurs biologiques peuvent être liés à l'espèce fongique, à la spécificité de la souche et à l'instabilité des propriétés toxiques. Une même toxine peut être élaborée par différentes espèces quelques fois appartenant à différents genres et une même espèce peut produire plusieurs mycotoxines. De plus, la présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet dépressif sur la production de toxine. Cela s'explique d'une part, par la compétition pour le substrat et d'autre part, par le fait que certaines souches peuvent dégrader la toxine (**Baras,P. et al., 1987**).

I.2.3. Principales mycotoxines

Les principales mycotoxines appartiennent à sept (7) groupes essentiels. On peut distinguer les : Aflatoxines, Ochratoxines, Zéaralénone, Fumonisines, Trichothécènes, Patuline et la Citrinine (Tableau n° 1).

I.2.4. Principaux effets des mycotoxines sur l'Homme

Les effets probables des principales mycotoxines sur la santé humaine sont représentés sur le Tableau n° 2.

**Tableau n°1 : Différentes mycotoxines rencontrées dans les aliments
(Bennett, 2003).**

Mycotoxines	Champignons producteurs	Denrées alimentaires
Aflatoxines B1, B2, G1 et G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. bombycis</i> , <i>A. pseudotamarii</i> et <i>A. ochraceoroseus</i>	Arachides, céréales, graines de coton, épices, fruits, etc.
Ochratoxines A, B et C	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. westerdijkiae</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>P. verrucosum</i> et <i>P. nordicum</i>	Légumes, céréales et graines de café, fromages, poissons, viandes, etc.
Zéaralénone	<i>Fusarium graminearum</i> et <i>F. sporotrichoides</i>	Maïs, blé, orge, etc.
Fumonisines	<i>Fusarium moniliforme</i>	Maïs et autres céréales.
Trichothécènes	<i>Fusarium spp.</i>	Maïs et blé.
Patuline	<i>Aspergillus spp.</i> et <i>Penicillium spp.</i>	Fruits (pommes, prunes, pêches, poires, abricots).
Citrinine	<i>Penicillium rubrum</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. citrinum</i> <i>A. ochraceoroseus</i> .	Orge, blé, riz, soja et seigle

**Tableau 2 : Effets probables des principales mycotoxines sur l'Homme
(Belkacem, 2008).**

Aflatoxine B₁	<p>Cancérogène: cancer du foie (hépatocarcinome) et des voies biliaires, cancer broncho-pulmonaire et bronchonique.</p> <p>Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN.</p>
Ochratoxine A (OTA)	<p>Cancérogène: cancer du rein.</p> <p>Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN Immunosuppresseur.</p> <p>Néphrotoxique: néphropathie endémique (Balkans), néphropathie interstitielle chronique.</p>
Patuline	<p>Immunosuppresseur: diminution du nombre de lymphocytes du sang (lymphopénie) si intoxication chronique.</p> <p>Neurotoxique: troubles nerveux (action anti acétylcholinestérase).</p>
Fumonisines	<p>Cancérogène: association avec des cancers de l'oesophage.</p>
Trichotécènes	<p>Mutagène: anomalie de la synthèse des enzymes de réparation de l'ADN (toxine T2).</p> <p>Immunodépresseur: altération de la phagocytose, inhibition de la synthèse protéique (Toxine T2 et désoxynivalénole).</p> <p>Respiratoire: pneumopathie interstitielle.</p>
Zéaralénone	<p>Oestrogénique: puberté précoce et gynécomastie.</p>

Chapitre II :

MATÉRIEL & METHODES

II.1. Objectif du travail

Le présent travail porte sur l'identification des espèces de moisissures potentiellement productrices de mycotoxines à partir des feuilles armoise séchées et commercialisées dans différentes communes de la wilaya de Tiaret.

Dans ce contexte, les objectifs de notre travail sont inscrits dans les axes suivants :

- ✓ Isolement et identification des moisissures mycotoxinogènes à partir des feuilles de l'armoise.
- ✓ Réalisation d'enquêtes dans le but d'expliquer la prévalence et de contribuer à la réduction de la contamination des plantes aromatiques et médicinales par des moisissures mycotoxinogènes, ainsi des mycotoxines.

II.2. Date et lieu de travail

Ce travail a été réalisé durant la période du 23 Février 2020 jusqu'au 12 Mars 2020 au niveau du laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn khaldoun-Tiaret.

II.3. Matériel et produits utilisés

II.3.1. Matériel biologique

Les analyses ont été effectuées sur les feuilles d'armoise, qui ont été collectées à partir de dix points de vente de la région de Tiaret (Takhmaret, Frenda, rue bijoux, Schadjra, Medrissa, Madarssa, Gare routière, Ain El Hadid, Cité 40 logts, Ksar Challala).



Figure n° 01 : Échantillons feuilles séchées et commercialisés d'armoises

II.3.2 Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement et la purification des moisissures à partir des feuilles d'armoise, PDA et le support Agar 2% respectivement (Annexe 1).

II.3.3. Autre matériel

La verrerie et l'appareillage utilisé dans notre travail sont illustrés dans le Tableau n°3.

Tableau n° 3 : Verrerie, appareillage, produit et autre matériel utilisé.

Verreries	Appareillages	Produits	Autres
-Béchers	-Microscope optique	-Alcool	-Barreau magnétique
-Boîtes de Pétri	« OPTIKA »	-Antibiotique	-Bec Bunsen
-Eprouvettes	-Vortex« TECHNO	(Céfazoline)	-Ance de platine
-Flacons	KARTELL »	-Bleu de méthyle	-Pince métallique
- Lames	-Autoclave	-Eau distillée	-Pissettes
-Pipettes Pasteur	« WOLFWESKZEUG-	stérile	-Portoir de tube à
-Tubes à essai	VORRICHLUGSUN	-Hypochlorite de	essais
	7340 GEISLINGEN »	sodium (Eau de	
	-Agitateur magnétique	Javel 13°)	
	« IKAMAG »		
	-Balance électronique		
	« KERN 440-45N »		
	-Incubateur		
	« MEMMERT 854		
	SCHWABACH W-		
	GERMANY		
	-Four Pasteur		
	« HERAEUS »		
	-Bain marie		
	« MEMMERT »		

II.4. Protocole expérimental

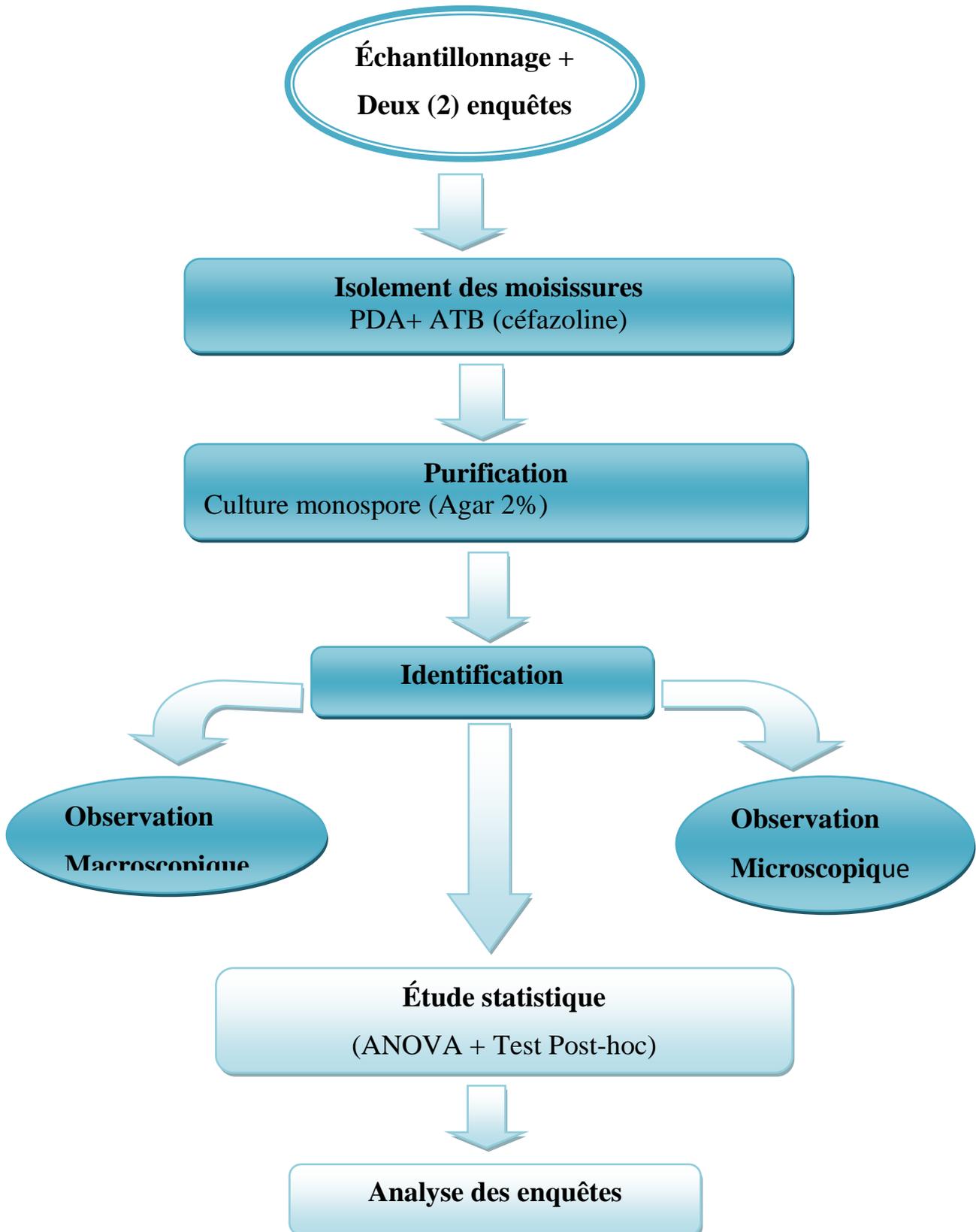


Figure n° 02 :Schéma du protocole expérimental

II.4.1. Échantillonnage

Dans cette étude, dix (10) échantillons de feuilles d'armoise commercialisées à Tiaret ont été collectés au niveau des marchés des différentes régions (Takhmaret, Frenda, rue bijoux, Schadjra, Medrissa, Madarssa, Gare routière, Ain El Hadid, Cité 40 logts, Ksar Challala), pour identifier les moisissures mycotoxinogènes présentes dans les feuilles d'armoise.

II.4.2. Isolement des champignons à partir feuilles d'armoise

L'isolement a été réalisé en se basant sur la technique celle décrite par **Davet et Rouxel (1997)**. Nous avons désinfecté les feuilles d'armoise avec l'hypochlorite de sodium (l'eau de javel 13° dilué à 30 %) pendant trois minutes pour éliminer les bactéries. Ensuite, les feuilles d'armoise ont été rincées trois fois avec l'eau distillée stérilisée pour éliminer les traces de l'eau javel. Après, nous avons déposé deux feuilles d'armoise pour chaque échantillon dans une boîte Pétri contenant le milieu PDA plus ATB (céfazoline). Les boîtes ont été ensemencées en triplicate et incubées à 28°C pendant 5 jours (Figure n° 03).



Figure n°03 : Isolement des moisissures à partir des feuilles d'armoise sur milieu PDA.

I.4.3. Repiquage des isolats

Après incubation à 28°C, des observations quotidiennes ont été effectuées au cours des trois premiers jours. Chaque mycélium qui s'est développé a été repiqué, à l'aide d'une anse de platine stérile et déposé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, puis incubé à 28°C pendant 3 à 5 jours.

I.4.4. Purification des isolats

L'objectif de cette technique est d'acquérir un matériel de flore fongique génétiquement homogène. La purification a été faite par la culture monospore selon la méthode de **Henni et al., (1994)**. Cette méthode repose sur la préparation de dilutions décimales. Les cultures monospores ont été réalisées dans des conditions stériles. Un fragment de mycélium a été introduit dans 9 ml d'eau distillée stérilisée, que nous avons bien agité avec le vortex pour libérer les conidies. La suspension sporale a été diluée afin de réduire le nombre de conidies par millilitre. Un volume de 0,1 ml a été déposé et étalé à l'aide d'une pipette pasteur sur la surface du milieu Agar 2 % dans les boîtes de Pétri. Après incubation à 28°C pendant 48 heures, les germinations sporales ont été prélevées et déposées au centre de différentes boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 3 à 5 jours (Figure n° 04).

I.4.5. Identification des isolats fongique

L'identification des champignons contaminants les feuilles d'armoise repose sur ces critères morphologiques macroscopiques et microscopiques.

I.4.5.1. Identification macroscopique

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores,...) (**Cahagnier et Richard-Molard, 1998**).

I.4.5.2. Identification microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnostic (**Cahagnier et Richard-Mollard, 1998**).

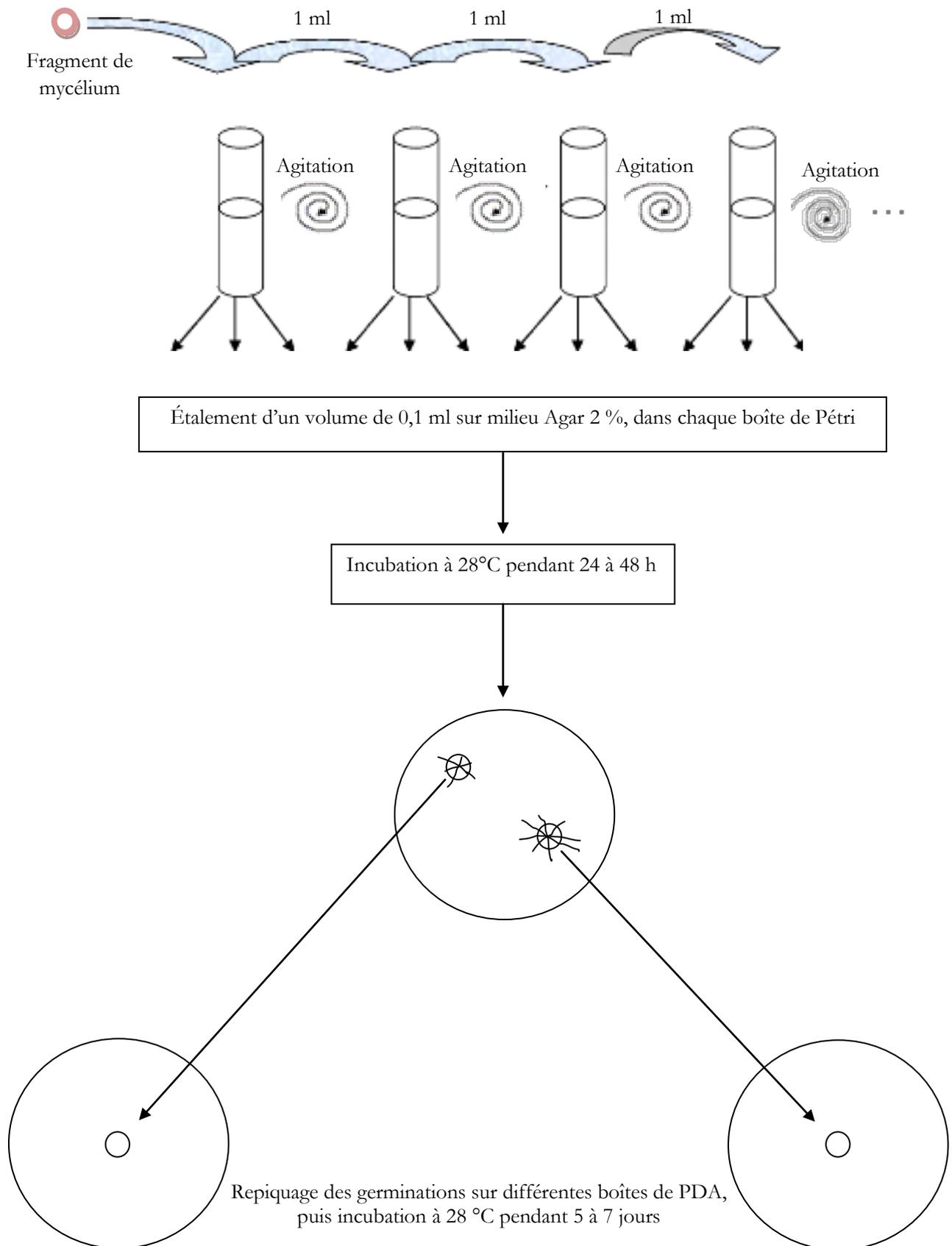


Figure n° 04 : Schéma des étapes de la purification des moisissures par culture monospore.

II.4.6. Déroulement de l'enquête

II.4.6.1. Questionnaire commerçants

Dans le cadre de notre travail, il est prévu de faire des visites sur terrain de quelques magasins d'épices dans dix régions de Tiaret, dans le but de récupérer des échantillons d'armoise. Cet échantillonnage a été appuyé par un questionnaire d'enquête établi dans le but de cette étude académique, composé de dix (10) questions (Annexe 2).

Notre sélection du magasin d'épices était basée sur la disponibilité de la plante médicinale requise, en plus de la capacité du vendeur à répondre aux questions.

Nous avons enregistré les réponses des vendeurs sur le prix du produit, de la durée, le contenant et les conditions de stockage, comme nous avons également acquis une quantité d'armoise qui a été sujet d'analyse au laboratoire et bien sûr, nous avons remercié le vendeur de nous avoir donné de son temps.

II.4.6.2. Questionnaire consommateur

Après avoir préparé le questionnaire destiné aux consommateurs (Annexe 2), nous l'avons distribué à un certain nombre de personnes sans prendre en compte aucune mesure, que ce soit l'âge ou la couche sociale. Il est composé de vingt-deux (22) questions.

C'est un questionnaire axé sur l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales et l'étendue de leur utilisation dans la vie quotidienne et quelles sont les mesures qu'une personne adopte pour acheter ces herbes.

Ensuite, nous avons collecté les questionnaires et nous avons saisi les réponses en utilisant la plateforme « Google Forms ».

II.4.7 Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats expérimentaux et la représentation graphique ont été effectuées par le logiciel : Microsoft Office Excel 2007. Pour étudier la signification de nos résultats d'enquêtes, on a utilisé l'analyse de la variance (ANOVA).

Chapitre III :

RÉSULTATS & DISCUSSION

III.1. Isolement des champignons à partir des feuilles d'armoise

Après cinq (5) jours d'incubation à 28°C, la croissance fongique au tour des feuilles a été observée dans les dix (10) localités et nous avons obtenus au total quinze (15) isolats, avec différents pourcentages de la population fongique variant entre 16.60 % pour les localités : Shajra, Cité 40 Logts. et Ain el Hadid ; et 83.30 % pour la localité Medrissa

(Figure n° 05 ci-dessous et le Tableau n° 5 en Annexe 3).L'étude statistique a montré qu'il n'y a pas une différence significative dans les populations fongiques entre les différentes localités ($P > 0.05$) (Tableau n° 6, Annexe 3).La Figure n° 06 représente la croissance d'un isolat à partir d'une feuille d'armoise sur le milieu PDA.

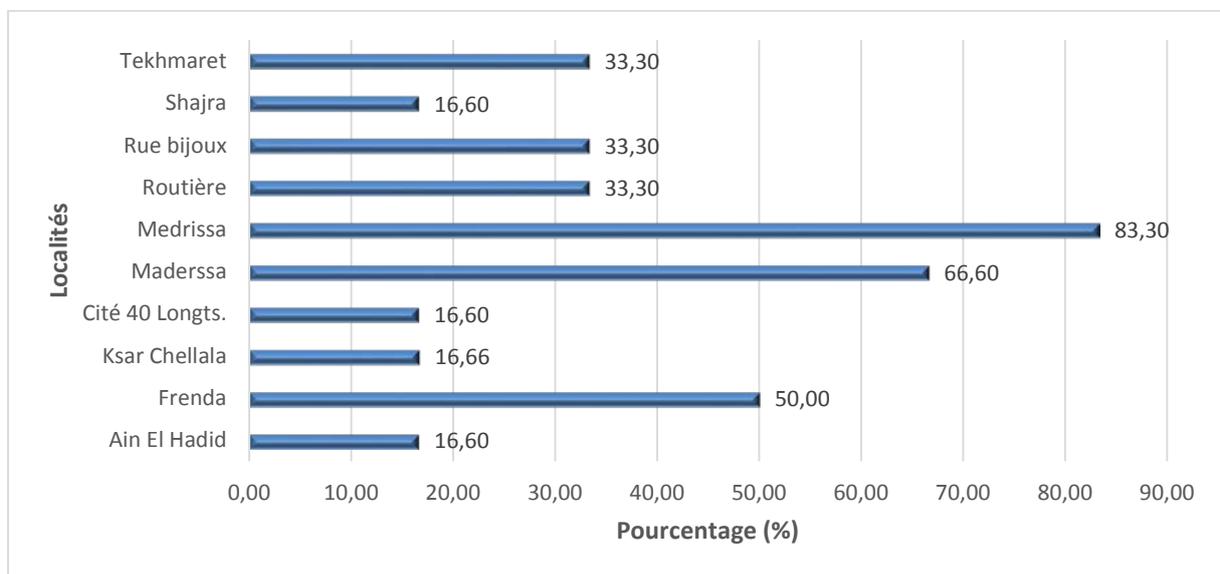


Figure n° 05 : Pourcentage de la population fongique isolée à partir des feuilles d'armoise dans dix (10) régions de Tiaret.



Figure n° 06: Aspect macroscopique des moisissures à partir de la feuille d'armoise sur milieu PDA

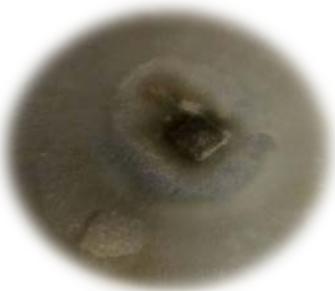
III.2. Identification des isolats fongiques

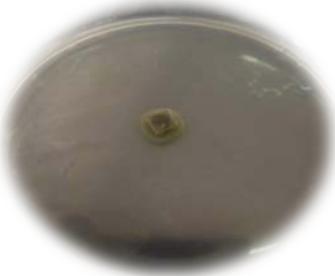
Les résultats de la purification par culture monospore, nous ont permis d'obtenir des souches pures génétiquement homogènes.

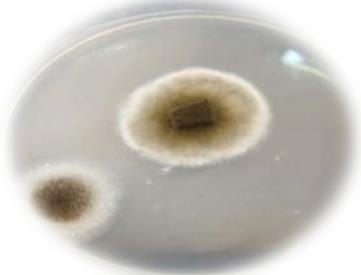
III.2.1. Identification macroscopique

Les caractères macroscopiques des quinze (15) souches fongiques sélectionnées ont été étudiés sur le milieu PDA, comme étant appartenant aux genres sont : *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus* et *Fusarium*. Les quatre genres sont qualifiés comme producteurs de mycotoxines. Les résultats obtenus, ont été rassemblés dans le Tableau n° 04.

Tableau n° 04 : Examen macroscopique des moisissures sur le milieu PDA et leur répartition sur les différentes localités (Diamètre mesuré après 72 h).

Régions	Observation macroscopique	Caractères macroscopiques	Genres
Medrissa		*Pigmentation verte olive au centre, contour blanchâtre *Croissance moyenne *Diamètre : 3 cm *Aspect : cotonneuse	<i>Penicillium</i>
		*pigmentation brune olive à Noir, contour gris *Croissance assez Lente *Diamètre : 2cm *aspect : Colonie poudreuse.	<i>Alternaria</i>
Takhmaret		*Pigmentation verte olive au centre, contour blanchâtre *Croissance moyenne *Diamètre : 4 cm *Aspect : cotonneuse	<i>Penicillium</i>

		<p>*Pigmentation verdâtre, contour blanchâtre. *Diamètre :4,5cm *Croissance : moyenne *Aspect : cotonneuse</p>	<p><i>Penicillium</i></p>
Frenda		<p>*pigmentation brune olive à Noir, contour gris *Croissance assez Lente *Diamètre : 1,5cm *aspect : Colonie poudreuse.</p>	<p><i>Alternaria</i></p>
		<p>*Pigmentation : Blanche *Diamètre :0,5cm *Croissance : rapide</p>	<p><i>Fusarium</i></p>
Rue bijoux		<p>Pigmentation verte olive au centre, contour blanchâtre *Croissance moyenne *Diamètre : 1,6cm *Aspect : cotonneuse</p>	<p><i>Penicillium</i></p>
		<p>*Pigmentation rosâtre *Croissance : lente *Diamètre : 0,9cm</p>	<p><i>Aspergillus</i></p>

<p>Schadjra</p>		<p>*pigmentation brune olive à Noir, contour gris *Croissance assez Lente *Diamètre : 1cm *aspect : Colonie poudreuse.</p>	<p><i>Alternaria</i></p>
<p>Maderssa</p>		<p>*Pigmentation : Blanche *Diamètre :4,5cm *Croissance : rapide</p>	<p><i>Fusarium</i></p>
		<p>*Pigmentation rosâtre *Croissance : lente *Diamètre : 1,5cm</p>	<p><i>Aspergillus</i></p>
		<p>*Pigmentation :Blanche *Diamètre ;2,3cm *Croissance : rapide</p>	<p><i>Fusarium</i></p>
		<p>*pigmentation brune olive à Noir, contour gris *Croissance assez Lente *Diamètre : 3,8cm *aspect : Colonie poudreuse.</p>	<p><i>Alternaria</i></p>

Gare routière		*Pigmentation :Blanche *Diamètre ;1,9 cm *Croissance : rapide	<i>Fusarium</i>
Ain El Hadid		*Pigmentation rosâtre *Croissance : lente *Diamètre : 1,3cm	<i>Aspergillus</i>
Cité 40 Logts.		*Pigmentation rosâtre *Croissance : lente *Diamètre : 2,3cm	<i>Aspergillus</i>
Ksar Challala		*Pigmentation :Blanche *Diamètre ;1,1cm *Croissance : rapide	<i>Fusarium</i>

III.2.2. Identification microscopique

Nous n'avons pas pu terminer cette partie suite à la situation imposée par la pandémie Covid-19. Pour cela nous n'avons pas pu identifier les souches sur le plan de l'espèce.

III.2.3. Enquête commerçants

Les herboristes sont très actifs dans cette filière. Ces professionnels cherchent à s'approvisionner et à fournir leur clientèle les différents produits. À l'interface entre la collecte et la distribution, les herboristes ont une fonction centrale dans l'organisation des plantes médicinales sur le marché intérieur Algérien. Ces herboristes sont les acteurs les plus proches des consommateurs. Ils ont le rôle de commerçant, détaillant, intermédiaire, conseillé en médecine traditionnelle et populaire, etc.

A cet effet, le premier questionnaire a été réalisé auprès de 10 commerçants de différentes localités de Tiaret. Les résultats du questionnaire sont présentés en (Annex3).

D'une façon générale, les résultats obtenus, illustrés sur la Figure n°07, montrent qu'il y a une différence entre les prix, d'une localité à une autre, et qui varie entre 500 et 2000 Da, probablement selon la qualité et la source du produit. D'autre part, les résultats montrent aussi que la principale source de l'armoise est le Sahara avec 50 %, alors qu'elle est de 30% des zones steppiques et 20% des forêts.

D'après les résultats présentés sur la Figure n° 08, la durée de stockage varie entre trois (3) et douze (12) mois. Cette dernière est observée dans six (6) localités sur dix (10) : Ain El Hadid, Ksar Challala, Shajra, Rue bijoux, Frenda et la gare routière. Ce point a été confirmé par la question qui suit, concernant la fréquence de rotation elle est exprimée généralement entre un (1) et (12) mois, ce qui favorise la sécrétion de mycotoxines.

Concernant la matière utilisée pour l'emballage du produit, les résultats illustrés sur la Figure n° 09 montrent que 86 % des herboristes utilisent des contenants fabriqués en plastique, et seulement 14% utilisent des contenants en carton, sachant que le plastique favorise un développement d'une humidité favorable à la sécrétion de mycotoxines. Ainsi que, la température moyenne de stockage est ambiante pour 100 % des herboristes, et seulement 20% utilisent le climatiseur en été, sachant que cette température ambiante est un facteur important pour la sécrétion de mycotoxines. Les résultats ont montré aussi que 56% des magasins sont non ensoleillés et humides et 44% des magasins sont ensoleillés ; et 75% achètent une quantité de 50 g d'armoise et les autres de 30 à 100g selon leurs besoins.

D'après le Tableau n° 7 (Annexe 3), nous avons remarqué que toutes les tranches d'âges peuvent utiliser l'armoise et 78% l'utilisent pour traiter le diabète et les autres pour traiter les troubles digestifs et la grippe.

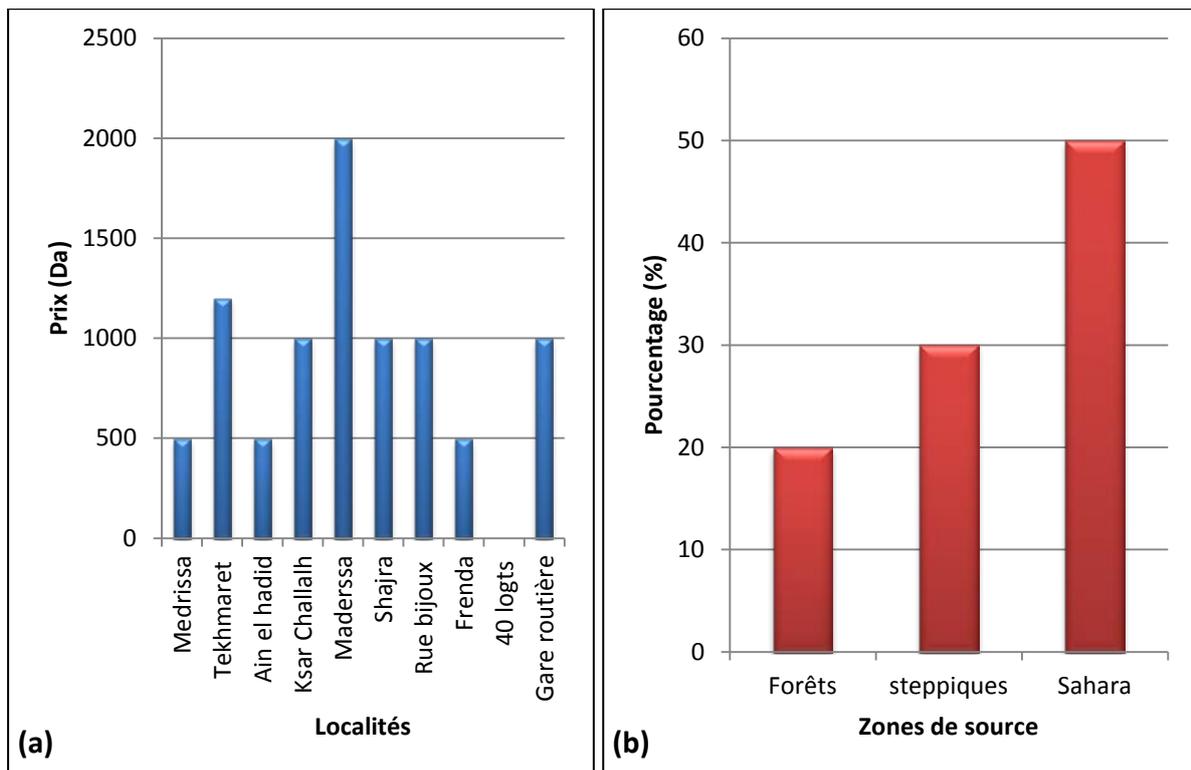


Figure n° 07 : Prix et source de l'armoise vedue dans les dix localités de Tiaret. (a) Prix ; (b) principales sources.

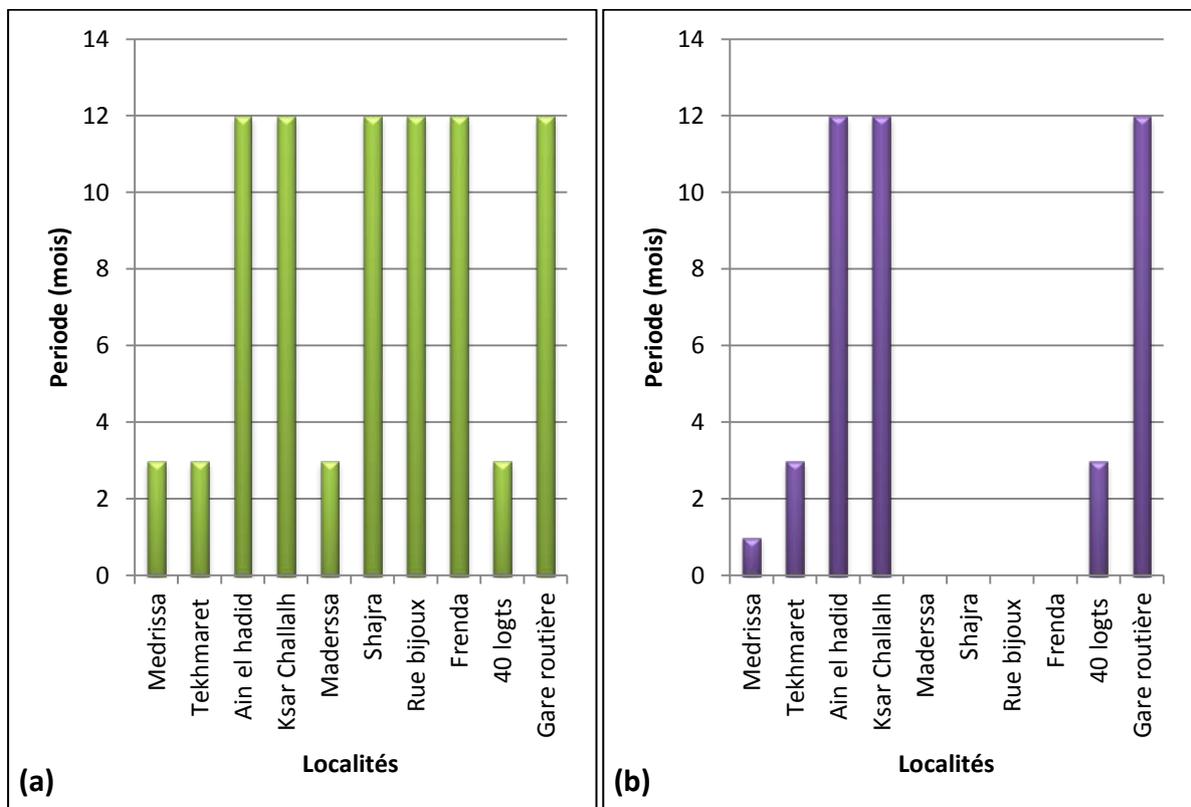


Figure n° 08 : Répartition de la durée moyenne de stockage et de la fréquence de rotation du produit dans les dix localités de Tiaret. (a) Durée de stockage ; (b) fréquence de rotation.

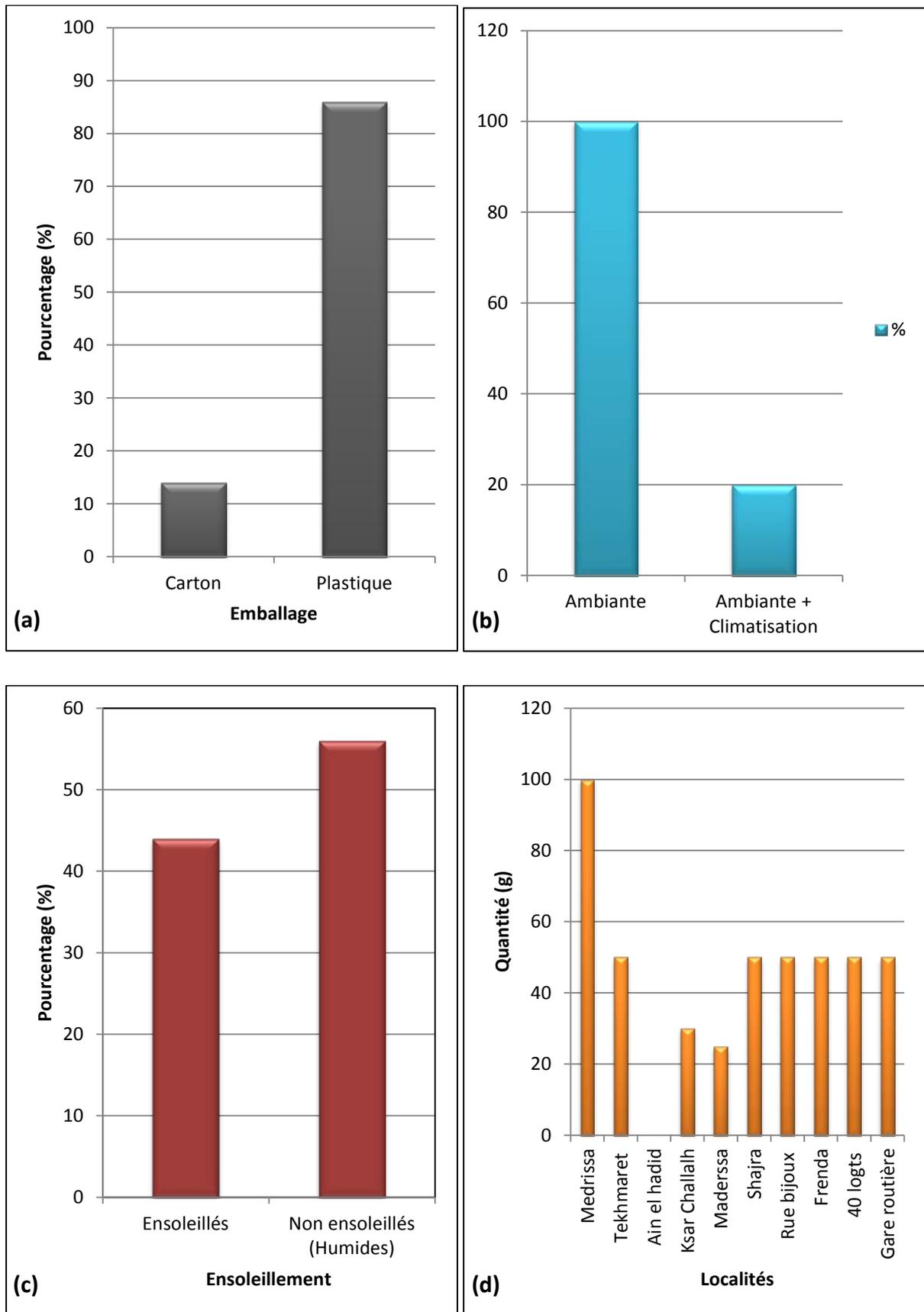


Figure n° 09 : Matière de fabrication des contenants d’armoise, température, ensoleillement des différents magasins des dix localités de Tiaret et quantité

généralement achetée. (a) Matière de l'emballage ; (b) température du magasin ; (c) ensoleillement ; (d) quantité.

III.2.4. Enquête consommateurs

Grâce à l'enquête auprès des consommateurs de la région de Tiaret, il s'avère qu'il existe une variété de pratiques concernant les espèces végétales médicinales et aromatique, symptômes traités, lieu d'obtention, connaissance des propriétés thérapeutiques, l'état de magasin et mode d'utilisation ; ainsi qu'une diversité d'informations concernant les personnes enquêtées ; classe d'âge, profession...

L'utilisation des plantes médicinales au niveau de la région étudiée est répandue chez toutes les classes d'âge. Les résultats illustrés sur la Figure n° 10 montrent que les tranches d'âge interrogées représentent 45.33 % d'âge de moins de 25 ans, qui sont généralement des étudiants de la faculté SVN de l'université de Tiaret ; 25.33 % entre 25 et 40 ans, qui sont généralement des enseignants de la faculté ; 20 % de 40 à 60 ans ; et 5.33 % plus de 60 ans. Ces deux dernières tranches sont représentées par des employés, retraités, sans emploi, et des consommateurs à fonctions libérales.

Selon la Figure n° 11, on voit qu'à partir de 75 consommateurs interrogés, 70 utilisent ces plantes avec un taux de 93,33 % ; parmi ces derniers, 57,33 % utilisent le Thym et 40% utilisent l'armoise. Nous avons remarqué aussi que 94,66 % des personnes procurent leurs plantes à partir des magasins d'épices, en revanche, 1,33 % seulement les procurent directement de la nature. On voit aussi que 84% de l'échantillon prétendent avoir des connaissances sur les propriétés thérapeutiques des plantes médicinales. Parmi les 75 consommateurs, 48% disent connaître entre une (1) et dix (10) plantes, 17,33% entre dix (10) et (30), 1,33% plus de (30) plantes médicinales et le reste (2,66 %) ne connaissent aucune plante. On a constaté aussi, que 40% de l'échantillon disent qu'ils connaissent que ces plantes peuvent avoir un effet néfaste sur la santé et 60% ne le savent pas. On remarque aussi, que 69.33 % prennent l'état du magasin en considération avant d'acheter leur produit et parmi ces derniers 57.33 % ne demandent jamais à savoir sa durée de stockage. Les résultats montrent aussi, que 40 % souhaitent à trouver ces produits sous forme de pots hermétiquement fermés.

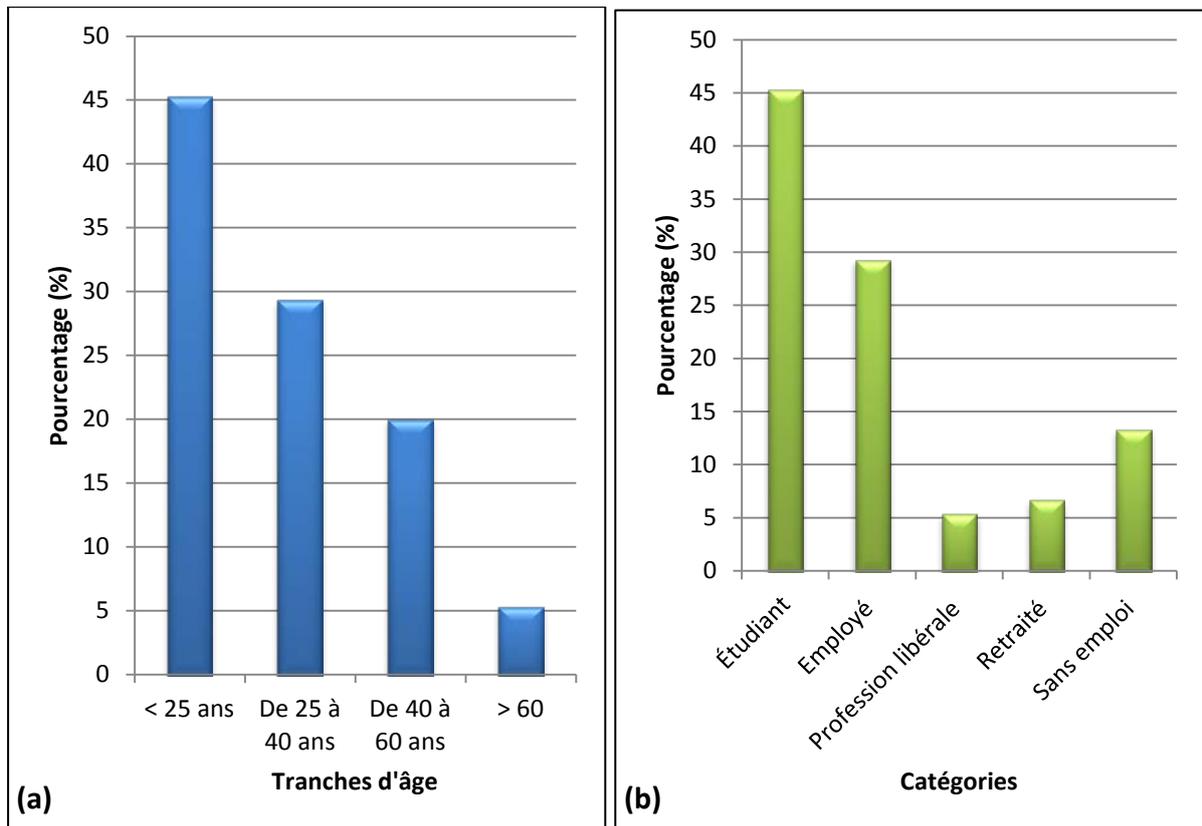
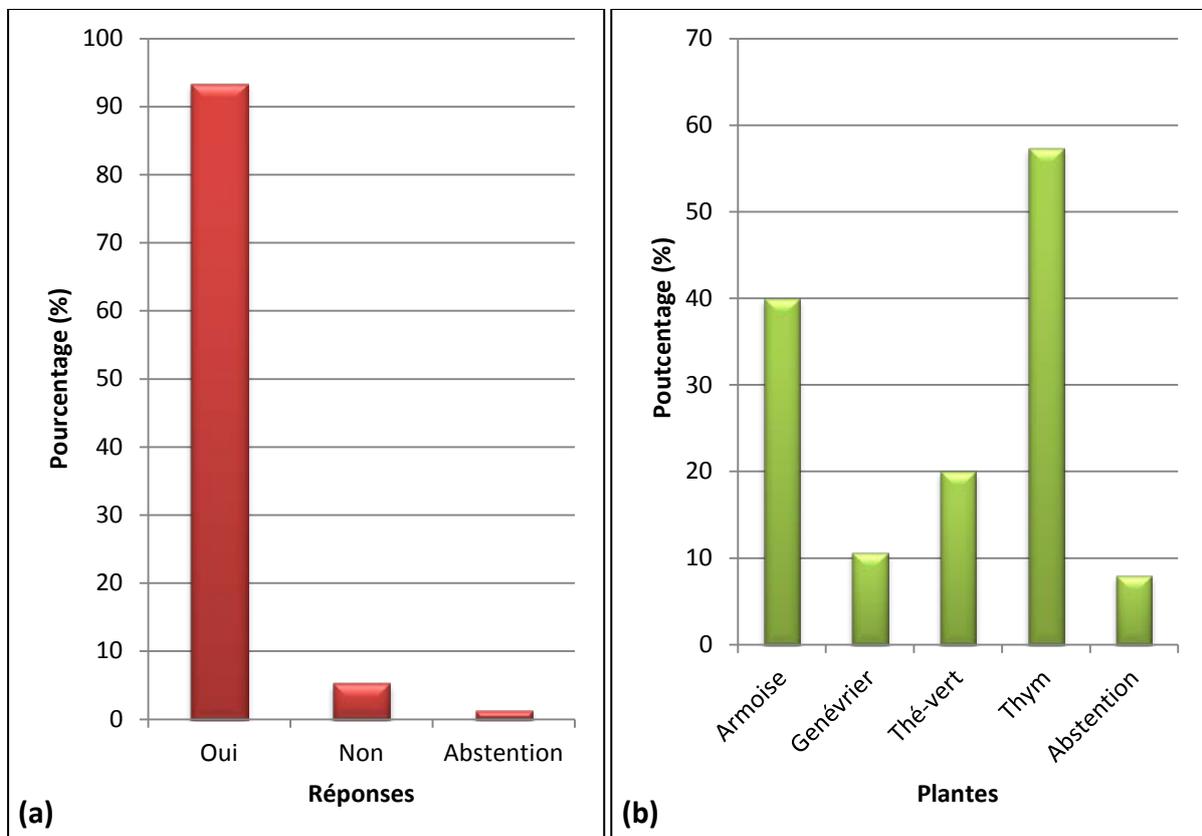
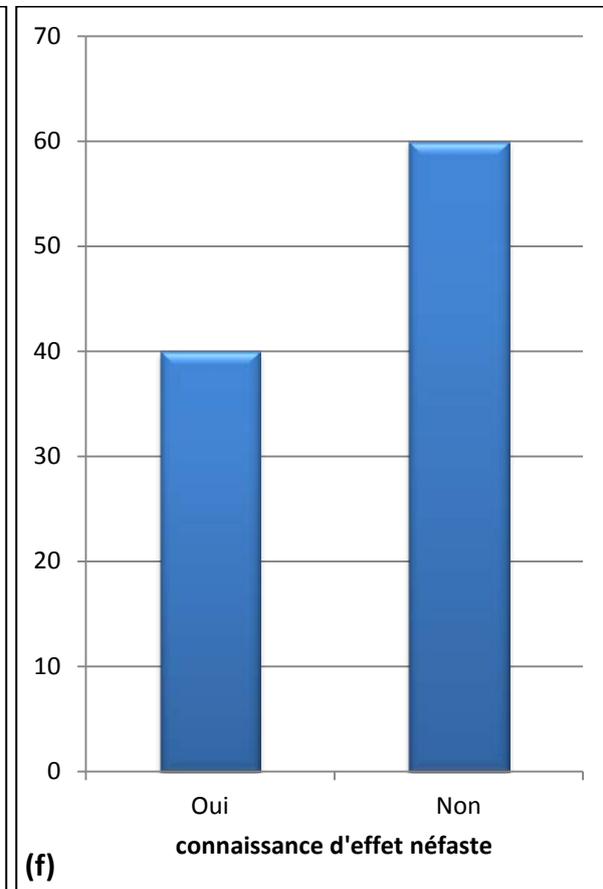
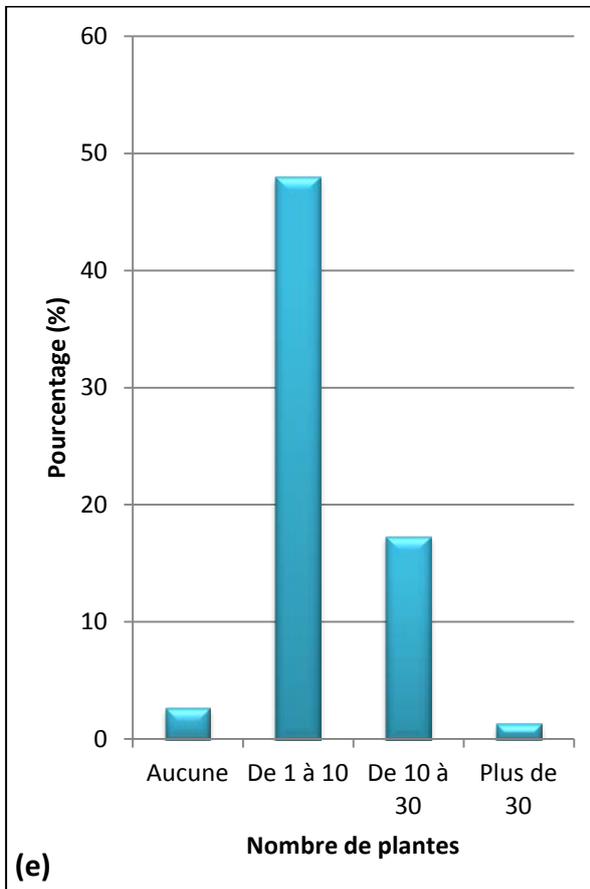
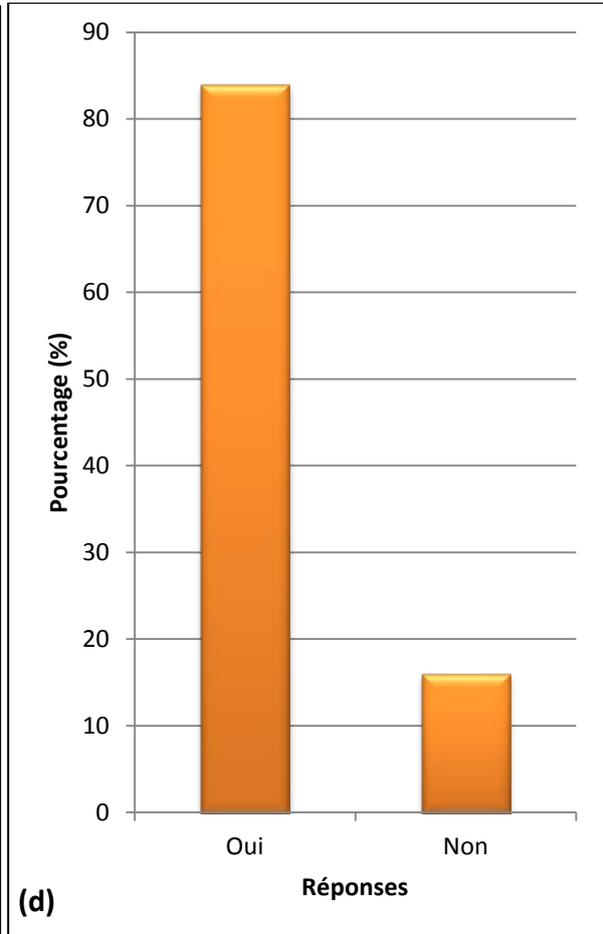
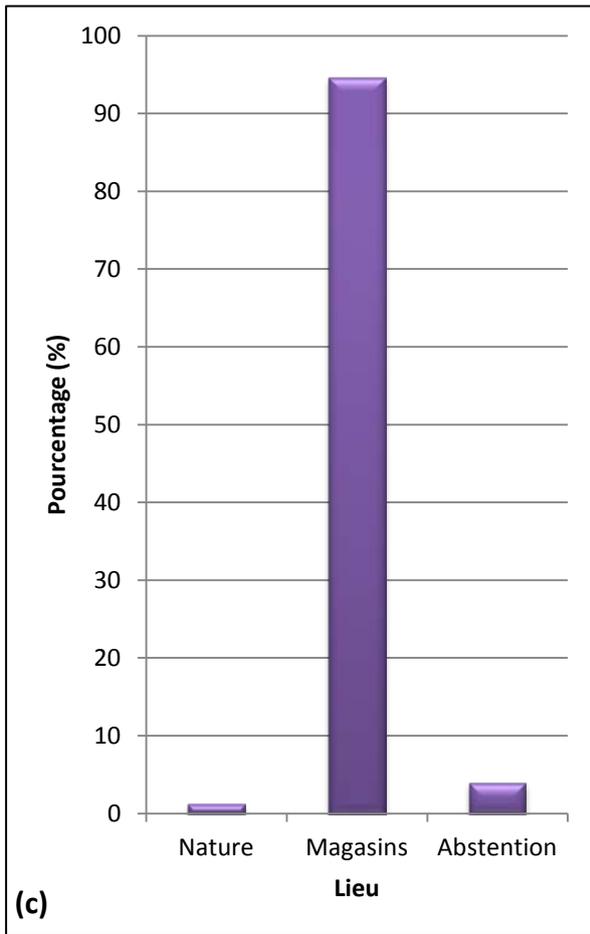


Figure n° 10 : Tranches d'âge et catégories socioprofessionnelles interrogées. (a) Tranches d'âge ; (b) catégories.





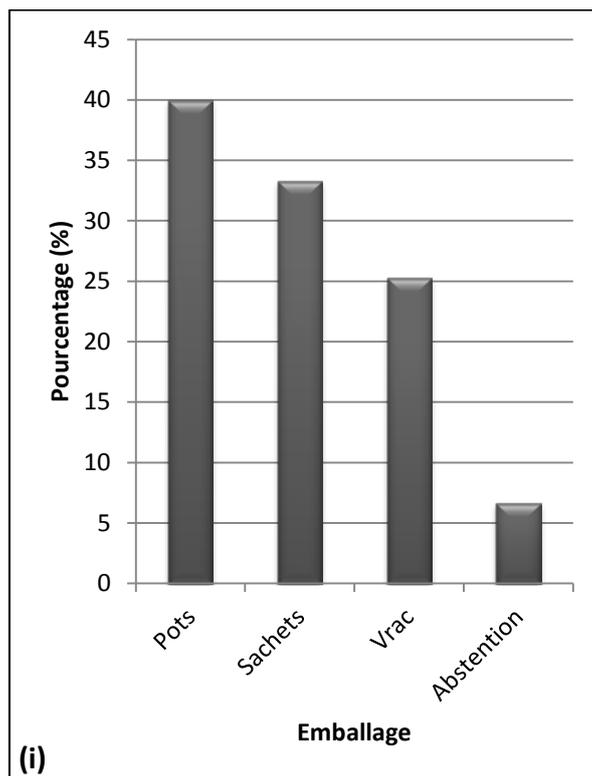
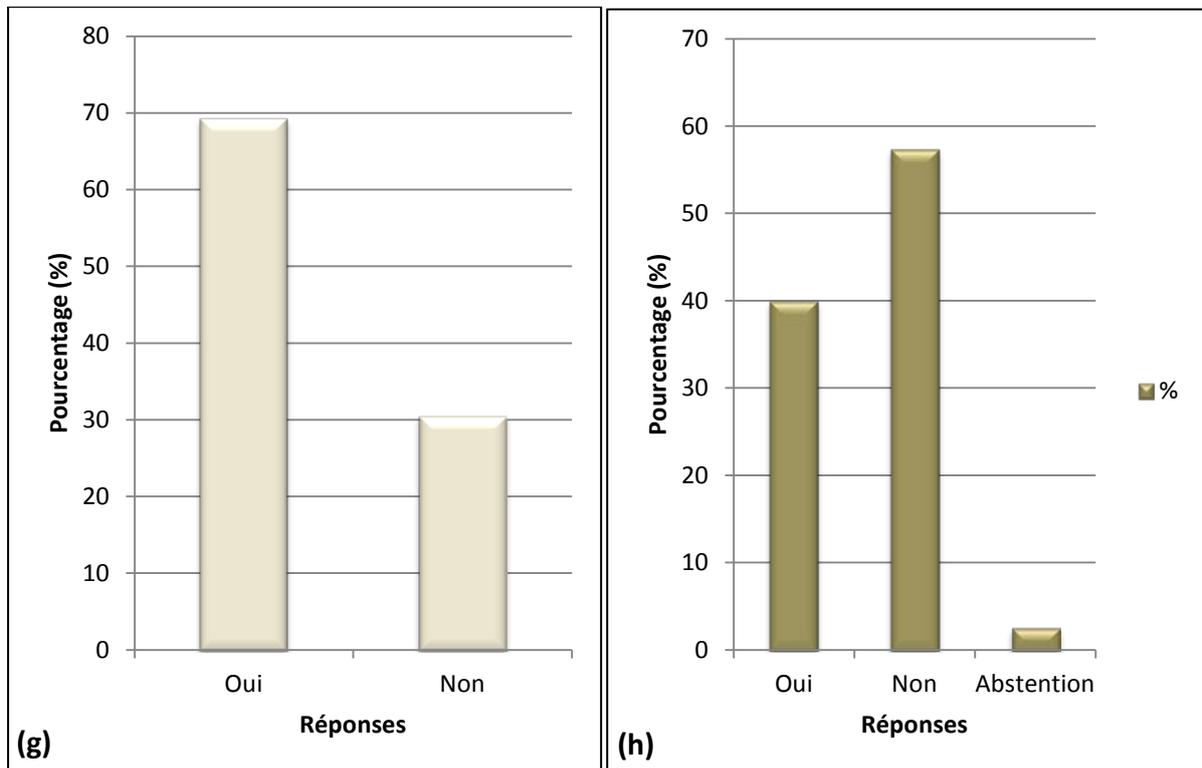


Figure n° 11 : Représentation des réponses fournies par les consommateurs. (a) Utilisation des plantes médicinales et aromatiques ; plantes utilisées ; (c) lieu d’obtention ; (d) connaissance des propriétés thérapeutiques ; (e) nombre de plantes connues ; (f) connaissance des effets néfastes ; (g) état du magasin ; (h) demande sur la durée de stockage ; (i) emballage désiré.

III.3. Discussion générale

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui se développent sur une large gamme de produits entrant dans la ration alimentaire des ruminants (**Ruppel et al., 2004**). Certaines souches de ces moisissures, sont capables d'excréter des mycotoxines (**Yiannikouris et Jouany, 2002**). Ces composés toxiques sont souvent naturellement présents dans la chaîne alimentaire et par conséquent, entraîner une exposition humaine soit par la consommation directe de cultures, de plantes, de graines et de fruits contaminés, soit indirectement par l'ingestion d'aliments dérivés d'animaux exposés « viande, œufs ou lait » (**De Boevre et al., 2012 ; Mikušová et al., 2013**).

Dans un premier volet, une analyse mycologique des feuilles séchées et commercialisées d'armoise a été effectuée. Les résultats de cette analyse ont révélé une contamination par les moisissures mycotoxinogènes dans les 10 échantillons d'armoise utilisés, ainsi que les résultats de la caractérisation morphologique macroscopique de nos souches (*Penicillium, Alternaria, Aspergillus* et *Fusarium*), qui ont été étudié sur milieu PDA le plus communément utilisé à cet effet (**Botton, 1990**), ont fait apparaître des morphotypes différents (cotonneux, poudreuse), la taille des colonies, la couleur des colonies et la croissance de colonies (rapide, lente).

Les réponses de vendeurs dans l'enquête donnent une idée générale sur les principales causes de la croissance des moisissures mycotoxinogènes, et comme première idée, c'est l'absence des informations sur la plante elle-même. Ces résultats sont en conformité avec ceux obtenus par **Wan et al., 2013**), qui ont montré que l'évaluation réelle des risques pour la santé se limite à leurs effets uniques, car il n'y a pas suffisamment d'informations disponibles sur la nature, les effets observés ou les puissances relatives de chaque mycotoxine dans le mélange.

Deuxième information, c'est les conditions climatiques, où nous avons trouvé la dominance de température ambiante et humidité dans les différents magasin, ces résultats sont en conformité avec ceux obtenus par **Pholfleszkowicz et Monilié (2003)**, qui ont montrés qu'il existe une corrélation significative entre la contamination par les moisissures et les conditions climatique et d'après **Chagnier et Richard-Molard (1998)**, l'humidité et la température sont les principaux facteurs physique ayant une influence considérable sur la croissance et la production des mycotoxines.

Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement, en absence d'un système médical moderne (**Tabuti et al., 2003**). Pour cela, nous avons effectué une enquête pour obtenir des informations sur l'utilisation de ces plantes dans la wilaya de Tiaret. L'utilisation des plantes médicinales est répandue chez toutes les tranches d'âge, les résultats obtenus montrent que 90% de cette population utilisent ces plantes, ces résultats sont en conformité avec ceux obtenus par **Jiofack et al., 2009** ; **Jiofack et al., (2010)**. Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer les soins de santé, et parmi les principales PAM les plus utilisées, on trouve l'armoise, le genévrier, le thym et les résultats ont été confirmés par **Hammadi et al (2015)**.

Certaines plantes sont utilisées comme traitement de diabète, d'autres pour les troubles digestifs et ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (**Bouziane, 2016; Diallo et al., 2004 ; Passalacqua et al., 2006 ; Dellil, 2007 ; Rammal et al., 2009**). Plusieurs plantes peuvent être une guérison de nombreux maux quotidiens, qui vont des simples troubles digestifs, jusqu'à le traitement des maladies chroniques comme le cancer, l'ulcère, le diabète.

Pendant l'enquête, quelque chose de très important a attiré notre attention, est que la plupart des consommateurs n'ont aucune idée sur les effets néfastes causés par utilisation aléatoire de PAM, malgré la facilité d'utilisation des plantes, il faut pourtant être attentif aux effets secondaires de certaines d'entre elles (**Balyac et Claire, 2007**), et on doit consulter un spécialiste: certaines plantes sont mal dosées et très toxiques et d'autres sont connues par leur gloire, mais peuvent causer des effets fatals dans certains cas (**Chevalier, 2001**). Le danger pour notre population est que certains tradipraticiens amplifient les indications thérapeutiques des plantes, n'indiquent pas les précautions d'emploi, ne connaissent pas les effets secondaires et toxicité des plantes (**Hmamouchi, 1999**).

CONCLUSION

Les analyses mycologiques effectuées sur dix (10) échantillons d'armoise ont permis d'isoler 30 isolats fongiques et nous avons choisi 15 isolats fongiques pour faire la purification et l'identification. Ces isolats ont donné la possibilité d'identifier 4 genres de moisissures : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria*.

Les genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* ont été retrouvés dans les 10 échantillons sont relevés producteurs des mycotoxines. Ces genres constituent un facteur important de détérioration et de sécrétion de mycotoxines dans l'armoise.

Dans la plupart des cas, les plantes vendues ne sont pas soumises à des contrôles de qualité. Certaines d'entre elles peuvent être dangereuses même si elles sont d'extraction naturelle, elles peuvent représenter un réel danger pour le patient, car elles peuvent contenir des composants toxiques inconnus par le vendeur et par le patient. Alors d'après résultats de notre étude nous avons vu que la plupart des vendeurs n'ont aucune information sur la plante elle-même, ils ne respectent pas les règles sanitaires au moment de la récolte et de stockage.

Les plantes médicinales occupent une place très importante dans la vie quotidienne des habitants de la wilaya de Tiaret d'après l'enquête qui nous avons réalisé, les résultats obtenus montrent que 90% de cette population utilisent ces plantes et répandue chez toutes les tranches d'âge. Elles offrent de larges possibilités de traitement des maladies pour la population locale telle que diabète, les troubles digestifs, mais d'après les résultats la plupart des consommateurs de ces plantes n'ont aucune idée sur les effets néfastes causés par l'utilisation aléatoire des PAM.

Les mycotoxines constituent un problème très actuel de qualité et de sécurité sanitaire des aliments. Il est possible de réduire le niveau de contamination des aliments par les mycotoxines en appliquant des règles de bonnes pratiques de culture et en respectant des règles sanitaires simples au moment de la récolte, du stockage et de la transformation des aliments.

Comme perspectives, ce travail doit être appuyé par d'autres tests phylogénétiques pour une identification plus précise des espèces fongiques, ainsi qu'une identification des métabolites secondaires sécrétées sur ces plantes et leur dosage.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Afssa. (2009). Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. Rapport final, 1-308.
- Akrout, A., Chemli, R., Chreïf, I., & Hammami, M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour and fragrance journal*, 16(5), 337-339.
- Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.
- Anonyme (2020). <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/armoise.htm>. Consulté le 22/05/2020.
- Baras, P., & Cohen, L. (1987). Complete blow-up after T_{max} for the solution of semilinear heat equation. *Journal of Functional Analysis*, 71(1), 142-174.
- Bennett, J. W. (2003). Klich M. Mycotoxins. *Clinical microbiology Reviews*, 16(3), 497-516.
- Belkacem, N. (2008). Les mycotoxines: production et voie de biosynthèse. Master II. Institut national polytechnique de Toulouse. France. 23 pages.
- Boudjelal, A. (2013). Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. (Doctoral dissertation Université de Annaba-Badji Mokhtar).
- Bouziane, Z. (2016). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales de la région d'Azail (Tlemcen–Algérie) (Doctoral dissertation).
- De Boevre, M., Di Mavungu, J. D., Landschoot, S., Audenaert, K., Eeckhout, M., Maene, P., ... & De Saeger, S. (2012). Natural occurrence of mycotoxins and their masked forms in food and feed products. *World Mycotoxin Journal*, 5(3), 207-219.
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Guy, P., Larpent, J. P., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.
- Cahagnier, B., Dragacci, S., Frayssinet, C., Frémy, J. M., Hennebert, G. L., Lesage-Meessen, L., ... & Roquebert, M. F. (1998). Moisissures des aliments peu hydratés. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 85-88.

- Challouf, S., Ziadi, S., Zaghoudi, R., Ksaa, F., Gacem, R. B., & Trimeche, M. (2012). Patterns of aberrant DNA hypermethylation in nasopharyngeal carcinoma in Tunisian patients. *Clinica Chimica Acta*, 413(7-8), 795-802.
- Champion, R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Éditions Quae.
- Chevallier, A., Iserin, P., & Vican, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation et soins.
- Chetatha, M. Contribution à l'étude mycotoxicologique du café commercialisé dans la région de Laghouat (Doctoral dissertation)
- Davet, P., & Rouxel, F. (1997). Detecting and isolating soil fungi. Detecting and isolating soil fungi.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K., & Maiga, A. (2004). Etude des Constituants des feuilles de ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae), utilisés traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *Comptes rendus Chimie*, 7, (10-11), 1073-1080.
- Djali, F., Hamadi, H., & Madani, K. E. (2017). Formulation du fromage frais aromatisé à base d'Artemisia herba-alba.
- Doyle, M. P., Diez-Gonzalez, F., & Hill, C. (Eds.). (2020). Food microbiology: fundamentals and frontiers. John Wiley & Sons.
- De Pascual Teresa, J., Muriel, M. R., & Bellido, I. S. (1984). Phenolic derivatives from Artemisia campestris subsp. Glutinosa. *Phytochemistry*, 23(8), 1819-1821.
- Evenari, M., Schulze ED, Lange OL, Kappen L, Buschbom, U., 1975. Adaptive mechanisms in desert plants
- Eskola, M. (2002). Study on trichothecenes, zearalenone and ochratoxin A in Finnish cereals: occurrence and analytical techniques. *Eläinlääkintä- ja elintarviketutkimuslaitos*.
- Le Floc'h, E., Schoenenbereger, A., Nabli, M. A., & Valdeyron, G. (1989). Biologie et écologie des principaux taxons. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisienne: I. Éléments de botanique et de phytoécologie. Tunis: Faculté des Sciences, 51-193.

- Floret, C., & Pontanier, R. (1982). L'aridité en Tunisie présaharienne: climat, sol, végétation et aménagement.
- Gharabi, Z., & Sand, R. L. (2008). *Artemisia herba-alba*. A Guide to Medicinal Plants in North Africa, 49-49.
- Hammadi, D., Ahmed, M., Boudjethia, K., Boukhalifa, A., & Djebli, N. (2015). Ethnomedicinal Survey of Medicinal Plants Used in the Western Region of Algeria. *Med Aromat Plants*, 5(221),2167-0412.
- Henni, J., Boisson, C., & Geiger, J. P. (1994). Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici*. *Phytopathologia mediterranea*, 51-58.
- Hmamouchi, M. (1999). *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines*. Editions.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., & Kemeuze, V. (2009). Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *African Journal of Pharmacy and pharmacology*, 3(4), 144-150.
- Jiofack, T., Fokunang, C., Guedje, N., Kemeuze, V., Fongnzossie, E., Nkongmeneck, B. A., ... & Tsabang, N. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 60-79.
- Latri, N., & Latri, Z. (2019). Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales sur un transect M'Sila-Djelfa (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Leyral, G., & Vierling, E. (2007). *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.
- Meyer, A., Leclerc, H., Deiana, J., & Leclerc, H. (1984). *Cours de microbiologie générale*. Doin.
- Mikušová, P., Šrobárová, A., Sulyok, M., & Santini, A. (2013). *Fusarium* fungi and associated metabolites presence on grapes from Slovakia. *Mycotoxin research*, 29(2), 97-102.

- Memmi, A., Sansa, G., Rjeibi, I., El, M. A., Srairi-Abid, N., Bellasfer, Z., & Fekhih, A. (2007). Use of medicinal plants against scorpionic and ophidian venoms. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 84(1-4), 49.
- Molinié, A., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2003). Les mycotoxines dans les céréales: les points importants de contrôle de la production au stockage, le devenir dans les produits dérivés. Laboratoire de Toxicologie et sécurité alimentaire-Auzeville-Tolosane. Note de l'ASEDISSO N o. spécial Mycotoxines, 9.
- Mauguière, M. (2007). Lexiguide des herbes et plantes aromatiques. Elcy, 288 p.
- Nabli, M. A. (1989). Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Faculté de Sciences de Tunis.
- Ourchival, J. M. (1992). Réponse de deux chamaephytes de la Tunisie présaharienne à différentes contraintes et perturbations (Doctoral dissertation, Thèse Doc. USTL, Montpellier).
- Passalacqua, N. G., De Fine, G., & Guarrera, P. M. (2006). Contribution to the knowledge of the veterinary science and of the ethnobotany in Calabria region (Southern Italy). Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 2(1), 52.
- Quyrou, A. (2003). Mise au point d'une base de données sur les plantes médicinales. Exemple d'utilisation pratique de cette base (Doctoral dissertation, Thèse de Doct. Univ. Ibn Tofail. Fac. Sci. Kénitra, Maroc).
- Rammal, H., Bouayed, J., Desor, F., Younos, C., & Soulimani, R. (2009). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique de *Hypericum perforatum* L. Phytothérapie, 7(3), 157-161.
- Champion, R. (1997). Identification des champignons transmis par les semences. Editions Quae.
- Ruppel, P., Delfosse, P., & Hornick, J. L. (2004). La contamination de la filière laitière par les mycotoxines: un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. Annales de Médecine Vétérinaire (vol.2, No148, pp 141-146).
- Rauter, A. P., Branco, I., Tosrão, Z., Pais, M. S., Gonzalez, A. G., & Bermejo, J. B. (1989). Flavonoids from *Artemisia campestris* subsp. Maritima. Phytochemistry, 28(8), 2173-2175.

- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., & Filtenborg, O. (1995). A Book Review—"Introduction to Food-borne Fungi". *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 15(7), 441-442.
- Sefi, M., Fetoui, H., Makni, M., & Zeghal, N. (2010). Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology*, 48(7), 1986-1993.
- Schulze, E. D., Hall, A. E., Lange, O. L., Evenari, M., Kappen, L., & Buschbom, U. (1980). Long-term effects of drought on wild and cultivated plants in the Negev desert. *Oecologia*, 45(1), 11-18.
- Tabuti, J. R., Lye, K. A., & Dhillon, S. S. (2003). Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *Journal of ethnopharmacology*, 88(1), 19-44.
- Van Pamel, E., Vlaemyneck, G., Heyndrickx, M., Herman, L., Verbeken, A., & Daeseleire, E. (2011). Mycotoxin production by pure fungal isolates analysed by means of an uhplc-ms/ms multi-mycotoxin method with possible pitfalls and solutions for patulin-producing isolates. *Mycotoxin research*, 27(1), 37-47.
- Wan, L. Y. M., Turner, P. C., & El-Nezami, H. (2013). Individual and combined cytotoxic effects of *Fusarium* toxins (deoxynivalenol, nivalenol, zearalenone and fumonisins B1) on swine jejunal epithelial cells. *Food and chemical toxicology*, 57, 276-283.
- Yiannikouris .A., & Jouany, J.P. (2002). Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal, *INRA Prod. Anim.*, 15 (1), 3-16.

ANNEXES

Annexe n°1

Composition des milieux de culture

Les milieux de culture ont été autoclaves à 120 °C pendant 20 minutes sous pression de 1 bar

Milieu PDA pH 6,5

Ce milieu est recommandé pour l'isolement et le dénombrement des moisissures et des levures des produits alimentaires (**Botton *et al.*, 1990**) Le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) est composé de pomme de terre, de glucose, et d'Agar-agar. La composition du milieu en condition d'asepsie totale est la suivante :

Pomme de terre	200g
Dextrose	20g
Agar agar	20g
Eau Distillée q.s.p.	1000ml

Milieu Agar 2 % (Downes et Ito, 2001).

Ce milieu de culture synthétique est recommandé pour l'isolement et le dénombrement des moisissures et des levures des produits alimentaires (**Botton *et al.*, 1990**). La composition du milieu en condition d'asepsie totale est la suivante :

Agar agar	20g
Eau Distillée q.s.p.	1000ml

Annexe n° 2

Questionnaire destiné aux vendeurs

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun -Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et Vie



Questionnaire d'enquête dans le but d'une étude sur la « Prévalence de contamination des feuilles séchées commercialisées de l'Armoise par des moisissures mycotoxinogènes »

Ce questionnaire d'enquête anonyme est établi dans le but d'une étude académique, préparé par les étudiants de Master 2 spécialité « Microbiologie Appliquée » et leur Promoteur.

Question 1 : Quel est le prix du produit ?

Question 2 : Quelle est la source du produit ?

Question 3 : Quelle est la durée moyenne de stockage

Question 4 : Quelle est la fréquence de rotation du produit?

Question 5 : Quelle est la matière par lequel est fabriqué le contenant ?

Question 6 : Quelle est la température moyenne du magasin ?

Question 7 : Est-ce que le magasin est ensoleillé ou humide ?

Question 8 : Quels sont les usages du produit ?

Question 9 : Pour quelle tranche d'âge peut-on utiliser le produit ?

Question 10 : En général, quelle est la quantité achetée ?

N.B : Chers étudiants, n'oubliez surtout pas de remercier infiniment le vendeur pour les informations nécessaires et pour le temps précieux qu'il vous a accordé.

Questionnaire destiné aux consommateurs

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun -Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et Vie



Questionnaire d'enquête dans le but d'une étude sur la prévalence de contamination des plantes aromatiques et médicinales par des moisissures mycotoxinogènes

Ce questionnaire d'enquête anonyme est établi dans le but d'une étude académique. Il est préparé par les étudiants de Master 2 « Microbiologie Appliquée » et leur Promoteur. Ce questionnaire ne vous prendra que quelques minutes et vos données resteront confidentielles. On vous remercie pour votre participation.

Dans quelle tranche d'âge vous situez vous ?

Moins de 25 ans De 25 à 40 ans De 40 à 60 ans Plus de 60 ans

Dans quelle catégorie socioprofessionnelle vous situez-vous ?

Étudiant Employé Profession libérale Retraité Sans emploi

Utilisez-vous des plantes aromatiques ou des produits à base de plantes aromatiques ?

Oui Non

Si oui, le(s)quel(s) ?

.....

Où achetez-vous principalement ces produits ?

.....

Avez-vous connaissance des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales ?

Oui Non

Combien de plantes médicinales connaissez-vous ?

.....

Avez-vous déjà utilisé des plantes médicinales pour traiter une affection ?

Oui Non

Si oui, précisez les plantes médicinales utilisées pour quelle affection traitée :

.....

Sous quelle forme utilisez vous ou avez vous utilisé les plantes médicinales ?

.....

A quelle fréquence utilisez-vous les plantes médicinales quelque soit leur forme ?

.....

Renoncerez-vous aux médicaments en faveur des plantes médicinales ?

.....

Si non, pour quel motif ?

.....

Où vous procurez-vous vos plantes médicinales et/ou produit à base de plantes médicinales ?

Dans la nature Pharmacie Magasin d'épices

Pensez-vous que ces produits peuvent avoir un effet néfaste sur la santé à long terme ?

Oui Non

Avez vous déjà ressenti des effets secondaires/indésirables durant ou après avoir suivi un traitement à base de plantes médicinales ?

Oui Non

Si oui, précisez :

.....

Prenez-vous considérations de l'état du magasin où vous achetez ces produits ?

Oui Non

Avez-vous demandé quelle est la durée du stockage du produit au vendeur ?

Oui Non

Sous quelle(s) forme(s) souhaiteriez-vous trouver ces produits?

Sachets Pots Vrac

Quel est pour vous le plus important ?

La qualité du produit Le prix du produit L'usage du produit L'emballage du produit

Si vous avez des remarques ou des suggestions, n'hésitez pas :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Nous vous remercions infiniment pour votre temps consacré et votre patience.

Annexe n° 3

Tableau n° 5: Pourcentage de la population isolée des feuilles d'armoise séchées et commercialisés de l'armoise dans la région de Tiaret

	Boîte 1	Boîte 2	Boîte 3	Pourcentage (%)
Medrissa	2	1	2	83,30
Tekhmaret	1	0	1	33,3
Frenda	2	1	0	50
Ain Elhadid	1	0	0	16,6
Maderssa	0	2	2	66,6
Cité 40 Logts.	1	0	0	16,6
Rebijou	1	1	0	33,3
Gare Routière	0	1	1	33,3
Chellala	1	0	0	16,66
Shajra	0	0	1	16,6

Tableau n° 6: Analyse de variance de la population fongique isolée des feuilles d'armoise séchées et commercialisées de l'armoise dans la région de Tiaret.

ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,46666666 7	2	0,23333333 3	0,4090909 1	0,67	3,354130829
A l'intérieur des groupes	15,4	27	0,57037037			
Total	15,8666666 7	29				

Tableau n° 7: Recueil de réponses des vendeurs.

	Medrissa	Tekhmaret	Ain el hadid	Ksar Challalh	Maderssa	Shajra	Rue bijoux	Frenda	40 logts.	Gare routière
Quel est le prix du produit ?	500 Da	1200 Da	50 Da	1000 Da	2000 Da	1000 Da	1000 Da	500Da	Ration sans pesée	1000 Da
Quelle est la source du produit ?	Forêt Ain El Hadid	La forêt	Sud	Sétif	Bayadh	Djelfa	Sahara	Sud	Sahara	Sahara
Quelle est la durée moyenne de stockage?	3 mois	2 à 3 mois	6 mois à 12 mois	12 mois	3 mois	12 mois	12 mois	12 mois	3 mois	12 mois
Quelle est la fréquence de rotation du produit?	20 à 25 jours	2 à 3 mois	1 année	1 année					3 mois	1 ans
Quelle est la matière par lequel est fabriqué le contenant ?	Carton	Bidon en plastique	Compartiment en plastique	bidon en plastique				Sachet plastique ouvert présenté à l'entrée du magasin	plastique	plastique
Quelle est la température moyenne	ambiante	ambiante	ambiante	ambiante	ambiante	Ambiante +	Ambiante +	ambiante	ambiante	ambiante

du magasin						climatiseur	climatiseur			
Est-ce que le magasin est ensoleiller ou humide ?	Sombre et humide	Ensoleiller	Ensoleiller et semi-humide	ensoleillé	Humide	Humide	Humide	sec	Aéré, sec et ensoleiller	Humide et sombre
Quels sont les usages du produit	diabète	diabète	Soulager les troubles digestifs / Débarrasser le glycémie les vert	l'infection- l'intoxication	Douleur abdominale / antibiotique	grippe	Diarhée / Diabète	Diabète / vertige / vomissement / Elimner les vers intestinaux	diabète	Appetit /Diabète / Parasite intestinaux / Grippe
Pour quelle tranche d'âge peut-on utiliser le produit ?	Tous les âges	Tous les âges	Tous les âges	Tous les âges	Tous les âges	Adultes	Tous les âges	Tous les âges	Tous les âges	Tous les âges
En général, quelle est la quantité achetée ?	50/100g	50g	Acheté en backage ou burdle	30g	25g	50g	50g	50g	50g	50g

Résumé

Ce travail a été effectué dans le but d'identifier les espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans les feuilles séchées d'armoise, commercialisés dans dix communes de la région de Tiaret. Ceci est dans l'objectif de réalisation d'enquête dans le but d'expliquer la prévalence et de contribuer à la réduction de la contamination des plantes aromatiques et médicinales par les moisissures mycotoxinogènes. Selon l'analyse mycologique, 10 types d'échantillon de des feuilles d'armoise ont été analysé. 30 isolats fongiques ont été isolés et identifiés sur milieu PDA, dont 15 isolats ont été choisis pour faire l'identification. L'étude macroscopique a permis de déterminer 4 genres de moisissures, qui sont : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria*.

Les réponses de vendeurs dans l'enquête donne une idée générale sur les principales causes de la croissance des moisissures mycotoxonogènes, comme premier idées l'absence des informations sur la plantes elle-même aussi ils n'ont respect pas les conditions de stockage. Les résultat d'enquête des consommateur obtenus constituent une source d'informations très précieuse pour la flore médicinale tels que l'armoise thym et leurs propriétés thérapeutiques pour traiter le diabète les troubles digestifs..., mais ils n'ont aucune idée sur les effets secondaires de ces plantes.

Mots clés : Armoise, moisissures, mycotoxines, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Altarnaria*.

ملخص

يندرج هذا العمل في إطار تحديد أنواع الفطريات التي تفرز سموم فطرية في الأوراق الشيح المجففة، التي يتم تسويقها في عشر محلات بلديات بمنطقة تيارت، لهذا الغرض قمنا بإجراء استبيان لمعرفة سبب انتشار هذه السموم في النباتات العطرية والطبية. تمت التحاليل على عشر عينات، تم العثور على 30 سلالة تنتمي إلى أربع أنواع من الفطريات وهي: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Altarnaria*.

أعطت نتائج الاستبيان مع البائعين فكرة عامة عن الأسباب الرئيسية لنمو الفطريات، المعلومة الأولى هي عدم وجود معلومات عن النباتات وعدم احترام شروط تخزينها. أعطت نتائج الاستبيان مع المستهلكين معلومة دقيقة على النباتات الطبية مثل الزعتر، الشيح وخصائصها العلاجية لعلاج اضطرابات الجهاز الهضمي والسكري... لكن ليس لديهم أي فكرة عن الآثار الجانبية لهذا النباتات.

الكلمات المفتاحية: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Altarnaria* الشيح، الفطريات، السموم الفطرية.

Abstract

This research was carried out in order to identify the fungal species potentially producing mycotoxins in the dried leaves of sagebrush, commercialised in ten localities in Tiaret region. This is for the purpose of carrying out a survey in order to explain the prevalence and contribute to the reduction of the contamination of aromatic and medicinal plants by mycotoxinogenic molds. According to mycological analysis, 10 types of sample of sagebrush leaves were analyzed. 30 fungal isolates were isolated and identified on PDA media, of which 15 isolates were chosen for identification. The macroscopic study was performed to identify fungal isolates. This study allowed us to identify fungal genera : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Alternaria*.

The answers of sellers in the survey gives a general idea on the main causes of the growth of mycotoxinogenic molds, as first ideas the absence of information on the plants and even they also did not respect the storage conditions. The consumer survey results obtained constitute a very valuable source of information for medicinal flora such as sagebrush thyme and their therapeutic properties for treating diabetes digestive disorders..., but they have no idea about the side effects of these plants.

Key words :sagebrush, Fungi, Mycotoxins, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*.