REPUBLIQUE TUNISIENNE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

Centre de Biotechnologie de Sfax

RAPPORT D'ACTIVITES

DU CENTRE DE BIOTECHNOLOGIE DE SFAX « CBS »

ANNEE 2021

ISO 9001 : 2015 ISO 14001 : 2015 ISO 45001 : 2018

RA / CBS. 2020

TABLE DES MATIERES

1. Message du Directeur Général 2
2. Présentation générale du CBS 3
3. Effectif du CBS 3
4. Liste des Enseignants Chercheurs / Ingénieurs du CBS 4
5. Membres du Conseil Scientifique 5
6. Budget du CBS 6
7. Equipements lourds du CBS 6
8. Service maintenance 7
9. Métrologie 7
10. Coopération Internationale 8
11. Ouverture sur l'environnement national 9
12. Ouverture sur l'environnement international 12
13. Production Scientifique 13
14. Séminaires, journées et ateliers scientifiques 13
15. Prix et distinctions 14
16. Activités des Laboratoires de Recherche 15
- LR15CBS01: Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE) 16
- LR15CBS02: Laboratoire de Biotechnologie Moléculaire des Eucaryotes (LBME) 34
- LR15CBS03: Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des plantes (LBAP) 55
- LR15CBS04: Laboratoire des Biopesticides (LB) 69
- LR15CBS06: Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC) 80
- LR15CBS07: Laboratoire des Biotechnologies Microbiennes et Enzymatiques et des Biomolécules (LBMEB) 94

17. Activités des Unités Spécialisées
- US19CBS01: Unité spécialisée de Transfert de Technologie (USTT) 116
- US19CBS02: Unité Spécialisée de Développement des Procédés en Biotechnologie des Résultats de la Recherche (USDPBRR) 122
- US19CBS03 : Unité Prestataire des Services Analytiques (UPSA) 133
- US19CBS04: Unité Spécialisée de Qualité, Sécurité, Environnement et Accréditation (USQSE-Accréditation) 138
- US19CBS05: Unité d'Information et de Documentation Scientifique (UIDS) 143

Message du Directeur Général

En dépit de la pandémie de COVID19 qui s'et ses conséquences retenties sur le monde entier, l'année 2020 a été globalement fructueuse pour le CBS qui a opté vers l'accélération de sa transformation digitale . En effet, L'institution dispose d'une structure managériale solide qui lui permet de s'adapter à tous types de changement, un processus transparent d'implémentation de ses activités de recherche et de valorisation et un bon cheminement interactionnel avec le secteur de la Biotechnologie. Le CBS reste unique parmi toutes les institutions nationales de R&D en poursuivant des recherches scientifiques avancées assurant une production scientifique très honorable (128 Publications dans des revues indexées soit un taux supérieur à 2,7 publications/chercheur/an, 3 brevets), tout en contribuant à l'enseignement supérieur et à l'encadrement des jeunes scientifiques (11Doctorats et Habilitations Universitaires et 26 Mastères ont été soutenus durant 2020).

L'année 2020 a été excellente, en termes de succès dans les programmes nationaux et internationaux de recherche et de formation. Plusieurs projets de recherche scientifiques nationaux : 10 projets PRF, 7 projets jeunes chercheurs, 2 projets PAQ COLLABORA, 4projets PAQ PAES et 25 projets internationaux bilatéraux et multilatéraux et (H2020, USAID, ENI CBC Med, COST, PRIMA, ARIMNET, ERANET-Med).

Par ailleurs, et afin d'améliorer en continue les performances de son système managérial et organisationnel, le CBS en cours de 2020 a aussi, à travers son projet PAQ CR 2S ,opté pour un Système de Management Intégré Qualité-Sécurité-Environnement SMI-QSE.
Parallélement, le CBS est en train de préparer l'accréditation de quelques paramètres analytiques afin de:

- Accroître la satisfaction de ses clients et de ses partenaires
- Mieux maîtriser les aspects environnementaux
- Démontrer l'aptitude du centre à fournir régulièrement des résultats analytiques fiables et conformes aux exigences normatives et à celles des clients.

Le CBS incite ses chercheurs et ingénieurs à mieux valoriser leurs travaux de recherche, il œuvre à créer son écosystème de Transfert Technologique et dynamiser sa pépinière d'entreprises. Le CBS est fier d'être à la pointe des applications biotechnologiques contribuant aux objectifs du développement durable mondial dont: développement de biopesticides, enzymes et biomolécules/biomatériaux innovants ; développement de kits de diagnostic ; production de plantes résistantes aux défis du changement climatique et génération d'énergie provenant de sources renouvelables.

Prof. Slim TOUNSI
Mai 2021

1. Présentation générale du CBS :

Le Centre de Biotechnologie de Sfax « CBS » est actuellement composé de Six laboratoires de recherche, 5 unités, une administration (direction générale, ressources humaines, finance), des services communs (informatique et logistique, achat et maintenance) et des structures d'accompagnement dont principalement une Pépinière d'Entreprises et une Halle technologique.

Les **6** Laboratoires de Recherche et les **5** Unités Spécialisées du CBS sont :

- LR15CBS01: Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE)
- LR15CBS02: Laboratoire de Biotechnologie Moléculaire des Eucaryotes (LBME)
- LR15CBS03: Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des plantes (LBAP)
- LR15CBS04 : Laboratoire des Bi pesticides (LB)
- LR15CBS07: Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC)
- LR19CBS01 : Laboratoire des Biotechnologies Microbiennes et Enzymatiques et des Biomolécules (LBMEB)
- US19CBS01 : Unité spécialisée de Transfert de Technologie (USTT)
- US19CBS02: Unité Spécialisée de Développement des Procédés en Biotechnologie des Résultats de la Recherche (USDPBRR)
- US19CBS03 : Unité Prestataire des Services Analytiques (UPSA)
- US19CBS04: Unité Spécialisée de Qualité, Sécurité, Environnement et Accréditation (USQSE-Accréditation)
- US19CBS05 : Unité d'Information et de Documentation Scientifique (UIDS)

Ce rapport d'activités récapitule toutes les activités de RDI et VTT des différentes structures du CBS durant l'année 2020. Il résume les efforts réalisés par les différentes équipes de recherche et de valorisation. Il contient, en plus, un aperçu sur les activités de soutien et d'accompagnement assurées par les services de ressources humaines et financier, l'administration, la coopération internationale, la production scientifique, le rayonnement scientifique et l'ouverture sur l'environnement.

Dans sa majeure partie scientifique, le document résume les résultats obtenus par chaque équipe durant l'année écoulée. Le CBS dispose de toutes les compétences et ressources humaines pour réussir les objectifs fixés dans le contrat programme (2019-2022) à savoir la valorisation des résultats de la recherche, le transfert technologique et surtout de maîtriser et comprendre la notion de « produit issu de la recherche ».

2. Effectif du CBS :

Année	2020
Enseignants Chercheurs	46
Ingénieurs	16
Corps Technique	34
Administratifs + ouvriers	34
Effectif Total	**130**

Jeunes chercheurs	2020
Chercheurs Postdoc sous contrat CBS	50
Etudiants en thèse	46
Etudiants en mastère	10
Effectif Total	**106**

3. Liste des Enseignants Chercheurs et Ingénieurs du CBS

Nom et Prénom	Position
Slim Tounsi	Professeur / Directeur Général du CBS
Mohamed Chamkha	Professeur/ Directeur de laboratoire
Raja Mokdad Gargouri	Professeur /Directeur de laboratoire
Faiçal Brini	Professeur / Directeur de laboratoire
Souad Rouis	Professeur/ Directeur de laboratoire
Sabeur Masmoudi	Professeur/ Directeur de laboratoire
Mamdouh Ben Ali	Professeur/ Directeur de laboratoire
Samir Bejar	Professeur
Ali Faouzi Gargouri	Professeur
Ahmed Rebaï	Professeur
Lotfi Mellouli	Professeur
Mohamed Sami Aïfa	Professeur
Kaïs Jammousi	Professeur
Habib Khoudi	Professeur
Riadh Ben Salah	Professeur
Bassem Jaouadi	Professeur
Aïda Hmida	Maître de conferences/Directeur Unité Spécialisée
Hichem Azzouz	Maître de conférences
Sonia Khoufi	Maître de conférences
Walid Saïbi	Maître de conférences
Najla Kharrat	Maître de conférences
Olfa Frikha	Maître de conférences
Fatma Karray	Maître Assistante
Rayda Zribi	Maître Assistante
Héla Trigui	Maître Assistante
Mariem Ellouze	Maître assistante
Ines Yaacoubi	Maître assistante
Wajdi Ayadi	Maître assistant
Houda Skouri	Maître Assistante
Mouna Choura	Maître Assistante
Mohamed Guerfali	Maître Assistant
Sami Mnif	Maître Assistant
Wafa Jallouli	Maître de conférences
Mariem Ben Saïd	Maître Assistante
Zouhaïr Bouallagui	Maître Assistant
Mohamed Najib Saïdi	Maître Assistant
Ines Belhaj	Maître Assistante
Basma Hadj Kacem	Maître Assistante
Rania Ben Saad	Maître Assistante
Fatma Driss	Maître Assistante
Nedia Zaari	Maître Assistante
Dorra Abdelmalek	Maître Assistante
Mohamed Ali Mesrati	Maître Assistant
Ikram Zaidi	Maître Assistante
Slim Smaoui	Maître Assistant habilité
Adel Tekari	Maître Assistant
Abdallah Choura	Ingénieur Principal/ Secrétaire Général

Mounir Bouattour	Ingénieur Principal/Secrétaire d'Etablissement
Ilem Hassaïri	Ingénieur Général / Directeur Unité Spécialisée
Fathi Aloui	Ingénieur Général/ Directeur Unité Spécialisée
Hekma Ayadi	Ingénieur Principal/Directeur Unité Spécialisée
Firas Feki	Ingénieur Général
Ines karray	Ingénieur en chef
Adel Zitoun	Ingénieur en chef
Mohamed Ali Masmoudi	Ingénieur en chef
Najla Fourati	Ingénieur Principal
Najoua Ayadi	Ingénieur en chef
Bochra Mellouli	Ingénieur principal
Riadh Ben Marzouk	Ingénieur Principal
Monia Blibech	Ingénieur en chef
Aïda Koubaa	Ingénieur Principal
Malika Ayadi	Ingénieur Principal

NB : Le CBS compte aussi : **30** techniciens; **01** Préparateur et **07** agents techniques

4. Membres du Conseil Scientifique du CBS

- Slim TOUNSI, Directeur Général du CBS
- Abdallah CHOURA, Secrétaire Général et rapporteur
- Raja GARGOURI, Directeur de laboratoire (Membre)
- Faical BRINI, Directeur de laboratoire (Membre)
- Mamdouh BEN ALI, Directeur de laboratoire (Membre)
- Saber MASMOUDI, Directeur de laboratoire (Membre)
- Mohamed CHAMKHA, Directeur de laboratoire (Membre)
- Souad ROUIS, Directeur de laboratoire (Membre)
- Hekma AYADI, Directeur Unité Spécialisée (Membre)
- Ilem HASSAIRI, Directeur Unité Spécialisée (Membre)
- Aida HMIDA, Directeur Unité Spécialisée (Membre)
- Fathi ALOUI, Directeur Unité Spécialisée (Membre)
- Nadia MARRAKCHI, Directeur Unité Spécialisée (Membre)
- Mohamed Sami AIFA, Représentant du corps A (Membre)
- Ali GARGOURI, Représentant du corps A (Membre)
- Hichem AZZOUZ, Représentant du corps A (Membre)
- Wajdi AYADI , Représentant du corps B (Membre)
- Zouheir BOUALLAGUI, Représentant du corps B (Membre)
- Wafa JALLOULI, Représentant du corps B (Membre)
- Monia BLIBECH, Représentant des ingénieurs
- Mohamed Ali MASMOUDI, Représentant des ingénieurs
- Amal SOUISSI , Post Doc
- Mounir BOUATTOUR, Secrétaire d'établissement

Représentants des domaines socio-économiques

- Mohamed BEN MAKHLOUF (Directeur de projets à **ONAS Sud**)
- Faouzi SAFRAOUI (PDG des **Laboratoires TetraHygiene**)
- Abderrazek KRICHEN (Président **URAP Sfax**)
- Nabil TRIKI (Gérant du **Groupe Triki-Le Moulin**)
- Faycal MKAOUAR (DG du **Groupe la Rose Blanche**)

- Olfa GAM (DG de la **Société Cytopharma**)

3. Budget du CBS en 2020

Budget provenant du Ministère en DT	Titre I: 574.000,0000 DT
	Titre II: 615.000,000 DT
	Equipements scientifiques et entretien des bâtiments : 2.955.000,0000
	Titre II (Projets des jeunes chercheurs) : 120.000,000
	Titre II (Projets PRF) : 390.000,000
	Titre II (PAQ) :542.000,000
Secteur économique	59.780,500
Coopération internationale : 1/Projets multilatéraux(*) 2/ Projets bilatéraux (**)	 260.000,000 6.000,000
Coopération internationale (Total)	266.000,000
Total ressources propres (Secteur économique + Coopération internationale)	325.780,500

4. Equipements Lourds du CBS

Désignation	Date d'acquisition	Bénéficiaire
Fermenteur 300 L	1983	Unité spécialisée : Valorisation des Résultats de Recherche
Sequenceur d'acide Nucléique	2003	Service d'analyse
Molécular Imager	2003	Service d'analyse
Système de Chromatographie HPLC Préparative	2003	Service d'analyse
Ultra Centrifugeuse	2003	Service d'analyse
Spetrometre de masse couplé LC/MS/MS	2003	Service d'analyse
Microscope Confocale	2006	Service d'analyse
Système Bidimentionnel	2006	Service d'analyse
Système de Chromatographie Gaz Liquide	2006	Service d'analyse
Centrifugeuse Continue	2007	Unité spécialisée : Valorisation des Résultats de Recherche
Scanner Micro puce	2009	Service d'analyse
Fermenteur 1000 L + 100 L	2009	Unité spécialisée : Valorisation des Résultats de Recherche
Fermenteur 20 L	2011	LMB
GCMSMS	2011	LBPE
HPLC	2011	LBPE
système de Séquencage HD	2013	Service d'analyse

Chaudière a vapeur	2013	Unité spécialisée : Valorisation des Résultats de Recherche
Cytométre en Flux	2017	Service d'analyse
Automate d'Extraction des Acides Nucléiques (Miseq)	2018	Service d'analyse

5. Service de Maintenance

Membres de l'équipe :

Mounir BOUATTOUR : Ingénieur
Mouldi BEN ABOUDA : Technicien Principal
Riadh SOUISSI : Adjoint Technique
Haitham MILADI : Adjoint Technique

Durant l'année 2020, le service a effectué les missions suivantes :

- La maintenance corrective de certains appareils scientifiques dans les laboratoires et l'unité de valorisation.
- La maintenance systématique et préventive de tous les Equipements techniques des bâtiments (poste de transformation électrique 800 KVA, compresseur d'air à vis, station de traitement des eaux, centrale de détection d'incendie, groupe électrogène et de climatisation centrale du centre).
- Le suivi d'exécution des contrats de maintenance pour les chambres froides, ascendeur, jardin et le système de détection d'incendie.
- L'élaboration de nouveaux contrats de maintenance pour les équipements scientifiques
- L'assistance, le suivi et le contrôle de tous les travaux de sous-traitance de maintenances des appareils et des équipements
- Elaboration d'un programme pour l'étalonnage et le contrôle en interne des instruments de pesage, volume et température et suivi d'application du contrat de maintenance
- Application du programme de la réduction de la consommation d'énergie et la réduction de consommation.
- Lancement des consultations relatifs à l'entretien des infrastructures (Génie civil – peinture – parking – chaussée)

6. Métrologie

Le CBS a créé en 2017 un comité de métrologie piloté par Mr Mounir BOUATTOUR, pilote processus « Maintenance Equipements et Infrastructures (MEI) » et Mme Hekma AYADI (Intérim). A l'état actuel, ce comité est composé par des représentants (et Intérims) de chaque structure de recherche et d'appui. Ce comité a fondé la fonction « métrologie » au CBS en 2017 et il continue à assurer la conformité métrologique des instruments de mesure (masse, volume et température).

Les représentants des structures de recherche et d'appui ont montré une assiduité régulière et des compétences techniques respectables en assurant les différentes activités de métrologie. Afin d'améliorer davantage leurs compétences techniques, les représentants des structures de recherche et d'appui ont bénéficié de plusieurs formations théoriques et pratiques organisées par le CBS sur la métrologie de masse, volume et température, ainsi que le calcul d'incertitude et la validation des méthodes d'analyses.

Pour la bonne gestion des parcs de pesage, de volume et de la température, le CBS a alloué les ressources nécessaires pour :

-L'acquisition du matériel de référence nécessaire pour la vérification en interne du parc de pesage, de volume et de la température, ainsi qu'au raccordement aux étalons nationaux « masses étalon, thermomètres de référence »

- L'étalonnage des équipements de mesure par un prestataire externe accrédité

Les représentants des structures de recherche et d'appui du CBS ont assuré la mise à jour, la vérification en interne de leurs instruments de mesure pour déclarer le déclassement, la mise au rebut et le retrait de l'inventaire de tout matériel de mesure obsolète ou inutile.

Durant ce nouveau contrat programme du CBS (2019-2022), le comité Métrologie continuera la gestion du parc de pesage, de volume et de température et collaborera avec l'unité SMI-QSE pour la réussite du projet QSE et notamment le projet d'Accréditation selon la norme ISO 17025 version 2017 des 3 paramètres analytiques identifiés par le CBS.

7. Coopération Internationale

Type de la Coopération	Nombre de Projets en cours de 2020
Multilatérale	**18**
Bilatérale	**6**
Avec un Organisme International	**1**

En cours de 2020, le nombre de projets dans le cadre de la coopération internationale a continué à évoluer **(Fig.1)** et à atteint 25 projets dont 72% relevant de la coopration multilatérale notamment avec l'UE (H2020, PRIMA, ERANETMEd, ARIMNET2, ENI CBC MED,..)

a/ Coopération Multilatérale

Durant l'année 2020, Le CBS a été impliqué dans trois nouveaux projets dans le cadre de coopération multilatérale :

- 1 projet **PHC-Maghreb**
- 1projet **UE/H2020 Widespread Twinning -2020**: MICAfrica
- 1projet **InnoVa**: German-African

Par ailleurs, il a continué à entretenir 14 autres projets dont :

- 2 projets **ARIMnet2 :PYRODIGEST** et **D4Declic** dans le cadre de la coopération Tuniso-Euromed.
- 2 projets **EU-PRIMA : EXPLOWHEAT et IMPRESA**
- 3 projets **UE/ H2020: Widespread Twinnig 03-2018: SEED; RISE -2016 : IPM-4-CITRUS et RISE 2015: EXANDAS**
- 1 projet **ENI CBC MED Programme: CEOMED**
- 2 projets dans le cadre de la coopération Tuniso-Euroméditéranéenne **ERANETMED : BIOSMAN** et **BIOGASMENA**.
- 1projet Tuniso-Japonais **SATREPS**
- **MERITE:** «Urbanized bays-Sfax bay»: 2016-2020: Marine Ecosystem Response to the Input of conTaminants in the coastal zone
- 1 projet **i-Coop 2019**
- 1 projet **H2020-COST:** Huplant Control: Control of human pathogenic mico-organisms in plant systems

- 1 projet **LMI-COSYS-MED**: Contaminants et écosystèmes marins sud méditerranéens .

b/ Coopération Bilatérale

Durant l'année 2020, le CBS a été impliqué dans 4 nouveaux projets de coopération bilatérale dans le cadre de coopération **Tuniso-Algérienne**

Par ailleurs il a continué à entretenir :

- 1 projet **PHC-Utique** dans le cadre de coopératon Tuniso-Française
- 1 projet dans le cadre de la coopération **Tuniso-Marocaine**

c/ Organismes internationaux

Durant l'année 2020, le CBS a continué d'entretenir 1 projet Américain PEER financé par **USAID**.

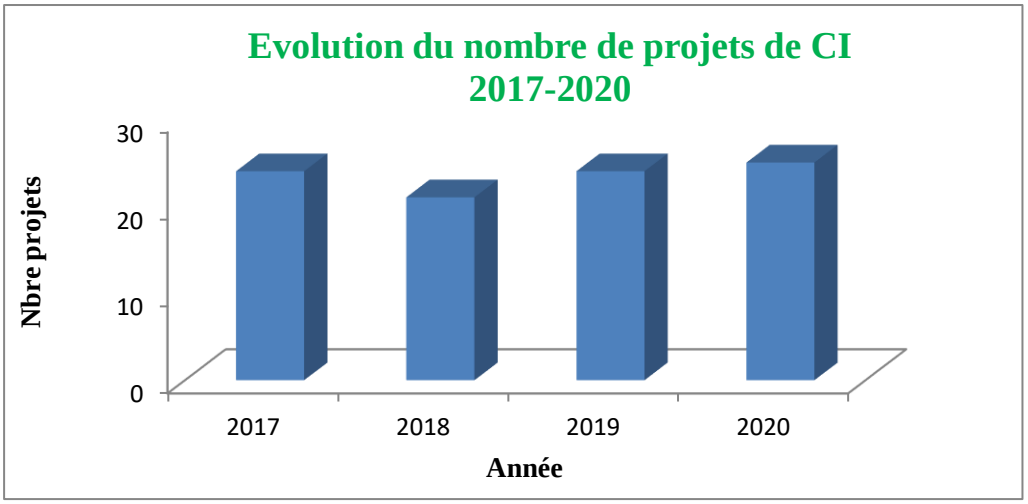


Fig.1 Evolution du nombre de projets de CI 2017-2020

8. Ouverture du CBS sur son environnement national

Durant l'année 2020, le CBS a noué deux nouvelles conventions avec les Laboratoires STERIDET-Sfax et la Société HAZEM-Sfax et a continué ses collaborations avec les partenaires socio-économiques suivants : 1/ Société industrielle : Jmal **« EJM »** pour les produits d'entretien 2/ Société **SEED** et 3/ la Société **SOTULUB** 4/ Laboratoires **Medis** 5/L'Industrie **PHILADELPHIA PHARMA**

Par ailleurs, il a signé et a renouvelé un bon nombre de conventions avec des partenaires universitaires, socio-économiques ainsi qu'avec l'ANPR et le Ministère de tutelle dans le cadre des programmes nationaux de financement de l'innovation dont :

I/Programme Mobidoc Post –Doc et Doctorants

1. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Manel Ben Abdallah)-ANPR:** ***2020-2022:*** Mise au point d'un procédé de traitement biologique des effluents de pêcherie à une échelle pilote en utilisant des microorganismes halophiles. Organisme Bénéficiaire: Novogel, Congélation des produits de mer, Sfax.
2. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Asma Mahmoudi)-ANPR:** ***2020-2022:*** Les problèmes de santé liés à l'environnement: Perturbateurs endocriniens et risques de cancer. Collaboration avec H.U. Habib Bourguiba, Sfax. Organisme Bénéficiaire: LBPE-CBS.
3. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Hanen Kharrat)-ANPR:** ***2018-2020:*** Valorisation agronomique du phosphogypse par culture des plantes médicinales sur phosphogypse et suivi des concentrations des métaux lourds dans les huiles essentielles de ces plantes et dans le

phosphogypse. Organisme Bénéficiaire: Tunisian Indian Fertilizers, Usine TIFERT, Site de Skhira-Sfax.

4. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Fatma Hadrich)-ANPR:** ***2018-2020:*** Production des molécules bioactives à partir des sous-produits d'olivier pour prévenir la maladie de diabète type-2 et l'obésité. Utilisation des procédés d'encapsulation et de compression. Organisme Bénéficiaire: LBPE-CBS.
5. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Salma Abdeljalil)-ANPR** : Clonage, expression de deux récepteurs oncogéniques : CLTA-4 et PD-1 suivi de criblage de peptides antagonistes par la technique de phage display . Organisme bénéficiaire : Hôpital Habib Bourguiba.
6. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Manel Boudabbous)-ANPR** : Formulation de nouveaux produits cosmétiques à base de nouvelles biomolécules bio-synthétisées , organisme béneficiaire : FAYDERMA COSMETIC
7. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Ines Ben Ahmed- Krid)-ANPR**: Production, formulation et étude de la stabilité des enzymes d'une souche fongique locale incorporées dans le produit détergent Det machine de la société des détergents de tunisie « SODET ».
8. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Hajer Tounsi)-ANPR** : Amélioration de l'extraction des huiles végétales et valorisation de grignons par des enzymes pectinolytiques produites localement.Organisme bénéficiaire :LBME- CBS
9. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Emna Ketata)-ANPR** :Recherche d'inhibiteurs biologiques d'uréase dans le but de désodoriser et valoriser les fientes de volailles. Organisme bénéficiaire : Société Agricole Réunie Abid (SARA)
10. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Amena Saadallah-Kallel)-ANPR** : Biomarqueurs génétiques pour l'évaluation de la chimiotoxicité et la chimiorésistance dans le traitement des cancers . Organisme bénéficiaire : Centre d'Investigation Clinique CHU Habib Bourguiba de Sfax
11. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Ines Borgi)-ANPR** : Production et formulation de bio-insecticide fongique à base de Beauveria bassiana . Organisme bénéficiaire : Société Tetra Hygiène
12. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Mouna Belhoul)-ANPR** : « Monter une Start-up « Biotech ECOZYM »: Production d'enzymes écologiques destinées pour les industries de cuir, de textile, de détergence et d'agro-alimentaire . Bénéficiaire : LBMB-CBS
13. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Wided Brabra)-ANPR** : «Ciblage enzymatique, microbien et biochimique du pouvoir pathogène d'Ewinia amylovora». startup Astrum Biotech
14. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Ahlem Mttibaa Chakchouk)-ANPR** : «Développement d'un nouveau produit naturel à base d'engrais organique (Humivital) et de bactériocines (peptides antimicrobiens) à base de bactéries lactiques pour la nutrition et la protection des oliviers». Organisme bénéficiaire :Société Industriel VITALAG;
15. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Imen Sellem)-ANPR** : «Etude microbiologique, biochimique et physico-chimique de l'instabilité du lait UHT de la marque VITALAIT et
16. installation d'un modèle prédictif de contrôle». Organisme bénéficiaire :la Centrale Laitière de Mahdia VITALAIT
17. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr.Karima Salem)-ANPR :** "Elaboration d'un complexe enzymatique destiné pour la panification afin d'améliorer les propriétés de transformation de la pâte la Société Meunière Tunisienne. Bénéficiaire : Société Meunière Tunisienne

II/ Pogrammes des projets PRF

Le CBS a aussi continué de bénéficier de financements du MESRS dans le cadre de programmes de financement de l'innovation (10 projets de Recherche Fédéré PRF) :

1. ***PRF 2019-D1P1: 2019-2021:*** Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes. Le LBPE est une équipe partenaire.
2. ***PRF 2017-D6P1: 2018-2021:*** Développement d'un éco-procédé pilote de culture de micro-algues pour la séquestration de carbone, le traitement des eaux usées et la production de biocarburant. Le LBPE est l'équipe coordinatrice.
3. ***PRF 2017-D6P2: 2018-2021:*** Approche Intégrée de l'utilisation des symbioses légumineuses-PGPR pour la promotion de la fertilité du sol, la préservation de l'environnement et de l'agriculture durable du blé. Le LBPE est une équipe partenaire.
4. ***PRF 2020-D3P2*** **:** Tests Moléculaires à visée théranostique et diagnostique pour une meilleure prise en charges de patients atteints de cancer.
5. ***PRFCOV19 2020-DDP2*** :Développement d'outils de diagnostique et thérapeutiques. **(Coordinateur : Pr Slim Tounsi -CBS)**
6. ***PRFCOV19 2020-GP2***: Aide à la Décision basée sur l'Analyse des GEnomes chez des patients covid-19 tunisiens
7. ***PRF 2018-2019-2020*****:** Valorisation des eaux salines dans le domaine agricole après magnétisation. Etude et Evaluation des effets de cette technologie sur les eaux, les sols et les cultures**. (Coordinateur : Pr Ahmed Mliki-CBBC)**
8. ***PRF2016-CBS03***: Plateforme Biométrique Multimodale de Prévention contre le Terrorisme « PMBLT »
9. ***PRF 2018-CBS:*** Plateforme d'Analyse BigData pour l'évaluation des Risques d'Allergies Alimentaires et d'aide à la DécISion pour le consommateur en Tunisie « PARADIS »
10. ***PRF2019-D3P3 :*** Reconnaissance faciale pour orienter la génomique et le diagnostic des dysmorphies en Tunisie

III/ Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC

En cours de 2020, **7** projets de PEJC ont été acceptés et/ou renouvelés :

1. Titre du projet : **«**Caractérisation biochimique et moléculaire de nouvelles peroxydases microbiennes d'intérêt industriel dans la valorisation et la dégradation de la lignine**». (Coordinateur : Dr. Nadia Zarai Jaouadi)**
2. Titre du projet : **«**Les cyclodextrines comme vecteurs d'encapsulation des molécules bioactives : Production, purification et génération des nanoparticules **». (Coordinateur: Dr Sonia Jemli)**
3. Titre du projet : **«** Valorisation de trois plantes aromatiques et médicinales du Sahara Tunisien dans la biopréservation des viandes : Etude de l'évolution qualité-structure ». (**Coordinateur : Dr Slim Smaoui)**
4. Titre du projet : « Dissection des réseaux de régulation du gène AlSRG1 isolé à partir d'Aeluropus littoralis liés aux stress abiotiques via une approche transcriptomique : RNA-seq **». (Coordinateur : Dr Rania Ben Saad).**
5. Titre du projet: «Transcriptomic Analysis of Abiotic Stress Response in Wheat» **(Coordinateur:Dr Nejib Saidi)**
6. Titre du projet : « Bioconversion des déchets industriels en lipides microbiens à usage chimique et énergétique ». **(Coordinateur : Dr Mohamed Guerfali)**
7. Titre du projet **: «** Intérêt de l'étude de la clonalité lymphocytaire par réarrangements géniques dans le diagnostic et le suivi des hémopathies lymphoïdes malignes » **(Coordinateur : Dr Wajdi Ayadi)**

IV/ *Programme National de Promotion del'Innovation Technologique « PNRI »*

- **Un projet PNRI Dégraissage-Reverdissage CNCC-CBS-ENIS 2016-2021** intitulé **: «** Développement et optimisation d'un procédé éco-innovant de traitement des peaux ovines : reverdissage , épilage –pelanage et dégraissage enzymatiques »

V/ Projets PAQ (Programme d'Appui à la Qualité de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique) – CBS

En 2020, le CBS a obtenu un nouveau projet **PAQ Collabora** « KASS » intitulé : **« Kits moléculaires et applications numériques de prédiction faciale et de dysmorphies à visée sécuritaire et en santé »** et 4 nouveaux projets **PAQ - Pré-Amorçage et Essaimage Scientifique « PAES »** :

1. Projet **PAQ-PAES** intitulé : « **Projet société prestataire de service spécialisée en analyse génétique et en édition génomique des organismes modèles** »
2. Projet **PAQ- PAES** intitulé : **« Production , Formulation et commercialisationd'enzymes fongiques pour diversesapplications biotechnologiques »**
3. Projet **PAQ- PAES** intitulé : **« Test génétiques pour le diagnostic et la thérapie en Oncologie»**
4. Projet **PAQ-PAES** intitulé : **« Montage de spin-off de développement durable de procédés biotechnologiques innovants d'ENZYmes industrielles (ENZYin) »**

Par ailleurs , il a continué à bénéficier de fonds octroyés par des fonds nationaux visant à valoriser la recherche et l'employabilité des jeunes diplômés dans le cadre des projets suivants :

- Projet **PAQ-Collabora « BIOTECH INNOV »** intitulé **: « Développemnt de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriel »**
- Projet **PAQ-Gouvernance et capacité de gestion (PAQ CR 2S) Système Management intégré Qualité sécurité environnement & Accréditation**

9. Ouverture du CBS sur son environnement international

A l'échelle internationale, le CBS a noué une nouvelle convention de coopération avec l'université de/ Selcuk University-Konya-Turkey et a continué sa collaboration avec l'université de Sapienza de Rome –Italie aussi bien qu'avec la société INRA transfert de France**.** De plus, le CBS a réalisé un bon nombre de prestations de services (analyses) au profit de partenaires académiques et socio-économiques.

A/ Liste des missions A l'étranger en 2020:

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Souad Rouis	Projet IPM4-Citrus	Italie	Du 27 janvier au 07 février 2020
Nadia Marrakchi	Projet IPM4-Citrus	Italie	Du 27 janvier au 07 février 2020

B/ Liste des Invités Etrangers en 2020 :

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Serge Alonso	LBME	France	Du 13 au 17 février 2020
Moez Rehimi	PHC-Utique	France	Du 13 au 24 février 2020
Maurizio Trovato	LBAP	Italie	Du 17 au 20 Mars 2020
Tawfik Hakim	Coopération Tuniso / Marocaine	Maroc	Du 02 au 13 mars 2020

Abdelkarim Abou Salhem	PHC Maghreb	France	Du 24 au 30 octobre 2020
Noomen Aslewi	PHC Maghreb	Maroc	Du 05 au 11 novembre 2020

C/ Stages à l'Etranger en 2020:

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Firas Feki	Organisme étranger	Chine	Du 03 février au 27 mars 2020
Hajer Ziedi	LBAP	Espagne	Du 15 février au 15 juillet 2020
Ahlem Dabbebi	PHC Maghreb	France	Du 01 septembre au 31 décembre 2020
Wided Brabra	LBME	France	Du 10 novembre 2020 au 02 avril 2021
Khawla Missaoui	LBME	Espagne	Du 15 novembre 2020 au 15 février 2021

10. Production Scientifique en cours de 2020

En cours de 2020, La production scientifique du CBS a connu une légère évolution notamment pour le nombre des articles indexés dans des revues internationales **(Fig. 2)**, ouvrages et actes de conférences.

	2020
Articles, Revues Internationales	**128**
Chapitres d'ouvrages scientifiques, actes de colloques internationaux	**13**
Brevets nationaux	**3**
Brevets internationaux	**-**
Doctorats et Habilitations Soutenus	**11**
Mastères	**26**
PFE	**15**

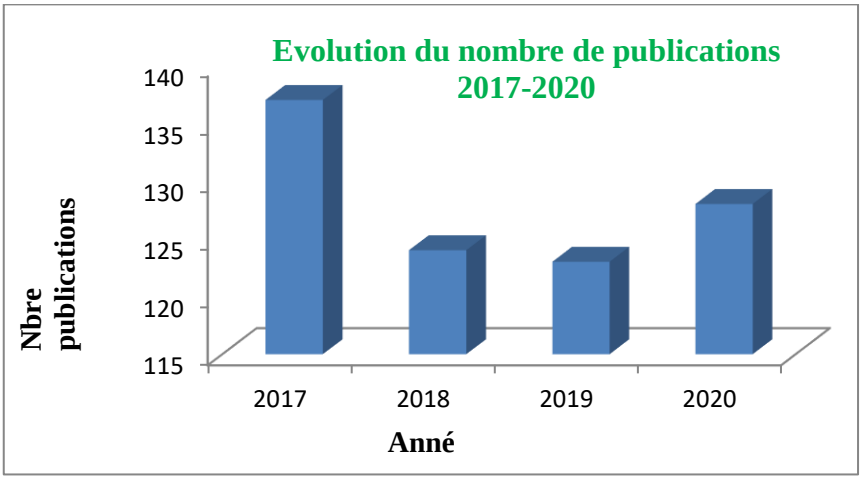


Fig. 2 : Evolution du nombre de publications 2017-2020

11. Séminaires, journées et ateliers scientifiques

1. NGS Lecture Day : NGS For Clinical Diagnosis. Centre de Biotechnologie de Sfax , **31 Janvier 2020**

2. National info day in collaboration with master degree of epilepsy in Sfax medicalschool. Faculté de Médecine de Sfax , **7-8 Février 2020**
3. Journées scientifiques du printemps : Génomique et numérique au service de la sécurité et de la santé . Hotêl Tamaris Mahares, **7 Mars 2020**
4. Une demi-journée de discussion de cas clinique des patients EE. Centre de Biotechnologie de Sfax, **12 Mars 2020**
5. International congresses on process Bioresources and Environnement » (ICPBE 2020) qui a eu lieu à Djerba , **16-18 Mars 2020**.
6. Réunion d'avancement dans le cadre du projet IPM4-Citrus par visioconférence, **29 Juin 2020**
7. Une demi-journée pour H2020 post doctoral fellowships and opportunities for early stage researchers.Centre de Biotechnologie de Sfax, **30 Juin 2020**
8. Organisation de Réunion de clôture du projet Biosman par visioconférence, **13 Juillet 2020**
9. Un séminaire en neurogénétique. Visioconférence, **30 Septembre 2020**
10. Un workshop "DrosAfrica Workshop: DROSOPHILA: A SIMPLE BUT POWERFUL MODEL FOR BIOMEDICAL RESEARCH. Visioconférence, **12-14 Octobre 2020**
11. Un workshop sur capacity building on NGS gene panel design. Visioconférence, **14-16 Octobre 2020**
12. Une session de Questions/Réponses au profil des participants du workshop capacity building on NGS gene panel design. Visioconférence, **26 Octobre 2020**
13. 1/2 journée Recherche-Industrie en Biotechnologie environnementale **(Fig.3)**: Co-organisation avec l'UST Transfert de Technologie et US-Analyses du CBS. Webinaire, **27 Octobre 2020**
14. Une conférence: CYTOF Experimental Process. Visioconférence, **3 Novembre 2020**
15. Les Journées du LMI COSYS-Med: Contaminants et Ecosystèmes Marins Sud Méditerranéens: Relations entre gestionnaires et scientifiques; Renforcement des capacités et Visibilité régionale et internationale. Visioconférences, **05-06 Novembre 2020**
16. Conference on Biogas Production and Digestate Valorisation from Wastes. Visioconférences, **17-18 Novembre 2020.**
17. Organisation de plusieurs ateliers pratiques au sein du laboratoire LPCMC -CBS **, Novembre et Décembre 2020**
18. Organisation d'un Webinaire " contrôle qualité" **(Fig.4)** Quels services pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et détergents, organisé conjointement par l'USTT et le LB du CBS. , **2 décembre 2020**

Fig.3. Annonce Webinar Recherche-Industrie Biotechnologie environnementale

Fig.4. Annonce Webinar Contrôle Qualité

14.Prix et Distinctions

Professeur Sami SAYADI a obtenu le prix «*German - African Innovation Incentive Award*» décerné par le Ministère Fédéral d'Education et de la Recherche d'Allemagne, en Mai 2020, dans le cadre du Projet InnoVa intitulé «*Innovative Valorization of Olive Mill Effluents*». Un financement de 150.000 euros a été accordé.*Partenaires:* Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux LBPE-CBS CBS et Chaire de Génie des Procédés Environnementaux- Université Technique de Berlin, Allemagne.

Activités des Laboratoires de Recherche

LR15CBS01 : Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE)

مخبر الأساليب البيولوجية البيئية

Responsable :Prof. Mohamed CHAMKHA
Email : mohamed.chamkha@cbs.rnrt.tn

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Mohamed Chamkha	Professeur	Fatma Ben Amor	Technicien contractuel
Sami Sayadi	Professeur (En détachement)	Faten Nasri	Assistante de gestion contractuelle
Wahiba Najjar	Professeur (ISEPBG-Soukra)	Omar Ouled El Farhani	Ouvrier contractuel
Sonia Khoufi	Maître de conférences	Najwa Mlaik	Post-doc
Ali Mekki	Maître de conférences (FS-Gafsa)	Amal Zayen	Post-doc
Fatma Karray	Maître assistant	Fatma Hadrich	Post-doc
Mariem Ellouze	Maître assistant	Raida Karray	Post-doc
Zouhaier Bouallegui	Maître assistant	Hanen Kharrat	Post-doc
Ines Feki	Maître assistant (ISB-Sfax)	Manel Ben Abdallah	Post-doc
Nozha Abid	Maître assistant (FS-Sfax)	Amina Maalej	Post-doc
Ahlem Saddoud	Maître assistant (FS-Sfax)	Asma Mahmoudi	Post-doc
Meryem Jemli	Maître assistant (FS-Tunis)	Mariem Samet	Post-doc
Hanen Chakroun	Maître assistant (ISB-Sidi Thabet)	Rihab Ben Ali	Post-doc
Manel Hamza	Technologue (ISET-Sfax)	Ines Zribi	Post-doc
Firas Feki	Ingénieur général	Mariem Kammoun	Post-doc
Mohamed Ali Masmoudi	Ingénieur en chef	Emna Feki	Doctorante
Najla Mhiri	Technicien principal	Meriam Cheffi	Doctorante
Slim Loukil	Technicien principal	Raouia Boujelben	Doctorante
Nidhal Baccar	Technicien principal	Imen Halouani	Doctorante
Sonia Kchaou	Technicien	Wiem Elloumi	Doctorante
Salma Kchaou	Assistante de gestion	Firas Feki	Doctorant
Sirine Choura	Ingénieur contractuel	Nesrine Gharsallah	Doctorante
Manel Chelbi	Technicien contractuel	Dorra Triki	Doctorante

OBJECTIFS GENERAUX ET SPECIFIQUES:

L'objectif général du programme de recherche du LBPE est de maîtriser les processus de dégradation de la matière organique dans les biotopes anaérobies ou aérobies et mettre en œuvre des systèmes biologiques (bactéries, champignons, microalgues, enzymes) à hautes potentialités biotechnologiques, pour le traitement et la valorisation des rejets et des résidus agro-industriels. Nos travaux se focalisent sur l'exploitation de ces systèmes biologiques pour la biodégradation, la bioconversion et la bioremédiation de plusieurs rejets (solides, liquides ou gazeux) urbains et industriels, ainsi que pour la réutilisation et la réhabilitation de sites pollués. L'équipe tente d'associer une activité à haute valeur ajoutée à des procédés de dépollution classique.

Nous nous intéressons à *a)* Mettre l´art de l´ingénieur au service de la biologie et concevoir un réacteur biotechnologique pour un processus donné, *b)* Approfondir les connaissances sur les processus de dégradation de la matière organique dans les biotopes anaérobies ou aérobies et mettre en œuvre des souches microbiennes (bactéries, champignons et microalgues) à hautes potentialités biotechnologiques, pour le traitement et la valorisation d´effluents ou de résidus agro-industriels, *c)* Exploiter des activités microbiennes pour la biodégradation de plusieurs rejets urbains et industriels et des résidus putrescibles (margines, abattoirs, hydrocarbures, détergents...), ainsi que leur valorisation par la production de molécules à haute valeur ajoutée et *d)* Caractériser des microorganismes (bactéries, champignons, microalgues), particulièrement ceux isolés des milieux extrêmes, moyennant les outils classiques et moléculaires, ainsi que leurs systèmes enzymatiques impliqués dans des réactions de synthèse, bioconversion ou biodégradation, et des biosurfctants.

Dans le cadre de l'ouverture sur son environnement socio-économique, le personnel du LBPE participe à l'encadrement des étudiants et le developpement des compétences et effectue, à la demande des utilisateurs, des travaux de traitement/dépollution, d'analyses physico-chimiques et microbiologiques, ainsi que des expertises et présente les solutions adéquates aux problèmes posés. Il offre, alors, son expertise multidisciplinaire pour le développement et la mise à l'échelle des bioprocédés environnementaux, ainsi que la récupération, la purification et la caractérisation de divers dérivés à haute valeur ajoutée.

Les travaux réalisés durant l'année 2020 entrent dans le cadre de 3 projets du Contrat-Programme 2019-2022, cités ci-dessous. Nous présentons dans ce rapport quelques exemples d'activités.

LISTE DES PROJETS

Projet 1: Bioremédiation, traitement des rejets et valorisation des bioressources. (Responsable: Prof. Mohamed Chamkha).

Projet 2: Valorisation des déchets organiques solides par biométhanisation. (Responsable: Dr. Sonia Khoufi).

Projet 3: Bioraffinerie des microalgues. (Responsables: Dr. Fatma Karray et Prof. Mohamed Chamkha).

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS :

1. Projet 1: Bioremédiation, traitement des rejets et valorisation des bioressources *(Responsable: Prof. Mohamed Chamkha).*

- **Traitement des effluents de tanneries par des procédés combinés:**

Les travaux sont focalisés durant cette année 2020 sur l'étude du couplage de l'adsorption(minérale en utilisant le marbre (MP) et organique, avec le biochar (BC)) pour l'élimination du chrome à partir de l'effluent de tannage (ET) avec le traitement biologique (aérobie et anaérobie). Nous rappelons que la caractérisation physico-chimique de cet effluent a montré un pH acide (3,67), une salinité très élevée (> 68 g/l), une DCO = 3,76 g/l, une DBO_5 = 0,6 g/l, une teneur en azote total faible mais dépassant les normes de rejet et une concentration élevée en chrome (> 0,7 g/l). Il s'agit bien d'un effluent très toxique (confirmé par microtoxicité et phytotoxicité). Les résultats de l'étude détaillée de l'adsorption ont montré que le MP et le BC étaient des adsorbants performants, présentant des pourcentages d'élimination du Cr(III) dépassant les 90%.

L'étude de l'efficacité du traitement de l'effluent (ET prétraité par adsorption mélangé avec l'effluent final) par voie biologique aérobie a montré un faible abattement de la DCO au début de la phase d'acclimatation qui a été par la suite amélioré et a dépassé 75% pour 1,5 g de DCO/l.j, témoignant d'une adaptation de la biomasse au mélange (**Fig. 1a**). Cependant, l'augmentation de la charge introduite appliquée au delà de cette valeur a entrainé une diminution de l'abattement de la DCO à 29% seulement pour une charge de 2,1 g DCO/l.j.

La diminution de la pollution organique dans le mélange traité a été accompagnée d'une élimination de la toxicité initiale très élevée (les indices de germination ont passé de 19,4 à 59,2% pour le mélange testé à 50%) (**Fig. 1b**).

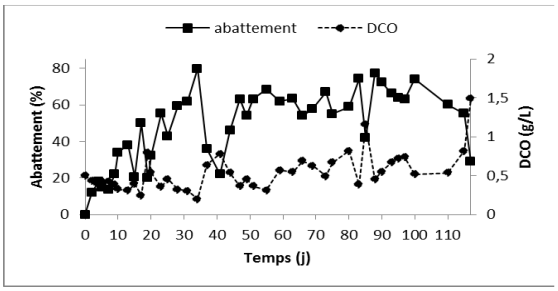


Fig. 1a. Evolution de la DCO et de son abattement au cours du traitement du mélange.

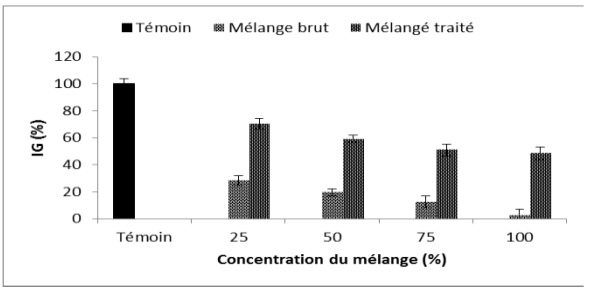


Fig. 1b. Test de phytotoxicité: IG (%) des graines de *L. esculentum* cultivées sur le mélange brut et traité.

Pour l'étude du couplage adsorption-digestion anaérobie en batch, une série de batchs anaérobies a été menée pour déterminer le potentiel biométhane (BMP) à partir de la mono et de la co-digestion (**Fig. 2**). La mono-digestion de l'ET a abouti à des volumes cumulatifs de méthane faibles pour les deux effluents et ce en utilisant les deux adsorbants, alors que la co-digestion avec l'EF a abouti à une amélioration de la production du méthane et ce pour les deux adsorbants utilisés. Ceci témoigne donc que la co-digestion permet d'améliorer la production de méthane.

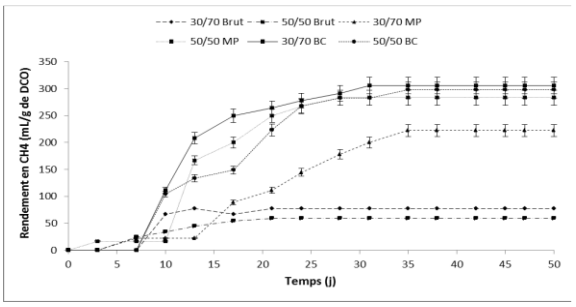


Fig. 2a: Evolution du rendement en CH_4 au cours de la codigestion en batch.

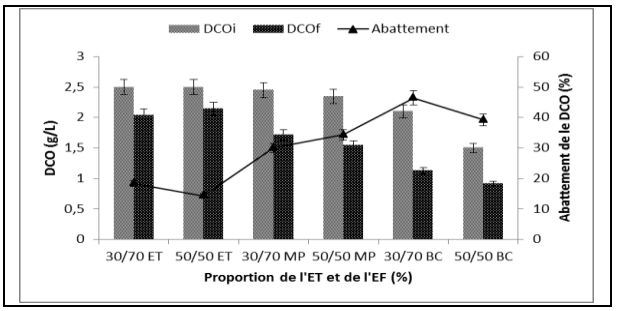


Fig. 2b. Suivi de la DCO au début et à la fin de la codigestion anaérobie en batch.

- **Biodégradation des hydrocarbures pétroliers et production des biosurfactants par une bactérie marine nouvellement isolée:**

Les hydrocarbures pétroliers sont parmi les déchets les plus toxiques déversés en mer. Ils auront comme conséquence une pollution importante et précoce à l'échelle globale. L'introduction des hydrocarbures dans le milieu marin peut aller des apports chroniques diffus jusqu'aux déversements massifs souvent d'origines anthropique ou accidentelle. Ces contaminants, et plus particulièrement les hydrocarbures aromatiques polycycliques, sont connus par leur rémanence dans le milieu marin, ainsi que leur toxicité. La biodégradation est considérée comme le principal mécanisme par lequel la plupart des polluants xénobiotoques, notamment les hydrocarbures, sont éliminés de l'environnement. Bien que certaines souches microbiennes dotées de capacités de bioremédiation aient été sélectionnées pour la bioremédiation, elles ne sont généralement pas aussi efficaces que les populations natives. Dans le cadre des travaux portant sur la biodiversité microbienne et sa dynamique au sein de trois ports des îles de Kerkennah, biodégradation des hydrocarbures et production des biosurfactants par des bactéries marines nouvellement isolées, nous nous sommes intéressés à l'isolement et à la caractérisation de bactéries marines hydrocarbonoclastes capables de dégrader des HAPs (naphtalène, phénanthrène et pyrène) et le pétrole brut, en présence d'une salinité élevée. Une souche bactérienne marine aérobie nommée Cnaph3 a été isolée à partir des eaux de mer provenant du port de pêche de l'Ataya, après des enrichissements sur le naphtalène (200 mg/l). Les caractérisations phénotypique et phylogénétique montrent que la souche Cnaph3 est étroitement reliée à l'espèce *Halomonas pacifica* (similarité de l'ARNr 16S de 98,7%). Elle possède des capacités biodégradatives sur le naphtalène (200 mg/l), en l'absence de l'extrait de levure, en présence de 30 g/l NaCl et à 37 °C. Les analyses GC-FID montrent

que la souche Cnaph3 est capable d'éliminer 98,8% des 200 mg/l du naphtalène présent dans le milieu après 7 jours d'incubation. Cnaph3 montre aussi une grande capacité de métaboliser une large gamme d'hydrocarbures aliphatiques, aromatiques et complexes, utilisés comme seules sources de carbone et d'énergie.

L'évaluation de la tension de surface des surnageants filtrés de la culture Cnaph3 sur le naphtalène montre, qu'au cours de la croissance, une nette diminution de la tension de surface a été constatée (de 54,6 à 33,3 mN/m). Ce phénomène pourrait être expliqué par la synthèse des agents émulsifiants ou biosurfactants capables de réduire la TS et de rendre, ainsi, l'hydrocarbure mieux accessible à la cellule pour être dégradé. Le potentiel de biodégradation et de production des agents tensioactifs par Cnaph3 présenterait cette souche comme candidate potentielle pour la biorestauration des sites contaminés par les hydrocarbures dans des conditions salines.

Nous avons suivi ensuite une éventuelle production de biosurfactants par Cnaph3, durant sa croissance sur différentes sources de carbone (bouillon nutritif, huile d'olive, huile de maïs, glycérol, mazout, huile de moteur et pétrole brut), en réalisant la mesure de la tension de surface et le test de déplacement d'huile. Cette souche a montré une grande capacité à produire des biosurfactants sur les substrats testés, et en particulier sur le glycérol, qui est une source de carbone bon marché, minimisant ainsi le coût élevé de production de ces tensioactifs. Les biosurfactants produits ont été purifiés par chromatographie sur colonne de gel de silice et par chromatographie sur couche mince (CCM). Les spectres de masse ESI des biosurfactants purifiés montrent la présence des pics avec des valeurs m/z comprises entre 1044 et 1100 Da qui pourraient être attribués à des lipopeptides, et en particulier aux familles de surfactine et de pumilacidine (**Fig. 3**). La concentration micellaires critique (CMC) des biosurfactants bruts produits par la souche Cnaph3 sur le glycérol (1%, v/v) est de l'ordre de 500 mg/l. L'étude de la stabilité de Bios-Cnaph3 montrent qu'ils sont stables *vis-à-vis* d'une large gamme de température (4-105 °C), de pH (2,2 et 12,5) et de salinité (0-100 g/l NaCl). Afin d'étudier la cytotoxicité des biosurfactants bruts produits, la viabilité des cellules humaines rénales HEK-293 a été évaluée moyennant le test MTT. Le taux de viabilité des cellules HEK-293 traitées est supérieur à 80%, pour les concentrations allant jusqu'à 125 µg/ml pour Bios-Cnaph3, après 24 et 48 h d'incubation, prouvant que le produit testé peut être considéré comme non toxique (ISO reports 2009).

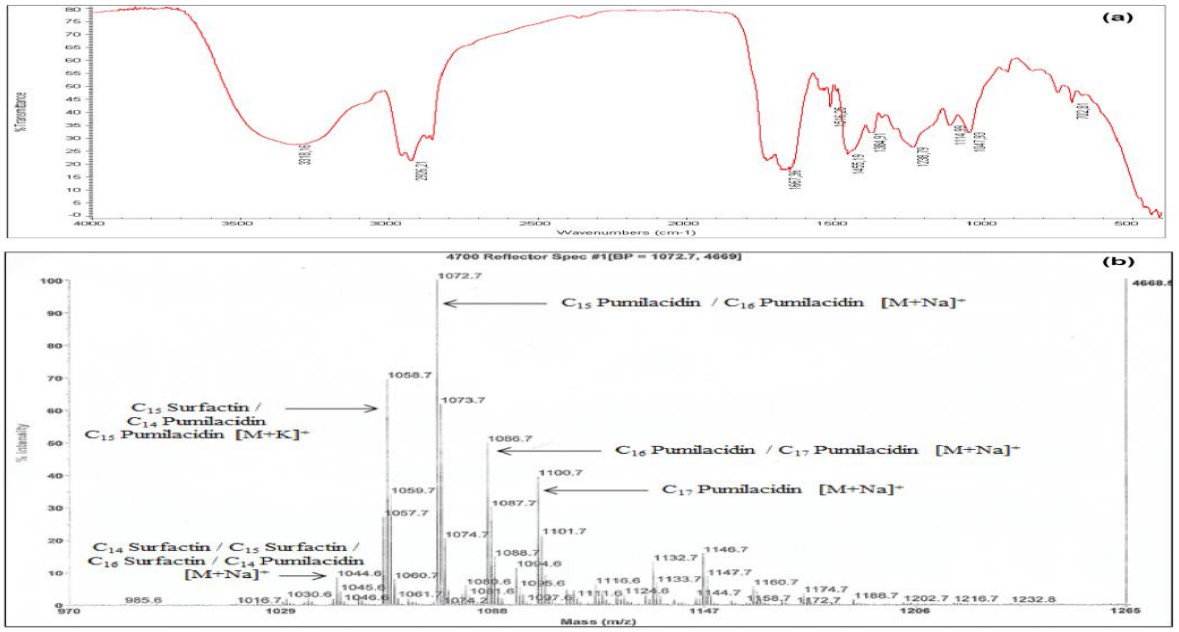


Fig. 3. Spectres FT-IR (a) et ESI-MS (b) des biosurfactants produits par Cnaph3.

Les résultats ainsi obtenus sont en faveur de l'utilisation des biosurfactants bruts dans diverses applications. Le potentiel des biosurfactants produits par Cnaph3 sur le glycérol (1%, v/v) à éliminer les hydrocarbures des sols contaminés avec de l'huile de moteur usée (20%, m/v), par rapport aux tensioactifs chimiques (Triton X-100, Tween 80 et SDS) a été évalué. Les résultats obtenus montrent que Bios-Cnaph3 ont un effet de solubilisation beaucoup plus important par rapport à leurs homologues chimiques. Par ailleurs, une évaluation de l'application de ces biosurfactants dans la prévention (pré-traitement) et l'élimination (post-traitement) des biofilms des microorganismes, entraînant de nombreux problèmes dans divers domaines, a été réalisée. Bios-Cnaph3 sont doués des activités anti-adhésive et anti-biofilm importantes contre cinq souches pathogènes testées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa et Candida albicans*). En outre, l'évaluation de l'activité anti-cancéreuse des biosurfactants bruts Bios-Cnaph3 a été étudiée sur des cellules tumorales de mélanome B16 moyennant le test MTT. Les résultats obtenus montrent que les cellules B16 ont une prolifération réduite suite à une exposition aux Bios-Cnaph3 d'une manière dose-dépendante, suggérant ainsi leur effet cytotoxique sur la lignée cellulaire du cancer de peau étudiée (viabilité cellulaire < 80%; ISO reports 2009). Par ailleurs, le scratch test a été aussi utilisé pour évaluer, *in vitro*, le potentiel des Bios-Cnaph3 dans la migration et la prolifération cellulaire, dans des zones blessées. Les taux de fermeture des plaies étaient de 78,2 par rapport au contrôle (63,8%), après 48 h d'incubation.

En conclusion, la nouvelle souche marine hydrocarbonoclaste Cnaph3, ainsi que ses biosurfactants demeurent prometteurs et pourraient être utilisés avec succès dans diverses applications biotechnologiques, pharmaceutiques et environnementales.

- **Production de polymères biodégradables: Polyhydroxyalcanoates:**

Chaque jour, des milliers de tonnes de déchets en plastique s'accumulent dans l'environnement. Les plastiques pétrochimiques conventionnels comme polystyrène, polyéthylène, polychlorure de vinyle requièrent généralement beaucoup de temps pour leur totale biodégradation. Ces matières durables et non biodégradables, sont considérées comme source de problèmes écologiques. L'impact de ces rejets sur les écosystèmes naturels a attiré l'attention sur la recherche des alternatives biodégradables à ces plastiques pétrochimiques. Les Polyhydroxyalcanoates (PHAs) sont des polyesters biodégradables produits naturellement par une variété de bactéries et archées. Les propriétés de la biocompatibilité et la biodégradabilité de ces polymères font de PHAs des polymères très prometteurs pour une large gamme d'applications médicales, thérapeutiques, industrielles et agricoles, etc. Cependant, leur utilisation reste limitée à cause des coûts de production élevés de ces bioplastiques. Par conséquent, plusieurs études sont orientées vers les plastiques biodégradables produits à partir de ressources renouvelables. Dans la première partie, nous nous sommes intéressés à rechercher des souches archéennes hyperhalophiles productrices de ce polymère par des méthodes moléculaires ciblant les gènes codant pour PHA synthase et par des méthodes de criblage colorimétrique tels le Nile Red, ou le Noir Soudan B. Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés à l'identification et la quantification des PHAs extraits dans des conditions optimales de croissance.

Un travail préliminaire a permis d'isoler 35 souches archéennes et bactériennes aérobies à partir du Chott el Jerid à la fin de la saison sèche. Nous avons rapporté la détection des activités enzymatiques extracellulaires par ces isolats (Karray *et al.*, 2018). Le premier volet de ce travail s'est focalisé sur le screening des souches productrices de PHA parmi les 35 isolats. Les résultats ont montré la détection de deux souches d'archées productrices, CEJGTE101 et CEJEA36, qui ont été identifiées comme étant *Natrinema altunense* et *Haloterrigena jeotgali*, respectivement. Afin d'optimiser la production, ces deux souches ont subi une étude physiologique; ce qui nous a mené à étudier l'impact de la température, de la concentration de NaCl, du pH, ainsi que le profil métabolique

sur la production de PHA. Ces deux souches présentent un optimum de température à 37 °C, un optimum de NaCl à 20 et 25%, un pH optimum à 6,5 et 7, respectivement (**Fig. 4**). Dans ces conditions optimales, différentes sources de carbone (amidon, glucose, rejet chargé en sucre) ont été utilisées. Le glucose à 20 g/l est la meilleure source de carbone qui stimule la production de 35% et 25% du polyhydroxybutyrate (PHB) et polyhydroxyvalerate (PHV) par rapport au poids sec cellulaire (PSC), respectivement. Ce travail a fait l'objet d'un article dans une revue à comité de lecture (Ben Abdallah *et al.*, 2020).

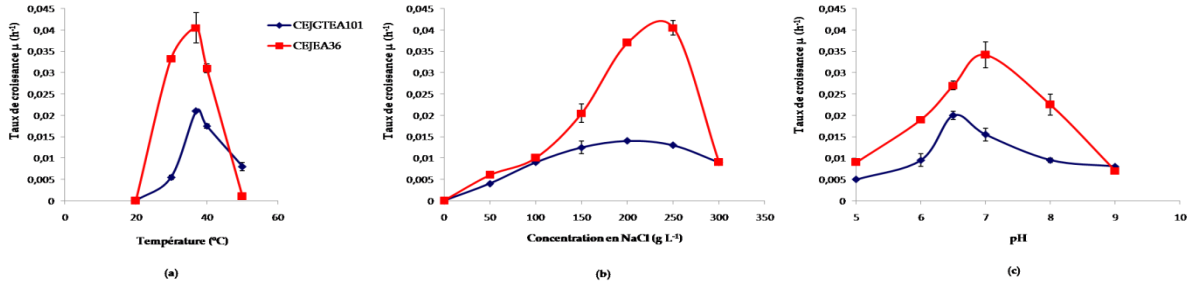


Fig. 4. Effets de la température (a), concentration en NaCl (b), pH (c) sur la croissance des souches CEJGTE101 et CEJEA36 dans un milieu de production de PHA.

Le second volet de ce travail s'est focalisé sur l'isolement d'autres souches productrices de PHA à partir de cultures d'enrichissements en présence d'amidon et à une concentration de 250 g/l de NaCl. Des échantillons d'eaux (S6W-14) ou mélange d'eau et de sédiment ont été prélevés durant la saison sèche (S1-10) et pluvieuse (S6M-14) du Chott El Jerid. A partir des échantillons analysés, un total de 33 souches aérobies a été isolé. Les résultats de screening des souches halophiles productrices de PHA par amplification des gènes *PhaE* (230 pb) et *PhaC* (280 pb) codant pour la PHA synthase concordent avec ceux obtenus par la méthode de coloration. Quatorze (14) souches d'archées sont considérées comme productrices dont 12 souches issues de l'enrichissement S6M-14, 1 souche de l'enrichissement S6W-14 et une souche de l'enrichissement S1-10. En se basant sur les analyses phylogénétiques obtenues, les souches sont proches de 3 genres: *Halorubrum*, *Natrinema* et *Haloarcula* placés dans le groupe phylogénétique *Euryacaryota*. Les teneurs en PHA produit par les souches varient de 0,07 à 9,25 % du PSC. Parmi ces isolats producteurs, 3 souches CEJ34-14, CEJ5-14 et CEJ48-10 présentent 99,7 % de similarité avec l'espèce *Halorubrum chaoviator*, 99,33% de similarité avec l'espèce *Natrinema pallidum* et 97,72% de similarité avec l'espèce *Haloarcula tradensis*, en produisant 9,25; 7,11; et 1,42 % du PSC, respectivement. Le type de bioplastique produit par ces souches est le polyhydroxybutyrate (*Karray et al.*, 2021). Nos résultats sont en accord avec d'autres travaux focalisés sur la production des polymères biodégradables dans des environnements hypersalins. En conclusion, nous rapportons pour la première fois la production de différents types de polyhydroxyalcanoates (PHB et PHV) par des archées du Chott El Jerid affiliées aux genres *Halorubrum*, *Natrinema* et *Haloarcula* à partir du l'amidon comme source de carbone. La quantité du PHA et sa composition dépendent de l'espèce, la source de carbone, la saison, et l'échantillonnage.

- **Valorisation d'extraits végétaux *in-vitro*: Exemple de néphrotoxicité du cisplatine:**

Nous sommes intéressés à la recherche de nouvelles formules ayant des propriétés qui pourraient aider à soulager les effets secondaires de certains agents anticancéreux tel que le cisplatine. Notre démarche s'est basée sur la valorisation de certains résidus agricoles disponibles en quantités très significatives en Tunisie. Notre investigation a porté sur l'étude par combinaison des extraits de deux biomasses différentes. Il s'agit de l'association entre les extraits des feuilles d'oliviers ainsi que celles du figuier. La combinaison des extraits à différentes proportions a été effectuée résultant dans des mélanges ou fractions dont les activités ont été étudiées. L'effet de différentes fractions sur la viabilité des cellules rénales utilisées comme modèle biologique a été étudié. La **figure 5** illustre les

investigations des effets cytotoxiques de différentes fractions étudiées sur la prolifération des cellules rénales. Cette étape serait nécessaire pour le choix ultérieur des concentrations de chaque fraction qui pourraient être utilisées en association avec un agent anticancéreux modèle, le cisplatine (CD). Un exemple de cette combinaison est présenté dans la **figure 6** montrant un éventuel effet positif de la combinaison; extraits végétaux/agent anticancéreux sur la prolifération cellulaire (CD/F1; CD/F4 et CD/F6).

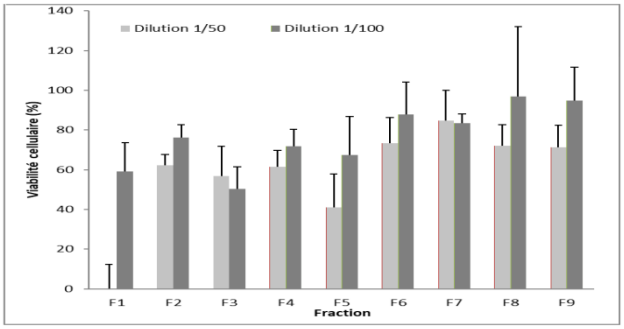


Fig. 5. Effet des mélanges à différentes proportions de deux extraits végétaux sur la viabilité des cellules rénales en culture.

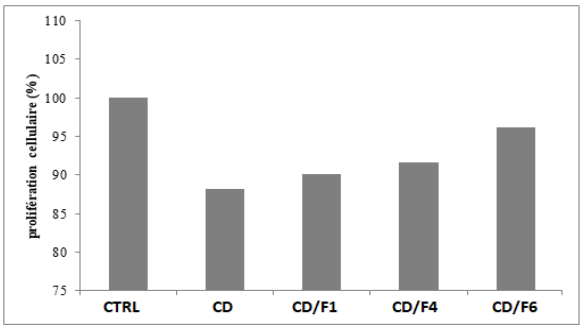


Fig. 6. Effet des traitements couplés sur la prolifération des cellules rénales. CTRL: contrôle, CD: cisplatine (agent anticancéreux).

2. Projet 2 : Valorisation des déchets organiques solides par biométhanisation. (*Responsable: Dr. Sonia Khoufi).*

La gestion des déchets représente un challenge important pour une gestion durable de l'environnement, il s'agit de mettre en œuvre les stratégies de gestion les mieux adaptées. La digestion anaérobie (DA) ou méthanisation est l'une des technologies permettant le traitement de la fraction organique des déchets. Elle peut transformer un problème des déchets en une source de richesse. Les déchets organiques disponibles en Tunisie à travers diverses filières peuvent constituer une source importante de production d'énergie et de fertilisants organiques par la DA.

Dans ce contexte, ce projet 2 cherche à utiliser de nouveaux procédés et de nouveaux matériaux pour améliorer les anciennes technologies de méthanisation en déterminant les conditions d'exploitation optimales spécifiques aux matières premières et aux conditions locales.

Cela conduira à la production d'énergie renouvelable à un coût compétitif par rapport à celui du combustible fossile et à la production d'un résidu riche en éléments fertilisants. Courant 2020, nous avons focalisé nos travaux de recherche sur les deux parties suivantes:

- **Etude de la digestion anaérobie des déchets de légumes et fruits:**

La connaissance de la composition des déchets est, tout comme la connaissance de sa quantité, indispensable à toute étude relative aux déchets solides. Pour cela, une caractérisation bio-physico-chimique des déchets des légumes et fruits (DLF) collectés du marché de gros de légumes et fruits de Sfax a été réalisée. L'étude la DA de ce déchet après broyage a été menée en utilisant deux types de digesteurs, un réacteur hybride avec recirculation du lixiviat et un réacteur à lit de boues.

Afin d'étudier l'influence de la charge organique sur les performances du réacteur bi-phasique, des charges organiques croissantes de l'ordre de 2,5; 5; 7,5 et 10% MS ont été appliquées (Fig. 7). En augmentant les charges organiques de 2,5 à 7,5%, une augmentation de la production de biogaz a été observée. Cette augmentation a été expliquée par la forte prolifération des bactéries avec la conduite des fermentations successives.

Une production élevée de biogaz a été observée dans le réacteur contenant 7,5% de MS. Durant cette dernière fermentation, le suivi des différents paramètres a monté une stabilité du système anaérobie, due aux conditions opérationnelles optimales de la fermentation (pH, rapport MV_S/MV_I).

Cependant, un faible rendement de 0,15 l/ g MV a été enregistré lors de l'introduction d'une charge organique de 10% MS, témoignant ainsi d'une inhibition de la fermentation.

Cette perturbation du biosystème notée par l'accumulation des AGV a été expliquée par l'augmentation du rapport MV_S/ MV_I.

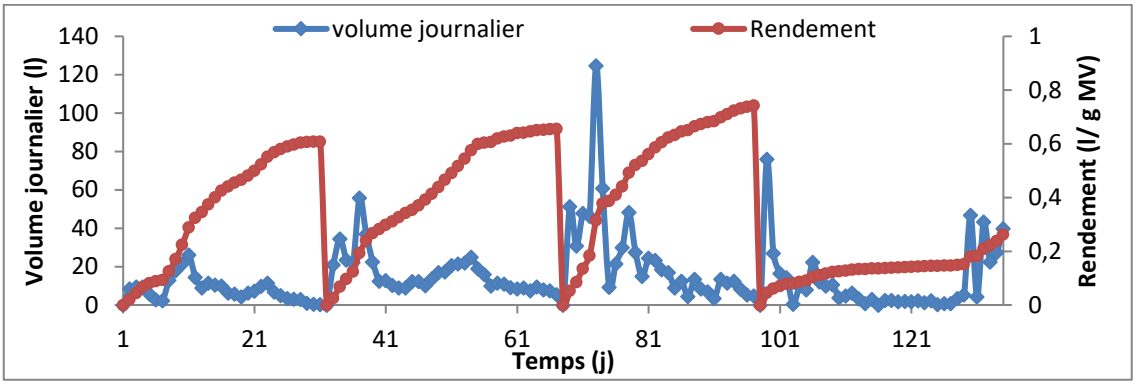


Fig. 7. Evolution journalière du volume et du rendement de biogaz au cours de la digestion anaérobie en réacteur biphasique.

Pour l'étude de la performance du réacteur à lit de boue, nous avons appliqué des charges organiques croissantes entre 0,5 et 6 g DCO/ l. j (Fig. 8). Durant cette étude, nous avons noté l'augmentation du rendement de biogaz en fonction de la charge organique appliquée. Un rendement maximal de 0,48 l biogaz/ g DCO a été obtenu à une charge de 5 g/ l. réacteur. j.

Cependant, une perturbation du biosystème a été observée lors de l'introduction d'une charge organique de 6 g DCO/ l. réacteur. j notée par la diminution de la production de biogaz et l'accumulation des AGV.

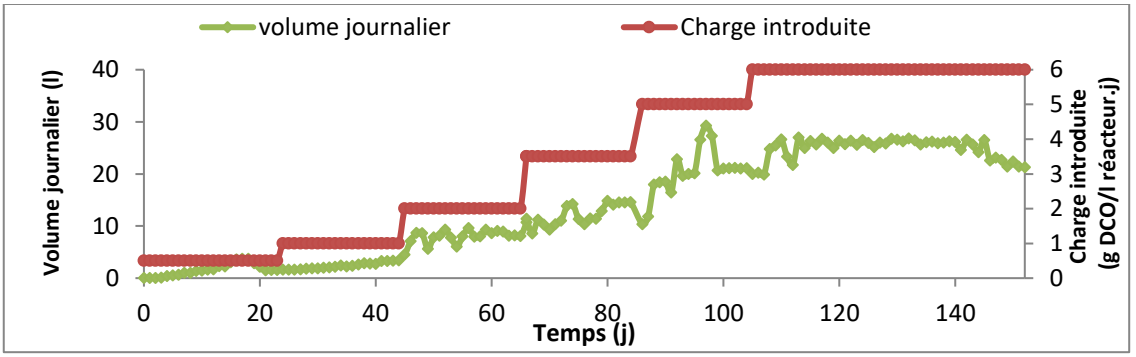


Fig. 8. Evolution journalière du volume en biogaz au cours de la digestion anaérobie en réacteur à lit de boue.

- **Caractérisation et évaluation de la qualité agronomique du digestat:**

Le digestat, présente des caractéristiques intéressantes et un intérêt important pour une valorisation comme engrais organique. Il peut être épandu directement sur les terres agricoles comme fertilisant ou épandu après un post-traitement. Les caractéristiques agronomiques des digestats sont essentiels afin de planifier leur application. Les digestats peuvent favoriser la croissance des plantes, améliorer la production, les paramètres de qualité et l'apport de nutriments essentiels après la fertilisation. Mais, des effets nocifs peuvent résulter, aussi, de la qualité du digestat (pH, matière organique et teneur en métaux lourds).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes focalisés dans cette partie sur l'évaluation du caractère agronomique des digestats (bruts et post-traités) issus de la méthanisation des déchets de légumes et fruits. En effet, nous avons testé le post-traitement de ce digestat (Ma) par deux techniques

membranaires, la microfiltration et l'ultrafiltration. Les expériences de microfiltration et d'ultrafiltration ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires contrôlées et les profils nutritionnels des digestats obtenus ont été déterminés. Les digestats issus du post-traitement sont le filtrat (FiMa) et le rétentat (RiMa) de la microfiltration et le filtrat (FuMa) et le rétentat (RuMa) de l'ultrafiltration.

La caractérisation physico-chimique et spectroscopique détaillée des cinq types de digestats étudiés (Ma, FiMa, RiMa, FuMa, RuMa) a révélé une charge organique plus ou moins élevée et facilement biodégradable. Le pH extrême basique pour tous les digestats étudiés, la moyenne charge organique, la concentration élevée en matière minérale, la faible teneur en métaux lourds et la richesse en acides humiques et fulviques impliquent la possibilité de leur utilisation en tant que fertilisants pour les plantes. La comparaison des résultats a montré que le rétentat issu de la microfiltration était la meilleure solution riche en nutriments (Tableau 1).

Tableau 1. Composition en éléments minéraux du digestat avant et après post-traitement par microfiltration.

		Ma	FiMa	RiMa
NTK (g/l)		0,9	0,74	1,61
Azote ammoniacale (g/l)		0,54	0,52	0,57
Azote organique (g/l)		0,36	0,22	1,04
Phosphore total (g/l)		0,11±0,02	0	0,93±0,06
Eléments minéraux (mg/l)	K	1747	1704	1911
	Mg	97,45	84,88	170,66
	Ca	17	16	30,38
	Fe	2,75	1,56	11
	Cd	0	<0,002	0
	Cr	0,056	0,03	0,16
	Pb	0,13	0,12	0,15
	Cu	0,036	0,061	0,48
	Mn	0,11	0,03	0,6

Pour la partie du travail consacrée à la valorisation agronomique de ces digestats, nous avons commencé par la conduite des tests de phytotoxicité. Les tests ont été réalisés en appliquant différentes dilutions aux digestats et nous avons étudié l'effet de la variation du pH et de la CE sur l'indice de germination (IG) des graines de *Lycopersicum esculentum* (Tomate) et de *Lepidium sativum* (Cresson alénois). Les résultats ont montré que la dilution des digestats diminue la phytoxicité et améliore leur valeur fertilisante. D'autre part, nous avons également montré que la germination des graines dépend en grande partie de la sensibilité des espèces utilisées qui est plus importante pour les graines de tomate. Les résultats obtenus soutiennent l'opinion que les digestats peuvent être utilisés comme fertilisants au sol.

3. Projet 3 : Bioraffinerie des microalgues. *(Responsables: Dr. Fatma Karray et Prof. Mohamed Chamkha).*

L'objectif principal de cette partie des travaux est le développement d'un procédé de traitement et de valorisation des margines en utilisant le concept de la bioraffinerie des microalgues, qui entre également dans le cadre du projet PEER (OMW to ALGAE). Cette approche apparaît comme une alternative économiquement viable, réalisant le double objectif de la bioremédiation des margines et la production d'énergie propre (le biogaz), des biofertilisants et des molécules à haute valeur ajoutée.

Cette étude devrait conduire à la mise au point d'un procédé écologique et rentable à base de microalgues pour le traitement et le recyclage des margines afin de produire *i)* des margines traitées et réutilisables à des fins de ferti-irrigation, contribuant ainsi à résoudre le problème de pénurie d'eau, *ii)* de la biomasse renouvelable utile pour la production d'énergie propre, en particulier le biogaz, et *iii)*

des biofertilisants à usage agricole produits à partir des sous-produits du procédé, le biochar et les boues. Nous avons réalisé le prétraitement des margines par le biochar et le charbon actif. Plusieurs tests ont été menés pour la caractérisation du processus d'adsorption de la matière organique chargée dans les margines par le charbon actif. Des expériences de pyrolyse à l'aide d'un réacteur de pyrolyse pour la production de biochar à partir des boues séchées d'olives et de grignons d'olives ont été effectuées. La capacité d'absorption du biochar produit lors de l'adsorption de la matière polluante des margines a été, également, étudiée. Plusieurs procédés de prétraitement des margines (OMW) ont été aussi testés comme la coagulation-floculation (CF), l'électrocoagulation (EC), la filtration membranaire et la digestion anaérobie. La culture des souches de microalgues sur les margines prétraitées par les différents traitements a été ensuite effectuée. La caractérisation de la biomasse algale obtenue, ainsi que les métabolites produits par ces microalgues a été, également, déterminée.

La capacité de la microalgue *Scenedesmus* sp. pour éliminer les principaux polluants des margines (OMW) a été évaluée. Des cultures microalgales utilisant comme source de nutriments différents types de OMW prétraités, à savoir OMW traitée par ultrafiltration (UF), OMW traitée par électrocoagulation (EC) et OMW traitée par adsorption sur charbon actif, en utilisant deux conditions différentes de traitement (CA1 et CA2), ont été menées. Chaque milieu a été utilisé à différentes concentrations 10, 25, 50 et 100%. La caractérisation de UF, EC, CA1 et CA2 a montré une teneur en polyphénols de 1,95; 0,24 ; 0,03 et 0,09 g AGE/L, respectivement, tandis que la teneur en carbone organique total (TOC) était de 11,10; 7,50; 3,30 et 2,90 g/L, respectivement. Les résultats ont démontré que la souche était capable de s'adapter à des concentrations élevées en milieu EC, CA1 et CA2 alors qu'elle était sous stress lors de l'utilisation de 100% de UF. Une diminution de la concentration en TOC de 94%, 79%, 64% et 63% a été déterminée lors de l'utilisation de CA1 à 25%, CA2 à 25%, CA1 à 100% et UF à 25%, respectivement alors que pour EC à 25% et CA1 à 50%, 58% et 54% d'élimination du TOC ont été enregistrés. Concernant l'élimination des polyphénols, celle-ci variait de 47% à 73% lors de l'utilisation de UF, le maximum était déterminé à UF 10%. Elle variait de 100% à 40% pour EC. Quant au CA1, les polyphénols ont été totalement éliminés pour toutes les concentrations testées, mais pour CA2 cela n'a été observé que pour CA2 à 25%. Les milieux EC 50% et CA1 100% ont été sélectionnés pour l'expérience suivante. La souche a été cultivée dans un réacteur colonne à bulles en utilisant ces deux milieux de culture. Les polluants ont été éliminés à des pourcentages de 66,8% et 46% pour TOC et 61,5% et 100% pour les polyphénols, en utilisant EC à 50% et CA1 à 100%, respectivement. La biomasse produite à partir du milieu EC 50% a montré une teneur élevée en protéines de 46,9% tandis que 56,8% des glucides ont été déterminés lors de l'utilisation de CA1 à 100%.

De plus, d'autres souches microalgales *Tetraselmis* sp. et *Chlorella* sp. ont aussi été cultivées sur des margines prétraitées par digestion anaérobie. La biomasse obtenue a été récupérée par microfiltration et lyophilisée.

Afin d'évaluer le potentiel des microalgues étudiées en termes de production des molécules actives, les techniques d'extraction par solvant sous pression (PSE) et par ultrasonication ont été réalisées selon un gradient de solvant. Les extraits récupérés ont été concentrés par rota-évaporation. Le rendement d'extraction variait de 85,47% et 21,46%, respectivement. Ensuite, le fractionnement des extraits par chromatographie de partage centrifuge a été effectué. Des analyses par UPLC-MS-MS ont révélé la présence des pigments à savoir: *Alpha*-carotène, Antheraxanthine, Astaxanthine, *Beta*-carotène, Canthaxanthine, Chlorophylle a et b, Echinenone, Loroxanthine, Lutéine, Phéophytine et Neoxanthine.

Des tests de culture de *Scenedesmus* sp. sur des margines brutes (OMW) et ultra-filtrées (OMUF) ont été réalisées en une phase (Le milieu de culture est formé de 0% à 80% des margines ultra-filtrées (OMUF) ou margines brutes OMW ajoutés à BG11) ou en deux phases de cultures (Les microalgues

ont d'abord été cultivées dans le milieu BG 11, puis en deuxième étape, 40% et 80% d'OMUF et d'OMW ont été ajoutés aux cultures).

La caractérisation de la biomasse algale, ainsi que les métabolites produits par la microalgue lors de sa croissance ont été aussi déterminés **(Fig. 9).**

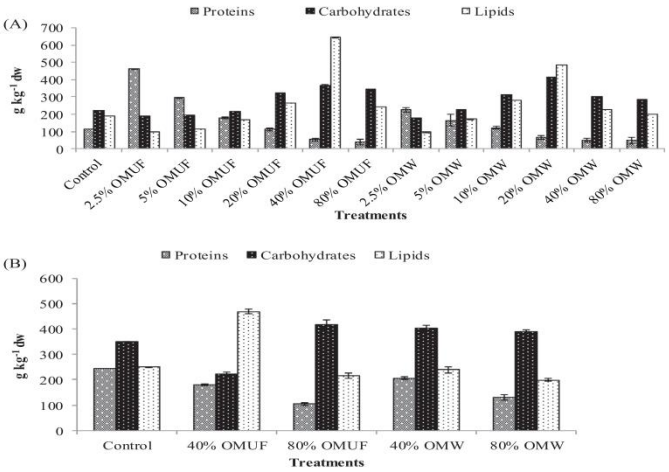


Fig. 9: Modifications de la composition biochimique de *Scenedesmus* sp. avec les différentes concentrations des margines brutes (OMW) et ultra-filtrées (OMUF) dans les conditions de culture en une (A) et en deux étapes (B).

Pour la culture en deux étapes, le stress des OMUF et OMW a augmenté la quantité intracellulaire de polyphénols accumulés dans *Scenedesmus* sp. en présentant la plus grande capacité de piégeage des radicaux de 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzoline-6-sulfonate) (ABTS) par rapport à la culture en une seule étape. De plus, le profil lipidique est dominé par les acides polyinsaturés.

Dans la culture en une seule étape, les teneurs en Ch a, Ch b, en caroténoïde, en glucides et en lipides sont de l'ordre respectivement de 2,57; 7,4; 1,69; 368 et 644 g/kg ont été observées dans une culture en ajoutant OMUF à 40% (**Tableau 2**). 58% d'élimination des polyphénols ainsi qu'une biomasse élevée ont été aussi obtenus.

De plus, l'analyse MTT a montré que la biomasse de *Scenedesmus* sp. cultivée sur 40% OMUF n'a montré aucun effet toxique.

Les résultats obtenus indiquent que *Scenedesmus* sp. est une microalgue prometteuse pour le bio-traitement des margines et l'extraction des métaolites bioactifs.

Tableau 2: Effets des margines brutes (OMW) et ultra-filtrées (OMUF) sur la production des pigments photosynthétiques lors des stratégies de culture en une et en deux étapes de *Scenedesmus* sp.

Treatments	Ch *a* (mg g^{-1} dw)	Ch *b* (mg g^{-1} dw)	Carotenoid (mg g^{-1} dw)	Carotenoid/ Ch*a*
Single-stage cultivation				
Control	0.21	0.21	0.06	0.27
2.5% OMUF	0.38	0.83	0.07	0.19
5% OMUF	0.07	0.40	0.01	0.16
10% OMUF	0.12	0.24	0.07	0.57
20% OMUF	0.38	0.82	0.34	0.89
40% OMUF	2.57	7.40	1.69	0.66
80% OMUF	0.85	0.05	0.16	0.18
2.5% OMW	0.49	0.10	0.13	0.26
5% OMW	0.59	0.96	0.04	0.07
10% OMW	0.43	0.91	0.17	0.39
20% OMW	0.77	1.84	0.16	0.20
40% OMW	0.69	2.39	0.24	0.35
80% OMW	0.80	2.64	0.41	0.51
Two-stage cultivation				
Control	5.102	3.658	0.159	0.031
40% OMUF	3.033	1.708	0.133	0.044
80% OMUF	7.270	0.772	0.296	0.041
40% OMW	4.540	0.051	0.188	0.041
80% OMW	4.127	0.077	0.308	0.099

Dans une autre étude, le prétraitement des margines par digestion anaérobie a été réalisé à une DCO initiale élevée allant de 24 à 38 g/L en utilisant un bioréacteur anaérobie à lit fixe à écoulement ascendant (300 L). Les résultats ont révélé que la production maximale de biogaz est d'environ 0,507 L/g DCO/jour contenant 73% de méthane obtenu à un taux de charge organique de 4,58 g DCO/L/jour. La souche microalgale *Scenedesmus* sp. a été ensuite cultivée en utilisant le digestat ultra-filtré obtenu après la digestion anaérobie des margines comme milieu de culture. Une productivité maximale de la biomasse de 0,15 g/L/jour a été obtenue lorsque *Scenedesmus* sp. est cultivée en présence de digestat ultra-filtré à 25%. Un taux d'élimination maximal de l'azote de 15,18 mg N/L/jour, ainsi qu'une élimination presque totale du phosphore et des composés phénoliques ont été aussi observés. Les résultats obtenus montrent l'utilisation prometteuse de la culture de *Scenedesmus* dans du digestat ultra-filtré à 25% comme un système de traitement des margines en continu. La confirmation de ces résultats à l'échelle pilote sera réalisée.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

- Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture:

1. Ayadi Houda, Frikha-Dammak Donyez, Fakhfakh Jawhar, Chamkha Mohamed, Hassairi Ilem, Noureddine Allouche, Sayadi Sami & Maalej Sami. **(2020)**. The saltern-derived *Paludifilum halophilum* DSM 102817^{T} is a new high-yield ectoines producer in minimal medium and under salt stress conditions. *3 Biotech*, **10**, Article 533. DOI: 10.1007/s13205-020-02512-x. ***IF (JCR 2019) = 1,798. Q2.***
2. Ben Abdallah Manel, Karray Fatma & Sayadi Sami. **(2020)**. Production of polyhydroxyalkanoates by two halophilic archaeal isolates from Chott El Jerid using inexpensive carbon sources. *Biomolecules*, **10**, 109. DOI: 10.3390/biom10010109. ***IF (JCR 2019) = 4,082. Q1.***
3. Ben Ali Rihab, Ben Ouada Sabrine, Leboulanger Christophe, Ammar Jihene, Sayadi Sami & Ben Ouada**. (2020)**. Bisphenol A removal by the *Chlorophyta Picocystis* sp.: optimization and kinetic study. *International Journal of Phytoremediation*. DOI: 10.1080/15226514. 2020.1859985. ***IF (JCR 2019) = 2,528. Q2.***
4. Ben Younes Sonia, Dallali Chadia, Ellafi Ali, Bouslama Lamjed, Feriani Anwar & Sayadi Sami. **(2020)**. Extracellular enzymatic Activities of bacterial strains isolated from Tunisian biotopes: decolorization and detoxification of indigo carmine. *Catalysis Letters.* DOI: 10.1007/s10562-020-03405-7. ***IF (JCR 2019) = 2,482. Q2.***
5. Boudabbous Manel, Ben Ameur Raoudha, Belhaj Ines, Cheffi Ines, Belghith Hafeth, Allouche Noureddine, Chamkha Mohamed & Gargouri Ali. **(2020)**. A novel sec-butyl-β-d-cellobioside and sec-butyl-β-d-glucoside biosynthesized by immobilized β-glucosidase of *Fusarium solani* with surfactant properties. *Applied Catalysis A, General*. **602**, 117713. DOI: 10.1016/j.apcata.2020.117713. ***IF (JCR 2019) = 5,006. Q1.***
6. Cheffi Meriam, Hentati Dorra, Chebbi Alif, Mhiri Najla, Sayadi Sami, Marqués Ana Maria & Chamkha Mohamed. **(2020)**. Isolation and characterization of a newly naphthalene-degrading *Halomonas pacifica*, strain Cnaph3: biodegradation and biosurfactant production studies. *3 Biotech*, **10**, Article 89. DOI: 10.1007/s13205-020-2085-x. ***IF (JCR 2019) = 1,798. Q2.***
7. Elloumi Wiem, Jebali Ahlem, Maalej Amina, Chamkha Mohamed & Sayadi Sami. **(2020)**. Effect of mild salinity stress on the growth, fatty acid and carotenoid compositions, and biological activities of the thermal freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. *Biomolecules*, **10**, 1515. DOI: 10.3390/biom10111515. ***IF (JCR 2019) = 4,082. Q1.***

8. Feki, E., Battimelli, A., Sayadi, S., Dhouib, A. & Khoufi, S. **(2020)**. High-rate anaerobic digestion of waste activated sludge by integration of electro-fenton process. *Molecules*, **25 (3)**, 626. DOI: 10.3390/molecules25030626**.** ***IF (JCR 2019) = 3,267. Q1.***
9. Fki Ines, Sayadi Sami, Mahmoudi Asma, Daoued Ines, Marrekchi Rim & Ghorbel Hela. **(2020)**. Comparative study on beneficial effects of hydroxytyrosol- and oleuropein-rich olive leaf extracts on high-fat diet-induced lipid metabolism disturbance and liver injury in rats. *BioMed Research International*, Article ID 1315202. DOI: 10.1155/2020/1315202. ***IF (JCR 2019) = 2,276. Q2.***
10. Hentati Dorra, Chebbi Alif, Mahmoudi Asma, Hadrich Fatma, Cheffi Meriam, Frikha Ilhem, Sayadi Sami & Chamkha Mohamed. **(2020)**. Biodegradation of hydrocarbons and biosurfactants production by a newly halotolerant *Pseudomonas* sp. strain isolated from contaminated seawater. *Biochemical Engineering Journal*, **166**, 107861. DOI: 10.1016/j.bej.2020.107861. ***IF (JCR 2019) = 3,475. Q1.***
11. Hentati Dorra, Cheffi Meriam, Fatma Hadrich, Neila Makhloufi, Frances Rabanal, Angeles Manresa, Sami Sayadi & Mohamed Chamkha. **(2020)**. Investigation of halotolerant marine *Staphylococcus* sp. CO100, as a promising hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing bacterium, under saline conditions. *Journal of Environmental Management*, **277**, 111480. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111480**.** ***IF (JCR 2019) = 5,647. Q1.***
12. Jallouli Wafa, Keskes Sahar, Guidara Wassim, Rezgui Fatma, Sayadi Sami & Tounsi Slim. **(2020)**. Acidic pretreatment as a chemical approach for enhanced *Photorhabdus temperata* bioinsecticide production from industrial wastewater. *Journal of Environmental Management*, **(278) Part 2**, 111476. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111476**.** ***IF (JCR 2019) = 5,647. Q1.***
13. Jemai Hedya, Mahmoudi Asma, Feryeni Anwar, Fki Ines, Bouallagui Zouhaier, Choura Sirine, Chamkha Mohamed & Sami Sayadi. **(2020)**. Hepatoprotective Effect of oleuropein-rich extract from olive leaves against cadmium-induced toxicity in mice. *BioMed Research International*, Article ID 4398924. DOI: 10.1155/2020/4398924**.** ***IF (JCR 2019) = 2,276. Q2.***
14. Kahla Oumayma, Melliti Ben Garalia Sondes, Karray Fatma, Ben Abdallah Manel, Kallel Najwa, Mhiri Najla, Zaghden Hatem, Barhoumi Badreddine, Pringault Olivier, Quéméneur Marianne, Tedetti Marc, Sayadi Sami & Asma Sakka Hlaili. **(2020)**. Efficiency of benthic diatom-associated bacteria in the removal of benzo(a)pyrene and fluoranthene. *Science of The Total Environment*, ***751***, 141399. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141399. ***IF (JCR 2019) = 6,551. Q1.***
15. Karray Fatma, Aloui Fathi, Jemli Meryem, Mhiri Najla, Loukil Slim, Bouhdida Rihab, Nabil Mouha & Sayadi Sami. **(2020)**. Pilot-scale petroleum refinery wastewaters treatment systems: Performance and microbial communities' analysis. *Process Safety and Environmental Protection*, **141**, 73-82. DOI: 10.1016/j.psep.2020.05.022. ***IF (JCR 2019) = 4,966. Q1.***
16. Karray Fatma, Gargouri Mahmoud, Chebaane Asma, Mhiri Najla, Mliki Ahmed & Sayadi Sami. **(2020)**. Climatic aridity gradient modulates the diversity of the rhizosphere and endosphere bacterial microbiomes of *Opuntia ficus-indica*. *Frontiers in Microbiology*, **11**, Article 1622. DOI: 10.3389/fmicb.2020.0162. ***IF (JCR 2019) = 4,235. Q1.***
17. Keskes Sahar, Jallouli Wafa, Ben Atitallah Imen, Driss Fatma, Sahli Emna, Chamkha Mohamed & Tounsi Slim. **(2020)**. Development of a cost-effective medium for *Photorhabdus temperata* bioinsecticide production from wastewater and exploration of performance kinetic. *Scientific Reports*, **11**, 779. DOI: 10.1038/s41598-020-80773-5. ***IF (JCR 2019) = 3,998. Q1.***
18. Keskes Sahar, Jallouli Wafa, Sahli Emna, Sayadi Sami & Tounsi Slim. **(2020)**. Towards a new biological control approach for *Photorhabdus temperata* bioinsecticide production through the bioconversion of Tunisian industrial wastewater. *Bioresources and Bioprocessing*, **(7)**, Article 26. DOI: 10.1186/s40643-020-0313-x. ***Q2.***

19. Ktata, A., Krayem, N., Aloulou, A., Bezzine, S., Sayari, A., Chamkha, M. & Karray, A. **(2020)**. Purification, biochemical and molecular study of lipase producing from a newly thermoalkaliphilic *Aeribacillus pallidus* for oily wastewater treatment. The *Journal of Biochemistry*, **167 (1)**, 89-99. DOI: 10.1093/jb/mvz083. ***IF (JCR 2019) = 2,476. Q1.***
20. Mechri, S., Sellem, I., Bouacem, K., Jabeur, F., Chamkha, M., Hacene, H., Bouanane-Darenfed, A. & Jaouadi, B. **(2020).** Antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Metapenaeus monoceros* by-product hydrolysates elaborated by purified alkaline proteases. *Waste and Biomass Valorization*, **1 (12)**, 6741-6755. DOI: 10.1007/s12649-020-00942-5. ***IF (JCR 2019) = 2,851. Q2.***
21. Mlaik Najoua, Sayadi Sami, Hamza Manel & Khoufi Sonia. **(2020)**. Production and characterization of β-glucosidase from Aspergillus niger fermentation: Application for organic fraction of municipal solid waste hydrolysis and methane enhancement. *Biotechnology Progress*, **36 (1)**, e2902. DOI: 10.1002/btpr.2902. ***IF (JCR 2019) = 2,334. Q2.***
22. Mlaik Najwa, Sayadi Sami, Mnasri Nesrine, kchaou Sonia, Loukil Slim, Aloui Fathi & Khoufi Sonia. **(2020)**. Dry mesophilic anaerobic co-digestion of vegetable wastes with animal manures using leach bed reactor. *Biomass Conversion and Biorefinery*. DOI: 10.1007/s13399-020-01165-3. ***IF (JCR 2019) = 2,602. Q3.***
23. Moula Amel, Borgi Mohamed Ali, Loukil Slim, Chaieb Mohamed & Mekki Ali. **(2020)**. Assessment of phosphate laundries wastewater phytotoxicity and biotreatment assays. *Clean- Soil Air Water*, **48 (11)**, DOI: 10.1002/clen.202000077. ***IF (JCR 2019) = 1,603. Q2.***
24. Smaoui Yosr, Bouzid Jalel & Sayadi Sami. **(2020)**. Combination of air stripping and biological processes for landfill leachate treatment. *Environmental Engineering Research*, **25 (1)**, 80-87. DOI: 10.4491/eer.2018.268**.** ***IF (JCR 2019) = 1,438. Q3.***
25. Zayen Amal, Sayadi Sami, Chevalier Cristele, Boukthir Moncef, Ben Ismail Sana & Tedetti Marc. (**2020)**. Microplastics in surface waters of the Gulf of Gabes, southern Mediterranean Sea: Distribution, composition and influence of hydrodynamics. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **242**, 106832. DOI: 10.1016/j.ecss.2020.106832. ***IF (JCR 2019) = 2,333. Q1.***

Moyenne des IFs = 3,323/ 25 Articles: 13 Q1, 10 Q2 et 2 Q3.

FORMATION DIPLOMANTE

- **Thèses de doctorat es-sciences soutenues:**

1- **Emna Feki Guidara:** Etude de la digestion anaérobie des boues de STEP désintégrées par des procédés d'oxydation avancée. Thèse de doctorat en Génie Biologique, ENIS. Soutenue le 11/07/2020.

- **Mastères soutenus:**

1. **Sana Hafidhi:** Evolution de la combinaison d'extraits végétaux sur la néphrotoxicité du cisplatine *in-vitro*. Mastère de recherche; Sciences Biomédicales; Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis. Soutenu le 19/02/2021.
2. **Sihem Snini:** Etude de la dégradation de quelques composés pharmaceutiques par des souches de champignons et évaluation de leur toxicité. Mastère de recherche; Sciences Biomédicales; Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis. Soutenu le 19/02/2021.
3. **Dorsaf Yaakoubi:** Optimisation de la digestion anaérobie en voie humide et sèche des déchets légumes et fruits. Mastère professionnel, Sciences et Technologies de l'Environnement, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax. Soutenu le 05/12/2020.

- **Projets de Fin d'Etudes soutenus:**

4. **Aya Bayar:** Isolement et caractérisation des microalgues à potentialités biotechnologiques à partir de différents environnements Tunisiens. Licence Contrôle et Exploitation des Microorganismes, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax (ISBS). PFE soutenu le 14/10/2020.
5. **Cyrine Mahdhaoui:** Valorisation biotechnologique des microalgues : Traitement des eaux et production du biogaz. Licence Protection de l'Environnement, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax (ISBS). PFE soutenu le 14/10/2020.
6. **Oussama Hafdhallah:** Evaluation du potentiel de valorisation par digestion anaérobie des déchets de fruits et légumes. Licence Contrôle et Exploitation des Microorganismes, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax (ISBS). PFE soutenu le 14/10/2020.
7. **Ilhem Mansouri:** Etude du prétraitement fongique des déchets solides pour l'amélioration de leur digestion anaérobie. Licence Appliquée en Génie des Procédés, ISET, Sfax. PFE Soutenu le 11/09/2020.
8. **Wided Chalghoum et Nesrine El Kayel:** Optimisation à l'aide d'un plan d'expériences de la production de β-glucosidase sur un milieu de culture à base de déchets organiques solides. PFE de Licence Appliquée en Biotechnologie

Séminaires, ateliers et journées

1. Conférence on Biogas Production and Digestate Valorisation from Wastes. Visioconférences, 17-18/11/2020.
2. Les Journées du LMI COSYS-Med: Contaminants et Ecosystèmes Marins Sud Méditerranéens: Relations entre gestionnaires et scientifiques; Renforcement des capacités et Visibilité régionale et internationale. Visioconférences, 05-06/11/2020.
3. 1/2 journée Recherche-Industrie en Biotechnologie environnementale: Co-organisation avec l'US-Transfert de technologie et US-Analyses du CBS. Webinaire, CBS le 27/10/2020.

CONVENTIONS & PROJETS NATIONAUX D'OUVERTURE SUR L'ENVIRONNEMENT SOCIO-ECONOMIQUE

1. **Convention d'assistance de la Société Tunisienne des Lubrifiants (SOTULUB)**: Analyses et expertise des différents projets environnementaux de l'usine.
2. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Manel Ben Abdallah)-ANPR:** ***2020-2022:*** Mise au point d'un procédé de traitement biologique des effluents de pêcherie à une échelle pilote en utilisant des microorganismes halophiles. Organisme Bénéficiaire: Novogel, Congélation des produits de mer, Sfax.
3. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Asma Mahmoudi)-ANPR:** ***2020-2022:*** Les problèmes de santé liés à l'environnement: Perturbateurs endocriniens et risques de cancer. Collaboration avec H.U. Habib Bourguiba, Sfax. Organisme Bénéficiaire: LBPE-CBS.
4. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Hanen Kharrat)-ANPR:** ***2018-2020:*** Valorisation agronomique du phosphogypse par culture des plantes médicinales sur phosphogypse et suivi des concentrations des métaux lourds dans les huiles essentielles de ces plantes et dans le phosphogypse. Organisme Bénéficiaire: Tunisian Indian Fertilizers, Usine TIFERT, Site de Skhira-Sfax.

5. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Dr. Fatma Hadrich)-ANPR:** ***2018-2020:*** Production des molécules bioactives à partir des sous-produits d'olivier pour prévenir la maladie de diabète type-2 et l'obésité. Utilisation des procédés d'encapsulation et de compression. Organisme Bénéficiaire: LBPE-CBS.
6. **Projet PAQ-Collabora «Biotech-INNOV»:** ***2018-2021:*** Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriel: Implication du LBPE *via* la start-up bénéficière «PhytoPLANT» spécialisée dans la production de compléments alimentaires.
7. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2019-D1P1: 2019-2021:*** Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes. Le LBPE est une équipe partenaire.
8. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2017-D6P1: 2018-2021:*** Développement d'un éco-procédé pilote de culture de micro-algues pour la séquestration de carbone, le traitement des eaux usées et la production de biocarburant. Le LBPE est l'équipe coordinatrice.
9. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2017-D6P2: 2018-2021:*** Approche Intégrée de l'utilisation des symbioses légumineuses-PGPR pour la promotion de la fertilité du sol, la préservation de l'environnement et de l'agriculture durable du blé. Le LBPE est une équipe partenaire.

Courant 2020, différentes prestations de services ont été présentées (analyses physicochimiques, microbiologiques, chromatographiques et spectroscopiques...) par le LBPE au profit des entreprises: Bureau Africain de Services BAS, CAID International, C.H.O. Company, Ecovillage, Engineering Procurement and Project Management (EPPM), Globus Industrie, New Park Drilling Fluids (NPDF), GCT, UNIMED, Neodeme, Philadelphia, Un Expert pour la justice, Pulire professional, Robotika technologies, SEDD, SOTULUB, SSH-Sfax et Tej cosmétique.

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1- **Projet InnoVa: German - African Innovation Incentive Award:** ***2020-2022:*** Innovative Valorization of Olive Mill Effluents. Prix accordé au Prof. Sami Sayadi, en collaboration avec l'Université Technique de Berlin, Allemagne.
2- **ENI CBC MED - Projet CEOMED:** ***2019-2022:*** Employing circular economy approach for OFMSW management within the Mediterranean countries.
3- **Laboratoire Mixte International (LMI):** ***2019-2024:*** LMI COSYS-MED: Contaminants et écosystèmes marins sud méditerranéens.
4- **Programme ARIMNet 2 - Projet PYRODIGEST:** ***2018-2021:*** Conversion of olive oil wastes through combined pyrolysis and anaerobic digestion: energy, value added products and eco-fertilizers production.
5- **Programme ERANETMED - Projet BIOGASMENA:** ***2017-2022*****:** Demonstration of dry fermentation and optimization of biogas technology for rural communities in the MENA region.
6- **USA/USAID/PEER: Partnerships for Enhanced Engagement in Research (PEER): Projet OMW2ALGAE:** ***2017-2021:*** Evaluation of algal treatment options for olive mill wastewater to produce energy and biofertilizer.
7- **Projet Tuniso-Japonais SATREPS:** ***2016-2022:*** Valorization of Bio-resources based on Scientific Evidence in Semi- and Arid Land for Creation of New Industry.
8- **H2020-MSCA-RISE-2015 Grant Agreement number: 691247 «EXANDAS»:** ***2016-2020:*** Exploitation of aromatic plants'by-products for the development of novel cosmeceuticals and food supplements.

9- **ARIMNet2-D4Declic:** ***2018-2020:*** Dual cropping system, Genetic Diversity, Decision support and Digital tool for Designing Eco-efficient Cereal-Legume Integrated food value Chain in the Mediterranean Basin.

10- **MERITE: «Urbanized bays-Sfax bay»:** ***2016-2020:*** Marine Ecosystem Response to the Input of conTaminants in the coastal zonE**.**

PRIX ET DISTINCTIONS

Le Professeur Sami SAYADI a obtenu le prix «*German - African Innovation Incentive Award*» décerné par le Ministère Fédéral d'Education et de la Recherche d'Allemagne, en Mai 2020, dans le cadre du Projet InnoVa intitulé «*Innovative Valorization of Olive Mill Effluents*». Un financement de 150.000 euros a été accordé. *Partenaires:* Prof. Sami SAYADI, **Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux « LBPE » -Centre de Biotechnologie de Sfax,** Tunisie et Prof. Sven-Uwe Geißen, Chaire de Génie des Procédés Environnementaux, Université Technique de Berlin, Allemagne.

LR15CBS02 : Laboratoire de Biotechnologie Moléculaire des Eucaryotes (LBME)

مخبـرالبيوتكنولوجيا الجزيئيّة للكائنات معزولة النوّاة

Responsable : Pr. Raja MOKDAD- GARGOURI
Email : raja.gargouri@cbs.rnrt.tn

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Ali Gargouri	Pr	CBS
Raja Mokdad-Gargouri	Pr	CBS
Ines Feki	Pr-Agr	CHU
Wajdi Ayadi	MA	CBS
Hèla Trigui-Lahiani	MA	CBS
Houda Skouri	MA	CBS
Mohamed Guerfali	MA	CBS
Basma Hadj Kacem	MA	CBS
Ines Belhaj-BenRomdhane	MA	CBS
Ines Maalej-Achouri	MT	ISET Bizerte
Rim Ladhar	MA	ISSAT Gabes
Fatma Trifa	MA	ISBM
Aida Koubaa-Feki	IP	CBS
Lamia Djemal	TS	CBS
Adel Saidi	T	CBS
Naourez Damak-Boujelben	IC	Nabeul
Dorra Benayed-Guerfali	PDoc	CBS
Salma AbdelJalil-Trabelsi	PDoc	CBS
Rania Abdelmaksoud-Damak	PDoc	CBS
Emna Dabbèche-Bouricha	PDoc	CBS
Yosra Kamoun	PDoc	CBS
Ines Benhmad-Krid	PDoc	CBS
Ines Borgi	PDoc	CBS
Hajer Tounsi	PDoc	CBS
Hanen Mallek-Fakhfakh	PDoc	CBS
Azza Hadj Sassi	PDoc	CBS
Wafa Mihoubi	PDoc	CBS
Sihem BenAbid	PDoc	CBS
Awatef Taktak- Ben Amar	PDoc	CBS
Manel Boudabbous- Ben Amor	PDoc	CBS
Nihel Ammous-Boukhris	PDoc	CBS
Amena Saadallah- Kallel	PDoc	CBS
Emna Ketata	PDoc	CBS
Omaima Kamoun	PDoc	CBS
Ines Ayedi	PDoc	CBS
Hèla Mkaouar	PDoc	INRA Jouy en Josas
Aicha Kriaa	D, FSS	CBS, codirection INRA Jouy en Josas
NizarAkermi	D, FSS	CBS, codirection INRA Jouy en Josas
Amine Jablaoui	D, FSS	CBS, codirection INRA Jouy en Josas
Souha Soussou	D, ENIS	CBS, codirection INRA Jouy en Josas

OBJECTIFS GENERAUX

Produire, étudier et fournir des enzymes dégradatives et des molécules antimicrobiennes pour des applications industrielles diverses (Agroalimentaire, textile, biocomposites, papeterie, etc..)

- Produire et étudier de nouvelles sources de bioénergies sur la base de levures et champignons oléagnieux et valoriser les déchets agro-industriels…
- Etudier et fournir aux médecins et aux patients un service d'analyse moléculaire des gènes impliqués dans le cancer ainsi que d'autres tests moléculaires.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

Production et études biochimiques et moléculaires des enzymes

- Isolement et études des potentialités biotechnologiques de levures et moisissures oléagineuses

- Exploitation de biomolécules de synthèse chimique ou biologique dans divers domaines d'application
- Expression hétérologue des protéines d'intérêt pour une application en Biotechnologie
- Etudes moléculaires (génétique et épigénétique) des gènes impliqués dans certains cancers et autres pathologies humaines.

LISTE DES PROJETS

Le laboratoire est constitué de deux équipes travaillant sur deux sujets et quatre prjets:

- ***Equipe 1*** **: Les enzymes et les potentialités fongiques** (responsable : *A. GARGOURI*)

  - **Projet 1 :** Enzymes dégradatives fongiques et valorisation de la biomasse
  - **Projet 2 :** Potentialités fongiques en biotechnologie et bioénergies

- ***Equipe 2*** :**Biomarqueurs Moléculaires à visée diagnostique et thérapeutique** (responsable : *R. GARGOURI*)

  - **Projet 1 :** Biomarqeurs d'intérêt diagnostique
  - **Projet 2 :** Biomarqeurs d'intérêt thérapeutique

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS :

Equipe 1 : Les enzymes et les potentialités fongiques

Projet 1 : Enzymes dégradatives fongiques et valorisation de la biomasse (Responsable : A. GARGOURI)

I- Application des enzymes dans l'extraction de l'huile des déchets de sardines

Dans le cadre de la valorisation des déchets marins, nous avons jugé utile et opportun de mettre en jeu nos enzymes afin d'extraire les huiles des déchets de sardine. L'idée principale est d'exploiter les enzymes protéolytiques produites par la souche P2 de *Beauveria bassiana* afin de libérer les huiles des déchets, en les comparant à l'une des enzymes commerciales, l'alcalase. Les résultats ont montré que nos enzymes donnent un rendement d'hydrolyse qui est pratiquement le double de celui de l'alcalase : soit 41.34% contre 24.28%. Néanmoins, le rendement en huiles était pratiquement le même 47% pour les deux protéases. Nous avons aussi jugé de la qualité de ces huiles en établissant leur composition. Les omega 3 et 6 étaient assez abondants, avec un rapport w6/w3 très intéressant. Nous avons aussi montré que nos deux huiles obtenues n'ont aucune toxicité contre les rats Wistar gavés à deux doses (30 mg/kg et 300mg/kg BW) pendant 14 jours et ce, grâce à des analyses hématologiques, biochimiques et histologiques.

II- Analyse génomique et bioinformatique du génome de la souche fongique locale *Stachybotrys microspora* N1

Dans le but d'isoler les gènes cellulolytiques et non-cellulolytiques ainsi que les métabolites secondaires de la souche N1 de *Stachybotrys microspora*, nous avons réalisé l'assemblage, l'annotation et l'étude détaillée du génome de cette souche, malgré que le séquençage était partiel. Nous avons ainsi pu découvrir plusieurs gènes ayant des fonctions très intéressantes sur le plan biotechnologique. Notamment, nous avons pu trouver plusieurs gènes codant pour la chaîne de biosynthèse de la mélanine, ce qui nous conforte l'idée que la couleur noire très sombre de notre souche serait due à la mélanine. A cet égard, nous avons réalisé le spectre du surnageant noir et avons montré qu'il a l'allure caractéristique de la mélanine. De plus, nous avons pu aussi trouver des gènes codant pour des activités enzymatiques que nous n'avions pas explorées biochimiquement, jusqu'alors, notamment une activité Manganèse peroxydase, laccase et tyrosinase…

III- Biosynthèse de molécules d'intérêt en cosmétique par le biais d'une beta glucosidase fongique

Dans le domaine cosmétique, qualifier un produit de « BIO » revient à utiliser soit des composants naturels soit des produits biotechnologiques, sans ingrédients d'origine animale, sans ingrédients de plantes cultivées avec des pesticides et sans additifs, parfums ou colorants de synthèse. Plusieurs industries cosmétiques se sont orientées vers la recherche de biomolécules efficaces et respectueuses de la santé de l'homme et de son environnement, notamment suite au réchauffement climatique et les problèmes liés à l'exposition accrue aux rayons UV. Dans ce cadre, la société FAYDERMA COSMETIC cherche à préparer de nouvelles formulations de produits cosmétiques à base de biomolécules qui protègent et soignent la peau contre les taches causées par certains facteurs comme les rayons UV, stress, pollution..

Nous proposons la formulation de crèmes cosmétiques à base de biomolécules bioconverties par voie enzymatique par la β-glucosidase de *Fusarium solani* (FBgl1). La FBgl1est une hydrolase qui est capable de réaliser des réactions de synthèse dans des conditions bien déterminées. Au cours de l'année 2021, les molécules issues de la bioconversion par la FBgl1 seront utilisées comme principe actif des crèmes de soin. La formulation et l'efficacité des crèmes obtenues sont testées chez FAYDERMA COSMETIC.

On s'est focalisé essentiellement sur l'effet de l'ajout de nouvelles molécules, à base d'aryl-glucoside, que nous avons synthétisées grâce à notre beta gucosidase. Le butyl-cellobioside a été ainsi produit (pour la première fois au monde, par voie biologique). Cette molécule a un pouvoir tensioactif intéressant.

Nous avons aussi synthétisé l'esculétine et son dimère à partir de l'action de la beta glucosidase immobilisée sur l'esculine. Le dimère s'est avéré plus efficace comme antioxydant.

IV- Production et application des pectinases dans l'extraction des huiles

La production des huiles végétales est une activité agricole importante dans de nombreux pays du monde. Plusieurs méthodes ont été proposées en vue d'améliorer la procédure d'extraction des huiles comme l'ajout des enzymes au cours de l'étape de malaxage, ce qui facilite l'extraction et améliore la qualité et la quantité d'huile.

Dans ce cadre s'intitule notre projet MOBI Post Doc, réalisé avec le CBS comme partenaire industriel: Amélioration de l'extraction des huiles végétales et valorisation de grignons par des enzymes pectinolytiques produites localement. En effet, nous travaillons sur des pectinases fongiques afin de trouver les moyens adéquats pour les appliquer via un protocole vert, sans effets néfastes sur l'environnement et afin d'améliorer la quantité et la qualité de l'huile végétale extraite particulièrement l'huile d'olive.

Nous avons entamé un programme pour produire les pectinases acides et basiques du mutant CT1 de *Penicillium occitanis* à grande échelle afin de les ajouter dans des processus d'extraction des huiles végétales y compris l'huile l'olive afin d'améliorer la quantité extraite d'huile. Le principal intérêt de cette étude est qu'elle va nous révéler les propriétés de l'huile obtenue (avec ou sans ajout d'enzymes lors de l'extraction) aussi bien au temps « zéro » qu'au cours de son stockage.

V- Production et formulation d'enzymes fongiques d'intérêt dans la détergence

Aujourd'hui, l'utilisation des enzymes dans les produits de lessives ménagères s'est généralisée. L'industrie des détergents exploite environ 60% de toutes les enzymes produites. Les enzymes majeurs incorporés dans les formulations des détergents sont les protéases, amylases, cellulases et lipases. La plupart des enzymes sont malheureusement importées. Les solutions envisagées sont la diminution de l'importation et le développement de la production locale avec un rapport qualité/prix compétitif. Les substrats utilisés pour le milieu de fermentation représentent 30 à 40% du

coût de production des enzymes industrielles. Dans un seul milieu de fermentation, la production combinée d'enzymes peut être une étape importante pour réduire d'avantage le coût.

Dans ce cadre, notre projet est intitulé : « Production, formulation et étude de la stabilité des enzymes d'une souche fongique locale incorporées dans le produit détergent Det machine de la société des détergents de Tunisie « SODET ». Rappelons que notre souche locale A19 de *Stachybotrys microspora* secrète des cellulases halophiles capables d'agir à pH neutre et basique, une qualité très rare dans le monde fongique et très recherchée dans les industries de la détergence et le délavage.

Nous avons pu produire un cocktail enzymatique riche en activité protéase de *S. microspora*à grande échelle, après amélioration de la production des activités protéase, amylase et cellulase à partir d'une source de carbone organique (déchets agricoles) et bon marché, afin de le valoriser dans Det machine poudre.

VI- Recherche d'inhibiteurs biologiques d'uréase dans le but de désodoriser et valoriser les fientes de volailles

Ce travail a pour but ultime de réduire le taux des odeurs nauséabondes émanant des fientes de poules pondeuses : problème environnemental majeur rencontré dans la totalité des industries d'élevage avicoles en Tunisie ;et d'obtenir un fertilisant (fiente traitée) plus performant (plus chargée en azote) dans le domaine agricole. Plusieurs approches sont possibles et nous avons choisi d'aborder la résolution de ce problème par la voie biologique et plus exactement, la voix enzymatique : le traitement des fientes de volailles par un inhibiteur d'uréase. L'uréase est une métallo-enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac NH3 puis en ions ammonium NH4+ ce qui conduit à des dégagements significatifs en ammoniac NH3 (d'odeur nauséabonde), ceci affecte les êtres vivants et l'environnement

Ainsi, nous sommes intéressés par la recherche de nouveaux inhibiteurs biologiques d'uréase efficaces et non toxiques. Pour ce faire, nous allons cribler des banques peptidiques par Phage Display sur la cible constituée par l'uréase pure. Les peptides isolés seront testé pour leur capacité à inhiber l'uréase.

Nous avons commencé par isoler, à partir des fientes, des bactéries productrices d'uréase. Deux bactéries productrices ont été ainsi isolées et vont être identifiées sous peu.

En parallèle, nous avons continué sur le sujet de thèse de Mme Ketata, à savoir la recherche d'inhibiteurs de la tyrosinase de Sépia, une oxydoréductase qui catalyse la biosynthèse de la mélanine, afin de les utiliser comme moyens de prévention de la pigmentation que ce soit dans le domaine dermo-cosmétique ou dans le domaine agroalimentaire.

VII- Production, formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques

A travers notre projet spin-off intitulé « Production, formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques » qui s'inscrit dans le cadre des objectifs du PAQ-PAES, nous envisageons de fournir aux industriels des enzymes utiles dans leurs domaines, notamment les pectinases, cellulases et xylanases, ces enzymes sont requises dans la dégradation de la matière pecto-ligno-cellulosique, donc très utiles pour l'extraction et la clarification des jus de fruit, l'extraction des huiles végétales ainsi que dans l'extraction des fibres cellulosiques lorsqu'on n'implique pas les cellulases. Nous essayons donc d'appliquer nos enzymes en partenariat avec les industriels et d'autres Institutions de recherche afin de valoriser le potentiel des pectinases de notre souche CT1 et les xylanases de notre souche AX4 et d'atteindre les niveaux d'application à l'échelle commerciale et finalement être en compétition avec les enzymes commerciales.

Nous avons pu produire à l'échelle pilote les enzymes nécessaires selon l'application visée afin d'assurer la meilleure activité et la réussite du procédé d'extraction et/ou de clarification de chaque produit(Extraction d'huile végétale, jus de fruit et extraction des fibres cellulosiques) et finalement optimiser les conditions de stockage et stabilité des formulations enzymatiques adaptées selon l'application.

Projet 2 : Potentialités fongiques en biotechnologie et bioénergies (Responsable : A. GARGOURI)

I- Continuation des travaux sur un bio-insecticide fongique :

Au cours du projet mobi-Postdoc (2019-2020), deux produits à effet bioinsecticide ont été formulées. Ces formules sont à base des spores fongique d'une souche locale *Beauveria bassiana* P2. La suite de ce travail portera principalement sur la définition du spectre des hôtes sensibles à ces formules que ce soit par des tests au laboratoire ou encore, par la suite, par des essais au champ (pour les parasites qui touchent l'agriculture notamment la mineuse de la tomate qui s'est déjà montrée sensible par des tests au laboratoire). Des insectes ayant un impact sur la santé publique seront aussi ciblés tels que les cafards et les moustiques. Pour obtenir des quantités suffisantes de ces produits, une production en masse des spores fongiques sera planifiée, ce qui permettra d'améliorer sa maîtrise.

Un autre objectif à atteindre est celui de l'isolement de mutants thermorésistants à partir de *B. bassiana*P2. De tels mutants seront utiles pour reformuler des bio-insecticides à base de leurs spores qui auront l'avantage de résister aux conditions de stockage des produits et aux conditions extrêmes aux champs. Nous avons démarré ce programme depuis peu et nous espérons avoir des souches plus thermorésistantes.

II- Décryptage du mécanisme d'action, production à grande échelle et applications biotechnologiques du peptide antifongique AcAFP

Les travaux de recherche réalisés au cours de l'année précédente restent en continuité avec les investigations reliées aussi bien au mécanisme qu'à la spécificité d'action de notre peptide antifongique AcAFP secrété par le champignon filamenteux *Aspergillus. Clavatus* ; ainsi qu'à sa production à grande échelle en empruntant deux voies :

1. Expression hétérologue de l'AcAFP dans *Escherichia col*i en vue de pouvoir produire et purifier des mutants structuraux dans le cadre d'une étude des relations structure – fonction de ce peptide et de relier les variabilités de la séquence/structure à l'activité antifongique nouvellement exprimée. Pour l'expression hétérologue du gène acafp, nous avons ciblé les trois formes : la forme mature de 154 pb, la forme large (forme mature additionnée de six acides aminés : DESAVQ) de 154 pb et de la forme pré-pro du peptide (pourvue de la séquence signale du gène) de 284 pb. Le système d'expression moyennant une souche hôte avec un cytoplasme oxydant à savoir la souche *E.coli Origami*(DE3) est plus quant à la production de l'AcAFP recombinant sous forme soluble et active ; Nous comptons améliorer ce système de production par l'introduction dans la casette d'expression des protéines de fusion « Fusion Partener » avec des propriétés redox qui aident plus aux repliements correctes de notre protéine d'intérêt.

2. Expression hétérologue dans *Pichia pastoris* : Le but est d'établir un système de production à grande échelle d'AcAFP hétérologue dans un système eucaryote, capable de réaliser les modifications post-traductionnelle donnant lieu à une augmentation de la stabilité et de la solubilité des protéines hétérologue du peptide recombinant. Pour cela, deux promoteurs, P_{AOX1} et P_{GAP}, seront testés sur la base de deux systèmes d'expression, induite et constitutive, respectivement, exprimant la forme mature de 154 pb du peptide.

Parallèlement aux investigations moléculaires entreprises, nous cherchons à mettre en place des conventions et/ou des partenariats avec le monde industriels et scoci-économique afin de valoriser les potentialités antifongiques de notre peptide.

III- Exploitation et Amélioration des levures oléagineuses

L'utilisation des microorganismes oléagineux pour la production des lipides d'intérêt est une alternative prometteuse de point de vue biotechnologique. En effet, les huiles microbiennes constituent une source importante d'approvisionnement en lipides et acides gras de haute valeur ajoutée pouvant remplacer de nombreux composés issus de la pétrochimie. Néanmoins, le coût élevé de leurs productions reste toujours un facteur limitant. Le recours à la bioconversion des sous-produits et des déchets issus des secteurs industriels permettra de contourner en partie cette contrainte. D'autre part, la recherche de nouvelles souches plus performantes (hyper-productrices et résistantes aux conditions de stress) tout en combinant l'approche microbiologique et génétique conduira à des procédés rentables économiquement. La mise en œuvre d'un procédé de production de lipides microbiens à usage chimique et énergétique par culture de levures oléagineuses en utilisant les déchets industriels comme matière première est une approche nouvelle offrant ainsi des avantages économiques, écologiques et environnementaux.

Le glycérol brut (dérivé de la production industrielle du biodiesel) comme matière première valorisable pour la production des lipides microbiens.

Aujourd'hui, l'importance de la levure dans le secteur industriel est très largement basée sur la capacité de certaines levures à effectuer une conversion rapide et efficace des sucres ou des hydrates de carbone en divers métabolites à grande valeur ajoutée tels que de l'éthanol, des enzymes, des biosurfactants, des acides organiques, des antimicrobiens ou même des polysaccharides. L'ingénierie de ces levures a donc trouvé dans l'industrie de la fermentation un champ d'application privilégié pour produire ces divers métabolites. Parmi ces levures, on distingue celles utilisées pour leur aptitude à synthétiser et à accumuler de fortes teneurs en lipides généralement sous forme de triglycérides et d'esters de stérol. Cette famille de levure est dite oléagineuse ou lipogène.

L'utilisation de ces levures pour la production des lipides d'intérêt est une alternative prometteuse de point de vue biotechnologique. Les lipides microbiens ont suscité un intérêt considérable ces dernières années en raison de leur caractère inoffensif et des possibilités de synthèse à grande échelle de molécules à haute valeur ajoutée comprenant des acides gras ou des dérivés. Ils présentent un potentiel valorisable en pharmacie, alimentation, biocarburants, cosmétiques, santé, etc. Les procédés industriels centrés sur les lipides de levures oléagineuses en vue d'une production durable de carburants d'origine biologique sont intensément étudiés. La prédominance de l'acide oléique dans le profil des lipides des levures oléagineuses est aussi rapportée dans celui des huiles végétales.

Ainsi, les lipides microbiens constituent des matières premières utilisables pour la production de biocarburants au même titre que les huiles végétales. L'un des problèmes majeurs limitant la commercialisation de ce type de lipides et le coût élevé de leurs productions. Le recours à la bioconversion des sous-produits et des déchets issus des secteurs industriels et agricoles permettra de contourner en partie cette contrainte. D'autre part, la recherche de nouvelles souches plus performantes (hyper-productrices et résistantes aux conditions de stress) tout en combinant l'approche microbiologique et génétique conduira à des procédés rentables économiquement. Actuellement, les industries de fabrication du biodiesel génèrent sous forme de rejets valorisables une partie de la matière première, le glycérol brut. L'étape finale de la production de biodiesel comprend une purification par lavage à l'eau chaude afin d'éliminer les résidus de catalyseur et autres impuretés. Toutefois, cette étape de purification est longue et coûteuse. Par conséquent, la valorisation de ce produit par un procédé biotechnologique, tel que la fermentation constitue une solution prometteuse

pour résoudre les problèmes environnementaux liés au rejet de ce déchet. Une des alternatives, c'est de l'utiliser comme source de carbone dans le milieu de croissance des microorganismes oléagineux et ce dans le but de produire des lipides microbiens. Ces derniers peuvent par la suite réintégrer le processus de production de biodiesel ou être à l'origine d'autres transformations biotechnologiques.

Dans ce travail, le glycérol brut dérivé de biodiesel a été utilisé comme matière première renouvelable pour la production de lipides microbiens. La caractérisation chimique a montré que l'échantillon de glycérol brut utilisé est principalement composé de 64,5% de glycérol, 5,9% de méthanol, 11% d'eau et 5,8% de cendres, en plus d'autres impuretés. Ce déchet industriel a été utilisé comme unique source de carbone dans les milieux de culture de 13 souches de levures oléagineuses. *Candida viswanathii* Y-E4 s'est démarquée des autres souches en fournissant la plus grande quantité de biomasse et de contenu lipidique (17,2 g / L et 41%, respectivement). Les conditions de culture ont été optimisées en utilisant la méthodologie de la surface de réponse afin d'améliorer le rendement en lipides. Le modèle de Box-Behnken a été réalisé pour déterminer les niveaux optimaux de trois variables indépendantes (la quantité de glycérol brut, la concentration en extrait de levure et la durée d'incubation) et l'effet éventuel de leurs interactions sur la réponse. Dans les conditions optimales, la biomasse totale de 26,6 g/L avec une teneur en lipides de 51,9% (correspondant à un rendement en lipides de 13,6 g/L) pouvaient être atteinte après 166 h de culture.

La caractérisation des lipides obtenus a montré que la composition en acides gras et le profil lipidique étaient similaires aux huiles végétales, avec une prédominance d'acides gras à longue chaîne, en particulier d'acides gras polyinsaturés tels que l'acide linoléique (45%). La détermination prédictive des propriétés du biodiesel suggère que cette huile peut être utilisée efficacement pour la production de biodiesel. Cette étude ouvre de nouvelles perspectives dans l'utilisation de déchets industriels tels que le glycérol brut pour la production économique de lipides microbiens et de produits à haute valeur ajoutée. La levure Y-E4 est une candidate potentielle pour une éventuelle optimisation et extrapolation d'un procédé de production de molécules lipidiques à usage chimique et énergétique en utilisant le glycérol brut comme matière première valorisable.

IV- Les lipides et les pigments d'origine fongique : Production et application biotechnologique

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la production des lipides et des pigments d'intérêt chez les champignons filamenteux oléagineux. Plusieurs approches sont adoptées pour améliorer la production de ces composés, soit en imposant des conditions opératoires qui favorisent le processus d'accumulation ou en modifiant, par mutagenèse dirigée, le potentiel de production des souches sélectionnées.

Les huiles microbiennes constituent une source importante de lipides et d'acides gras de haute valeur ajoutée pouvant être valorisée dans divers secteurs industriels. Les microorganismes oléagineux sont capables d'accumuler des lipides avec un taux supérieur à 20% de leur matière sèche. Les lipides microbiens sont constitués habituellement de 80 à 90% de triglycérides qui sont les précurseurs pour la production de biodiesel.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la production des lipides d'intérêt chez les champignons filamenteux oléagineux.

Dans un premier temps, une optimisation des conditions d'accumulations des lipides par deux souches fongiques CO8 (*Mucor circinelloides*) et E4-2 (*Fusarium verticillioides*) a été réalisée. L'évaluation de la qualité des lipides produits par les deux souches pour la production de biodiesel montre que ces huiles sont respectueuses des normes standards. L'analyse de ces propriétés à l'aide de l'algorithme PROMETHEE-GAIA a montré que la souche CO8 cultivée sur la pâte de neutralisation de grignon d'huile de soja comme substrat carboné est la plus appropriée pour la production d'une bonne qualité de biodiesel.

Une deuxième partie du travail a été consacrée à l'amélioration génétique des champignons nouvellement isolés afin de construire des mutants surproducteurs de lipides et donc exploitables à l'échelle industrielle. Pour atteindre cet objectif, nous avons commencé par l'étude de l'impact de l'inactivation du gène *Gut2* codant pour la glycérol-3-phosphate déshydrogénase sur la production des lipides par la souche E4-2. Le mutant Δ*gut2-5* obtenu est capable d'accumuler plus de lipides que la souche sauvage (3,8 et 3,17 g/l respectivement), dans des milieux contenant le glycérol brut comme source de carbone. Pour les cultures réalisées en présence de glucose, de glycérol commercial et de l'huile de friture, les teneurs en lipides totaux demeurent inchangées entre mutant et sauvage.

En outre, L'étude de l'impact de la surexpression du gène codant pour le transporteur mitochondrial de malate (mMT) sur la production de lipides a été également entamée. Nous avons donc commencé par construire la cassette de surexpression du gène mMT sous le contrôle du promoteur du gène ZRT1 et le terminateur du gène pg1. Cette construction servira pour transformer la souche E4-2 de *Fusarium verticillioides*. Parallèlement, nous avons projeté de sur-exprimer le gène codant pour ce transporteur (mMT) sous le contrôle du promoteur et du terminateur du gène pg1 (promoteur fort chez la souche CT1). Cette construction servira pour transformer la souche CT1 de *P. occitanis*. Rappelons que CT1 est une souche hyperpectinolytique mais non oléagineuse puisqu'elle ne produit que 9 % de lipides par rapport à la masse sèche du mycélium.

V- Trans-estérification de la matière végétale verte non oléagineuse en biodiesel

L'activité de la galactolipase de la TTL a été aussi mesurée par la technique de barostat et à l'aide des films mono moléculaires de C12 MGDG et C12-DGDG (Belhaj et al, 2018). Cette activité a été bien exploitée pour produire directement à partir de feuilles vertes (ou biomasse non oléagineuse), soit des acides gras libres par hydrolyse, soit des esters méthyliques par transestérification. Ainsi, après une étape de prétraitement enzymatique (par des xylanases, des cellulases et des pectinases), la transéstérification des galactolipides des feuilles vertes en présence de chloroforme comme co-solvant et avec un excès de méthanol (R1/6), un taux de conversion élevé de 92% après 24h a été obtenu à 37 °C dans 60% d'hexane et en présence de la TTL immobilisée.

Les étapes d'extraction des lipides et de transestérification se font simultanément, ce qui permet d'économiser en termes de temps et de coût du processus. Ce processus a été largement utilisé pour la transestérification de la biomasse microalguale et aussi pour la transestérification des graines oléagineuses; mais non pas de la biomasse végétale verte et non oléagineuse qui s'avère être très riche en galactolipides « les huiles de futur ».

L'étude de certains paramètres influençant le rendement de la réaction a été réalisée. En présence de chloroforme comme co-solvant, R 1/9 lipide/méthanol, 35% de TTL et à une température de 37°C pendant 24 h, un rendement maximal de 16% a été obtenu (par rapport à la biomasse verte totale, ce pourcentage fut être plus intéressant par rapport à la masse lipidique dans la matière végétale).

Le test de stabilité opérationnelle de la galactolipase (TTL) dans plusieurs cycles de transestérification, ainsi que l'étude des propriétés physico-chmiques du biodiesel dérivé des galactolipides des feuilles vertes sont en cours de réalisation.

VI- Extraction des galactolipides de la biomasse verte et caractérisation de leurs propriétés interfaciales, tensioactives et bioactives

Dans la première partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à extraire les galactolipides dispersés dans la biomasse algale ou végétale étudiée, en utilisant une variété de prétraitements chimiques et enzymatiques. Les résultats obtenus ont permis de conclure clairement qu'un prétraitement enzymatique, afin de rompre les parois cellulaires de la matière végétale, facilite bien l'extraction des galactolipides membranaires sans contaminations.

Etant connu que les galactolipides sont les constituants majeures des membranes des chloroplastes, nous avons réalisé un protocole d'extraction qui cible spécifiquement les chloroplastes. Les trois classes lipidiques des galactolipides algales (MGDG, DGDG et SQDG) ont été purifiées par CCM préparative et leurs proportions ont été déterminées par HPLC-C18 qui révèle bien des proportions égales en MGDG et DGDG avec des traces de SQDG. Nous avons déterminé aussi la composition des MGDG et DGDG pures par GC/MS, après leurs hydrolyses chimiques et leurs méthylations.

La deuxième partie reporte sur l'étude des propriétés interraciales des galactolipides, en tant que molécules amphiphiles ayant une HLB. Ils exercent une diminution de la tension superficielle de 70 à 38 mN/m. Leur concentration micellaire critique est faible (0.0089 mM) et même inférieure à celle des tensioactifs non ioniques connus comme les surfactants les plus doux. Ces galactolipides présentent un pouvoir émulsifiant à partir d'une concentration de 20% mais leurs émulsions ne sont pas stables en fonction de temps. Leur pouvoir mouillant est intéressant sans aucun un pouvoir moussant. Toutes ces propriétés sont sollicitées en détergence.

Nous avons testé par la suite, la bioactivité de ces molécules contre des bactéries, des levures et des champignons phytopathogènes. Ces molécules ont un large spectre d'action avec des concentrations bactéricides et levuricides de l'ordre de 121 mg et fongicide de l'ordre de 486.4 mg respectivement.

La bioactivité de ces molécules vis-à-vis des cellules cancéreuses sera réalisée.

VII- Etude moléculaire et fonctionnelle d'un transporteur ABC fongique

Au cours de ce travail, nous avons abordé l'étude moléculaire et fonctionnelle d'un transporteur ABC fongique et l'identification de tous les membres de la superfamille des protéines ABC à partir du génome de *Penicillium occitanis*.

Dans un premier temps, des expériences de PCR et de criblage de la banque génomique du mutant CT1 de *P. occitanis* ont été menées afin d'isoler la totalité du gène codant pour ce transporteur. De plus, la séquence du génome de *P. occitanis* récemment déterminée a permis de vérifier et de compléter la séquence isolée. L'analyse moléculaire montre que ce transporteur présente une grande homologie avec la sous famille des PDR avec la structure $[NBD\text{-}TMD_6]_2$ d'où son nom *Podr1*. Les transporteurs appartenant à cette sous-famille sont le plus souvent associés à la résistance aux antifongiques.

En outre, des expériences de Southern blot réalisées dans les conditions stringentes montrent que ce gène est probablement présent en monocopie dans le génome de CT1. Cependant, d'autres gènes non homologues peuvent exister dans le même génome et qui ne peuvent pas être détectés par hybridation avec la sonde correspondant au gène *Podr1*en raison des conditions strictes de l'hybridation. Notant que d'autres champignons ont plusieurs gènes codant pour des transporteurs ABC, ce qui nous a incités à rechercher d'autres gènes codant pour les protéines de cette superfamille dans le génome de *P. occitanis*.

Une deuxième partie du travail a été donc consacrée à l'identification de tous les membres de la superfamille des protéines ABC dans le génome de *P. occitanis*. Pour ce faire, un criblage initial par BlastN et HMM a été réalisé et a permis d'isoler respectivement 76 et 53 séquences. Des analyses plus approfondies de toutes ces séquences a permis d'identifier un total de 58 protéines appartenant à la superfamille des ABC. Parmi les 58 protéines ABC identifiées, 51 ont au moins un TMD et un NBD et sont considérées comme des protéines membranaires. Les sept autres protéines dépourvues de TMD sont des protéines solubles.

Une autre partie a été consacrée à l'inactivation du gène Podr1. Deux mutants (ΔPodr1-21 et ΔPodr1-16) altérés dans le gène *Podr1* ont été retenus afin d'étudier l'impact de la délétion de ce gène sur la sensibilité du champignon à certains agents toxiques. Pour ce faire, une analyse phénotypique de ces deux mutants a été entamée et ce, en comparant leurs comportements vis-à-vis de certains agents toxiques à celui de la souche mère CL100. L'activité inhibitrice de plusieurs produits (Antifongiques, antibiotiques, Acides faibles, sels, sucres, …) a été mesurée par divers tests à savoir : le test de diffusion sur agar, celui par spot ou encore le test par micro-dilution sur plaque.

Tous les antifongiques testés présentent une activité antifongique dose dépendante vis-à-vis des cibles. Cette activité reste similaire entre mutants et sauvage pour la majorité des antifongiques testés. Néanmoins, le test réalisé en présence de la généticine montre que les deux mutants altérés dans le gène Podr1 sont plus sensibles à cet antifongique que la souche sauvage CL100.

***Equipe 2 :* Biomarqueurs Moléculaires à visée diagnostique et thérapeutique**

Projet 1 : Biomarqeurs d'intérêt diagnostique (Responsable : R. GARGOURI)

I- Recherche par NGS des mutations germinales associées au Cancer sein/ovaire héréditaire chez des patients du Sud Tunisien

En Tunisie, comme dans la majorité des pays du monde, le cancer du sein est le premier cancer féminin, son incidence est de 24,3 pour 100000 femmes avec une prédominance chez la femme de moins de 35 ans.

Chez l'homme ce cancer est très rare et représente moins de 1% des cancers masculins. Ce cancer peut être de forme héréditaire ou sporadique avec l'implication de plusieurs facteurs de risque tels que les facteurs hormonaux, héréditaires, environnementaux, et alimentaires. Deux gènes de prédisposition majeurs, BRCA1 et BRCA2, sont associés de 10 à 20% des cancers héréditaires sein/ovaires, ce pourcentage est variable selon les populations.

Le spectre mutationnel des gènes BRCA demeure peu explorer chez les patientes en Tunise, c'est dans ce contexte que nous avons mis en place une collaboration avec le Centre d'Investigation Clinique du CHU Habib Bourguiba de Sfax pour cribler par NGS sur Miseq (Illumina) tous les exons BRCA1/BRCA2, chez 134 cas index avec une composante génétique pour un cancer sein/ovaires appartenant à des familles non apparentées. Nous avons trouvé que 19 patientes (14.17%) portent des mutations délétères germinales, 9 sont localisées dans le gène BRCA2 et 10 dans le gène BRCA1. Parmi ces mutations 4 sont retrouvées plus qu'une fois chez des patientes non apparentées suggérant qu'il s'agirait fort probablement de mutations récurrentes. Parmi les mutations pathogéniques identifiées chez nos patientes, 6 n'ont pas été rapportées dans les banques de données BIC et ClinVar. Dans un second temps, nous avons donné un conseil génétique aux membres sains des familles chez qui le cas index est positif pour une mutation BRCA constitutionnelle délétère par séquençage ciblé.

L'identification de la mutation BRCA germinale délétère aura un impact double : d'une part pour une meilleure prise en charge avec la thérapie ciblée (Anti-PARP) et d'autre part de donner un conseil génétique aux membres sains des familles BRCA+ pour un diagnostic précoce. De plus la connaissance des mutations BRCA récurrentes nous permettra de développer des puces à ADNs portant les mutations récurrentes dans notre population afin de faire un premier criblage plus rapide et moins coûteux des patientes avec une prédisposition génétique au cancer sein/ovaires.

II- Identification de gènes candidats par séquençage d'exomes cliniques chez des familles BRCA négatives.

Rappelons que nous avons trouvé que 14.17% des cas héréditaires avec un cancer du sein, ovaires ou sein/ovaires sont BRCA+ signifiant que l'altération génétique n'est pas connue dans 86% des cas. Nous avons alors réalisé le séquençage par NGS d'exomes cliniques ciblant les exons codants de 4800 gènes associés aux maladies génétiques humaines dont le cancer pour 9 familles BRCA négatives. Nous avons montré qu'aucune mutation délétère touchant les gènes mineurs comme ATM, PALB2, Chek2, RAD50, P53 n'a été identifiée.

L'analyse par différents outils de bioinformatiques nous a permis d'identifier une liste de gènes qui n'ont pas été rapportés comme étant associés au cancer héréditaires du sein/ovaires ce qui suggère qu'ils seraient de potentiels gènes candidats.

III- Cancer du sein chez les patients mâles

Le cancer du sein mâle est une maladie rare et agressive associée à des facteurs génétiques. Les mutations dans BRCA1 et BRCA2 représentent 10% de tous les cas suggérant que d'autres facteurs génétiques sont impliqués. Nous avons séquencé les gènes BRCA1/BRCA2 chez 6 patients et avons identifié une mutation Lys6Xfs dans BRCA2 chez un seul cas. Parmi les 5 autres patients BRCA négative, nous avons sélectionné le plus jeune diagnostiqué avec un cancer du sein à 28 ans et ayant des membres avec différents cancers (gastrique, larynx et sein). L'analyse des données de séquençage d'Exome a montré 1,776 nonsynonymes, 516 splicing, 35 variants in frame délétion ou insertion, 22 Frameshift indels et 18 variants non sens.

Après avoir appliqué plusieurs filtres et utilisé différents outils bioinformatiques, nous avons retenus 6 gènes candidats (MSH5, DCC, ERBB3, NOTCH3, DIAPH1 et DNAH11) en fonction de leur rôle dans la cancérogenèse mammaire. Toutefois, d'autres études complémentaires sont nécessaires pour confirmer l'association des gènes sélectionnés avec la prédisposition héréditaire au cancer du sein chez le mâle.

IV- Etude de la clonalité lymphocytaire dans les hémopathies lymphoïdes malignes.

Cette étude vise à identifier les proliférations monoclonales des lymphocytes B ou T par l'étude des réarrangements géniques des chaines d'immunoglobulines et du récepteur TCR selon les directives européennes du projet *Euroclonality / BIOMED-2 ; BMH4-CT98-3936*. Actuellement, ces tests de clonalité génique ont fait preuve d'un grand intérêt pour le diagnostic multidisciplinaire des hémopathies lymphoïdes et également pour le suivi de la maladie résiduelle. Ce travail est entamé l'année dernière et à la lumière des résultats préliminaires obtenus, nous proposons de se focaliser en premier lieu sur les cas d'hémopathie lymphoïde immature, notamment les LAL, nous projetons d'aller plus loin et d'apporter des données plus judicieuses très utiles pour la stratification thérapeutique au cours du suivi de la maladie résiduelle.

Il s'agit de données personnalisées basées sur l'identification de la marque génétique spécifique de la recombinaison en question et par la suite sur l'analyse séquentielle de l'abondance du clone lymphocytaire malin dans les prélèvements post-thérapeutiques. Nous proposons, ainsi, de continuer la recherche de réarrangements pour les cas de LAL non testés, le séquençage les différents réarrangements observés par la méthode de Sanger, la conception des amorces spécifiques et finalement la quantification par Q-PCR du réarrangement clonal en question dans les prélèvements post-thérapeutiques.

Pour les proliférations des cellules matures qui sont de loin les plus variées et renferment principalement les lymphomes hodgkiniens, non-hodgkiniens de faible ou de haut grade de malignité, nous proposons de se focaliser sur les cas atypiques où les données radiologiques, histologiques et immuno-histochimiques sont incapables de confirmer le diagnostic.

Nos résultats obtenus pour les échantillons congèles sont conformes aux données rendues par le laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique à Hôpital Habib Bourguiba de SFAX. Il est intéressant de noter également que la dégradation de l'ADN extrait à partir des échantillons FFPE est un facteur limitant pour notre analyse complète des marqueurs de clonalité.

Les problèmes causés par la longue durée de fixation au formol ont été largement discuté avec nos collaborateurs les anatomopathologistes et nous avons proposé d'explorer ultérieurement des échantillons congelés ou de type FFPE dont la durée de fixation moins de 48 heures.

V- Production de tests sérologiques anti-SARS-Cov2

Dans le cadre de notre domaine d'expertise entre les deux équipes LBME du CBS et virologie du CHU HB de Sfax, nous avons conduit un projet qui s'inscrit dans la stratégie nationale de lutte contre le SARS -COV2 (axe prioritaire 3 : Tests et diagnostics).

Ce projet vise à produire des tests sérologiques ELISA anti-SARS-Cov2 fiables pour le dosage semi-quantitatif des anticorps IgG, IgM ou IgA anti-N et anti-S. Ces tests seront à la disposition des médecins biologistes pour établir le diagnostic virologique en cas de test RT-PCR négatif et également pour conduire des enquêtes de séroprévalence répétées nécessaires à la compréhension de la dynamique de l'épidémie, question cruciale pour la prise de mesures préventives. Le *procédé* mis en place « clonage, expression hétérologue chez la bactérie *E. coli*, purification et test d'immuno-réactivité » a permis de produire un 1er prototype IgG anti-N.

La performance du test ELISA a été évaluée, dans un premier temps, par l'étude de l'immunoréactivité en IgG de 266 sérums vis-à-vis de l'antigène N et a permis d'avoir des taux de sensibilité et de spécificité supérieurs à 94 %. Ce rendement est évalué par rapport aux résultats du kit commercialisé (Roche : détection des anticorps totaux anti-N sur la plateforme Cobas). Nous envisageons de comparer nos résultats avec d'autres kits commerciaux spécifiques pour la détection des anticorps de type IgG et non des anticorps totaux. De même, la collecte des données cliniques (Age, date d'apparition des symptômes, date de prélèvement, degrés de sévérité des symptômes, évolution de la maladie…) permettra de donner plus de précision sur la sensibilité de notre test. Au plan spécificité, nous proposons également de tester la réactivité IgG anti-N dans des sérums témoins qui ont été prélevés auparavant, avant l'arrivée du virus dans notre pays. La maturation technologique de ce prototype en vue de son exploitation par le monde socio-économique est notre souci actuel.

Etant donnée la nature eucaryote des protéines à exprimer et afin d'améliorer le rendement quantitatif et qualitatif des protéines exprimées, nous sommes en train de cloner et d'exprimer les deux protéines N et S chez la levure méthylotrophe, *Pichia pastoris*. Cette levure est connue par son système de sécrétion très efficace et de sa capacité à réaliser les modifications post-traductionnelles, plus proches du système humain que la levure de bière *S. cerevisiae.*

VI- Développement d'un kit de détection d'auto-anticorps sériques anti-p53

Dans le cadre d'un projet Post-MobiDoc, nous avons entamé le développement d'un kit de détection d'auto-anticorps sériques anti-p53 pour une meilleure prise en charge des patients atteints de Cancer .
En effet, les altérations du gène suppresseur de tumeur p53 et de son produit d'expression, la protéine p53, constituent l'événement génétique le plus fréquent, tous cancers humains confondus.
La recherche d'anticorps sériques anti-p53 par test ELISA constitue une méthode simple et peu coûteuse de mise en évidence des altérations du gène p53. Elle est rendue possible du fait d'une auto-immunisation de certains patients atteints de cancer en réponse à l'accumulation intra-tumorale de protéine p53. Il est important de rappeler que connaitre le statut de P53 (mutante ou sauvage) chez un patient a un impact majeur en tant que facteur pronostic. De plus, l'identification du statut mutationnel de P53 chez les patients a un impact important car elle permet de prévoir la réponse aux traitements conventionnels et donc un traitement adapté s'impose.

En effet, la P53 mutante devient totalement ou partiellement inapte à exercer ses fonctions en tant que facteur de transcription pour induire l'arrêt du cycle cellulaire et activer la mort cellulaire par apoptose. Dans ce contexte, la protéine P53 humaine a été exprimée dans le système eucaryote *Pichia Pastoris* dans notre Laboratoire. Notre projet consiste donc à développer un test ELISA basé sur la protéine P53 recombinante qui sera utilisée comme antigène pour la détection des auto-anticorps anti P53 dans le sérum de patients atteints de différents types de cancer. Parallèlement, nous envisageons d'utiliser un moyen rapide et efficace basé sur la quantitative PCR –ARMS afin de déterminer les mutations somatiques « hot spot » touchant le gène P53 chez les patients produisant les auto-anticorps anti-P53. Cette partie sera réalisée chez l'organisme bénéficiaire (Société ABS) qui est spécialisé dans le diagnostic moléculaire en Oncologie.

Nous avons réussi à sélectionner un clone à intégration multiple utilisé pour la production de la P53 recombinante qui servira d'antigène pour la détection des auto antiP53 sériques chez les patients atteints de cancers colorectal et sein. La souche recombinante sélectionnée a été cultivée dans un milieu BMGY et l'induction du promoteur a été réalisée dans un milieu BMMY en ajoutant du méthanol (0.5%) chaque 24h pendant 2 jours. Nous avons réalisé l'extraction des protéines intracellulaires à partir du culot cellulaire et l'extraction des protéines extracellulaires à partir du surnageant. Les protéines extraites sont fractionnées par SDS-PAGE et la visualisation de la protéine P53-His recombinante est faite par western blot.

La purification de la protéine recombinante est faite sur colonne HisTrap (Amersham de 1ml) par chromatographie d'affinité puis utilisée pour « coater » des plaques ELISA avant d'ajouter le sérum dilué de patients. La réaction est visualisée par l'ajout d'un second Ac marqué à la péroxydase et la plaque est lue par un lecteur ELISA à 460 nm.

Projet 2: **Biomarqeurs d'intérêt thérapeutique (Responsable : R. GARGOURI)**

I- Analyse Moléculaire de marqueurs décisionnels pour la chimiothérapie

En dépit des avancées spectaculaires faites pour le dépistage, le diagnostic et la thérapie, le cancer demeure parmi les pathologies qui causent le plus de décès dans le mon ::de. Au cours des dernières décennies, d'importants progrès thérapeutiques ont été réalisés avec le développement et l'application de traitements de médecine personnalisée visant à corriger les anomalies moléculaires impliquées dans le développement tumoral.

Les thérapies ciblées ont pour objectif de bloquer la croissance ou la propagation de la tumeur, en interférant avec partenaires moléculaires qui sont à l'origine du développement ou de la dissémination des cellules cancéreuses. Elles sont adaptées en fonction des caractéristiques morphologiques et moléculaires de la tumeur.

Ainsi, afin d'établir un protocole thérapeutique spécifique à chaque patient, l'oncologue doit être guidé par des tests moléculaires qui reflèteront les altérations génétiques dans le tissu tumoral.

En Tunisie, les tests moléculaires permettant d'adapter le protocole thérapeutique ne sont pas réalisés systématiquement pour tous les patients. Il existe plusieurs kits de diagnostic moléculaire commercialisés, mais ces derniers coûtent très cher, ce qui rend l'analyse moléculaire inaccessible à la majorité des patients Tunisiens atteints de cancers. La plupart de ces tests sont donc réalisés l'étranger, ce qui représente une contrainte pour le patient en termes de coût et de temps.

Dans le cadre d'un projet Mobidoc Postdoc, nous avons développé des tests moléculaires « maison » permettant de détecter, à moindre coûts, des mutations dans les gènes RAS, EGFR, BRAF, ainsi que le statut MSI qui ont un impact important pour le choix thérapeutique dans les cancers du poumon, du colon et des mélanomes

Après avoir terminé la mise au point des modalités de collecte des échantillons de cancer colorectal, du poumon et du mélanome (analyse des blocs FFPE, détermination du pourcentage de cellules tumorales, mode d'échantillonnage…), nous avons collecté des échantillons de cancer colorectal, du poumon (CBNPC) et de mélanome cutané et nous avons réalisé les extractions des acides nucléiques pour 25 cas de CRC, 19 cas de CBNPC et 3 cas de mélanomes.
Nous avons par la suite mis au point et validé des conditions expérimentales pour la recherche des mutations L858R, T790M et del19 dans le gène EGFR, V600E dans le gène BRAF ainsi que les mutations au niveau des codons 12, 13, 59 et 61 de KRAS et NRAS.

Nous avons aussi conçu des oligonucléotides marqués spécifiques et nous avons validé les conditions expérimentales pour l'analyse de l'instabilité des séquences microsatellites dans le cancer colorectal.
La confrontation de nos résultats obtenus par nos kits « maison » à ceux obtenus avec les kits commerciaux Therascreen pyro kits (QIAGEN) a montré une bonne concordance entre les 2 résultats.

II- Sélection et caractérisation de molécules anti-thrombotiques à visée thérapeutique contre les pathologies cardiovasculaires:

Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent la première cause de décès dans le monde. L'athérosclérose est l'une des principales causes de ces pathologies pouvant se compliquer par une rupture soudaine de la plaque d'athérome entraînant l'activation plaquettaire et la formation de thrombus. Ce dernier aboutit à l'occlusion progressive des vaisseaux d'où l'apparition des MCV tel que l'infarctus du myocarde et l'AVC ischémique. Etant donné la mortalité et l'impact socioéconomique élevé de ces maladies, leur gestion demeure un défi majeur.

Le traitement est en premier lieu préventif, par conséquent, un contrôle précis de la fonction plaquettaire est impératif. C'est pour cette fin que les antiagrégants sont utilisés. Il en existe plusieurs types agissant de manière spécifique en inhibant les différentes voies de l'agrégation plaquettaire. Néanmoins, ces médicaments présentent plusieurs effets secondaires tels que le risque d'hémorragie et les troubles gastro-intestinaux.

Il serait très intéressant, dans le cadre de ce projet, d'identifier de nouveaux antiagrégants par le criblage de molécules à partir d'une chimiothèque. A cet effet, nous avons mis en place, dans une étude antérieure effectuée dans notre laboratoire, une technique d'agrégation plaquettaire sur microplaque ayant servi pour le criblage d'une série de molécules synthétisées par voie chimique. A l'issue de cette étude, nous avons pu identifier une dizaine de molécules capables d'inhiber l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP.

a- Validation du pouvoir antiagrégant de molécules de nature chimique:

Afin de vérifier et confirmer les résultats antécédents, nous nous sommes proposés de déterminer le pouvoir anti-agrégant de ces molécules par la méthode d'agrégomètrie photométrique, considérée comme le test de référence pour l'exploration fonctionnelle plaquettaire. Pour ce faire, nous avons étudié l'agrégation plaquettaire en utilisant le PRP de donneur sain et en présence de ces molécules après activation par l'ADP. Nous avons validé l'effet antiagrégant pour les neuf molécules et nous avons déterminé la concentration optimale inhibitrice de l'agrégation.

Dans un second temps, nous avons étudié l'effet antiagrégant de certaines molécules en présence de différents agonistes et nous avons remarqué que les molécules B1 et B2 inhibent sévèrement l'agrégation induite par le collagène mais elles n'affectent pas l'agrégation induite par l'acide arachidonique. Quant à la molécule B3, elle montre une agrégation réversible après induction par l'ADP, le collagène et l'acide arachidonique. Il était aussi intéressant de tester l'effet des molécules sur la coagulation, la deuxième étape de l'hémostase, c'est pourquoi nous avons déterminé le temps de Quick et le temps de Céphaline activée permettant d'exploiter respectivement la voie extrinsèque et intrinsèque de la coagulation. Nous n'avons pas observé d'effet notable des molécules

sur la coagulation. Ce résultat est encourageant puisque c'est intéressant d'identifier des molécules à action spécifique ciblant une étape précise de l'hémostase.

b- Etude de l'effet de meilleures molécules sur la sécrétion et l'activation plaquettaire:

Nous avons étudié l'effet de certaines molécules sur la sécrétion des granules alpha et denses des plaquettes, comme nous avons étudié l'effet sur l'activation du complexe GPIIb-IIIa plaquettaires et ce, par cytométrie en flux. Nous avons montré que les deux molécules B1 et B2 inhibent l'agrégation plaquettaire, en inhibant à la fois l'activation du complexe GPIIb-IIIa et la sécrétion du contenu des granules α et denses.

c- Evaluation de la sureté des molécules à pouvoir antiagrégants de point de vue cytotoxicité et potentiel hémolytique:

Etant donné l'application thérapeutique potentielle de nos molécules dans la prévention des maladies cardiovasculaire, nous avons envisagé de tester leur effet sur les globules rouges et leur cytotoxicité sur les plaquettes ainsi que sur des lignées cellulaires. Nous avons montré que toutes les molécules n'ont pas d'effet hémolytique notable. Nous avons montré aussi que plusieurs molécules n'ont pas d'effet toxique sur les plaquettes à la concentration optimale inhibitrice de l'agrégation plaquettaire. La cytotoxicité a été testée sur la lignée cellulaire MCF7 et Hek293. Nous avons remarqué que certaines molécules ne sont pas cytotoxiques à la concentration optimale inhibitrice de l'agrégation plaquettaire alors que d'autres sont cytotoxique même à des faibles concentrations. Le potentiel antioxydant de ces molécules d'intérêt a été testé pour montrer que l'ensemble de ces molécules ne présentent pas de pouvoir antioxydant. Nous avons pu conclure que le pouvoir antiagrégant de ces molécules est indépendant du potentiel antioxydant.

Ce projet a été réalisé en étroite collaboration avec le laboratoire d'hématologie de la faculté de médecine de Sfax. Certaines analyses ont été réalisées à l'institut des maladies métaboliques et cardiovasculaire à Toulouse, équipe avec laquelle nous collaborons et nous avons des résultats très encourageants (article en cours de rédaction). Nous envisageons de réaliser des explorations plus poussées afin de déterminer le mode d'action des meilleures molécules en étudiant surtout l'état d'expression des protéines clé impliquées dans la signalisation plaquettaire en parallèle avec des analyses de lipidomique permettant d'identifier et quantifier les lipides et les phospholipides plaquettaires après traitement par nos molécules. L'identification de nouveaux antiagrégants nous permettra d'entamer des études pharmacologiques, en vue de mettre sur le marché un produit efficace et sans effets secondaires, contrairement aux molécules déjà commercialisées.

III- Immunothérapie : développement de peptides antagonistes à la place des anticorps anti-CTLA4 et anti-PD1

Ce travail est réalisé dans le cadre d'un MOBI Post Doc par Salma AbdelJalil : Longtemps, les thérapies contre le cancer ont consisté à cibler directement les cellules tumorales via la chirurgie, des radiothérapies ou des chimiothérapies. Mais depuis quelques années, une autre piste s'est affichée avec beaucoup de potentiel: aider le système immunitaire à combattre plus efficacement les cellules tumorales. Il a été démontré chez l'animal le blocage des deux verrous du système immunitaire, par des anticorps anti-CTLA4 et anti-PD1, était une stratégie prometteuse contre le cancer et ce, en réveillant le système immunitaire. De même, des essais cliniques ont donné des résultats très encourageants contre différents types de cancer comme des mélanomes métastatiques, des lymphomes, des cancers du poumon ou des reins.

Nous avons proposé, dans un projet Mobi-Post doc, avec notre partenaire socio-économique CIC (Centre d'Investigation clinique), de remplacer l'usage des anticorps par des peptides que nous allons isoler grâce à la technologie du Phage Display.

Notre stratégie est la suivante :

1-Isolement des régions des deux protéines contre lesquelles les anticorps sont été décrits. Ces deux régions ont été déjà obtenues (par synthèse d'ADN) et sont en train d'être clonées dans les vecteurs d'expression appropriés
2-Clonage et expression hétérologue des deux régions chez la bactérie *E. coli* et chez la levure *Pichiapastoris*. Purification des deux protéines
3- Criblage des banques de peptides aléatoires sur les protéines purifiées par la technologie du Phage display. Séquençage des phages positifs et détermination de la séquence des peptides antagonistes.
4- Synthèse chimique des peptides et mise en évidence de leurs pouvoir inhibiteur des cibles CTLA4 et PD1 sur des systèmes protéiques et cellulaires in vitro
5- Validation des tests sur un modèle animal : souris, drosophile ou zebrafish. Suivre la taille de la tumeur « induite » chez ces modèles animaux après administration des peptides par des techniques appropriés

IV- Etude de l'effet du cholestérol et du 7ketocholestérol (7KC) sur les levures

Le 7-ketocholestérol (7KC) appartient à la famille des oxystérols. Il est principalement produit par l'auto-oxydation du cholestérol, cette molécule est hyper produite dans les maladies neuro-dégénératives et on a montré qu'elle induit la mort cellulaire chez plusieurs lignées cellulaires, touchant principalement les mitochondries. Dans le cadre d'une collaboration avec le Pr Gérard Lizard, Directeur de l'équipe « Biochimie du peroxysome, inflammation et métabolisme lipidique » Dijon-France, nous testons l'effet du cholestérol (molécule pré curseur) et la molécule du 7KC sur les cellules de levures W303-1B et d'autres souches dans le but de l'exploitation des levures comme modèle pour la compréhension du mécanisme d'action du 7KC chez les cellules eucaryotes.

Nous avons démarré par le suivi de croissance des levures en absence et en présence du cholestérol et 7KC et la détermination du taux de viabilité et le nombre cellulaire, ensuite nous avons analysé l'effet du cholestérol et 7KC par la technique de cyométrie en flux par marquage des organites cellulaire par des sondes fluorescentes.

V- Effet de l'extrait de Nigelle et de ses molécules pures sur l'apoptose chez la levure induite par la surexpression de la p53 humaine

En continuité avec les travaux déjà réalisé au laboratoire, nous avons repris une série de chromatographie sur colonne pour la purification de la molécule anti-apoptotique à partir de l'extrait aqueux des graines de *Nigella sativa* et étudier son effet sur le cycle cellulaire de la levure par la technique de cytométrie en flux.

Nous avons aussi repris la purification des molécules ayant un effet anti-apoptotiques chez la levure à partir de l'extrait des graines de *Nigella sativa* pour les identifier et tester leur effet sur l'apoptose et l'autophagie induite par la p53.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

I/ Liste des publications internationales indexées parues en 2020:

N°	*Intitulé Articles*	*DOI*	*Revue*	*IF*	*Q*
01	A novel sec-butyl-β-D-cellobioside and sec-butyl-β-D-glucoside biosynthesized by immobilized β-glucosidase of *Fusarium solani* with surfactant properties	https://doi.org/10.1016/j.apcata.2020.117713	Applied Catalysis A, General	***5.006***	***Q1***
02	Acute oral toxicity study on Wistar rats fed	doi: 10.1007/s1	Environmental Science and	***3.056***	***Q2***

	microalgal protein hydrolysates from Bellerochea malleus	1356-018-4007-6.	Pollution Research		
03	Biodiesel-derived crude glycerol as alternative feedstock for single cell oil production by the oleaginous yeast *Candida viswanathii* Y-E4	https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112103	Industrial Crops and Products	***4.244***	***Q1***
04	Characterization of three polyphenol oxidase isoforms in royal dates and inhibition of its enzymatic browning reaction by indole-3-acetic acid	https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.140	International Journal of Biological Macromolecules	***5.162***	***Q1***
05	Fecal Serine Protease Profiling in Inflammatory Bowel Diseases.	https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00021	Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	***4.123***	***Q2***
06	FOXA1 Expression in Nasopharyngeal Carcinoma: Association with Clinicopathological Characteristics and EMT Markers.	https://doi.org/10.1155/2020/4234632	BioMed Research International	***2.276***	***Q3***
07	Identification of novel candidate genes by exome sequencing in Tunisian familial male breast cancer patients.	doi: 10.1007/s11033-020-05703-0	Molecular Biology Reports	***1.402***	***Q4***
08	Ionic liquid-tolerant cellulase system of Stachybotrys microspora exploited in the in situ saccharification of lignocellulosic biomass.	https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113167	Journal of Molecular Liquids	***5.065***	***Q1***
09	Molecular characterization and modeling study of the Podr1 gene and genome-scale identification of whole ATP-binding cassette (ABC) transporters in Penicillium occitanis	doi: 10.1016/j.ygeno.2020.10.011.	Genomics	***6.205***	***Q1***

10	Purification and characterization of latent polyphenol oxidase from truffles (Terfezia arenaria).	https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.126	International Journal of Biological Macromolecules	***5.162***	***Q1***
11	Serine proteases at the cutting edge of IBD: Focus on gastrointestinal inflammation.	DOI: 10.1096/fj.202000031RR	The FASEB Journal	***4.966***	***Q2***
12	Screening of cellulolitic and xylanolitic fungal strains for possible industrial applications		Polish Journal Of Natural Sciences		***Q4***

FORMATION DIPLOMANTE

I/ Liste des thèses soutenues en 2020

- **Nizar Akrmi** : Caractérisation fonctionnelle des inhibiteurs des protéases à serine associées aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Soutenue le 17/10/2020.

-**Wala Ben Kridis-Rejeb :** Etude Moléculaire et Clinique du cancer du sein chez des patients du Sud Tunisien. Soutenue le 02/08/2020

II/ Liste des Mastères soutenus en 2020

- **Asma Haffouz:** Potentialités antithrombotiques de molécules dérivées de la réaction de Morita Baylis Hillman. *Soutenue le 25 Décembre 2020. (Faculté des Sciences de Sfax).* (Encadreur : Dr. Basma HadjKacem).

III/ Liste des PFE soutenus en 2019

1. **Chourouk Chagra :** Élaboration d'une sauce de poisson à base de seiche *Sepia Officinalis* et des coproduits par fermentation lactique et hydrolyse enzymatique. *Soutenue le 23/9/2020*.
2. **Emna Jarray & Omaima Jerbi :** Production de lipides d'intérêt par culture des levures oléagineuses. *Soutenue le 13 Juillet 2020.* **(Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax). (Encadreur : Dr. Inès Ayadi).**
3. **Imen Rhimi :** Etude de l'effet de l'extrait des graines de *Nigella sativa* sur les levures *Saccharomyces cerevisiae* hébergeant la P53 humaine sauvage. *Soutenue le 14 Juillet 2020.* **(Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax). (Encadreur : Dr. Wafa Mihoubi & Co-Encadreur : Pr. Ali Gargouri).**
4. **Nour Ben Mohamed:** Production d'un bio-pesticide fongique à partir de *Beauveria bassiana*. *Soutenue le 07 Octobre 2020.* **(Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax). (Encadreur : Dr. Inès Borgi)**
5. **Eya Sellami :** Production des pectinases pour diverses applications biotechnologiques. ***Soutenue le 07 Octobre 2020***. **(Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax). (Encadreur : Dr. Hadj Sassi Azza).**

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

-**Projet Twining H2020**: MICA MIcrobiome CApacity Africa Towards a North-African Consortium of the Human Microbiome (NACHM) through strengthening the Capacities in Microbiome Analysis for Human Diseases at University of Sfax

-Projet PHC Utique : identification d'inhibiteurs de la trypsine-3, cible thérapeutique pour le traitement du syndrome de l'intestin irritable ; Code CMCU : 19G0819**.**

CONVENTIONS ET PROGRAMMES NATIONAUX D'OUVERTURE SUR LE MONDE SOCIO-ECONOMIQUE

***Sept conventions avec des partenaires socio-éconiomiques dans le cadre de des projets MOBI-POSTDOC de l'ANPR regroupées dans le tableau suivant :**

NOM ET PRENOM	***PARTENAIRE SOCIO-ECONOMIQUE***	***TITRE PROJET MOBIDOC***
ABDELJALIL Salma	Hôpital universitaire Habib-Bourguiba de Sfax	Clonage, expression de deux récepteurs oncogéniques : CLTA-4 et PD-1 suivi de criblage de peptides antagonistes par la technique de phage display
BOUDABBOUS Manel	Société FAYDERMA COSMETIC	Formulation de nouveaux produits cosmétiques à base de nouvelles biomolécules bio-synthétisées pour la société FAYDERMA COSMETIC
BEN HMAD-KRID Inès	Société des détergents de Tunisie (SODET)	Production, formulation et étude de la stabilité des enzymes d'une souche fongique locale incorporées dans le produit détergent Det machine de la société des détergents de tunisie « SODET »
TOUNSI Hajer	Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS)	Amélioration de l'extraction des huiles végétales et valorisation de grignons par des enzymes pectinolytiques produites localement.
KETATA Emna	Société Agricole Réunie Abid (SARA)	Recherche d'inhibiteurs biologiques d'uréase dans le but de désodoriser et valoriser les fientes de volailles.
Amena Saadallah-Kallel	Centre d'Investigation Clinique CHU Habib Bourguiba de Sfax	Biomarqueurs génétiques pour l'évaluation de la chimiotoxicité et la chimiorésistance dans le traitement des cancers
BORGI Ines	Société Tetra Hygiène	Production et formulation de bio-insecticide fongique à base de *Beauveria bassiana*

*** Deux Projets d'Encouragement des Jeunes Chercheurs continuant en 2020:**

- **Mohamed Guerfali** :« Bioconversion des déchets industriels en lipides microbiens à usage chimique et énergétique » code du projet : 19PEJC05-10 (2019-2021).
- **Wajdi Ayadi** : « Intérêt de l'étude de la clonalité lymphocytaire par réarrangements géniques dans le diagnostic et le suivi des hémopathies lymphoïdes malignes » 19PEJC06-11.

***Deux PRF acceptés 2020:**

- **Projet PRF :** Tests Moléculaires à visée théranostique et diagnostique pour une meilleure prise en charges de patients atteints de cancer. Code D3P2
- **Projet PRF** :COVID19 : Développement d'outils de diagnostique et thérapeutiques. Code : PRFCOV19 :DDP2.

***Deux projets PAQ : Création de Spin off**

1. Projet de Modernisation de l'enseignement supérieur en soutien à l'employabilité sous le titre **«Production, Formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses**

applications biotechnologiques.», sous le code **PAQ-PAES T2-PAES3** et sous la supervision du docteur **Azza HADJ SASSI.**

2. Projet de Modernisation de l'enseignement supérieur en soutien à l'employabilité sous le titre **«Spin Off de tests génétiques pour le diagnostic et la thérapie en Oncologie»,** sous le

3. code **PAQ-PAES T2-PAES2** et sous la supervision du docteur **Rania ABDELMAKSOUD-DAMMAK.**

LR15CBS03 : Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des plantes (LBAP)

مخبر البيوتكنولوجيا وتحسين النباتات

Responsable : **Pr. Faiçal BRINI**

Email : **faical.brini@cbs.rnrt.tn**

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Brini Faiçal	Professeur/Directeur du Laboratoire	Harbaoui Marwa	En Thèse
Khoudi Habib	Professeur	Bouazzi Hassiba	En Thèse
Saibi Walid	Maitre de Conférences	Merghebi Dhawiya	En Thèse
Yacoubi Inès	Maitre-Assistant	Ziadi Hajer	En Thèse
Choura Mouna	Maitre-Assistant	Harzalli Sawssen	En Thèse
Saidi Mohamed Nejib	Maitre-Assistant	Guiza Marwa	En Thèse
Ben Saad Rania	Maitre-Assistant	Bouhlel Marwa	En Thèse
Zaidi Ikram	Maitre-Assistant	Missaoui Khawla	En Thèse
Kammoun Radhouane	Professeur (ISBS)	Kamoun Hanen	En Thèse
Ben Hssouna Anis	Maitre-Assistant (FSG)	Zribi Ikram	En Thèse
Tounsi Sana	Post -doc	Khanfir Emna	En Thèse
Hamdi Karama	Post -doc	Bouteraa Mohamed Taieb	En Thèse
Zouari Nabil	Post -doc	Errachi Khawla	En Mastère
Ayadi Malika	Ingénieur Principal	Suibgui Amel	En Mastère
Namani Sarra	Secrétaire	Khaled Marwa	En Mastère
Brahmi Mohamed	Agent de Laboratoire	Ladraa Hajer	En Mastère Professionnel
Jrad Olfa	Technicienne (contractuelle)	Belguidh Imen	En PFE

OBJECTIFS GENERAUX

Le Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des Plantes a pour objectif le Développement de nouvelles variétés de céréales plus tolérantes aux conditions de l'environnement et ayant une meilleure qualité et rentabilité industrielle.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

La culture des céréales en Tunisie est généralement soumises à des contraintes hydriques dues essentiellement à une sécheresse fréquente à la quelle vient s'ajouter des problèmes de salinisation des sols. Cette situation est souvent aggravée par l'apparition de maladies comme la rouille, la septoriose, le fusarium,.. La tolérance des plantes aux stress biotiques et abiotiques est sujette à des variations alléliques naturelles gouvernées par plusieurs gènes.

Le LBAP vise l'identification de gènes candidats impliqués dans la tolérance aux stress à partir du blé et leur validation fonctionnelle dans des plantes transgéniques modèles (Arabidopsis, tabac) et l'exploration et la valorisation de certaines macromolécules de stress et composés phénoliques à haute valeur ajoutées pour des applications biotechnologiques bien étudiées.

LISTE DES PROJETS

1- **Projet 1:** Gènes candidats de la tolérance aux stress abiotiques et biotiques: identification et expression chez des plantes d'intérêt économique *(Responsable : Pr H. KHOUDI)*
2- **Projet 2 :** Signalisations hormonales liées à la tolérance aux stress chez le blé dur et l'orge (*Responsable : Pr M. HANIN)*

3- **Projet 3:** Evaluation des potentialités des variétés Tunisiennes de blé dur et d'orge par développement de marqueurs moléculaires et d'outils génomiques (Responsable : Dr I. YAKOUBI)

4- **Projet 4:** Les plantes, source de phytométabolites à intérêt biotechnologique (*Responsable : Pr F. BRINI)*

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Projet 1: Gènes candidats de la tolérance aux stress abiotiques et biotiques: identification et expression chez des plantes d'intérêt économique(Responsable : Pr H. KHOUDI)

1-Analyse fonctionnelle de TdLEA3 du blé dur chez des plantes transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* sous conditions de stress abiotique et biotiques

Les protéines d'embryogenèse tardive abondante (LEA) sont des protéines hautement hydrophiles et thermostables qui pourraient être induits par les stress abiotiques chez les plantes. Auparavant, nous avons isolé un gène TdLEA3 du groupe LEA dans le blé. Les données montrent que TdLEA3 était en grande partie désordonnée dans des conditions entièrement hydratées et était capable de prévenir l'inactivation de la lactate déshydrogénase (LDH) sous traitement de stress. Dans ce travail, nous avons analysé le niveau d'expression de TdLEA3 en analysant son profil d'expression dans des conditions de stress abiotique chez deux génotypes de blé dur à comportement contrastants et par surexpression chez *Arabidopsis thaliana*. Les plantes transgéniques d'*Arabidopsis* ont montré des niveaux de tolérance plus importants au sel et au stress oxydatif par rapport aux plantes sauvages. Entre-temps, il y a eu une accumulation des antioxydants (catalase (CAT), peroxydase (POD) et superoxyde dismutase (SOD)), une augmentation de la longueur racine et une réduction significative de la teneur en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en malondialdéhyde (MDA) chez les feuilles des lignées transgéniques dans des conditions de stress. En conséquence, les résultats Q-RTPCR indiquent des niveaux d'expression de différents gènes liés aux stress abiotiques (AtP5CS, AtCAT, AtPOD, AtSOD, RAB18 et RD29B) chez les lignées transgéniques. En outre, ils ont montré une résistance accrue aux infections causées par les champignons *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinerea* et *Aspergillus niger*. Enfin, les résultats de Q-PCR pour les gènes de stress biotique (PR1, PDF1.2, LOX3 et VSP2) ont montré une expression différentielle au niveau de ces lignées d'*Arabidopsis thaliana* (**Fig. 1**). Tous ces résultats renforcent fortement l'intérêt de TdLEA3 pour l'adaptation des plantes aux différentes contraintes environnementales.

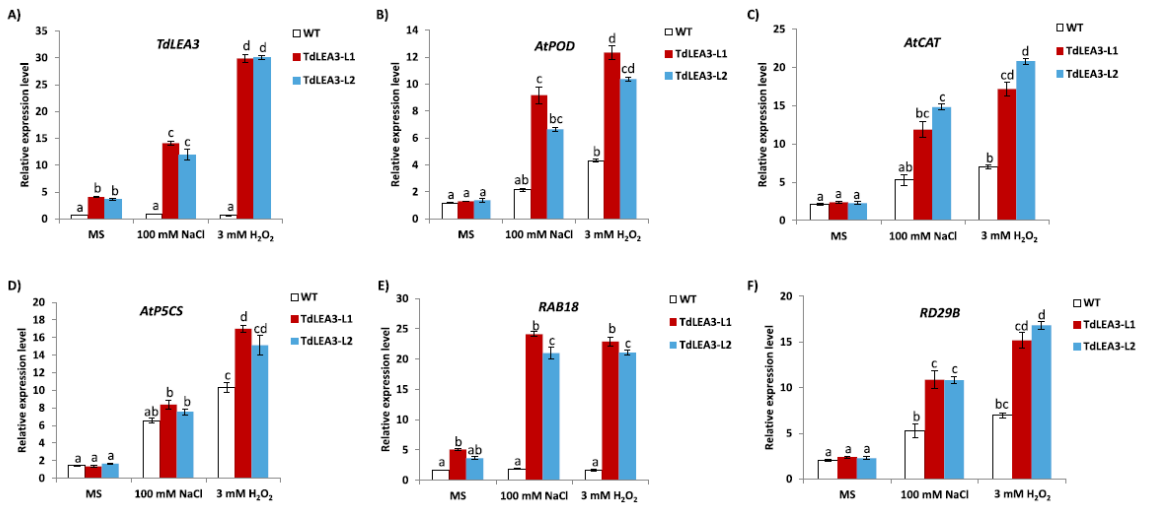


Fig.1 : Analyse de l'expression des gènes de stress par qRT-qPCR chez le WT et les plantes transgéniques d'Arabidopsis thaliana.

2. Analyse du niveau d'expression de la protéine RhDHN4 chez deux variétés d'orge et étude de son rôle in vitro

Dans cette étude, on s'est intéressé à comparer le niveau d'expression de RhDHN4 chez deux variétés d'orge qui présentent une différence de tolérance au stress salin. Une variété sensible Manel et une variété tolérante Rihane. Au niveau transcriptionnel, des analyses par PCR en temps réel ont été menées sur les racines et les feuilles de ces deux variétés soumises à divers types de stress. Nos résultats montrent que dans des conditions du stress, on a enregistré une induction de DHN4 chez les deux variétés à partir de 4 heures de traitement dans la racine et dans les feuilles, d'une manière plus élevée chez la variété tolérante par rapport à la variété sensible. Ce qui montre que ce gène est régulé par le stress d'une manière différente entre les variétés d'orge. Une telle accumulation du transcrit chez Rihane améliore sa capacité de tolérer le stress exercé.

Afin de montrer si RhDHN4 est capable de protéger le protéome et la LDH en prévenant la formation d'agrégats suite au chauffage. Nous avons testé la capacité de cette déhydrine à réduire l'agrégation. Lorsque des protéines subissent différents types de stress, elles tendent à former des Agrégats en solution qui vont altérer leurs propriétés. La LDH et l'extrait protéique des feuilles d'orge ont été soumis à un traitement par la chaleur en présence et en absence de la déhydrine. L'agrégation engendrée est par la suite étudiée à l'aide de différentes méthodes (mesure de turbidité par spectrophotométrie à 340 nm et analyse en gels mono-dimensionnel 1-SDS-PAGE).

En comparaison avec le BSA utilisé comme témoin positif puisqu'il a un effet anti-agrégatif puissant sous le traitement par la chaleur. Les échantillons traités puis sont analysés par SDS-PAGE après séparation de la phase soluble et insoluble par simple centrifugation. Les protéines qui se sont agrégées vont se précipiter et se retrouver insoluble dans le culot, tandis que les autres seront présentes dans le surnageant. Nos résultats ont montré que la majorité des protéines en présence de DHN4 se retrouvent dans le surnageant ce qui suggère que la solubilité du protéome est préservée. Les résultats obtenus suggèrent que cette déhydrine pourrait jouer le rôle de chaperonne moléculaire en empêchant la formation d'agrégats.

Pour évaluer la capacité de cette déhydrine de piéger les radicaux libres. Le radical hydroxyle $HO^{\bullet}$ est généré essentiellement à partir de H_2O_2 via la réaction de Fenton et la dégradation de la 2-deoxyribose par $HO^{\bullet}$ a été étudié en présence et en absence de DHN4. Le BSA connu comme un antioxydant fort a été utilisé comme contrôle positif de la réaction. Le pourcentage du radical généré ait diminué d'une manière remarquable en présence du DHN4. Ce qui montre que la protéine peut piéger le radical hydroxyle d'une façon similaire à celle observé en présence du BSA. L'activité antioxydante de DHN4 est en faveur de son rôle dans la protection de la plante contre les effets néfastes des radicaux libres générés lors d'un stress. La capacité de protéger l'ADN contre le radical hydroxyle généré par la Fe_2SO_4 et la H_2O_2 a été évalué en présence et en absence du DHN4. L'ADN est complètement dégradé en absence du DHN4 mais en présence d'une concentration de 0.1 µg /µl de protéine l'ADN demeure protégé. L'ensemble des résultats obtenus montre que cette déhydrine pourrait jouer un rôle important dans la protection de la plante contre le stress oxydatif.

Afin d'investiguer le mécanisme d'action de DHN4 on a cherché à connaitre si cette protéine pourrait interagir avec elle-même. Une approche génétique basée sur la méthode double hybride chez la levure a été adoptée. En effet, DHN4 est clonée dans le vecteur de levure pGADT7 en fusion traductionnelle avec le domaine d'activation de GAL4 qui active spécifiquement la transcription d'un gène rapporteur. Le même gène a été cloné dans le vecteur pGBKT7 en fusion traductionnelle avec le domaine de liaison à l'ADN de GAL4. Après transformation de La souche AH109 qui possède plusieurs gènes rapporteurs *HIS*3 (biosynthèse de l'histidine), *ADE*2 (biosynthèse de l'adénine *MEL*1) et LacZ (codant pour la β-galactosidase). La sélection des transformants a été faite sur milieux dépourvus de la leucine et du tryptophane. Pour démontrer l'interaction DHN4-DHN4.L'ensemble des

colonies apparues ont été transférées sur un milieu dépourvu de la leucine, du tryptophane, d'adénine et d'histidine solide. La capacité de la déhydrine d'interagir avec elle-même suggère que en associant en dimère, la protéine peut agir d'une manière plus efficace pour protéger les protéines et les molécules contre le stress. De plus, les déhydrines sont des protéines intrinsèquement désordonnés, susceptible de se dégrader, donc cette interaction pourrait éviter la protéolyse de cette protéine renforçant son rôle dans la réponse au stress.

3- Rôle des protéines de signalisation dans la modulation de l'activité de la protéine TdPR1.2 (Pathogen Related protein 1.2) de blé dur.

Au cours de ce travail, nous avons isolé la protéine PR de type 1 (TdPR1.2) à partir du blé dur (numéro d'accession : MK570869.1). La protéine TdPR1.2 (174 aa) est fortement homologue à TaPR1 et à son orthologue chez *Arabidopsis thaliana* ATH1 et possède une partie appelée SCP-like domain conservée chez toutes ses homologues (rôle de la SCP like domain) localisé au niveau de la région (28-163 aa). L'analyse par qRT-PCR a montré que TdPR1.2 a été induit spécialement dans les feuilles de blé dur traitées à l'acide salicylique pendant 48 h. Il a été démontré que la partie C-terminale de TdPR1.2 contient une région riche en aa basiques hydrophobes (124–145 aa) et montrant une forte homologie au domaine de liaison de la calmoduline CaM (CaMBD). Les CaMs sont des petites protéines acides jouant un rôle primordial dans la signalisation calcique. Ainsi, après fixation des ions calcium, elle assure la modulation l'activité de nombreuses protéines cibles. Nous avons montré aussi que la protéine TdPR1.2 interagit avec les Calmodulines d'une façon calcium dépendante. De plus, TdPR1.2 confère aux bactéries une meilleur tolérance aux stress abiotiques (NaCl et mannitol) mais pas à KCl et les stress métalliques. Ces résultats sont en accord avec la présence de certaines boites de réponse aux stress biotiques et abiotiques révélées au niveau du promoteur de TdPR1.2. Le gène TdPR1.2 a montré un effet antibactérien tel que révélé par les tests in vitro contre 8 bactéries différentes et contre le champignon *Septoria tritici*.

Enfin, en présence des cations Mn^{2+}, le complexe CaM/Ca^{2+} a stimulé l'effet antibactérien de TdPR1.2. De tels effets n'ont pas été signalés jusqu'à présent et pourraient jouer un rôle dans la régulation des PR chez les plantes lors de la réponse cellulaire aux signaux externes.

4- Identification et caractérisation d'une thiorédoxine h (Trx h2) du blé dur en réponse au stress oxydatif

Au cours de ce travail, nous avons entamé le clonage moléculaire de *Trx h2* dans le vecteur d'expression pCAMBIA1302 chez les plantes (pCAMBIA1302::Trx h2). Des plantes transgéniques surexprimant Trx H2 sont en cours de sélection. Elles seront ensuite évaluées pour leur tolérance au stress abiotiques et biotiques. Dans une deuxième partie, nous avons isolé le promoteur de Trx h2. L'étude in silico a montré la présence de plusieurs boites régulatrices essentiellement en relation avec le stress oxydatif. Différentes constructions avec différentes délétions du promoteur sont en cours de réalisation. Ces constructions seront introduites dans le vecteur pCAMBIA1391Z pour évaluer leurs activités GUS sous différentes conditions de stress et de stades de développement. En parallèle à cette étude, nous avons entamé la production et la purification de la protéine *Trx h2* du blé dur. Ceci va permettre d'étudier l'activité antibactérienne et antifongique de la protéine Trx h2 et de suivre la croissance bactérienne en sa présence.

L'analyse par Q-RT-PCR du gène *Trx h2* a été déterminé au niveau de la variété de blé dur cv. Om Rabiaa sous conditions de stress abiotiques (100 mM NaCl ; 10 mM H_2O_2). Les résultats ont montré que dans les conditions normales, les transcrits *Trx h2* sont absents. En condition de stress de 4h, *Trx h2* est exprimé chez l'embryon. Après 24 heures d'imbibition, nous avons remarqué l'absence des transcrits *Trx h2*. En condition de stress, et à 4h d'imbibition par NaCl, les transcrits *Trx h2* sont exprimés. Ceci confirme l'abondance de ce type de rédoxines au niveau de ces tissus. De même, les

transcrits *Trx h2* sont induites au niveau des couches d'aleurones, dans les racines et les tiges contrôle ou soumises au stress par NaCl et H_2O_2.

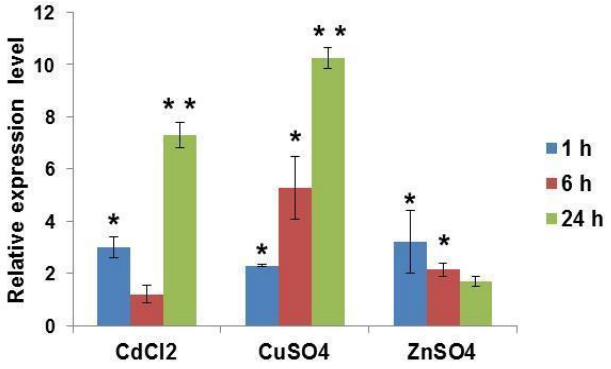
<u>Projet 2 :</u> Signalisations hormonales liées à la tolérance aux stress chez le blé dur et l'orge (Responsable : Pr M. HANIN)

1. Identification de gènes candidats de type ERF chez le blé dur et l'orge

Nous avons rapporté précédemment (Djemal et Khoudi, 2016 ; 2019) que l'expression ectopique du facteur d'expression répondant à l'éthylène, *TdSHN1,* isolé à partir d'une variété tunisienne de blé dur permet d'améliorer la tolérance de tabac transgéniques à différents types de stress tels que la salinité et la sécheresse. L'analyse moléculaire par RT-PCR des lignées transgéniques a révélé que *TdSHN1* induit fortement l'expression de plusieurs gènes dont les gènes codants pour des enzymes antioxydant tels que l'APX, Le CAT et le SOD.

Afin d'établir si l'expression du gène *TdSHN1,* est influencée par le stress métallique, le profil d'expression du gène *TdSHN1* a été étudié en utilisant la technique de RT-PCR quantitative sur des plantules de blé d'Oum Rabiaa exposées au Cd, Cu et Zn. Les résultats ont montré qu'effectivement l'expression du gène *TdSHN1* est fortement induite par ses différents métaux (**Fig. 2**). Ceci suggère que le facteur de transcription *TdSHN1* est impliqué dans la réponse du blé dur aux métaux lourds. Effectivement, les plantes de tabac transgéniques exprimant *TdSHN1* ont montré une tolérance à ses métaux. Cette tolérance est expliquée, en partie, par une meilleure capacité antioxydante des plantes transgéniques *TdSHN1*.

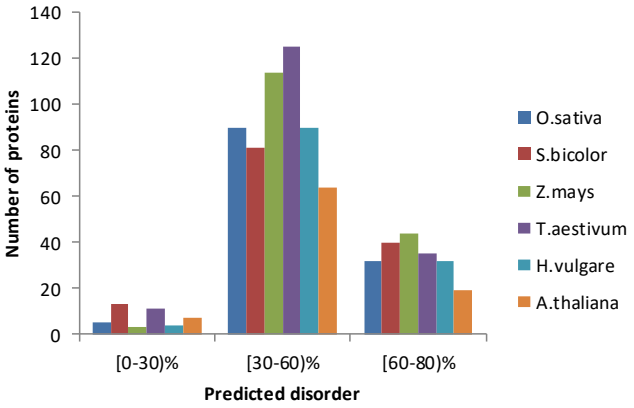
Fig, 2: Etude de l'expression par RT-PCR quantitative du gène *TdSHN1* dans les feuilles de la variété Om Rabiaa suite à un stress métallique (Cd, Cu et Zn). *, **, désigne significativement différent du contrôle non stressé



2- Etude du désordre des WRKYs chez les céréales

Les WRKYs sont impliqués dans plusieurs processus biologiques notamment dans les réponses aux stress biotique et biotiques. Les WRKYs exercent plusieurs fonctions via leurs interactions avec d'autres protéines de signalisation. Pour mieux comprendre les rôles potentiels du désordre dans les fonctions des WRKYs, nous avons étudié le désordre des WRKYs chez *O. sativa, S. bicolor, Z. mays, T. aestivum, H. vulgare et A. thaliana* ainsi que les interactions protéine-protéine (**Fig. 3**). Les analyses montrent que la distribution du désordre entre les espèces étudiées est similaire. De plus, ces caractéristiques sont conservées au cours de l'évolution ce qui indique que le désordre pourrait être crucial pour les activités biologiques des WRKYs. La multifonctionnalité des WRKYs suggère que ces protéines utilisent le désordre pour effectuer ses diverses fonctions**.** Les réseaux d'interactions P-P sont aussi construits et les paramètres topologiques sont analysés chez toutes les espèces étudiées.

Fig. 3 Fraction of proteins with different degrees of predicted disorder regions in *O. sativa, S. bicolor, Z. mays, T. aestivum, H. vulgare and A. thaliana.*



<u>Projet 3:</u> Evaluation des potentialités des variétés Tunisiennes de blé dur et d'orge par développement de marqueurs moléculaires et d'outils génomiques (Responsable : Dr I. YAKOUBI)

1. Caractérisation moléculaires du « CBS durum wheat collection » et Utilisation et développement des marqueurs moléculaires fonctionnels, associés à la tolérance au stress abiotiques (la salinité) et aux attributs de la qualité

Le blé est l'une des cultures les plus importantes dans le monde, et en particulier dans le bassin méditerranéen, le blé dur est parmi les céréales la plus utilisée pour l'industrie alimentaire. En raison des changements climatiques, plus prononcés ces dernières décennies, et qui ont été associés à une hausse de la température et un manque de précipitation, le maintien de la diversité génétique des plantes cultivées en général et le blé dur en particulier via la préservation des ressources naturelles et biologiques et leurs caractérisations, est devenu une priorité sur le plan international. En Tunisie, et en raison d'une mauvaise gestion des cultures et du stress dû à la sécheresse, le rendement du blé dur a montré des fluctuations élevées, allant de 1 à 6 t ha -1. L'un des objectifs les plus importants pour les améliorateurs du blé, dans le monde et aussi en Tunisie, est l'identification de génotypes à haut potentiel d'adaptation à ces changements climatiques et assurant une certaine stabilité de rendement. Parmi les activités réalisées au cours de ce contrat programme était la formation d'une collection du blé dur « CBS Durum Wheat Collection » représentant un siècle de blé dur en Tunisie. Les objectifs généraux de ce travail étaient d'étudier la variabilité génétique et les corrélations entre les traits morpho-agronomiques, adaptatifs, associés au rendement.

Notre collection de blé dur maintenue moyennant une multiplication dans la serre du CBS et aussi en plein champs via des collaborations avec des agriculteurs privés. La « CBS durum wheat collection » est formée de landraces, des variétés anciennes et des variétés améliorées. Plusieurs traits morphologiques et agronomiques, tels que le nombre de thalles herbacées par plante (TN / P), nombre de talles épiés par plante (ST / P), précocité (HD), la vigueur de la plante au stade de tallage (V), posture de la plante au stade de cinq feuilles (GH), et certains caractères physiologiques des feuilles, tels que l'entité de surface foliaire verte (LGS), la position de la feuille drapeau (FLP), le roulement des feuilles (LR), le caractère cireux (W). Tous ces traits ont été évalués sur deux saisons agricoles successives et ceci dans des conditions semi-arides (la station expérimentale du Kef). Cette étude a permis aussi de montrer l'impact des différents programmes d'amélioration du blé, des programmes internationaux et aussi nationaux sur la céréaliculture en Tunisie. Cette étude permettra ultérieurement l'évaluation de la potentielle utilisation des variétés locales pour les futurs programmes d'amélioration variétale. Ce travail a été effectué dans la station expérimentale de l'École Supérieure d'agriculture du Kef (une zone semi-aride). Pour chaque trait étudié (adaptatif et composante du rendement), des statistiques descriptives incluant les valeurs moyennes et leurs erreurs standards ont été effectués. Les caractères morpho-physiologiques, associés à l'adaptation et aussi au rendement, présentaient un large

spectre de de variabilité. En effet un large éventail a été noté entre les valeurs moyennes maximales et minimales pour les différents génotypes étudiés. Par exemple, nombre de talles par épi et le nombre de thalle épiés, qui sont une indication de la capacité de la culture à maximiser son rendement, variaient respectivement de 2,31 à 6,24 et de 0,99 à 3,98. La précocité a également montré une variabilité allant de 127 à 146 jours. Une grande variabilité a également été observée pour l'entité de surface foliaire verte et la vigueur des plantes, allant de 2,50 à 8,50 et de 3,50 à 8,00 respectivement. La position de la feuille drapeau, associé au mécanisme d'évitement de la sécheresse, a montré une grande variabilité, de 3,17 à 8,50.

Les deux composantes du rendement, le poids de mille grains et le nombre de grains par épi, ont également montré une grande variabilité, allant de 25,75 à 45,70 g et de 29,70 à 59,77 respectivement. Une analyse des corrélations entre tous les caractères testés dans des conditions semi-arides a été effectuée. Le rendement est la résultante de plusieurs des traits contrôlés par plusieurs gènes. Ces interactions ont été fortement affectées par le génotype et aussi par les conditions environnementales, et leur complexité augmente particulièrement dans des conditions de stress. L'analyse des études de corrélation a montré des corrélations significatives entre les composantes de rendement et presque tous les traits étudiés. Le nombre de grains par épi a montré une corrélation négative significative avec la précocité (r = - 0,31). Une corrélation négative significative a également été notée entre TKW et les traits adaptatifs les plus importants, la précocité (r = - 0,41) et la position de la feuille du drapeau (r = - 0,64). En revanche, des corrélations positives significatives ont été notées entre TKW et les deux caractères morpho métriques, la hauteur (r = 0,43) et la longueur du pédoncule (r = 0,29).

Un deuxième volet de ce travail a été consacré pour la validation des corrélations significatives sur le plan moléculaire. En effet une étude bibliographique poussée nous a permis de ressortir une liste de marqueurs moléculaires associés aux traits adaptatifs déjà étudiés. Des extractions d'ADN génomique sont en cours. Optimisation des réactions PCR pour certains marqueurs moléculaires sont en cours.

2. Exploration de données génomique et transcriptomique pour la validation et la découverte de gènes marqueurs liée à la tolérance aux stress chez le blé

Dans ce projet, nous allons identifier les gènes de réponse au stress abiotique (salinité, sécheresse, froid) chez le blé en effectuant des méta-analyses des données transcriptomiques de type RNA-seq. Les gènes différemment exprimés (DEG) dans chaque condition de stress seront identifiés grâce à une méta-analyse des données d'expression. Cette analyse conduira à l'identification des gènes induits ou réprimés par le stress. De plus, nous utiliserons des approches d'apprentissage automatique (MLA) comme l'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse discriminante partielle des moindres carrés (PLS-DA) pour identifier les gènes qui jouent le rôle de régulateur de stress. De plus, d'autres outils bio-informatiques tels que l'enrichissement fonctionnel (GO) et l'analyse de réseau de co-expression seront utilisés pour identifier les gènes clés de la résistance aux multiples stress chez le blé.

Dans la première partie de cette action de recherche, nous avons analysé les données RNA-seq à partir de quatre conditions de stress (froid, sécheresse, chaleur et stress salin). Une méta-analyse par analyse combinatoire de quatre stress abiotiques a conduit à l'identification d'un total de 30104 gènes différemment exprimés (DEG) dans tous les stresses avec un taux de fausses découvertes (FDR) ≤ 0,05. Parmi eux, 17,324, 10,562, 5,510 et 8,653 gènes ont été exprimés de manière différentielle sous stress salin, hydrique, thermique et froid, respectivement. En effet, une distribution égale des gènes surexprimé/réprimé a été observée sous stress salin et hydrique, tandis que près de 60% des DEG surexprimé sous stress froid.

Au contraire, 67% des DEG étaient réprimés sous stress thermique. Ces données suggèrent qu'un large éventail de processus biologiques est modulé par différents stress abiotiques. En outre, 316 DEG ont été modulé par toutes les conditions de stress étudiées. Parmi eux, 109 gènes (34,6%) ont été surexprimés par tous les stress abiotiques tandis que 50 gènes (16,9%) ont été réprimés. Ces données suggèrent que différents processus biologiques sont impliqués en réponse à différents stress abiotiques chez le blé.

Ensuite, pour mieux comprendre la manifestation des différentes conditions des stresses abiotiques à l'échelle moléculaire, nous avons utilisé le serveur agriGO v2.0. L'analyse d'enrichissement de Gene Ontology (GO) de tous les DEG sont impliqués dans les principaux processus biologiques et cellulaires tels que la réponse à un stimulus chimique, la réponse au stress oxydatif, les processus métaboliques, réponse au stimulus. De plus, les termes photosynthèse, régulation du processus cellulaire, transport des ions métalliques et régulation de la transcription étaient également modulés par le stress.

Dans la troisième partie, nous avons utilisé le serveur iTak pour identifier les facteurs de transcription (TF) différemment exprimés dans chaque condition de stress. Cette analyse a conduit à identifier un total de 908, 466, 236 et 350 TF modulé par le stress salin, hydrique, traitement thermique et froid, respectivement. La comparaison du nombre de TF au total des TF de blé dans le génome du blé (IWGSC 2.2) a montré que le pourcentage de TF modulé variait entre 5,6 et 20%. Les pourcentages les plus élevés ont été obtenus pour le stress salin (20%) et hydrique (10%). Les facteurs de transcription modulés par le stress appartenaient principalement aux familles MYB, WRKY, NAC, AP2 et NAC. L'analyse des réseaux d'interaction génétique est en cours.

<u>Projet 4:</u> Les plantes, source de phytométabolites à intérêt biotechnologique (Responsable : Pr F. BRINI)

1. Nouvelle approche biotechnologique basé sur le potentiel génétique de l'halophyte *Lobularia maritima* pour améliorer la tolérance des plantes cultivées aux stress de l'environnement et exploitation de ses phytométabolites.

Au cours de ces dernières années, les plantes ont représenté une source naturelle des molécules bioactifs qui ont été largement exploitées dans la santé humaine, en tant que sources de thérapies naturelles. Ainsi, les recherches se sont intensifiées pour trouver de nouveaux agents antimicrobiens et antioxydants pour remplacer tous ce qui est issu de synthèse. Parmi ces agents naturels se trouve les extraits de plantes halophytes et leurs composants dotés de multiples activités biologiques. Ainsi, 100 g de poudre de *L. maritima* ont été soumis d'abord à une étape de macération dans l'éthanol 80% pendant trois jours.

Le filtrat hydro-alcoolique obtenu à subit une évaporation puis une solubilisation dans l'eau. La phase aqueuse ainsi obtenue a été soumise à une série de fractionnement liquide-liquide en utilisant des solvants de polarités croissantes : l'hexane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et l'eau épuisée. Les quatre fractions obtenues ont été séchées au *rotavapor* puis pesées pour calculer leurs rendements et étudier leurs activités biologiques à savoir l'activité antimicrobienne et antioxydante. Le criblage des propriétés antimicrobiennes des extraits organiques de *L. maritima* a montré qu'uniquement l'extrait à l'acétate d'éthyle s'est avéré actif. Cette activité antibactérienne est décelée envers des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) en même temps avec des zones d'inhibitions franches supérieur à 20 mm dans la majorité des cas. Les souches à Gram positif sont les plus sensibles à l'extrait à l'acétate d'éthyle. Les bactéries pathogènes à Gram (-) montrent des zones d'inhibitions plus faibles et restent résistantes vis-à-vis de la fraction testée.

Parmi les bactéries à Gram positif, la zone inhibitrice la plus élevée a été observée contre *L. monocytogenes* et *S. aureus* (28 mm) suivi de *M. luteus* (25 mm). Par contre pour les Gram négatif, la zone inhibitrice la plus élevée a été observée contre *S. enteritidis* (18 mm). La zone d'inhibition de la

gentamicine (15 µg/puits), qui a été utilisé comme contrôle positif pour les bactéries, a varié de 18 à 25 mm. Le contrôle négatif l'éthanol 50% n'a montré aucun effet inhibiteur contre les bactéries testées. Ceci a été confirmé par les valeurs faibles de CMI contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* et *Listeria monocytogens* (Gram+) et contre *Salmonella enterica* (Gram-) avec des CMI de l'ordre 0,312 mg/ml respectivement. De même, l'activité antioxydante *in-vitro* et les propriétés chimiques des différentes fractions obtenues de *L. maritima* ont été étudié. L'effet de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *L. maritima* a piégé le radical DPPH a été mis en évidence avec une EC_{50} de l'ordre de 45 µg/ml.

De même cette fraction s'est avérée très efficace dans l'inhibition de la peroxydation lipidique avec une EC_{50} de l'ordre de 75 µg/ml. Nous avons pu démontrer également la grande richesse de la plante en composés phénoliques, produits naturels antioxydants à intérêt considérable dans le domaine pharmacologique. Ce travail apporte donc une contribution phytochimique à la connaissance de la plante et permet de mieux comprendre les propriétés pharmacodynamiques de ces extraits. Par la suite à ce travail, nous envisagerons purifier et isoler les différents composés présents dans la fraction à l'acétate d'éthyle de *L. martitima*. Également, dans le cadre de la valorisation de nos résultats et en vue d'une application biotechnologique essentiellement comme conservateurs des alimentaires, il est souhaitable de tester la cytotoxicité de la fraction active contre des cellules tumorales et tester cette fraction pour autres activités biologiques *in-vitro* et *in-vivo*.

Parallèlement à cette partie, nous sommes en train de comprendre les mécanismes de résistance à des facteurs abiotique et biotique grâce à l'identification et l'analyse fonctionnelle des gènes candidats. Les protéines Snakin/GASA sont largement distribuées parmi les espèces végétales, elles sont impliquées dans différents aspects de la croissance et de développement des plantes. Ces propriétés rendent les gènes *Snakin/GASA* une source prometteuse en biotechnologie pour des applications thérapeutiques et agricoles potentielles. Toutefois, le rôle exact joué par ces protéines est toujours fascinant. Dans ce contexte, nous avons décidé de déterminer l'implication du gène *GASA1* de l'halophyte *L. maritima* dans le développement des plantes dans les conditions environnementales optimales et sous-stress.

2. Phénotypage métabolique et enzymatique de l'*Agave americana* et exploitations biotechnologiques

Afin de pouvoir exploiter les potentialités de notre matrice dans des plausibles applications biotechnologiques, nous avons déterminé la composition en métabolites et composés utilisables et valorisables selon les besoins. En effet, le jus d'*Agave americana* renferme des tannins, des saponines, des phlobatanins, des glycosides, des terpenoides, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des anthraquinones, des carbohydrates, de la vitamine C…etc En se basant sur l'importance des métabolites détectés et les besoins de notre environnement socio-économique disponible, nous avons essayé de quantifier ces métabolites. Concernant les carbohydrates, nous avons injecté l'extrait aqueux de la plante matrice dans une colonne de polysaccharides couplée à un système HPLC qui nous a permis de décortiquer la composition.

Dans le même cadre, nous avons déterminé la quantité de la vitamine C existant dans l'extrait de la plante matrice. En effet, nous avons injecté le jus d'*Agave americana* contre un standard de la vitamine C sur une colonne d'affinité couplée à un système HPLC. Les profiles chromatographiques obtenus illustrent d'une manière claire et nette la présence d'une fraction importante de cette vitamine dans le jus préparé. Ceci plaide en faveur de la plausibilité de la purification de cette vitamine, à partir de l'extrait d'*Agave americana*, envie de leur utilisation potentielle dans l'industrie agroalimentaire.

Dans l'objectif de mieux caractériser cette plante nous nous sommes proposés de faire un balayage des enzymes dont le dosage de leur activité est disponible. En effet, nous remarquons une importante présence des deux classes (la classe des hydrolases et celle des oxydoréductases) à travers

l'activité protéase, l'activité α-amylase et l'activité β-glucosidase d'une part et l'activité tyrosinase et l'activité peroxydase d'autre part. Nous signalons que sous la demande d'une entreprise impliquée dans le tissu agroalimentaire, nous avons passé voir la capacité de l'utilisation de l'extrait d'*Agave americana*. Pour se faire, nous avons entamé une étude biochimique complète de cette activité α-amylase pour tester ces potentialités d'utilisation biotechnologique. Également, nous avons purifié et étudier biochimiquement une activité protéase à partir du jus de feuilles de l'*Agave americana*.

Cette dernière a été exploitée dans des tests de candidatures pour des plausibles usages industriels.

3. Mise en valeur du potentiel enzymatique et métabolique de la luzerne dans des applications biotechnologiques

La fameuse reine des plantes fourragères baptisée « luzerne ou *Medicago sativa* » parfois appelée « grand trèfle » ou « foin de Bourgogne », est une espèce de plantes dicotylédones de la famille des Fabaceae, originaire des régions tempérées du Proche-Orient et de l'Asie centrale. Ce sont des plantes herbacées vivaces, largement cultivées comme plantes fourragères pour leur productivité, leur grande résistance à la sécheresse et leur richesse en protéines, en vitamines et en sels minéraux. Elle est très cultivée pour sa richesse en protéines (pour un taux compris habituellement entre 15 et 25 %) et ses qualités d'amélioration des sols. Abondamment répandue dans les contrées tempérées, tant à l'état sauvage que cultivée, la luzerne est une des espèces fourragères les plus utilisées pour l'alimentation du bétail.

Elle est aussi cultivée comme source industrielle de protéines et de carotène, et utilisée en diététique. Nous envisageons valoriser la richesse protéique de la luzerne et nous allons nous focaliser sur la Ribusco: Extraction, purification et caractérisation biochimique de la Ribusco; Optimisation de l'hydrolyse de la Ribusco par la protéinase K, moyennant le plan d'expérience. Nous signalons que nous nous sommes focalisés sur trois paramètres qui sont : la concentration de la protéinase K, le temps d'incubation et finalement la température d'incubation de la réaction d'hydrolyse. Nous signalons que les fractions peptidiques résultant de l'action de la protéinase K ont fait l'objet de tests antibactériens et antifongiques.

4. Etude de la valorisation des agro ressources par fermentation en milieu semi solide afin de produire des biofertilisants

La conversion des agro ressources en produits à valeur ajoutée par des procédés de fermentation en milieu semi solide (SSF) peut être une solution innovante au problème de leur impact sur l'environnement. Actuellement, la SSF a émergé comme une technique potentielle pour la valorisation des agro-ressources en vue de produire différentes biomolécules tels que les enzymes et les biofertilisants par des organismes mycéliens. En suivant la tendance et l'orientation vers l'économie durable, les bio fertilisants peuvent conduire à une meilleure fertilité des sols, une amélioration dans la lutte biologique, une meilleure résistance contre les stress abiotique, une augmentation du nombre des fruits et du rendement et enfin une réduction des coûts des produits agricoles. Au cours de l'année 2020, nous avons étudié l'effet des champignons endophytes sur la croissance et l'amélioration des espèces végétales. Nous avons cherché des souches qui se sont avérées des biofertilisants par l'apport d'éléments nutritifs à la plante. Ces souches ont la capacité de solubiliser les phosphates à des taux très élevés et de produire des gibbérellines. Nous avons criblé la souche B1 comme excellent phyto-stimulateur. Cette souche est identifiée comme *Aspergillus niger*. Nous avons étudié le profil phytohormonale de cette souche par GC/MS. Les résultats obtenus ont révélé la production de quatre types de gibbérellines (GA1, GA3, GA4 et GA9). Les résultats expérimentaux sur la croissance végétale dans des conditions de stress montrent que l'inoculation des graines de fenugrec par *Aspergillus niger* B1 entraine une diminution de la susceptibilité vis-à-vis du sel. L'inoculation par *A. niger* B1 améliore significativement les paramètres morphologiques (tailles et biomasses foliaire et

racinaire) et biochimiques (synthèse de pigments chlorophylliens et accumulation de proline) des plantes de fenugrec. Par la suite, nous avons utilisé la souche B1 pour la valorisation des feuilles d'olivier. Nous avons évalué sa capacité à coloniser et à exploiter ce substrat par le suivi de ces activités amylolytiques, cellulolytiques, xynalolytique et pectinolytiques. Une analyse chromatographique, par HPLC, a été effectuée afin d'étudier la composition phénolique de l'extrait des feuilles d'olivier fermentées et non fermentées. Les résultats ont montré que le procédé de fermentation a entrainé une diminution des composés phénoliques du substrat étudié. Dans ce cadre, nous avons étudié l'effet de l'application des feuilles d'oliviers fermentées et non fermentées au niveau du sol des cultures de tomates. Les résultats expérimentaux ont montré que les feuilles d'olivier fermentées pendant 15 jours provoquent une croissance optimale des plantes traitées en comparaison à celles des autres traitements.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

La sécurité alimentaire figure parmi les problèmes sérieux en Tunisie, vu la croissance rapide de la population et par conséquent l'augmentation de la demande de produits alimentaires. L'amélioration de la productivité des cultures stratégiques telles que les céréales qui sont constamment soumises à des contraintes environnementales est une priorité nationale. Bien que cette amélioration soit longtemps abordée à l'aide des méthodes d'hybridations classiques qui nécessitent plusieurs années voire décades pour produire une nouvelle variété, les nouvelles techniques de biotechnologies végétales peuvent accélérer le processus. L'approche adoptée par notre laboratoire est multidisciplinaire basée sur des outils bioinformatiques, moléculaires, biochimiques et de transgénèse végétale. Au cours de l'année 2020, nous avons pu identifier plusieurs gènes candidats utilisables pour la création et la valorisation de nouvelles ressources phytogénétiques en céréales. La valorisation de certaines protéines associées au stress et/ou enzymes qui peuvent servir pour des applications biotechnologiques et industrielles était aussi parmi les objectifs finaux de ce contrat programme (2019-2022). En perspectives, nous comptons adopter la même stratégie afin de sélectionner des variétés de blé dur à bon rendement mais aussi tolérant aux stress abiotiques et biotiques.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

I/ Liste des publications internationales indexées avec quartiles parues en 2020:

1. Hamdi K, Brini F, Kharrat Najla, Masmoudi Kh, Yaccoubi I (2020) Abscisic Acid, Stress, and Ripening (*Tt*ASR1) Gene as a Functional Marker for Salt Tolerance in Durum Wheat. BioMed Research International, 2020, ID 7876357; https://doi.org/10.1155/2020/7876357. ***(Q3).***

2- Ben Saad R, Ben Romdhane W, Mihoubi W, Ben Hsouna A, Brini F (2020) A *Lobularia maritima* LmSAP protein modulates gibberellic acid homeostasis via its A20 domain under abiotic stress conditions. Plos ONE 15(5): e0233420. doi.org/10.1371/journal.pone.0233420. ***(Q2)***.

3- Ben Hsouna A, Gheneim-Hereira Th, Ben Romdhane W, Dabbous A, Ben Saad R, Brini F, Abdelly Ch, Ben Hamed K (2020) Early effects of salt stress on the physiological and oxidative status of the halophyte *Lobularia maritima.* Functional Plant Biology, https://doi.org/10.1071/FP19303. ***(Q2)***.

4-Saibi W, Brini F (2020) Proline, A Peculiar Amino Acid with Astucious Functions in Development and Salt Tolerance Process in Plants. Journal of Food Nutrition and Metabolism 3(2), 1-8. doi:10.31487/j.JFNM.2020.02.04. (---).

5- Ben Saad R, Ben Romdhane W, Zouari N, Ben Hsouna A, Harbaoui M, Brini F, Gheneim-Hereira Th (2020) Characterization of a novel *LmSAP* gene promoter from *Lobularia maritima*: Tissue specificity and environmental stress responsiveness. Plos ONE 15(7): e0236943. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236943. ***(Q2).***

6-Saibi W, Bouazzi H, Brini F (2020) Use of Osmolytes For Improving Abiotic Stress Tolerance in Brassicaceae Plants: The Case of Proline. American Journal of Biomedical Science & Research 10(4), 310-315. DOI: 10.34297/AJBSR.2020.10.001521. (---).

7-Koubaa S, Brini F (2020) Functional analysis of a wheat group 3 late embryogenesis abundant protein (TdLEA3) in *Arabidopsis thaliana* under abiotic and biotic stresses. Plant Physiology and Biochemistry 156, 396-406. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.09.028. ***(Q1)***.

8- Ghorbel M, Zribi I, Missaoui Kh, Drira-Fakhfekh M, Azzouzi B, Brini F (2020) Differential regulation of the durum wheat Pathogenesis-related protein (PR1) by Calmodulin *TdCaM1.3* protein. Molecular Biology Reports, doi.org/10.1007/s11033-020-06053-7. ***(Q4).***

9-Saibi W, Brini F (2020) Chelate-assisted phytoextraction using Brassicaceae plants. Open Journal of Environmental Biology, 5(1), 22- 26. https://dx.doi.org/10.17352/ojeb. (---).

10-Choura M, Rebai A, Brini F (2020) Exploring the Intrinsic Disorder of the WRKY Transcription Factor Family in the Cereals. Journal of Bioinformatics and Systems Biology, 3(4): 92-104. DOI : 10.26502/jbsb.5107017. (---).

11-Ghorbel M, Saibi W, Brini F (2020) Abiotic Stress Signalling in Brassicaceae Plants. Journal of Soil and Plant Biology, 1, 138-150. DOI:10.33513/JSPB/2001-17. (---).

12- Ben Hsouna A, Ben Saad R, Trabelsi I, Ben Rodhane W, Brini F, Ben Salah R (2020) A novel Triticum durum Annexin 12 protein: Expression, purification and biological activities against Listeria monocytogenes growth in meat under refrigeration. Microbial Pathogenesis 143: 1041-43. ***(Q3).***

13- Ben Hsouna A, Dhibi S, Dhifi W, Ben Saad R, Brini F, Hfaidh N, da Silva Almaida JRG, Mnif W (2020) *Lobularia maritima* leave extract, a nutraceutical agent with antioxidant activity, protects against CCl4-induced liver injury in mice. Drug and Chemical Toxicology, doi: 10.1080/01480545.2020.1742730. ***(Q3).***

14- Choura M, Rebaï A (2020). The disordered charged biased proteins in the human diseasome. Interdiscip Sci. 12, 44–49. (---).

15- Mouna Choura, Ahmed Rebaï, Moez Hanin (2020). Proteome-Wide analysis of protein disorder in *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. Comput Biol Chem. *84, 107138*. (---).

16- Soilhi Z., Trindade H., Vicente S., Gouiaa S., Khoudi H., Mekki M. (2020) Assessment of the genetic diversity and relationships of a collection of *Mentha* spp. in Tunisia using morphological traits and ISSR markers, The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 95:4, 483-495, DOI: 10.1080/14620316.2019.1702482. (---).

17- Kim SH, Kim DY, Yacoubi I, Seo YW (2020) Development of single-nucleotide polymorphism markers of salinity tolerance for Tunisian durum wheat using RNA sequencing. ACTA AGRICULTURAE SCANDINAVICA, SECTION B — SOIL & PLANT SCIENCE 71 : 28-44. DOI: 10.1080/09064710.2020.1843701. ***(Q3).***

II/ Chapitres d'ouvrage en 2020

1- Brini F, Yakoubi I, Saibi W (2020) Genomics and Genetic Engineering of Rice Elucidating Cross Talk Between Stress Signaling and Nutrition Enhancement via Regulation of Antioxidant, Osmolyte, and Metabolite Levels. In a book entitled: ''Rice Research for Quality Improvement: Genomics and Genetic Engineering'' edited by A Roychoudhury. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2020. pp: 409-432, https://doi.org/10.1007/978-981-15-5337-0_18#ESM

2-Feki K, Brini F, Mrabet M, Mhadhbi H (2020) Legume Symbiotic Interaction from Gene to Whole Plant. In a book entitled ''Sustainable Agriculture Reviews 45, Legume Agriculture and Biotechnology Vol. 1'' edited by P. Guleria et al. Springer Nature Switzerland AG 2020. pp: 137-157, https://doi.org/10.1007/978-3-030-53017-4_7.

3-BRINI F (2020) Molecular breeding and genetic engineering of salt tolerance in plants. In a book entitled " Agriculture research updates" edited by Prathamesh Gorawalaet al.

Nova Science Publishers, ISBN: 978-1-53618-719-9, vol. 30 pp: 1-48.

FORMATION DIPLOMANTE

Thèses Soutenues en 2020 :

1/ Marwa Harbaoui (30/10/2020 à la FSS, Directeur de thèse : Pr. Faiçal Brini/Co-Directeur de thèse : Dr. Rania Ben Saad).

2/ Hassiba Bouazzi (07/11/2020 à la FSS, Directeur de thèse : Dr. Walid Saibi).

Mastères Soutenus en 2020

1/ Hajer Ladraa (11/12/2020 à l'Institut Supérieur des Sciences Appliquées et de Technologie-Mahdia, Encadreur : Dr. Walid Saibi).

2/ Khawla Errachi (10/12/2020 à la FSS, Encadreur : Dr. Rania Ben Saad).

3/ Amel Suibgui (28/11/2020 à la FSS, Encadreur : Dr. Mohamed Najib Saidi).

4/ Marwa Khaled (16/10/2020 à Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet, Encadreur : Dr. Anis Ben Hssouna).

Projets de Fin d'Etudes Soutenus en 2020

1/ Imen Belguith (08/12/2020 à l'ENIS, Encadreur : Dr. Walid Saibi).

CONVENTIONS AVEC DES PARTENAIRES SCIENTIFIQUES ET SOCIO-ECONOMIQUES EN 2020

1. Accord Universitaire International 2019 (2019-2021) (University Sapienza, Rome/ CBS), Projet: Genetic and molecular strategies to improve yield and drought tolerance in Tunisian wheat
2. Convention avec l'Institut des Régions Arides de Médenine.
3. Convention avec l'Unité de Biochimie Macromoléculaire et Génétique (BMG) à la Faculté des Sciences de Gafsa.

SEMINAIRES, JOURNEES ET ATELIERS SCIENTIFIQUES EN 2020

- International Congress on Process Bioresources and Environnement (ICPBE 2020) qui a eu lieu à Djerba du 16 au 18 Mars 2020.

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE EN COURS OU ACCEPTES EN 2020

1. Projet Prima (2019-2021): IMPRESSA, intitulé: ''IMProving RESilience to Abiotic stresses in durum wheat: enhancing knowledge by genetic, physiological and "omics" approaches and increasing Mediterranean germplasm biodiversity by crop wild relatives-based introgressiomics''.
2. Project international dans le cadre PRIMA-2019 (2020-2022): Exploring durum wheat genotypes to minimize drought stress impact on grain yield and nutritional quality: EXPLOWHEAT.
3. Projet i-COOP 2019 (2019-2021) (ref: COOPB 20426): Tailored Genomic Edition to Improve Rice Resilience.

PROGRAMMES NATIONAUX EN COURS 2020

Deux Projets d'Encouragement des Jeunes Chercheurs continuant en 2020 :

- **Nejib Saidi**: «Transcriptomic Analysis of Abiotic Stress Response in Wheat» Code projet: 19PEJC07-04 (2019-2020)

- **Rania Ben Saad**: « Dissection des réseaux de régulation du gène AlSRG1 isolé à partir d'Aeluropus littoralis liés aux stress abiotiques via une approche transcriptomique: RNA-seq ». (2019-2020)

LR15CBS04 : Laboratoire des Biopesticides (LB)

مخبر المبيدات البيولوجية

Responsable: **Pr.Souad ROUIS**
Email : **souad.rouis@cbs.rnrt.tn**

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Nom et Prénom	Grade	Nom et Prénom	Grade
Rouis Souad	Professeur, Directeur du Laboratoire	Maissa Chakroun	Post-Doc
Tounsi Slim	Professeur	Dalel Ben Farhat	Post-Doc
Kais Jamoussi	Professeur	Fatma Masmoudi	Post-Doc
Hichem Azzouz	Maître de Conférences	Samar Makni	Post-Doc
Raida Zribi	Maître de Conférences	Dorra Ben Abdallah	Post-Doc
Karama Bouassida - Zouari	Maître de Conférences, IPEIS	Imen Zouari	Post-Doc
Olfa Frikha	Maître de Conférences	Nouha Abdelmalak	Post-Doc, MEDIS
Wafa Jallouli	Maître Assistante	Jihen Mseddi	Doctorant
Fatma Driss Zouari	Maître Assistante	Maissa TRIKI	Doctorant
Mariam Dammak	Assistante, FSG	Hanen Dhouib	Doctorant
Saoussen Ben Khedher	Assistante, ESAK	Mariam Laadhar	Doctorant
Zina Salhi	Technicienne	Yahia Triki	Doctorant
Fathi Hertelli	Technicien	Sahar Keskes	Doctorant
Saoussen Gafsi	Ingénieure Contractuelle	Fatma Ben Jeddou	Doctorant
Hanen Boukédi	Post-Doc	Maryem Soudani	Doctorant

OJECTIF GENERAL

L'objectif général du présent projet est de réaliser les étapes requises de recherche et développement devant mener à la mise en marché des biopesticides les plus prometteurs (efficaces contre les phytopathogènes et respectueux de l'environnement et de la santé humaine) pour les systèmes agricoles.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

Mettre au point des Biopesticides pour résoudre, à la carte, les problèmes causés par les ravageurs (insectes) et pathogènes (champignons et bactéries) des plantes. Les objectifs spécifiques suivants seront abordés :

1-Sélectionner des biopesticides (microorganismes ou produits naturels) les plus susceptibles d'être commercialisés.

2-Faire les études de laboratoire nécessaires pour compléter certaines exigences d'homologation des produits sélectionnés en I). Ces études porteront le cas échéant sur : 1) la mise à l'échelle de la production massive du produit; 2) la formulation du produit; 3) la compréhension du mode d'action du produit; 4) la compatibilité du produit envers les produits conventionnels phytosanitaires utilisés dans les systèmes agricoles retenus pour les essais.

3-Comparer l'efficacité des biopesticides avec les systèmes conventionnels (pesticides) ainsi qu'entre les biopesticides sélectionnés s'attaquant au même problème phytosanitaire.

LISTE DES PROJETS

Les quatre projets développés, convergent vers un seul et unique but à savoir la mise au point de biopesticides de différentes origines et natures, permettant de développer la lutte biotechnologique contre les ravageurs (insectes) et les pathogènes des plantes (bactéries et champignons) :

1. **Projet 1 :** Etude, production et formulation de nouveaux bioinsecticides (*Dr Raida Zribi Zghal Pr S. TOUNSI)*
2. **Projet 2 :** Etude, production et formulation d'agents antibactériens (*Dr O. FRIKHA et Pr S. ROUIS)*
3. **Projet 3 :** Les champignons entomopathogènes comme agents de bio-protection contre les insectes ravageurs des cultures maraîchères : cas des mouches des cucurbitacées et les pucerons (*Dr H. AZZOUZ)*
4. **Projet 4:** Etude d'agents antifongiques bactériens et valorisation en protection du blé et de la tomate (*Pr K. JAMOUSSI)*

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Projet 1 : Etude, production et formulation de nouveaux bioinsecticides : Etude et production de Bioinsecticides microbiens et végétales actifs contre les lépidoptères, les moustiques et les vecteurs de maladies tropicales (*Responsables : Raida Zribi Zghal et Tounsi Slim*)

1. Etude moléculaire des gènes responsables des activités biopesticides :

1.1. Les métalloprotéases InhA de Bacillus thuringiensis : Etude Moléculaire, Biochimique et activité insecticide

Dans le cadre d'un criblage d'une collection de huit souches de B. thuringiensis, nous avons montré que la souche BUPM216 possède un gène inhA2. Ce dernier a été cloné, séquencé et exprimé chez E. coli. L'analyse de la séquence en acides aminés du gène inhA2 de la souche BUPM216 (inhA2-216) a montré qu'elle présente une identité de 98.1% avec InhA2 publiée (15 mutations). D'Autre part, contrairement à InhA2 publié elle a montré une toxicité orale contre Agrotis ipsilon. Afin de déduire les mutations qui sont à l'origine de cette toxicité orale nous avons déterminé la structure 3 D de InhA216. Cette dernière a été prédite en utilisant la structure cristalline de l'inhibiteur immunitaire de Bacillus anthracis A2 métallopeptidase zymogène comme modèle puisqu'elles partageaient l'identité la plus élevée d'environ 96% avec une couverture de séquence de 94% L'examen du modèle a montré que la structure 3D d'InhA2-216 est organisée en quatre domaines (**Fig.1**): pro-peptide N-terminal formé de 84 résidus (de N50 à E133), le domaine catalytique de type métzincine de 309 résidus (de Q134 à A442), le domaine VEG (glycoprotéines d'enveloppe virale) formé de 194 résidus (K443 – P480 + H644 – R799) et enfin le domaine MAM formé de 163 résidus (de G481 à A643) insérés dans le domaine VEG.

La comparaison des séquences entre les deux métalloprotéases (InhA2-216 et InhA2 publiée) a montré la présence de 15 mutations aux positions: 35, 38, 40, 70, 102, 126, 130, 131, 141, 205, 343, 355, 590, 688 et 715. Ces mutations sont réparties comme suit : 8 dans l'extrémité N-terminale, 4 dans

le domaine catalytique, 1 dans le domaine MAM et 2 dans la partie C-terminale du domaine VEG. Voyant que le peptide signal est éliminé lors de la sécrétion de l'enzyme et que le pro-peptide est clivé lors de l'activation de la métalloprotéase, seules 7 différences de résidus sont supposées être fortement impliquées dans l'effet de virulence d'InhA2-216 mature. D'autre part, des expériences d'activation autolytique de la peptidase InhA2 de B. anthracis ont montré que la forme mature finale est constituée de deux peptides associés de manière non covalente de 55 kDa et 18 kDa qui se produisent par un clivage avant le résidu V634.

En conséquence, nous suggérons que 5 résidus d'InhA2-216 trouvés dans le fragment de 55 kDa à savoir N141, N205, Q343 et H355 situés dans le domaine catalytique et F590 situé dans le domaine MAM pourraient être les résidus les plus probablement impliqués dans la fonction protéique et par conséquent dans l'augmentation de l'activité insecticide de cette métalloprotéase.

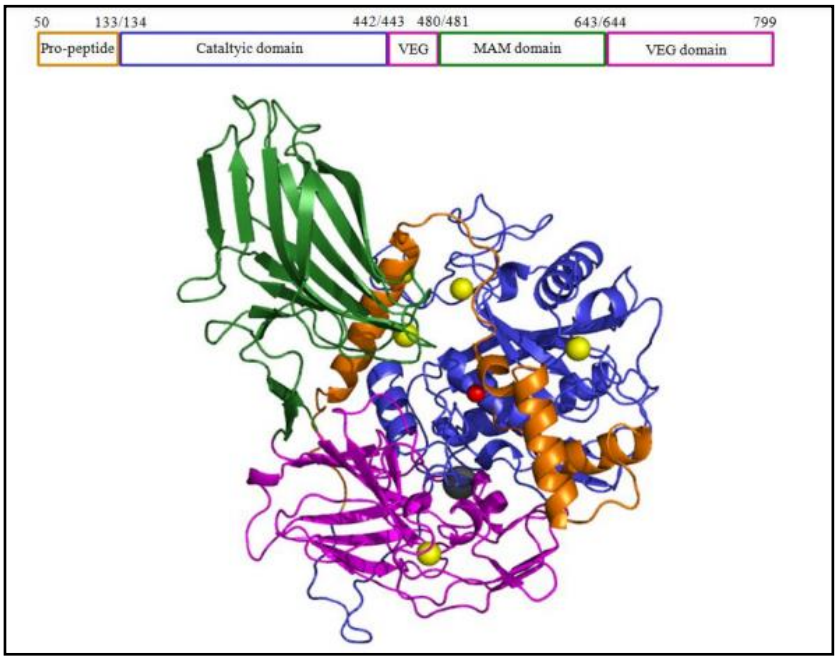


Fig 1. Organisation structurelle en 3D de la métalloprotéase InhA2-216. Les quatre domaines sont représentés en « ruban » coloré. Les ions calcium, zinc et potassium sont représentés respectivement par des sphères jaunes, rouges et grises.

Protocole d'origine (Moncef et al., 2014)	Protocoles optimisés
•Suspendre 2 g de la souche d'intérêt dans 10 ml d'eau stérile •Centrifuger à 6000 rpm pendant 10 min à 6°C. •Faire 2 lavages avec 15 ml NaCl 1M. •Faire 3 lavages avec 10 ml d'eau stérile. •Récupérer le culot et ajouter 14 ml NaCl /4 ml hexane •Soniquer pendant 10 à une fréquence 40Khz à puissance 240 W •Centrifuger à 6000 rpm pendant 10 min à 6°C. •Eliminer le volume d'hexane •Avec une spatule, récupérer les spores et éliminer le surnageant. •Répéter 3 à 4 fois l'étape d'extraction à l'hexane jusqu'à obtenir le standard de purification voulu. •Laver le culot avec 5 ml d'eau stérile •Resuspendre le culot dans 5 ml d'eau stérile .	•Suspendre 2 g de la souche d'intérêt dans 20 ml de lipopeptide/SDS 2% •Soniquer pendant 2 min à une fréquence de 20 kHz •Incuber 30 min à 30°C sous agitation. •Centrifuger à 6000 rpm pendant 20 min à température ambiante. •Faire 3 lavages avec 20 ml NaCl 1M. •Récupérer le culot et ajouter 14 ml NaCl/4 ml hexane •Soniquer pendant 10 min à une fréquence de 50/60hz à puissance 200 W. •Centrifuger à 6000 rpm pendant 20 min. •Eliminer le volume d'hexane •Avec une spatule, récupérer les spores et éliminer le surnageant. •Répéter 2 fois l'étape d'extraction à l'hexane •Laver le culot avec 10 ml d'eau distillée •Resuspendre le culot dans 10 ml de. lipopeptide

1.2. La validation des protocoles de purification spores/cristaux de B. thuringiensis

Dans le cadre du projet ERANETMED intitulé BIOSMAN, l'objectif principal de la dernière année était la validation des protocoles de purification spores/cristaux mises au point pour les souches de B. kurstaki et B. israelensis. Le tableau suivant regroupe les modifications apportées et validées :

Nous avons déjà démontré que la concentration 2% utilisée pour tester l'effet du SDS sur la dissociation des agrégats de la souche BUPM98 préserve la forme et la taille des cristaux. Puis, nous nous sommes proposé de tester l'effet combinatoire de la sonication et du SDS sur la dissociation des agrégats de la souche BUPM98. La meilleure condition constatée dans les travaux antérieurs, était la combinaison de la sonication (2 min à 20 kHz) et du SDS (2 %) qui a permis d'éliminer la totalité des agrégats. Malgré que, la combinaison de ces deux traitements constitue un outil efficace pour surmonter le problème d'agrégation dans les souches israelensis, nous n'avons pas pu exclure l'effet du SDS sur l'intégrité de l'exosporium et / ou la forme et la taille des cristaux. Ainsi, nous avons proposé de tester l'effet d'une molécule biologique synthétisée naturellement par la bactérie de la famille des Bacillacea et qui est un biosurfactant qui possède un effet émulsifiant : le lipopeptide. Les lipopeptides sont des composés tensioactifs microbiens produits par une grande variété de bactéries, champignons et levures. Ils ont la capacité de diminuer la tension superficielle et interfaciale respectivement à la surface et à l'interface. L'observation microscopique, la CFU et l'analyse du rendement protéique ont montré que le traitement avec le lipopeptide a doublé le rendement protéique totla en comparaison avec le traitement par SDS. L'utilisation du lipopeptide constitue un outil biologique très efficace pour surmonter le problème d'agrégation dans les souches israelensis et préserver un rendement important en toxines.

Tableau1: Amélioration du rendement total en protéines des souches israelensis traitées avec des lipopeptides

Traitements	BUPM98 traité avec SDS	BUPM98 traité avec lipopeptide
rendement total en protéines (%)	30%	64%

2. Développement de biopesticides plus économiques, plus stables et respectueux de l'environnement à base de *P. temperata*

Au sein du laboratoire des Biopesticides, du Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS), nous nous sommes intéressés à la production économique des biopesticides à base de *P. temperata*, en utilisant les eaux usées des industries agroalimentaires (WS1, WS2, WS3, WS4 et WS5). Ainsi, les résultats obtenus ont montré que l'utilisation de l'eau usée WS4, comme substrat de fermentation, promet un bioinsecticide potentiel. En effet, WS4 es très riche en azote, carbone, et minéraux par rapport aux autres eaux usées industrielles testées. L'utilisation de cet effluent a permis d'avoir un nombre total de cellules de $4{,}1\times10^{8}$ cellules/ml et une UFC maximale de 9×10^{6} cellules/ml après 24 h de culture avec une inhibition de croissance de 42 % des larves d'*E. kuehniella* tout en gardant un état physiologique le plus stable. En effet, l'analyse de l'état physiologique des cellules par cytométrie en flux a montré que seulement 0,8% des cellules de *P. temperata* cultivées dans WS4 sont mortes après une incubation prolongée de 72 h. Similairement, celles cultivées dans le milieu complexe, utilisé comme contrôle, demeurent viables (IP-) après les différents temps d'incubation (24, 48 et 72 h). Ceci promet un biopesticide potentiel de point de vue *coût* et qualité en comparaison avec celui issu du milieu complexe ou du milieu optimisé.

Dans la suite de ce travail, une analyse du nombre total de cellules, de la UFC et de la toxicité lors de la croissance de la souche K122 de *P. temperata* dans les différentes eaux usées a été réalisée afin d'établir une relation mathématique possible entre tous ces paramètres. Les résultats obtenus ont

montré que, quel que soit le milieu utilisé, la relation entre le nombre total de cellules et la UFC est conforme à la loi de puissance (UFC = a (Nombre total de cellules) ^{b}). De plus, l'établissement de la relation entre le nombre total de cellules et la toxicité ainsi que la relation entre la UFC et la toxicité, a montré qu'elles suivent la loi logarithmique (Nombre total de cellules = a Ln (Toxicité) + b) et (UFC count = a Ln (Toxicité) + b), respectivement.

Dans une autre partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'amélioration de la production de bioinsecticide dans l'effluent WS4 déjà sélectionné. Ainsi, suite à l'application de la méthodologie des plans d'expériences, les résultats obtenus ont montré que la production de biomasse et l'activité insecticide sont maximales lorsque la taille de l'inoculum utilisée est de 4 %, la concentration est de NaCl de 4 g/l et le rapport C/N est de 12,5. Dans ces conditions, le nombre total de cellules et la toxicité orale sont de $11{,}4\times10^{8}$ cellules/ml et 85%, respectivement, ce qui correspond à une amélioration de 185 et 102,38 %, respectivement, par rapport à l'eau usée WS4. L'expérience de validation réalisée dans les conditions optimisées a montré que la production de biomasse déterminée expérimentalement est de 11×10^{8} cellules/ml et que la toxicité orale est de 82%. Ainsi, les résultats sont en accord avec les résultats prédits statistiquement ($11{,}4\times10^{8}$ cellules/ml et 85%), confirmant l'authenticité du modèle. L'étude comparative de l'état physiologique des cellules, évaluée à travers l'examen de l'intégrité membranaire lors de la culture dans WS4 et le milieu nouvellement optimisé (WS4I), a montré que le pourcentage de cellules mortes ou endommagées (IP+) est de 14,7 % après 24 h dans WS4 et augmente à 29,2 % après 48 h d'incubation. Toutefois, le pourcentage de ces cellules n'a représenté que 6,3 % et arrive à 9,2 % après 24 h et 48 h d'incubation dans le milieu WS4I. Cela confirme que les conditions nouvellement optimisées contribuent à un changement du métabolisme de la souche K122.

3. **La mise en place de tout le processus permettant d'assurer la liaison de la fermentation avec la formulation.**

Une étude de la cinétique de la croissance des 3 souches BLB1; LIP et HD1 a été réalisée afin d'identifier les étapes clés de la croissance de Btk et optimiser les conditions de production des toxines. Pour cela, plusieurs fermentations ont été exécutées pour les 3 souches en utilisant un milieu industriel (déjà identifié au cours de ce projet par un autre partenaire). Le dispositif expérimental du bioréacteur a été optimisé et adapté au nouveau milieu industriel. Les différentes variables biotiques et biochimiques ont été suivies. Plusieurs réunions à distance ont été réalisées avec les partenaires impliqués dans ce paquet d'activités pour valoriser les résultats obtenus sous forme d'articles. D'autre part et dans le cadre de la convention d'exploitation de la souche BLB1 établie entre le laboratoire des Biopesticides et les laboratoires pharmaceutiques MEDIS, une série de culture de la souche BLB1 a été réalisé dans un milieu industriel complexe et à l'échelle d'un bioréacteur pilot de 100L. Ces cultures ont été récupérées, concentrés par le biais de la microfiltration et formulés (selon une formulation optimisée précédemment dans le laboratoire). Le produit final a été stocké au 4°C et le suivi de la stabilité du principe actif a été initié.

<u>Projet 2</u> : Etude, production et formulation d'agents antibactériens (***Responsables : Olfa Frikha et Souad Rouis)***

Au sein du laboratoire des Biopesticides et dans le cadre du développement d'un moyen de lutte biologique contre la maladie du feu bactérien, 43 souches de *Bacillus*, isolées de la rhizosphère ou de la surface des parties aériennes de pommiers et de poiriers, ont été investiguées pour l'évaluation de leurs efficacités dans le biocontrôle de la maladie du feu bactérien. Une caractérisation des souches étudiées a été tout d'abord réalisée in vitro en testant différents traits. Ces traits incluent la production de composés antibactériens et de sidérophores, la colonisation d'une surface solide et la formation de

biofilm. L'efficacité des souches étudiées dans le biocontrôle de la maladie du feu bactérien a été par la suite évaluée in vivo sur des feuilles de poirier détachées. La corrélation entre l'activité de biocontrôle et les différents traits testés a montré que le biocontrôle de la maladie du feu bactérien est associé à la production de sidérophores et à la formation de biofilm. Ces deux traits impliqués dans la compétition peuvent être utilisées pour la sélection d'agents de biocontrôle efficaces pour la lutte contre la maladie du feu bactérien. L'analyse de la composante principale a montré que les bactéries rhizosphériques sont meilleures dans le biocontrôle de la maladie du feu bactérien, en comparaison avec les bactéries isolées des parties aériennes des plantes.

D'autre part, nous avons caractérisé la collection des souches de *Bacillus* isolées des parties aériennes de pommiers et de poiriers. Ces souches ont été investiguées pour leurs profils génomiques par BOX-PCR. Une faible redondance de profils a été observée. Ces souches ont été alors toutes séquencées au niveau de leurs ADNr 16S. L'effet des facteurs environnementaux; à savoir la température, le pH, la tolérance aux sels et au stress osmotique; a été étudié. D'autre part, l'activité antimicrobienne des souches contre les bactéries et les champignons phytopathogènes, leurs activités antagonistes et leurs activités enzymatiques ont été étudiées. Une grande hétérogénéité entre les différentes souches a été observée. Nous nous sommes également proposé d'étudier la capacité des souches à contrôler la maladie du feu bactérien sur les feuilles de poirier détachées. La souche PF2 était la meilleure souche antagoniste. Elle a été identifiée en tant que *Bacillus subtilis*.

Projet 3 : Les champignons entomopathogènes comme agents de bio-protection contre les insectes ravageurs des cultures maraîchères : cas des mouches des cucurbitacées et les pucerons (***Responsable: Hichem Azzouz***)

Action 1 : Etude de la diversité des champignons entomopathogènes dans différent agro-écosystèmes de la Tunisie

Durant la première année du projet, nous avons étudié la diversité des champignons entomopathogènes dans différents biotopes de la Tunisie (vergers d'agrumes, oasis et oliveraies). Ainsi, l'analyse des échantillons du sol collecté, nous a permis de sélectionner des espèces appartenant au genre Paecilomyces/Isaria (72,55%) qui semblent être plus fréquentes dans le sol Tunisien par rapport aux espèces appartenant au genre Beauveria sp (47,08 %) et Metarhizium sp (42,14 %).

Action 2 : Mise en œuvre de la lutte intégrée contre les mouches des cucurbitacées

Durant cette année, nous avons commencé à étudier la diversité des espèces des mouches des cucurbitacées dans différentes localités du gouvernorat de Sfax (10 localités). Ainsi, l'analyse des échantillons de fruits collectés à partir des parcelles infestées et des mouches capturées provenant d'un réseau de piégeage installé au sein des parcelles des cultures des cucurbitacées a montré que la seule espèce qui est à l'origine des dégâts considérables est Dacus Frontalis (Diptera : Tephritidae). Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'activité insecticide des souches de champignons entomopathogènes contre les différents stades de développement de ce ravageur. Ainsi, les souches de Beauveria bassiana sont actives contre les adultes de Dacus frontalis et semblent ne pas affecter les stades pré-imaginales.

Action 3 : Recherche de souches de champignons entomopathogènes actives contre le puceron : effets direct et indirect

L'évaluation de la pathogénicité des isolats de Beauveria sp nous a permis de sélectionner cinq souches plus actives que la souche commercialisée ATCC 74040. L'étude de la thermotolérance des souches sélectionnées a montré que le taux de germination semble diminuer avec le temps d'exposition à la température 45°C. Après 2h de chauffage à 45°C, seule la souche B12 résiste à la chaleur avec 69,69% de conidies germées. Par ailleurs, l'efficacité des champignons

entomopathogènes contre les insectes nécessite la sélection des souches tolérantes aux basses températures. Ainsi, suite à une incubation pendant 7 jours à 5°C, la souche B12 est la plus tolérante au froid avec un taux de germination de 83,51%. Le pouvoir endophytique des isolats ainsi que leurs effets sur la croissance des plantes de concombre ont été également étudiés. Nous avons trouvé que la souche B12 est dotée d'un grand pouvoir endophytique par inoculation foliaire et peut induire également une certaine amélioration de la croissance des plantes du concombre suite à un traitement racinaire. L'étude de l'effet des souches sur la croissance des plantes de concombre suite à un traitement foliaire a montré que l'isolat B12 et la souche commercialisée NB n'affectent pas la croissance de ces plantes.

Projet 4 : Etude d'agents antifongiques bactériens et valorisation en protection du blé et de la tomate (*Responsable : Pr K. JAMOUSSI*)

4.1. Développement et production de fongicides biologiques pour application dans le secteur agricole

Les travaux ont porté sur le développement d'un milieu de culture économique pour une production optimale du biogongicide. Ainsi, les composants et les paramètres influents sur la production de biofongicides ont été choisis suite à l'application d'un plan de criblage. Par la suite, les conditions et les concentrations optimales des composants choisis pour la production de Bacillus en Erlenmeyer ont été déterminées par application de la méthodologie des plans d'expérience et la production, à petite échelle, du biofongicide dans les conditions optimisées a été suivie. Une fois les conditions de production du biofongicide ont été validées à petite échelle, nous avons passé de l'échelle de l'Erlenmeyer à une échelle plus grande pour une production en masse du biofongicide. Ce passage a été graduel et les conditions de production ont été validées à chaque niveau. L'amélioration de l'efficacité du biofongicide passe par différentes étapes dont le développement de formulations plus adaptées, avec des additifs permettant, entre autres, une meilleure stabilité chimique de la matière active. Ainsi et suite au criblage des additifs à incorporer dans la formule du biofongicide, nous avons évalué la stabilité de ces additifs. Par la suite nos travaux ont porté sur l'impact des additifs sur l'amélioration des propriétés de la matière active en leur présence en termes d'efficacité et de rendement de production. L'effet du stockage sur la stabilité de la formule a été par la suite suivi. De plus, le biofongicide a été appliqué pour valider son efficacité sur le pathosystème tomate /*Fusarium*. Les tests sont encore en cours de réalisation.

4.2. Isolement des bactéries capables de lutter contre la maladie de la Fusariose de la racine et du collet dans des conditions de stress salin.

Quatre souches bactériennes halotolérantes ont été isolées à partir des différents organes de la plante halophyte Salicornia sp. Ces bactéries étaient capables d'inhiber la croissance du champignon phytopathogène *F. culmorum*, de produire d'importantes teneurs en exopolysaccharides, de former du biofilm et d'améliorer la germination des graines du blé en présence et en absence d'un stress salin. Ces souches ont été appliquées, *in vivo*, d'une part contre la maladie cryptogamique « la fusariose de la racine et du collet » et d'autre part contre le stress salin. Nous avons alors constaté leur important rôle dans la protection de la plante contre les agresseurs biotiques et abiotiques et plus précisément le brunissement du collet et la fanaison à cause du stress salin.

En effet, l'étude des paramètres biométriques et physiologiques a mis l'accent sur la nette amélioration de la croissance végétale ainsi que l'augmentation des teneurs en chlorophylle dans les feuilles. Toutefois, deux souches F8 et F10 ont présenté une protection plus significative du blé contre la fusariose et le stress salin, en favorisant une amélioration plus importante au niveau des différents paramètres testés. Ce qui procure à ces deux souches un intérêt grandissant et les qualifie pour être considérées comme deux souches prometteuses pour la lutte biologique dans les conditions du stress salin.

4.3. Isolement de souches d'actinomycètes dotés d'activités fongicides

Le principal but est la recherche et la caractérisation de nouvelles souches bactériennes ayant d'importants potentiels de production de molécules bioactives sur les champignons phytopathogènes et leur application pour la lutte biologique. Nous visons la protection du blé contre la fusariose, ce qui pourrait aboutir à une utilisation agricole pour remplacer les pesticides chimiques. L'activité bioinsecticide est également ciblée.

Nous avons isolé plusieurs souches susceptibles d'être des actinomycètes selon les aspects morphologiques des colonies et ce à partir de 11 écosystèmes tunisiens. Ces bactéries sont très connues pour leurs productions de métabolites bioactifs. Nous avons ensuite sélectionné 116 isolats bactériens pour l'investigation des activités antifongiques, antibactériennes, insecticides et enzymatiques. Pour une meilleure comparaison des potentiels antagonistes des isolats, quatre champignons phytopathogènes cibles (*Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F oxysporum* et *Alernaria alternata*) et huit souches bactériennes pathogènes et phytopathogènes cibles (*Bacillus ceureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas savastanoi*, *Agrobacterium tumefaciens* (B6 et C58), *Enterococus faecalis*, *S. aureus* et *E. coli*) ont été utilisées en appliquant la technique des disques d'agar. Ainsi, le niveau d'activité antibactérienne est important pour les souches 3.14, 1.16 et 4.3, alors que le niveau d'activité antifongique est important pour les souches 8.7, 8.4, 8.3 et 4.3.

Nous avons également recherché les activités cellulases, protéases et chitinases sécrétées par les différents isolats pour un meilleur criblage. Ceci a révélé 20 isolats protéolytiques, 22 isolats cellulolytiques et 7 isolats chitinolytiques, avec une importante diversité métabolique et morphologique dans les échantillons.

Ensuite, le séquençage partiel de l'ADNr 16S de 11 isolats et la recherche de séquences homologues par BLAST a montré l'appartenance de huit souches à l'ordre des *Streptomyces.* Toutefois, la souche 4.3 a une importante similarité avec *Bacillus subtilis*.

Nous avons démarré des bio-essais de l'activité insecticide contre les larves L1 d'*Agrotis ipsilon* en utilisant les surnageants de culture des isolats. Une légère inhibition de la croissance larvaire serait détectée pour les souches 2.5 et 5.8, avec une activité nulle pour une quarantaine d'isolats.

Nous visons maintenant l'extraction des molécules bioactives antifongiques de trois souches par extraction aux solvants organiques suivi par la séparation des molécules via la technique de HPLC et l'identification par LC/MS.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

I/ Publications internationales indexées avec If et Quartiles parues en 2020:

Articles	*IF*	*Q*
1. Mhaya A, Bégu D, Tounsi S, Arpin C. (2020) MgrB inactivation is responsible for acquired resistance to colistin in Enterobacter hormaechei subsp. steigerwaltii. Antimicrob Agents Chemother.. doi: 10.1128/AAC.00128-20.	-	-
2. Mhaya A, Trabelsi R, M'Zali F, Bégu D, Tounsi S, Gdoura R, Arpin C. (2020) First description of NDM-1-positive Klebsiella pneumoniae in the Tunisian community.J Glob Antimicrob Resist. 21:49-50. doi: 10.1016/j.jgar.2020.02.023.	-	-
3. Zouari I, Masmoudi F, Medhioub K, Tounsi S, Trigui M. (2020) Biocontrol and plant growth-promoting potentiality of bacteria isolated from compost extract. Antonie Van Leeuwenhoek. 113(12):2107-2122. doi: 10.1007/s10482-020-01481-8.	*2.674*	*Q2*

4. Jallouli W, Keskes S, Guidara W, Rezgui F, Sayadi S, Tounsi S. (2020) Acidic pretreatment as a chemical approach for enhanced Photorhabdus temperata bioinsecticide production from industrial wastewater. J Environ Manage. 15 ; 278 :111476. doi: 10.1016/j.jenvman.	***5.64***	***Q1***
5. Athanasios Zervas, Marie Rønne Aggerbeck, Henrietta Allaga, Mustafa Güzel, Marc Hendriks, IIona Jonuškiene, Orsolya Kedves, Ayse Kupeli, Janja Lamovšek, Pascal Mülner, Denise Munday, Sahin Namli, Hilal Samut, Ružica Tomiˇci´c, Zorica Tomiˇci´c, Filiz Yeni, Raida Zribi Zghal, Xingchen Zhao, Vincent Sanchis-Borja and Niels Bohse Hendriksen. Identification and Characterization of 33 Bacillus cereus sensu lato Isolates from Agricultural Fields from Eleven Widely Distributed Countries by Whole Genome Sequencing. Microorganisms 2020, 8, 2028; doi:10.3390/microorganisms8122028	***4.152***	***Q2***
6. ManelCheffi, AzabouYaakoubGharbi, ImenMedhioub, KarimEnnouri, HazarBarham, SlimTounsi, Mohamed Ali Triki (2020) The endophytic strain *Bacillus velezensis* OEE1: An efficient biocontrol agent against Verticillium wilt of olive and a potential plant growth promoting bacteria Biological Control, 142: 104168.	**-**	**-**
7. Jallouli W, Driss F, Fillaudeau L and Rouis S. Review on biopesticide production by Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki since 1990: Focus on bioprocess parameters. Process Biochemistry. 2020. 98: 224-232.	***2.95***	***Q2***
8. Sahar Keskes, Wafa Jallouli, Emna Sahli, Sami Sayadi and Slim Tounsi (2020) Towards a new biological control approach for Photorhabdus temperata bioinsecticide production through the bioconversion of Tunisian industrial wastewater. Bioresour. Bioprocess. (2020) 7:26. https://doi.org/10.1186/s40643-020-00313-x	***4.74***	***Q1***
9. Abdallah DB, Krier F, Jacques P, Tounsi S, Frikha-Gargouri O. (2020) Agrobacterium tumefaciens C58 presence affects Bacillus velezensis 32a ecological fitness in the tomato rhizosphere. Environ Sci Pollut Res Int. 27(22):28429-28437. doi: 10.1007/s11356-020-09124-1.	***3,056***	***Q2***
10. Kriaa M, Boukedi H, Ben Rhouma M, Ben Nasr Y, Tounsi S, Mellouli L, Kammoun R. (2020) Overproduction of Glucose Oxidase by Aspergillus tubingensis CTM 507 Randomly Obtained Mutants and Study of Its Insecticidal Activity against Ephestia kuehniella. Biomed Res Int. doi: 10.1155/2020/9716581	**-**	**-**
11. Saoussen Ben Khedher & Hanen Boukedi & Asma Laarif & Slim Tounsi (2020) Biosurfactant produced by Bacillus subtilis V26: a potential biological control approach for sustainable agriculture development. Org. Agr. 10: 117–124. https://doi.org/10.1007/s13165-020-00316-0	***Indexed***	***Q2***
12. Hanen Boukedi, Mariam Hmani, Saoussen Ben Khedher, Slim Tounsi and Lobna Abdelkefi-Mesrati (2020) Promising active bioinsecticides produced by Bacillus thuringiensis strain BLB427. World Journal of	***Indexed***	***Not classified***

Advanced Research and Reviews, 08 : 026–035.		
13. Amel Mhaya, Dominique Bégu, Slim Tounsi, Corinne Arpina (2020) MgrB Inactivation Is Responsible for Acquired Resistance to Colistin in Enterobacter hormaechei subsp. Steigerwaltii. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 64 Issue 6 e00128-20.	-	-
14. Saoussen Ben Khedhera, Boutheina Mejdoub-Trabelsib, Slim Tounsi (2020) Biological potential of Bacillus subtilis V26 for the control of Fusarium wilt and tuber dry rot on potato caused by Fusarium species and the promotion of plant growth. Biological Control 152: 104444	***2,754***	***Q1***

FORMATION DIPLOMANTE

Mastère

Imen Aouididi : « Amélioration de la résistance du blé dur à la fusariose de la racine et du collet et au stress salin via l'application des bactéries halotolérantes ». Encadrant : Dr Fatma Masmoudi (Soutenance :16/10/2020)

SEMINAIRES, JOURNEES ET ATELIERS SCIENTIFIQUES EN 2020

1. Réunion d'avancement des activités du projet IPM4-Citrus par visioconférence, 29 Juin 2020
2. Organisation de la Réunion de clôture du projet BIOSMAN par visioconférence, 13 Juillet 2020
3. Organisation d'un Webinaire " contrôle qualité" Quels services pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et détergents, organisé conjointement avec l'USTT du CBS , 2 décembre 2020

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1. **H2020-RISE: PM-4-Citrus**: Citrus disease Integrated Pest Management: from Research to Market (**2017-2020**),
2. **ERANETMED**:**BIOSMAN**: Towards real-time monitoring of *Bacillus thuringiensis* biopesticides production using laser Speckle imaging within a Mediterranean area network (**2017-2020**),
3. **H2020-COST:** Huplant Control: Control of human pathogenic micro-organisms in plant systems **(2017-2021),**

PROJETS COLLABORATIFS NATIONAUX

1. **Projet PRF 1 :** Valorisation des eaux salines dans le domaine agricole après magnétisation. Etude et Evaluation des effets de cette technologie sur les eaux, les sols et les cultures**. (PRF : 2018-2019-2020, Coordinateur : Pr Ahmed Mliki-CBBC)**
2. **Projet PRF 2 :** Approche Intégrée de l'utilisation des symbioses légumineuses-PGPR pour la promotion de la fertilité du sol, la préservation de l'environnement et de l'agriculture durable. **(PRF : 2018-2019-2020, Coordinateur : Pr Monem Kallel-ENIS)**
3. **Projet PRF 3** : **Covid-19** : Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques **(PRF : 2020-2022, Coordinateur : Pr Slim Tounsi)**

LR15CBS07 : Laboratoire de de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC)

مخبرأساليب الغربلة الجزيئية والخلوية

Responsable : **Pr. Saber MASMOUDI**
Email : **saber.masmoudi@cbs.rnrt.tn**

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Chercheurs:

Professeurs : Saber Masmoudi, Ahmed Rebai, Mohamed Sami Aifa, Manel Turki.

Maitre de Conférences : Najla Kharrat, Nacim Louhichi

Maitre-Asistants: Sami Mnif, Mariem Ben Said, Mohamed Ali Mosrati, Dorra Driss, Adel Tekari, Imen Ayedi, Imen Benrebeh, Boutheina Cherif, Soumaya Triki

Cadres technique et administratif:

Ingénieurs : Bochra Mellouli, Riadh Ben Marzoug

Enseignant d'Informatique : Nesrin Triki

Techniciennes : Salma Zouari, Fida Jbeli

Secrétaire : Monia Mlaouah

Post-doctorants: Rayda Ben Ayed, Aissette Baanannou, Jihéne Elloumi, Rihab Kallel, Faten Rmida, Sabrine BelMabrouk, Rania Abdelhedi, Hela Gargouri, Amal Bouzid, Mariem Ayedi, Fériel Bouzid, Marwa Jardak, Smeti Ibtihel, Abdelli Faten

Etudiants en thèse: Hana Triki, Amal Souissi, Mariem Moalla, Ikhlass Ben Ayed, Nadia Ayadi, Marwa Ghariani, Dhouha Msalbi, Ameni Chelly, Awatef Sallah, Imen Gtif

OBJECTIF GENERAL ET SPECIFIQUES

- Mise en œuvre d'approches pluridisciplinaires pour aborder des défis en santé basée sur l'expertise en Génomique, Protéomique, Signalisation cellulaire et Bioinformatique
- Former des cadres techniques aux technologies moléculaires et cellulaires et à l'utilisation des outils statistiques et bioinformatiques
- Cribler et caractériser des chimiothèques (naturelles ou de synthèse) pour des propriétés diverses (antiproliférative, antibiofilm)
- Développer et appliquer les technologies d'analyse de l'ADN simple et à haut débit pour le diagnostic moléculaires et l'dentification de gènes responsables de pathologies
- Analyser, étudier et expertiser par traitement statistique et informatique des données biologiques
- Développer à la carte des programmes de traitement de données et des outils d'aide à la décision destinés aux industries pharmaceutiques

LISTE DES PROJETS :

1. **Projet 1 :** Criblage, repositionnement et amélioration de molécules thérapeutiques *(Responsable : Pr Sami AIFA)*
2. **Projet 2 :** Analyses haut débit et développement de tests moléculaires non-invasifs pour l'aide au diagnostic et à la prise de décision (*Responsable : Dr Najla KHARRAT*)
3. **Projet3 :** Application des technologies numériques pour la valorisation des approches génomiques au profit de la santé du citoyen *(Responsable : Pr Ahmed REBAI*)

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Projet 1 : Criblage, repositionnement et amélioration de molécules thérapeutiques

Nom du responsable : Prof. Mohamed Sami Aifa

Membres impliqués : Prof. Saber Masmoudi, Dr Manel Turki Bouzguinda (PA), Dr Sami Mnif (MA), Dr Dorra Driss (MA), Dr Mohamed Ali Mosrati (MA), Dr Adel Tekari(MA), Dr Imen Ben Rebeh (MA), Bochra Hakim (Ing.), Jihene Elloumi (PostDoc), Aissette Baanannou(PostDoc), Marwa Jardak(PostDoc),, Faten Abdelli (PostDoc),Mariem Ayadi (PostDoc), et Ibtihel Smeti (PostDoc),

Doctorants mobilisés : Marwa Ghariani et Dhouha Msalbi

Pour concevoir et développer de nouveaux traitements adaptés, le LPCMC dispose de modèles de biofilm microbiens et de lignées cellulaires tumorles. Au cours de la première année du contrat programme, nous avons commencé à établir des cultures primaires d'ostéoblastes à partir d'étriers humains.Ces ostéoblastes seront caractérisésau cours de la deuxième année afin de les utiliser plus tard pour le **repositionnement médicamenteux en otospongiose** en ciblant le système de signalisation RANK/RANKL/OPG. En effet, nous avons récemment publié des données génétiques et épigénétiques en faveur de l'implication de ce système de signalisation dans la maladie de l'otospongiose (Bouzid et al. BMC Med Genet. 2020). En plus de ces modèles cellulaires, nous envisageons d'établir un modèle de criblage in vivo d'inhibiteurs de la tyrosine kinase de l'EGFR

Les différents modèles cellulaires disponibles dans le laboratoire sont utilisés pour le criblage de molécules produites par synthèse chimique ou d'extraits naturels. En parallèle et durant ce contrat programme, des approches complémentairesde repositionnement et d'amélioration de médicaments seront adoptées. Ces travaux de criblage sont guidées par des travaux de modélisation et de docking moléculaire permettant la prédiction de l'utilité des composés testés et/ou la nécessité de modifications chimiques dans le contexte de « drug design ».

Afin d'approfondir les résultats obtenus dans le cadrede nos activités de **Ciblage des voies de signalisation impliquées dans la multirésistance microbienne (cas des biofilms)**, la synergie et l'amélioration des activités anti-biofilm, de mélanges de 4 huiles essentielles d'épices ou d'enzymes ciblant la matrice polymérique extracellulaire, ont été démontrées (Jardak et al. LWT - Food Science and Technology. 2021) (Figure 1). Par ailleurs, nous avons pu produire et caractériser une molécule de la famille des tripyrroles.

Cette molécule a montré une activité antiadhésive très importante contre la formation de biofilm de *S. epidermidis* S61 avec un pourcentage d'inhibition de 99,9% et 97,4% à des concentrations de 10 et 5 mg/ml, respectivement. De plus, des nanoparticules d'oxyde de cuivre dopées et non dopées de métaux ont été testées pour empêcher l'adhésion bactérienne et inhiber ainsi la formation du biofilm de *S. epidermidis*. Toutes les nanoparticules de CuO ont présenté une activité antiadhésive importante dépassant dans certains cas les 80%.

L'amélioration de l'activité antiadhésive est significative après dopage avec le Fer et le Nickel surtout avec les concentrations assez élevées. Ces nanostructures pourraient avoir des applications potentielles pour le contrôle de l'adhésion bactérienne dans les environnements hospitaliers et le développement de matériaux antiadhésifs

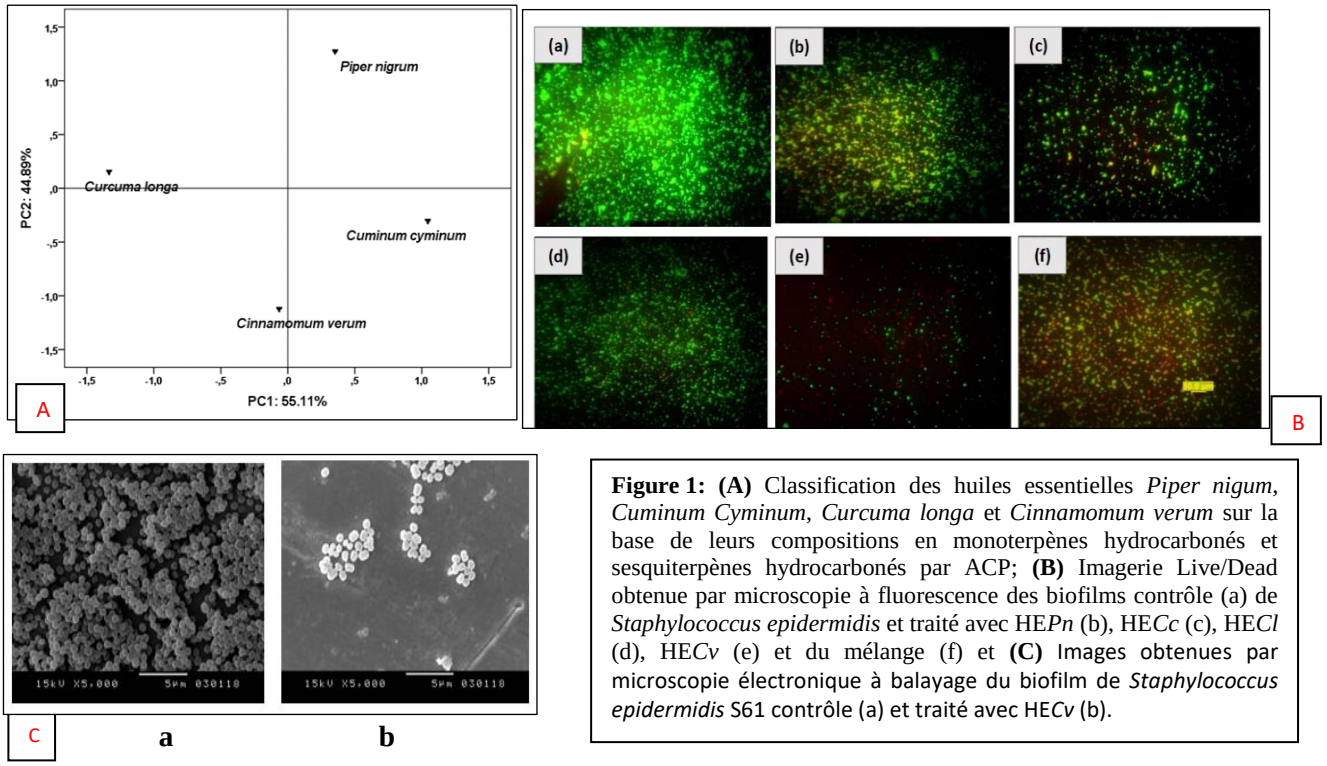


Figure 1: (A) Classification des huiles essentielles *Piper nigum*, *Cuminum Cyminum*, *Curcuma longa* et *Cinnamomum verum* sur la base de leurs compositions en monoterpènes hydrocarbonés et sesquiterpènes hydrocarbonés par ACP; **(B)** Imagerie Live/Dead obtenue par microscopie à fluorescence des biofilms contrôle (a) de *Staphylococcus epidermidis* et traité avec HE*Pn* (b), HE*Cc* (c), HE*Cl* (d), HE*Cv* (e) et du mélange (f) et **(C)** Images obtenues par microscopie électronique à balayage du biofilm de *Staphylococcus epidermidis* S61 contrôle (a) et traité avec HE*Cv* (b).

Concernant le **Ciblage des voies de signalisation en cancer,** le travail porte sur deux volets : le criblage des inhibiteurs de la croissance des lignées tumorales et le criblage des inhibiteurs des tyrosines kinasesde type ErbB, impliquées dans la majorité des tumeurs solides. Au cours de la première année, nous avons essayé le repositionnement de certains médicaments pour leur potentiel cytotoxique spécifique aux cellules cancéreuses en plus de quelques molécules de synthèse fournies par nos partenaires chimistes. Nous avons montré que la plupart des adjuvants utilisés en chimiothérapies ne sont pas cytotoxiques aux lignées du cancer du sein MCF-7 et MDA-MB-231. Par contre nous avons détecté un effet cytotoxique d'un corticoïde. Nous avons également trouvé des résultats intéressants de cytotoxicité pour au moins deux molécules de synthèse fournies par Dr Haithem Elleuch de la Faculté des Sciences de Tunis.Ces molécules ont fait l'objet d'un brevet en cours de soumission. Comme source naturelle, nous avons testé l'huile de Cumin qui a montré une cytotoxicité tumeur-spécifique intéressante. La sélection des inhibiteurs spécifiques aux cellules cancéreuse sera suivie par la caractérisation de leurs effets sur la prolifération et le cycle cellulaires ainsi que leurs interférences avec les voies de signalisation tumorale. Dans un deuxième volet, nous allons sélectionner, par une étude *in silico*, des médicaments prédits comme des inhibitreurs de tyrosine kinases, comme celle des anilino-quinazolines..Le greffage sur les nanoparticules d'oxyde de fer est envisagé. Ces nanoparticules sont composés d'un cœur magnétique jouant le rôle d'agents de contraste pour l'IRM (diagnostique) et d'inducteur de chaleur par hyperthermie et de molécules de reconnaissance assurant la spécificité biologique de la vectorisation (thérapeutique).

En parallèle, au cours de la première année, nous avons réussi á créer notre propre modèle correspondant à la protéine COMT2 et nous avons pu mettre en évidence l´activité potentielle de la COMT2(LRTOMT) comme étant une enzyme catécholamine-o-métyltransférase. Le modèle ainsi construit présente une seule différence structurale par rapport au COMT1 pouvant très probablement affecter son activité biochimique. Afin de mieux discerner l´impact de cette différence, nous avons

adopté deux approches parallèles ; une production par transfection stable dans des cellules humaines HEK293 des deux molécules COMT1 et COMT2 ce qui nous aidera à comparer l´activité enzyme-substrat des deux constructions. Une corrélation entre les valeurs d´activités enzymatiques expérimentales et celles prédites par bioinformatique, sera nécessaire pour la validation des modèles. La suite des travaux consiste à l´étude de l´inhibition de ces deux enzymes par des inhibiteurs commerciaux (Tolcapone ou Entacapone) mais aussi à développer notre propre librairie de pharmacophores issues de criblage virtuel par des approches computationnelles. Toutes ces actions rentrent dans l´objectif d'une **Amélioration de la biodisponibilité de la L-Dopa dans la maladie de Parkinson.**

PROJET 2 : Analyses haut débit et développement de tests moléculaires non-invasifs pour l'aide au diagnostic et à la prise de décision

Nom du responsable : Dr. Najla Kharrat (MA habilitée)

Membres impliqués : Prof. Ahmed Rebai ,Prof. Saber Masmoudi, Manel Turki Bouzguenda (PA), Mariem Ben Said (MA) , Boutheina Hammami-Cherif (MA), Fériel Bouzid (AC), Rihab Bouattour-Kallel (PostDoc) , Amal Bouzid (PostDoc) ,Rania Abdelhedi (PostDoc) , Ben Marzoug Riadh (Ing.)

Doctorants mobilisés : Ikhlas Ben Ayed, Amal Souissi et Hana Triki

Le développement de kits à façon pour le diagnostic moléculaire par séquençage à haut débit a aidé à l'augmentation du rendement diagnostique et la découverte de nouveaux gènes responsables de pathologies génétiques. Durant la première année du contrat programme, nous avons poursuivi l'analyse et la valorisation de nos résultats de séquençage haut débit obtenusà la fin du contrat programme précédent. Dans ce cadre, un article rapportant de nouvelles mutations de surdités isolées et syndromiques, a été récemment accepté pour publication dans une revue à haut facteur d'impact (Souissi et al. J Adv Res 2021). Nous avons également procédé à l'**Élargissement du panel de kits de séquençage haut débit** par la conception d'un kit à façon de séquençage haut débit *haloplex*multipathologique pour aider les services de génétique médicale à apporter un diagnostic moléculaire rapide et efficace de plusieurs pathologies génétiques. Les données générées par ce travail sont en cours d'analyse et de valorisation. Au cours de la deuxième année, un deuxième kit d'un panel d'une centaine de gènes sera dédié aux encéphalopathies épileptiques de l'enfant (EE) et ceci dans le cadre d'un **projet Européen H2020-Twining (SEED)**.

Au cours de la première années de ce contrat programme, nous avons aussi poursuivi notre approche intégrative pour la modélisation de maladies complexes (maladie coronarienne et insuffisance cardiaque). Nos travaux ont consisté à valoriser nos résultats de l'ancien contrat programme concernant l'exploration du statut antioxydant,suivant trois échelles de gravité chez des patients à régime méditerranéen et à haut risque ou atteints d'une maladie coronarienne. Le criblage de nos données nous a permis de classer les patients selon un score méditerranéen. Un article est en cours de rédaction visant à modéliser l'évolution de la maladie coronarienne en fonction du niveau d'adhésion au régime méditerranéen.

En accord avec les facteurs antioxydants rapportés incriminés dans cette pathologie (à savoir les protéines GPx et SOD), le SOD semble le biomarqueur le plus corrélé ($p<0.05$) avec les données cliniques et biologiques et principalement avec l'évolution de la maladie. Une augmentation de la taille de l'échantillon permettra de confirmer l'intérêt de ce biomarqueur dans le spectre d'une autre maladie cardiovasculaire : l'insuffisance cardiaque. Nos analyses préliminaires ont également montré l'association d'autres marqueurs d'inflammations (IL6, TNFα, ProBNP) avec l'évolution de la maladie. D'autre part et au cours de la première année, nous avons entamé la **Mise en place d'un pipeline de criblage bioinformatique pour le développement de nouveaux panels de gènes**

candidats en tenant compte de la littérature, des études d'association (GWAS), d'expression (GEO) et des réseaux d'interaction protéine-protéine. La première année a été consacrée à la collecte, le traitement et la normalisation des données pour identifier les gènes exprimés de manière différentielle. L'annotation ontologique et l'analyse de l'enrichissement fonctionnel est en cours afin de catégoriser ces gènes et d'identifier les voies de signalisation et les réseaux d'interaction protéine-protéine impliqués dans la maladie cardiovasculaire. Les gènes seront hiérarchiser selon un score qui se basera sur deux approches.La première approche utilisera le principe de la similarité ontologique comme mesure, afin d'identifier les réseaux biologiques (de régulation, de signalisation, métaboliques,..) communs impliqués dans les deux pathologies. La seconde approche quant à elle utilisera les données d'expression à partir de microarrays. Une comparaison entre les deux profils d'expression nous permettra d'identifier par la suite les gènes, miRNA et les facteurs de transcription mis en cause dans les deux pathologies. Une comparaison ou une fusion des deux méthodes sera envisagée sur la lumière des résultats obtenus afin de réduire le nombre de gènes candidats. La pertinence des gènes criblés sera notre garant pour mieux améliorer le rendement diagnostique de nos tests moléculaires.

En plus des gènes humains, les maladies chroniques multifactorielles cardiovasculaires mettent en jeux des facteurs environnementaux liés à des comportements alimentaires dont le principal modulateur est le microbiome. Notre hypothèse de travail est **le microbiome salivaire : 16S ADNr signature pathologique chez les coronariens.** De ce fait, l'étude de la diversité microbiale est un déterminant clé dans le diagnostic et l'évolution de l'état de santé d'un individu. Au cours de la première année du contrat programme, nous avons déterminé, par séquençage haut débit des régions V3-V4 de l'ADN16S, la composition microbiale orale chez des coronariens et nous avons corrélé leur diversité à l'évolution de la sévérité de la maladie afin de créer un modèle d'aide à la décision exploitable par les médecins dans un but pronostique ou de diagnostic. En particulier, nous avons pu mettre en évidence, grâce à des méthodes statistiques avancées, l'implication du Genre *Eikienella* dans le développement de l'athérosclérose. L'exploration de la composition orale chez les patients Tunisiens nous a également informé sur la présence d'Archéo-bactéries, citées comme impliquées dans les pathologies cardiovasculaires. Une validation par PCR et séquençage a permis de prouver leur présence. Une quantification par q-PCR sera effectuée afin d'évaluer leur présence et leur association avec la pathologie cardiovasculaire. Lors de ce travail, nous avons implémenté le pipeline d'analyse QIIME 2.2020.8.

La dernière partie de ce projet concerne la **Biopsie liquide une alternative innovante pour le diagnostic.** En effet durant l'ancien contrat programme, nous avons étudié les biomarqueurs tissulaires impliqués dans la réponse inflammatoire et modulant le microenvironnement tumoral dans le cancer de sein invasif chez la femme. Les biomarqueurs que nous avons soulevés utiles ayant un impact pronostique sont liés à la réactivité des cellules immunitaires innées NK infiltrant les tumeurs, telles que CD155, B7-H6, PD-L1, ULBP2 (**Figure 2**). Les résultats les plus concluants sont en cours de publication (Cherif et al. Sci Rep 2021) . Durant ce contrat, nous envisageons de continuer à explorer le microenvironnement inflammatoire mais en travaillant sur desbiopsies liquides pour réaliser des cinétiques et des investigations dans le cadre de suivie, surtout que ces paramètres inflammatoires sont instables. Dans ce contexte, l'ADN libre circulant (ADNlc) est notre cible pour la surveillance de la croissance des tumeurs et des tissus pathologiques. Nous envisageons également à étudier l'environnement inflammatoire en relation avec l'obésité. Ainsi, nous avons recrutés 4 types d'échantillons : des échantillons témoins sains (Cancer-/obésité-), des obèses seulement (Cancer-/obésité+), des patientes ayant un cancer et non obèses (Cancer+/obésité-) et des patientes ayant un cancer et obèses (Cancer+/obésité+). Des échantillons de plasma ont été prélevés et des extractions de l'ADNlcsont accomplies. Ces ADNlc ont été quantifiés et leur indice d'integrétéa été déterminé.

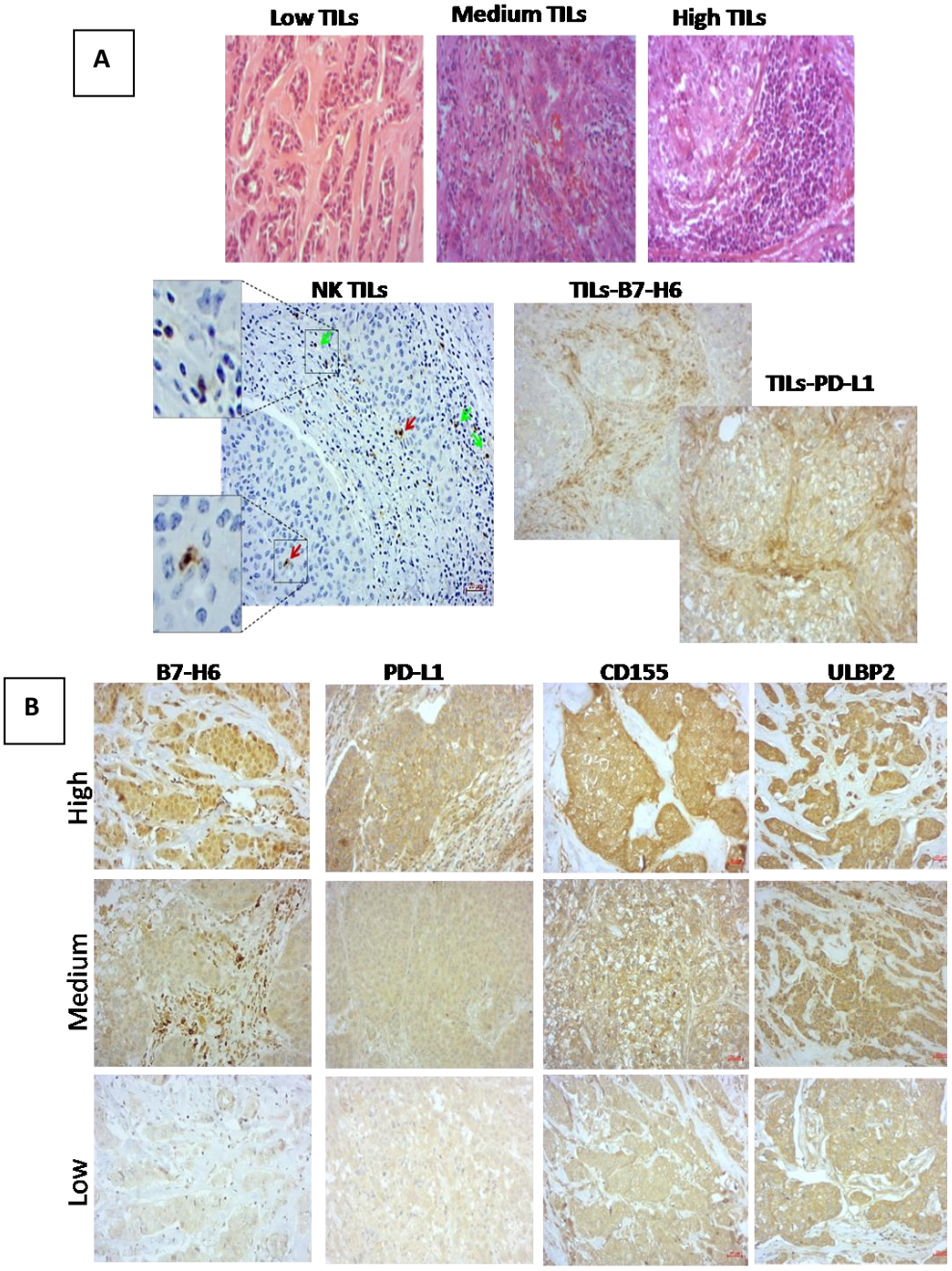


Figure 2 : (A) Images illustrant le microenvironnement tumoral de point de vue infiltration globale, densité des cellules NK et expression des molécules B7-H6 et PD-L1 par les cellules immunitaires dansle stroma tumoral. (B) Images représentatives de l'expression des immunocheckpoints molécules B7-H6, PD-L1, CD155 et ULBP2 au niveau des tissus de cancer de sein.

PROJET 3 : Application des technologies numériques pour la valorisation des approches génomiques au profit de la santé du citoyen

Nom du responsable : Prof. Ahmed REBAI

Membres impliqués : Prof. Saber Masmoudi , Dr Najla Kharrat (MA habilitéé) , Dr Mariem Ben Said (MA) , Dr Imen Ayadi (MA) , Triki Soumaya (MA) , Belmabrouk Sabrine(PostDoc), Faten Rmida(PostDoc), Amal,Bouzid(PostDoc), Rayda Ben Ayed(PostDoc), Riadh Ben Marzoug(Ing.) et Hela Gargouri (Ing.)

Doctorants mobilisés : Nadia Ayadi, Ikhlas Ben Ayed et Amal Souissi

À l'ère de l'économie numérique, biologists, bioinformaticiens et informaticiens interagissent de façon dynamique pour organiser et traiter les donnéesbiologiques et déterminer leurs valeurs d'usage : clinique, scientifique, économique, etc.

Durant le précédent contrat-programme et dans le cadre du projet PRF2017D3P1, nous nous sommes intéressé au développement d'une plateforme Big Data nationale de profils allergiques des consommateurs tunisiens et des contenus en allergènes de produits alimentaires distribués en Tunisie. A la fin de ce projet PRF, il est prévu de mettre à disposition du consommateur une application mobile (AllergieAlert) qui permet d'alerter le consommateur pourprévenir la consommation de produits pouvant lui occasionner des réactions allergiques. Dans le cadre de ce contrat programme,nous avons également entamé une étude bioinformatique des allergies croiséesdont les causes peuvent être des molécules de structures semblables ou des mécanismes immunitaires communs aux types d'allergies.

La performance de notre équipe dans l'utilisation des techniques de séquençage haut débit durant le précédent contrat programme et la quantité énorme des données produites ont démontré le besoin de développer notre propre **Base de données de variants génomiques de la population tunisienne** afin d'améliorer tous les aspects de gestion des données (stockage, transfert, compression, sécurisation, interprétation…). Ainsi, durant la première année de ce contrat programme, nous avons mis en place une base de données NOSQL adaptée aux contraintes Big Data. Cette base comporte un module de filtration de variants génomiques. Au cours de la deuxième année, cette base sera alimentée par l'ensemble des données générées à partir des exomes cliniques ou le séquençage ciblé de panel de gènes.

En continuité avec diverses actions précédentes et projets nationaux du laboratoire, nos données génomiques générées seront confrontées avec des données faciales pour la **Caractérisation par la génomique des caractères visibles du visage et de la dysmorphie faciale.** Dans ce cadre, nous avons participé au développementd'un premier prototype d'un algorithme de reconnaissance faciale , basé sur l'apprentissage profond (architecture de réseau de neurones Convolutionnaires (ResNet) en partenariat avec l'équipe de ReGIM-Lab), pour trois syndromes génétiques avec une bonne discrimination (**Figure 3**).

Pour ce faire, nous avons utilisé les photos des patients dysmorphiques déjà caractérisés sur le plan génétique par séquençage haut débit par notre laboratoire (Ben Ayed et al. Am J Med Genet 2021). Au cours de la deuxième année, nous envisageons d'élargir la liste de syndromes dysmorphiques dépistés par cet algorithme en enrichissant la base avec de nouveaux cas confirmés sur le plan moléculaire. De même, nous projetons le développement d'un prototype d'une application mobile de cet algorithme qui pourra être utilisée par les médecins de première ligne. Cette application pourra rapprocher le service sanitaire des régions rurales permettant d'améliorer la sensibilité du dépistage des syndromes génétiques et de proposer ainsi une prise en charge précoce et adaptée pour le patient et sa famille.

Les bases de données et les applications générées dans le cadre de ce projet pourraient faire l'objet de protection de la propriété intellectuelle (brevet, copyright).

En harmonie avec les activités de nos trois projets, nous avons mis à dispositionnotre expertise en technologie cellulaire, en génomique et en bioinformatique pour participer à l'effort national de lutte contre la pandémie **COVID19**. A travers sa contribution dans deux projets PRF, notre laboratoire participera au développement d'un kit de diagnostic et d'un outil d'aide à la décision thérapeutique. Le

laboratoire a déjà effectué le séquençage du génome SarsCov2 d'une trentaine d'échantillons révélant différentes souches circulant en tunisie, leurs pouvoirs pathogène et de réinfection.

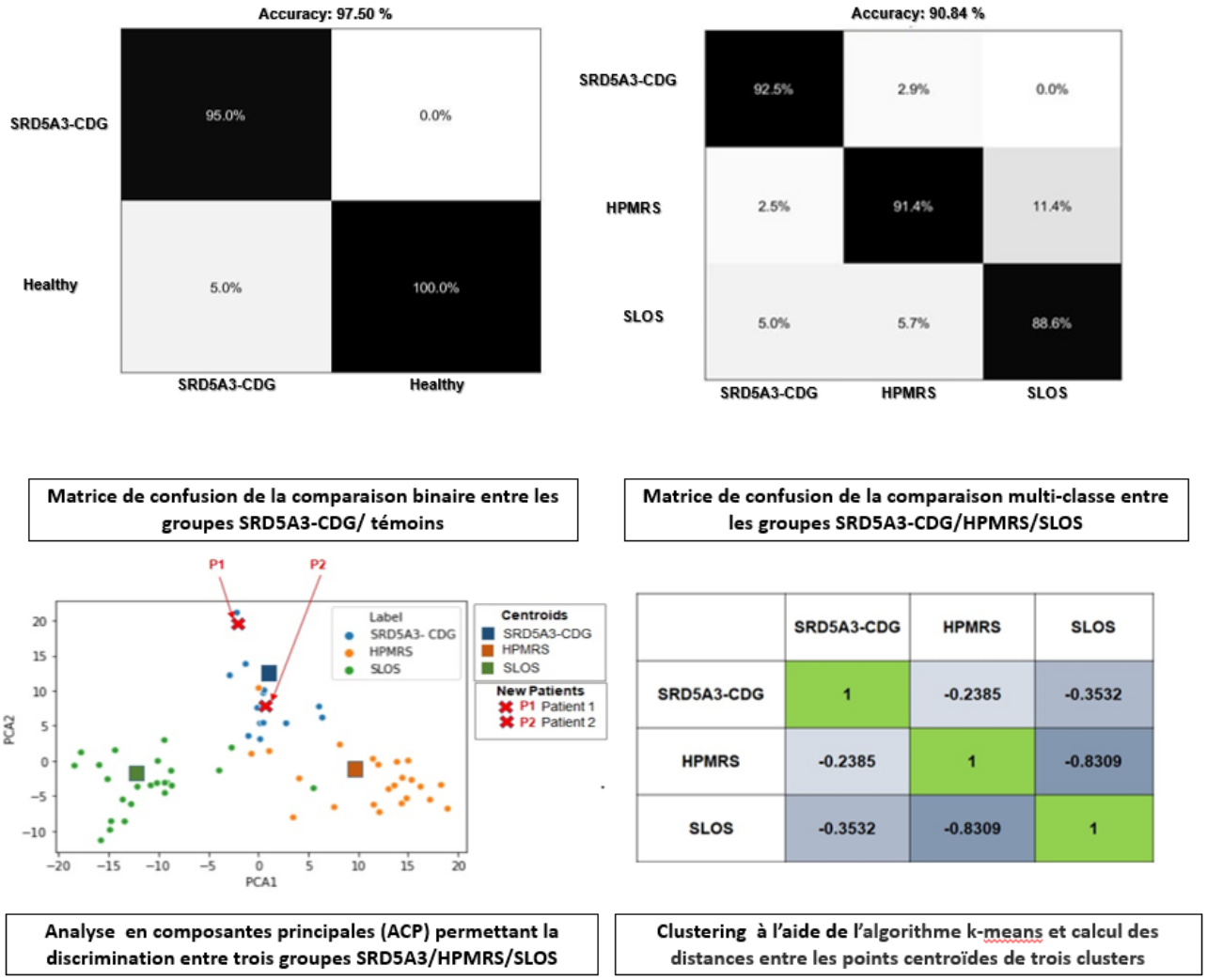


Figure 3 : Développement d'un logiciel automatisé basé sur l'intelligence artificielle pour la reconnaissance faciale du syndrome SRD5A3-CDG (figure modifiée de Ben Ayed et al .2021).

TABLEAU RECAPITULATIF DES ACTIVITES

Article impacté	Brevet	Habilitation Soutenu	Thèse soutenue	Mastère soutenu	Projet national et international
16	0	1	1	4	8

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Liste de Publications parues en 2020 avev les quartiles (en gras chercheurs membres du laboratoire)

Liste des articles impactés (JCR)	*Q score (WOS)*
1- Tekari A, Egli RJ, Schmid V, Justiz J, Luginbuehl R. A Novel Bioreactor System Capable of Simulating the *In Vivo* Conditions of Synovial Joints. Tissue Eng Part C Methods. 2020 Dec;26(12):617-627. https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2020.0161.PMID: 33267725 ISSN / eISSN: 1937-3384 / 1937-3392	***Q2*** ***2.608***
2- Amal Bouzid, Asmaa T Uthman, Noor N Al-Rawi, Natheer H Al-Rawi. Neutrophil Extracellular Traps in Coronavirus Infection: Interaction Network Analysis. Sys Rev Pharm 2020;11(11):1091-1101	***Q2 (Scimago)***
3- Romdhane L, Bouhamed H, Ghedira K, Ben Hamda C, Louhichi A, Jmel H, Romdhane S, Charfeddine C, Mokni M, Abdelhak S, Rebai A. The morbid cutaneous anatomy of the human genome revealed by a bioinformatic approach. Genomics. 2020 Nov;112(6):4232-4241. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.07.009.PMID: 32650097 ISSN / eISSN:0888-7543 / 1089-8646	***Q1*** ***6.205***
4- Nawel Jemil, Manel Ouerfelli, María Pilar Almajano, Jihene Elloumi-Mseddi, Moncef Nasri, Noomen Hmidet. The conservative effects of lipopeptides from Bacillus methylotrophicus DCS1 on sunflower oil-in-water emulsion and raw beef patties quality. Food Chem. 2020 Jan 15;303:125364. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125364. ISSN / eISSN:0308-8146 / 1873-7072	***Q1*** ***6.306***
5- Hansdah K, Singh N, Bouzid A, Priyadarshi S, Ray CS, Desai A, Panda KC, Choudhury JC, Biswal NC, Tekari A, Masmoudi S, Ramchander PV. Evaluation of the Genetic Association and mRNA Expression of the *COL1A1*, *BMP2*, and *BMP4* Genes in the Development of Otosclerosis. Genet Test Mol Biomarkers. 2020 Jun;24(6):343-351. https://doi.org/10.1089/gtmb.2019.0235.PMID: 32379989 ISSN / eISSN:1945-0265 / 1945-0257	***Q4*** ***1.346***
6- Bouzid A, Tekari A, Jbeli F, Chakroun A, Hansdah K, Souissi A, Singh N, Mosrati MA, Achour I, Ghorbel A, Charfeddine I, Ramchander PV, Masmoudi S. Osteoprotegerin gene polymorphisms and otosclerosis: an additional genetic association study, multilocus interaction and meta-analysis. BMC Med Genet. 2020 Jun 3;21(1):122. https://doi.org/10.1186/s12881-020-01036 8.PMID: 32493243	***Q4*** ***1.585***
7- Choura M, Rebaï A. The disordered charged biased proteins in the human diseasome. Interdiscip Sci : Computational Life Sciences. 2020 Mar;12(1):44-49. https://doi.org/10.1007/s12539-019-00315-0. PMID: 30635905 ISSN / eISSN:1913-2751 / 1867-1462	***Q3*** ***1.512***
8- Choura M, Rebaï A, Hanin M. Proteome-wide analysis of protein disorder in Triticum aestivum and Hordeum vulgare. Comput Biol Chem. 2020 Feb;84:107138.	***Q3*** ***1.850***

https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2019.107138. PMID: 31767506 ISSN / eISSN:1476-9271 / 1476-928X	
9- Louati I, Elloumi-Mseddi J, Cheikhrouhou W, Hadrich B, Nasri M, Aifa S, Woodward S, Mechichi T. Simultaneous cleanup of Reactive Black 5 and cadmium by a desert soil bacterium. Ecotoxicol Environ Saf. 2020 Mar 1;190:110103. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110103.PMID: 31887707 ISSN / eISSN:0147-6513 / 1090-2414	***Q1*** ***4.872***
10- Ayadi M, Martins V, Ben Ayed R, Jbir R, Feki M, Mzid R, Géros H, Aifa S, Hanana M. Genome Wide Identification, Molecular Characterization, and Gene Expression Analyses of Grapevine NHX Antiporters Suggest Their Involvement in Growth, Ripening, Seed Dormancy, and Stress Response. Biochem Genet. 2020 Feb;58(1):102-128. https://doi.org/10.1007/s10528-019-09930-4.PMID: 31286319 ISSN / eISSN:0006-2928 / 1573-4927	***Q2*** ***Q4*** ***2.027***
11- Rigane G, Yahyaoui A, Acar A, Mnif S, Salem RB, Arslan D. Change in some quality parameters and oxidative stability of olive oils with regard to ultrasound pretreatment, depitting and water addition. Biotechnol Rep (Amst). 2020 Feb 24;26:e00442. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00442. eCollection 2020 Jun.PMID: 32181152 ISSN / eISSN:2215-017X	***Q1***
12- Baanannou A, Rastegar S, Bouzid A, Takamiya M, Gerber V, Souissi A, Beil T, Jrad O, Strähle U, Masmoudi S. Gene duplication and functional divergence of the zebrafish otospiralin genes. Dev Genes Evol. 2020 Jan;230(1):27-36. https://doi.org/10.1007/s00427-019-00642-8.PMID: 31838648 ISSN / eISSN:0949-944X / 1432-041X	***Q4*** ***1.339***
13- Kharrat N, Abdelhedi R, Gtif I, Ayadi I, Rizzo R, Bortolotti D, Abdelmoula NB, Ghribi F, Rebai A, Zidi I. Non-classical human leukocyte antigen class I in Tunisian children with autism. Cent Eur J Immunol. 2020;45(2):176-183. https://doi.org/10.5114/ceji.2020.97906. PMID: 33456328 ISSN:1426-3912 (Print) 1644-4124 (Electronic) 1426-3912 (Linking)	***Q4*** ***1.415***
14- Hamdi K, Brini F, Kharrat N, Masmoudi K, Yakoubi I. Abscisic Acid, Stress, and Ripening (*Tt*ASR1) Gene as a Functional Marker for Salt Tolerance in Durum Wheat. Biomed Res Int. 2020 Jan 31;2020:7876357. https://doi.org/10.1155/2020/7876357. eCollection 2020.PMID: 32076614 ISSN / eISSN:2314-6133 / 2314-6141	***Q3*** ***2 .276***

15- Feki-Sahnoun, W., Njah, H., Hamza, A. Nouha Barraj, Mabrouka Mahfoudi, Ahmed Rebai & Malika Bel Hassen. Using a naive Bayes classifier to explore the factors driving the harmful dinoflagellate Karenia selliformis blooms in a southeastern Mediterranean lagoon. Ocean Dynamics 70, 897–911 (2020). https://doi.org/10.1007/s10236-020-01365-5 ISSN / eISSN:1616-7341 / 1616-7228	***Q3*** ***1.887***
16- Raja Amri, Slim Charfi, Mohamed Jemaà, Nabil Miled, Fathia Slimi, Mohamed Ali Rebai, Mayssa Abdelwahed, Hassib Keskes, and Sami Aifa. Significance of EGFR/HER2 Expression and PIK3CA Mutations in Giant Cell Tumour of Bone Development. BioMed Research International /Volume 2020 |ArticleID 2931784 | https://doi.org/10.1155/2020/2931784 ISSN / eISSN:2314-6133 / 2314-6141	***Q3*** ***2.276***
17- Sami Mnif, Marwa Jardak, Asma Yaich, Sami Aifa. Enzyme-based strategy to eradicate monospecies Macrococcus caseolyticus biofilm contamination in dairy industries. International Dairy Journal Volume 100, January 2020, 104560 https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104560 ISSN / eISSN:0958-6946 / 1879-0143	***Q2*** ***2.512***

FORMATION DIPLOMANTE

I/ Habilitations soutenues en 2020

Sami Mnif : Prévention et lutte contre les biofilms microbiens par des approches biotechnologiques. Soutenue le 14/11/2020 à l'Ecole Nationale des Ingénieurs de Sfax

II/ Thèses de doctorat soutenues en 2020

Mariam Moalla : Etude de la Génétique Molécualaire desPathologies Endocrinienne Monogéniques. Soutenue le 02/01/2020 à la Faculté des Sciences de Sfax

III/ Mastères de recherche soutenus en 2020

1. **Anafy Atoissi :** Inhibition du développement des biofilms bactériens par des approches biotechnologiques. Mastère en Biotechnologie Microbienne, Faculté des Sciences de Sfax.

2. **Fahmi Smaoui :** Développement de Nanoparticules ferromagnétiques Fonctionnalisées pour le Ciblage des Cellules Cancéreuses surexprimant l'EGFR. Mastère de recherche en génomique/protéomique, Faculté des Sciences de Sfax.

3. **Wirath Ben Ncir :** Identification de mutations responsables de maladies neurologiques en Tunisie moyennant le séquençage haut débit. Mastère de recherche en génomique/protéomique, Faculté des Sciences de Sfax.

4. **Syrine Nebli** : Exploration bioinformatique de cluster de charge dans les séquences protéiques des mitochondries chez les plantes. Mastère de recherche en Sciences Biomédicales ; Parcours 1 : Biothérapie, exploration fonctionnelle et maladie métabolique, Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis.

IV/ Projets de Fin d'études soutenus en 2020

1. **Safa Battikh:**. Etude de l'inhibition des biofilms bactériens. Licence en Biotechnologie. ISBS/Université de Sfax.

2. **Nessrine Hmani:** Contrôle des biofilms indésirables des industries agroalimentaires., Génie des Procédés , ISET.

3. **Houda Boudaya :** Outils bioinformatique pour le criblage de gènes humain impliqués dans la réponse au COVID19. Ingénieurat en génie biologique, ENIS/Université de Sfax.

4. **Fadoua Neifar:** Analyse de marqueurs génétiques de prédiction de couleurs des yeux à partir de l'ADN extrait d'écouvillons buccaux Licence en Biotechnologie, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax./ Universitéde Sfax.

SEMINAIRES, JOURNEES ET ATELIERS SCIENTIFIQUES EN 2020

1/ Une conférence: CYTOF Experimental Process. Visioconférence, **3 Novembre 2020**
2/ Un workshop "DrosAfrica Workshop: DROSOPHILA: A SIMPLE BUT POWERFUL MODEL FOR BIOMEDICAL RESEARCH. Visioconférence, **12-14 Octobre 2020**
3/ Un séminaire en neurogénétique. Visioconférence, **30 Septembre 2020**
4/ Journées scientifiques du printemps : Génomique et numérique au service de la sécurité et de la santé . Hotêl Tamaris Mahares, **7 Mars 2020**

7 Evènements organisés dans le cadre du projet SEED :

1. NGS Lecture Day : NGS For Clinical Diagnosis. Centre de Biotechnologie de Sfax , 31 Janvier 2020 National info day in collaboration with master degree of epilepsy in Sfax medicalschool. Faculté de Médecine de Sfax , **7-8 Février 2020**
2. Une demi-journée de discussion de cas clinique des patients EE. Centre de Biotechnologie de Sfax, **12 Mars 2020**
3. Une demi-journée pour H2020 post doctoral fellowships and opportunities for early stage researchers.Centre de Biotechnologie de Sfax, **30 Juin 2020**
4. Un workshop sur capacity building on NGS gene panel design. Visioconférence, **14-16 Octobre 2020**
5. Une session de Questions/Réponses au profil des participants du workshop capacity building on NGS gene panel design. Visioconférence, **26 Octobre 2020**
6. Visite du LPCMC et de la plateforme génomique au CBS. **27 Octobre 2020**
7. Organisation de plusieurs ateliers pratiques au sein du laboratoire LPCMC -CBS **, Novembre et Décembre 2020**

CONVENTIONS & PROJETS NATIONAUX EN COURS 2020

5 PROJETS PRF

1. Projet **PRF** :'PBMLT' : Plateforme Biométrique Multimodale de Prévention contre le Terrorisme
2. Projet **PRF** : 'PARADIS' : Plateforme d'Analyse BigData pour l'évaluation des Risques d'Allergies Alimentaires et d'aide à la DécISion pour le consommateur en Tunisie
3. Projet **PRF**2019-D3P3 : Reconnaissance faciale pour orienter la génomique et le diagnostic des dysmorphies en Tunisie
4. Projet **PRF** COV19-DDP2 : Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques
5. Projet **PRF** COV19-GP2 : Aide à la Décision basée sur l'Analyse des GEnomes chez des patients covid-19 tunisiens

1 PROJET PAQ COLLABORA

- Projet KAFSS : « Kits moléculaires et applications numériques de prédiction faciale et de dysmorphies à visée sécuritaire et en santé ».

ROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE EN COURS OU ACCEPTES EN 2020

1/ Projet bilatéral dans le cadre de la coopération Tuniso-Marocaine : « Caractérisation de l'architecture épidémio-génétique du cancer du sein en Afrique du Nord : Impact thérapeutique et socio-économique ».
2/ Projet de coopération multilatérale H2020- Twinning SEED : "Strengthening the Sfax university expertise for diagnosis and management of epileptic encephalopathies"

LR19CBS01 : Laboratoire des Biotechnologies Microbiennes et Enzymatiques et des Biomolécules (LBMEB)

مخبر بيوتكنولوجيا الأحياء الدقيقة و الأنزيمات و الجزيئات الفعالة

Responsable : Pr. Mamdouh BEN ALI
Email : mamdouh.benali@cbs.rnrt.tn

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Prénom et NOM	*Grade*
Mamdouh BEN ALI	Professeur
Samir BEJAR	Professeur
Lotfi MALLOULI	Professeur
Riadh BEN SALAH	Professeur
Bassem JAOUADI	Professeur
Mehdi ELARBI	Maître de conférences (ISBS)
Slim SMAOUI	Maître Assistant (habilité)
Nadia ZARAI-JAOUADI	Maître Assistante
Sonia JEMLI	Maître Assistante (FSS)
Monia BLIBECH	Ingénieur en Chef
Ines KARRAY	Ingénieur en chef
Monia MEZGHANI-ABID	Technicien en Chef
Adel HADJ IBRAHIM	Technicien principal
Bouteina Mnajja	Tech adjoint
Kameleddine BOUCHAALA	Assistant d'application principal
Fakher KAMOUN	Maître Assistant (ISBAM)
Mouna SAHNOUN	Post-Doc
Manel BEN ALI	Post-Doc
Fatma EL GHARBI	Post-Doc
Wassim BEJAR	Post-Doc (MOBIDOC)
Mouna BEN ELHOUL	Post-Doc (MOBIDOC)
Rihab AMERI	Post-Doc
Sahar TRABELSI	Thèse (Génie Biologique) (ENIS)
Sondes MECHRI	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Mouna JLIDI	Thèse (Génie Biologique) (ENIS)
Sawssan NEIFAR	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Maroua OMRANE-BEN MRAD	Thèse (Génie Chimique-Procédés) (ENIG)
Fatma ABDMOULEH	Thèse (Génie Biologique) (ENIS)
Sonia MHIRI	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Karima SALEM	Thèse (Génie Biologique) (ENIS)
Asmahen AKREMI	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Sondes HAMDI	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Ahlem DAB	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Wided BRABRA	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Fadoua JABEUR	Thèse (Sciences Agronomiques) (INAT)
Fakhreddine BEN AMARA	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)
Marwa KHALED	Thèse (Sciences Biologiques) (FSS)

OBJECTIFS GENERAUX ET SPECIFIQUES

Le laboratoire LBMEB-CBS, code LR19CBS01, a pour objectifs :

- La valorisation des agro ressources vers des produits à haute valeur ajouté comme le sirop de glucose et fructose, le tagatose, les cyclodectrines…

- L'amélioration des procédés industriels vers une industrie durable et protectrice de l'environnement (Protéases, kératinase, peroxydase, phages…)

- Combattre les superbugs ou les bactéries multirésistantes dans le domaine de l'élevage, et de la santé humaine à travers les probiotiques, les phages et les biomolécules antibactériennes

- L'amélioration de la conservation des aliments et le biocontrôle des agents d'altération des aliments à travers les bactéries (lactiques), les phages ; les enzymes (endolysine) et les molécules bioactives (bactériocines, polysccharides…)

- L'Amélioration des propriétés technologiques, alimentaires et organoleptiques des aliments par les enzymes (amylases, xylanases, transglutaminases) et les bactéries lactiques

- Le biocontrôle des agents phytopathogènes par les biomolécules, les bactéries (PGPR et PGPB) et les phages (Feu bactérien, biofilms…)

- L'amélioration de la digestibilité de l'alimentation animale et augmentation de l'absorption des nutriments (phytase, glucanase, mannanase…)

- L'Amélioration de la santé et de la croissance des plantes (biomolécules et bactéries)

LISTE DES PROJETS

1. **Projet 1**: Enzymes en Agroalimentaire et Alimentation Animale (Enzym-AAA) *(Responsable : S. BEJAR)*
2. **Projet 2:** Hydrolases et oxydoréductases microbiennes d'intérêts biotechnologiques vers une industrie respectueuse de l'environnement (P2/HOM-ENVI) (*Responsable :B.JAOUADI*)
3. **Projet 3:** Gestion des Nuisibles et des Performances en Elevage, Agroalimentaire et Agriculture, par les probiotiques, les phages, et les polysaccharides (GNP-EAA) (*Responsable R.BEN SALAH*)
4. **Projet 4:** Biomolécules pour des applications industrielles et agricoles (BAIA) (*Responsable L. MELLOULI)*

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

Projet 1: Enzymes en Agroalimentaire et Alimentation Animale (Enzym-AAA)

Responsable : Prof. Samir BEJAR

Membres impliquées : Prof. Mamdouh BEN ALI, Prof. Bassem JAOUADI, Dr. Sonia JEMLI Dr. Nadia ZARAI-JAOUADI, Dr. Rihab AMERI, Dr. Mouna SAHNOUN Dr. Rihab AMERI Dr. Fatma EL GHARBI Dr. Manel BEN ALI Dr. Lobna DAOUD Dr. Ines BOUKHRIS

Doctorants mobilisés : Mme Sahar TRABELSI, Mlle Sawssan NEIFAR, Mme Sonia MHIRI BEJAR et Mr Fakhreddine BEN AMARA

1.1. Achèvement de la séquence et annotation du génome de *Caldioprobacter Guelmensis*.

Nous avons planifié de séquencer les génomes de quelques souches extrêmophiles pour rechercher des enzymes extrêmophile, utile pour des applications industrielles.

La quasi-totalité de la séquence de la souche *Caldioprobacter Guelmensis* a été réalisé dans notre laboratoire par la technique NGS grâce au séquenceur du CBS Illumina MiSeq. L'achèvement de l'assemblage du génome ainsi que l'annotation fonctionnelle du génome entier a été réalisé en collaboration avec Dr Barriuso maicas, JORGE, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB Margarita

Salas, CSIC, Madrid Spain) dans le cadre d'une action Extreme-Cal-Alg-zymz du projet Européen IBISBA 1.0 T.N.A. Il est à signaler aussi que dans le cadre du même projet, la séquence d'une autre souche (*Caldiprobacter Algeriensis*: anaérobique et thermophile) est en cours de réalisation. L'analyse des données issues de ces séquences est en cours.

1.2. Xylanases pour différentes applications industrielles

Dans un travail antérieur, nous avons pu cloner et exprimer le gène qui code pour une xylanase à partir de la souche *Caldicoprobacter algeriensis (*XynBCA). La caractérisation de la XynBCA a montré que cette enzyme est thermostable et thermoactive. Le test de cette enzyme dans le bioblanchiment de la pâte à papier a montré qu'elle pourrait être une bonne candidate pour les industries de papier. La modélisation moléculaire de la XynBCA a

permis de révéler des résidus supplémentaires chargés à la surface de l'enzyme qui participent à la formation des liaisons hydrogènes et générer des ponts salins, contribuant ainsi à la stabilité thermique de l'enzyme.

Dans un autre volet, nous avons pu identifier et amplifier un autre ORF codant pour une xylanase à partir de la souche *Caldicoprobacter guelmensis*. Le clonage, l'expression et la caractérisation de cette xylanase est en cours.

1.3. Enzymes pour la production de sucres naturels à haut pouvoir sucrant et faible pouvoir calorifique

Dans un travail antérieur nous avons identifié, cloné, exprimé et caractérisé une Glucose isomerase thermophile dotée d'une efficacité catalytique très importante à partir de la souche *Caldiprobacter Algeriensis* (GICA). Nous avons également, immobilisé la GICA en utilisant des supports en polyméthacrylate (Sepabeads EC-EA et EC-HA), que nous avons exploité dans un processus continu de production de sirop à haute teneur en fructose (HFS). D'autre part nous avons identifié deux phases ouvertes de lecture « ORFs » susceptibles de coder pour des fucoses isomérases. Ces deux gènes ont été amplifiés et leur clonage et expression sont en cours de réalisation.

Dans un autre contexte et en collaboration avec l'équipe de l'Institut de catalyse et petrochimie de l'Espagne, nous avons développé un processus durable, composé en trois étapes, qui permettent la production du D-tagatose à partir de lactosérum. Dans la première étape, le lactosérum concentré contenant du lactose a été entièrement hydrolysé par la β-galactosidase de *Bifidobacterium bifidum*. Par la suite, le glucose a été sélectivement éliminé par fermentation de *Pichia pastoris*. Enfin, la L-arabinose isomérase US100 de *Bacillus stearothermophilus* a été utilisée pour isomériser le D-galactose en D-tagatose avec rendement de 33,3%, rapporté au D-galactose initial présent dans le lactosérum.

1.4 La CGTase US132 et ses applications

a) Application pour la production des cyclodextrines et leurs nanoparticules

Les nanoparticules à base de cyclodextrines est une technologie émergeante qui trouve un essor considérable permettant non seulement de contourner les problèmes liés à la faible solubilité et stabilité des molécules bioactives mais aussi d'améliorer leur diffusion contrôlée. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet intitulé : « Les cyclodextrines comme vecteurs d'encapsulation des molécules bioactives : production, purification et génération des nanoparticules » ; porté par Dr Sonia JEMLI (2020-2021). En 2020, nous avons amélioré la production de l'enzyme recombinante par un facteur de 20 fois pour atteindre 60 U/ml et ce, grâce à l'application de deux plans d'expériences (le plan Tagushi et le plan Box-Behnken). Nous avons également mis au point un procédé de valorisation de l'amidon de bonnes pureté et qualité à partir des pelures de pomme de terre. Cet amidon a été utilisé pour

optimiser la production des cyclodextrines par l'enzyme recombinante (CGTase US132) en utilisant une matrice de plan d'expériences Box-Behnken. Cette étude a permis d'atteindre une production des β-cyclodextrines de l'ordre de 67 g/l en utilisant l'amidon extrait des pelures contre seulement 49 g/l en utilisant l'amidon commercial. Par la suite, les β-cyclodextrines ont été purifiées à homogénéité grâce à la mise au point d'un protocole simple et n'intervenant pas les solvants organiques. L'ensemble de ces travaux ont fait l'objet d'un brevet d'invention national qui vient d'être déposé à l'INNORPI.

b) Application pour la synthèse de cyclodextrines modifiées virucides

Les cyclodextrines (CDs) modifiées par addition de ramifications sulfonatées ont été décrites en tant qu'agent virucide puissant. C'est dans ce cadre que nous avons eu l'accord de coordonner l'action 2 « CDs et Covid19 » du projet de recherche fédérée PRFCOV19-DDP219 « Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques ». Puisque nous maîtrisons actuellement les conditions de production et de purification des CDs, nous avons proposé en collaboration avec nos partenaires de générer des CDs modifiées par greffage de groupements sulfonatés liés à des chaines carbonées de diverses longueurs et ce, afin d'obtenir des agents antiviraux efficaces et à large spectre. Ces molécules seront testées pour leurs activités antivirales et cytotoxiques par une équipe spécialisée en virologie. Les molécules ainsi élaborées et testées seront intégrées dans des bains de bouche, des solutions nasales ou des gouttes oculaires en collaboration avec un partenaire industriel afin d'inhiber le SARS-CoV2 au niveau de ses portes d'entrée à l'organisme.

1.5 Production et utilisation de la transglutaminase dans des applications agroalimentaire

La transglutaminase est une aminoacyltransférase qui catalyse la formation de liaisons covalentes entre des groupes amine libres, des résidus de lysine, et le groupe gamma-carboxamide des résidus de glutamine. Les liaisons formées par la transglutaminase montrent une grande résistance à la protéolyse. Cette enzyme va être utilisée, en collaboration avec des industriels, pour produire de nouveaux produits alimentaires.

Cette action a abouti cette année à l'isolement le clonage et le début de séquençage de deux gènes de transglutaminases de deux *Bacillus* nouvellement isolés.

Projet 2: Hydrolases et oxydoréductases microbiennes d'intérêts biotechnologiques vers une industrie respectueuse de l'environnement (P2/HOM-ENVI)

Responsable du projet : Prof. Bassem JAOUADI

Chercheurs impliquées : Prof. S Bejar, Dr. N Zaraî Jaouadi, Dr. S Smaoui, F Kamoun, Dr. S Jemli, Dr. W Bejar, Dr. M Ben Elhoul, Dr. S Mechri & Dr M. Omrane Ben Mrad.

Doctorants mobilisés : F Jabeur, S Hamdi, A Dab & M Khaled.

Ce projet s'articule autour de deux thématiques d'enzymes microbiennes notamment les hydrolases et les oxydoréductases d'intérêts industrielles et environnementales.

1-1- Hydrolases bactériennes d'intérêts industrielles

Les hydrolases notamment les protéases, les kératinases, les chitinases, les amylases et les lipases représentent le groupe d'enzymes le plus commercialisé et utilisé en biotechnologie industrielle grâce aux avantages qu'elles présentent surtout dans la substitution des agents chimiques toxiques.

a) Criblage, identification et caractérisation biochimique et moléculaire des lipases microbiennes d'intérêts biotechnologiques

Dans ce travail, huit souches lipolytiques ont été retenues à partir d'une trentaine de souches thermophiles: *Melghirimyces algeriensis* NariEX^T gen. nov., sp. nov., ; *Melghiribacillus thermophilus* Nari2A^T gen. nov., sp. nov., ; *Melghirimyces thermohalophilus* sp. nov., Nari11A^T ; *Virgibacillus*

ainsalahensis sp. nov., MerV^T ; *Virgibacillus natechei* sp. nov., FarD^T ; *Hydrogenophilus hirshii* KB-DZ44 ; *Albidovulum inexpectatum* HB14 et *Anoxybacillus kamchatkensis* M1V. Nos résultats ont montré que la souche Nari2A^T présente une activité de 67 U/mL sur des triglycérides (TG) à chaîne longue (huile d'olive) comme substrat à pH 8 et 55°C. Alors que, les Nari EX^T, HB14, KB-DZ44 et MerV^T ont des activités maximales respectivement de 54, 35, 15 et 9 U/mL. La souche M1V, montre une préférence pour les TG à chaîne courte (tributyrine ou TC4) avec un niveau d'activité d'environ 22 U/mL. Par la suite, une purification à homogénéité d'une nouvelle lipase produite par la souche de Nari2A^T, nommée MTL, a été réalisée. Il s'agit d'une lipase monomérique de masse moléculaire d'environ 26 kDa qui présente une activité lipase spécifique maximale d'environ 2850 U/mg sur trioléine à pH 9 et à une température de 60°C. La MTL tolère le sel (NaCl) à une concentration de 5 M.

Cette enzyme appartient à la famille des lipases à sérine du fait qu'elle est inhibée essentiellement par l'inhibiteur des lipases, l'Orlistat, et par les inhibiteurs des hydrolases à sérine, le PMSF et le DFP. La thermoactivité et la thermostabilité de la MTL sont considérablement améliorées par le calcium à une concentration de 2 mM.

Cependant, le cadmium inhibe totalement cette activité enzymatique. Par ailleurs, une étude comparative avec d'autres lipases, montre que la MTL présente une stabilité remarquables, par rapport à l'enzyme commerciale la Lipolase® de *Thermomyces lanuginosus*, en présence de divers solvants organiques à 25% (*v*/*v*) en particulier en présence du DMSO, du DMF, du méthanol, d'éthanol, du cyclohexane, et d'*iso*-octane. La MTL présente une stabilité et compatibilité remarquable avec les détergents liquides et solides (Omino Bianco, Class, Dixan, Skip et Le Chat) par rapport à l'enzyme commerciale Lipolase®. Le gène *lipMT* codant la nouvelle lipase MTL a été cloné dans un vecteur de clonage.

Le séquençage et l'expression du gène *lipMT* sont en cours de réalisation. En conclusion, la MTL semble avoir les propriétés d'une lipase performante dans les détergents et qui peut en plus assurer la synthèse peptidique. Ainsi, il existe encore des possibilités d'amélioration, non seulement au niveau de la recherche d'autres souches bactériennes plus performantes, mais également au niveau de l'enzyme elle-même et ses caractéristiques biochimiques intrinsèques.

b) Exploitation de la kératinase recombinante rKERDZ dans le traitement des cuirs

Nous avons réalisé l'expression hétérologue du gène *kerDZ* codant pour la kératinase KERDZ produite par la souche *Actinomadura viridilutea* DZ50, isolée à partir d'un port de pêche situé à Stora (W. Skikda, Algérie), dans la souche *E.coli* BL21(DE3)pLysS via le vecteur pTrc99A générant le plasmide pMB12 qui est le plus adéquat pour une meilleure expression de la kératinase KERDZ recombinante (rKERDZ). La rKERDZ a été purifiée et caractérisée. L'application de la rKERDZ à l'échelle semi-industrielle (à la station d'essai de la société SO.SA.CUIR) est effectuée dans l'étape d'épilage-pelanage enzymatique lors du traitement du cuir sur des peaux brutes de chèvre adultes et de jeunes âges suivie de l'analyse par microscopie électronique à balayage de ces peaux de chèvre traitées. Ce travail a été réalisé à l'Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-Chimique (INRAP, Ariana, Tunisie). Ainsi, la rKERDZ est douée d'un potentiel kératinolytique important et elle pourrait être utilisée avec succès dans le traitement du cuir surtout qu'elle a montré un niveau d'épilage très remarquable sur des peaux brutes de chèvre, de vache, de lapin et de mouton.

c) Etude des nouvelles chitinases bactériennes ayant un intérêt environnemental

Des enzymes chitinolytiques bactériennes nommées ChiA-Ba43, ChiA-Pt70 et ChiA-Si40, produites et purifiées respectivement à partir des nouvelles souches *Bacillus altitudinis* KA15, *Paenibacillus timonensis* LK-DZ15 et *Shewanella inventionis* HE3. Elles s'agissent des enzymes monomériques avec des masses moléculaires de 40366,32, 70166,11 et 40,366.32 Da, respectivement.

Leurs puretés ont été également vérifiées par les séquençages de leur extrémité NH_2-terminale (27, 25 et 27 aa, respectivement), qui montrent des fortes homologies avec les chitinases de la famille GH-18 du genre *Paenibacillus*. L'optimum des activités chitinolytiques sont obtenu à pH 4-5,5 et à 85°C (ChiA-Ba43), à pH 4,5 et à 80°C (ChiA-Pt70) et à pH 4 et à 70°C (ChiA-Si40).

Les nouvelles chitinases ChiA-Pt70 et ChiA-Pt70 présentent des propriétés biochimiques intéressantes qui ont font des bonnes candidates pour la dégradation de coproduits à base de chitine (cas de la ChiA-Pt70) et comme agent bio-insecticide pour lutter contre l'insecte ravageur des céréales *Sitophilus granarius* (cas de la ChiA-Si43). Le gène *chiA*-Ba43 (1332 pb) codant pour ChiA-Ba43 (409 aa) a été cloné, séquencé et surexprimé chez *E. coli* HB101.

L'enzyme recombinante rChiA-Ba43 a été purifiée en utilisant la même stratégie que pour l'enzyme sauvage. Les valeurs optimales de pH et de température, ainsi d'autres paramètres physico-chimiques de la rChiA-Ba43 sont les mêmes que celles de l'enzyme sauvage. Ces propriétés font de l'enzyme ChiA-Ba43 une candidate idéale pour la bioconversion industrielle des déchets chitineux. La ChiA-Ba43 présente des propriétés biochimiques intéressantes et elle peut être appliquée comme agent bio-insecticide pour lutter contre l'insecte ravageur des céréales *Sitophilus granarius*.

d) Etude biochimique et moléculaires des nouvelles protéases bactériennes ayant un intérêt biotechnologique

Une souche bactérienne protéolytique nouvellement isolée à partir des sédiments de lac Oubeïra (W. El-Tarf) a été identifiée en tant que *Gracilibacillus boraciitolerans* LO15 moyennant les techniques de taxonomie classique et moléculaire. Une nouvelle protéase (nommée SAPGB) produite par cette souche a été purifiée et caractérisée. L'optimum de l'activité protéasique est obtenu à pH 10 et à 65°C. Il s'agit d'une enzyme monomérique d'une masse moléculaire de 30 kDa, appartenant à la famille des protéases à sérine du fait qu'elle est inhibée essentiellement par le PMSF et le DFP. La SAPGB présente une bonne efficacité catalytique, une stabilité importante en présence des différents solvants organiques et une excellente compatibilité avec les détergents liquides et solides. Ainsi, la nouvelle enzyme SAPGB semble être intéressante et pourrait être utilisée pour des applications biotechnologiques notamment dans la formulation des détergents commerciaux.

D'autre part, le gène *sapGB* a été cloné et exprimé dans *E. coli* BL21(DE3)pLysS. Les valeurs optimales de pH et de température, ainsi d'autres paramètres biochimiques de la SAPGB recombinante (rSAPGB) sont les mêmes que celles de l'enzyme sauvage. Le modèle 3D de la SAPGB a été établi par swiss-model en utilisant, comme matrice, la structure 3D de la subtilisine E (code PDB : 3WHI) de *Bacillus subtilis* subsp. str 168. Alternativement, nous avons réalisé l'expression hétérologue du gène *sapN* codant la subtilisine nommée SAPN, secrétée par la souche *Melghiribacillus thermohalophilus* Nari2A^T ge*n.* nov., sp. nov., isolée à partir de chott Melghir en Algérie, chez le système bactérie (*E. coli* BL21(DE3)pLysS) et levure (*P. pastoris* SMD1168 et X-33) afin de produire, éventuellement, cette enzyme à grande échelle. Ainsi, des constructions qui englobent le gène *sapN* codant pour l'enzyme SAPN avec le peptide signal et pro-peptide (SAPN + PS + Pro), la même enzyme dépourvue de son peptide signal (SAPN + Pro - PS) et l'enzyme dépourvue à la fois de son peptide signal et pro-peptide (SAPN - Pro - PS), ont été établies afin d'étudier l'effet combiné des séquences signales. La purification de l'enzyme recombinante et la détermination de ses paramètres biochimiques ont été également effectuées.

1-2- Oxydoréductases fongiques d'intérêts biotechnologiques et environnementales

Nous avons purifié et caractérisé quatre nouvelles peroxydases nommées MnP BA30 et LiP BA45 à partir de la souche de basidiomycète *Bjerkandera adusta* CX-9, LiP PR40 à partir de la souche d'agaricomycète *Phlebiaradiata* KB-DZ15 et MnP TP55 à partir de la souche de basidiomycète *Trametes pubescens* i8. Elles s'agissent de quatre protéines monomériques ayant, respectivement, des

masses moléculaires apparentes de 30, 45, 40 et 55 kDa et possèdent, respectivement, des valeurs de Reinheitzahl (RZ) de 2,1; 1,85, 2,81 et 1,71. Ces enzymes présentent des activités peroxydasiques révélées sur zymographie utilisant l'*o*-dianisidine. La caractérisation biochimique des enzymes purifiées nous a permis de conclure que les optima de pH et de température sont de 3 et 70°C (MnP BA30), 5 et 40°C (MnP TP55) sur 2,6-DMP et de 3 et 80°C (LiP PR40) et 4 et 50°C (LiP BA45) sur 2,4-DCP. Elles s'agissent des hémo-peroxydases qui catalysent l'oxydation d'une large gamme de substrats en présence de H_2O_2. Ces enzymes sont inhibées par l'azide de sodium (NaN_3) et le cyanure de potassium (KCN), ce qui indique la présence des composants de l'hème dans leur structure tertiaire. Les quatre enzymes obéissent à la cinétique de Michaelis-Menten et montrent des valeurs d'efficacité catalytique élevées de même que celles des peroxydases HaP4, LiP-SN et HRP. La MnP-TP55 active et stable en présence des agents oxydants et dénaturants et montre une compatibilité significative avec les détergents de lavage et donc pourrait être une candidate potentielle en détergence. Ainsi, l'utilisation de ces peroxydases devient une solution prometteuse et innovante qui permet de développer des procédés plus spécifiques, très sélectifs, moins polluants et d'effectuer les réactions dans des conditions plus douces.

Projet 3: Gestion des Nuisibles et des Performances en Elevage, Agroalimentaire et Agriculture, par les probiotiques, les phages, et les polysaccharides (GNP-EAA)

Responsable : Pr Riadh BEN SALAH
Chercheurs impliquées: Pr Mamdouh BEN ALI , Dr M. El Arbi, , Dr M. Ben Ali, Dr L. Daoud, Dr H. Hmani et Dr Rania Ghorbel. Dr. Imen TRABELSI Dr. Sérine BEN SLIMA Dr. Manel BEN ALI Dr. Lobna DAOUD Dr. Rania GHORBEL
Doctorants mobilisés: A. Hadj Brahim, F. Abdmouleh, A. Akremi et Wided BRABRA

A l'échelle laboratoire le polysaccharide, nommé PSL, a été extrait et purifié à partir des feuilles de *Laurus nobilis*
Les résultats trouvés montrent que:

- Le polysaccharide extrait à l'aide de l'eau produit une poudre de couleur vert clair.
- L'analyse du spectre UV et FTIR permet d'identifier l'extrait purifié comme étant un polysaccharide.
- L'analyse par CCM et par HPLC montre que le PSL est un hétéropolysaccharide composé de fructose, mannose et galactose
- La masse moléculaire de PSL est égale à 43,37 kDa.
- Le PSL possède une importante activité antioxydante.
- Le PSL possède une bonne capacité de rétention d'eau ainsi qu'une bonne propriété émulsifiante

Ce polymère (PSL) purifié a été utilisé, *in vitro* à fin d'étudier les propriétés biologiques et techno-fonctionnelles et *in vivo* dans le traitement des plaies aigues sur des modèles de rats Wistar diabétique.

A la lumière des résultats obtenus concernant l'activité antioxydant du PSL évaluée *in vitro* moyennant cinq tests (test au DPPH, test au DPPH, test du pouvoir réducteur, test du pouvoir chélateur, et test d'activité antioxydant total), il ressort que ce biopolymère apporte un potentiel antioxydant à différents niveaux. Ainsi le PSL semble être une source prometteuse d'agents antioxydants, pouvant exercer un effet protecteur contre le stress oxydant. De l'étude de ses propriétés fonctionnelles, il ressort que le PSL possède une bonne capacité de rétention d'eau et d'huile ainsi qu'une intéressante propriété émulsifiante vis-à-vis de l'huile de maïs.

L'évaluation de l'effet de PSL dans la cicatrisation des plaies mécaniques chez des rats diabétiques montre que ce polymère possède une activité cicatrisante comparable au médicament et

plus rapide que les autres traitements. Donc ce polymère est prometteur pour une éventuelle application pharmaceutique.

L'incorporation de ce polysaccharide PSL dans les produits de charcuterie, des crèmes et les produits de la pâtisserie tunisienne, en éliminant les antioxydants synthétiques, montrent que le PSL possède une activité antmicrobienne et antioxydante importante.

Projet 4: Biomolécules pour des applications industrielles et agricoles (BAIA)

Responsable : Prof. Lotfi MELLOULI

Membres impliquées : Dr. Slim SMAOUI (M.A. habilité), Dr. Nedia ZARAI-JAOUDI (M.A), Mme Ines KARRAY-REBAI (Ing. en chef), Dr. Ahlem CHAKCHOUK-MTIBAA (PostDoc), Dr. Imen SELLEM (PostDoc)

Doctorants mobilisés: Mme Mariam FOURATI (Doctorante), Mme Khaoula ELHADEF (Doctorante)

L'objectif global de ce projet de recherche est:

- Développement de biomolécules pures et d'extraits bioactifs naturels à partir de microorganismes et de plantes pour des utilisations en agriculture (lutte biologique) et dans l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique.
- Développement de nouveaux composés biologiquement actifs par synthèse chimique. Cette partie de recherche est réalisée en collaboration avec des collègues chimistes.
- détection et analyse de clusters de gènes impliqués dans les voies de biosynthèse de quelques métabolites secondaires biologiquement actifs à partir de bactéries actinomycètes du genre *Streptomyces*.

1. Biomolécules à partir de microorganismes

1.1. Champignons

- Optimisation de la production de l'acide gibbérellique (GA3) à partir d'un champignon, *Fusarium oxysporum*, en fermentation solide (SSF) en utilisant le design Plackett-Burman et le plan expérimental Box-Behnken. Dans les conditions optimisées, le rendement en GA3 (7,14 g / kg) est de 2,62 fois plus élevé que celui en conditions initiales (2,72 g / kg). L'extrait brut riche en GA3 obtenu par SSF a été utilisé pour étudier son rôle contre l'effet néfaste de la salinité du sol sur les plantes de tomates. L'application de GA3 à (10^{-6} M) sous stress salin de (100 mM) améliore la croissance (hauteur de la plante) et les paramètres physiologiques (la chlorophylle totale, la teneur en amidon et en proline) de la tomate.

- Amélioration de la production de la glucose oxydase (GOD) à partir de mutants du champignon *Aspergillus tubingensis* CTM 507. Ces mutants sont obtenus par mutagenèse aléatoire en utilisant des méthodes chimiques et physiques. Quelques mutants ont été sélectionnés pour leur surproduction de la GOD. Suite à des tests de cytotoxicité, nous avons constaté que cette enzyme présente un effet antiparasitaire contre le lépidoptère *Ephestia kuehniella*.

1.2. Biomolécules à partir de bactéries lactiques

Nous avons testé in *vivo* (sous serre) le surnageant bioactif semi purifié de la souche de bactérie lactique YB1 sur des plantules d'oliviers. Cette souche a été sélectionnée dans des travaux antérieurs pour ses activités biologiques antibactériennes et antifongiques notamment contre le phytopathogène *Verticillium dahlia* (*V. dahlia*) qui attaque l'olivier. Ces activités biologiques sont dues à la bactériocine BacYB1. Les plantules d'oliviers sont infectées artificiellement par *V. dahlia* et nous avons suivi l'effet de BacYB1 sur la croissance des plantules d'oliviers d'une part en présence et en absence du phytopathogène, et d'autre part en absence et en présence du produit nutritionnel organique Humivital. Ce composé organique est commercialisé par la société Vitalag.

Nous avons subdivisé les plantules d'oliviers en dix groupes qui sont: (CM) contrôle malade ; (CS) contrôle sains ; (TPSYB1) traitement préventif avec le surnageant de YB1 ; (TPH) traitement préventif

avec Humivital ; (TCSYB1) traitement curatif avec surnageant YB1 ; (TCH) traitement curatif avec Humivital ; (TPSYB1H) traitement préventif avec le surnageant de YB1 et Humivital ; (TCSYB1H) traitement curatif avec le surnageant de YB1 et Humivital ; (TSYB1) traitement avec le surnageant de YB1 et (TH) traitement avec Humivital.

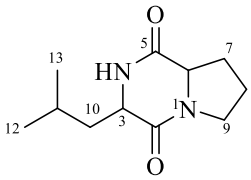
Les meilleurs résultats morphologiques et physiologiques sont obtenus avec le lot (TPSYB1H) c.a.d traitement préventif des plantules d'oliviers en présence du surnageant de la culture de la souche YB1 et de l'additif organique Humivital.

1.3. Biomolécules à partir de Streptomyces

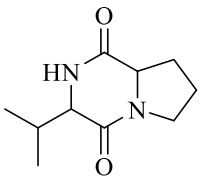
Une souche d'actinomycète désignée TN638, isolée du sol Tunisien a été sélectionnée pour ses activités antimicrobiennes et elle a été identifiée par des moyens morphologiques et moléculaires comme étant une nouvelle espèce du genre *Streptomyces*. L'analyse phylogénique a montré que la souche la plus apparentée à TN638 est *Streptomyces cavourensis* (*S. cavourensis*) NRRL 2740T et par conséquent nous avons baptisé la souche TN638 comme étant *Streptomyces cavourensis* sp. TN638 (*S. cavourensis* sp. TN638).

A partir d'une culture en milieu semi-solide (SSF) de cette souche nous avons purifié (en utilisant différentes techniques chromatographiques) sept biomolécules (**M1-M7**) qu'on a caractérisé chimiquement par le biais de plusieurs techniques spectroscopiques. Ces molécules sont (**Fig. 1**): **M1** Cyclo- (Leu-Pro) ; **M2** Cyclo- (Val-Pro) ; **M3** Cyclo- (Phe-Pro) ; **M4** nonactine ; **M5** monactine ; M6 dinactine et **M7** trinactine.

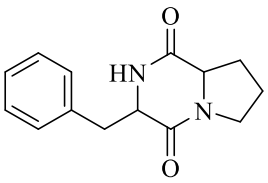
Les quatre macrotétrolides pures (**M4-M7**) présentent une forte activité antibactérienne contre les bactéries à Gram$^+$ et à Gram$^-$ notamment contre *A. tumefaciens* et *S. typhimurium* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) similaire à celle de l'ampicilline.



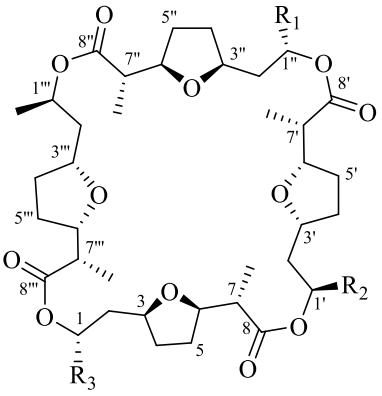
M1



M2



M3



	R_1	R_2	R_3
4	Me	Me	Me
5	Me	Me	Et
6	Et	Me	Et
7	Et	Et	Et

Fig. 1. Structure chimique de M1-M7

2. Biomolécules à partir de plantes

Les connaissances actuelles sur quelques espèces de plantes Tunisiennes sont limitées et les recherches relatives n'étaient que purement descriptives. D'autre part, une attention particulière a été portée à l'utilisation et l'application des extraits de plantes dans le domaine alimentaire. Ainsi, durant l'année 2020, notre intérêt a été porté vers les molécules bioactives de la plante d'*Ephedra alata* en vue d'une meilleure valorisation alimentaire. Nous nous sommes intéressés à : (i) étudier l'effet de la distribution géographique des plantes, appartenant à différents zones de la Tunisie, sur diverses activités biologiques (ii) évaluer le potentiel biologique et (iii) les valoriser dans la conservation des viandes établissant des relations entre l'évolution des changements physicochimiques et microbiologiques, qualités sensorielles et profils texturales des viandes traités.

Dans une première partie, des échantillons de plantes d'*Ephedra alata* ont été collectés de différentes zones géographiques tunisiennes (Le Kef, Kasserine, Sousse, Sfax, Djerba, Gafsa et Tataouine). La quantification des composés des teneurs en polyphénols totaux (TFC), en flavonoïdes (TFC) et en anthocyanes (TAC) sont déterminés. Egalement les activités (antioxydantes et antibactériennes) ont été évaluées.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'influence des facteurs environnementaux sur la variabilité des contenus phytochimiques. Pour chaque solvant et chaque zone de collecte d'échantillon d'*E. alata*, l'analyse de régression linéaire multiple utilisant TPC, TFC et TAC comme variables dépendantes a été réalisée. Les facteurs environnementaux (altitude, précipitations annuelles moyennes (PAA), humidité relative (HR) et température annuelle moyenne (TAA)) ont été considérés comme des variables indépendantes. L'analyse de régression linéaire multiple a révélé une forte corrélation (R^2> 74,49) entre le contenu phytochimique et tous les paramètres. Cela a montré que ces quatre facteurs avaient une corrélation plus forte avec la variance du contenu phytochimique dans chaque emplacement des échantillons d'*E. alata*.

- ☑ Effet de de l'altitude sur le contenu phytochimique : Nous avons démontré que la haute altitude a agi positivement sur TPC et TFC des régions de Gafsa, Kasserine et Le Kef (ayant une altitude supérieure à 518 m).

- ☑ Effet de PAA sur le contenu phytochimique : Nous avons signalés que Le TPC était négativement corrélé au PAA. Aux niveaux élevés (595 et 590 mm) pour Le Kef et Sousse, les coefficients de régression étaient inférieurs à ceux des autres zones.

- ☑ Effet de TAA sur et contenu phytochimique : TPC, TFC et TAC étaient directement liées à l'augmentation de TAA, principalement pour Tataouine (21,58 °C), Djerba (20,8 °C) et Sfax (20,03 ° C).

Dans une deuxième partie, nous avons analysé, par de corrélation entre le contenu phytochimique, les activités bactériennes antioxydantes et antibactériennes. C'est par le biais des approches chimiométriques (analyse des composants principaux (PCA) et analyse de groupe hiérarchique (HCA)) que les corrélations sont élaborées.

EtOAc (Solvant 1) : Un regroupement clair d'échantillons était observable en fonction de l'origine géographique : 3 groupes peuvent être distingués indépendamment. En effet, le premier groupe est composé des populations de Sousse (Sousse 1), Djerba (Djerba 1) et Le Kef (El Kef 1) qui se caractérisent par des teneurs élevées en TFC et TPC et une activité DPPH équilibrée. Le deuxième groupe comprenait Gafsa (Gafsa 1), Sfax (Sfax 1) et Kasserine (Kass1), qui ont des activités contre anti-*S. aureus* les plus élevés. Dans ces trois régions, nous avons illustré le même AAT pour Sfax et Gafsa, et la même altitude dans les sites de Kasserine (707 m) et Gafsa (721 m). Enfin, le dernier groupe est constitué par l'extrait de Tataouine EtOAc (Tat1) qui était caractérisé par une teneur élevée

en TPC, TAC et une importante activité antibactérienne. Ici, nous notons que Tataouine est située au sud-est de la Tunisie, présentait les plus faibles: AAP (127,38 mm) et HR (44,7%), et les AAT les plus élevées (21,58 ° C).

EtOH (Solvant 2) : Trois groupes peuvent être distingués indépendamment des extraits étahnoliques d'*E. alata*. Le premier groupe était composé de (Djerba2, Le Kef2, Sousse2 et Gafsa2). Il est à noter que Sousse, Gafsa et Djerba sont caractérisées par les mêmes AAT (19,78 ° C (Sousse), 19,87 ° C (Gafsa) et 20,8 ° C pour Djerba). Le deuxième groupe a impliqué Sfax2 et Kasserine2, qui ont le TPC et le TAC équilibrés avec une haute activité antioxydante (DPPH et de β-carotène). Le dernier groupe est également constitué par Tataouine qui se caractérisait par une forte teneur en TFC avec une forte activité antibactérienne et antioxydante (ABTS)

Eau (Solvant 3) : Quatre groupes ont pu être distingués indépendamment des extraits aqueux d'*E. alata*. Avec les plus hauts niveaux d'activité TPC et DPPH, Kass3, Gafs3 et Djerba3 ont été regroupés. Le deuxième cluster regroupe des échantillons de Sfax et de Tataouine qui sont caractérisées par des niveaux élevés de TPC, TFC et activités antibactériennes importantes. En effet, Sfax et Tataouine ont les mêmes AAP et AAT. Le troisième groupe : El Kef qui est caractérisée par un β-carotène élevé avec un niveau modéré de TFC. Cette région, située au nord-ouest de la Tunisie, a le PAA le plus élevé et le TAA la plus basse. Enfin, le quatrième cluster est constitué par l'extrait aqueux de Sousse (Souss3) qui était caractérisé par un TAC élevé et une activité ABTS élevée. Nous avons noté que Sousse, située dans le centre-est de la Tunisie, présentait le PAA (590,81 mm) et HR (68,72%) les plus élevés

Dans une troisième partie, nous avons évalué l'effet conservateur des extraits aqueux d'*Ephedra alata* (EAE) à 0.156 (EAE1), 0.312 (EAE2) et 0.624% (EAE3) par comparaison avec le BHT sur la viande de bœuf hachée stockée pendant 21 jours à 4 °C. Pour cela, nous avons évalué l'évolution des paramètres microbiologiques, physico-chimiques et sensoriels. L'ajout d'EAE a été efficace (P <0,05) contre la prolifération de la microflore, a diminué de manière significative (P <0,05) la décoloration et l'oxydation des lipides / protéines, et a amélioré la stabilité des attributs sensoriels. L'évaluation des données expérimentales pour tous les échantillons de viande a été réalisée en appliquant des approches chimiométriques : PCA et HCA. Cette approche a montré que l'oxydation des lipides / protéines, les valeurs de couleur instrumentale (L*, a* et b*), la prolifération microbienne, les paramètres sensoriels et le temps de stockage (à 0, 3, 7, 10 et 14 jours) a permis une bonne discrimination des échantillons. Les données rapportées fournissent une approche pour renforcer l'interprétation de la qualité sensorielle et des attributs de couleur instrumentale, et comment ils sont causés par les dommages oxydatifs et les changements microbiologiques pendant 14 jours à 4°C.

Lors de cette deuxième partie, nous avons pu conclure l'extrait aqueux d'*Ephedra alata* peut être considéré comme un outil fort et prometteur pour une application future comme méthode sûre pour la conservation des produits à base de viande.

3. Molécules bioactives par synthèse chimique

Pour combattre le problème de la résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques communément utilisés, il est indispensable de développer des nouvelles molécules bioactives. Les nouveaux antimicrobiens, peuvent être recherchés à partir du milieu naturel (microorganismes et plantes), par semi-synthèse, par génie génétique et également par synthèse chimique totale. Dans ce cadre, et en collaboration avec des collègues chimistes, nous essayerons de développer quelques nouvelles molécules bioactives par voie chimique.

Quelques molécules nouvellement synthétisées chimiquement ont attiré notre attention pour leurs activités biologiques. Parmi ces molécules: le dichlorodi-[bis-1-(3,5-diméthylbenzyl)-3-(4-cyanobenzyl)-5,6-diméthylbenzimidazole-2ylidene]palladium (II), des complexes de ruthénium, des dérivés de carbènes hétoérocycliques et des dérivés de coumarines thiazoles.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

I/ Publications parues en 2020 dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture et à IF avec quartiles

1. Mhiri S, Bouanane-Darenfed A, Jemli S, Neifar S, Ameri R, Mezghani M, Bouacem K, Jaouadi B, Bejar S. (2020) A thermophilic and thermostable xylanase from *Caldicoprobacter algeriensis*: Recombinant expression, characterization and application in paper biobleaching. Int J Biol Macromol. 2020 Dec 1;164:808-817. ***(Q1)***
2. Neifar S, Cervantes FV, Bouanane-Darenfed A, Ben Hlima H, Ballesteros AO, Plou FJ, Bejar S.(2020) Immobilization of the glucose isomerase from *Caldicoprobacter algeriensis* on Sepabeads EC-HA and its efficient application in continuous High Fructose Syrup production using packed bed reactor. Food Chem. 2020 Mar 30;309:125710. PMID: 31704076. ***(Q1)***
3. Cervantes FV, Neifar S, Merdzo Z, Viña-Gonzalez J, Fernandez-Arrojo L, Ballesteros AO , Fernandez-Lobato M, Bejar S and Plou F J., A (2020) Three-Step Process for the Bioconversion of Whey Permeate into a Glucose-Free D-Tagatose Syrup Catalysts 2020, 10(6), 647; ***(Q2)***
4. Mechri S, Sellem I, Bouacem K, Jabeur F, Laribi-Habchi H, Mellouli L, Hacène H, Bejar S, Bouanane-Darenfed A and Jaouadi B (2020). Cleaner processing: A biological approach for valorisation of shrimp *Metapenaeus monoceros* by-product as a source of bioactive compounds. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (2020) 15842-15855. ***(Q2)***
5. Mechri S, Sellem I, Bouacem K, Jabeur F, Chamkha M, Mellouli L, Hacene H, Bejar S, Bouanane-Darenfed A and Jaouadi B. (2020) Antioxidant and enzyme inhibitory activities assessment of *Metapenaeus monoceros* by-product hydrolysates elaborated by purified alkaline proteases. *Waste and Biomass Valorization* 11 (2020) 6741–6755.***(Q2)***
6. Jabeur F, Mechri S, Kriaa M, GharbiI, Bejaoui N, Sadok S and Jaouadi B. (2020) Statistical experimental design optimization of microbial proteases production under co-culture conditions for chitin recovery from speckled shrimp *Metapenaeus monoceros* by-product. *BioMed Research International* 2020 (2020) Article ID 3707804. ***(Q2)***
7. Ouelhadj A, Bouacem K, Asmani K-L, Allala F, MechriS, Yahiaoui M and Jaouadi B (2020). Identification and homology modeling of a new biotechnologically compatible serine alkaline protease from moderately halotolerant *Gracilibacillus boraciitolerans* strain LO15. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161 (2020) 1456-1469. ***(Q1)***
8. Allala F, Bouacem K, Boucherba N, Mechri S, Kriaa M, Arkoub-Djoudi W, Azzouz Z, Benallaoua S, Hacene H & Jaouadi B & Bouanane-Darenfed A (2020). α-Amylase production by *Tepidimonas fonticaldi* strain HB23: Statistical optimization and compatibility study for use in detergent formulations. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (2020) 37164–37172.***(Q2)***
9. Asmani K-L, Bouacem K, Ouelhadj A, Yahiaoui M, Bechami S, Mechri S, Jabeur F, Kahina Taleb-Ait Menguellet & Jaouadi B (2020) . Biochemical and molecular characterization of an acido-thermostable endo-chitinase from *Bacillus altitudinis* KA15 for industrial degradation of chitinous. *Carbohydrate Research* 495 (2020), 108089.***(Q2)***
10. Laribi-Habchi H, Bouacem K, Jabeur F, Selama O, Mechri S, Yahiaoui M, Bouanane-Darenfed A & Jaouadi B (2020) . Characterization of chitinase from *Shewanella inventionis* HE3 with bio-insecticidal effect against granary weevil, *Sitophilus granarius* Linnaeus (Coleoptera: *Curculionidae*). *Process Biochemistry* 97 (2020) 222-233. ***(Q2)***
11. Mechri S, Sellem I, Bouacem K, Jabeur F, Laribi-Habchi H, Mellouli L, Hacène H, Bouanane-Darenfed A, Jaouadi B (2020). A biological clean processing approach for the valorization of

speckled shrimp Metapenaeus monoceros by-product as a source of bioactive compounds. *Environmental Science and Pollution Research*. February 2020. ***(Q2)***

12. Kaaniche F, Hamed A, Elleuch L, Chakchouk-Mtibaa A, Smaoui S, Karray-Rebai I, Koubaa I, Arcile G, Allouche N, Mellouli L* (2020). Purification and characterization of seven bioactive compounds from the newly isolated *Streptomyces cavourensis* TN638 strain via solid-state fermentation. *Microbial Pathogenesis* 142 (2020). ***(Q2)***
13. Sellem I, Chakchouk-Mtibaa A, Zaghden H, Smaoui S, Ennouri K, Mellouli L* (2020). Harvesting season dependent variation in chemical composition and biological activities of the essential oil obtained from *Inula graveolens* (L.) grown in Chebba (Tunisia) salt marsh. *Arabian Journal of Chemistry* (2020) 13, 4835-4845.***(Q1)***
14. Slimani I, Chakchouk-Mtibaa A, Al-Ayed A-S, Mellouli L, Özdemir I, Gürbüzd N and Hamdi N (2020). Synthesis, characterization, biological determination and catalytic evaluation of ruthenium (II) complexes bearing benzimidazole-based NHC ligands in transfer hydrogenation catalysis. *New Journal of Chemistry*, ***(Q1)***
15. Ben Rhouma M, Kriaa M, Ben Nasr Y, Mellouli L and Kammoun R (2020). A New Endophytic *Fusarium Oxysporum* Gibberellic Acid: Optimization of Production Using Combined Strategies of Experimental Designs and Potency on Tomato Growth under Stress Condition. *BioMed Research International* **.** ***(Q2)***
16. Elhadef K, Smaoui S, Ben Hlima H, Ennouri K, Fourati M, Chakchouk Mtibaa A, Sellem I, Mellouli L (2020). Chemometric multivariate analyses of phenolics and biological activities for characterization and discrimination of Tunisian *Ephedra alata*. *European Food Research and Technology*. ***(Q1)***
17. Elhadef K, Smaoui S, Fourati M, Ben Hlima H, Chakchouk Mtibaa A, Sellem I, Ennouri K and Mellouli L (2020). Review: A Review on Worldwide *Ephedra* History and Story: From Fossils to Natural Products Mass Spectroscopy Characterization and Biopharmacotherapy Potential. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2020. ***(Q1)***
18. Kriaa M, Boukedi H, Benrhouma M, Ben Nasr Y, Tounsi S, Mellouli L and Kammoun R (2020). Overproduction of Glucose Oxidase by *Aspergillus tubingensis* CTM 507 Randomly Obtained Mutants and Study of Its Insecticidal Activity against *Ephestia kuehniella*. *BioMed Research International* . ***(Q2)***
19. Bensalah D, Mnasri A, Chakchouk-Mtibaa A, Mansour L, Mellouli L and Hamdi N (2020). Synthesis and antioxidant properties of some new thiazolyl coumarin derivatives. green chemistry letters and reviews 2020, vol. 13, no. 2, 155–163. ***(Q2)***
20. Slimani I, Chakchouk-Mtibaa A, Mellouli L, Mansour L, Ozdemir I, Gürbüz N and Hamdi N (2020). Novel N-Heterocyclic Carbene Silver(I) Complexes: Synthesis, Structural Characterization, Antimicrobial and Cytotoxicity Potential Studies. J. Braz. Chem. Soc.***(Q3)***
21. Elhadef K, Smaoui S, Ben Hlima H, Ennouri K, Fourati M, Chakchouk- Mtibaa A, Ennouri M and Mellouli L (2020). Effects of *Ephedra alata* extract on the quality of minced beef meat during refrigerated storage: A chemometric approach. *Meat Science* V170. ***(Q1)***
22. Smaoui S, Ben Hlima H, Fourati M, Elhadef K, Ennouri K and Mellouli L (2020). Multiobjective optimization of *Phoenix dactylifera* L., seeds extraction : Mixture design methodology for phytochemical contents and antibacterial activity. *J. Food processing and preservation*. ***(Q2)***
23. Fourati M, Smaoui S, Ben Hlima H, Elhadef K, Chakchouk Mtibaa A and Mellouli L(2020). Variability in Phytochemical Contents and Biological Potential of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extracts: Toward a New Opportunity for Minced Beef Meat Preservation. *Journal of Food Quality* Volume 2020. ***(Q2)***

24. Fourati M, Smaoui S, Ben Hlima H, Elhadef K, Ben Braïek O, Ennouri K, Chakchouk Mtibaa A, and Mellouli L (2020). Bioactive Compounds and Pharmacological Potential of Pomegranate (*Punica granatum*) Seeds - a Review. Plant Foods for Human Nutrition. ***(Q2)***

25. Fourati M. Smaoui S, Ben Hlima H, Ennouri K, Chakchouk Mtibaa A, Sellem I, Elhadef K, and Mellouli L. (2020). Synchronised interrelationship between lipid/protein oxidation analysis and sensory attributes in refrigerated minced beef meat formulated with *Punica granatum* peel extract. International Journal of Food Science & Technology, 55(3), 1080-1087.***(Q1)***

26. Ben Braïek O, Smaoui S, Ennouri K, Ben Ayed R, Hani K, Mastouri M, and Ghrairi T (2020). In situ Listeria monocytogenes biocontrol and sensory attributes enhancement in raw beef meat by *Enterococcus lactis*. *Journal of Food Processing and Preservation.* ***(Q2)***

27. Boukhris I, Smaoui S, Ennouri K, Morjene N, Farhat-Khemakhem A, Blibech M, Alghamdi O-A, Chouayekh H. (2020). Towards understanding the antagonistic activity of phytic acid against common foodborne bacterial pathogens using a general linear model. *PloS one*, 15(4), ***(Q1)***

28. Bouaziz M-A, Bchir B, Chalbi H, Sebii H, Karra S, Smaoui S, Attia H, and Besbes S (2020). Techno-functional characterization and biological potential of Agave americana leaves: Impact on yoghurt qualities. Journal of Food Measurement and Characterization, 1-18.***(Q2)***

29. Ennouri K, Ben Ayed R, Ben Hlima H, Smaoui S, Gouiaa M, and Triki M-A (2020). Analysis of variability in *Pistacia vera* L. fruit genotypes based on morphological attributes and biometric techniques. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(5). ***(Q2)***

30. Karray A, Alonazi M, Smaoui S, Michaud P, Soliman D, and Ben Bacha A (2020). Purification and Biochemical Characterization of a New Protease Inhibitor from Conyza dioscoridis with Antimicrobial, Antifungal and Cytotoxic Effects. Molecules, 25(22), 5452. ***(Q1)***

31. Bouaziz M-A, Bchir B, Ben Salah T, Mokni A, Ben Hlima H, Smaoui S, and Besbes S (2020). Use of Endemic Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Seeds as an Insoluble Dietary Fiber: Effect on Turkey Meat Quality. Journal of Food Quality, 2020.***(Q2)***

32. Smaoui S, Ben Braïek O, and Ben Hlima H (2020). Mycotoxins Analysis in Cereals and Related Foodstuffs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Techniques. Journal of Food Quality, Volume 2020. ***(Q2)***

33. Ktari N, Bkhairia I, Nasri M, Ben Salah R (2020) Structure and biological activities of polysaccharide purified from Senegrain seed. International Journal of Biological Macromolecules, 144: 190-197.***(Q1)***

34. Trabelsi I, Ben Slima S, Ktari N, Bardaa S, Elkaroui K, Abdeslam A, Ben Salah R (2020) Purification, composition and biological activities of a novel heteropolysaccharide extracted from *Linum usitatissimum* L. seeds on laser burn wound. International Journal of Biological Macromolecules, 144: 781-790.***(Q1)***

35. Ktari N, Ben Slama-Ben Salem R, Bkhairia I, Ben Slima S, Nasri R, Ben Salah R, and Nasri M (2020). Functional properties and biological activities of peptides from zebra blenny protein hydrolysates fractionated using ultrafiltration. Food Bioscience 34 : 100539.***(Q1)***

36. Ben Slima S, Trabelsi I, Ktari N, Kriaa M, Abdeslam A, Ana Herrero M, Jimenez-Colmenero F, Ruiz-Capillas C, and Ben Salah R, (2020) Modeling the influence of functional additives in beef sausages using a Box-Benkhen design: Effects on quality characteristics. Food Bioscience 35 : 100572.***(Q1)***

37. Ben Hsouna A, Ben Saad R, Trabelsi I, Ben Romdhane W, Brini F, Ben Salah R, (2020) . A novel *Triticum durum* Annexin 12 protein: Expression, purification and biological activities

against *Listeria monocytogenes* growth in meat under refrigeration. Microbial Pathogenesis 143 :104143.***(Q2)***

38. Abouloifa H, Khodaei N, Rokni Y, Karboune S, Brasca M, D'Hallewin G, Ben Salah R, Saalaoui E, Asehraou A (2020). The prebiotics (Fructo-oligosaccharides and Xylo-oligosaccharides) modulate the probiotic properties of *Lactiplantibacillus* and *Levilactobacillus* strains isolated from traditional fermented olive. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 36: 174-185.***(Q2)***

39. Abouloifa H, Rokni Y, Bellaouchi R, Ghabbour N, Karboune S, Brasca M, Ben Salah R, Eddine Chihib N, Saalaoui E, and Asehraou A (2020). Characterization of Probiotic Properties of Antifungal *Lactobacillus* Strains Isolated from Traditional Fermenting Green Olives. Probiotics and Antimicrobial Proteins 15:1-14.***(Q4)***

40. Abouloifa H, Rokni Y, Bellaouchi R, Hasnaoui I, Gaamouche S, Ghabbour N, Chaoui J, Brasca M, Karboune S, Ben Salah R, Saalaoui E, Asehraou A (2020). Technological properties of potential probiotic *lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olive. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences:Volume 9, Issue 5: 884-889.***(Q3)***

41. Ghabbour N, Rokni Y, Abouloifa H, Bellaouchi R, Chihib N-E, Ben Salah R, Lamzira Z, Saalaoui E, Asehraou A (2020). *In vitro* biodegradation of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* FSO175 in stress conditions (pH, NaCl and glucose. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science. Volume 9, Issue 4, 769-773.***(Q4)***

42. Imane G, Soufiane E, Yahya R, Nour-Eddine C, Ben Salah R, Abdeslam A. (2020) Physico-chemical and microbiological characterization of natural fermenting olive brines. Moroccan Journal of Chemistry.Volume 8, Issue 2, 510-526.***(Q4)***

43. Akremi I, Holtappels D, Brabra W, Jlidi M, Hadj Ibrahim A, Ben Ali M, Fortuna K, Ahmed M, Van Meerbeek B, Rhouma A, Lavigne R, Ben Ali M,(2020). Wagemans, J. First report of filamentous phages isolated from tunisian orchards to control *Erwinia amylovora*(2020) 8 (11), art. no. 1762, pp. 1-17. ***(Q2)***

44. Ricco C, Abdmouleh F, Riccobono C, Guenineche L, Martin F, Goya-Jorge E, Lagarde N, Liagre B, Ben Ali, M, Ferroud C, El Arbi M, Veitía M,S-I (2020). Pegylated triarylmethanes: Synthesis, antimicrobial activity, anti-proliferative behavior and in silico studies (2020) 96, art. no. 103591**.** ***(Q2)***

45. Abdmouleh F, El Arbi M, Saad H-B, Jellali K, Ketata E, Amara I-B, Pigeon P, Hassen H-B, Top S, Jaouen G, Hammami R, Ben Ali M, Gupta G-K (2020). Antimicrobial, antitumor and side effects assessment of a newly synthesized tamoxifen analog (2020) 20 (25), pp. 2281-2288. ***(Q2)***

46. Falah S, Abdmouleh F, Aydi R, Hamdi B, El Arbi M, Kammoun M (2020) Synthesis, crystal structure study, and antimicrobial evaluation activity of aryl-substituted dihydroisoquinoline oxaziridine Journal of Molecular Structure, 1205, art. no. 127592**.** ***(Q2)***

1/ Publications dans des revues internationales indexées non impactées

1. Maroua Omrane Benmrad, Wafa Gargouri, Dorra Mahfoudh, Mouna Kriaa, Bassem Jaouadi and Nabil Kechaou (2020) Response surface methodology optimization of milk-clotting protease produced by *Pleurotus sajor-caju* strain CTM 10057 and its technico-economical evaluation. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology* 6:4 1658-1666.

2. Ankit, Wang, T., Veedu, R. N., Abdmouleh, F., Arbi, M. E., & Kumar, S. (2020). Synthesis and biological evaluation of triazolylnucleosides as antibacterial and anticancer agents. Chemical Data Collections, 28, 100429.

3. Ben Amara I, Ben Saad H, Cherif B, et al. Evaluation of Biological Properties, Health Benefits and Protective Effects of Kefir against Cytotoxicity and Genotoxicity Induced by Butylated Hydroxytoluene (BHT) In Vivo. Res Rev Biosci. 2020;15(1):149

2/ Publications dans des ouvrages spécialisées

1. Lobna Daoud and Mamdouh Ben Ali**.** Halophilic microorganisms: Interesting group of extremophiles with important applications in biotechnology and environment. Chapter book in "Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles", Academic Press, 2020, Pages 51-64.
2. Slim Smaoui, Mariam Fourati, Hajer Ben Hlima, Khaoula Elhadef, Olfa Ben Braïek, Ahlem Chakchouk-Mtibaa, Imen Sellem and Lotfi Mellouli (2020). Active Compounds from Pomegranate Seed: New Source for Food Applications. Chapter book in 'Emerging Technologies in Agriculture and Food Science' Bentham Science Publishers, 2020, 1-30.
3. Ennouri, K., Ottaviani, E., Smaoui, S., & Triki, M. A., (2020) Use of Remote Sensing Technology and Geographic Information System for Agriculture and Environmental Observation, Chapter book in 'Emerging Technologies in Agriculture and Food Science' Bentham Science Publishers, 2020, 108-138.
4. H.Abouloifa, Y.Rokni, N.Ghabbour, S.Karboune, M.Brasca, G.D'hallewin, R.Ben Salah, N.Ktari, E.Saalaoui and A.Asehraou (2020) Probiotics from fermented olives. Chapter book in "Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention (Second Edition)" Academic Press Pages 215-229

3/ Publications dans des actes de colloques internationaux

1. Asmani, K.L., Bouacem, K., Ouelhadj, A., Yahiaoui, M., Mechri, S., Jabeur, F., & Jaouadi, B. Identification of a novel acido-thermostable chitinase from *Bacillus altitudinis* strain KA15. 27 July 2020 by MDPI in MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition session CHEMBIOMOL-01: Chem. Biol. & Med. Chem. Workshop, Rostock, Germany-Galveston, Texas, USA, 2020 https://sciforum.net/paper/view/conference/6886; http //sciforum.net/conference/mol2net-6

2. Asmani, K.L., Bouacem, K., Mechri, S., & Jaouadi, B. Identification and characterization of *Bacillus altitudinis* strain KA15 isolated from the Djurdjura Mountains in Kabylia, Algeria. 19 July 2020 by MDPI in MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition session FRUSMODECPT-05: Molec. Diversity From Amazon to Oceans, Puyo, Ecuador-Porto, Portugal-Paris, France-Ohio, USA 2020 https://sciforum.net/paper/view/conference/6882; http://sciforum.net/conference/mol2net-6

3. Bouacem, K., Mechri, S., Hacene, H., Jaouadi, B., & Bouanane-Darenfed, A. Identification and characterization of *Hydrogenophilushirschii* strain KB-DZ44 isolated from Hammam Righa hot spring in Algeria. 25/05/2020, MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition. Session USMODECPT-05: Molec. Diversity From Amazon to Oceans, UEA, EC, CIIMAR, PT, EPA, OH, USA 2020. MODEC-05: Nat. Prod. & Agro-Indust. Proc. in Amazon, UEA, Puyo, Ecuador, 2020 (pages 1-4, short paper, 10.3390/mol2net-06-06869; http://sciforum.net/conference/mol2net-6

4. Mechri, S., Bouacem, K., Amziane, M., Dab, A., Nateche, F., & Jaouadi, B. Purification, biochemical characterization, and molecular elucidation of a new biotechnologically compatible serine peptidase from *Virgibacillus natechei* strain FarD^{T}. 05/05/2020, MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition. Session NANOBIOMATJND-02: JSU-NDSU Nanotech. & BioMaterials Workshop, Jackson & Fargo, USA, 2020. MODEC-05: Nat. Prod. & Agro-Indust. Proc. in Amazon, UEA, Puyo,

Ecuador, 2020. Sciforum- 032635. Mol2Net-06, 2020, BIOCHEMPHYS-01 (pages 1-4), short paper, 10.3390/mol2net-06-06856 http://sciforum.net/conference/mol2net-6

5. Mechri, S., Sellem, I., Bouacem, K., Jabeur, F., Mellouli, L., Hacène, H., Bouanane-Darenfed, A., & Jaouadi, B. Valorization of shrimp *Metapenaeus monoceros* bio-waste as a source of bioactive protein hydrolysate. 05/05/ 2020, MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition. Session USINEWS-04 : US-IN-EU Worldwide Science Workshop Series, UMN, Duluth, USA, 2020. MODEC-05 : Nat. Prod. & Agro-Indust. Proc. in Amazon, UEA, Puyo, Ecuador, 2020. Sciforum-032641. Mol2Net-06, 2020, BIOCHEMPHYS-01 (pages 1-4, short paper, 10.3390/mol2net-06-06857 http://sciforum.net/conference/mol2net-6

6. Bouacem, K., Mechri, S., Laribi-Habchi, H., Hacene, H., Jaouadi, B., & Bouanane-Darenfed, A. Identification of a new thermostable chitinase from *Hydrogenophilus hirschii* strain KB-DZ44. MOL2NET 2020, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 6th edition. 30/01/2020 - 30/01/2021. MOL2NET 2020, session USMODECPT-05: Molec. Diversity From Amazon to Oceans, UEA, EC, CIIMAR, PT, EPA, OH, USA 2020. MODEC-05 : Nat. Prod. & Agro-Indust. Proc. in Amazon, UEA, Puyo, Ecuador, 2020 (pages 1-4, short paper, 10.3390/10.3390/mol2net-06-06872; http://sciforum.net/conference/mol2net-6

II- Brevets déposés en 2020

1. Sondes Hamdi, Hatem Rekik, Maroua Omrane Benmrad, Sondes Mechri, Samir Bejar, Bassem Jaouadi & Nadia Zaraî Jaouadi. Une nouvelle peroxydase à manganèse fongique atypique d'intérêt industriel pour la dégradation des colorants textiles. Brevet d'Invention INNORPI déposé le 01 Juillet 2020 sous le numéro : TN2020/0131.
2. Nadia Zaraî Jaouadi, Sondes Hamdi, Hatem Rekik, Maroua Omrane Benmrad, Sondes Mechri, Samir Bejar & Bassem Jaouadi. Une nouvelle peroxydase de lignine fongique exceptionnelle d'intérêt biotechnologique pour la dégradation de matériaux lignocellulosiques. Brevet d'Invention INNORPI déposé le 01 Juillet 2020 sous le numéro : TN2020/0130.
3. Mouna Ben Elhoul, Nadia Zaraî Jaouadi, Hatem Rekik, Sondes Mechri, Haifa Khemir Ezzine, Neila Miled & Bassem Jaouadi. Procédé biologique éco-innovant de traitement des peaux et des cuirs. Brevet d'Invention INNORPI TUNISIE déposé le 17 Mars 2020 sous le numéro : TN2020/0042.

FORMATION DIPLOMANTE

1-Liste des thèses soutenues en 2020

1. **Sawssen NEIFAR**: (FSS ; thèse sciences Bilogiques soutenue le 08-02-2020)
   Titre : La glucose isomérase de *Caldicoprobacter algeriensis* : Identification, Expression, Caractérisation, Immobilisation et mise en œuvre pour la production en continu du sirop à Haute Teneur en Fructose (HFS)
2. **Fatma ABDMOULEH :** (ENIS ; thèse en Génie Biologique en cotutelle avec l'université Pierre et Marie Curie. soutenue le 27-12-2020)
3. **Maroua OMRANE BENMRAD :** (ENIG ; thèse en Génie chimique-procédés, soutenue le 0802-2020)
   Titre : Procédés de production et de purification des enzymes protéolytiques Application industrielle dans le domaine des détergents et agroalimentaire.

2-Habilitation Universitaire

Dr. Slim SMAOUI (ENIS ; Génie Biologique, soutenue le 24 Juillet 2020)

Titre : Procédés de production de biomolécules et leurs applications dans la préservation des produits carnés

3-Mastère de recherche

Ameni AYADI (FSG ; biologie moléculaire et cellulaire, soutenu 26-11-2020)
Titre: Etude des propriétés probiotiques et des activités biologiques des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle.

4-Mastère professionnel :

- ☑ **Zouhour Saied :** (ISBS : technologie alimentaire, soutenu le 13-10-2020)
  Titre : Isolement et caractérisation des nouveaux bactériophages contre *Salmonella Enteritidis*
- ☑ **Ahlem SMIRI (**FSS : Master professionnel soutenu le 21/07/2020)
  Titre : Effets des phytases sur la qualité physico-chimique et microbiologique des aliments pour volailles
- ☑ **Faten GASSOUMI** (FSS : Master professionnel, soutenu le 21/07/2020)
  Titre : Etude de la qualité physico-chimique, microbiologique et sensorielle de cafés aromatisés
- ☑ **Chaima EZZAIER et Raja BATHRI** (ISBS : Technologie alimentaire, soutenu le 13-07-2020)

5-Projet de fin d'études (licence et ingénieurs)

- ☑ **Taha Bilel CHALBI** (ENIS, Génie Biologique, soutenu le 16-10-2020) 102020
  Titre : Immobilisation d'une nouvelle protéase d'actinomycète isolée du sol saharien tunisien.
- ☑ **Marwa NEIFAR** (ISBS, Licence Appliquée en Biotechnologie, soutenu le 15-07-2020)
  Titre : Etude des activités biologiques des coproduits de crevette blanche et de crabe bleu
- ☑ **Imen AFDHAL** (ISBS, Contrôle et Exploitation des Micro-organismes, soutenu le 15-07-2020)
  Titre : Mise en évidence des activités biologiques anti-oxydantes et anti-enzymatiques des hydrolysats protéiques des crustacés obtenus par co-culture
- ☑ **Zaineb GHARBI** (ISBS, Contrôle et Exploitation des Micro-organismes, soutenu le 14-07-2020)
  Titre : Purification et caractérisation de deux nouvelles chitinases d'Actinomycétes
- ☑ **Mariem MRABET** (ISBS, Contrôle et Exploitation des Micro-organismes, soutenu le 15-07-2020)
  Titre : Identification et caractérisation des chitinases des nouvelles souches bactériennes isolées des milieux extrêmes
- ☑ **Ahlem JOUINI** (FSG, sciences Biologiques, soutenu le **27/07/2020**)
  Titre : Extraction, Purification, et Caractérisations du Polysaccharide de Laurier « *Laurus nobilis* »
- ☑ **Chaker TARHOUNI** (FSG, sciences Biologiques, soutenu le **27/07/2020**)
  Titre étude des propriétés techno fonctionnelles et des activités biologiques du polysaccharide de Laurier (*Laurus nobilis*)
- ☑ **Hinda Bouzayani** (FSG, sciences Biologiques, soutenu le **27/07/2020**)
  Titre : Purification et caractérisation du polysaccharide *(Lepiduim sativum*) et leur application dans le cake

CONVENTIONS & PROJETS NATIONAUX D'OUVERTURE SUR L'ENVIRONNEMENT SOCIO-ECONOMIQUE EN COURS DE 2020

- ☑ **Projet PRF-Covid-19 : Développement d'outils de diagnostic et thérapeutique**
  Action 1 : Sélection de molécules dotées d'activité anti-virale
  Action 2 : Mise au point d'un kit de diagnostic
- ☑ **Programme National de Promotion de l'Innovation Technologique « PNRI Dégraissage-Reverdissage » code CNCC-CBS-ENIS 2016-2021**

Intitulé du projet : «Développement et optimisation d'un procédé éco-innovant de traitement des peaux ovines : reverdissage, épilage-pelanage et dégraissage enzymatiques

- ☑ **Projets de Collaboration Recherche/Entreprise au sein et autour des technopôles ; Mécanisme du PAQ et dans le cadre de PromESsE : le PAQ-Collabora (PAR&I-Tech)**
  Intitulé du projet: « Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriel ».
- ☑ **Convention de coopération de recherche scientifique entre le LBMEB-CBS et la Société de Détergence JMAL (EJM) 2018-2020**
  Intitulée de la convention : « Production d'enzymes (protéases, amylases et peroxydases) produites à partir de microorganismes isolées de biotopes tunisiens en vue d'une incorporation dans les produits de détergents de lavage de la société EJM »
- ☑ **MOBIDOC-POSTDOC 2019-2020** (Dr. Mouna BEN ELHOUL) intitulé: « Monter une Start-up « Biotech ECOZYM »: Production d'enzymes écologiques destinées pour les industries de cuir, de textile, de détergence et d'agro-alimentaire ».
- ☑ **MOBIDOC 2019-2021** (Wided Brabra) avec la startup Astrum Biotech, intitulé: «Ciblage enzymatique, microbien et biochimique du pouvoir pathogène d'Ewinia amylovora».
- ☑ **MOBIDOC-POSTDOC** (Dr. CHAKCHOIK MTIBAA Ahlem) avec la Société Industriel VITALAG; **intitulé** «Développement d'un nouveau produit naturel à base d'engrais organique (Humivital) et de bactériocines (peptides antimicrobiens) à base de bactéries lactiques pour la nutrition et la protection des oliviers».
- ☑ **MOBIDOC-POSTDOC** ; (Dr. SELLEM Imen) avec la Centrale Laitière de Mahdia VITALAIT; intitulé «Etude microbiologique, biochimique et physico-chimique de l'instabilité du lait UHT de la marque VITALAIT et installation d'un modèle prédictif de contrôle».
- ☑ **MOBIDOC** (Karima SALEM): avec la Société Meunière Tunisienne: "Elaboration d'un complexe enzymatique destiné pour la panification afin d'améliorer les propriétés de transformation de la pâte
- ☑ **PromESsE PAQ-PAES 2020-2021** intitulé: « Montage de spin-off de développement durable de procédés biotechnologique innovants d'ENZYmes industrielles (ENZYin) ». (Dr Wassim BEJAR)
- ☑ **Projet de Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC, 2ème Edition (2019)**
  Titre du projet : «Caractérisation biochimique et moléculaire de nouvelles peroxydases microbiennes d'intérêt industriel dans la valorisation et la dégradation de la lignine», Code : 19PEJC07-10 (Dr. Nadia ZARAI JAOUADI.)
- ☑ **Projet de Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC, 2ème Edition (2019)**
  Titre du projet : «Les cyclodextrines comme vecteurs d'encapsulation des molécules bioactives : Production, purification et génération des nanoparticules ». (Dr. Sonia JEMLI)
- ☑ **Projet de Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC, 2ème Edition (2019)**
  Titre du projet: Valorisation de trois plantes aromatiques et médicinales du Sahara Tunisien dans la bio préservation des viandes : Etude de l'évolution qualité-structure) Code: 19PEJC07-03 (Dr. Slim SMAOUI)

ROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE EN COURS OU ACCEPTES EN 2020

- ☑ **Projet Multilatéral de Partenariats Hubert Curien (PHC)-Maghreb Transversal 2020 Program (FranMaghZYM 2020-2023, code Campus France: 43791TM & code PHC: 01MAG20**
  - Intitulé du projet**: « Biodiversité des microorganismes d'intérêts biotechnologiques, isolés de biotopes extrêmes: Procédés enzymatiques et leur impact sur l'environnement »**
  - Acronyme: « **FranMaghZYM** ».

- ☑ **Projets de Recherche-Développement R&D Algéro-Tunisien pour la coopération dans le domaine de recherche et d'innovation,** code PRD/TN/DZ/21/13
  -Intitulé du projet: « **Formulation d'un Aliment pour Poisson à base de bioadditifs (hydrolysatsenzymatiques et antioxydants) issus de sous-produits d'Agroressources (AliPoiAgro) »**
- ☑ **Projet de Laboratoire Mixte d'Excellence Scientifique Algéro-Tunisien (LABEX-TA) pour la coopération dans le domaine de recherche et d'innovation, code LABEX/TN/DZ/21/01 Dénomination du LABEX-TA**
  -Intitulé du projet: « **Criblage, identification et caractérisation biochimique, moléculaire et structurale des hydrolases microbiennes d'intérêts biotechnologiques (Hydro-BIOTECH)** »
- ☑ **Projets de Recherche-Développement R&D Algéro-Tunisien pour la coopération dans le domaine de recherche et d'innovation.** N° d'ordonnancement : C1202010400000021619003 03
  -Intitulé du projet: «**Application de souches probiotiques encapsulées en tant qu'additifs en alimentation animale et étude de leurs effets *in vivo* sur les paramètres zootechniques et biochimiques du poulet de chair»**
- ☑ **Projets de Recherche-Développement R&D Algéro-Tunisien pour la coopération dans le domaine de recherche et d'innovation.** N° d'ordonnancement : C1202110400000021619000 15
  -Intitulé du projet: **« Valorisation de la biomasse végétale dans le génie alimentaire: Application dans les produits fonctionnels à base de viandes et dans leur emballage »**

Activités des Unités Spécialisées

US119CBS01 : Unité Spécialisée de Transfert de Technologie (USTT)

وحدة مختصة: نقل التكنولوجيا

UTT-CBS

Responsable : **Mme.Hekma AYADI**
Email : **hekmaayadi@yahoo.fr**

MEMBRES DE l'UNITE :

- **Hekma AYADI** : Ingénieur principal et chef de l'Unité
- **Aicha BOUKHRIS** : Chargée de communication (Temps partiel)
- Un **Comité de Transfert de Technologie** du CBS composé par 10 représentants des différentes structures de recherche et d'appui (6 laboratoires de recherche et 4 unités spécialisées)

PRINCIPALES ACTIVITES DE TRANSFERT DE TECHNOLOGIE

L'UTT travaille en concertation avec le Comité de Transfert de Technologie (CTT) pour « booster » les activités de valorisation et de transfert de technologie du CBS.

Activités de Valorisation et de Transfert de Technologie 2020 :

- **Activité 1 :** Protection des actifs de la PI du CBS et aide à la contractualisation
- **Activité 2 :** Promotion des résultats de recherche au CBS, offres de service, offres de formation pour une mise en relation CBS-Industrie
- **Activité 3 :** Veille normative, veille technologique, veille financement

Activité 1 : Propriété intellectuelle

L'UTT a mené plusieurs actions relevant de la protection de l'actif de la Propriété Intellectuelle (PI) qui sont essentiellement des actions de contractualisation (i) et des actions de protection (ii) :

- **Contractualisation :**

L'unité a mis à la disposition des chercheurs des contrats modèles adaptés à leurs besoins et les a assistés à la rédaction des contrats et des accords de transfert de technologie, citons :

1/ La participation aux réunions de négociation d'un contrat cadre et d'un contrat spécifique

-Contrat cadre : CBS- CHU Hédi Chaker
-Contrat spécifique CBS-CHU Hedi Chaker **(LPCMC)**

2/ L'aide à la contractualisation

- ✓ Avec le monde socio-économique

L'unité a assisté les chercheurs du CBS à signer 6 conventions : 1/convention spécifique CBS **(LBPE)** Ferme avicole, 2/ 2 conventions cadre et spécifique CBS (**LBPE)** – municipalité, 3/convention de prestation de services CBS **(UDBPRR**) - GIPA-Agromed, 4/ Convention CBS (**LBMEB)** -Chimidet et 5/ Convention de partage de produits net **(LBMEB)**

- ✓ Contrat de mobilité « dispositif Mobidoc »

L'Unité a assité les Post-Docs à finaliser 12 contrats Mobidoc (Promesse) « session 2020 » dont le CBS est soit un organisme bénéficiaire « 4 » , soit un partenaire « 8 » : LBPE **(1**), LPCMC **(3)**, LBME **(6**), **1**(LB), **1**(LBAP) et à l'élaboré des accords de protection NDA et MTA.

- ✓ Préparation des projets de conventions cadre CBS- organisme d'appui

L'unité a assuré l'élaboration de deux conventions : Chambre de commerce de Sfax – CBS et APII – CBS, en vue d'un ancrage du CBS avec son environnement socio-économique

- **Protection des actifs de la PI**

L'UTT a assisté des chercheurs du CBS à la protection de leurs inventions par brevet :

1/Vérification des critères de brevetabilité et assistance à la rédaction de la demande de brevet d'invention

- TN2021/0006 déposé le 12 janvier 2021 « Un nouveau gène LmGASA1 issue d'une halophyte tunisienne répondant aux stress abiotiques »

  ➔ La structure bénéficiaire est le **LBAP**

- « Un nouveau procédé économique et respectueux de l'environnement pour la préparation des β-cyclodextrines à partir des pelures de pomme de terre »

  ➔ La structure bénéficiaire est **LBMEB**

2/ Organisation d'un cycle de formation en PI animé par l'experte en PI du DGVR (2019-2020)

Afin de renforcer la culture de la PI, sensibiliser et former les chercheurs et post doc du CBS, sur les questions de la protection, l'UTT a collaboré avec la « Direction Générale de la Valorisation de la Recherche » pour l'organisation d'un cycle de formation en PI au profit des chercheurs et post doc du CBS

➔ **Les bénéficiaires : 15 participants (2 par structure de recherche).**

Les modules réalisés en 2020 sont :
Théme 3 : L'extension de la protection de la demande de brevet à l'échelle internationale 'en PCT *22 juin 2020 matinée*
Théme 4 : L'identification des inventeurs et les droits de l'agent public inventeur
22 juin 2020 après midi
Théme 5 : Les ressources biologiques
23 juin 2020
Théme 6 : Les contrats fréquents de transfert technologique
24 juin 2020

3/Participation à des événements de transfert de technologie en ligne organisés par :

l'ANPR

-Cycle de webinars dans le cadre de l'action lunch your start-up (juillet 2020) (action organisée par l'ANPR, l'association ATDOCS et les BUTTs) lancé en avril 2020

-Deux webinars : « La veille et l'intelligence économique » et « L'intelligence territoriale : assuré par un expert international : Mr Thierry Ferrari ,Directeur du pôle Entreprises & Territoires de l'Agence de diffusion de l'information Technologique, ADIT et leader Européen de la veille technologique et de l'intelligence stratégique. (14 et 22 Septembre 2020).

- Un webinar sur les procédures et stratégies de dépôts de demandes de brevets : 28 septembre 2020

l'INNORPI

- Un webinar national organisé par l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle **"OMPI"** et de l'Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle **"INNORPI" sur le Traité de**

coopération en matière de brevets (PCT) : le système de dépôt mondial des demandes de brevet (16 & 17 Septembre 2020).

- First Webinar PHIND*access* team "How to implement an Intellectual Property Policy in a Public Health Institute" organized in the frame of PHIND*access* project, on November 17th, 2020

-Second webinar "IP Policy and strategy for promotion innovation : Expérience of Tech Transfer professionals", which will be held on November 24th, 2020

Activité 2 : Promotion des résultats de recherche au CBS, offres de service, offres de formation pour une mise en relation CBS-industrie

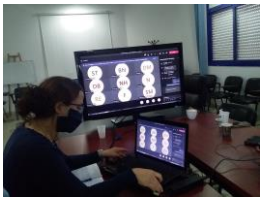
L'UTT veille à renforcer la visibilité du CBS, les activités de R&D, les offres technologiques les offres de services, des équipements de pointes et les compétences des chercheurs.

A cet effet, l'UTT a :

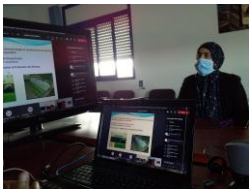
- Coordonné avec les structures du CBS pour l'élaboration **des supports de communication** au profit des structures de recherche et d'appui (collecte des données technologique et scientifiques des structures de recherche et d'appui, préparation du cahier des charges)

- Organisé de deux webinars (½ journée) « **CBS-Industrie** » en ligne via la plateforme teams afin de renforcer et booster le partenariat et la collaboration Recherche -Business :

-**Thématique 1** : la Biotechnologie environnementale : 27 Octobre 2020 : marketing des résultats, offres de services, offres technologiques de **LBPE et de UPSA**



-**Thématique 2** : Contrôle qualité : 02 Décembre 2020 : promouvoir les activités du **LB** ainsi que ses offres de service



- L'UTT veille également à promovoir les compétences des acteurs de transfert de technologie du CBS via l'Organisation d'une Formation ayant pour Thème : « **Marketing Digital** »

Objectifs de formation :

▪ Apporter les clés de compréhension du fonctionnement général du marketing digital et ses leviers afin de corriger les lacunes des non-spécialistes
▪ Gagner en responsabilité dans le domaine de la stratégie numérique
▪ Accéder aux postes les plus recherchés du marché professionnel
▪ Comprendre comment et pourquoi le marketing évolue à l'ère du digital
▪ Faire le point sur l'évolution des grandes étapes du marketing digital : attirer, retenir, convertir

▪ Comprendre comment le Big data sert la personnalisation en marketing digital

➔ **La planification de la formation a été réalisée en 2020**

- **Dans le cadre du projet Jumelage géré par le MESRS**

L'UTT a Participé à l'organisation d'une journée thématique « Huile d'olive » dans le cadre du projet jumelage coordonné par le MESRS (03 mars 2020).Les participants sont les acteurs de l'huile d'olive de la région de Sfax (chercheurs, industriels, ONG, Institut de l'olivier,)

Activité 3 : Veille normative, veille financement et veille technologique

L'unité Spécialisée Transfert de Technologie a assuré la veille : veille normative, veille technologique, et veille financiere.

- **Veille normative**
  L'unité collabore avec les structures pour valider la liste des normes pour la veille et diffuser le bulletin de veille normative reçu auprès de l'INNORPI (Abonnement CBS-Innorpi)
- **Veille technologique**
  L'UTT a participé aux événements de veille :

- **Séminaire** sur le développement du réseau national de CATI du 27-28 janvier 2020 (Tunis) (organisé par l'INNORPI en coopération avec OMPI

- **Webinaire** avec l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle OMPI sur les services d'appui de l'OMPI pour les CATI (le jeudi 18 Juin 2020 à 10h)

- **Veille financière**

L'objectif de l'UTT est de renforcer la participation des chercheurs du CBS aux appels à projets de recherche d'innovation à dimension nationale ou européenne. Par ailleurs, l'UTT veille à fournir l'information à temps puis collaborer avec les chercheurs pour le montage de leur projet (recherche de partenaire, coaching,..).

- Dispositif Mobidoc et Mobipost doc (ANPR) **(12 candidats retenus, session 2020)**
- PAQ PAES (**4 candidats retenus**) (**1LBMEB, 1PCMC, 2LBME**)
- Horizon 2020 : en tant que membre de la cellule PMO

1/Organisation au CBS d'une ½ journée info day pour informer les appels ouverts **SwafS 2020** (les bénéficiaires sont des chercheurs du CBS) (30 janvier 2020)

2/ Manifestation d'intérêt pour le Swafs 30-2020 (call qui touche les questions d'éthique en recherche) via la publication de manifestation d'intérêt dans l'espace de la commission européenne (funding and tender lien) puis collaboration avec le PCN Swafs national pour la recherche de partenaire (diffusion dans le réseau SIS net) afin de joindre un consortium. Suite à la réponse d'un organisme espagnol a notre intérêt, j'ai participé à un coaching en ligne**, organisé par l'UGPE,** réalisé par un expert international et le PCN national (27 février 2020).

3/Participation à une ½ journée « Postdoctoral Fellowships & Opportunities for Early Stage Researcher » organisé par le laboratoire **LPCMC** dans le cadre du proj**et SEED Twinning H2020.**

4/Participation à des formations organisées en ligne par l'**UGPE** :

29/06/- 03/07/ 2020	Participation à la formation EU301 S3 online **« Devenir Coordinateur d'un Projet Européen de Recherche et Innovation** » organisée par l'UGPE- H2020-Tunis **(5j)**.
22/06/2020- 26/06/2020	Participation à la formation EU502 S2 online – « **Coacher un partenaire de projet Européen de Recherche et Innovation** » organisée par l'UGPE- H2020-Tunis **(5j).**
15/06/2020 - 19/06/2020	Participation à la formation EU301 S3 online - **Devenir Coordinateur d'un Projet Européen de Recherche et d'Innovation (5j).**
18 -22/05/2020	Participation à la Formation EU 502 online « **Coacher un partenaire de projet Européen de Recherche et Innovation** » organisée par l'UGPE- H2020-Tunis **(5j).**
04 -08/05/2020	Participation à la Formation EU505 online « **Construire une cellule de PMO pour les Projets Européens de Recherche et Innovation » (5j)**

Avec une qualification EU505 « **Construire une cellule de PMO pour les Projets Européens de Recherche et Innovation** « fruit de la réussite de l'examen en ligne ».

Autres actions de Transfert Technologique

Dans le cadre du projet PAQ CR2S du CBS « Mise en place d'un Système de Management Intégré -Qualité -Sécurité Environnement & Accréditation » :

1/Participation à la rédaction du processus du Valorisation et transfert de technologie VTT-PS-02/00 et les documents qualité associés à ce processus (travail réalisé avec l'assistance du l'Expert qualité IMPQ et en concertation avec le responsable SMIQSE1 Acréditation CBS).

2/Préparation de la démarche accréditation du CBS via le recensement des besoins du monde socioéconomique (préparation, lancement d'une enquête de détection des besoins des industriels nationaux en ligne puis évaluation des besoins des attentes des industriels en termes de paramètres à accréditer).

3/Planification des ½ Journées CBS-Industrie pour fixer les paramètres analytiques à accréditer et qui vont répondre aux besoins des industriels

4/ Participation à la Table Ronde " L'importance de la Microfinance pour le développent des petites entreprises, projet MEDSt@rts " (17.11.2020)

US119CBS02 : Unité Spécialisée de Développement des Procédés en Biotechnologie des Résultats de la Recherche (USDPBRR)

وحدة مختصة: تطوير الأساليب البيوتكنولوجية لنتائج البحث

Responsable : **Mr.Ilem HASSAIRI**
Email : **ilem.hassairi@cbs.rnrt.tn**

MEMBRES DE l'UNITE :

Nom et prénom	*Grade*
Ilem HASSAIRI	Ingénieur Général : Chef de L'Unité
Adel ZITOUN	Ingénieur en chef
Najoua AYEDI	Ingénieur en chef
Imen REKIK	Assistant principal hors grade à l'application et à la recherche
Nizar ELLEUCH	Assistant principal à l'application et à la recherche scientifique
Faiçal BOUKHILI	Technicien
Haitham MILADI	Agent technique
Dhouha WALI	Attaché d'administration
Mohamed AMRI	Ouvrier
Leila ELLOUZ	Ingénieur Principal Contractuelle

OBJECTIF GLOBAL

L'objectif global vise à contribuer au développement durable pour la promotion de la recherche scientifique, assister et accompagner les chercheurs et les jeunes promoteurs dans la maîtrise et l'utilisation de différentes technologies, la conduite et la maturation de leurs projets en apportant un soutien à travers le transfert du savoir depuis le laboratoire vers le secteur industriel et l'accompagnement technologique pour l'exploitation et la création de nouveaux produits, procédés et /ou entreprises.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Réaliser, en collaboration avec les laboratoires du CBS, des expériences de scale-up, de production et de formulation à l'échelle pilote pour le développement de divers Bioprocédés et Bioproduits;
- Contribuer au développement technologique des projets de recherche / développement élaborés par les différents laboratoires du CBS;
- Assister les chercheurs du CBS dans l'utilisation et la maîtrise des différentes technologies disponible à l'US et participer à la production de divers bioproduits à l'échelle pilote ;
- Combiner la technologie enzymatique aux différents procédés utilisés dans l'extraction et la transformation de bioproduits ;
- Produire à l'échelle pilote de grandes quantités de cellules ou de biomolécules par fermentation pour une éventuelle application industrielle.

PRINCIPALES ACTIVITES de l'UNITE DANS LE CADRE DU CONTRAT PRIGRAMME 2019-2022

Les principales activités de l'Unité de Développement des Procédés en Biotechnologie des Résultats de la Recherche (UDPBRR) sont les suivantes :

Activité 1 : Développement, valorisation et transfert de nouveaux procédés et/ou bioproduits destinés à l'innovation de l'entreprise tunisienne dans le domaine de la biotechnologie et de l'agroalimentaire

Activité 2 : Incubation (assistance et accompagnement technologique) des promoteurs de start-up sur la base du potentiel de leurs idées d'entreprise dans une approche de développement et de croissance

Activité 3 : Assistance technologique et extrapolation à l'échelle pilote des résultats des projets de recherche élaborés par les différents laboratoires du CBS

Activité 1 : Développement et transfert de nouveaux procédés et/ou bioproduits destinés à l'innovation de l'entreprise tunisienne dans le domaine de la biotechnologie et de l'agroalimentaire

La palmeraie Tunisienne, représente le pivot de l'écosystème oasien à travers l'importance de sa production. Le secteur phoenicicole tunisien, en particulier, génère à chaque campagne près de 40 000 tonnes de déchets de dattes. Ils proviennent soit directement des palmeraies, soit des unités de conditionnement. Cette biomasse, considérée jusqu'alors comme un déchet avec un fort impact sur l'environnement peut être transformée en produit à haute valeur ajoutée. Ces déchets (noyau et écarts des stations de conditionnement, etc.) sont dotés de teneurs élevées en sucres (73-83 %) : glucose, fructose et saccharose. Ils contiennent également des protéines, des lipides, des éléments minéraux et des vitamines. Cette richesse pourrait être utilisée en biotechnologie comme source d'énergie et de molécules à haute valeur ajoutées.

A l'Unité de Développement des Procédés en Biotechnologie des Résultats de la Recherche (UDPBRR) du CBS, un programme de recherche est en cours de développement visant la mise au point des procédés de valorisation des noyaux et des dattes tunisiennes à faible valeur marchande.

L'objectif général du projet est basé sur : (i) la valorisation des écarts et des noyaux de dattes par extraction de composés d'intérêts industriels, (ii) l'évaluation et l'amélioration des procédés d'extraction traditionnels existants, (ii) ainsi que la proposition d'un procédé technologique innovant fiable en vue de développement d'une filière industrielle intégrant des produits à haute valeur marchande.

Cette activité est structurée en deux (2) actions :

Action 1 : Développement d'un procédé d'extraction des huiles de noyau et du tourteau de dattes
Action 2 : Mise au point d'un procédé de valorisation des dattes à faible valeur marchande et de tourteau de noyau de dattes dans l'objectif de produire de l'éthanol.

Action 1 *:* Développement d'un procédé d'extraction des huiles de noyau et du tourteau de dattes.

Le présent projet aura également pour objectif l'exploitation des technologies d'extraction permettant de valoriser, d'une part, les tris de dattes et d'autre part, l'huile contenue dans les noyaux et les tourteaux de pressage (coproduits de l'extraction de l'huile de noyaux de dattes). Ces noyaux seront attaqués par des enzymes afin d'en extraire l'huile et de favoriser la réduction primaire avant extraction hydro alcoolique. Le but est d'offrir une nouvelle voie de valorisation d'une fraction de l'important tonnage de tourteaux de farine de dattes non exploités par des procédés industriels modernes et de mettre en place un procédé fiable basé sur la technologie enzymatique afin d'augmenter le rendement d'extraction et d'améliorer la qualité de la fraction lipidique extraite. Pour cela, un procédé d'extraction d'huile basé essentiellement sur les enzymes est mis au point à l'UDPBRR afin d'extraire la fraction lipidique des noyaux de dattes et de son tourteau.

Il consiste à soumette la farine de noyau ou du tourteau en solution aqueuses en contact avec une solution enzymatique dans un réacteur sous agitation et température contrôlée. Pour ce faire, les enzymes présélectionnées seront criblées dans un premier temps, en fonction de leur pouvoir d'extraction de la fraction d'intérêt. On procèdera par l'utilisation des enzymes séparées puis combinées afin de pouvoir augmenter leurs affinités vis-à-vis du substrat sélectionné.

L'objectif principal de cette partie de l'étude est le criblage des enzymes montrant une meilleure capacité d'extraction du produit d'intérêt avec une optimisation dans une surface de réponse des paramètres opératoires qui influent sur l'activité enzymatique d'extraction des huiles contenues dans les noyaux et le tourteau.

Tableau 1 : Variation de la teneur en huile et du rendement d'extraction d'huile à partir de la farine des noyaux de dattes en fonction des enzymes utilisées

Enzymes	Quantité d'huile (%)	Rendement d'extraction (%)
Enzyme [EPy]	4,6	67,2
Enzyme [ECy]	4,5	65,8
Enzyme [EXy]	3,34	48,9
Enzyme [EP]	3,2	46,3
Enzyme [EC]	3,55	51,8
Enzymes [EPy+ ECy+EXy]	6,28	91,7
Enzymes [EP+EC+EXy]	5,35	78,2
Enzymes [EPy+EC+EXy]	6,19	90,4
Enzymes [EP+ ECy+ EXy]	5,15	75,2

Les résultats obtenus (Tableau 1) montrent que le taux d'extraction enzymatique des huiles de la farine des noyaux de dattes varie entre 3,2% et 6,28%. Sous une activité enzymatique de 0,025U/g, les deux enzymes [EPy] et [ECy] offrent des taux d'extraction d'huile de l'ordre de 4,6% et 4,5%, respectivement. Ces taux restent supérieurs à ceux obtenus suite à l'utilisation des enzymes [EP], [EC] et [EXy] sous la même activité enzymatique (0,025U/g). A la lumière de ces résultats, nous pouvons constater que le taux d'extraction des huiles de la farine des noyaux de dattes dépend étroitement de la nature de l'enzyme utilisée. Ainsi le meilleur rendement d'extraction des huiles obtenue en utilisant une seule enzyme est de l'ordre de 67,2% (obtenu lors de l'utilisation de l'enzyme [EPy]). Cette valeur maximale de solubilisation des huiles est atteinte au bout de 6 heures d'incubation.

Par ailleurs, il est à noter, que l'utilisation des enzymes combinés améliore nettement le taux d'extraction d'huile à partir de la farine des noyaux de dattes et que le meilleur taux d'extraction est enregistré lors de l'utilisation de la combinaison des enzymes à trois. En effet, la combinaison des enzymes [EPy], [ECy] et [EXy] améliore nettement le taux d'extraction des huiles, qui atteint 6,28 g/100g correspondant à un rendement d'extraction de l'ordre de 91,7% et un taux d'hydrolyse des matières solides insolubles de la matière végétal utilisée en matières solubles est de l'ordre de 60%. L'efficacité du choix des enzymes est évaluée en fonction de la détermination du taux des huiles extraits par rapport au taux initiaux et en fonction de la qualité de la matrice utilisée (produit).

Toutefois, l'identification des acides gras extraits prouve que l'utilisation de la combinaison des trois enzymes [EPy], [EC] et [EXy] améliore nettement le taux d'extraction d'acide oléique pour atteindre 70,5%. Il est à noter que ce taux est seulement de l'ordre de 29,5% lors de l'utilisation de la combinaison des trois enzymes [EPy], [ECy] et [EXy] (**Tableau 2, figure 1**).

Tableau 2: Analyse des acides gras par GC-MS de l'huile extraite des noyaux de datte par utilisation de combinaisons d'enzymes.

Acide gras	Taux d'extraction (%)	
	[EPy]+[EC]+[EXy]	[EPy]+[ECy]+[EXy]
Acide laurique	31,64	29,5
Acide palmitique	11,6	-
Acide arachidique	15,5	-
Acide oléique	27,6	70,5
Acide linoléique	3,6	5

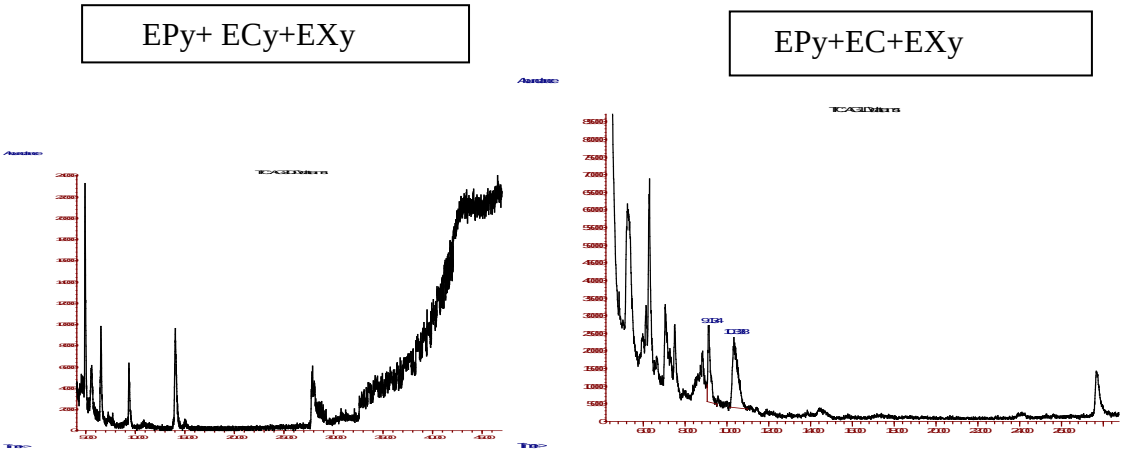


Figure 1 : Composition biochimique de deux fractions d'huile extraites de la farine de noyau de datte par différentes combinaisons enzymatiques

L'optimisation de la température et le temps d'incubation avec les différentes enzymes utilisées montre un taux d'extraction maximal à une température égale à 50°C qui se traduit par un rendement maximal de l'huile qui est de l'ordre de 50% pour les enzymes [EXy], [EP] et [EC] et de 66% pour les enzymes [EPy] et [ECy] **(Figure 2)**.

Après combinaison des 2 paramètres (température et temps d'incubation) nous avons pu conclure qu'un meilleur rendement d'extraction est obtenu après 8 heures d'incubation sous une température égale à 50 ºC et ce pour tous les enzymes utilisées. Cependant, le meilleur taux d'extraction est enregistré suite à l'utilisation de l'enzyme [EPy].

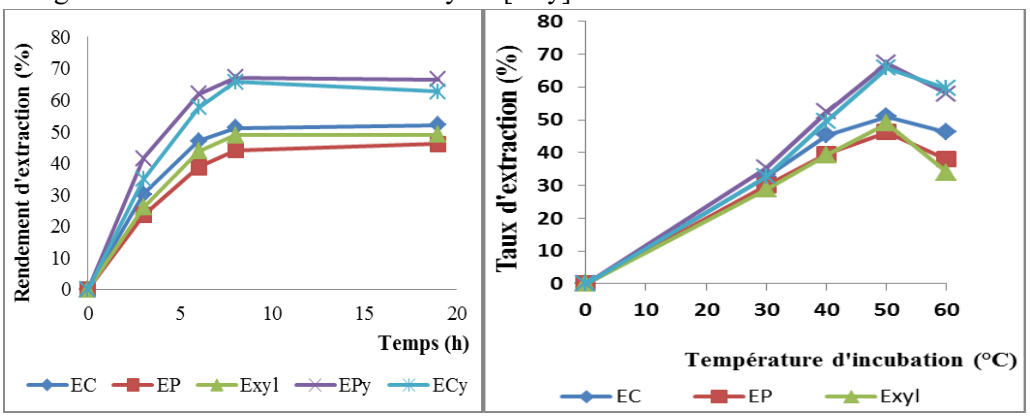


Figure 2 : Optimisation des conditions opératoires (temps, température) de l'extraction enzymatique de l'huile des noyaux de dattes.

L'évaluation de l'activité anti radicalaire de l'huile extraite par trois enzymes est réalisée par le test DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'huile obtenue par extraction enzymatique possède une activité anti-oxydante ce qui explique la présence des composés phénoliques qui sont par contre absents dans l'huile obtenue par presse à froid (**figure 3, tableau 3).** De même, il est à noter que les deux extraits obtenus par extraction enzymatique montrent leurs richesses en Vitamine E (13,6 µg/ml).

Tableau 3. Composition d'extrait enzymatique d'huile en certains composés phénoliques

Composés phénoliques	Temps de rétention (min)	Quantité (µg /ml)
Acide caféique	13,305	2
Acide vanillique	14,068	10
P-coumarique	16,591	1

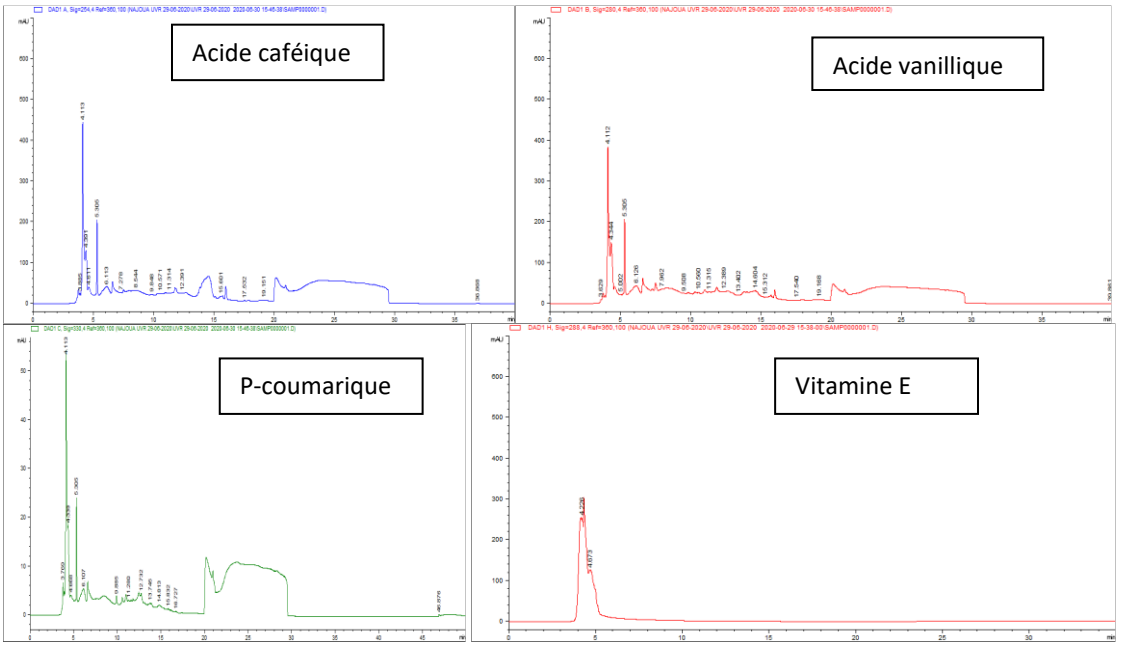


Figure 3: Chromatogramme d'identification de certains composés phénoliques et vitamines présents dans les extraits huileux obtenus par extraction enzymatique.

Action 2 **:** Mise au point d'un procédé de valorisation de dattes à faible valeur marchande et de tourteau de noyau de dattes pour la production d'éthanol

Les possibilités de valorisation énergétique de la biomasse par les procédés biotechnologiques représentent une solution de choix pour l'utilisation des produits agricoles de faible valeur commerciale. Les dattes, dites communes, présentent une faible valeur marchande par rapport à Deglet Nour et d'autres variétés. Elles sont destinées à l'autoconsommation ou à l'alimentation animale. Cependant, à notre connaissance, aucune industrie de transformation de dattes, n'est implantée aujourd'hui.

Néanmoins, il est important de signaler que grâce aux procédés biotechnologiques, il est possible de valoriser les dattes communes de faible valeur marchande et de mettre sur le marché une nouvelle génération de produits à hautes valeurs ajoutées, tel que le bioéthanol. Le bioéthanol est l'éthanol

d'origine biologique et agricole. Il s'agit d'un vecteur énergétique issu de l'agriculture et appartenant à la famille des énergies renouvelables. A l'UDPBRR, nous nous sommes proposé de mettre au point un procédé économique de production de bioéthanol en utilisant un milieu non valorisé (écarts et noyaux de dattes) à bon marché.

Ainsi, la méthodologie adoptée dans la présente étude est basé sur :

1/ Une caractérisation biochimique des écarts et noyaux de dattes,

2/ Un criblage de souches de saccharomyces les plus performantes en terme de taux de production d'éthanol,

3/ Une évaluation des différentes étapes d'hydrolyse des matières végétales utilisées sur les rendements d'extraction des sucres simples facilement fermentescibles par les levures,

4/ Une évaluation de l'effet de la nature des milieux préparés à base des hydrolysats de dattes sur les paramètres cinétiques de croissance et de production de bioéthanol chez les quatre souches de levures utilisées.

La caractérisation biochimique moyenne des Ecarts de dattes et de Noyaux de dattes est enregistrée sur le **Tableau 4**.

A la lumière de cette caractérisation, nous avons montré que les tris et noyaux de dattes ont une richesse en substances nutritives (carbone, azote et sels minéraux), ce qui les rend valorisables comme milieux de culture pouvant assurer la croissance des levures pour une production d'éthanol.

Tableau 4 : Composition biochimique moyenne en matières sèches des noyaux et des écarts de dattes

Paramètres	Glucides (%)	Protéines (%)	Cendres (%)	Fibres (%)
Ecarts de dattes	79	2,1	1	**7**
Noyaux de dattes	**8.5**	**2.4**	**1.5**	**70**

Etant donné que les levures sont dépourvues d'une entité enzymatique variée, la richesse du milieu en sucres simples comme, par exemple, le glucose peut avoir un impact sur la vitesse spécifique de croissance des levures. A partir des résultats mentionnés dans le tableau 4, nous pouvons prédire que les noyaux et les écarts de dattes nécessitent des prétraitements de leur entité glucidique. Ces étapes seront nécessaires afin de pouvoir limiter l'inhibition pouvant être provoquée par certains polysaccharides et les rendent assimilables par les levures.

La première étape dans la conversion de la biomasse en éthanol est un prétraitement pour rendre la matière végétale plus facilement attaquable et assimilable par les microorganismes. L'efficacité de ce prétraitement dépend grandement des rebuts végétaux utilisés. Les noyaux de dattes et les tris de dattes utilisés pour la production de sirops riches en sucres facilement fermentescibles par les levures ont subi les étapes de prétraitement suivantes : dénoyautages, séchage, broyage et hydrolyse (thermique ou enzymatique). Les écarts et les noyaux de dattes et sont riches en sucres solubles et d'autres non solubles. L'exploitation de ces substrats pour leur valorisation sous forme de milieux de culture nécessiterait l'hydrolyse préalable de leurs sucres. Pour les sucres insolubles, nous avons envisagé l'hydrolyse enzymatique de la pâte des écarts et de noyaux de dattes en utilisant des cellulases. L'hydrolyse est réalisée dans des erlenmeyers de volume utile égale à 500 ml sous agitation continue à différentes conditions avec des températures et des pH variables. L'étude du traitement thermique des écarts de dattes est réalisée à l'ébullition mais sans ajustement de pH. La solution brute extraite des dattes après broyage possède une forte teneur en sucres. Les écarts de triage de dattes peuvent constituer un sous-produit apte à être transformé, par le biais de procédés usuels, en un milieu de culture riche en sucres et en nutriments assurant la croissance des levures. En présence d'eau et sous

une température élevée (100 °C), les sucres simples (glucose, fructose et saccharose) se solubilisent, ce qui améliore leurs assimilations par les microorganismes.

L'hydrolyse enzymatique s'est déroulée dans les conditions préalablement optimisées pour les enzymes utilisées. Le traitement thermique pour l'hydrolyse des sucres de la pâte des écarts de dattes montre un rendement d'extraction élevé, soit de l'ordre de 83,9 %. Les conditions optimales d'hydrolyse se résument en un extrait sec de 16 %, une température de 100 °C et une durée d'incubation de 30 min. Il est à signaler que la pâte hydrolysée peut être réutilisée afin d'améliorer le rendement d'extraction à raison de 10 %. Cependant, l'ajout des enzymes améliore légèrement le rendement d'extraction des sucres des tris de datte, soit une amélioration estimée à raison de 4,1 %. Plusieurs souches de levures du genre Saccharomyces qu'on dispose au CBS sont utilisées (YAB9, YM30039, Y30053, Y30004, Y30009, Y30101, Y30003 et Y30035). Le criblage pour la sélection des souches les plus productrices d'éthanol, réalisé en erlenmeyers montre que parmi les huit souches de levure testées, celle de référence Y30009 est la plus performante montrant les meilleures vitesses moyennes de production d'éthanol et de consommation de substrats.

Activité 2 : **Incubation (assistance et accompagnement technologique) des promoteurs de start-up sur la base du potentiel de leur idée d'entreprise dans une approche de développement et de croissance.**

Dans le cadre d'un projet PAQ COLABORA 'Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriels: Biotech-INNOV' au profit de jeunes porteurs de projets en biotechnologie visant la création d'entreprises innovantes et d'emplois qualifiés pour nos jeunes diplômés, l'Unité UDPBRR a accompagné les deux promoteurs de start-up 'La startup «BiotechECOZYM et la startup «ASTRUM Biotech», dans l'extrapolation de leur projet, d'une part, et dans la production et la formulation de quantités importantes des bioproduits pour leur commercialisation, d'autre part, et ce durant l'an 2020.

Ainsi, plusieurs fermentations sont conduites dans des fermenteurs de capacités totale 100 Litres, des études d'optimisation des conditions de cultures et concentrations des extraits enzymatiques et de biomasse sont réalisées à l'échelle pilote au sein de l'UDPBRR et sont transférées aux deux prometteurs de startup ('La startup «BiotechECOZYM et la startup «ASTRUM Biotech») pour une éventuelle commercialisation.

Activité 3 : Assistance technologique et extrapolation à l'échelle pilote des projets de recherche élaborés par les différents laboratoires du CBS

Par son action dans le cadre de l'activité 3, l'UDPBRR assurera des prestations de services aux différents laboratoires du CBS, ainsi qu'au monde académique et socio-économique. Nos partenaires académiques et socio-économiques sont les suivants :

Partenaires Industriels :

- Entreprise HAZEM, (Sfax)
- Société AGROMED (Sfax)
- Société GIPA (Tunis)
- Société NOPAL (Kasserine)
- Société boudjebel (Tunis)

Partenaires académiques :

- Laboratoire des bioprocédés environnementaux (LBPE) du CBS
- Laboratoire de biopesticides du CBS
- Laboratoire de Biotechnologie Microbienne, Enzymatique et de Biomolécule (LBMEB)
- Laboratoire de biotechnologie moléculaire des eucaryotes du CBS (LBME). Du CBS

- Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC) du CBS
- Laboratoire de Biodiversité Marine et Environnement (BIOME) du FSS

1. Prestations de services pour les différents laboratoires du CBS

Les principaux travaux de prestations de services réalisées, pour le compte des laboratoires du CBS sont les suivants :

L'UDPBRR assure régulièrement une assistance aux laboratoires du CBS pour la réalisation d'expérimentations de fermentations, de séparations, d'essais et d'analyses. Citons par exemple :

- Réalisation de cultures de micro-organismes par fermentation en mode batch et batch-alimenté dans des fermenteurs de volumes croissants de 7 L, 20 L, 100 L et 430 L pour la production de biomasses et /ou la production de leurs métabolites.
- Réalisation de diverses opérations unitaires de séparation, de concentration et de séchage.
- Séchage par lyophilisation de solutions protéiques, enzymatiques et de micro-organismes.
- Concentration de solutions ou de produits par la technique d'évaporation sous vide.
- Purification de biomolécules et autres par application des procédés membranaires.
- Production et formulation de grandes quantités de cellules ou de biomolécules pour une éventuelle application industrielle.
- Analyses diverses à savoir : détermination de l'activité d'eau dans des produits solides par AW mètre, dosage de l'azote (organique et minéral) par la méthode de Kjeldhal (minéralisation, distillation, dosage), mesure spectral UV-visible et autres.

L'UDPBRR prendra également en charge les expérimentations d'optimisation et de scale up. Ces expérimentations permettent de vérifier la fiabilité du système et d'affiner la recherche des meilleures productivités et rendement.

Le nombre total des fermentations, des opérations unitaires de broyage, de séparation, de concentration, de séchage ainsi que d'analyses (à savoir dosage d'azote, mesure spectral UV-visible) réalisées durant l'an 2020 pour le compte des laboratoires du CBS est détaillé dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Prestations de services de réalisation d'opérations unitaires (fermentation, séparation, concentration, séchage et broyage) réalisées durant l'an 2020 pour le compte des laboratoires du CBS

Laboratoire	Fermentation	Séparation/ concentration	Séchage par lyophilisation	Broyage/atomisation
LBMEB	6	5	7	6
LBPE	-	6	-	-
LB Pest	5	5	2	3
LBME	3	2		2
LBAP	-	-	1	-
LPCMC	1		2	
Total général	15	18	14	11

2. Prestations de services pour autres structures de recherche et monde socio-économique

L'unité spécialisée (UDPBRR) a assuré également une assistance à des établissements de recherche et universitaire externes du CBS et au tissu socio-économique dans la réalisation d'analyses et d'opérations unitaires dont l'unité dispose. Citons par exemple :

- Conduite de fermentations ;
- Séchage par lyophilisation ;
- Analyse physicochimique et biochimique (stabilité des produits)

Les principales prestations de service réalisées, pour le compte de certaines institutions nationales (la

Faculté des Sciences de Sfax (FSS) et l'institut supérieure de biotechnologie de Sfax (ISBS) ainsi que pour certaines industries Tunisiennes (Maghreb Food Industrie, AGROMED et société HAZEM) sont les suivantes :

- Etude de la stabilité de certains produits commercialisés par la société HAZEM pour le compte de ladite entreprise.
- Dosage d'activité enzymatique dans des produits laitiers et autres et ce pour le compte de la société AGROMED.
- Analyses microbiologiques de certains articles de produits laitiers commercialisés par la société Maghreb Food Industry.
- Réalisation de fermentations pour le compte du Laboratoire de Biodiversité Marine et Environnement de la FSS
- Réalisation d'un cycle de lyophilisation pour le compte de l'ISBS / LMB du CBS

3. Projets en cours dans le cadre de coopération nationale : Partenariat scientifique et ouverture socio-économique

L'unité spécialisée (UDPBRR) a réussi d'établir des partenariats avec certains organismes nationaux et autres et des conventions de coopération scientifiques avec le monde académique et socio-économique ayant pour objectifs l'extrapolation, la production et la maturation des résultats de la recherche et/ou de la valorisation. Ainsi, L'UDPBRR a participé en tant que partenaire dans les projets suivants :

- **Projet PRF** 2019-D1P1: Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes.

-**Projet PAQ PAES** ; Porteur du projet : Dr. Wacim BEJAR 'Montage de spin-off de développement durable de procédés biotechnologique innovants d'ENZYmes industrielles (ENZYin)'.

- **Projet PAQ PAES** ; Porteur du projet : Dr. Azza Hadj Sassi 'Production, formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques'.

- **Projet PAQ COLABORA** Biotech-INNOV' : 4 startups bénéficières à la pépinière du CBS

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des projets en cours dans le cadre de la coopération nationale avec l'UDPBRR

	Partenaire	**Intitulé du projet**	**Objectif**	**Partenaire académique**	**Partenaire économique**
1	**PRF** 2019-D1P1 Coordinateur FSS	Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes	Optimisation des conditions de cultures, de séparation et de concentration des extraits d'ectoine et de polysaccharides sera programmée. Ces bioproduits seront produits et formulés à l'échelle pilote et seront transférées ultérieurement au monde socioéconomique pour une éventuelle application.	(BIOME)/FSS -LBPE/CBS Laboratoire Nutrition, Aliments Fonctionnels et Santé Vasculaire /FMM *UDPBRR/CBS*	Laboratoires Phenix (Sfax)
2	**PAQ-PAES (Porteur Dr. Wacim BEJAR**	Montage de spin-off de développement durable de procédés biotechnologique innovants d'ENZYmes industrielles (ENZYin)	Maturation technologique: procédés de production des produits Biotech Optimisation, formulation et production des enzymes à l'échelle pilote	LBMEB/ CBS *UDPBRR* /CBS	-Société "TEXPRO CORP" de textile » - Société JMAL "EJM" de

					détergence.
3	**PAQ-PAES Porteur Dr. Azza Hadj Sassi**	Production, formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques.	Optimisation, formulation et production d'enzymes fongiques à l'échelle pilote	LASEM/FMM *UDPBRR /CBS* LBME/CBS	SNCPA NOPAL
4	**PAQ COLABORA Biotech-INNOV'4 startups bénéficières «PhytoPLANT», «ASTRUM Biotech», «BiotechECOZYM» et la startup «Phytocare»**	'Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriels	Extrapolation et maturation de leur projet d'une part, la production et la formulation des quantités importantes des bioproduits pour leur commercialisation	LBPE/CBS LBMIE/CBS LB/CBS *UDPBRR/CBS*	Société Sahélienne du CuirSO.SA. CUIR - Société de détergence Jmal (EJM)

LBIOME : Laboratoire de Biodiversité Marine et Environnement ;
FSS : Faculté de science de Sfax ;
UVRR : Unité de valorisation des résultats de la recherche ;
LBME : Laboratoire de Biotechnologie Moléculaire des Eucaryotes ;
CBS : Centre de Biotechnologie de Sfax ;
LBMIE : Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et d'Ingénierie des enzymes ;
LASEM : Laboratoire des Systèmes électromécanique ;
FMM : faculté de Médecine de Monastir ;
SNCPA : la Société Nationale de Cellulose et de Papier Alfa ;
NOPALTunisie : Société tunisienne spécialisée dans la Production, la Transformation et l'Exportation du cactus.

US19CBS03 : Unité Prestataire de Services Analytiques (UPSA)

وحدة إسداء الخدمات التحليلية

Responsable : **Mme .Aida HMIDA-SAYARI**
Email : **aidahmida@yahoo.fr**

MEMBRES DE L'UNITE:

Nom et prénom	*Grades[1]/Spécialité*
Aïda HMIDA-SAYARI	Maître de conférences/ Génie Biologique
Najla MASMOUDI-FOURATI	Ingénieur principal/Agroalimentaire
Lobna JLAIEL	Technicienne principale / Chimie
Kamel WALHA	Technicien principal / Chimie
Nesrine KCHAOU	Technicienne principale / Agroalimentaire/ chimie industrielle
Emna SALHI	Ingénieur (Contractuelle)/Biologie Industrielle

OBJECTIFS GENERAUX DU SERVICE ANALYSES :

- Appui aux laboratoires de recherche pour la réalisation de leurs projets.
- Appui aux chercheurs d'autres universités/prestations de services
- Offre de services aux industriels en analyse chimique et en séquençage génomique
- Etablissement des conventions de recherche avec le monde socioéconomique
- Accréditation des analyses réalisées par les différentes plateformes de l'Unité

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

Le service d'analyse du CBS est doté de compétences qualifiés en analyse « Ingénieurs et techniciens » et d'équipements de pointes qui leur permettent de réaliser des analyses aux profits des chercheurs du CBS, des universitaires et des industriels.
Les différents types d'analyses effectués sont :

- Dosage quantitatif des sucres par HPLC : Polysaccharides, Monosaccharides ou sucres simples.
- Analyse quantitative des acides gras volatils (AGV) par CPG
- Analyse quantitative et qualitative des alcools et des solvants organiques par CPG.
- Analyse quantitative des phénols simples par HPLC.
- Analyse des acides gras à longues chaînes par HPLC.
- Séparation et purification des protéines et de certaines molécules actives par FPLC et HPLC.
- Analyse qualitative de composés en très faibles proportions dans un mélange par spectrométrie de masse.
- Détermination de la masse exacte de certaines molécules pures par LC/MSMS
- Séquençage d'ADN : plasmides, cosmides, phages, amplicons : lecture de 600 à 800 pb par migration.
- Séquençage génomique haut débit : d'exome, d'amplicon, de métagénome 16S, de small RNA: les lectures peuvent aller jusqu'à 250 nucléotides en single-read ou paired-end, soit un maximum de 7,5 Gigabases lues.
- Imagerie cellulaire par Microscope confocal et Cytomètrie en flux
- Quantification des acides nucléiques par spectrométrie dans l'UV (Nanodrop) et par fluorométrie (Qubit)
- Extraction automatisé des acides nucléiques à partir de tissu animal, tissu végétal et de microoraganismes
- Electrophorèse automatisée des acides nucléiques (Bioanalyzer)
- Amplification des acides nucléiques par PCR en temps réel (QPCR)

PLATEFORMES DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :

L'unité prestataire de services analytiques dispose d'une large gamme de techniques analytiques très modernes assurées par des appareils performants. Ces appareils permettent d'effectuer des analyses complexes avec un degré élevé de précision et de reproductibilité :

Nature de l'équipement utilisable		**DATE D'ACQUISITION**
Plateforme « Chromatographie et Spectrométrie de masse»	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse **GC/MS**	2006
	Hplc series 1100 agilent technologies	2006
	Hplc series 1260 agilent technologies DAD/RID	2013
	FPLC biorad	1997
	HPLC préparative	2006
	HPLC ionique	2009
Plateforme Génomique	Fluorimètre (Qubit)	2016
	Electrophorèse automatisée	2015
	Lecteur de plaques photométrique/Fluorimétrique	2015
	Séquenceur haut débit Miseq Illumina	2014
	QPCR en temps réel cfx96	2015
	spectrophotomètre UV/vis pour micro volume Nanodrop 2000 (x2)	2013
	Extracteur automatique d'acides nucléiques	2018
Plateforme d'Imagerie et de cytomètrie en flux	Molecular Imager VersaDoc	2009
	Cytomètre en flux	2017
	Un microscope à fluorescence (Olympus BX51)	2004

ACTIVITES DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :

- **Activité 1 :** Analyses chromatographiques par HPLC, FPLC et HPLC ionique

Il s'agit de l'analyse, l'identification, la quantification et la purification des substances ayant une ou plusieurs activités biologiques telles-que les protéines, les enzymes, les peptides, les toxines et autres molécules bioactives. Ces travaux répondent à de nombreux besoins dans des domaines aussi différents couvrants l'industrie pharmaceutique, para-pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, textile, détergence ainsi que des domaines se rapportant à l'alimentation animale, la production des biocomposites, la production des biopesticides et des antimicrobiens, etc ...

- **Activité 2 :** Analyses chromatographiques par GC/MS

Actuellement les principales analyses effectuées sont :

- Détermination de la composition des huiles essentielles dans différents extraits par GC-MS.
- Détermination des pesticides, hydrocarbures, stérols, tocophérols .. par GC-MS.
- Analyse des acides gras dans les produits alimentaires par GC-FID.

- **Activité 3 :** Analyse Génomique

- Extraction, quantification, électrophorèse des acides nucléiques
- Amplification en temps réel par PCR Q
- Séquençage automatique des acides nucléiques, Plasmide, fragments PCR
- Séquençage haut débit : exomes, génomes bactéries et champignons, ADN 16S de métagénome.

- **Activité 4 :** Imagerie cellulaire et cytométrie en flux

La cytométrie en flux permet l'analyse qualitative et quantitative, basée sur la taille, la granulosité et l'intensité de fluorescence d'éléments en suspension. Ces éléments peuvent être des cellules, des bactéries, des levures, mais aussi des constituants subcellulaires: noyaux, mitochondries, etc.
Les analyses effectuées par le sevice analyses sont principalement :

- Evaluation du cycle cellulaire de cellules marquées à l'iodure de propidium
- Suivi de la viabilité cellulaire/Apoptose
- Identification des microalgues dans un consortium/ marquage des bactéries par Syber Green
- Etude de l'abondance des bactéries hétérotrophes dans l'eau de mer

INVENTAIRE DES ANALYSES EFFECTUEES AU SEIN DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :AU PROFIT DES DIFFERENTES STRUCTURES DE RECHERCHES DU CBS POUR L'ANNÉE 2020

Tableau 1 : Inventaire des analyses effectuées au profit des chercheurs du CBS

TYPE D'ANALYSE	NOMBRE DES ANALYSES EFFECTUEES EN 2020
GC/MS	78
HPLC	201
FPLC	41
Cytomètre en flux	432
SEQUENCEUR MISEQ	10 RUNS
QPCR	227
BIOANALYSEUR	0
VARIOSKAN	84

INVENTAIRE DES ANALYSES EFFECTUEES AU SEIN DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES : SOUS FORME DE PRESTATION DE SERVICE

Outre les structures de recherches du CBS qui bénéficient de ces diverses prestations, l'UNITE effectue aussi des prestations payantes au profit du monde académique et socio-économique.

Tableau 2 : Inventaire des analyses effectuées au profit du monde académique et du tissu socio-économique

Bénéficiaire	Type d'analyse	Nombre d'analyses
Monde académique	HPLC/ GC/MS	53
Tissus industriels	HPLC/ GC/MS	90
TOTAL = 143		

ACTIVITÉS PROGRAMMÉES POUR 2021

- Développement des ressources humaines. Mettre en œuvre la politique de recrutement ou de formation selon les orientations stratégiques de la structure et les objectifs de développement visés.
- Organisation selon les instructions de l'accréditation ISO 17025 en collaboration avec l'unité spécialisée ''Qualité''
- Mettre en place un Intranet pour le compte du CBS qui assurera la circulation de l'information et la communication en interne.
- Maintenance, réparation et achat de pièces de rechange pour l'appareillage existant
- Récoltes des normes indispensables à la réalisation des prestations de services
- Achat de nouveaux appareils afin d'augmenter le potentiel analytique de l'unité et promouvoir davantage ses prestations et ses activités de recherche.
- Organisation de Workshop/formation au profit des chercheurs du CBS et du monde académique et socioéconomique

US19CBS04 : Unité Spécialisée de Qualité, Sécurité, Environnement et Accréditation (USQSE-Accréditation)

وحدة مختصة: الجودة، السلامة، البيئة والاعتماد

Responsable : Mr .Fathi ALOUI
Email : fathi.aloui@cbs.rnrt.tn

MEMBRES DE L'UNITE:

- **Fathi ALOUI :** Ingénieur Général et chef de l'Unité
- **Yesmine BOUGACHA :** License en Finance/ Assistante de direction (Poste contractuel)
- **Nadia DAOUD :** Attachée de direction/ Marketing (Temps partiel)

PRINCIPALES ACTIVITES DE L'UNITE

I. Thématiques de recherche Programme de recherche 2020

- **Activité 1 :** Démarche pour la certification du SMQ Intégré (Qualité, sécurité, Environnement) au CBS
- **Activité 2 :** Démarche pour l'Accréditation de quelques paramètres analytiques des laboratoires du CBS
- **Activité 3 :** Pérennisations et durabilité des systèmes QSE et Accréditation à installer au CBS

II. Programme de recherche 2020

II-1- Activité 1 : Démarche pour la certification du SMI-QSE (Qualité, sécurité, Environnement) au CBS

Dans le cadre de cette activité, plusieurs actions ont été réalisées :

- Constitution des comités au CBS formés par des représentants de différentes structures pour appuyer la démarche QSE :
  - Comité qualité
  - Comité Sécurité
  - Comité Environnement
- Diagnostic : analyse de l'environnement externe & interne du CBS (Travail réalisé aussi dans le cadre du projet PAQ-CR-2S)
- Etablissement d'un Plan d'orientation stratégique (POS) et Plan d'Action Stratégique (PAS) du CBS
- Réalisation d'un Diagnostic par rapport aux normes (ISO 9001/2015, 14001/2015/ISO45001/2018)
- Organisation des réunions pour sensibiliser le personnel du CBS afin de les impliquer davantage dans la démarche Environnement du CBS.
  - 5 Réunions du comité de l'environnement du CBS (le 16/10/2021, le 19/11/2021, le 26/01/2021, le 04/03/2021) : Au cours de ces réunions, les aspects environnementaux liées aux différentes activités du CBS ont été déterminées (Bruit, mauvaises odeurs, eaux usées, déchets chimiques, déchets DASRI, Déchets informatique et maintenance, déchets recyclables : Papier-carton, plastique…). Par suite des plans d'action ont été proposés pour assurer leur bonne gestion. Une convention a été signée avec une société agréée pour le traitement des déchets DASRI. Ces déchets sont transportés actuellement par la société pour traitement. Des moyens de collecte ont été acquis sur le budget PAQ-CR-2S et qui ont facilité la gestion de différents types des déchets (Sacs DASRI, Conteneurs à différents couleurs, conteneurs pour aiguilles…).
- Organisation de réunions pour sensibiliser le personnel du CBS à la démarche Sécurité.

- Comité Sécurité : Les réunions périodiques (au moins une réunion par mois) ont été consacrées aux moyens de sécurité à entreprendre au CBS pour limiter les risques et protéger la santé du personnel.
- Réunions SST en présence d'une représente de la médicine de travail : Ces réunions ont été consacrées essentiellement aux moyens de prévention contre la pandémie COVI19.

- Organisation des ateliers regroupant les membres de différentes structures du CBS pour discuter les différentes orientations du CBS et exigences des normes envisagées pour les appliquer dans chaque laboratoire ou service.
- Préparation avec le comité de pilotage du projet PAQ- CR-2S du CBS les TDR (Juin 2020) pour :
    - **LA MISE EN PLACE D'UN SYSTEME MANAGEMENT QUALITE-SECRITE- ENVIRONNEMENT ET L'ACCOMPAGNEMENT A LA CERTIFICATION SELON LES NORMES ISO 9001 VERSION 2015, ISO 45001 version 2018 et ISO 14001 version 2015**
- Dépouillement des dossiers et sélection d'un cabinet pour réaliser la mission (Cabinet IMPQ).
- Etablissement d'un contrat avec le cabinet IMPQ et planification des différentes actions de la mission avec objectifs :
    - **Certification du CBS pour le système de management QSE : Programmé pour le mois de Juillet 2021.**
- Organisation d'une formation au profit du personnel du CBS sur la mise en place du SI-QSE (Formation de 4 jours pour un groupe de 15 participants de différentes structures du CBS (Action financée dans le cadre du projet PAQ-CR-2S).
- Rédaction des documents QSE (Processus, procédures, Formulaires, instructions) avec l'assistance du l'Expert IMPQ et en concertation avec les responsables CBS.
- Coordination de l'application des procédures (surtout pour l'environnement et la sécurité) :
    - Détermination des aspects environnementaux du CBS et leurs effets (Sécurité et environnement).
    - Achat des outils de la gestion des déchets (Tri à la source) sur le budget PAQ-CR-2S.
    - Collaboration avec des médecins de travail pour former le personnel à la gestion des déchets biologiques et chimiques et élaborer un rapport de diagnostic sur les différents postes au CBS et l'dentification des risques.
    - Collaboration avec la médicine de travail (Hôpital Hedi Chaker de Sfax) par un diagnostic SST du CBS et identification de différents postes et leurs exigences en moyens collectifs et individuels de sécurité.
- Organisation des réunions sous la direction du DG à une fréquence d'une fois par semaine (t ous les jeudi) en présence du SG, responsable maintenance, chef de l'Unité TT pour suivre les différentes actions programmées dans le cadre de la démarche QSE :
    - Préparation du système documentaire
    - Diffusion des documents QSE à travers des réunions regroupant les pilotes des processus
    - Application des exigences normatives et réglementaires (formation d'une équipe HSE, choix d'un point de rassemblement, signaux et affiches sécurité…).
    - Aménagement d'un local pour le stockage des déchets chimiques avant le transport par une société agréée.
    - Aménagement d'une aire pour la collecte des déchets de recyclage triés.

II-2- Activité 2 : Démarche pour l'Accréditation de quelques paramètres analytiques des laboratoires du CBS

Dans le cadre de cette activité, plusieurs actions ont été réalisées :

- Constitution des comités au CBS formée par des représentants de différentes structures pour appuyer la démarche Accréditation :
  - Comité Accréditation
  - Comité Métrologie
- Réalisation d'un Diagnostic par rapport à la norme ISO 17025/2017
- Organisation des réunions pour sensibiliser le personnel du CBS afin de les impliquer davantage dans la démarche Accréditation du CBS.
- Organisation des ateliers regroupant les membres des comités Accréditation et Métrologie pour discuter les différentes orientations du CBS et exigences de la norme ISO 17025/2017.
- Préparation avec le comité de pilotage du projet PAQ- CR-2S du CBS les TDR (Juin 2020) pour :
  - **LA MISE EN PLACE D'UN SYSTEME D'ACCREDITATION DU CBS AVEC ACCOMPAGEMENT POUR L'ACCREDITATION de QUELQUES PARAMETRES ANALYTIQUES SELON LA NORME ISO 17025/2017**
- Dépouillement des dossiers et sélection d'un cabinet pour réaliser la mission d'accréditation (IMPQ).
- Etablissement d'un contrat avec le cabinet IMPQ sélectionné et planification des différentes actions de la mission avec objectif :
  - **Accréditation du CBS pour quelques paramètres sélectionnés avant la fin de l'année 2021.**
- Recensement des besoins des industriels en prestations analytiques
- Organisation des réunions avec l'expert du cabinet IMPQ et les responsables des structures pour sensibiliser à l'accréditation et sélectionner les paramètres à accréditer.
- 3 paramètres ont été sélectionnés pour préparer leurs dossiers d'accréditation :
  - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide selon la norme EN 13624 (Laboratoire LBPE)
  - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité Bactéricide en médecine selon la norme EN 13727 (Laboratoire LB)
  - Analyse des sucres par HPLC (Unité UPSA)

II-3- Activité 3 : Pérennisations et durabilité des systèmes QSE et Accréditation à installer au CBS

Dans le cadre de cette activité, plusieurs actions ont été réalisées :

- Sensibilisation régulière du personnel aux exigences de la qualité, sécurité et environnement.
- Faire des actions pour la protection de l'environnement par contrôle de tri des déchets et le respect des instructions en vigueur.
- Formations réalisées au profit du personnel du CBS
  - **Thème 1** (2 jours de 08 au 09/02/2021 pour un groupe de 15 participants) : Outils de la qualité utilisés dans les processus de Management

    Objectifs de formation :
    - Savoir utiliser la méthode des 5 "pourquoi ?"
    - Organiser un atelier de travail
    - Résoudre les problèmes avec la méthode 8D

- Savoir utiliser le diagramme d'Ishikawa
- Comment faire un Brainstorming : la méthode
- Comment rédiger un plan d'action ?

- Continuer à assurer l'exécution des bonnes pratiques aux laboratoires acquises suite à la certification du CBS selon la norme ISO 9001/2015.
  - **Thème 2** (2 jours de 02 au 03/02/2021 pour un groupe de 15 participants): La satisfaction client et le traitement des réclamations selon les normes ISO 10002 :2018 & ISO 10004 :2018

    Objectif de la formation : - Avoir connaissance de la définition et à la mise en œuvre de processus de surveillance et de mesure de la satisfaction du client.

    - Savoir-faire l'analyse et évaluation des réclamations des clients afin d'améliorer la qualité des produits et services.

III- Gestion financière de l'US pour l'année 2020

Rubriques dépenses	**Prévision actualisée**	**Solde après engagement**	**Solde après paiement**
Equipements	0	0	0
Consommables et petit matériel	3.200,000	2.311,615	2.311,615
Missions	0	0	0
Stages	0	0	0
Séjours et déplacements	200,000	200,000	200,000
Manifestations scientifiques	1.000,000	1.000,000	1.000,000
Agents contractuels	7.200,000	7.200,000	7.200,000
Documentations et publications et ressources numériques	0	0	0
Maintenance équipements et charges divers	8.400,000	5.270,300	5.270,000
Total	**20.000**	**15.981,915**	**15.981,915**

- 7.200 DT ont été programmés pour payer un contrat de prestation des services (600 D Brut* 12 mois à partir du mois de mars 2021) : Une candidate a été sélectionnée après un dépouillement et le dossier a été validé par le ministère (Melle Yesmine Bougacha fait partie actuellement de l'équipe de l'unité à partir du mois de mars 2021).
- A cause de la pandémie Covid 19 et ces effets sur l'animation scientifique (Surtout les déplacements et la participation à des manifestations scientifiques), les dépenses programmées pour les rubriques : déplacements et séjours ainsi que les manifestations scientifiques, n'ont pas été exécutés durant l'année 2020. Cependant nous avons participé à plusieurs Webinaires sur les normes QSE.
  - Séminaire régional « Assurance qualité dans l'Enseignement Supérieur : Accréditation et évaluation institutionnelle » le 03/12/2020, organisé par le bureau national ERASMUS+ Tunisie.
  - Training organised by « BRITCH COUNCIL », March 2021. « Quality assurance and qualifications recognition in Tunisia ».

US19CBS05 : Unité d'Information et de Documentation Scientifique (UIDS)

وحدة الإعلام والتوثيق العلمي

unité d'information et documentation

Responsable : **Mme .Nadia MARRAKCHI**
Email : **nadia.marrakchi@cbs.rnrt.tn**

MEMBRES DE l'UNITE

Nom et prénom	Grades[1]/Spécialité
Nadia MARRAKCHI	Technicienne en chef/ Management de l'Ingénierie
Nadia DAOUD	Attaché de direction/ Marketing
Hedia BEN BELGACEM	Technicienne principale/ Informatique liée à la gestion
Najla KHARRAT	Maitre de conférences/ Génomique & Bioinformatique

OBJECTIF GENERAL:

L'objectif principal de l'Unité d'Information et de Documentation Scientifique (UIDS) est de promouvoir et mieux faire connaître les actions et activités du Centre en termes de Recherche et Développement « R&D » menées par un très grand nombre d'acteurs du CBS. Ceci permettra de donner ainsi une meilleure **visibilité** de notre institution sur les scènes nationale et internationale notamment en termes de participation dans des manifestations scientifiques et projets internationaux de RDI et d'ouverture sur l'environnement socioéconomique.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- Mise à disposition des chercheurs du centre ainsi que des acteurs du tissu universitaire régional et national, un accès sécurisé et rapide aux sources d'informations scientifiques et aux bases de données de renommée internationale via une bibliothèque numérique garantissant un environnement de recherche bibliographique favorable
- Réalisation d'une veille informationnelle/documentaire
- Assurer ue meilleure organisation de la bibliothéque et supervision de la production documentaire
- Gestion électronique de la documentation
- Participation à l'organisation de manifestations scientifiques
- Participation accrue à des projets de RDI par la veille proactive sur les appels à projets par des portails spécialisés Européens et autres

PRINCIPALES ACTIVITES DE l'UIDS

Les activités de l'Unité d'Information et de Documentation Scientifique lui permettant d'atteindre les objectifs fixéx sont les suivantes :

Activité1 : Veille documentaire

Activité2 : Gestion de l'information et de la production scientifique

Activité3 : Communication et diffusion de l'information scientifiqueet technique

- **Activité 1 :** **Veille informationnelle/ documentaire**

L'objectif de L'UIDS étant la quête d'informations scientifiques pertinentes et utiles (appels à projets R&I, manifestations scientifiques,articles, brevets ,.) pour la diffuser auprés de la communauté scientifique du centre.

A cet effet et en cours de 2020, les actions réalisées dans le cadre de cette activité sont comme suit :

Participation à un atelier de formation sur la thématique « Science with and For Society » dans le cadre du programme H2020 de l'UE le 16 Janvier 2020 au local du MESRS et diffusion des appels ouverts à la communauté scientifique du CBS.

- Publication de manifestation d'intérêt pour l'appel H2020 Swafs 30-2020 (éthique en recherche) sur le portail de la Commission européenne (funding and tenders) et collaboration avec le PCN Swafs national pour la recherche de partenaires (diffusion dans le réseau SIS net) afin de joindre un consortium. Suite à la réponse d'un organisme espagnol a notre intérêt, j'ai participé à des séances de coaching en ligne**, organisées par l'UGPE** et assuré par un expert international et le PCN SWAFS national (27 février 2020, 8 Avril 2020).

- Diffusion des appels à projets dans le cadre des appels BBI-JU (Avril 2020)

- Diffusion des appels H2020 Green Deal en Septembre 2020

- Diffusion des appels à projets dans le cadre des organismes internationaux : COMSTECH ; ICGEB, .. à la communauté scientifique et technique du CBS

-Participation à des formations organisées en ligne (webinaire) par l**'UGPE-MESRS :**

04 -08/05/2020	Participation à la Formation EU505 online « **Construire une cellule de PMO pour les Projets Européens de Recherche et Innovation » (5j)**
28-29/10/2020	Participation la Formation EU505online **« Coordonner un réseau de porteurs de projets eyropéens de R&I »**
30Novembre-04 /12/2020	Participation à la Formation EU506 online **«** Gérer un projet européen de recherche et Innovation **»**

- **Activité 2 :** **Gestion de l'information et de la production documentaire**.

L'UIDS via la bibliothèque numérique assure aux chercheurs du centre, ainsi qu'aux acteurs du tissus universitaire régional et national, un accès sécurisé et rapide aux sources d'informations scientifiques et aux bases de données de renommé internationale délivrées par le CNUDST garantissant ainsi un environnement de recherche bibliographique favorable permettant de :
- Constituer et maintenir un fonds documentaire et des bases de données tous supports, sur place ou à distance,
- Mettre en place des outils de recherche adaptés aux besoins des demandeurs d'information et des utilisateurs potentiels
- Gérer les abonnements de presse et de supports documentaires
- Assister les utilisateurs dans leurs recherches d'information

- Concevoir et mettre en œuvre des procédures de gestion documentaire conformément au SMQ ISO 9001/2015 du CBS
- Offrir l'accès à l'information scientifique et technologique sur les thématiques et domaines d'activité de l'institut et mettre à disposition de ressources bibliographiques pertinentes et fiables
- Manager et valoriser l'information numérique

A cet effet et en cours de 2020, les actions réalisées dans le cadre de cette activité sont comme suit :

- Préparation de rapports statistiques concernat les indicateurs de performance de recherche à partir des accès libres aux bases de données et ressources électroniques accessibles à partir du site du CNUDST à travers l'adresse IP : Elsevier, Wiley Interscience, Springer, Scopus, Springer Protocols, CABI, Clarivate Analytics, CAIRN

-Participation à un webinaire d'initiation sur l'usage de l'outil Scival d'Elsevier, un nouvel outil bibliométrique d'évaluation de la recherche, coordonné par le CNUDST et ce le 21 Septembre 2020

- Participation à une formation en ligne avec Elsevier : « How to publish successfully your manuscript with national sciences » et ce le 26 Novembre 2020

- **Activité 3 : Communication et diffusion de l'information scientifique et technique**

L'information scientifique et technique est l'ensemble des informations produites par la recherche et nécessaires à l'activité scientifique. La mission principale de l'UIDS est de communiquer et d'assurer la large diffusion de ces informations et un accés rapide et sécurisé aux résultats de la recherche scientifique. Ceci se concrétise par nottament :
-Offrir l'accès à l'information scientifique et technologique via le site web et et les réseaux sociaux(page Facebook.du centre).
-Mise à jour du site web du Centre et refonte totale de ce dernier
-Créer des supports de communication promotionnels Film, affiches, flyers, carte visite, Participation à l'organisation d' événements au sein du Centredépliants, newsletter, revue de veille…
-La réalisation des rapports / reportings de l'UIDS (newsletter,…) et coordination de la rédaction du rapport d'activités scientifiques du centre
-Participation à des conférences, séminaires, foires, colloques ou salons spécialisés liées au secteur d'activités du Centre
-Coordination et animation de formations et de réseau documentaire en collaboration étroite avec d'autres centres et instances locales (CNUDST , CNI, etc.) (non encore réalisé en raisonde la pandémie du COVID 19)
-Coordination avec des spécialistes de l'audiovisuel pour la réalisation d'outils de communication (Poster, brochure, cartes visite, dépliants,…) et films promotionnel et documentaire des activités du CBS ;
A cet effet et en cours de 2020, les actions réalisées dans le cadre de cette activité sont comme suit :

- Continuer à assurer la coordination en IST au CBS avec le CNUDST (Nadia Marrakchi Chef UIDS)
- Alimentation permanente du contenu de la page Facebook créée (Nadia Marrakchi+ Nadia Daoud)
- Mise à jour des données du site web et lancement d'une nouvelle conception d'un nouveau design (Nadia Marrakchi + Nadia daoud + Hedia ben Belgacem)

- Réalisation d'un film promotionnel des activités R&D du CBS en collaboration avec des jeunes diplômés de l'audiovisuel de l'ISIMS (technopole de Sfax) (Nadia Marrakchi+ Nadia Daoud + Hedia Ben Belgacem).
- Utilisation d'un support numérique (évran TV) pour informer quotidiennement les chercheurs du CBS de tout type d'informations utilies (appels d'offres, appel à candidature, prix, …).
- Coordinnation de la rédaction du rapport d'activités du centre et autres rapports scientifiques
- Préparation d'une nouvelle identité visuelle du Centre (logo, charte graphique)

CONCLUSION

L'UIDS continuera à :

- Répondre aux besoins exprimés par la communauté Scientifique du CBS et de la région,
- Mettre à la disposition des chercheurs du CBS et autres des moyens analytiques de haut niveau, pour leur permettre de développer des travaux de recherche de grande qualité scientifique

Pour parvenir à réaliser ses objectifs, l'Unité devra miser sur :

- La diversification des outils informatiques permettant de diffuser les résultats de la veille tels que le courrier électronique, les alertes, les flux RSS (Rich Site Summary) et Les agrégateurs qui permettent d'organiser sa veille d'information, Exemples : Google reader , Scoop.it, Netvibes .. ainsi que les réseaux sociaux Facebook , Linkedin, Twitter..
- La mise en œuvre d'un plan de gestion de l'information
- La participation à des formations spécialisées sur la gestion de l'information
- Organisation/ participation à des manifestations scientifiques
- L'acquisition d'un logiciel d'archivage et de gestion électronique des documents
- Développer la gestion documentaire numérique
- La conception d'un portail Web qui offre une porte d'entrée unique sur un large panel de ressources et de services (messagerie électronique, forum de discussion, espaces de publication, moteur de recherche) .

Centre de Biotechnologie de Sfax

Route de Sidi Mansour km 6,5 BP « 1177 » 3018 Sfax –Tunisie
Tél : (+216) 74 871816
Fax : (+216) 74 875818
Email : contact@cbs.rnrt.tn

http : //www.cbs.rnrt.tn/

Centre de Biotechnologie de Sfax