

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 :

ASNOUN Hanane

AYACHI Amel Khadidja

BELLEMEDJAHED Asmaa

Thème

**Prévalence de contamination des feuilles
séchées commercialisées du Thé vert par des
moisissures mycotoxinogènes**

Soutenu le 29/06/2020

Jury :

Grade

Président : Mr. FETOUHI B.

« MCB »

Encadrant : Mr. YEZLI W.

« MCA »

Co-encadrant : Mr. BENSAID M. O.

« MCA »

Examineur : Dr. ALI NEHARI A.E.K.

« 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.*

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à notre

***Promoteur Dr. YEZLI W.** pour ses conseils, ses encouragements, sa patience, sa compétence, sa gentillesse, ses qualités humaines et scientifiques resteront pour nous un exemple, qui nous ont permis de bien mener ce travail. Le suivi et l'orientation dont nous avons pu bénéficier. Nous sommes constamment impressionnés de constater à quel point il nous a poussé pour atteindre nos buts et d'avoir identifié et stimulé nos potentiels.*

Nos remerciements les plus sincères vont également à notre

***Co-promoteur Dr. BENSAID M.O.** Veuillez trouver ici l'expression de nos profonds sentiments de respect pour le soutien que vous n'aviez cessé de nous porter.*

*Nos remerciements vont au président de jury **Dr. FETOUHI K.**, merci de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aussi à **Dr. ALI NEHARI A.E.K.** qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillance et nous en sommes très honoré.*

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

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

*On ne saurait pas oublier tous les enseignants et les étudiants qui nous ont aidé et participé dans notre enquête, surtout **Mr. Wassini**, merci.*

Dédicaces

A mes chers parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A ma deuxième maman Amina pour toute son assistance et sa présence dans ma vie .

A mes frères et sœurs :

Mes frères AbdeRahman , AbdelMadjid, et Abdenour ,mes sœurs Nacéra ,Fouzia, Karima et kheira qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A mes neveux et nièces :

Fleurs et hirondelles vous faite mon printemps .

Mes Cousins Mohamed , Djenidi et khaled ,mes cousines Wafaa et Alia

A toute la famille Asnoun et Bentamra

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé :

Hafsa (sis),Joulia(sm),Ma chère Leila (bi) , ma fleur Samira

Malika(kk), , Sara(SR), Habiba (BZ),Basma(Skr)

A toutes mes amies.

*A mon trinôme
Amel et Asma*

Merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

Hanane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère ,Ghiam Khaldia** ma raison d'être, ma raison de vivre.*

pour sa gentillesse et ses sacrifices pour jouer le rôle du père et de mère au même

temps, pour tous les bonheurs qu'elle me donne

pour tout le courage et toutes les peines qu'ils m'ont fait avancer

dans mon chemin.

A mon cher frère **Mohamed Amine qui a toujours là*

pour m'aider et donner des conseils

A mon nouveau neveu **Rayen et sa maman*

A ma cousine **Naima et à ses petites filles*

**A toute ma famille*

A ma chère amie **Samira*

A mon trinôme **Hanane et **Asma** merci pour les bons moments*

qu'on a passé ensemble.

**Et pour tous ceux qui ont contribué de près ou de loin*

pour que ce projet soit possible .

Amel Khadidja

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers et respectueux parents que dieu les protège et les garde en santé.

Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.

*A mes très chers frères **HICHEM** et **AMINE***

*A mes sœurs **BOCHRA** et **CHOROUK** Pour leurs soutiens multiforme Je vous souhaite tout le succès et tout le bonheur.*

*A ma chère copine **HAYET**, merci de m'avoir encouragé et m'aider*

*A mon trinôme **HANANE** et **AMEL***

merci pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

A tous ceux qui m'ont consacré du temps, patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

Asmaa

TABLE DES MATIÈRES

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

CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur le thé vert.....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. Usages thérapeutiques.....	3
I.1.3. Caractéristiques du thé vert.....	3
I.2. Généralités sur les champignons toxigènes.....	4
I.2.1. Définition des mycètes.....	4
I.2.2. Reproduction du mycètes.....	4
I.2.3. Caractères morphologiques et physiologiques.....	4
I.2.4. Principaux genres mycotoxinogènes.....	5
I.3. Généralités sur les mycotoxines.....	5
I.3.1. Définition.....	5
I.3.2. Facteurs favorisant la mycotoxinogénèse	5
I.3.2.1. Facteurs intrinsèques.....	5

I.3.2.2. Facteurs extrinsèques	5
A- Température.....	5
B- pH des aliments.....	6
C- Disponibilité en eau.....	6
D- Substrat.....	6
I.3.2.3. Facteurs biologiques.....	6
A- Prédateurs.....	6
B- Interactions entre micro-organismes.....	6
I.3.3. Principales mycotoxines mycotoxines.....	6

CHAPITRE II : MATÉRIEL & MÉTHODES

II.1. Objectif du travail.....	7
II.2. Lieu et date de travail.....	7
II.3. Matériel utilisé	7
II.3.1. Matériel biologique.....	7
II.3.2. Milieux de culture.....	7
II.3.3. Autre matériel.....	7
II.4. Protocole expérimental.....	9
II.4.1. Échantillonnage.....	10
II.4.2. Isolement des champignons à partir des feuilles séchées de thé vert	10
II.4.3. Repiquage des isolats	11
II.4.4. Purification des isolats.....	11

II.4.5. Identification des isolats	11
II.4.6. Identification macroscopique	12
II.4.7. Identification microscopique.....	12
II.4.6. Déroulement de l'enquête	12
II.4.6.1. Questionnaire commerçants.....	12
II.4.6.2. Questionnaire consommateurs.....	12
II.4.6.3. Etude statistique	13

CHAPITRE III : RÉSULTATS & DISCUSSION

III.1. Isolement et purification d'isolat	14
III.2. Identification des isolats.....	14
III.2.1. Identification macroscopique.....	14
III.3. Déroulement de l'enquête.....	18
III.3.1. Questionnaire commerçants.....	18
III.3.1.1. Durée de stockage et le taux de rotation	18
III.3.1.2. Contenant de stockage.....	19
III.3.1.3. Température de stockage.....	20
III.3.1.4. Ensoleillement des magasins	20
III.3.2. Questionnaire consommateurs	21
III.3.2.1. Catégorie socioprofessionnel.....	21
III.3.2.2. Utilisation des plantes médicinales et aromatiques	21
III.3.2.3. Connaissances de propriétés thérapeutiques plantes	22

III.3.2.4. Effets néfastes.....	23
III.3.2.5. Demande d'information sur la durée de stockage	23
III.3.2.6. Emballage	24
III.3.2.7. Paramètres les plus importants pour le consommateur	24
III.4. Discussion	25
Discussion générale.....	25
Conclusion.....	28
Références bibliographiques.....	30
Annexes.....	35

Liste des Tableaux

Tableau n° 01 :	Appareillages, verrerie et matériel utilisé.....	11
Tableau n° 02 :	Examen macroscopique des moisissures sur le milieu PDA.....	19
Tableau n° 03 :	Pourcentage de la population fongique isolée	42
Tableau n° 04 :	Analyse de variance de la population fongique isolée des différentes localités	42

Liste des Figures

Figure n° 01 :	Schéma du protocole expérimental.....	9
Figure n° 02 :	Échantillons du thé vert.....	10
Figure n° 03 :	Isolement des moisissures avant l'incubation à partir de feuilles séchées de thé vert.....	10
Figure n° 04 :	Préparation des dilutions décimales.....	11
Figure n° 05 :	Pourcentage de la population fongique pour chaque échantillon.....	14
Figure n° 06 :	Repiquage des champignons à partir des feuilles séchées de thé vert.....	15
Figure n° 07 :	Durée de stockage et taux de rotation aux différentes localités.....	19
Figure n° 08 :	Représentation du contenant d'emballage utilisé.....	19
Figure n° 09 :	Température de stockage des produits.....	20
Figure n° 10 :	pourcentage de l'humidité pour chaque localité.....	20
Figure n° 11 :	Répartition de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques selon la catégorie socioprofessionnelle.....	21
Figure n° 12 :	Diagramme d'utilisation des plantes médicinales et aromatiques.....	22
Figure n° 13 :	Connaissances des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques.....	22

Figure n° 14 :	Diagramme des personnes ayant connaissance sur les effets néfastes des plantes en études.....	23
Figure n° 15 :	Demande d'information sur la durée de stockage des produits.....	23
Figure n° 16 :	Les types d'emballage souhaité par les acquéreurs des produits en études.....	24
Figure n° 17 :	Paramètres d'importance des produits en étude.....	24
Figure n°18 :	Répartition des prix du thé vert aux différentes localités.....	40
Figure n°19 :	Répartition des quantités du thé vert acheté aux différentes localités.....	40
Figure n°20 :	Répartition des tranches d'âges des consommateurs participant à l'enquête.....	41
Figure n°21 :	Répartition des sources d'obtention des plantes médicinales et aromatiques.....	41
Figure n°22 :	Répartition du nombre de plantes médicinales et aromatiques connu par nos.....	41
Figure n°23 :	Répartition de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques par les consommateurs en étude.....	42
Figure n°24 :	Répartition des demandes sur l'état du magasin.....	42

Liste des abréviations

J : jour

PDA: Potato Dextrose Agar

ATB: Antibiotique

ANOVA: Analysis Of Variance

M.safa: Machraa safa

R. bijoux: Rue bijoux



INTRODUCTION

Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médicamenteux moderne (Tabuti *et al.*, 2003).

En effet, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2007), plus de 80% de la population africaine dépendent encore des médecines traditionnelles pour leur sécurité médicale (Kandé Brahim *et al.*, 2017).

Le thé était un remède médicamenteux, il est devenu boisson. Il y a un charme subtil dans le goût du thé qui le rend irrésistible et le prête à l'idéalisation (Okakura, 2003).

Il est obtenu par infusion des feuilles de théier ou *Camellia sinensis*, est après l'eau la boisson la plus consommée dans le monde entier (Krieps, 2009).

Les composantes bénéfiques du thé vert, connues sous le nom de catéchines, sont dotées de propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Le thé vert s'est révélé efficace pour réduire le risque des maladies coronariennes et de crise cardiaque, vu que les catéchines réduisent le taux sanguin du cholestérol LDL oxydé (mauvais cholestérol) qui contribue à l'apparition de l'athérosclérose (Benaskeur et Belhour, 2014).

En plus les thés verts contiennent de la théanine, un acide aminé, reconnu comme un antistress mental et physique, un certain nombre de polyphénols jouant le rôle d'antioxydant (Kabouche, 2010).

Après leur récolte, les feuilles du théier, appelées par abus de langage « feuilles de thé », sont commercialisées en trois grandes familles : les thés noirs, les thés verts et les thés oolong. Tous proviennent des feuilles de *Camellia sinensis*, de variété *sinensis* ou *assamica* ; mais diffèrent par le procédé de manufacture. Le thé vert est le thé le plus consommé en Chine, les feuilles sont simplement roulées et séchées après la cueillette (Aurélien, 2007).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, de faible poids moléculaire, présentes dans plusieurs produits de l'alimentation humaine et animale et qui provoquent de nombreuses maladies chez l'Homme et l'animal (Meyer *et al.*, 2004).

Mais la contamination des moisissures sur les aliments ne signifie pas obligatoirement la présence de mycotoxines. La production des mycotoxines peut s'effectuer depuis le champ jusqu'à l'assiette. Cependant, le type de mycotoxines contaminant les aliments ainsi que la quantité de mycotoxine produite dépendent de plusieurs éléments comme les espèces

fongiques, les conditions écologiques dans lesquelles les champignons se développent. Il dépend également de la stabilité de ces toxines dans le milieu alimentaire (Minhtri, 2007).

En général, plus d'une mycotoxine vont être trouvées sur un substrat contaminé. Quelques moisissures sont capables de produire plusieurs mycotoxines et quelques mycotoxines sont produites par différentes espèces fongiques (Hussein, 2001). Les facteurs qui affectent la formation de mycotoxines incluent la teneur en eau, la température, le temps de stockage, les dommages aux enveloppes des graines, la présence d'oxygène et de dioxyde de carbone, la composition du substrat, la prédominance d'espèces toxigènes, la dispersion des spores, les interactions microbiennes et la présence d'insectes (Pitt *et al.*, 1997).

Nous avons fixés comme objectif de notre travail de rassembler le maximum d'informations concernant les feuilles séchées de thé vert dans la région de Tiaret, et cela à travers des enquêtes, en plus des recherches bibliographiques dans le domaine.

L'étude a été répartie en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique mettant l'accent sur un constat général sur le thé vert, les moisissures et les mycotoxines.
- ✓ Le deuxième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisés ; et la réalisation d'une enquête sur terrain, basée sur deux questionnaires l'un auprès des herboristes de la wilaya de Tiaret et l'autre auprès des consommateurs.
- ✓ Le troisième chapitre présente et discute les résultats obtus durant cette étude. Puis nous avons terminé par une conclusion générale.



Chapitre I :
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralités sur le thé vert

I.1.1. Définition

Le thé (*Camellia sinensis*) est une plante cultivée presque exclusivement pour le plaisir de la boisson. Elle est peut-être la plante médicinale la plus sous-estimée au monde. De nombreuses études soulignent les propriétés bienfaites de la feuille de thé, notamment le thé non fermenté vert ou blanc. Ceux-ci sont riches en poly-phénols qui ont une puissante action antioxydante. L'une des légendes entourant le thé a pour héros Shen Nung, un empereur chinois du III^e siècle avant J.C (Marthe K 2009).

I.1.2. Usages thérapeutiques

Le thé vert est utilisé comme stimulant traditionnel doux, car son taux modéré de caféine augmente la concentration mentale et agit comme un remontant, comme le café. Le thé était utilisé comme un remède au mal de tête, mais le café est probablement plus efficace à cet égard (Benaskeur et Belhour, 2014).

Le thé a des propriétés toniques et chauffantes appréciées des travailleurs exposés au froid. Il est préférable de l'éviter pendant le syndrome prémenstruel. Les recherches ont démontré que la caféine aggrave les symptômes et il est déconseillé pendant la ménopause car il peut augmenter les bouffées de chaleur (Chevallier, 2007).

Les parties utilisées sont les bourgeons foliaires (jeunes feuilles). Il a des propriétés antioxydantes, astringentes, diurétiques et stimulantes (Kebabi, 2015).

I.1.3. Caractéristiques du thé vert

Le thé vert est cultivé principalement en Inde au Sri Lanka et en Chine. Les feuilles sont récoltées au cours de toute l'année (Larfi et Khiri, 2015).

Les études récentes suggèrent que les composés poly-phénoliques pourraient stimuler la fertilité chez les femmes en buvant une ou deux tasses de thé par jour (Chevallier, 2007).

Les poly-phénols qu'il contient combattent l'infection et tonifient la paroi interne des intestins. La médecine chinoise traditionnelle traite les diarrhées et la dysenterie avec du thé associé à d'autres plantes (Saadallah et Kebabi, 2015).

Il n'existe pas de contre-indications pour le thé. Son usage traditionnel est très important. Il est aussi utilisé en infusions, comprimés, capsules et gélules. La posologie recommandée de ces derniers est 3 à 7.5g par jour, mais il faut éviter les doses excessives avec un maximum de 30 g par semaine (Chevallier, 2007).

I.2. Généralités sur les champignons toxogènes

I.2.1. Définition des mycètes

Les mycètes sont des organismes eucaryotes, composés de cellules avec un noyau délimité par membrane, uni ou pluricellulaire, chimiohétérotrophe, comprenant des espèces microscopiques (ou moisissures) et des espèces macroscopiques (champignons supérieurs) porteurs de spores et capable de se reproduire par mode sexuée et/ou asexuée (Martin, 2012).

I.2.2. Reproduction du mycètes

La reproduction chez les mycètes s'effectue par la formation de spores, de manière asexuée ou de manière sexuée. Les mycètes filamenteux pouvant se produire de manière asexuée par fragmentation de leurs hyphes ou par formation de spores asexuée. La spore se détache de la cellule mère et après germination la cellule se développe et forme un nouvel individu. Les mycètes produisent plus souvent de spores asexuées que des spores sexuées. Les spores étant d'une importance pour l'identification des mycètes (Martin, 2003).

I.2.3. Caractères morphologiques et physiologiques

Les champignons présentent une combinaison de caractéristiques qui justifie la création d'un règne séparé parmi les eucaryotes.

De nombreux champignons sont pluricellulaires et composés de longs filaments appelés hyphes. Certains hyphes appelés hyphes cloisonnés, sont divisés par des membranes internes, les cloisons ont habituellement des nano-pores assez large pour permettre le passage de petits organites. Les autres hyphes n'ont pas de cloisons et sont cœnocytiqes, avec de nombreux noyaux dans le même cytoplasme. Toutes les hyphes de champignon forment des amas entrelacés appelés mycélium (Nabors, 2008).

Les champignons sont hétérotrophes, ils absorbent leurs aliments après les avoir réduits en petites molécules. Ils ont un mode de vie saprophyte où ils se nourrissent de matière organique morte, ou bien parasite où ils vivent alors aux dépens d'un autre organisme vivant.

I.2.4. Principaux genres mycotoxinogènes

- ✓ Genre *Penicillium*
- ✓ Genre *Aspergillus*
- ✓ Genre *Fusarium*
- ✓ Genre *Alternaria*
- ✓ Genre *Claviceps*

I.3. Généralités sur les mycotoxines

I.3.1. Définition

Le terme mycotoxines désigne des substances naturelles produites par un métabolisme secondaire des moisissures tout en exerçant un pouvoir toxique réel pour le consommateur. Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, généralement non dégradables par les organismes vivants et très stables à la chaleur (jusqu'à 250°C), puisque nous pouvons les retrouver dans les aliments après cuisson ou même après stérilisation et aux pH extrêmes. Leur durée de vie dans l'aliment est plus longue que celles des moisissures les ayant synthétisées. Les métabolites secondaires des moisissures ne sont pas tous des mycotoxines (Tebibel *et al.*, 2012).

I.3.2. Facteurs favorisant la mycotoxinogénèse

I.3.2.1. Facteurs intrinsèques

La nature et la qualité des mycotoxines dépendent des espèces qui les synthétisent. Elles diffèrent selon leurs caractères génétiques et leurs milieux écologiques (Tebibel *et al.*, 2012).

I.3.2.2. Facteurs extrinsèques

A- Température

Les champignons sont généralement mésophiles. Leur croissance hyphale est optimale entre 25 et 30°C, elle est souvent faible à moins de 5°C et plus de 35°C (Tebibel *et al.*, 2012).

B- pH des aliments

La plupart des champignons se développent normalement à des pH compris entre 3 et 8, leur croissance optimale étant généralement obtenue pour des pH compris entre 5 et 6 (Amani, 2016).

C- Disponibilité en eau

L'humidité favorise le développement des moisissures. Pour son maintien en vie, le mycélium doit trouver de l'eau libre (A_w) pour poursuivre sa croissance. Les valeurs caractéristiques de ce facteur permettant le développement des moisissures s'échelonnent de 0,70 à 0,99 (Boudali, 2010).

D- Substrat

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines. En effet, un taux élevé de sucres et/ou de lipides est favorable à la toxinogénèse (Tebibel *et al.*, 2012).

I.3.2.3. Facteurs biologiques

A- Prédateurs

Les insectes et les acariens interviennent indirectement dans la production de mycotoxines en étant des vecteurs de spores de moisissures (Heit, 2015).

B- Interactions entre micro-organismes

La présence simultanée de micro-organismes (bactéries et champignons) module la production de mycotoxines (Tebibel *et al.*, 2012).

I.3.3. Principales mycotoxines

L'aflatoxine, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes, la zéaralénone et la patuline.



Chapitre II :
MATÉRIEL & METHODES

II.1. Objectif du travail

L'objectif de ce travail est d'étudier la prévalence de contamination des feuilles séchées et commercialisés du thé vert dans différentes régions de Tiaret par des moisissures productrices de mycotoxines, ainsi de contribuer à la réduction de risque de contamination du produit par des métabolites qui ont un impact nocif sur la santé humaine.

II.2. Lieu et date de travail

Le travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun, Tiaret, durant la période du 02/03/2020 jusqu'au 12/03/2020. Le travail au laboratoire a dû d'arrêter en cette date à cause de la pandémie Covid-19.

II.3. Matériel utilisé

II.3.1. Matériel biologique

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé dix (10) échantillons de feuilles de thé vert séchées et commercialisées à différentes régions à Tiaret.

II.3.2. Milieux de culture

Deux milieux ont été utilisés pour l'isolement et la purification des moisissures à partir de thé vert, le milieu PDA et le support Agar 2%, respectivement (Annexe1).

II.3.3. Autre matériel

L'appareillage et la verrerie utilisés dans notre travail sont illustrés dans le Tableau n° 1.

Tableau n° 1 : Appareillages, verrerie et matériel utilisé.

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

II.4. Protocole expérimental

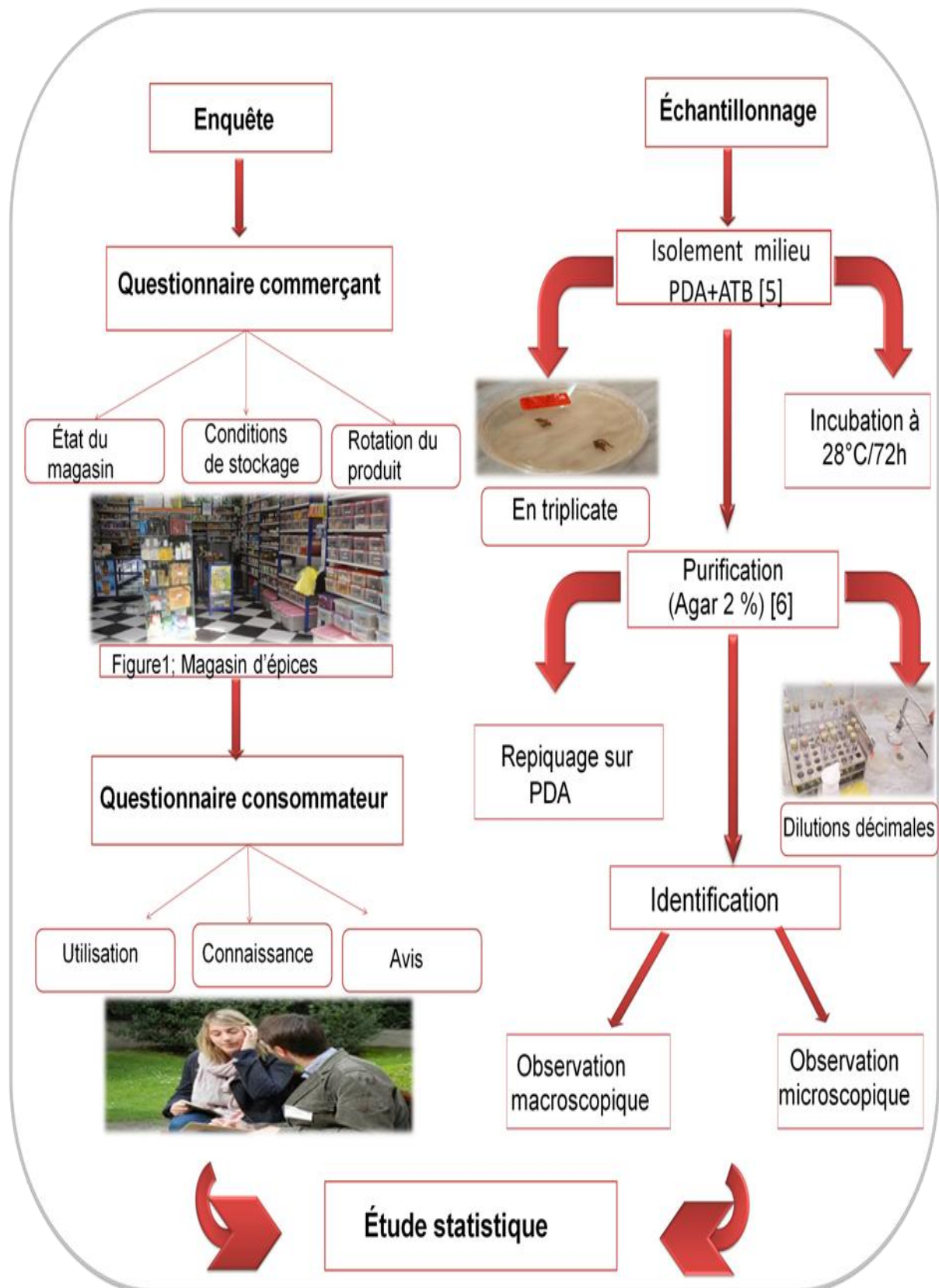


Figure n° 01 : Schéma du protocole expérimental.

II.4.1. Échantillonnage

Notre étude a été réalisée sur les feuilles séchées de thé vert qui ont été collectées en suivant une enquête et à partir de dix (10) communes de la wilaya de Tiaret, cinq (5) de la banlieue de Tiaret (Frenda, Medrissa, Takhmaret, Machra Sfaa et Ain Hadid) et cinq (5) de Tiaret-ville (Volani, Rue Bijou, Ali Bekhatou, Medarssa et le centre ville) (Figure n° 2).



Figure n° 02 : Échantillons du thé vert.

II.4.2. Isolement des champignons à partir des feuilles séchées de thé vert

Pour l'isolement des champignons, nous avons désinfecté les feuilles séchées de thé vert avec l'hypochlorite de sodium (l'eau de javel 13° dilué à 30 %) pendant trois minutes, pour éliminer les bactéries. Ensuite, les feuilles du thé ont été rincées quatre (4) fois avec l'eau distillée stérilisée pour éliminer les traces de l'eau javel. Après, nous avons déposé deux feuilles de thé pour chaque échantillon dans trois boîtes de Pétri (en triplicata) contenant le milieu PDA plus ATB (cefazoline) pour l'élimination des bactéries, ce qui permet donc un isolement sélectif des champignons (Dendouga, 2006). Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 5 J (Figure n° 03).



Figure n° 03 : Isolement des moisissures avant l'incubation à partir de feuilles séchées de thé vert.

II.4.3. Repiquage des isolats

Après incubation, les isolats ont été repiqué à l'aide d'une anse de platine stérile en coupant un fragment de gélose fongique et le mettant dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA + ATB. Les boîtes ont été incubées à 28°C pendant 3 J.

II.4.4. Purification des isolats

Pour obtenir des souches pures, nous avons procédé à la culture monospore (Adjou et Soumanou, 2013), en utilisant les dilutions décimales pour décharger la concentration sporale.

Pour chaque isolat, nous avons préparé dans des tubes de 9 ml de l'eau distillée stérilisée. Un fragment de l'isolat a été inoculé dans le premier tube pour obtenir la dilution (10^{-1}). Après agitation vigoureuse au vortex (pour libérer les conidies), 1 ml de la première dilution a été introduit dans un deuxième tube pour obtenir la dilution (10^{-2}). Un volume de 0.1 ml a été étalé sur le support agar 2%. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 28°C pendant 3 J (Figure n° 04).

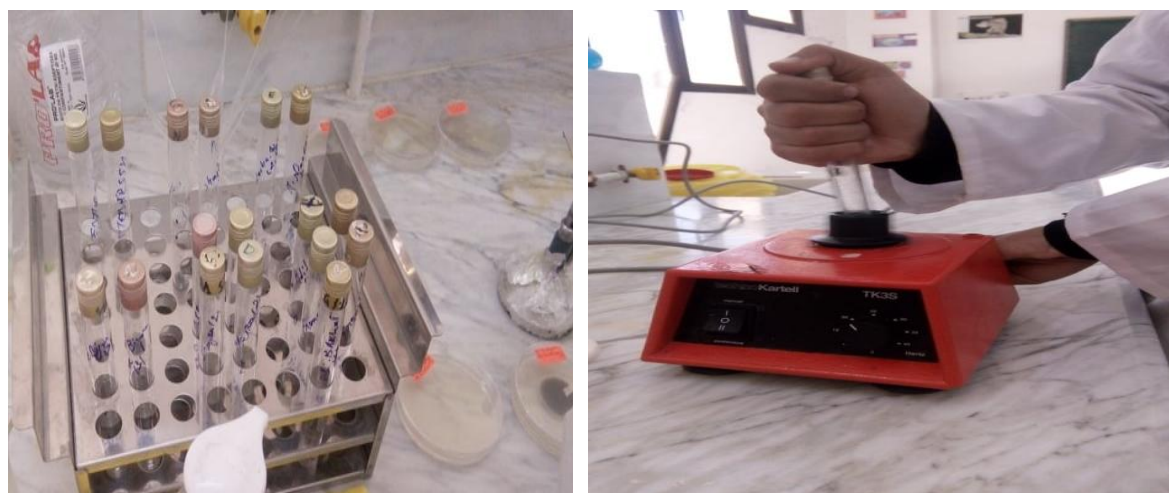


Figure n° 04 : Préparation des dilutions décimales.

II.4.5. Identification des isolats

L'identification des moisissures est réalisée par une observation macroscopique et une observation microscopique.

II.4.6. Identification macroscopique

Cette identification se fait à l'œil nue et elle se base essentiellement sur des caractères culturels des colonies : la taille, le relief, l'aspect (filamenteux, collant, ...), leur transparence (opaque ou translucide), l'allure des contours et la pigmentation (Boudih, 2011).

II.4.7. Identification microscopique

L'identification microscopique est effectuée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile. Puis le fragment est déposé sur une lame en lui ajoutant le Bleu de Méthylène, ensuite recouvert d'une lamelle ; L'observation est effectuée au microscope optique. L'étude microscopique est basée sur l'absence ou présence de cloisons, couleur des filaments mycéliens, mode de ramification des cloisons (Ghorri, 2015).

II.4.6. Déroulement de l'enquête

Cette enquête a été réalisée dans le but de contribuer à la réduction de la contamination par les mycotoxines. Elle a porté sur un questionnaire destiné aux vendeurs et une observation des locaux et des conditions de stockage, ainsi qu'un questionnaire destiné aux consommateurs.

II.4.6.1. Questionnaire commerçants

Notre enquête a été réalisée à dix sites de la wilaya de Tiaret, cinq de la banlieue de Tiaret et cinq de Tiaret -ville.

Cette sorte a été pour un but d'acheter l'échantillon (thé vert) et bien résume la situation de locale, les conditions de stockage, la communication avec le vendeur comment ça ce fait, et bien sûr posé des questions les vendeurs devaient donner toutes les informations relatives aux plantes achetées (Annexe 2).

II.4.6.2. Questionnaire consommateurs

Ce questionnaire a été lancé en Mars 2020 à Tiaret auprès de 75 personnes de différents âges qui vise notamment à avoir des informations plus précises sur l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques les consommateurs ont été enquêtés aussi avec 19 questions concernant les plantes médicinales en général (Annexe 2).

II.4.6.3. Etude statistique

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

Tout cela pour déterminer la prévalence de contamination des feuilles séchées de thé vert commercialisé dans les herboristes de la wilaya de Tiaret.



Chapitre III :
RÉSULTATS & DISCUSSION

III.1. Isolement et purification d'isolat

Une biodiversité fongique assez importante a été observée après 5 jours d'incubation à 28°C dans 8 régions, chaque une avec un pourcentage indiquée dans le Tableau n° 02 (Annexe 3). Nous avons obtenu 50 % à Ain El Hadid ; 33,33 % à Ali Bekhatou, M. safa et centre-ville ; 16,67 % à El Medarssa, R. bijoux, Volani et Frenda ; par contre, à Takhmert et Medrissa il y a eu absence de contamination. D'après les résultats obtenue nous pouvons dire que le thé vert est moins contaminée au El Medarssa, R. bijoux, Volani et Frenda par rapport aux autre communes (Figure n°5 ci-dessous et Tableau n° 3, Annexe 3). Les résultats de l'analyse de variance ont montré qu'il n'y a pas de différence significative dans les populations fongiques entre les différentes localités ($P < 0.05$) (Tableau n° 4, Annexe 3).

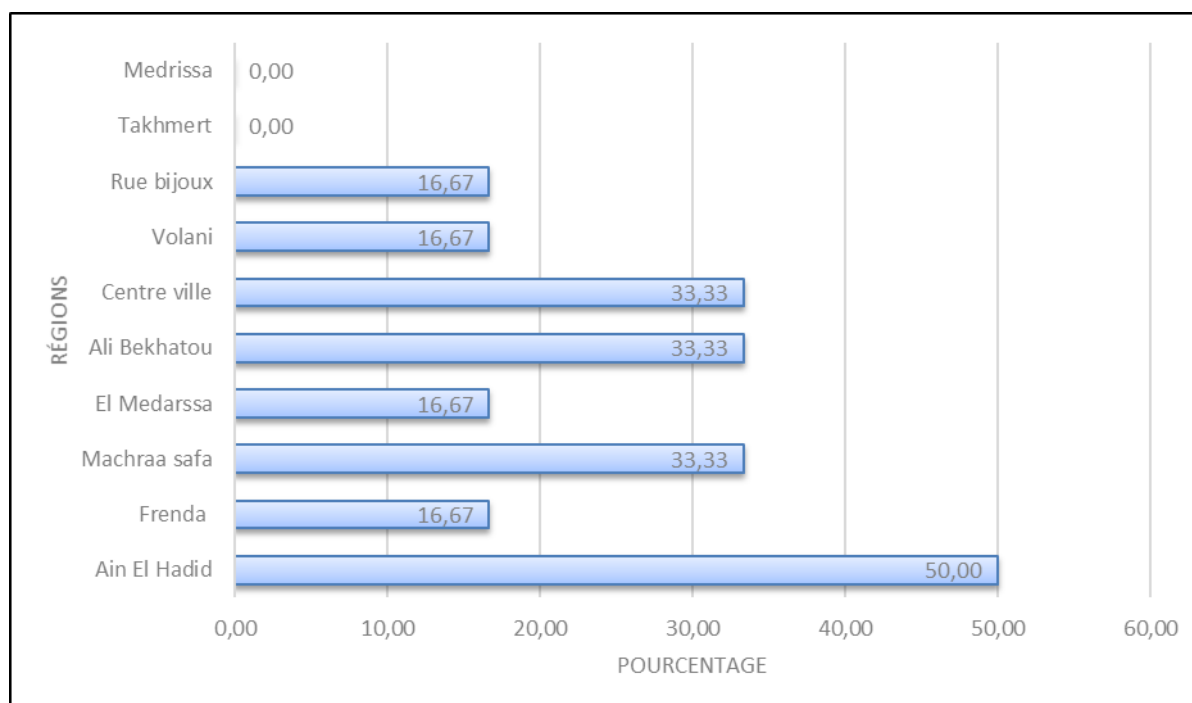


Figure n° 05 : Pourcentage de la population fongique pour chaque échantillon.

III.2. Identification des isolats

La purification des isolats par culture monospore, nous a permis d'identifier les caractères macroscopiques (Figure n° 06).

II.2.1. Identification macroscopique

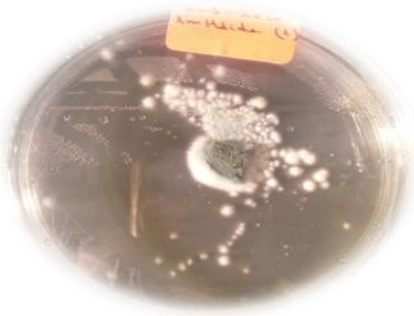
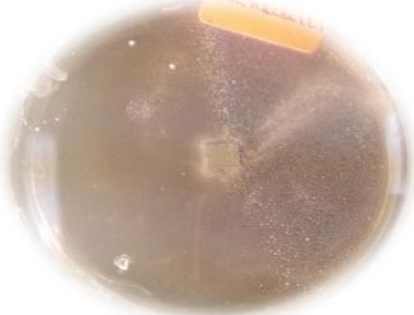
Après l'isolement et la purification de ces moisissures sur milieu PDA, des études macroscopiques ont été effectuées pour identifier les souches.




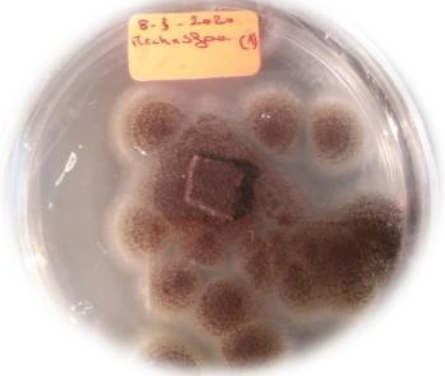
Ces études ont permis de déterminer treize (13) isolats appartenant à quatre (4) genres de moisissures, qui sont *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Mucor*. L'identification se fait à l'œil nu et elle se base essentiellement sur les caractères suivant : la vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente), la texture des colonies, la couleur des colonies, la couleur du revers de la culture, le mode de reproduction (Tableau n° 2).

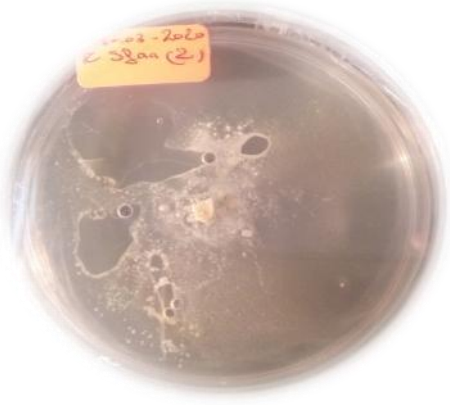
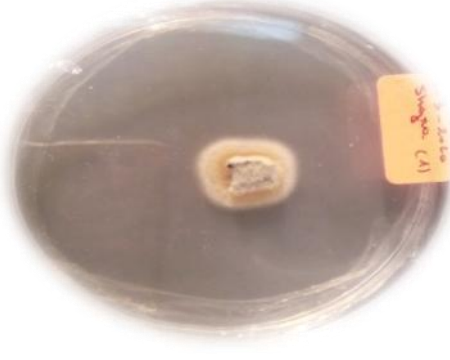
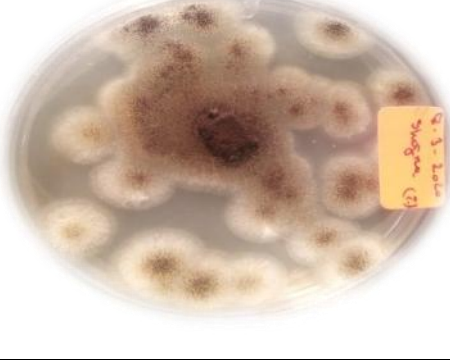
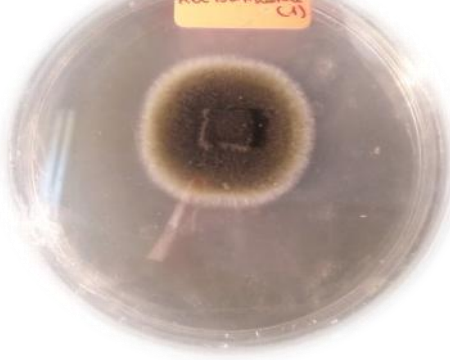


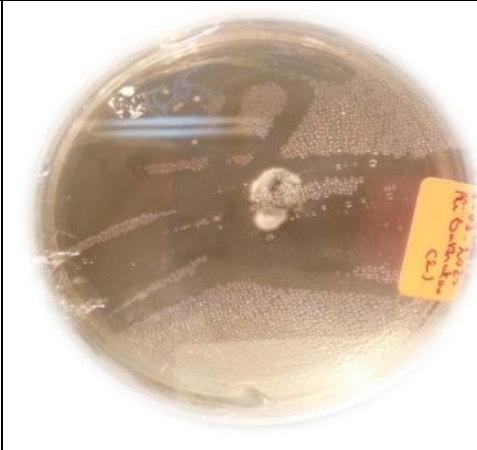


Figure n° 06 : Repiquage des champignons à partir des feuilles séchées de thé vert.

Tableau n° 2 : Examen macroscopique des moisissures sur le milieu PDA

Localités	Observation macroscopique	Caractères macroscopiques	Genre
<i>Ain El Hadid</i>		Couleur : contour gris, vert au centre. Aspect : cotonneuse. Diamètre : 1,6cm Croissance : moyenne	<i>Penicillium</i>
		Couleur : contour blanc, vert au centre Diamètre : 1,1cm Aspect : cotonneuse. Croissance : lente	<i>Penicillium</i>

		<p>Couleur : contour blanc crème, gris foncé au centre</p> <p>Aspect : cotonneuse</p> <p>Diamètre : 3,3cm</p> <p>Croissance : lente</p>	<i>Alternaria</i>
<i>Rue bijoux</i>		<p>Croissance : lente</p> <p>Couleur : contour blanc, rose au centre</p> <p>Aspect : cotonneuse</p> <p>Diamètre : 1,3 cm</p>	<i>Fusarium</i>
<i>Frenda</i>		<p>Croissance : assez lente</p> <p>Couleur : vert</p> <p>Aspect : cotonneuse</p> <p>Diamètre : 0,7 cm</p>	<i>Alternaria</i>
<i>Mechraa Safa</i>		<p>Couleur : contour blanc, noir au centre</p> <p>Aspect : granuleux au centre cotonneux, au contour.</p> <p>Diamètre : 5,7cm</p> <p>Croissance : rapide</p>	<i>Mucor</i>

		<p>Couleur : blanc crème</p> <p>Aspect : granuleux</p> <p>Diamètre : 0,4 cm</p> <p>Croissance : rapide</p>	<i>Fusarium</i>
Centre ville		<p>Couleur : contour blanc, cercle jaune, et vert au centre</p> <p>Aspect : cotonneuse</p> <p>Diamètre : 3cm</p> <p>Croissance : lente</p>	<i>Fusarium</i>
		<p>Couleur : contour blanc, cercle jaune, et vert au centre</p> <p>Aspect : cotonneuse</p> <p>Diamètre : 3cm</p> <p>Croissance : lente</p>	<i>Mucor</i>
Ali Bekhatou		<p>Couleur : contour blanc, noir au centre</p> <p>Aspect : granuleux au centre, cotonneuse au contour.</p> <p>Diamètre : 3,7cm</p> <p>Croissance : rapide</p>	<i>Alternaria</i>

		Couleur : contour blanc, vert au centre Aspect : cotonneuse Diamètre : 2,8cm Croissance : Moyenne	<i>Penicillium</i>
<i>Volani</i>		Couleur : contour blanc, vert claire au centre Aspect : cotonneuse Diamètre : 1,5 cm Croissance : assez lente	<i>Penicillium</i>
<i>EL Medarssa</i>		Couleur : contour blanc, vert claire au centre. Aspect : cotonneuse Diamètre : 1,2 cm Croissance : moyenne	<i>Fusarium</i>

III.3. Déroulement de l'enquête

III.3.1. Questionnaire commerçants

III.3.1.1. Durée de stockage et le taux de rotation

D'après les résultats présentés dans la Figure n° 07 on voit clairement qu'il ya une variation de durée du stockage, et la durée la plus élevée est enregistrés à Volani avec 36 mois, ainsi que chez les localités (Centre-ville, Machraa Sfaa, Ain El Hdid et Medrissa) avec une moyenne de 12 mois ; Ali bakhatou 6 mois et les autres localités ayant enregistré une durée moins de 3 mois.

En revanche, le taux de rotation marqué est quasiment le même sur tous les sites avec une moyenne de 3 mois.

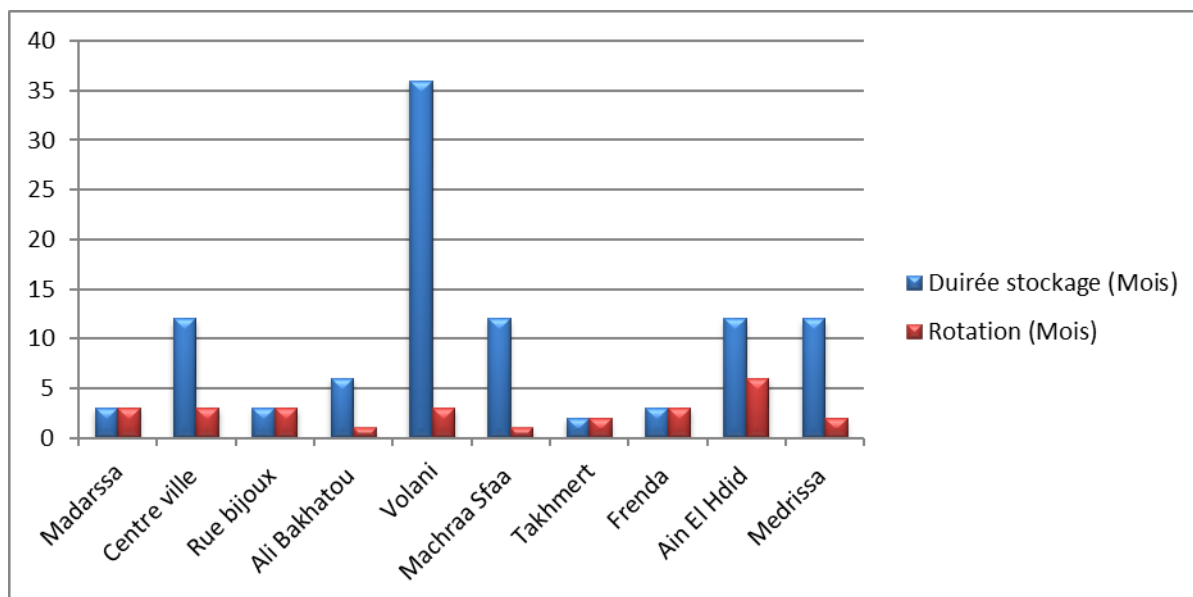


Figure n° 07 : Durée de stockage et taux de rotation aux différentes localités.

III.3.1.2. Contenant de stockage

Les résultats observés sur la Figure n° 08 indiquent que les emballages les plus utilisés par les vendeurs sont en carton et plastique avec un pourcentage qui atteint les 40 % pour chacune suivie par le verre et un emballage en vrac avec un pourcentage de 10 % pour chacune.

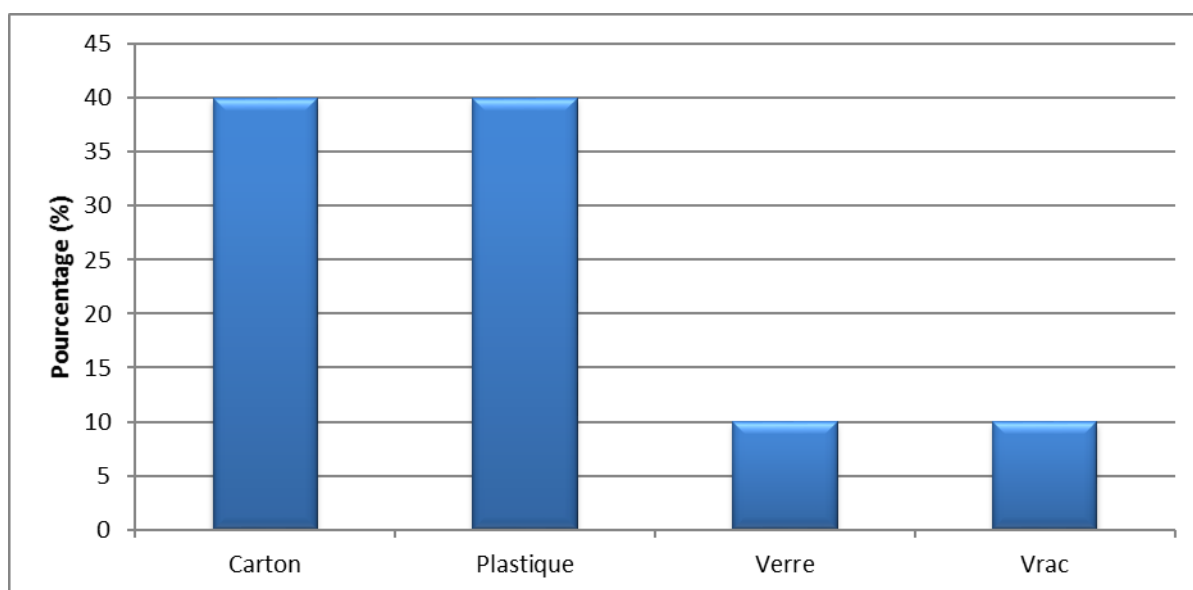


Figure n° 08 : Représentation de la nature d'emballage utilisé.

III.3.1.3. Température de stockage

L'analyse de la Figure n° 09 présente la température de conservation des plantes médicinales et les résultats montrent que 70 % des herboristes conservent leurs plantes à des températures ambiantes, et seulement 30 % conservent sous climatisation.

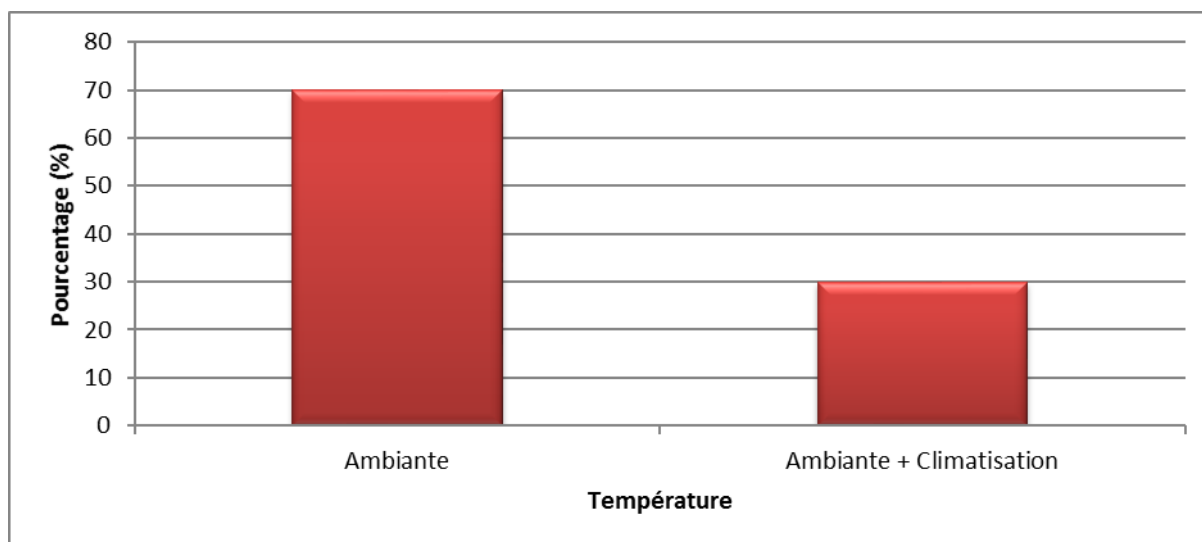


Figure n° 09 : Température de stockage des produits.

III.3.1.4. Ensoleillement des magasins

Au vu des résultats rapportés dans la Figure n° 10, un pourcentage très élevé est marqué pour les échantillons non ensoleillés. Cette valeur atteint 80 %, alors que 20 % seulement des magasins sont ensoleillés.

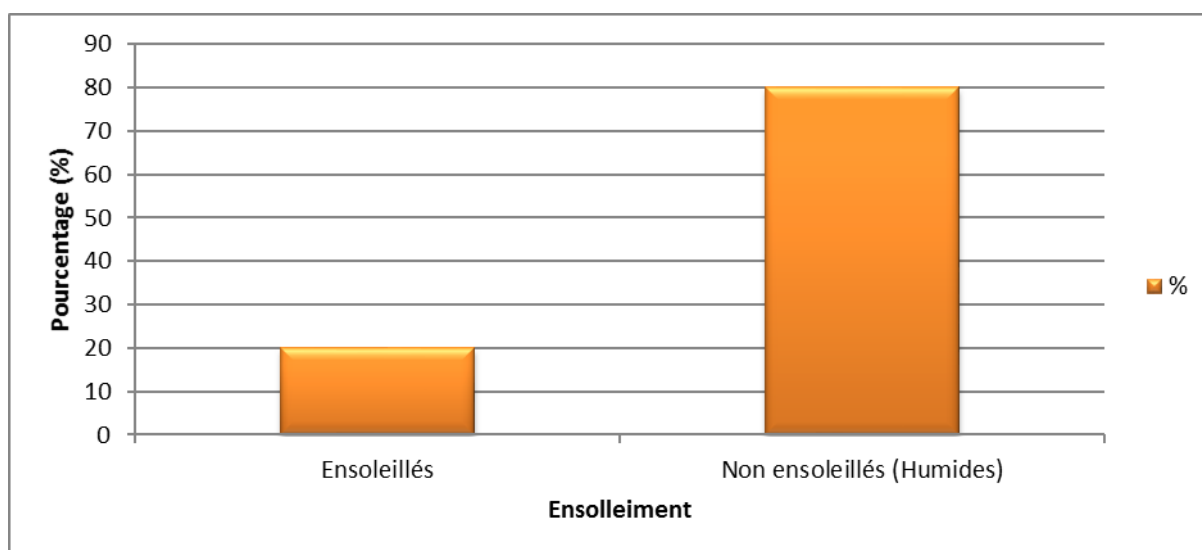


Figure n°10 : Graphe de pourcentage selon l'humidité.

III.3.2. Questionnaire consommateurs

III.3.2.1. Catégorie socioprofessionnel

La grande majorité des usagers des plantes médicinales selon notre enquête sont les étudiants 45,33 %, ceci peut être expliqué par le fait qu'ils connaissent bien les effets bénéfiques de ses plantes ; suivi par les employés 29,33 % ; 13,33 % sans emploi ; avec un pourcentage respectif de 6,67 % et 5,33 % pour les retraités et des praticiens libéraux (Figure n° 11).

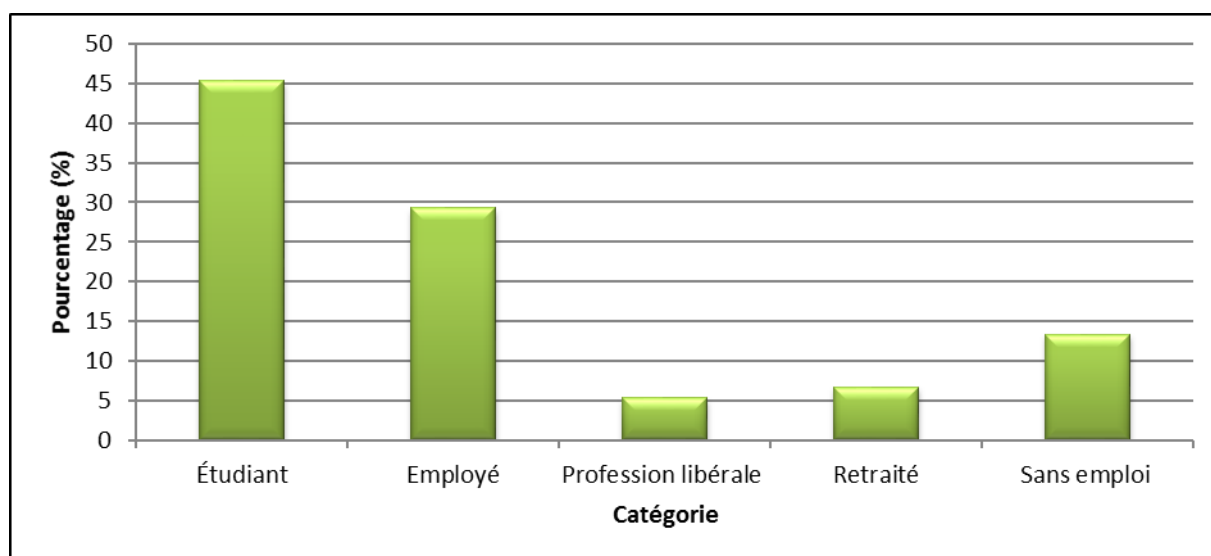


Figure n°11 : Répartition de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques selon la catégorie socioprofessionnelle.

III.3.2.2. Utilisation des plantes médicinales et aromatiques

Selon la Figure n° 12, on remarque que 93,33 % utilisent des plantes médicinales dans la région de Tiaret et 5,33 % seulement ne les utilisent pas.

Sur la totalité des résultats obtenus dans la Figure n° 12, nous avons rassemblé les espèces les plus utilisées en phytothérapie traditionnelle par la population locale de Tiaret. Le pourcentage plus élevé est 57,33 % qui a utilisé le thym, suivi par l'armoise 40%, avec un pourcentage respectif de 20 % et 10,67 % pour le Thé vert et le genévrier.

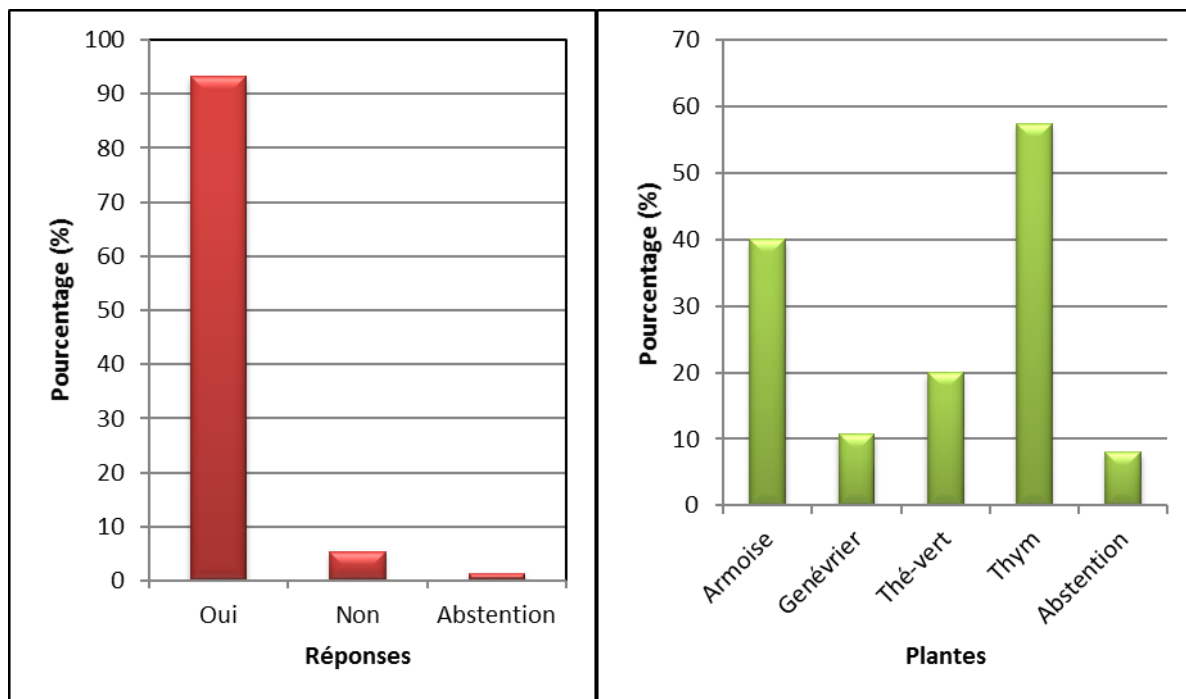


Figure n° 12 : Utilisation des plantes médicinales et aromatiques

III.3.2.3. Connaissances de propriétés thérapeutiques plantes

Selon les personnes participants à l'enquête, il y'a une domination des personnes qui disent qu'ils connaissent les propriétés thérapeutiques de ces plantes avec un pourcentage de 84 %, et 16 % ne les connaissent pas (Figure n°13).

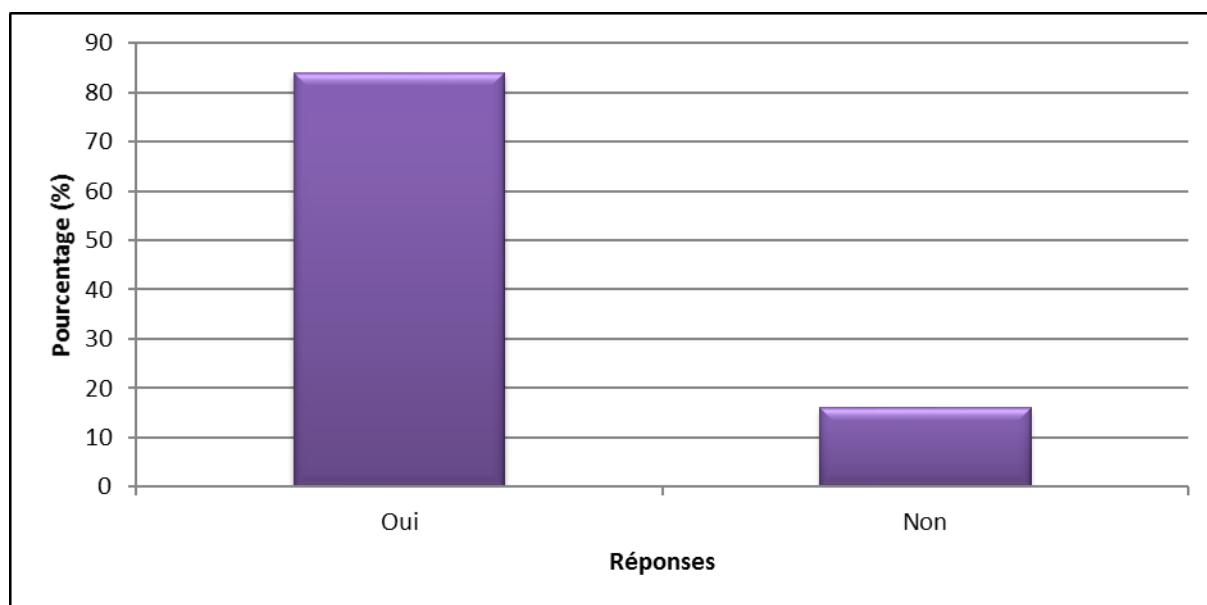


Figure n°13 : Connaissances de propriétés thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques

III.3.2.4. Effets néfastes

La Figure n° 14 montre que 57.33 % des personnes disent qu'ils ne savent pas que les plantes médicinales peuvent avoir des effets néfastes sur la santé.

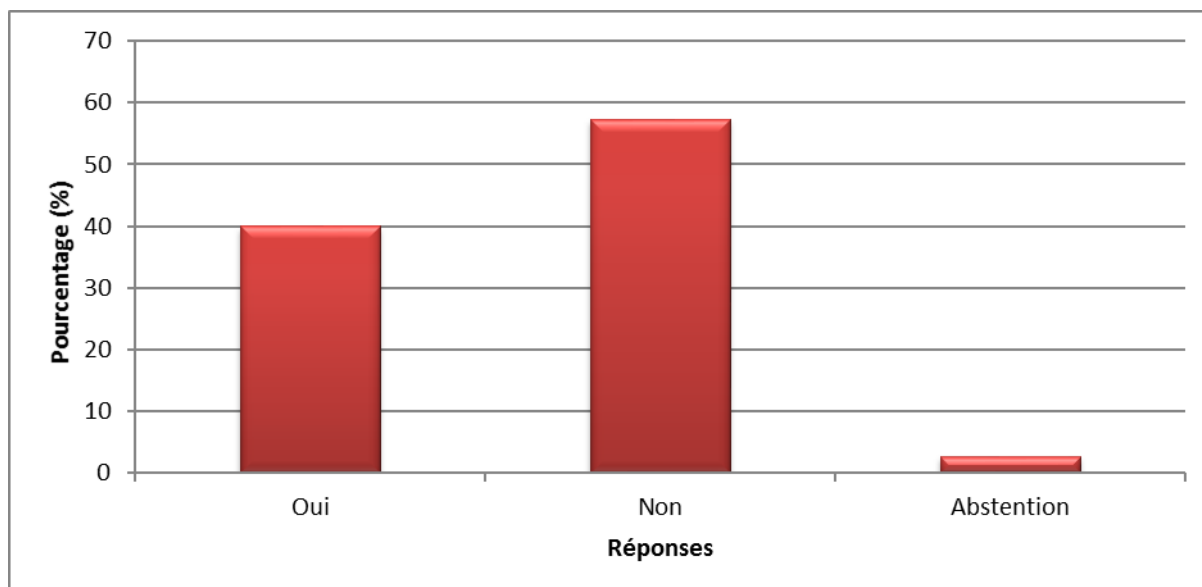


Figure n°14 : Personnes ayant connaissance sur les effets néfastes des plantes en études.

III.3.2.5. Demande d'information sur la durée de stockage

Selon les résultats obtenus dans la Figures n° 16, 57.33 % des personnes participant à l'enquête n'ont jamais demandé les vendeurs de la durée du stockage du produit (Figure n°15).

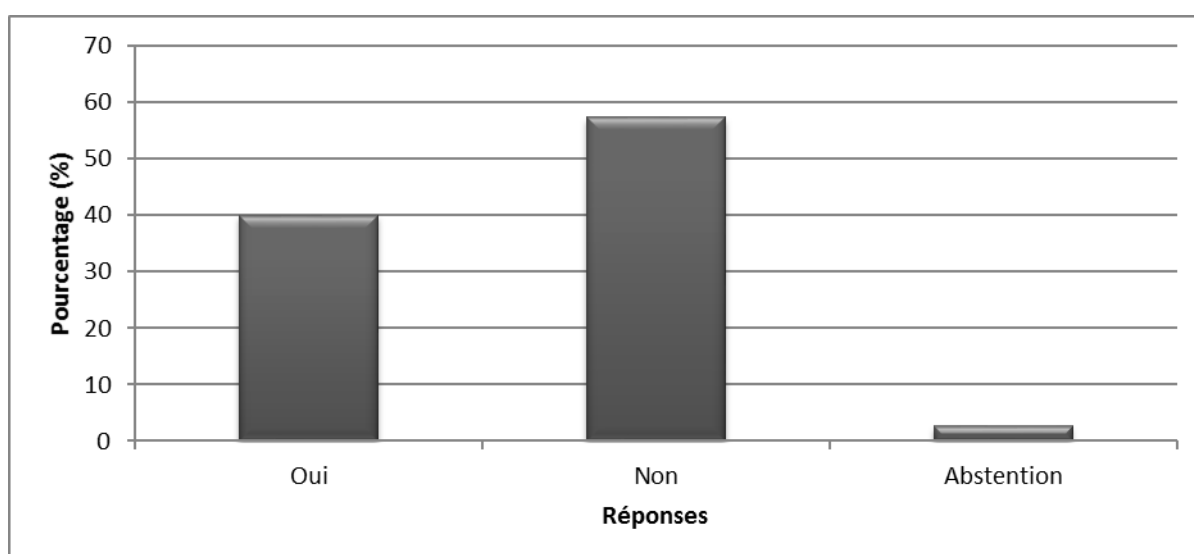


Figure n° 15 : Demande d'information sur la durée de stockage des produits.

III.3.2.6. Emballage

Les résultats obtenues dans la Figure n° 16 montrent que le type d'emballage préféré par la majorité des personnes enquêtés est en pots 30 à 40 % ; suivi par les sachets 25 à 33,33 % ; et en vrac à 25,33 %.

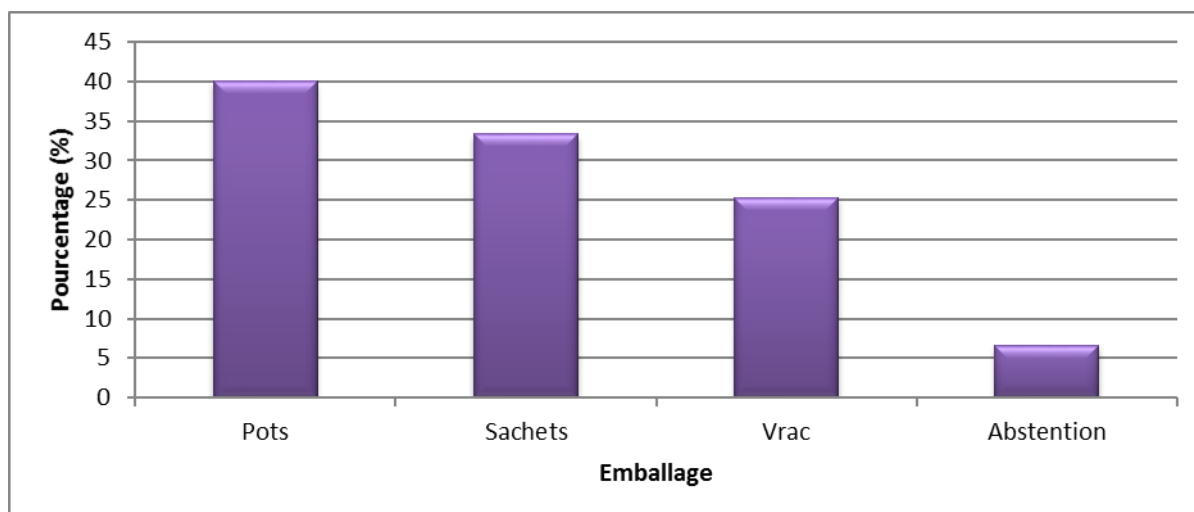


Figure n°16 : Type d'emballage souhaité par les acquéreurs des produits en études.

III.3.2.7. Paramètres les plus importants pour le consommateur

Selon les réponses des consommateurs présentées sur la Figures n° 17, la réponse dominante est « la qualité du produit » à 78,67 % ; suivi par son « usage » à 30,67 % ; « l'emballage » à 25,33 % et le « Prix » à 12 %.

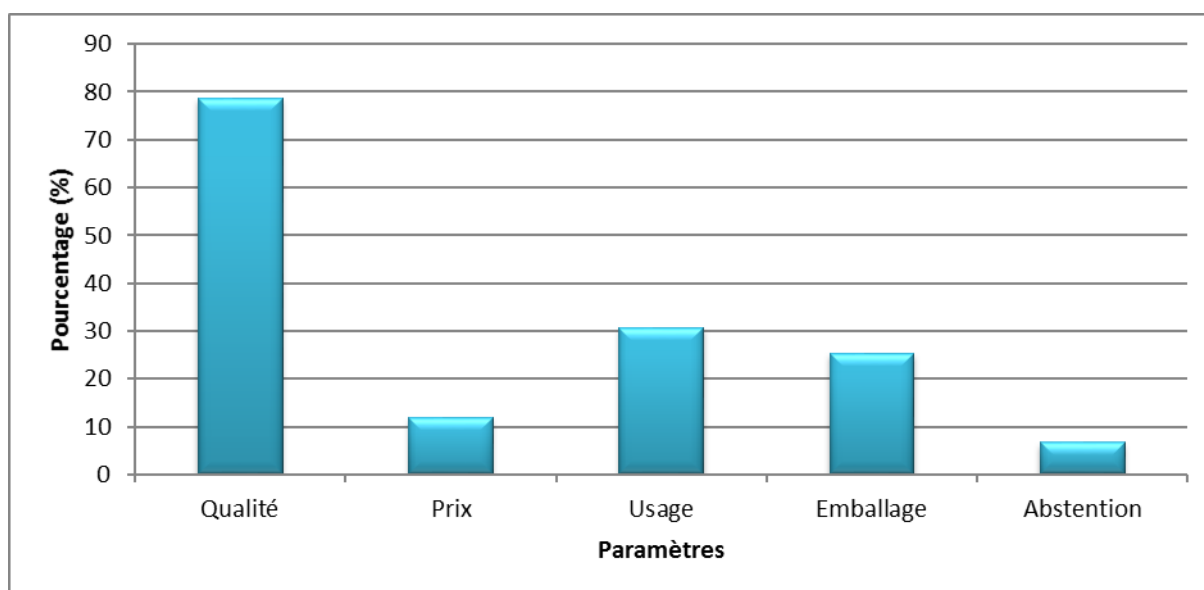


Figure n°17 : Paramètres d'importance des produits en étude.

III.4. Discussion

La contamination fongique des denrées alimentaires, destinés à la consommation humaine ou animale, est le principal dommage qui va entraîner de nombreux problèmes. Ainsi, la présence indésirable des moisissures modifient l'aspect des produits alimentaires, dû notamment à la production de pigments, comme par exemple un pigment foncé, la mélanine (Bulter et Day, 1998). Le développement de ces champignons sur les aliments peut leur donner des odeurs moisies. Il y a donc une réduction quantitative et qualitative de la valeur alimentaire de la denrée, et une baisse du rendement des récoltes. Les métabolites produits par ces champignons lors de leur croissance sont aussi des éléments majeurs dans l'altération des denrées alimentaires. Des manifestations dans la qualité organoleptique (en modifiant le goût de la denrée par exemple) mais aussi de graves problèmes sanitaires surgissent, comme par exemple des risques d'intoxication due à la présence de mycotoxines. Ainsi, l'apparition de mycoses et d'allergies chez l'homme peut résulter de l'ingestion des denrées contaminées par des moisissures (Krogh, 1987).

Des études basées sur la population suggèrent que la consommation de thé vert est associée à un risque réduit de plusieurs tumeurs malignes humaines telles que le cancer et le diabète. (Shankar *et al.* (2007) ont étudié les mécanismes moléculaires des polyphénols du thé vert et leurs implications thérapeutiques dans le cancer.

L'objectif de ce travail est d'isolé et identifier des moisissures productrices des mycotoxines dans la wilaya de Tiaret. À partir des résultats de notre étude, nous pouvons dire que la prévalence de La contamination des feuilles séchées commercialisées du thé vert dans les banlieues de la wilaya de Tiaret est confirmée, surtout chez herboristerie d'Ain El Hadid ; par contre, elle est nulle chez les herboristeries de Takhmert et Medrissa et moyenne pour le reste. Ces résultats peuvent être expliqués par les différentes conditions environnementales de chaque localité.

Dans un premier volet, une analyse mycologique des feuilles de thé vert a été effectuée. Les résultats de cette analyse ont révélé une contamination remarquable par les moisissures dans les feuilles étudiées. Quatre (04) genres ont été détectés, dans huit (08) zones étudiées sur dix (10). L'identification des genres fongiques a été réalisée essentiellement selon les clefs de détermination de Botton (1990) ; Guiraud (1998) ; (Leyral *et al.* (1998) ainsi que celles de (Chabasse *et al.* (2002).

Cette différence est influencée parfois par les conditions climatiques, les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la mycoflore (Le Bars *et al.*, 1987).

Notées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Alternaria*, *Fusarium* et *Penicillium* sont les plus rencontrés, avec le genre *Mucor*, ces résultats sont similaires aux ceux trouvés par (Charouana *et al.*, 2018).

Les résultats de la caractérisation morphologique macroscopique de nos genres (*Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Mucor*), qui ont été isolés sur milieu PDA ; qui a été décrit par plusieurs auteurs pour l'isolement des moisissures contaminant les aliments (Gacem, 2011), ont fait apparaître 2 morphologies différentes : l'aspect cotonneux et granuleux.

Les résultats de la caractérisation morphologique du genre *Fusarium*, montrent que les colonies ont une forme cotonneuse et granuleuse. Ces résultats sont en concordance avec ceux enregistrés par (Chermette et Bussieras, 1993 ; Chabasse *et al.*, 2002).

L'étude macroscopique du genre *Penicillium*, sur milieu gélosé a démontré que les colonies ont un contour blanc ou gris et un centre vert (Chabasse *et al.*, 2002).

L'observation macroscopique du genre *Alternaria* permet de considérer que la surface des colonies est d'un aspect cotonneux et granuleux, avec une couleur de contour blanc et un centre vert ou gris, d'un diamètre de 3 cm (Philippe, 2018).

Les résultats obtenus sur le genre *Mucor* montrent que la surface des colonies est granuleuse, d'une pigmentation noire (Philippe, 2018).

Dans l'ensemble, le taux de contamination un peu élevé, ainsi que la biodiversité importante constatée dans les feuilles de thé vert peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage (Singh, 2006).

Dans un deuxième volet, l'enquête sur les plantes médicinales. Ces dernières constituent des ressources précieuses pour la grande majorité des populations rurales en Afrique dont plus de 80 % se servent pour assurer leurs soins de santé (Jiofack *et al.*, 2009; Jiofack *et al.*, 2010; Betti et Mebere, 2011 ; Dibong *et al.*, 2011 ; Ngono *et al.*, 2011).

L'analyse des résultats de l'enquête nous a permis de comprendre les raisons de cette différence et à identifier les points à améliorer. Cette étude montre que la population locale préfère encore d'utiliser les espèces naturelles, et d'après les personnes enquêtées l'âge plus utilise les plantes médicinales est moins de 25ans (45%), suite par la catégorie socioprofessionnel dominant qui sont les étudiants (45%) par rapport à les autres catégories. Ainsi, selon l'utilisation de ses plantes qu'est exercé largement par la population enquêtée, (93%) utilisent les plantes médicinales et aromatiques. Parmi les plus employés thym, armoise, thé vert, genévrier.

Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par El Hafian *et al.*, (2014), et qui sont beaucoup plus destinées par les consommateurs pour achetées aux magasins d'épices .

Ce qui concernant la connaissances de propriétés thérapeutiques des plantes la majorité (83%) connaît, et lorsque nous avons posé la question de combien de plantes connaissent la réponse de [1 à 10] avec pourcentage de 48 % est dominant. Selon la précédente utilisation la réponse est [oui] 78%, pour l'effet néfaste qui peut provoquer par l'utilisation de ses plantes la majorité des personnes enquêtées répondent [non] par un pourcentage de 60% ,par la suite l'évaluation de l'état de magasin la majorité dit [oui] 69% , et concernant la demande de durée du stockage la réponse [non] est dominée 57%. L'emballage préféré par les consommateurs est [pots] 40 %, dernièrement la qualité est plus importante pour les consommateurs par rapport à l'utilisation, emballage, prix. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Hseini *et al.*, 2007 ; El Hafian *et al.*, 2014).

Selon les résultats du questionnaire destiné aux vendeurs, qui sont les acteurs les plus proches du consommateur, les enquêtes étaient basées sur la méthode d'Interview Semi-structurée (Dibong *et al.*, 2011; Klotoé *et al.*, 2013), indiquant que la quantité achetée par client diffère selon les besoins du consommateur, qui a été généralement entre 25g à 1kg et que l'emballage le plus dominant c'est le plastique et le carton 40 % pour chacune ainsi que la durée de stockage, elle joue un rôle très important dans la croissance fongique qu'elle est variée entre 2 mois à 3ans et que 80 % des échantillons de thé vert sont conservés sous température ambiante même que la majorité des herboristes met le thé dans un endroit humide non ensoleillé ce qui est favorise la croissance rapide des moisissures mycotoxinogènes, et bien que le produit arrive de différentes zones du Sud et du nord d'Algérie cette étude est similaire à l'étude marocaine réalisée par (Ait Ouakrouch, 2015).



CONCLUSION

Les plantes médicinales sont traditionnellement considérées comme un agent thérapeutique pour le traitement de maladies telles que la typhoïde, le choléra, la rougeole, la gonorrhée. Cependant, la connaissance des médicaments à base de plantes pour le traitement des maladies se limite principalement aux herboristes.

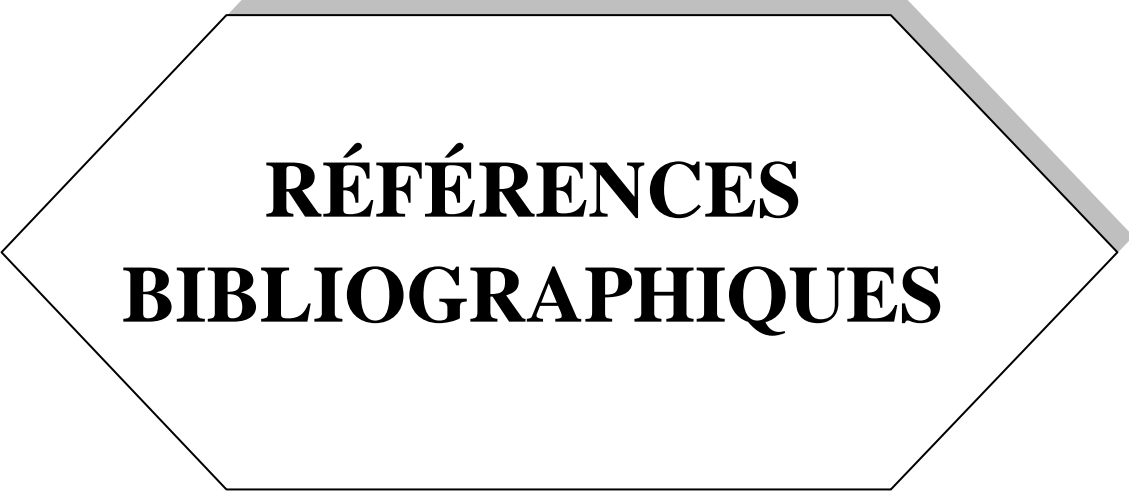
Le thé vert, avant d'être la deuxième boisson la plus consommée dans le monde après notre précieuse eau, est une plante médicinale utilisée depuis des siècles dans la péninsule japonaise et en Chine.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à une étude comparative et une étude statistique concernant la prévalence de la contamination des feuilles séchées de thé vert par des moisissures mycotoxinogènes, Ce qui ont confirmés la présence des moisissures pathogènes notamment *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* et *Alternaria* dans le thé chez certain banlieue et inexistant chez les autres (Medrissa et Takhmert). La présence de la flore fongiques ne signifie pas nécessairement la production des mycotoxines et que la Production de ces dernières est conditionnée par des facteurs intrinsèque et extrinsèque.

Les résultats statistiques de cette étude, nous a permis de mettre en lumière les plantes médicinales les plus connues par la population et leurs utilisation ainsi que les catégories des maladies traitées.

Bien que la demande de ces plantes affectée par plusieurs facteurs clé comme l'emballage, le prix, etc. La qualité reste relativement un fort impact sur leurs consommations Par 78 %. Et que la conservation de ces plantes joue un rôle important dans leurs commercialisations Donc herboristerie doit être maintenue à une température et à une humidité relative aussi constante que possible.

Et comme une recommandation, il est nécessaire de mettre en place des moyens de lutte et de prévention, qui comprenant généralement des stratégies agronomiques tels que des bonnes pratiques hygiènes culturales, ainsi que des traitements fongicides et l'amélioration des conditions de récolte, de stockage et de distribution, La prévention se fait donc par une sensibilisation des différents acteurs des professions de l'industrie l'agro-alimentaire, et aussi par l'information et l'éducation du consommateur.



**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Adjou, E. S., & Aoumanou, M. M. (2013). Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 70(1), 5555-5566.
2. Ait Ouakrouch, I. (2015). Enquête ethnobotanique à propos des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète de type 2 à Marrakech. Université Cadi-Ayyad. Faculté de médecine et de pharmacie. Marrakech.
3. Amani, L. (2016). Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie: Incidence et profils écophysiologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat. Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir. 225pp).
4. Benaskeur, R., Belhour, H. (2014). L'effet protecteur de thé vert vis-à-vis la toxicité cardiaque provoquée par l'éthanol
5. Betti, J. L., & Yemefa'a, S. R. M. (2011). Contribution à la connaissance des produits forestiers non ligneux du parc national de Kalamaloué, Extrême-Nord Cameroun: Les plantes alimentaires. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1).
6. Boudih, S. (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers: évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro (Doctoral dissertation).
7. Brahima, K., Witabouna, K.M. (2017) Analyse Quantitative DES Alcaloïdes pyrrolizidiniques chez Quelques Asteraceae, Boraginaceae ET Leguminosae Utilisées En Médecine Traditionnelle En Cote d'Ivoire
8. Chabasse, D., Bouchara, J. P., De Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation BIOFORMA*, 25(160), 19.
9. CHAIBRAS, S, LABIOD, F. (2015) Isolement, identification et activité antibactérienne des moisissures d'un sol forestier à Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine.
10. Charouana, N., Brel, R. (2018), Isolement, purification et identification des moisissures du champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique. p 35-36, université des Frères Mentouri Constantine.
11. Chermette, R., & Bussieras, J. (1993). Abrégé de parasitologie vétérinaire: fascicule V: mycologie vétérinaire. Service de parasitologie.
12. Chevallier A. (2007). Plantes médicinales. Edition originale sous le titre *Habel Resnlies*.

13. Dendouga, W. (2006). Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite.
14. Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J. (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, 37, 2496-2507.
15. Dufresne, P., & Germain, G. (2014). Identification des champignons d'importance médicale. Institut National de Santé Publique.
16. El Hafian, M., Benlandini, N., Elyacoubi, H., Zidane, L., & Rochdi, A. (2014). Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 81(1), 7198-7213.
17. GACEM, M. A., & OULD, E. H. K. A. (2011). Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de *Citrulluscolocynthis* sur la croissance de quelque moisissure d'altération de blé tendre stocké (Doctoral dissertation).
18. GAUTHIER, A. (2016). Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé (Doctoral dissertation, Thèse pour l'obtention du Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie. BORDEAUX: Université De Bordeaux UFR Des Sciences Pharmaceutiques).
19. Ghorri, S. (2015). Isolement des microorganismes possédant une activité anti-Fusarium.
20. Guiraud, J. P. (1998). La microbiologie alimentaire.
21. Heit, S. (2015). Identification de Fusarium et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
22. Hseini, S., Kahouadji, A., Lahssissene, H., & Tijane, M. (2007). Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental). *Lazaroa*, 28, 93.
23. 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.
24. Kabouche, S. (2010). Etude de la relation du thé vert. Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant.
25. Kakuzo, O. (2003) le Livre du Thé traduit de l'anglais par Florence Thiébaud. Arbre d'Or, Cortailod (ne), Suisse, avril 2003.

26. Larfi, F., & Khiri, A. (2015). Optimisation des conditions d'extraction de polyphénols du thé vert utilisé comme agent antibactérien (Doctoral dissertation, université de Bouira).
27. Le Bars, J., & Le Bars, P. (1988). Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Bulletin de l'Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur, 30(115), 1-16.
28. Leyral, G., Joffin, J. N., & Boineau, F. (1998). Microbiologie technique 2. Documentation technique. Biologie Technique.
29. Louise, M. (2012). Introduction à la microbiologie. (2^{ème} édition) France. ISBN-102761341392 ISBN-13978-2761341394 P 161.
30. Louise, M. (2003). Introduction à la microbiologie. Tortura Funke. P 364-366.
31. Marthe, K. R. I. E. P. S. (2009). LE THE: Origine, Actualité et potentialités (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat Pharmacie: Université HENRI POINCARÉ-NANCY 1, p 67).
32. Meyer, A., Deiana, J., & Bernard, A. (2004). Cours de microbiologie avec problèmes et exercices corrigés-2^e édition.
33. MONDO, J., Balezi, A., Mugomoka, V., ZIGASHANE, L., BAGULA, E., KASHOSI, T., ...& MUSHAGALUSA, G. (2016). Effets des milieux de culture (PDA, SDA, SPDA, blé et maïs) sur la productivité in vitro de la souche P969 du *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. Afrique SCIENCE, 12(4), 374-381.
34. Mossion, A. (2007). Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques: Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau (Doctoral dissertation).
35. Nabors, M. (2008). Biologie végétale. Paris: Pearson Education ISBN978-2-7440-7306-9 P 393., 614p.
36. Nadjjet, G. T., Noureddine, B. O. U. R. A. S., & Didi, O. E. H. M. (2016). LES MYCOTOXINES: UN DANGER DE SANTÉ PUBLIC. Algerian Journal of Arid Environment "AJAE", 6.
37. Nguyen, M. T. (2007). Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisé dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam: étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).
38. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Fungi and food spoilage. Blackie Academic & Professional. New South Wales, Australia.

39. RA, N. N., ML, K. M., PR, M. C., RM, E. E., Ndifor, F., Biyiti, L., & PH, A. Z. (2011). Ethnobotanical survey of some Cameroonian plants used for treatment of viral diseases. *African Journal of Plant Science*, 5(1), 15-21.
40. Saadallah, N. Kebabi, S. (2015) Les polyphénols de l'extrait éthanolique de Thé vert (*Camellia sinensis*): Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité cardiaque de la doxorubicine.
41. Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M. P., & Catalan, C. (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food control*, 17(9), 745-752.
42. 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.
43. Waffa, M. B. Contribution à la mise en place d'un plan HACCP dans une unité de fabrication des aliments pour animaux.



ANNEXES

Annexe n° 1

Préparation milieux de cultures

Milieu PDA

PDA (Potato Dextrose Agar) :

Il a été préparé à base de la pomme de terre elles ont été cuites dans un bécher gradué de 1 L jusqu'au ramollissement, puis pressées à l'aide d'une cuillère de cuisine, filtrées dans un erlenmeyer gradué de 1 L et mélangées avec 20 g d'agar-agar et 20 g de saccharose. L'homogénéisation de la solution a été faite à partir d'un agitateur magnétique. La composition du milieu en condition d'asepsie totale est la suivante :

- Pomme de terre 200g
- Saccharose 20g
- Agar 20g
- Eau distillée 1000ml

Milieu Agar 2 %

Ce milieu est utilisé pour la recherche et le dénombrement des moisissures (**Labiod et Chaibras, 2015**). La composition du milieu en condition d'asepsie totale est la suivante :

Agar agar	20g
Eau Distillée	1000ml

Annexe n°2

Questionnaire commerçants

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 du Thé vert 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 consommateur

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° 3: Pourcentage de la population fongique isolée.

Localités	Boîte 1	Boîte 2	Boîte 3	Pourcentage (%)
Ain El Hadid	1	1	1	50
Frenda	0	1	0	16,67
Machraa Safa	1	1	0	33,33
El Medarssa	0	1	0	16,67
Ali Bekhatou	1	1	0	33,33
Centre ville	1	1	0	33,33
Volani	0	1	0	16,67
Rue bijoux	0	0	1	16,67

Tableau n° 4: Analyse de variance de la population fongique isolée des différentes localités.

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,466666667	2	0,233333333	0,9130434	8	3,354130829
A l'intérieur des groupes	6,9	27	0,255555556		0,41	
Total	7,366666667	29				

Enquête commerçants

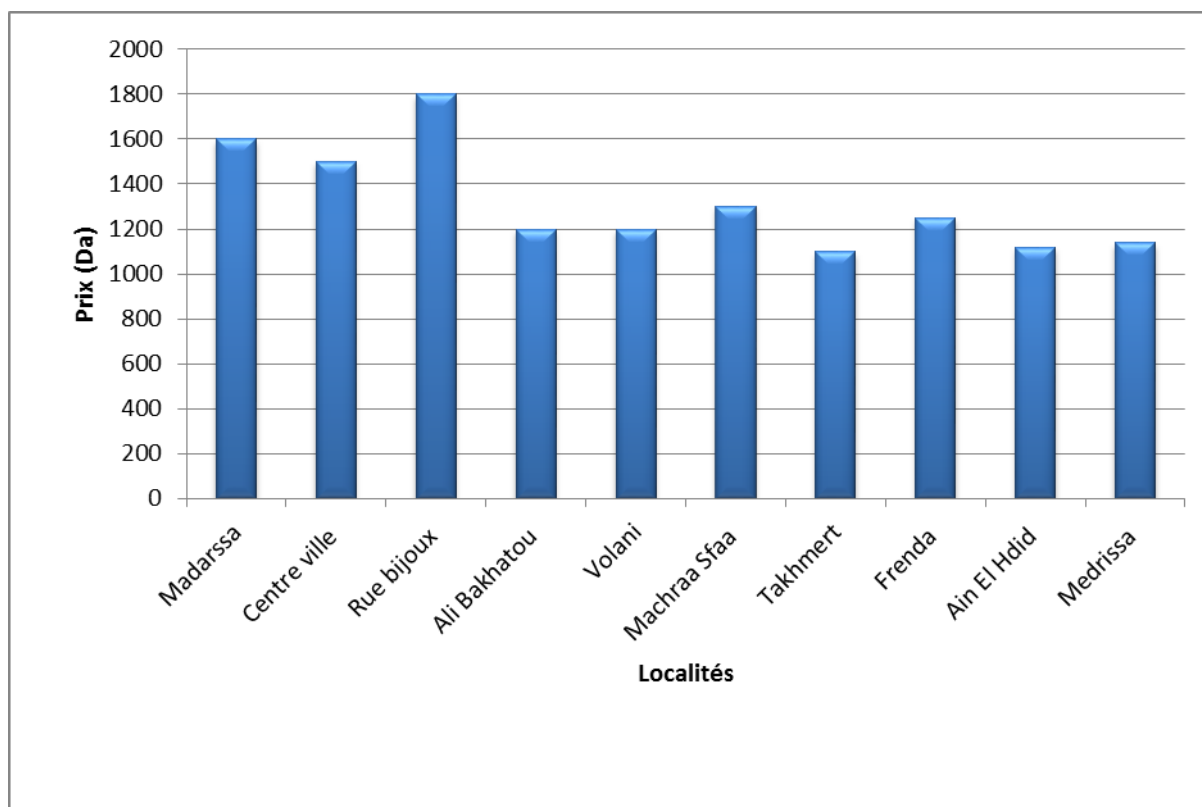


Figure n° 18 : Répartition des prix du thé vert aux différentes localités.

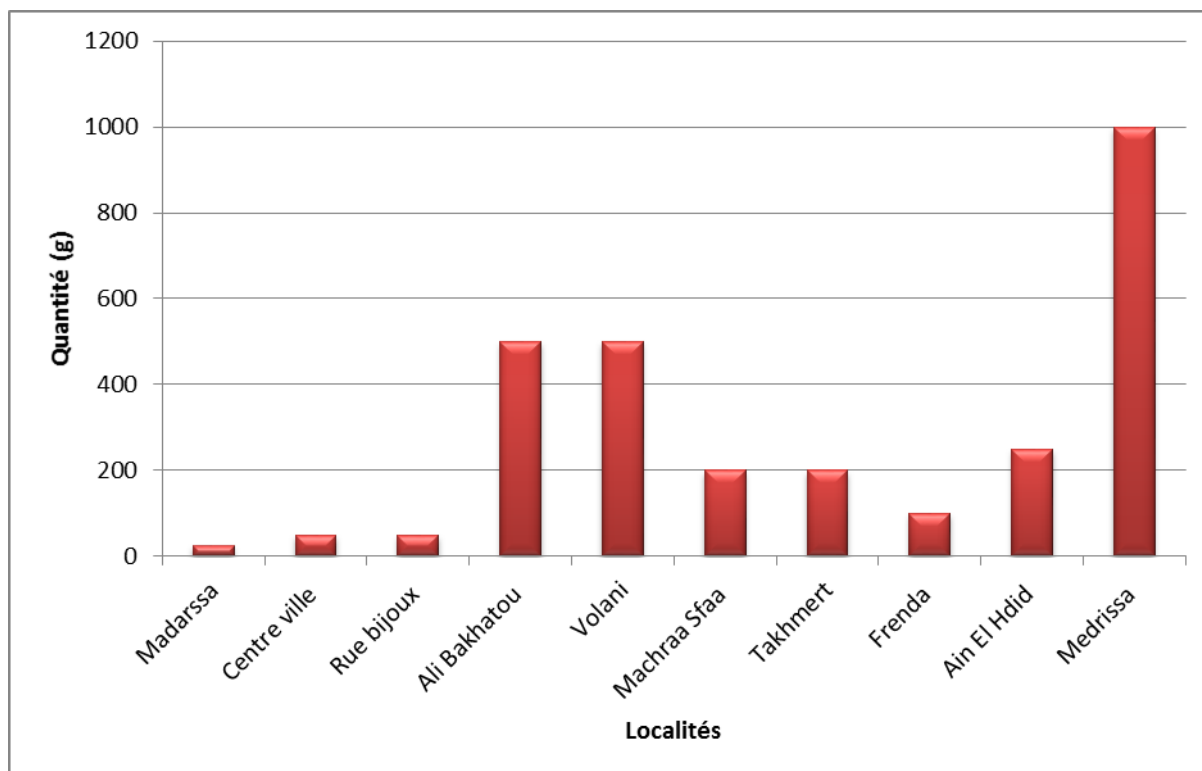


Figure n° 19 : Répartition des quantités du thé vert acheté aux différentes localités.

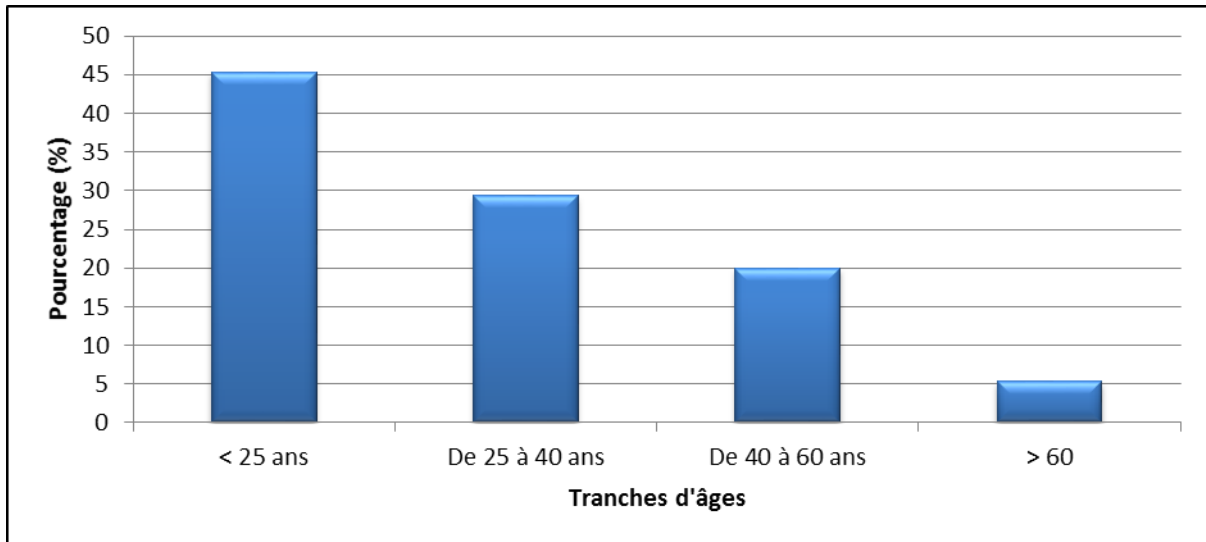


Figure n° 20 : Répartition des tranches d'âges des consommateurs participant à l'enquête.

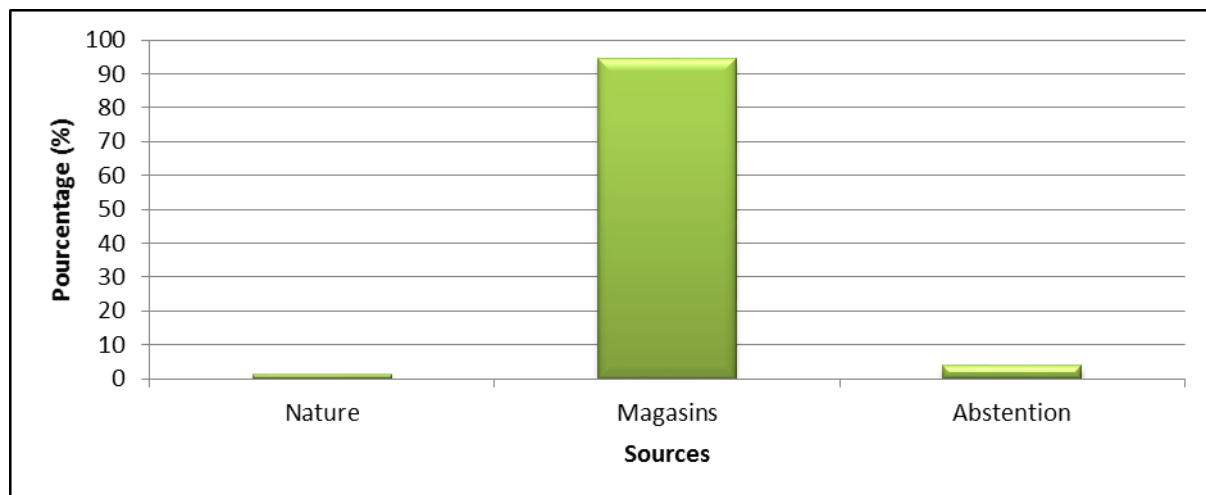


Figure n° 21 : Répartition des sources d'obtention des plantes médicinales et aromatiques.

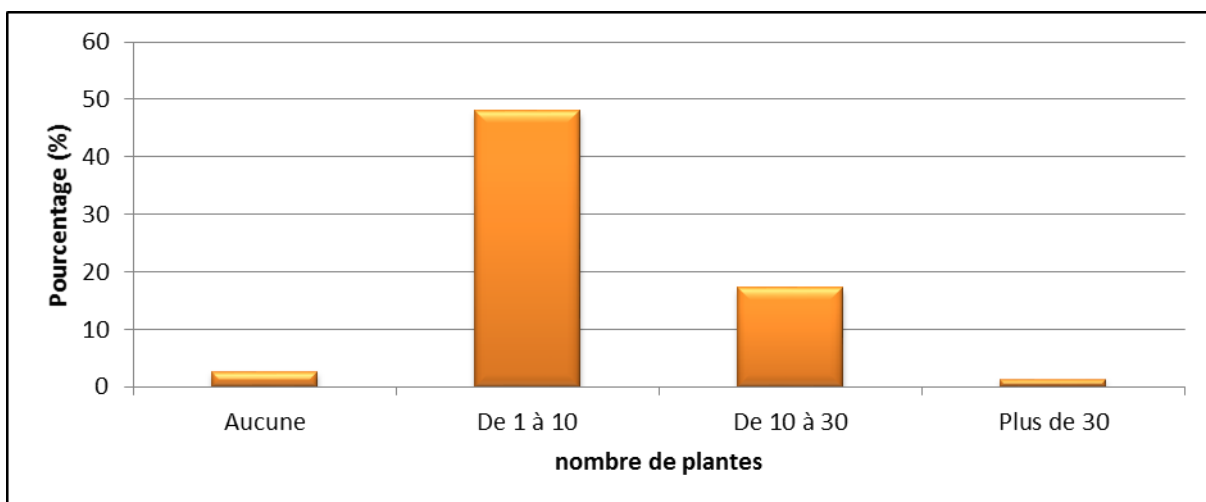


Figure n° 22 : Répartition du nombre de plantes médicinales et aromatiques connu par nos consommateurs.

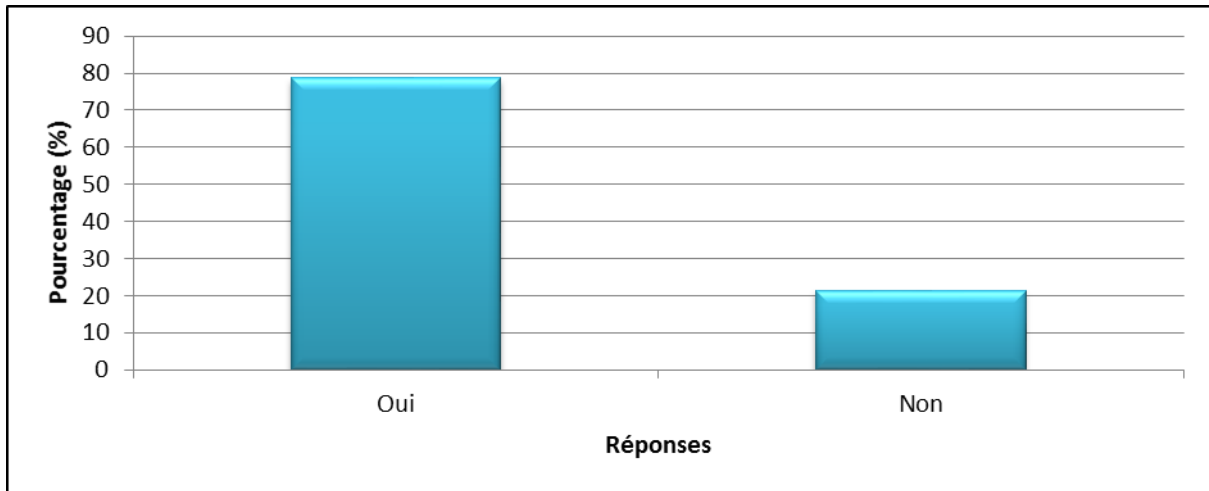


Figure n° 23 : Répartition de l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques par les consommateurs en étude.

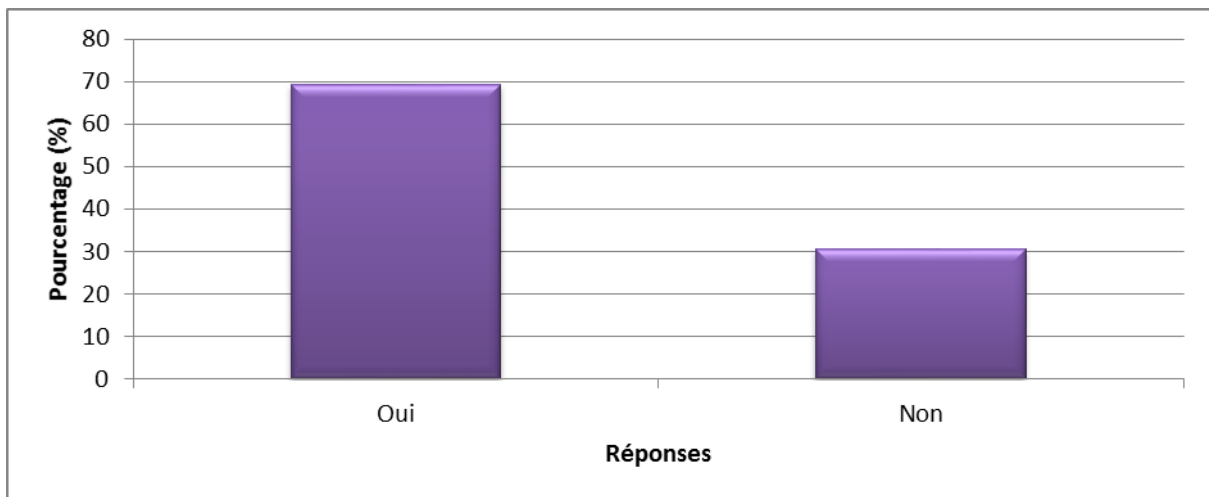


Figure n° 24 : Répartition des demandes sur l'état du magasin.

Abstract

Medicinal plants can be used in different ways and for different purposes, even in nature, like tea, which contains many biologically active compounds, such as flavonoids, catechins, which can contribute to the prevention and treatment of various diseases. The objective of this study is to isolate and identify mycotoxinogenic fungi after the collection of 10 samples of dried leaves of green tea sold in Tiaret, Algeria. Results representing four (04) different genera: *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* and *Alternaria*, in 8 localities and absent in Takhmert and Madrissa.

The investigations carried out in the field using two questionnaires, one that touched 10 herbalists and the other that touched 75 people of different ages. This allowed collecting the maximum of information such as (the price, packaging, storage ...), and their opinion on the use of medicinal plants.

Keywords: *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, medicinal plant, green tea, mycotoxins.

Résumé

Les plantes médicinales peuvent être utilisées de différentes manières et à différentes fins, même dans la nature, comme le thé, qui contient de nombreux composés biologiquement actifs, tels que les flavonoïdes, les catéchines, qui peuvent contribuer à la prévention et au traitement de diverses maladies. L'objectif de cette étude consiste à isoler et identifier des champignons mycotoxigènes après la collection de 10 échantillons de feuilles séchées de thé vert commercialisées dans la wilaya de Tiaret, Algérie.

Les résultats représentent quatre (04) genres différents : *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* et *Alternaria*, dans huit (08) localités et absents à Takhmert et Medrissa.

Les enquêtes réalisées sur terrain à l'aide de deux questionnaires l'un qu'ont touché 10 herboristes et l'autre qu'ont touché 75 personnes de différents âges, cela permis de collecter le maximum d'information tels que (le prix, emballage, stockage ...) et leur avis sur l'utilisation des plantes.

Mots clés : *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria*, plante médicinale, thé vert, mycotoxines.

ملخص

يمكن استخدام النباتات الطبية بطرق مختلفة ولأغراض مختلفة ، حتى في الطبيعة ، مثل الشاي الذي يحتوي على العديد من المركبات النشطة بيولوجيًا ، مثل مركبات الفلافونويد والكاتيكين التي يمكن أن تسهم في الوقاية والعلاج من الأمراض المختلفة ، تهدف هذه الدراسة إلى عزل وتحديد الفطريات السامة الفطرية بعد جمع 10 عينات من الأوراق المجففة للشاي الأخضر المباعة في ولاية تيارت بالجزائر ، النتائج تمثلت في ظهور 4 أنواع مختلفة *Fusarium* , *Alternaria*, *Mucor* *Penicilium* في ثمانية ضواحي و غائبة في تاخمرت ومدرسة

التحقيقات التي أجريت في الميدان باستخدام استبيانين ، أحدهما لمس 10 أعشاب و الآخر لمس 75 شخصًا من مختلف الأعمار ، سمح هذا بجمع أقصى قدر من المعلومات مثل (السعر ، التعبئة والتغليف والتخزين ...) ورأيهم في استخدام النباتات الطبية.

الكلمات المفتاحية:

Alternaria , *Penicillium* , *Fusarium* , نباتات طبية, الشاي الأخضر.