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 2022

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

RA / CBS. 2022

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 7
8. Service maintenance 8
9. Métrologie 8
10. Coopération Internationale 9
11. Ouverture sur l'environnement national 10
12. Ouverture sur l'environnement international 13
13. Production Scientifique 17
14. Séminaires, journées et ateliers scientifiques 17
15. Prix et distinctions 20
16. Activités des Laboratoires de Recherche
- LR15CBS01: Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE) 22
- LR15CBS02: Laboratoire de Biotechnologie Moléculaire des Eucaryotes (LBME) 39
- LR15CBS03: Laboratoire de Biotechnologie et Amélioration des plantes (LBAP) 54
- LR15CBS04: Laboratoire des Biopesticides (LB) 67
- LR15CBS06: Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et d'Ingénierie des Enzymes (LBMIE) 81
- LR15CBS07: Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC) 98

17. Activités des Unités Spécialisées
- US15CBS01: Unité spécialisée de Valorisation des résultats de Recherche (USVRR) 113
- US19CBS02: Unité spécialisée de Transfert de Technologie (USTT) 121
- US19CBS03 : Unité Prestataire des Services Analytiques (UPSA) 126
- US19CBS04: Unité Spécialisée de Qualité, Sécurité, Environnement et Accréditation (USQSE-Accréditation) 132
- US19CBS05: Unité d'Information et de Documentation Scientifique (UIDS) 136

Message du Directeur Général

En 2022, le CBS se trouve à la fin de son contrat programme 2019-2022. C'est à travers une étroite collaboration entre ses différentes structures (six laboratoires de recherche, quatre unités spécialisées et une unité de documentation et d'informations scientifiques) que le CBS a :

- Exploré de nouveaux projets et partenariats en renforçant d'avantage son réseau de coopération internationale : 26 projets de Coopération internationale (Horizon Europe, H2020, USAID, ENI CBC Med, PRIMA,PHC-Utique, Coopération Tuniso-Qatari, ..)
- Renforcé son expertise dans le domaine des biotechnologies grâce à son implication dans une quarantaine de projets R&D et conventions d'ouverture sur l'environnement socio-économique nationaux dont notamment : 8 projets PRF, 9 PEJC, 1 projet PAQ-COLLABORA, 1 projet PAQ-CR-2S, 4 projets PAQ-PAES et 10 projets MOBIDOC post-doc)
- Démontré son engagement à maintenir et renforcer son SMI-QSE (obtenu le 24-12-2021) par l'obtention de l'accréditation (*Septembre 2023*).
- Continué à se distinguer par une production scientifique très honorable : (182 Publications dans des revues indexées à IF soit un taux supérieur à 3 publications/chercheur/an et 5 brevets d'invention nationaux), tout en contribuant à la formation diplômante et à l'encadrement des jeunes scientifiques (13 thèses de Doctorat et 22 Mastères ont été soutenus durant 2022).

L'année 2022 a été particulièrement marquée par l'obtention d'un projet Européen de type Twinning, **NGS-4-ECOPROD.** Le CBS a mérité de coordonner ce projet en collaboration avec 2 leaders mondiaux dans la technologie de NGS. Financé dans le cadre du Programme Horizon Europe, NGS-4-ECOPROD vise à renforcer les capacités technologique et analytique du CBS pour exploiter efficacement sa plateforme NGS et développer de nouveaux produits biotechnologiques innovants & écologiques : Biopesticides, Enzymes, Bioplastiques, Anti-oxydants. Cette dynamique positive dans laquelle s'inscrit le CBS d'œuvrer à la transition écologique qui répond à la fois aux grands enjeux environnementaux mondiaux et permet d'améliorer sensiblement la santé publique, est rendu possible par l'engagement et l'œuvre de l'ensemble des chercheurs, des personnels administratifs et techniques, des étudiants et des partenaires académiques et professionnels du centre.

Enfin, je remercie chaleureusement le ministère de tutelle pour la confiance renouvelée en me re-confiant la direction générale du CBS.

Prof. Slim TOUNSI
Juin 2023

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)
- LR15CBS06: Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et d'Ingénierie des Enzymes (LBMIE)
- LR15CBS07 : Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire (LPCMC)
- US15CBS01 : Unité spécialisée : Valorisation des résultats de Recherche (USVRR)
- US19CBS02: Unité spécialisée de Transfert de Technologie (USTT)
- 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 2022. Il résume les efforts déployés par les différentes équipes de recherche et de valorisation. Il contient, en plus, un aperçu sur toutes les performances et 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 les 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	2022
Enseignants Chercheurs	55
Ingénieurs	16
Corps Technique	33
Administratifs + ouvriers	32
Effectif Total	**136**

Jeunes chercheurs	2022
Chercheurs Post-doc sous contrat CBS	58
Etudiants en thèse	46
Etudiants en mastère	12
Effectif Total	**116**

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
Samir Bejar	Professeur
Ali Faouzi Gargouri	Professeur
Ahmed Rebaï	Professeur
Lotfi Mellouli	Professeur
Mohamed Sami Aïfa	Professeur/ Directeur de laboratoire
Kaïs Jammousi	Professeur
Habib Khoudi	Professeur
Riadh Ben Salah	Professeur
Bassem Jaouadi	Professeur
Aïda Hmida	Professeur/ Directeur de laboratoire
Hichem Azzouz	Maître de conférences
Sonia Khoufi	Professeur
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 de conférences
Sami Mnif	Maître de conférences
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 de conférences
Fatma Driss	Maître Assistante
Nedia Zaari	Maître Assistante
Dorra Abdelmalek	Maître Assistante
Mohamed Ali Mesrati	Maître Assistant
Ikram Zaidi	Maître Assistante
Slim Smaoui	Maître de conférences
Nasim Whichi	Maître de conférences
Soumaya Triki	Maître Assistante
Kawthar Feki	Maître Assistante

Ameni Farhat	Maître Assistante
Sameh Sellami	Maître Assistante
Maroua Drira	Maître Assistante
Sana Bardaa	Maître Assistante
Amina Maalej	Maître Assistante
Imen Trabelsi	Maître Assistante
Dalel Daassi	Maître Assistant
Abdallah Choura	Ingénieur Principal/ Secrétaire Général
Mounir Bouattour	Ingénieur en chef/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/ Directeur Unité Spécialisée
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

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**)

5. Budget du CBS en 2022

Budget provenant du Ministère en DT	Titre I: 493000,000 DT
	Titre II: 520000.000 DT
	Equipements scientifiques et entretien des bâtiments : 600000,000
	Titre II (Projets des jeunes chercheurs) : 40000,000 DT
	Titre II (Projets PRF) : 160000,000 DT
	Titre II (PAQ) :85000 DT
Total budget ministère de tutelle	**1898 000,000 DT**
Secteur économique	107 683,487DT
Coopération internationale : 1/Projets multilatéraux 2/ Projets bilatéraux	 116000,000 DT +3608264.860 (Projet NGS-4-ECOPROD) 217500.000 DT
Coopération internationale (Total)	3 941 764,86DT
Total ressources propres (Secteur économique + Coopération internationale)	**4 049 448,347DT**

6. Equipements Lourds Communs du CBS

Nature de l'équipment	Date d'acquisition	Bénéficiaire
Chromatographie liquide haute performance avec détecteur RID et MWD AGILENT 1100 SERIES	2006	UPSA-CBS
Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse GC/MS	2006	UPSA-CBS
Système de séquençage HAUT DÉBIT MiSeq v2 ILLUMINA	2013	UPSA-CBS
Chromatographie liquide haute performance avec détecteur DAD/RID	2013	UPSA-CBS
PCR quantitative en temps réel avec HRM (High Resolution Melting) BIORAD CFX96	2015	UPSA-CBS
Lecteur de plaques VARIOSKAN FLASH THERMOSCIENTIFIC	2015	UPSA-CBS
Électrophorèse automatisée "BIOANALYSER" AGILENT 2100	2015	UPSA-CBS
Cytomètre en flux ATTUNE NXT LIFE TECHNOLGIES	2017	UPSA-CBS
Automate d'extraction des acides nucléiques King Fisher Duo Prime, type 706	2018	UPSA-CBS
PCR digitale A29738	2021	UPSA-CBS
Système de photo-documentation pour membranes de blot et gels Fusion Solo S	2021	UPSA-CBS
Chromatographie liquide haute performance avec 3 détecteurs DAD/RID/FLD	2021	UPSA-CBS
Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse GC/MS	2021	UPSA-CBS
Séquenceur 4 capillaires Seq Studio	2022	UPSA-CBS
Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse UPLCMS/MS (Maldi ESI)	2022	UPSA-CBS
Fermenteur Biolafitte 20L	1984	UVRR-CBS
Fermenteur Biotron SP 100L	2009	UVRR-CBS
Fermenteur Biolafitte 430L	1981	UVRR-CBS
Fermenteur infors AG 3 et 5L	2006	UVRR-CBS
Fermenteur Chemap F Z3000	1990	UVRR-CBS
Chaudière de production de vapeur industrielle Timbre 10	2008	UVRR-CBS
Evaporateur Buchi 186 capacité 50L	1992	UVRR-CBS
Centrifugeuse continue CEPA Z 101G	2007	UVRR-CBS
Lyolphilisateur semi pilote SMH 15	1992	UVRR-CBS
Unité de filtration tangentielle Gamma filtration (MF 0.2 m^2 et UF 0.1 m^2)	1991	UVRR-CBS
Atomiseur Buchi190	1998	UVRR-CBS
Broyeur à marteau	2022	UVRR-CBS
Aw mètre	2012	UVRR-CBS
Appareil de dosage d'azote par méthode Kjeldahl (minéralisateur, distillateur et titrateur)	2018-2022	UVRR-CBS
Unité CO2 Supercritique capacité 10 L	2022	Hall technologique-CBS

7. 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 2022, 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)

8. Métrologie

Créé depuis 2017, le comité de métrologie piloté par Mr Mounir BOUATTOUR, pilote processus « Maintenance Equipements et Infrastructures (MEI) » et Mme Hekma AYADI (Intérim). En 2022 ,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 le contrat programme du CBS (2019-2022), le comité Métrologie a assuré la gestion du parc de pesage, de volume et de température en collaboration 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 deux paramètres analytiques identifiés par le CBS pour être accréditées en 2023.

9. Coopération Internationale

Type de la Coopération	Nombre de Projets en cours de 2022
Multilatérale	**17**
Bilatérale	**7**
Avec un Organisme International	**2**

En cours de 2022, le nombre de projets dans le cadre de la coopération internationale a atteint 26 projets dont 58% relevant de la cooperation multilatérale notamment avec l'UE (Horizon Europe, H2020, PRIMA, ENI CBC MED ,ERANETMEd, ARIMNET2, ,..)

a/ Coopération Multilatérale

Durant l'année 2022, Le CBS a été impliqué dans 4 nouveaux projets :

-**Un projet HORIZON-Europe Twinning: NGS-4-ECOPROD** : « From next generation sequencing microorganisms towards ecofriendly biotech-based products » dont il assure la coordinnation avec 2 partenaires leaders en UE dans la technologie de NGS

-**Un Project PRIMA AgrEcoMed -**2022 (2022-2025): "New AgroEcological approach for soil fertility and biodiversity restoration to improve economic and social resilience of Mediterranean farming systems"

- Un projet ARIBiotech du Programme IEV de cooperation transfrontalière Italie-Tunisie: *2022-2023.* Alliance de Recherche et d'Innovation en Biotechnologie bleue pour la valorisation des déchets marins Projet coordonné par l'INSTM.

- Un Projet CIVIS' de cooperation interuniversitaire dans le cadre du programme ERASMUS + de la CE (2022- 2023): Towards a sustainable agriculture in a warmer climate: An integrated approach.

Par ailleurs, le CBS a continué à entretenir 11 projets dans le cadre de coopération multilatérale :

- 1 projet **PHC-Maghreb (FranMghZYM 2020-2023)**
- 3 projets **UE/H2020 : IPM-4-Citrus , SEED et MICAFRICA**
- 1projet **InnoVa**: German-African
- 1 projet **ARIMnet2 :PYRODIGEST** dans le cadre de la coopération Tuniso-Euromed.
- 2 projets **EU-PRIMA : EXPLOWHEAT et IMPRESA**
- 1 projet **ENI CBC MED Programme: CEOMED**
- 1 projet dans le cadre de la coopération Tuniso-Euroméditéranéenne **ERANETMED : BIOGASMENA**.
- 1projet Tuniso-Japonais **SATREPS**
- 1 projet **i-Coop 2019**
- 1 projet **LMI-COSYS-MED**: Contaminants et écosystèmes marins sud méditerranéens .

b/ Coopération Bilatérale

Durant l'année 2022, le CBS a été impliqué dans 3 nouveaux projets dont 2 PHC Utique de coopération bilatérale dans le cadre de coopération **Tuniso-Francaise et 1 dans le cadre de la coopération Tuniso-Coréenne**

Par ailleurs il a continué à entretenir 4 projets :

- 1 projet **PHC-Utique** dans le cadre de coopératon **Tuniso-Française**
- 3 projets R&D dans le cadre de la coopération **Tuniso-Algérienne**

c/ Organismes internationaux

Durant l'année 2022, le CBS a été impliqué dans un nouveau projet Tuniso-Qatari financé par Qatar National Research Fund -QNRF intitulé : Halotolerant bacteria-based Biofertilizer: Promising Alternative Towards Improvement of the Plant Productivity, Salt Tolerance and Fruit Quality et a continué à entretenir 1 projet Américain PEER financé par **USAID**.

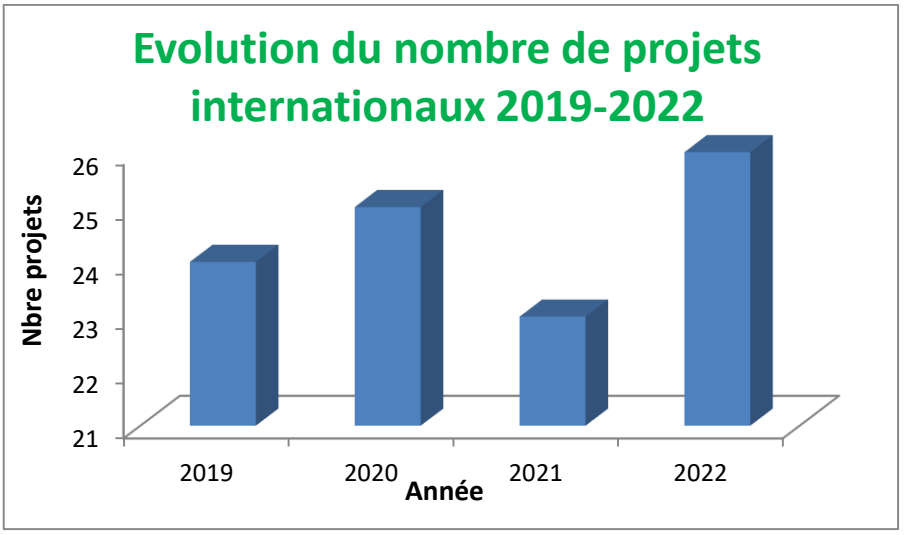


Fig.1 Evolution du nombre de projets de CI 2019-2022

10. Ouverture du CBS sur son environnement national en cours de 2022

Durant l'année 2022, le CBS a noué trois nouvelles conventions de coopération R&D et VTT avec 1/la Société Tunisienne de Savon et de produits détergents **TSPD** 2/ la startup **Astrum Biotech** , 3/ La Société **Philadelphia Pharma**, et a continué ses collaborations avec :

- la Société **SOTULUB** depuis 2016
- La Société **Nopal Tunisie** depuis 2018
- La Société **CHIMI-DET** depuis 2021

Par ailleurs , 6 nouvelle conventions cadres de coopération en R&D ont été signées en 2022 avec **: ISBS** ; **GREENWAY MAKER** ; **ESPIn ; IRA Medenine ; FSG** et **INRAT** en plus de la convention en cours depuis 2021 signée avec **l'ISET Sfax.** A cet effet, 6 nouvelles conventions spécifiques ont été signées en 2022 avec : **CHU Habib Bourguiba Sfax ; INSTM ; FST ; FMS ; FSS et FPhM.** En courrant de 2022, un bon nombre de prestations de service sont été réalisées par le sstructures de recherche du Centre notamment le LBPE, l'UPSA et l'USVRR pour le compte du tissu industriel opérant dans les domaines de Biotechnologie industrielle, environnementale, végétale et de la santé.

Le CBS 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.Fatma El Gharbi)-ANPR :** Montage d'une startup pour la production d'enzyme comme additif alimentaire en alimentation animale. Bénéficiaire : LBMIE-CBS
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. 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.
5. **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
6. **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 ».
7. **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
8. **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)
9. **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
10. **Convention MOBIDOC (Post-doc de Melle Karama Hamdi-ANPR), 2020-2022** : « Recherche, caractérisation et Production de molécules bioactives à effet antibactériens et antifongiques à partir des céréales (blé et orge) et des légumineuses (luzerne) pour des applications pharmaceutiques et paramédicales ». Organisme bénéficiaire LBAP-CBS

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 (8 projets de Recherche Fédéré PRF) :

1. ***PRF 2019-D1P1 2019-2024:*** Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes. Le LBPE est une équipe partenaire.
2. ***PRF 2017-D6P1 2018-2023:*** 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 2020-D3P2 2020-2022*:** Tests Moléculaires à visée théranostique et diagnostique pour une meilleure prise en charges de patients atteints de cancer.
4. ***PRFCOV19 2020-DDP2 2020-2022*** :Développement d'outils de diagnostique et thérapeutiques (*coordinateur : Pr Slim Tounsi*)

5. ***PRFCOV19 2020-GP2 2020-2022 :*** Aide à la Décision basée sur l'Analyse des GEnomes chez des patients covid-19 tunisiens
6. ***PRF 2018-CBS 2019-2022:*** Plateforme d'Analyse BigData pour l'évaluation des Risques d'Allergies Alimentaires et d'aide à la DécISion pour le consommateur en Tunisie « PARADIS »
7. ***PRF 2017-2022 en collaboration avec Pr. Momen Kallel*** : 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
8. ***PRF 2017-2022 en collaboration avec Pr. Ahmed Mliki*** :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

III/ Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC

En cours de 2022, 1 nouveau projet PEJC a été accepté et 8 autres ont été renouvelés :

1. Titre du projet : «Exploring barley Late Embryogenesis Abundant (LEA) genes for improving tolerance to climate change » **(Coordinateur: Dr. Ikram Zaidi)**
2. Titre du projet: « Transcriptomic Analysis of Abiotic Stress Response in Wheat » (**Coordinateur: Dr. Mohamed Nejib Saidi)**
3. 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)**
4. 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)**
5. Titre du projet:« Valorisation et recyclage des eaux usées issues de la société Tunisienne de Levure pour la production des biopesticides à base de la bactérie entomopathogène *Photorhabdus temperata* » **(Coordinateur : Dr. Wafa Jallouli**)
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)**
8. Titre du projet **: «** Sélection et caractérisation de molécules anti-agrégantes à vocation thérapeutique pour les pathologies cardio-vasculaires **» (Coordinateur : Dr Basma Hadj Kacem)**
9. Titre du projet : « Un nouveau détergent-désinfectant biologique destiné pour les industries agro-alimentaires » (**Coordinateur : Dr Inès Belhaj)**

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

- **Un projet PNRI Dégraissage-Reverdissage CNCC-CBS-ENIS** en cours depuis 2017 **2017-2022** 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 2022, le CBS a continué à entretenir 4 projets (1 PAQ Collabora, 2 PAQ-PAES et 1 PAQ CR 2S)

1. Projet **PAQ-Collabora** « BIOTECH INNOV » intitulé **: « Développemnt de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriel »**
2. Projet **PAQ- PAES** intitulé : **« Production , Formulation et commercialisationd'enzymes fongiques pour diversesapplications biotechnologiques »** ***(Dr Azza HADJ SASSI)***

3. Projet **PAQ- PAES** intitulé : **« Test génétiques pour le diagnostic et la thérapie en Oncologie»** ***(Dr Rania ABDELMAKSOUD)***
4. Projet **PAQ-Gouvernance et capacité de gestion (PAQ CR 2S) Système Management intégré Qualité- Sécurité -Environnement & Accréditation**

11. Ouverture du CBS sur son environnement international

A l'échelle internationale, le CBS a continué sa collaboration avec l'université de/ Selcuk University-Konya-Turkey et Sapienza de Rome –Italie aussi bien qu'avec la société INRA transfert de France**.**

a/ Missions à l'Etranger en 2022:

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Souad Rouis	IPM4Citrus	Liban	Du 01 au 15 Février 2022
Faiçal Boukhili	IPM4Citrus	Liban	Du 05 au 22 Mai 2022
Bassem Jaouadi	PHC-Maghreb	Maroc	Du 15 ao 21 mai 2022
Ahmed Rebaii	LPCMC	Niger	Du 28 Mai au 02 juin 2022
Wafa Jallouli	IPM4Citrus	Turquie	Du 02 au 16 juin 2022
Souaad Rouis	IPM4Citrus	Turquie	Du 02 au 19 juin 2022
Mahamed Guerfeli	PEJC	France	Du 08 au 10 juin 2022
Ines Yakoubi	IMPRESA	Italie	Du 09 au 14 juin 2022
Faiçal Brini	LBAP	Italie	Du 14 au 18 juin 2022
Slim Tounsi	IPM4Citrus	Turquie	Du 16 au 22 juin 2022
Fatma Driss	IPM4Citrus	Turquie	Du 20 juin au 01 juillet 2022
Bassem Jaouadi	PHC-Maghreb	France	Du 27 juin au 03 juillet 2022
Olfa Frikha	PHC-Utique	France	Du 01 au 07 juillet 2022
Sobhi Frikha	PHC-Utique	France	Du 01 au 07 juillet 2022
Sobhi Frikha	PHC-Utique	France	Du 03 au 09 juillet 2022
Nadia Marrakchi	IPM4Citrus	Italie	Du 07 au 21 juillet 2022
Dorra Abdelmalek Driss	PEJC	Portugal	Du 17 au 21 juillet 2022

Adel Zitoun	Sans Frais	Italie	Du 19 au 22 juillet 2022
Ahmed Ellouze	Sans Frais	Italie	Du 19 au 22 juillet 2022
Olfa Frikha	PHC-Utique	France	Du 01 au 07 septembre 2022
Basma Hadjkacem	LBME	Egypte	Du 07 au 10 septembre 2022
Wafa Jalouli	IPM4Citrus	Turquie	Du 15 au 29 septembre 2022
Souad Rouis	IPM4Citrus	Turquie	Du 15 au 26 septembre 2022
Saber Masmoudi	Sans Frais	France	Du 19 au 22 septembre 2022
Bassem Jawadi	PHC-Maghreb	France	Du 24 au 30 septembre 2022
Olfa Frikha	LB	Sénégal	Du 08 au 15 octobre 2022
Bassem Jaouadi	LABEX	France	Du 09 au 20 octobre 2022
Slim Smaoui	PEJC	Algérie	Du 10 au 16 octobre 2022
Souad rouis	IPM4Citrus	Liban	Du 14 au 28 octobre 2022
Ines Yakoubi	IMPRESA	Italie	Du 26 au 29 octobre 2022
Bassem Jaouadi	PHC-Maghreb	Maroc	Du 17 au 23 Novembre 2022
Ahmed Rebaii	Sans Frais	Kenya	Du 15 au 19 Novembre 2022
Abdallah choura	PAQCR2S	Jordanie	Du 15 au 19 Novembre 2022
Riadh Ben Salah	Tuniso-Algérien	Algérie	Du 24 au 30 Novembre 2022
Ali Faouzi Gargouri	LBME	Algérie	Du 04 au 05 Décembre 2022
Nedia Zeraii	PEJC	Maroc	Du 11 au 17 Décembre 2022
Slim Smaoui	PEJC	France	Du 17 au 23 Décembre 2022
Mariem Ellouze	LBPE	Maroc	Du 19 au 23 Décembre 2022
Riadh ben salah	Tuniso-Algérien	Algérie	Du 24 au 30 Décembre 2022

b/ Liste des Invités Etrangers en 2022 :

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Ismail Hasnaoui	PHC-Maghreb	Algérie	Du 20 janvier au 20 Mars 2022
Sarra Daham	PHC-Maghreb	Algérie	Du 01 Février au 30 Avril 2022
Ilhem Larid	PHC-Maghreb	Algérie	Du 01 Février au 30 Avril 2022
Nabila Amel Bouanen	PHC-Maghreb	Algérie	Du 17 au 23 Mars 2022
Abdessalem Asaharou	PHC-Maghreb	Algérie	Du 17 au 23 Mars 2022
Nooman Asaharou	PHC-Maghreb	Algérie	Du 17 au 23 Mars 2022
Khaliha Abou Asem	PHC-Maghreb	Algérie	Du 17 au 23 Mars 2022
Ismail Hasnaoui	PHC-Maghreb	Algérie	Du 01 au 30 Avril 2022
Nesrine Manani	PHC-Maghreb	Maroc	Du 06 mai au 06 juillet 2022
Marco Moracci	ICGEB	Italie	Du 13 au 17 juin 2022
Faouzi Allela	Labex	Algérie	Du 23 au 25 juin 2022
Cockk Arnaud	PHC-Utique	France	Du 29 aout au 02 septembre 2022
Schmitz Philipe	PHC-Utique	France	Du 29 aout au 02 septembre 2022
Guilia Quagliata	Prima	Italie	Du 20 au 23 septembre 2022
Stefanie Astolfi	Prima	Italie	Du 20 au 23 septembre 2022
Moez Maghrebi	Prima	Algérie	Du 20 au 23 septembre 2022
Abdelmalek Laaour	Prima	Algérie	Du 20 au 23 septembre 2022
Hafsi Miloud	Prima	Algérie	Du 20 au 23 septembre 2022
Maurizio Trovato	CIVIS	Italie	Du 26 au 30 septembre 2022
Karim el Bahnsawy	CIVIS	Italie	Du 26 au 30 septembre 2022
Matt Jones	CIVIS	Italie	Du 26 au 30 septembre 2022
John Pouris	CIVIS	Italie	Du 26 au 30 septembre 2022
Sophia Papadopoulos	CIVIS	Italie	Du 27 au 29 septembre 2022
HoJeong Kang	Tuniso/Coréen	Corée	Du 17 au 19 octobre 2022
Heila Deutsch	ICGEB	Allemagne	Du 06 au 13 Novembre 2022
Nabila Amel Bouanen	Labex	Algérie	Du 09 au 15 Novembre 2022
Sarra Daham	Labex	Algérie	Du 09 novembre au 09 Décembre 2022

Khalifa Abou Asem	Labex	Algérie	Du 10 au 16 novembre 2022
Noureddine Ben Touhemi	PHC-Maghreb	Maroc	Du 04 décembre 2022 au 04 Février 2023
Ismaeil Hasneoui	PHC-Maghreb	Maroc	Du 04 décembre 2022 au 04 Février 2023
Abdelkarim Abousalham	PHC-Maghreb	France	Du 04 au 10 décembre 2023
Abdessalem Asaharou	PHC-Maghreb	France	Du 04 au 10 décembre 2023
Noureddine Ben Touhami	PHC-Maghreb	Maroc	Du 04 décembre 2022 au 04 Février 2023
Noamen Asleoui	PHC-Maghreb	Maroc	Du 04 au 10 décembre 2023
Faouzi Allela	Labex	Algérie	Du 04 au 10 décembre 2023
Rimes Jarbouiai	Sans frais	Algérie	Du 05 au 11 décembre 2023
Elid Ben Daraji	Sans frais	Algérie	Du 05 au 11 décembre 2023
Imen Ikram Hassani Belkasem	Labex	Algérie	Du 10 au 16 décembre 2023
Kamel Boujemaa	Tuniso/Algérien	Algérie	Du 15 au 21 décembre 2023
Abdelmalek Badiss	Tuniso/Algérien	Algérie	Du 15 au 21 décembre 2023
François Coutte	PHC-Utique	France	Du 29 novembre au 01 décembre 2023
Guilia Quagliata	Prima	Italie	Du 29 novembre au 01 décembre 2023
Farida Ben Dali	Tuniso/Algérien	Algérie	Du 02 au 08 novembre 2023
Wisem Hafir	Tuniso/Algérien	Algérie	Du 02 au 31 Décembre 2023

c/ Stages Poste DOC en 2022 :

Nom et Prénom	Nom du Labo/ Projet	Pays	Durée
Fadoua Jaber	LPCMC	Italie	Du 01 janvier au 30 juin 2022
Ameni Chelli	LPCMC	Italie	Du 29 Avril au 27 juillet 2022
Ahmed Aloulou	PHC-Maghreb	Maroc	Du 15 au 21 Mai 2021
Mouna Jraou	CEOMED	Grèce	Du 12 au 19 juin 2022
Ahmed Aloulou	PHC-Maghreb	France	Du 27 juin au 03 juillet 2022
Sondes Mechri	PHC-Maghreb	France	Du 01 au 30 septembre 2022
Sana Tounsi	Prima	Italie	Du 10 octobre au 18 novembre 2022
Ali Ben Kilani	PHC-Utique	France	Du 10 octobre au 18 novembre 2022

Sondes Mechri	PHC-Maghreb	France	Du 07 novembre au 05 décembre 2022
Sarra Yousfi	PHC-Utique	France	Du 26 décembre au 30 Aout 2023

12. Production Scientifique en cours de 2022

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.

	2022
Articles, Revues Internationales	**182**
Chapitres d'ouvrages scientifiques, actes de colloques internationaux	**28**
Brevets nationaux	**5**
Brevets internationaux	**-**
Doctorats et Habilitations Soutenus	**13**
Mastères	**22**
PFE	**5**

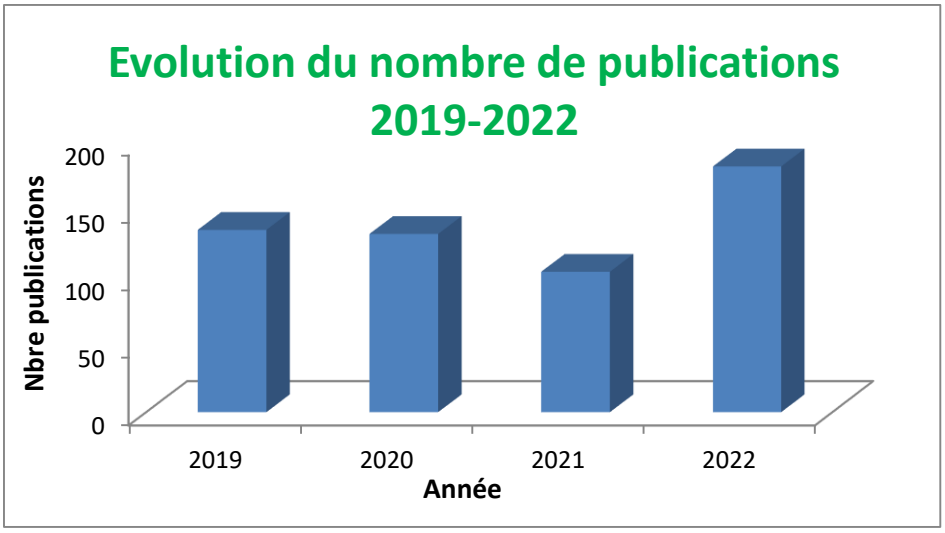


Fig. 2 : Evolution du nombre de publications 2019-2022

13. Manifestations scientifiques , Foires et Salons

1. Participation au **congrès international de l'ATBiotech «** IDB 2022 » , *19-22 Décembre 2022* à Hammamet
2. Organisation du **Final meeting** du projet **IPM-4-CITRUS** et ce le *19 Décembre 2022* à Hammamet-Tunisie

3. Organisation de la réunion de lancement **Kick-Off Meeting** du projet Horizon Europe Twinning NG-4-ECOPROD coordonné par le CBS aven collaboration avec 2 leaders internationaus de la France et de l'Allemagne dans la technologie de NGS, *12-13 Décembre 2022* au CBS

4. **Journées du PRF 2017-D6P1** : Développement d'un éco-procédé pilote de culture de microalgues pour la séquestration de carbone, le traitement des eaux usées et la production de biocarburant.., *26-27Novembre 2022 au* Centre de Stages de Douira-Chebba-Tunisie
5. Participation à une **Journée**: «The role of higher education and scientific research in solid waste management in the MENA region». **Création d'un nouveau Mastère Professionnel International** par **l'Institut Supérieur de Biotechnologies de Sfax (ISBS)** intitulé : *Solid waste recycling and circular economy*.., le *23Novembre 2022 à* ISBS Sfax.
6. Organisation d'un **cours pratique et théorique ICGEB:** (Proposal W/TUN22-01) Course « Plant- beneficial function prediction of Bacillus subtilis species through NGS technology », *06 - 13 Novembre 2022* au CBS,Sfax-Tunisie
7. Organisation d'une **Journée Horizon Europe** « Opportunités , appels à projets & Networking », *le 10 Novembre 2022* au CBS
8. Participation à une **Journée Scientifique :** Finance Durable, Enjeux, Etat des lieux et vision pour le futur. coorganisée avec la Faculté des Sciences Economiques et de Gestion de Sfax et le Laboratoire LEG « Laboratoire en Economie et Gestion », en collaboration avec le Conseil Bancaire et Financier (CBF), *05Novembre 2022* à FSEG-Sfax
9. Participation au 4th Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (**EMCEI-2022**), *01-04 Novembre 2022* à Sousse
10. *Organisation* d'une **Journée du projet Tuniso-Coréen :** Salt/Drought tolerant bacteria and biochar biotechnologies as biosafety tools for sustainable agriculture, *le 18 Octobre 2022* au CBS
11. Participation au **North-South-South Network event** on Xanthomonads "Diagnostic des bactéries pathogènes transmises par les semences", *10-14 Octobre 2022*, CERAAS, Thiès, Senegal
12. Organisation d'un **workshop** dans le cadre du projet **CIVIS**' : "Towards a Sustainable Agriculture in a Warmer Climate : An Integrated Approach", *27-29 Septembre 2022* à Sfax-Tunisie
13. Participation à la **Foire de l'Artisanat de Sfax,** *25 - 29 septembre 2022* à la salle de conférences municipale de Sfax
14. **Cercle de réflexion** Co-organisé avec l'Université de Sfax, la Faculté des Sciences Economiques et de Gestion de Sfax, la Faculté des Lettres et des Sciences Humaines de Sfax et l'Association de Recherches pour le Développement Economique et Social (ARDES) sur «**Économie des Ressources Naturelles - Les grandes incertitudes**», *21-22 Septembre 2022* à Kerkennah, Sfax
15. Organisation d'un **workshop** dans le cadre du projet PRIMA **EXPLOWHEAT** : ''Improving durum wheat stress resilience and nutritional quality under climate change in the Mediterranean region'', *21-22 Septembre 2022* à CBS Sfax-Tunisie
16. Organisation dans le cadre des activités du projet SEED d'un **workshop** « Next Generation Sequencing Data Analysis in "REAL LIFE" , *12 - 14 Septembre 2022* au CBS
17. Participation à la **formation** au Laboratoire « **BioEcoAgro**»,*1-7 Septembre 2022* Université de Lille, France.
18. Participation à la **journée EMORI** (Award Ceremony) de célébration de l'association de la Tunisie au 9 ème programme- cadre de L'UE Horizon Europe pour la R&I , le *5 Septembre 2022* à Tunis

19. Participation à la Foire Universitaire **"Univ-Expo"** , à la Foire Internationale de Sfax, *19-21 Juillet 2022* à la Foire internationale de Sfax
20. Organisation du **Forum du CBS sur les Biotechs**: De la Recherche Académique…Au monde industriel , *le 20 Juillet 2022* à l'hôtel Palais Royal Sfax
21. Organisation de **SUSPIRE and InnoVa Innovation Forum** En collaboration avec l'Université Technique de Berlin, Allemagne,*23-24 Juin 2022.* Sfax,
    - ***Forum: Energetic valorization of organic residues: Experiences and innovation.*** Hotel Occidental Sfax Centre, *23Juin 2022.*
    - ***Interactive innovation valorisation workshop.*** Salle des Conférences du CBS, *24 Juin 2023.*
22. **Cours pratique et théorique ICGEB** "Genomic/Metagenomic and NGS approaches for discovering new enzymes useful for industrial applications", *13-23 Juin 2022* à CBS, Sfax-Tunisie.
23. Participation au **Progress meeting** N°5 dans le cadre du projet Citrus, *le 22 juin 2022* à Adana-Turquie
24. Participation à la **Conférence YRLS** 13^{éme} édition Young researchers in Life Sciences, *du 8 au 10 juin 2022* à l'Institut Necker Enfants Malades, Paris, France
25. Participation au **Salon de l'entreprise** , *1-2 Juin 2022* à la Foire Internationale de Sfax
26. Organisation d'un Forum scientifique pour la promotion des activités du CBS en en marge du SMA Food , *18-22 Mai 2022* à la foire internationale de Sfax
27. Participation à International Conference on Ecological Innovation **ECONOV 2022,**. *7-9 Mai 2022* à Sousse
28. Co-organisation des **Journées du LMI COSYS-Med**: Contaminants et Ecosystèmes Marins Sud Méditerranéens., *29-30 Mars 2022* à Hammamet
29. Participation au 31éme Congrès International des Sciences Biologique et de la Biotechnologie, organisé par l'Association Tunisienne des Sciences Biologiques (**ATSB**), *21-24 Mars 2022* à Hammamet, Tunisie.
30. Participation au **Congrès International** Health and Environnemental Protection for Sustainable Development, organisé par l'Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), *+12-14 Mars 2022* à Hammamet
31. Formation pratique « L'ntroduction à la Propriété Intellectuelle et à la méthodologie de recherche », le *11 Mars 2022* au CBS

14. Prix et Distinctions 2022

- **Prix d'Excellence Académique 2021-2022**, décerné à ***Pr Slim TOUNSI*** , directeur général du CBS lors de la Journée Régionale de la Science tenue le 25 août 2022 au siège du gouvernorat de Sfax.
- **Premier prix** du concours mondial de l'innovation tenu en date du 1er Septembre 2022, en marge de la Huitième Conférence internationale de Tokyo sur le développement de l'Afrique (**TICAD**) décernés par la Cheffe du gouvernement, Mme Najla BOUDEN , à :

- Catégorie Chercheur:@ ***Mr Saber MASMOUDI*, Professeur et Chef du LPCMC du CBS et ses collaborateurs pour le projet innovant** sur l'application de la génomique et l'Intelligence Artificielle pour le diagnostic du syndrome dysmorphique.
- Catégorie inventeur: ***@Mme Basma HADJ KACEM*** , Maitre assistante au LBME du CBS pour son invention concernant une préparation pharmaceutique à fort pouvoir antihémorragique.

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	Chiraz Medhioub	Technicien contractuel
Sonia Khoufi	Professeur	Sahar Baaouni	Technicien contractuel
Sami Sayadi	Professeur (En détachement)	Omar Ouled El Farhani	Ag. Labo. contractuel
Wahiba Najjar	Professeur (ISEPBG-Soukra)	Ines Dahmen	Post-doc
Ali Mekki	Maître de conférences (FS-Gafsa)	Fatma Hadrich	Post-doc
Manel Hamza	MaîtreTechnologue (ISET-Sfax)	Amal Zayen	Post-doc
Fatma Karray	Maître assistant	Manel Ben Abdallah	Post-doc
Mariem Ellouze	Maître assistant	Asma Mahmoudi	Post-doc
Zouhaier Bouallegui	Maître assistant	Hanen Kharrat	Post-doc
Amina Maalej	Maître assistant	Ines Zribi	Post-doc
Dalel Daässi	Maître assistant	Mariem Samet	Post-doc
Meryem Jemli	Maître assistant habilité (FS-Tunis)	Meriam Cheffi	Post-doc
Ines Feki	Maître assistant (ISB-Sfax)	Raouia Boujelben	Post-doc
Nozha Abid	Maître assistant (FS-Sfax)	Khawla Chouchene	Post-doc
Ahlem Saddoud	Maître assistant (FS-Sfax)	Emna Feki	Post-doc
Firas Feki	Ingénieur général	Wiem Elloumi	Doctorante
Mohamed Ali Masmoudi	Ingénieur en chef	Firas Feki	Doctorant
Najla Mhiri	Technicien principal	Nesrine Gharsallah	Doctorante
Slim Loukil	Technicien principal	Dorra Triki	Doctorante
Nidhal Baccar	Technicien principal	Sahar Rmili	Doctorante
Salma Kchaou	Assistante de gestion	Mouna Jraou	Doctorante
Sirine Choura	Ingénieur contractuel	Imen Hamzaoui	Doctorante
Manel Chelbi	Technicien contractuel	Sghayra Yahyaoui	Doctorante
Fatma Ben Amor	Technicien contractuel		

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 de 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 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 développement des compétences et effectue, à la demande des utilisateurs, des travaux de traitement/dépollution, d'analyses physico-chimiques, chromatographiques, spectroscopiques 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 2022 entrent dans le cadre des trois projets du Contrat-Programme 2019-2022, cités ci-dessous. Nous ne présentons dans ce rapport que 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: Prof. Sonia Khoufi).*

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

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS :

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

- **Valorisation des margines: Extraction et purification des molécules d'intérêt; Développement et installation d'une station pilote mobile:**

Ce travail entre dans le cadre d'un projet de collaboration InnoVa entre le LBPE et l'Université Technique de Berlin, Allemagne.

Depuis des années, le Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE) a travaillé sur le traitement et la valorisation des margines en développant plusieurs techniques et procédés: floculation, coagulation, oxydations avancées, électrolyse, procédés membraniares, digestion aérobie et anaérobie. Etant donné que les margines constituent une source très riche en antioxydants naturels, il était fort intéressant de développer un procédé éco-innovant et non-coûteux permettant de récupérer ces molécules afin de les incorporer dans les industries alimentaires et pharmaceutiques.

Des études menées sur la récupération des molécules polyphénoliques des margines, à l'échelle laboratoire, ont permis de développer, après optimisation, un procédé d'adsorption efficace pour récupérer et purifier essentiellement l'hydroxytyrosol et d'autres molécules

comme le tyrosol et les acides phénoliques. Dans ce contexte, plusieurs adsorbants de composition différente en polymères, ont été testés pour leur capacité d'adsorption. En plus, un plan d'expérience a été réalisé pour déterminer les divers paramètres influant ce procédé. Les études ont permis de sélectionner le meilleur adsorbant avec un pourcentage d'adsorption d'hydroxytyrosol de 95%. Afin d'extrapoler nos résultats à l'échelle industrielle, une station pilote a été conçue et développée dans le cadre du projet InnoVa de collaboration entre le LBPE et l'Université Technique de Berlin, Allemagne. La station InnoVa a été installé au CBS en Mai 2022 (**Fig. 1**). Des grandes quantités de margines ont été collectées (15 m^3) puis stockées dans deux citernes en Inox. Nous avons réussi à extraire après un traitement combiné de 1,5 m^3 de margines une quantité importante d'hydroxytyrosol. Des tests *in vitro* et *in vivo* sont en cours de réalisation sur cette fraction, dans notre laboratoire et au sein des industries internationales, afin de commercialiser ces antioxydants naturels pour diverses applications. Nous envisageons également, l'identification et la purification d'autres composés de valeur nutritionnelle comme les flavonoïdes.

Fig. 1: Station pilote InnoVa de traitement et de valorisation des margines.

- **Mise au point d'un procédé de traitement biologique des effluents d'industrie de pêche à une échelle pilote en utilisant des microorganismes halophiles:**

Ce projet entre dans le cadre d'une convention MOBIDOC. L'organisme bénéficiaire est la Société de congélation et d'exportation des produits de la mer «NOVOGEL», Nouveau Port de Pêche de Safx.

En Tunisie, de nombreux secteurs industriels génèrent des effluents hypersalins tels que les industries agroalimentaire, pétrolière, textile, chimique, pharmaceutique et du cuir. Les rejets issus de l'industrie de la pêche sont riches en matière organique, azote protéique, phosphore, graisse, huile, sels et proviennent principalement du contact entre l'eau et les produits de mer. Le rejet de ces eaux usées sans traitement peut avoir un impact négatif sur la vie aquatique, l'agriculture, l'écosystème et la santé humaine.

Etant donné que le traitement par voie physico-chimique est coûteux, un intérêt grandissant est accordé à la voie biologique aérobie, anaérobie ou combinée pour le traitement de la matière organique des effluents salins. Cependant, les procédés de traitement biologique conventionnels sont fortement inhibés par le sel. Pour cela, un intérêt croissant est porté à des microorganismes tolérant les fortes concentrations en sel (halotolérants), voire des halophiles.

Il serait fort intéressant d'utiliser le pouvoir des halophiles à dégrader la pollution organique, carbonée, azotée et phosphorée des effluents d'industrie de la pêche par la voie biologique afin d'obtenir une eau épurée qui satisfait aux normes de rejets fixées par la législation. Pour cela, nous nous sommes intéressés à évaluer les capacités de dépollution

d'effluents salins d'une industrie de pêche par des consortia microbiens halophiles adaptés dans des bioréacteurs.

La première activité consiste à caractériser l'effluent rejeté par l'industrie de l'exportation et congélation des produits de la mer "NOVOGEL". La caractérisation physico-chimique de l'effluent a été menée afin d'évaluer la pollution rejetée.

Différents paramètres physico-chimiques tels que le COT, le phosphore total, l'azote total, les matières en suspension ont été analysés. Les résultats ont montré que cet effluent est chargé en matière organique, en azote protéique et en sels (49 g l^{-1}). Par la suite, nous avons entamé le travail avec un réacteur agité et aéré (du type CSTR) de volume utile de 12 l mené d'un décanteur statique avec recyclage de boues. Au début du traitement, le bioréacteur a été alimenté avec des charges volumiques (Cv) faibles.

Ensuite, les charges ont été progressivement augmentées. Au cours du procédé à boues activées, l'indice de boue augmente le long de la période de suivi dénotant un blocage du traitement. Ainsi, un nouveau procédé est appliqué afin de remédier à ces limitations. Il s'agit d'un bioréacteur membranaire (BRM) (**Fig. 2a**). Le réacteur CSTR est mené d'une unité de microfiltration membranaire externe à la place du décanteur statique dans le premier procédé. Durant les jours de fonctionnement du BRM, des prélèvements ont été effectués pour évaluer les performances du pilote utilisé dans cette étude. Le développement de la biomasse dans le réacteur et les performances épuratoires du système ont été évalués et exprimés en termes de MS, de MVS, de COT, d'azote, de phosphore, etc.

Au cours du traitement, une nette amélioration de la performance du BRM a été observée et des valeurs relativement faibles du COT du perméat ont été enregistrées entre 2,7 et 38,33 mg l^{-1}, pour une valeur moyenne du COT dans l'effluent de 557,8 mg l^{-1}. En plus, une bonne production de biomasse (5,5 g l^{-1}) et un bon rendement épuratoire en termes d'abattement de COT (98%), de phosphore (95%) et d'azote (80%) ont été obtenus.

A la fin du traitement, le suivi des performances épuratoires a mis en évidence une meilleure clarification de l'effluent et une bonne qualité du perméat traité qui respecte les normes de rejet dans le milieu marin et dans les canalisations publiques (**Fig. 2b**). Cependant, les fortes concentrations en sel présentes dans l'effluent traité nous encouragent à dimensionner une station industrielle pour le traitement à la société "NOVOGEL" permettant le versement du rejet traité dans le milieu marin. Pour cela, nous envisageons d'estimer les coûts d'investissement et de fonctionnement de la station d'épuration que nous proposerons de mettre en place.

La conception de l'installation a été bien étudiée en déterminant les grandeurs caractéristiques comme par exemple le volume des bassins, les débits (d'entrée et de sortie) ou encore les dimensions du réacteur et du décanteur. Ces eaux usées seront donc collectées et décantées puis passeront à travers des conduites avant de rejoindre le bassin tampon où une neutralisation du pH sera opérée avant l'entrée dans le BRM.

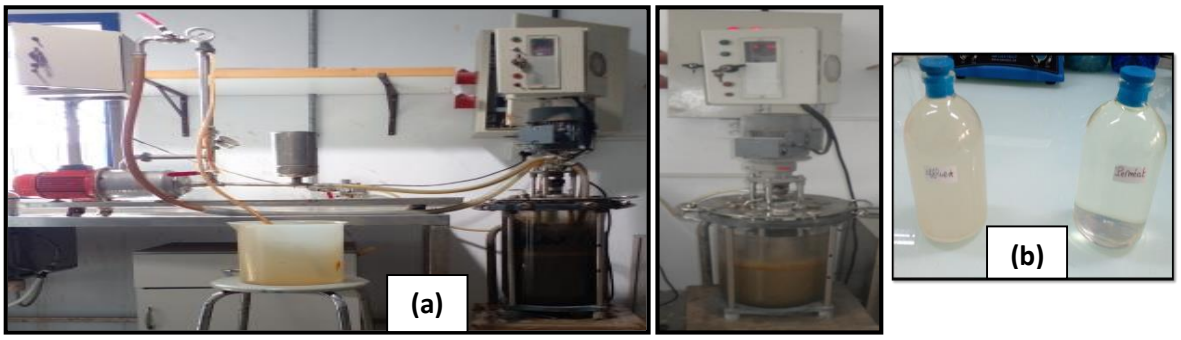


Fig. 2: a-Photographie du pilote de bioréacteur à membrane aéré à boucle externe développé pour le traitement des eaux usées d'une industrie de pêche, LBPE.
b-Effluent non traité et perméat du BRM.

- **Développement d'une start-up «PhytoPLANT» spécialisée dans la production de compléments alimentaires:**

Ce travail entre dans le cadre d'un projet MOBIDOC avec l'ANPR, le projet Collabora Biotech-Innov et constitue une continuité des travaux d'un projet VRR. Il s'intéresse aux molécules bioactives à partir des feuilles d'olivier et leurs effets thérapeutiques: Extraction, purification et application contre le syndrome métabolique.

Les feuilles d'olivier existent en grande quantité. Ces sous-produits écartés des olives sont estimés à 10% de la masse globale des olives récoltées. Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leur richesse en composés phénoliques. Ils constituent une source importante d'antioxydants. Dans notre étude, nous avons étudié l'effet des extraits préparés à partir des feuilles d'olivier sur l'obésité et sur la maladie de diabète type-2. Tout d'abord, nous avons fait l'échantillonnage de plusieurs variétés tunisiennes disposées au Nord, au Centre et au Sud. Les quantités de polyphénols et de flavonoïdes, ainsi que l'activité antioxydante ont été déterminées.

Une étude est menée sur l'effet de l'extrait des feuilles, ainsi que l'oleuropéine sur un modèle de rat développant le syndrome métabolique (obésité et résistance à l'insuline). Nos résultats étaient prometteurs puisque ces extraits ont montré une efficacité importante contre l'accumulation des lipides mais aussi sur l'amélioration de la sensibilité à l'insuline. En effet, ces extraits pourront être des agents thérapeutiques pour prévenir la résistance à l'insuline en augmentant la tolérance au glucose. De plus, l'analyse moléculaire moyennant Western Blot a dévoilé que l'administration de l'oleuropéine augmente l'expression des protéines inclues dans le transport de glucose essentiellement les protéines des récepteurs à l'insuline (IRS), la protéine kinase (Akt), et la phosphatidyltyrosine (PI3K). De même, une inflammation a été marquée suite au régime riche en matière grasse. Ceci a été confirmée par immunohistochimie par mesure du degré de l'intensité des anticorps essentiellement TNF-α et NF-kb. Nos résultats ont montré que la supplémentation de l'oleuropéine a réduit l'expression des TNF-α et IL-6 dans le tissu adipeux. Les analyses immunohistochimiques ont confirmé également que l'ajout de l'oleuropéine augmente le taux d'expression de IRS dans les organes cibles essentiellement le foie (IRS1) et le pancréas (IRS2).

Une autre alternative pour prévenir la maladie de diabète de type-2 est l'inhibition des enzymes digestives responsables de l'hydrolyse des carbohydrates alimentaires: l'α-amylase et l'α-glucosidase. Dans notre travail, l'effet inhibiteur des molécules purifiées à partir des feuilles d'olivier (oleuropéine et hydroxytyrosol), a été étudié et comparé par rapport à un médicament

qui est l'acarbose. Les résultats ont montré que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine sont capables de réduire respectivement l'activité α-glucosidase jusqu'au 70 et 56%. Par contre, une légère inhibition de l'activité α-amylase est observée avec un pourcentage de 20% pour l'hydroxytyrosol et 10% pour l'oleuropéine.

Par la suite et afin d'améliorer l'extraction des biomolécules, nous avons adopté à l'échelle 5 l une technique de purification non conventionnelle. C'est la méthode de purification par adsorption vue qu'elle est la méthode la moins couteuse et la plus efficace pour purifier des composés phénoliques. Dans cette partie, des cultures en batch ont été préparées, en utilisant différentes résines. Nous avons sélectionné le meilleur adsorbant. La capacité d'adsorption est déterminée par mesure de la quantité de polyphénols fixés.

Après avoir réalisé l'étape de purification, nous avons effectué l'encapsulation à petite échelle. Dans cette partie, nous avons testé différents excipients, ainsi que différentes proportions extrait/substrat pour sélectionner la meilleure combinaison et garantir un enrobage efficace. De plus, nous avons vérifié que la texture du mélange ne change pas durant la conservation. Pour cela, on a testé la granulométrie de notre formulation pendant différents temps allant de 7 jours jusqu'à une période de 6 mois. La figure ci-dessous montre notre extrait enrobé (**Fig. 3**).

Fig. 3: Produit Biotech: Capsules contenant la molécule d'intérêt.

Par la suite, nous avons étudié la toxicité des capsules sur des cellules embryonnaires de reins, ainsi que sur des rats. Le test MTT a montré que les capsules ne présentent aucun effet toxique sur les cellules HEK 293. De même, l'administration de ces capsules chez les rats à une dose de 50 mg/kg pendant 3 mois montre que la molécule d'intérêt ne présente aucun effet toxique, suite à des analyses des paramètres biochimiques et des coupes histologiques des différents organes de l'animal.

En prenant compte de l'ensemble de ces résultats, on peut dire que cela apporte un certaine crédibilité et une notoriété quant à l'utilisation de l'extrait des feuilles d'olivier et ses composés phénoliques dans la lutte contre l'obésité induisant un diabète de type-2.

2. <u>Projet 2 :</u> Valorisation des déchets organiques solides par biométhanisation. (*Responsable: Prof. Sonia Khoufi).*

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

La fermentation batch en voie liquide des déchets de légumes et fruits (DLF) a été étudiée en utilisant un digesteur de type CSTR et en appliquant des charges organiques (CO) croissantes (de 5 à 20 g MV/l réacteur). Les meilleurs résultats en termes de rendement en biogaz et stabilité du système anaérobie ont été obtenus lors d'une fermentation à une CO de 16 g MV/l réacteur.

Au cours de cette fermentation l'évolution de la production de biogaz, ainsi que certains paramètres de fonctionnement du système anaérobie ont été suivis.

Le suivi de la production de biogaz a montré un pic de production de biogaz dès le premier jour avec un volume de 3896 l/j (**Fig. 4**) qui pourrait être expliqué par la forte biodégradabilité du DLF. Par la suite une diminution progressive de la cinétique de production a été constatée. La production journalière atteint 25 l/j à la fin du batch indiquant l'épuisement de la MO. Un volume total de biogaz de 8920 l et un rendement cumulé de biogaz de 1,1 l/g MV ont été obtenus à la fin de la fermentation. Au 7ème jour de la fermentation, 90% du volume total de biogaz a été produit avec un pourcentage en méthane de 77%. Ce résultat confirme l'efficacité du notre procédé pour assurer la méthanisation rapide de ce déchet avec stabilité du système anaérobie.

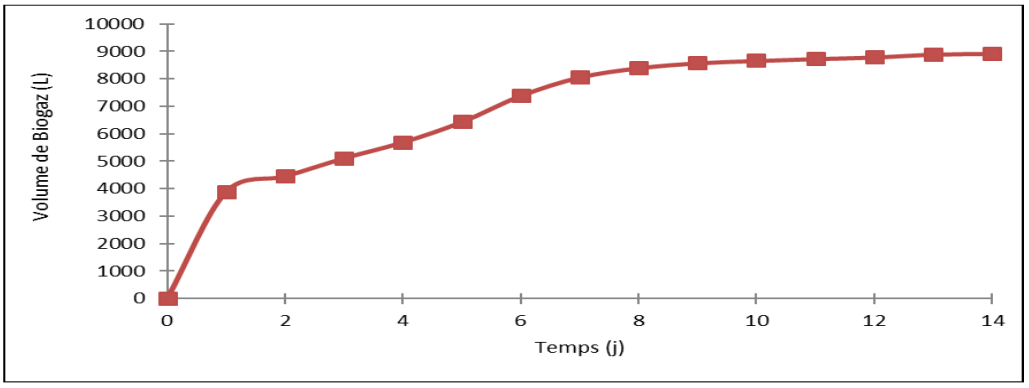


Fig. 4: Evolution de la production cumulée de biogaz au cours de la digestion anaérobie du DLF dans le réacteur CSTR.

La figure 5 présente la variation de la MV et de la DCOs en fonction du temps au sein du réacteur CSTR. La diminution progressive de ces paramètres avec le temps de la fermentation témoigne d'une dégradation de la matière organique mettant ainsi l'évidence de la stabilité et de l'efficacité du CSTR pour le traitement et la valorisation bioénergétique du DLF. Le choix de la technologie utilisée, les conditions opératoires ainsi que la composition du déchet traité a été en faveur d'une fermentation stable et optimale pour la production de biogaz.

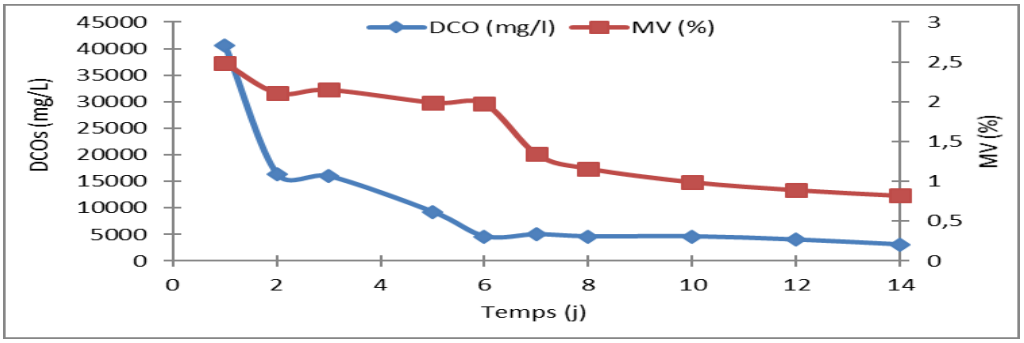


Fig. 5: Evolution de la matière volatile (MV) et de la demande chimique en oxygène soluble (DCOs) au cours de la digestion anaérobie du DLF dans le réacteur CSTR.

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

Cette partie du travail a été consacrée à l'étude de l'effet de la fertilisation des plantes de laitue par deux digestats issus de la mono-digestion de DLF et un autre déchet organique et d'un

troisième digestat issu de la co-digestion de ces deux déchets. Avant le traitement des plantes par les digestats, un test de germination a été appliqué afin d'évaluer leur phytotoxicité. L'application des trois digestats dilués au 1/5 sur les plantes de laitue a montré que le caractère fertilisant du co-digestat est plus important en comparaison à celui des mono-digestats. L'essai de valorisation agronomique des digestats sur la culture de la laitue en pot montre que l'application du co-digestat est la meilleure en terme de production végétative **(Fig. 6)**.

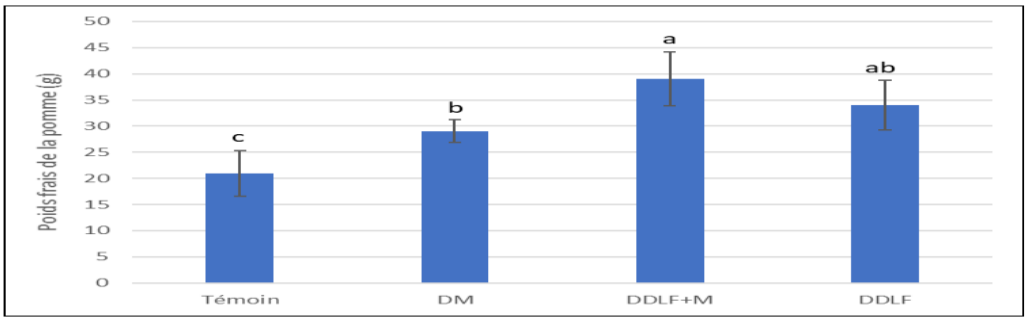


Fig. 6: Effet des différents digestats sur le poids frais de la pomme de la laitue.
(Témoin: eau, DM et DDLF: mono-digestats, DDLF+M : co-digestat. Les barres avec des lettres différentes sont significativement différentes, P <0,05).

Les études réalisées dans le cadre du projet 2 ont confirmé que la valorisation du DLF par la technologie de méthanisation conduit à la production d'énergie renouvelable, mais aussi à la production d'un biofertilisant qui permet l'amélioration de la qualité agronomique de nos cultures à moindre coût.

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

Cette partie des travaux entre dans le cadre du projet PEER (OMW to ALGAE) «*Evaluation of algal treatment options for olive mill wastewater to produce energy and biofertilizer*». L'objectif principal de ce projet est le développement d'un procédé de traitement et de valorisation des margines (OMW) en utilisant le concept de la bioraffinerie des microalgues. Cette approche apparaît comme une alternative économiquement viable, réalisant le double objectif de la bio-remédiation 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 de biogaz, et *iii)* des biofertilisants à usage agricole produits à partir des sous-produits du procédé, le biochar et les boues.

Plusieurs procédés de prétraitement des margines ont été testés comme la coagulation-floculation et la filtration membranaire. La culture de plusieurs espèces de microalgues (*Scenedesmus*, *Picocystis* et *Chlorella*) a été testée sur les margines prétraités. Dans le but de cultiver des souches de microalgues dans des milieux à faible cout et de la valorisation de la biomasse algale, la souche *Scenedesmus* sp. a été cultivée dans le milieu BG11 enrichi ou non avec 20% des margines ultra-filtrés (OMWUF). Les composés polyphénoliques ont été extraits, identifiés et quantifiés par HPLC. La capacité antioxydante, l'inhibition enzymatique,

l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses B16 et HeLa, l'effet cytotoxique, ainsi que leur effet anti-mélanogénèse intracellulaire des extraits préparés ont été aussi évalués. Les résultats de cette étude ont montré que l'ajout de OMWUF a amélioré la production et l'apparition de certains composés phénoliques prometteurs. En effet, les OMWUF ont pu améliorer la capacité antioxydante et favoriser l'inhibition de la mélanogenèse et des enzymes. *Scenedesmus* sp. cultivée en présence de margines ultra-filtrés peut fournir une source intéressante d'antioxydants à potentiel biologique amélioré valorisable par les industries alimentaires et/ou pharmaceutiques. Ces travaux de recherche ont fait l'objet d'un article publié dans le journal «*Biomass Conversion and Biorefinery*».

Dans une autre étude, le prétraitement des margines par digestion anaérobie a été réalisé à une DCO initiale élevée allant de 28 à 38 g/l en utilisant un bioréacteur anaérobie à lit fixe à écoulement ascendant (300 l). Les résultats ont révélé que le la production maximale de biogaz était d'environ 0,507 l/g DCO introduit.jour contenant 73% de méthane correspondant à un rendement en méthane de 0,370 l/g DCO introduit.jour obtenu à un taux de charge organique de 4,58 g DCO/l.jour. Des taux élevés d'élimination de la DCO, des composés phénoliques totaux et de la matière en suspension ont été obtenus dans le digestat après la digestion anaérobie et l'ultrafiltration (UF). *Scenedesmus* sp. a été ensuite cultivée sur le digestat ultrafiltré. Une productivité maximale de la biomasse de 0,15 g/l.jour a été obtenue en cultivant *Scenedesmus* sp. sur 25% de digestat ultra-filtré avec un taux maximal d'élimination de l'azote de 15,18 mg/l.jour et une élimination quasi totale des phosphore et des composés phénoliques. Ces travaux de recherche ont fait l'objet d'un article publié dans le journal «*Journal Environnemental Management*».

La culture de la souche *Picocystis* sp. dans les margines (OMW) prétraitées, par digestion anaérobie suivie d'une ultrafiltration (DOMWU), dans différentes conditions basées sur l'optimisation du rapport C/N, a été réalisée. Nos résultats ont montré que la concentration de la biomasse la plus élevée est obtenue au 12ème jour avec des cultures riches en carbone par rapport aux cultures témoins. La biomasse obtenue est riche en chlorophylles et en caroténoïdes totaux, de lipides, de glucides et de protéines. L'activité catalase est de 3x plus élevée que lesva leurs témoins. En conclusion, *Picocystis* a été capable d'éliminer du phosphore, d'azote ammoniacal et du carbone total.

Les souches de microalgues *Scenedesmus*. sp et *Chlorella* sp. ont été cultivées en présence des digestats de margines prétraitées par coagulation-floculation à différentes concentrations. Les taux de production les plus élevés pour *Scenedesmus* et *Chlorella* ont été atteints dans la culture avec 75% de digestat (v/v). *Chlorella* présente une teneur plus élevée en pigments photosynthétiques (chlorophyle a et b, caroténoïdes) comparé à *Scenedesmus*. En revanche, la teneur en phénols est plus élevée dans la biomasse de *Scenedesmus* par rapport à *Chlorella*. La capacité antioxydante déterminée dans les extraits éthanol/eau a montré que l'extrait de *Scenedesmus* présentait une activité antioxydante plus élevée. Ces derniers travaux feront l'objet de deux publications scientifiques.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

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

1. Abid N., Karray F., Kallel I., Slim M., Barakat A., Mhiri N., Chamkha M. & Sayadi S. **(2022)**. Role of biochar in anaerobic microbiome enrichment and methane production enhancement during olive mill wastewater biomethanization. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Accepted 08/12/2022. **(IF: 6,064), Q1.**
2. Abid N., Masmoudi M. A., Megdiche M., Barakat A., Ellouze M., Chamkha M., Ksibi M. & Sayadi S. **(2022).** Biochar from olive mill solid waste as aneco-friendly adsorbent for the removal ofpolyphenols from olive mill wastewater. *Chemical Engineering Research and Design*. **181,** 384-398. 10.1016/j.cherd.2022.02.029. **(IF: 4,119), Q2.**
3. Bargougui L., Chaieb M. & Mekki A. **(2022).** Physiological and growth responses of young plants of three native olive cultivars to olive waste compost. *Journal of Plant Nutrition***.** 10.1080/01904167.2022.2058538. **(IF: 2,277), Q2.**
4. Ben Ali R., Ben Ouada S., Leboulanger C., Jebali A., Sayadi S. & Ben Ouada H. **(2022).** Emerging contaminants and nutrients recovery by *Picocystis* sp. under continuous culture in contaminated secondary municipal wastewater effluent. *Algal Research.* **66**, July 2022, 102804. doi.org/10.1016/j.algal.2022.102804. **(IF: 5,276), Q1.**
5. Ben Ayed A., Akrout I., Albert Q., Greff S., Simmler C., Armengaud J., Kielbasa M., Turbé-Doan, A., Chaduli, D., Navarro D., Bertrand E., Faulds C. B., Chamkha M., Maalej A., Zouari-Mechichi H., Sciara G., Mechichi T. & Record R.. **(2022).** Biotransformation of the Fluoroquinolone, Levofloxacin, by the White-Rot Fungus *Coriolopsis gallica. Journal of Fungi*. **8, 965.** doi.org/10.3390/jof8090965. **(IF: 5,724), Q1.**
6. Ben Younes S., Ben Khedher S., Zhang Y., Geissen S. & Sayadi S. **(2022).** Correction to: Laccase from *Scytalidium thermophilum:* Production improvement, catalytic behavior and detoxifying ability of diclofenac, *Catal. Letters.* 10562. 10.1007/s10562-022-03996-3. **(IF: 2,936), Q2.**
7. Boujelben R., Ellouze M., Josefina Tóran M., Blánquez P. & Sayadi S. **(2022).** Mycoremediation of Tunisian tannery wastewater under non-sterile conditions using *Trametes versicolor*: live and dead biomasses. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 10.1007/s13399-022-02328-0. **(IF: 4,050), Q3.**
8. Cheffi M., Belmabrouk S., Karray F., Hentati D., Bru-Adan V., Godon J.-J., Sayadi S. & Chamkha M. **(2022).** Study of microbial communities and environmental parameters of seawater collected from three Tunisian fishing harbors in Kerkennah Islands: Statistical analysis of the temporal and spatial dynamics. *Marine Pollution Bulletin.* **185,** 114350. 10.1016/j.marpolbul.2022.114350. **(IF: 7,001), Q1.**
9. Elloumi W., Maalej A., Ortiz S., Michel S., Chamkha M., Boutefnouchet S. & Sayadi S. **(2022).** *Pistacia lentiscus* L. distilled leaves as a potential cosmeceutical ingredient: phytochemical characterization, transdermal diffusion, and anti-elastase and anti-tyrosinase activities. *Molecules.* **27,** 855. 10.3390/molecules27030855. **(IF: 4,927), Q2.**
10. Elloumi W., Mahmoudi A., Ortiz S., Boutefnouchet S., Chamkha M. & Sayadi S. **(2022).** Wound healing potential of quercetin-3-*O*-rhamnoside and myricetin-3-*O*-rhamnoside isolated from *Pistacia lentiscus* distilled leaves in rats model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **146,** 112574. 10.1016/j.biopha.2021.112574. **(IF: 7,419), Q1.**
11. Feki E., Karray F., Mhiri N., Battimelli A., Sayadi S. & Khoufi S. **(2022).** Performanc e of UASB reactor treating waste activated sludge: Effect of electro-chemical disintegration on the

anaerobic microbial population structure and abundance. *Journal of Water Process Engineering.* **49**, DOI: 10.1016/j.jwpe. 2022. 103020. **(IF:7,340), Q1.**

12. Feki F., Mahmoudi A., Denev P., Feki I., Ognyanov M., Georgiev Y., Choura S., Chamkha M., Trendafilova A. & Sayadi S. **(2022).** A jojoba (*Simmondsia chinensis*) seed cake extracts express hepatoprotective activity against paracetamol-induced toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **153,** 113371. 10.1016/j.biopha.2022.113371. **(IF: 7,419), Q1.**

13. Feki F., Taarji N., Vodo S., Chamkha M., Bouallagui Z., Nakajima, M., Isoda, H., Neves M. A. & Sayadi S. **(2022).** Physicochemical stability enhancement of β-carotene-rich O/W nanoemulsions using a new natural emulsifier developed from *Pistacia lentiscus* fruit residue. *Food Biophysics.* 10.1007/s11483-022-09766-3. **(IF: 3,340), Q1.**

14. Hadrich F., Chamkha M. & Sayadi S. **(2022).** Protective effect of olive leaves phenolic compounds against neurodegenerative disorders: Promising alternative for Alzheimer and Parkinson diseases modulation. *Food and Chemical Toxicology*. **159,** 112752. 10.1016/j.fct.2021.112752. **(IF: 5,572), Q1.**

15. Hadrich F., Geißen S., Chamkha M. & Sayadi S. **(2022).** Optimizing the extraction conditions of hydroxytyrosol from olive leaves using a modified spherical activated carbon : A new experimental design. *BioMed Research International*. Article ID 6199627. 10.1155/2022/6199627. **(IF: 3,246), Q2.**

16. Hadrich F., Mahmoudi A., Chamkha M., Isoda H. & Sayadi S. **(2022)**. Olive leaves extract and oleuropein improve insulin sensitivity in 3T3-L1 cells and in high fat diet treated rats *via* PI3K/AkT signaling pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* Accepted 12/12/2022. **(IF: 7,310), Q1.**

17. Karray R., Elloumi W., Ben Ali R., Loukil S., Chamkha M., Karray F. & Sayadi S. **(2022).** A novel bioprocess combining anaerobic co-digestion followed by ultra-filtration and microalgae culture for optimal olive mill wastewater treatment. *Journal of Environmental Management.* **303,** 114188. 10.1016/j.jenvman.2021.114188. **(IF: 8,910), Q1.**

18. Khmaissa M., Hadrich B., Ktata A., Chamkha M., Sayari A. & Fendri A. **(2022).** The response surface methodology for optimization of *Halomonas* sp. C2SS100 lipase immobilization onto $CaCO_3$ for treatment of tuna wash processing wastewater. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 10.1080/10826068.2022.2142799. **(IF: 3,141), Q3.**

19. Lejri R., Ben Younes S., Ellafi A., Bouallegue A., Moussaoui Y., Chaieb M. & Mekki A. **(2022).** Physico-chemical, microbial and toxicity assessment of industrial effluents from the southern Tunisian tannery. *Journal of Water Process Engineering.* **47,** 102686. 10.1016/j.jwpe.2022.102686. **(IF: 7,340), Q1.**

20. Maalej A., Dahmen-Ben Moussa I., Karray F., Chamkha M. & Sayadi S. **(2022).** Olive oil by-product's contribution to the recovery of phenolic compounds from microalgal biomass: biochemical characterization, anti-melanogenesis potential, and neuroprotective effect. *Biomass Convers. Biorefinery*. https://doi.org/10.1007/s13399-022-02640-9. **(IF: 4,050), Q3.**

21. Maalej H., Maalej A., Bayach A., Zykwinska A., Colliec-Jouault S., Sinquin C., Marchand L., Ktari N., Bardaa S., Ben Salah R., Chamkha M., Boufi S. & Nasri M. **(2022).** A novel pectic polysaccharide-based hydrogel derived from okra (*Abelmoschus esculentus L. Moench*) for chronic diabetic wound healing. *European Polymer Journal.* Accepted 07/12/2022. p. 111763. DOI: 10.1016/ j.eurpolymj.2022.111763. **(IF: 5,546), Q1.**

22. Mlaik N., Karray F., Sayadi S., Feki F. & Khoufi S. **(2022).** Semi-continuous anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: digester performance and microbial population dynamics. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.**10**, (3). 107941. 10.1016/j.jece.2022.107941. **(IF: 7,968), Q1.**

23. Mlaik N., Sayadi S., Masmoudi M. A., Yaacoubi D., Loukil S. & Khoufi S. **(2022).** Optimization of anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste with animal manure feedstocks using mixture design. *Biomass Convers. Biorefinery*. https://doi.org/10.1007/s13399-022-02620-z. **(IF: 4,050), Q3.**
24. Papirio1 S., Trujillo-Reyes Á., Scotto di Perta E., Kalogiannis A., Kassab G., Khoufi S., Sayadi S., Frunzo L., Esposito G., Fermoso F. G. & Stamatelatou K. **(2022).** Exploring the biochemical methane potential of wholesale market waste from Jordan and Tunisia for a future Scale-Up of anaerobic digestion in Amman and Sfax. *Waste and Biomass Valorization*. https://doi.org/10.1007/s12649-022-01790-1. **(IF: 3,449), Q2.**
25. Rmili F., Frikha F., Chamkha M., Sayari A. & Fendri A. **(2022).** Structure elucidation of *Staphylococcus capitis* lipase. Molecular dynamics simulations to investigate the effects of calcium and zinc ions on the structural stability. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics.* DOI: 10.1080/07391102.2022.2159528. **(IF: 4,150), Q2.**
26. Samet M., Ghazala I., Karray F., Abid C., Chiab N., Nouri-Ellouz O., Sayadi S. & Gargouri-Bouzid R. **(2022).** Isolation of bacterial strains from compost teas and screening of their PGPR properties on potato plants. *Environmental Science and Pollution Research.* https://doi.org/10.1007/s11356-022-21046-8. **(IF: 5,190), Q1.**
27. Zaghden H., Barhoumi B., Jlaiel L., Guigue C., Chouba L., Touil S., Sayadi S. & Tedetti M. **(2022).** Occurrence, origin and potential ecological risk of dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorines in surface waters of the Gulf of Gabès (Tunisia, Southern Mediterranean Sea), *Marine Pollution Bulletin.* **180,** 113737. 10.1016/ j.marpolbul. 2022. 113737. **(IF: 7,001), Q1.**
28. Zayen A., Loukil S., Bouallegui Z. & S. Sayadi. **(2022).** Coupling air stripping process and anaerobic digestion for the treatment of landfill leachate: organics degradation and cytotoxicity evaluation. *Euro-Mediterranean J. Environ. Integr.* https://doi.org/ 10.1007/s41207-022-00301-x. **n.d., Q3.**

Moyenne des IFs = 5,172 / 28 Articles: 16 Q1, 7 Q2 et 5 Q3.

- **Ouvrage:**

1. Meriam Cheffi, Sami Sayadi & Mohamed Chamkha. **(2022).** Bioremédiation des hydrocarbures et production des biosurfactants. Editions Universitaires Europeennes ISBN-13:978-620-3-43544-3; ISBN-10:6203435449; EAN:9786203435443. 256 p. (04.02.2022).

- **Chapitre dans un ouvrage:**

1. Amal Zayen & Sami Sayadi. **(2022).** Traitement des rejets liquides en Tunisie: Etats des lieux, problèmes rencontrés et recommandations. *In* «Approche Environnementale Intégrée. Cas du grand Sfax-Recueil de contributions». *Eds.* I. Gargouri, M. Khadhraoui, A. Kallel, M. Ksibi & H. Ben Dhia. Page 135-155.
2. Nesrine Gharsallah, Sami Sayadi, Firas Feki, Julie Jimenez & Sonia Khoufi. **(2022).** Anaerobic Digestion Engineering; Opportunities for Fruit and Vegetable Waste Management in the Water-Energy-Waste; Nexus. In: "Water-Energy-Nexus in the Ecological Transition, Advances in Science, Technology & Innovation". EREK Interdisciplinary Series for Sustainable Development. *Eds.* Vincenzo Naddeo, Kwang-Ho Choo and Mohamed Ksibi. https://doi.org/10.1007/978-3-031-00808-5_96. Springer Nature Switzerland AG 2022. 421-424. *ISSN:* 2522-8714; *eBook ISBN:* 978-3-031-00808-5 Published: *15 December 2022*.

- **Acte de conférences/ colloques:**

1. Manel Hamza, Ghada Kotti, Mohamed Chamkha, Sami Sayadi & Sonia Khoufi. **(2022).** Recovery of natural antioxidants from olive mill wastewater and their applications in oxidative stability of vegetable oils. Proceeding de la Conférence Internationale de l'Eco-Innovation (ECONOV'2022), 6 pages.
2. Mohamed Ali Masmoudi, Fatma Karray, Sami Sayadi & Mohamed Chamkha. **(2022).** Pretreatment of Olive Mill Wastewater by Adsorption on Biochar. Proceeding de la Conférence Internationale de l'Eco-Innovation (ECONOV'2022), 6 pages.

FORMATION DIPLOMANTE

▪ Thèses de doctorat es-sciences soutenues:

1- ***Wiem Elloumi:*** Valorisation de déchets de feuilles hydro-distillées de *Pistacia lentiscus* et de microalgues cultivés dans les conditions de stress salin et lumineux. Thèse de doctorat en Génie Biologique, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS). Soutenue le 10/12/2022.

2- ***Firas Feki:*** Développement des écotechnologies pour l'extraction, la purification et le conditionnement des substances naturelles à partir des bio-ressources des milieux arides et semi-arides. Thèse de doctorat en Génie Biologique, Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS). Soutenue le 16/12/2022.

▪ Mastères soutenus:

1. ***Toumadher Belazi:*** Effet de phosphogypse, en particulier le cadmium, sur l'environnement et la santé humaine. Mastère de Recherche en Santé Publique Environnementale; Faculté de Médecine de Sfax. Soutenu le 22/01/2022.
2. ***Nouha Alimi:*** Impact des produits pharmaceutiques de différentes familles thérapeutiques sur la santé et l'environnement. Mastère de Recherche en Santé Publique Environnementale; Faculté de Médecine de Sfax. Soutenu le 22/01/2022.
3. ***Eya Kessentini et Siwar Zorrig:*** Production des biosurfactants bactériens: optimisation et caractérisation. Mastère Professionnel en Sciences et Technologies de l'Environnement; ISB-Sfax. Soutenu le 05/07/2022.
4. ***Zato Moussiatou et Wafa Boudaya:*** Valorisation de la biomasse algale dans le domaine médical et cosmétique. Mastère Professionnel en Biotechnologie Appliquée au domaine de la santé, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax. Soutenu le 07/07/2022.
5. ***Toffaha Zaidi:*** Valorisation de résidus de distillation de plantes aromatiques par voie de bioconversion. Mastère de recherche en Ecophysiologie et Adaptation Végétale, Faculté des Sciences et Techniques de Sidi Bouzid. Soutenu le 14/12/2022.
6. ***Eya Bayar:*** Exploration des microalgues à des applications potentielles dans le domaine agricole. Mastère de recherche en Biologie Moléculaire Cellulaire et Biotechnologie, Spécialité Biotechnologie Végétale, Faculté des Sciences de Sfax (FSS). Soutenu le 26/12/2022.
7. ***Nour Abidi:*** Caractérisation des microbiomes dans un procédé anaérobie. Mastère de recherche en Biotechnologie microbienne, Faculté des Sciences de Sfax (FSS). Soutenu le 26/12/2022.

▪ Projets de Fin d'Etudes soutenus:

1. ***Wafa El Ayeb et Ghada Khalfallah:*** Etude de la digestion anaérobie des déchets verts après leurs prétraitements mécaniques et biologiques. Licence Appliquée en Génie des Procédés, ISET, Sfax. *Soutenu le 08/06/2022.*
2. ***Nada Kacem:*** Evaluation du pouvoir fertilisant des digestats anaérobies issus de la co-digestion des déchets organiques solides. Licence Appliquée en Génie des Procédés, ISET, Sfax. *Soutenu le 08/06/2022.*

3. **Rimeh Dhouib:** Amélioration du potentiel méthane des déchets de légumes et fruits par pré-fermentation arérobie. Licence Appliquée en Génie des Procédés, ISET, Sfax. *Soutenu le 08/06/2022.*
4. ***Chaima Benbelgacem:*** Culture de microalgues pour la séquestration du CO_2 et le traitement des eaux usées. Licence Appliquée en Génie des Procédés, Option Agroalimentaire, ISET, Sfax. *Soutenu le 17/06/2022.*

SEMINAIRES, JOURNEES ET ATELIERS SCIENTIFIQUES

32. Co-organisation de **Journées du LMI COSYS-Med**: Contaminants et Ecosystèmes Marins Sud Méditerranéens. Hôtel Bel-Azur, Hammamet, *29-30/03/2022***.**
33. **ECONOV 2022,** International Conference on Ecological Innovation. Sousse 7-9/05/2022. *Le LBPE est partenaire.*
34. Organisation de «**SUSPIRE and InnoVa Innovation Forum**». En collaboration avec l'Université Technique de Berlin, Allemagne. Sfax, *23-24/06/2022.*
    - ***Forum: Energetic valorization of organic residues: Experiences and innovation.*** Hotel Occidental Sfax Centre, *23/06/2022.*
    - ***Interactive innovation valorisation workshop.*** Salle des Conférences du CBS, *24/06/2022.*
35. Co-organisation avec l'Université de Sfax, la Faculté des Sciences Economiques et de Gestion de Sfax, la Faculté des Lettres et des Sciences Humaines de Sfax et l'Association de Recherches pour le Développement Economique et Social (ARDES) d'un «**Cercle de réflexion»** sur l'«**Économie des Ressources Naturelles - Les grandes incertitudes**». Le Grand Hôtel, Kerkennah, Sfax, *21-22/09/2022*.
36. 4th Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (**EMCEI-2022**). Sousse, *01-04/11/2022. Le LBPE est Partenaire.*
37. Co-organisation d'une **Journée Scientifique: Finance Durable, Enjeux, Etat des lieux et vision pour le futur**. Organisée par la Faculté des Sciences Economiques et de Gestion de Sfax et le Laboratoire LEG «Laboratoire en Economie et Gestion», en collaboration avec le Conseil Bancaire et Financier (CBF). FSEG-Sfax, *05/11/2022.*
38. Journée organisée par l'ISBS: «The role of higher education and scientific research in solid waste management in the MENA region». **Création d'un nouveau Mastère Professionnel International** par **l'Institut Supérieur de Biotechnologies de Sfax (ISBS)** intitulé: *Solid waste recycling and circular economy*. ***Partenaires:*** Département de Gestion des déchets et des ressources, Université de Rostock, Germany, **Laboratoire des Bioprocédés Environnementaux (LBPE),** l'Agence Nationale de Gestion des Déchets (ANGED) et l'Agence Nationale de Protection de l'Environnement (ANPE). ISBS, *23/11/2022.*
39. Co-organisation des **Journées du PRF 2017-D6P1**: Développement d'un éco-procédé pilote de culture de microalgues pour la séquestration de carbone, le traitement des eaux usées et la production de biocarburant. LBPE-CBS, LETMi-INSAT et B3 Aqua-INSTM. Centre de Stages de Douira-Chebba, *26-27/11/2022.*

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

10. ***Convention d'assistance de la Société Tunisienne des Lubrifiants (SOTULUB):*** Analyses, préparation des inocula et expertise des différents projets environnementaux de l'usine. Depuis 2016.

11. ***Convention de partenariat avec NOPAL Tunisie:*** Coopération en R&D et VTT en Biotechnologie. Depuis 2018.
12. ***Convention de coopération avec ISET-Sfax:*** Coopération scientifique en R&D en Biotechnologie. Depuis 06/10/2021.
13. ***Convention de partenariat avec l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax (ISBS)-LBPE.*** 03/01/2022.
14. ***Convention de coopération avec GREENWAY MAKER:*** Coopération scientifique en R&D en Biotechnologie, changement climatique et ACV. 07/01/2022.
15. ***Convention de partenariat avec l'Ecole Supérieure Polytechnique Internationale Privée (ESPIn)-LBPE.*** 27/04/2022.
16. ***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.
17. ***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.
18. **Projet PAQ-Collabora «Biotech-INNOV»:** ***2018-2023:*** Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriel: Implication du LBPE *via* la start-up bénéficière «PhytoPLANT» spécialisée dans la production de compléments alimentaires.
19. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2019-D1P1: 2019-2024:*** Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydantes. Le LBPE est une équipe partenaire.
20. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2017-D6P1: 2018-2023:*** 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.
21. **Projet de Recherche Fédérée (P.R.F):** ***PRF 2017-D6P2: 2018-2022:*** 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.

- **Prestations de services:** Courant 2022, différentes prestations de services ont été réalisées par le LBPE (analyses physicochimiques, microbiologiques, chromatographiques et spectroscopiques) au profit des entreprises: Savonnerie Elyss, Société CHEMA des travaux publics, Inter Colle, Société SARL Senzo International, Générale Environnement Industriel & Services, Process Inspection & Control (PIC), SEDD, SOTOLUB, Pulire, Ecovillage Beauty, Tunitalia Pharma, Ets Adlen Kallel, 1 Citoyen, Sofiltra, Tunisia Tuna, Société BIOGAIA, Medical Industry Perfection (MIP), SOVO Sud, ASEPTIKA, Laboratoire 3B et AFRO-Pharma.

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1- **Projet InnoVa: German - African Innovation Incentive Award:** ***2020-2023:*** Innovative Valorization of Olive Mill Effluents. En collaboration avec l'Université Technique de Berlin, Allemagne.
2- **Programme ENI CBC MED - Projet CEOMED:** ***2019-2023:*** 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 IEV de cooperation transfrontalière Italie-Tunisie:** ***2022-2023.*** Alliance de Recherche et d'Innovation en Biotechnologie bleue pour la valorisation des déchets marins ARIBiotech. Projet coordonné par l'INSTM.
5- **Project Twinning NGS-4-ECOPROD: Horizon Europe (HORIZON):** ***2022-2025.*** From Next Generation Sequencing microorganisms towards ccofriendly biotech based products.
6- **Programme ARIMNet 2 - Projet PYRODIGEST:** ***2018-2022:*** Conversion of olive oil wastes through combined pyrolysis and anaerobic digestion: energy, value added products and eco-fertilizers production.
7- **Programme ERANETMED - Projet BIOGASMENA:** ***2017-2022*****:** Demonstration of dry fermentation and optimization of biogas technology for rural communities in the MENA region.
8- **USA/USAID/PEER: Partnerships for Enhanced Engagement in Research (PEER): Projet OMW2ALGAE:** ***2017-2022:*** Evaluation of algal treatment options for olive mill wastewater to produce energy and biofertilizer.
9- **Projet Tuniso-Japonais SATREPS:** ***2016-2022:*** Valorization of Bio-resources based on Scientific Evidence in Semi- and Arid Land for Creation of New Industry.

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

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Raja Mokdad	Professeur	Sihem BenAbid	Post-doctorant
Ali Gargouri	Professeur	Awatef Taktak	Post-doctorant
Ines Feki	Professeur agrégé	Manel Boudabbous	Post-doctorant
Mohamed Guerfali	Maître de conférences	Nihel Ammous	Post-doctorant
Wajdi Ayadi	Maître-assistant	Amena Saadallah	Post-doctorant
Hèla Trigui	Maître-assistant	Emna Ketata	Post-doctorant
Houda Skouri	Maître-assistant	Azza HadjSassi	Post-doctorant
Basma Hadj Kacem	Maître-assistant	Wafa Mihoubi	Post-doctorant
Ines Belhaj	Maître-assistant	Sihem BenAbid	Post-doctorant
Dorra Ben Ayed	Maître-assistant	Awatef Taktak	Post-doctorant
Rim Ladhar	Maître-assistant	Manel Boudabbous	Post-doctorant
Adel Saidi	Technicien	Inès Ayadi	Post-doctorant
Nizar Jammoussi	Aide Technicien	Salma AbdelJalil	Post-doctorant
Riadh Ben Ali	Agent de labo	Rania Abdelmaksoud	Post-doctorant

OBJECTIFS GENERAUX

- Produire, étudier et fournir des enzymes dégradatives et des molécules antimicrobiennes pour des applications industrielles diverses (Agroalimentaire, textile, 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.

Le laboratoire est constitué de deux équipes travaillant sur deux su:

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***

LISTE DES PROJETS

Projet 1 : ENZYMES DEGRADATIVES FONGIQUES ET VALORISATION DE LA BIOMASSE (Responsable : A. GARGOURI)
Projet 2 : POTENTIALITES FONGIQUES EN BIOTECHNOLOGIE ET BIOENERGIES (Responsable : A. GARGOURI)
Projet 3 : BIOMARQEURS D'INTERET DIAGNOSTIQUE (Responsable : R. MOKDAD-GARGOURI)
Projet 4 :BIOMARQEURS D'INTERET THERAPEUTIQUE (Responsable : R. MOKDAD-GARGOURI)

ACTIONS PAR PROJETS ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS :

Projet 1 : ENZYMES DEGRADATIVES FONGIQUES ET VALORISATION DE LA BIOMASSE (Responsable : A. GARGOURI)

- **Production et formulation d'enzymes fongiques d'intérêt dans la détergence** (Ines Ben Hmad): Nous avons montré que la souche A19 de *Stachybotrysmicrospora*produit, outre e=les cellulases, une multitude d'enzymes (amylase, protéase, lipase) qui ont montré une grande efficacité dans la détergence, au cours d'un Mobi-post doc avec la société de détergents SOPAL.

- **Biosynthèse de molécules d'intérêt en cosmétique par le biais d'une beta glucosidase fongique** (ManelBoudabbous): Cette enzyme de *Fusariumsolani*, outre sa fonction hydrolytique, est capable de réaliser la synthèse de molécules d'intérêt cosmétique et ce, à partir de molécules aromatiques comme l'esculine et autres. Certaines de ces molécules ont été testées avec succès avec la société Fayderma lors d'un projet Mobi-post doc.
- **Préparation de concentrés d'acides aminés : les bio-stimulants** (Aida Koubaa) en utilisant des protéases de Beauveriabassiana dans une première étape puis d'une bactérie isolée fortuitement, *Bacillus amyloliquefaciens*, nous avons pu produire un hydrolysat d'acides aminés qui a donné une grande satisfaction à l'industriel qui l'a testé. Une certaine variabilité et instabilité a été rencontrée chez la couche productrice, qui nous a poussé à programmer le séquençage génomique de certains de ses variants.

- **Application des enzymes dans l'extraction de l'huile des déchets de sardines** (Aida Koubaa et ArefNeifar) Pareillement, nous avons utilisé des protéases de *Beauveriabassiana* et des protéases bactériennes commerciales afin d'hydrolyser les protéines des déchets de sardine afin de libérer les huiles, que nous avons alors récupérées et analysées. Ces huiles étaient très riches en omega 3 (DHA et EPA) et n'ont aucune toxicité envers les souris.

- **Analyse génomique et bioinformatique du génome de la souche fongique locale *Stachybotrysmicrospora* N1** (Salma Abdeljalil) Le génome de ladite souche a été sequence

grâce au Miseq du CBS, puis annoté et exploité par nos propres moyens aidés par Olivier Verlaine de Belgique. Outre la mise en évidence de plusieurs gènes cellulolytiques, nous avons découvert des aptitudes insoupçonnées chez notre souche: capacité laccase, et ligninase, activité tyrosinase et production de mélanine.

- **Production, formulation et commercialisation d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques** (Azza Hadj Sassi) : Nous avons continué notre sujet en collaborant avec l'Institut de l'Olivier et les industriels oléiculteurs de la région et avons montré que l'addition de nos pectinases pouvait faire augmenter le taux de l'huile extraite jusqu'à 20% de la masse d'huile habituellement obtenue. Les industriels sont très devenus demandeurs et nous devons dans le future assurer une production à l'échelle de ces demandes, estimer le coût, présenter un certificat d'innocuité et suivre de près les traces d'enzymes et/ou de champignon dans l'huile, les grignons et les margines?

- **Production et application des pectinases dans l'extraction des huiles** (HajerTounsi) Pareillement à l'huile d'olive, nous avons entamé des études sur les jus de fruits et sur des huiles extraites à partir d'autres graines végétales : Moringa et noyaux de dattes.

- **Recherche d'inhibiteurs biologiques d'uréase dans le but de désodoriser et valoriser les fientes de volailles** (EmnaKetata et NihelAmmous): il s'agit d'un nouveau thème qui a été élaboré dans le cadre d'un Mobi-post doc. Nous avons isolé des bactéries productrices d'uréase, nous avons montré que certains acides faibles pouvaient mener à la désodorisation. Par ailleurs, nous avons isolé par la technique du phage display des phages capables de se fixer sur l'uréase de fève commercial. Nous projetons de synthétiser les deux peptides consensus afin de mener des études fonctionnelles et voir si nos peptides sont doués d'action inhibitrices d'uréase et de désodorisation?

Projet 2 : POTENTIALITES FONGIQUES EN BIOTECHNOLOGIE ET BIOENERGIES (Responsable : A. GARGOURI)

- **Etude des levures et champignons oléagineux** (HèlaTrigui-Lahiani et Mohamed Guerfali, OmamKamoun et InesAyadi): Après avoir isolé un bon nombre de levures et champignons filamenteux capables d'emmagasiner plus de 20% de leur poids en lipides et occasionnellement de produire aussi des pigments très intéressants, nous nous sommes orientés vers l'amélioration génétique de nos souches et dans l'application de nos lipides et pigments en biotechnologie. La modification génétique des souches a été entreprise par une technique classique et par la technique CRISPER-cas9. Nos lipides seraient de bons candidats pour la synthèse de biodiesel et certains pigments et surfactants seraient doués d'activités cytotoxiques sur des cellules cancéreuses.

- **Production en masse du bio-pesticide fongique de *Beauveriabassiana***(InesBorgi) Après avoir mené les études biochimiques et moléculaires sur le mutant P2 surproducteur de protéases et de chitinases, nous avons travaillé sur la production en masse des spores de B. bassiana pour des fins de transfert technologique, dans le cadred 'un Mobi-post doc. Nous sommes en train de maîtriser cette technologie par la mise au point des appareillages et des technologies appropriées. L'isolement d'une souche plus thermostable est un autre volet sur lequel nous travaillons.

- **Production et études des potentialités biotechnologiques de la lipase de *Talaromyces thermophilus*** (InesBelhaj) La galactolipase de ce champignons thermophile s'avère de plus en plus appropriée pour des réactions d'hydrolyse et de synthèse très intéressantes générant des molécules d'intérêt biotechnologique certain: des surfactants, des glycolipides et des sucro-esters varies. De plus, elle peut être exploitée dans la synthèse de biodiesel de très bonne qualité.

- **Etudes approfondies sur les transporteurs fongiques de type ABC transporter** (HèlaTrigui-Lahiani) Dans ce cadre, plusieurs clones disruptés dans ce gène ont été produits et sont en train d'être testés dans la résistance contre certaines molécules antifongiques don't l'action passerait par un ABC transporter. De même nous avons projeté de mener des constructions génétiques par le biais de la technologie CRISPER. Un plasmide exprimant la protéine Cas9 chez les champignons filamenteux a été reçu gracieusement d'un groupe travaillant sur la technologie chez les champignons et a été utilisée dans nos constructions mais nous n'avons pas encore obtenu de recombinants fiables.

- **Etudes approfondies sur l'AFP d'*Aspergillus clavatus*** (Houda Skouri) Nous avons repris l'étude des souches mutées dans plusieurs gènes, obtenues grâce à l'aide précieuse de l'équipe Espagnole avec qui nous avions mené un projet de collaboration, qui pourraient moduler l'activité de l'AFP que nous avions étudié chez *A. clavatus*. Ces études nous permettront d'approcher d'une manière appropriée et détaillée au mécanisme d'action de l'AFP

- **Le dérivé acétate des adduits de Morita-Baylis-Hillman (MBH) est un puissant antifongique** (Wafa Mihoubi, Manel Boudabbous, Ines Borgi, Emna Ketata, Najeh Dabbebi, Rabiaa Sayehi et Haytham Elleuch) : plusieurs molécules, de types alcool ou acétate, ont été synthétisées par Dr Haitham Elleuch à la FST au laboratoire dirigé par Pr Farhat Rezgui. Ces molécules ont été appliquées sur plusieurs champignons isolé au laboratoire afin d'étudier leurs capacités antifongiques; ce qui a été fait et donné d'excellents résultats. En effet, en comparaison à la nystatine, un compose du type acétate accroché à un compose aromatique de 5 carbones s'est illustré particulièrement contre tous les champignons testés et a parfois dépassé les capacités de la nystatine.

Projet 3: BIOMARQEURS D'INTERET THERAPEUTIQUE (Responsable : R. MOKDAD-GARGOURI)

Cancer du poumon non à petites cellules (Dr Abdelmaksoud, Dr Ammous)

Ce type de cancer bronchique est le plus fréquent et diagnostiqué à un stade avancé. I Avec la thérapie ciblée de la voie EGFR/MAPKinase, son pronostic s'est amélioré. Avant la prescription de cette thérapie de précision basée sur les inhibiteurs de tyrosine kinase TKI, il est nécessaire de rechercher les mutations de sensibilité aux TKI dans le gène EGFR.

Nos résultats ont montré que des mutations de l'EGFR ont été détectées chez 34 patients sur 79 (43%), avec une prédominance de la mutation L861Q dans l'exon 21 trouvée dans 35,3% des cas (12 sur 34). Des délétions dans l'exon 19 ont été trouvées dans 8 cas (23,5 %), et seul un jeune patient de sexe masculin présentait la mutation de résistance T790M. Trois patients étaient porteurs de mutations composites de l'EGFR (p.E746_A750del/p.L861R, p.E746_S752>V/p.S768I et p.G719A/p.L861Q). En outre, le statut muté de l'EGFR était significativement plus fréquent chez les patients de sexe féminin (p = 0,019), chez les patients non-fumeurs (p = 0,008) et chez les patients présentant des métastases (p = 0,044). De plus, la mutation V600E de B-raf a été identifiée chez 5 patients EGFR négatifs parmi les 39

échantillons analysés (13,15%). Notre étude a montré la prédominance de la mutation p.L861Q chez nos patients (35,3%), alors que les mutations qualifiées de « classiques » de l'EGFR telles que Del19 et p.L858R ont été trouvées dans 23,5% et 11,7% des cas, respectivement. Il est intéressant de noter que la plupart des patients porteurs de la mutation p.L861X ont bien répondu favorablement au traitement par TKI. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent une distribution particulière des mutations de sensibilité de l'EGFR-TKIs chez les patients tunisiens atteints adénocarcinome bronchique.

Le cancer colorectal(Dr Abdelmaksoud, Dr Ammous)

Ce cancer est le plus souvent sporadique et son incidence augmente à partir de 50 ans et représente environ 15% de l'ensemble des cancers. En plus des formes sporadiques, le CRC peut avoir une origine familiale comme la polypose adénomateuse familiale et le syndrome de Lynch.

L'instabilité des microsatellites (MSI) se caractérise par la variation anormale du nombre de séquences répétées dans l'ADN tumoral comparé à l'ADN du tissu sain du même patient. Elle est présente dans 15 % des CRC sporadiques et 95% des cas de syndrome de Lynch.

Dans les cancers sporadiques, la présence de MSI chez les patients en stade II est un facteur de bon pronostic, corrélée à une meilleure survie et permettant de rationaliser l'utilisation de traitements adjuvants. Pour les cancers colorectaux métastasiques, la présence du phénotype instable permet de proposer une immunothérapie en utilisant les anti-PD1et anti-PDL1.

Au cours des travaux précédents, nous avons développé un test pour l'analyse MSI, basé sur un génotypage fluorescent de 7 marqueurs microsatellites.

Par ailleurs, nous avons réalisé des études génétiques pour les formes de CRC héréditaires en utilisant le NGS pour la polypose familiale et le syndrome de Lynch et le séquençage capillaire dans le cas de la polypose liée à MYH (MAP). En effet, 3 mutations récurrentes ont été identifiées chez des patients tunisiens au niveau des exon 5 et 13 du gène MUTYH. Nous commençons par rechercher ces mutations par séquençage capillaire et en cad d'absence nous réalisons l'analyse des autres exons par séquençage sanger. S'il ne s'agit de MAP, on utilisera le NGS pour cribler le gène APC (PAF) et les gènes MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 impliqués dans le diagnostic du syndrome de Lynch. Ces études génétiques ont un impact majeur d'une part pour mieux orienter le clinicien à faire le diagnostic (MAP, FAP, Syndrome de Lynch) et de faire bénéficier les membres des familles de patients porteurs de mutations causales, d'un conseil génétique pour mieux les prendre en charge et faire un diagnostic précoce.

Dépistage du déficit de la DPD et risque de toxicité au 5-FU (Dr Amena Saadallah)

Les fluoropyrimidines dont le 5-FU, sont les molécules anticancéreuses les plus utilisées en chimiothérapie pour le traitement des tumeurs solides (colon, estomac, sein, cancers ORL). Elles induisent des toxicités sévères chez 10 à 40 % des patients et conduisent au décès dans 0,2 à 0,8 % des cas. Certaines de ces toxicités sont liées à un déficit d'activité, qui peut être partiel ou complet, de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), enzyme ubiquitaire responsable de l'élimination de plus de 80 % des fluoropyrimidines. L'objectif de la recherche d'un déficit en DPD est de réduire le risque de toxicités sévères chez les patients concernés en leur proposant un ajustement de la posologie initiale des fluoropyrimidines, sans pour autant impacter l'efficacité du traitement, voire un traitement alternatif en cas de déficit complet. À l'heure actuelle, un déficit en DPD peut être mis en évidence par la mesure directe ou indirecte de l'activité de l'enzyme ou par la recherche de variants du gène DPYD codant pour l'enzyme DPD (*2A, *13, p.D949V et HapB3). Notre objectif est de dépister le déficit en DPD par la

méthode combinée (génotypique et phénotypique) chez les patients proposés pour une chimiothérapie à base de fluoropyrimidine avant son administration ou chez les patients ayant présenté une toxicité évoquant un déficit en DPD. La stratégie expérimentale qui sera mise en œuvre pour la méthode phénotypique est l'HPLC et/ou LC MS/MS pour doser dans le sang l'uracilémie alors que le génotypage est réalisé par PCR /sondes Taqman. Nous avons déjà déterminé le gènotype de 4 SNP du gène DPYD chez 100 patients alors que le dosage est en cours de mis au point.

Etude de la relation entre l'EMT et la résistance à la chimiothérapie (Dr Ayedi)

Dans le NPC, il est bien documenté que la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) confère aux cellules d'origine épithéliales des propriétés relatives à l'invasion tumorale et à la résistance aux traitements anti-cancéreux.

Dans ce projet, nous envisageons d'étudier des miRNAs qualifiés soit d'activateurs tels que les oncomiRs hsa-92, EBV-BART (1,7 et 9) soit d'inhibiteurs tels que miR-200a, miR-145 et miR-22 du processus de l'EMT. La finalité de ce travail vise principalement à définir la signification clinique de chaque miARN testé au moment du diagnostic primaire et après une chimiothérapie d'induction basée sur les molécules suivantes Docétaxel, Cisplatine et 5FU. L'interprétation du profil d'expression des micro-ARNs évalué par RT-QPCR, en fonction de la réponse des malades permettrait de proposer des marqueurs pronostiques et/ou prédictifs. Les miRNA seront isolés à partir de plasma de patients avant le début, en cours et en fin de traitement et leurs niveaux d'expression seront évalués par RT-QPCR.

Molécules à potentialités pro-agrégantes ou anti-plaquettaires (Asma Haffouz, Basma Hadj Kacem).

Nous avons criblé un bon nombre de molécules de synthèse chimique ou biologique pour leur capacité à inhiber ou stimuler l'agrégation des plaquettes de donneurs sains. Nous avons trouvé l'effet pro et anti-agrégant chez certaines de ces molécules, que nous avons brevet et publié.

Exploration du mode d'action d'une molécule pro-agrégante et essai pré-clinique (Basma Hadj Kacem).

Pareillement, nous menons des études très poussés ru une moléucle déjà connue mais que nous avions réussi à "repositionner" en tant que pro-agrégant très puissant qui pourra être appliqué en médecine afin de stopper les hémorragies et favoriser la cicatrisation. Des études approfondies sur le mécanisme d'action sont menés avec un groupe Français et des essais précliniques seront menés avec l'hôpital militaire de Tunis. Notre découverte nous a permis d'obtenir un prix international récemment.

Développement de peptides antagonistes à la place des anticorps anti-CTLA4 et anti-PD1 utilisés en immunothérapie (Salma AbdelJalil).

Dans le cadre d'un projet Mobi-post doc, nous avons proposé un nouveau sujet de reposant sur le prix Nobel 2018 qui stipulait que les anticorps anti-PD1 et les anticorps anti-CTLA4 réveillent la réponse immune contre les tumeurs. Nous avons alors propose de remplacer les anticorps par des peptides que nous allons rechercher par le criblage de banque aléatoires par phage display, sur les cibles PD1 ou CTLA4. L'ADN codant pour les domains extracellulaires de ces dernières a été synthétisé et cloné dans des vecteurs d'expression chez la levure *Pichiapastoris*. Nous avons les clones positifs et il reste la purification des deux domaines sur lesquels on va faire le criblage.

Production de tests sérologiques anti-SARS-Cov2 (HoudaSkouri, Azza Hadj Sassi, WajdiAyadi).

Dans le cadre de nos activités spontanées sur le covid, nous avons cloné et exprimé certains domaines clefs de protéines du Virus que ce soit chez E. coli ou chez la levure P. pastoris. Nous projetons de les utiliser comme cible dans des expériences de phage display. En attendant, nous les avons aussi utilisés comme antigène afin de réaliser des tests sérologiques chez des patients atteints du covid. Ceci nous a permis d'avoir de solides résultats sérologique avec une excellente sensibilité et reproductibilité.

Etude de l'effet du cholestérol et du 7ketocholestérol (7KC) sur les levures (WafaMihoubi). En collaboration avec le Pr Gérard Lizard qui travaille beaucoup sur les oxystérols, nous avons planifié de tester l'effet de l'un d'entre ces molécules, le 7KC, dans le système levure. Pour ce faire, Nous avons cultivé les cellules de levure W303-1B dans différentes conditions. Les premiers résultats indiquent que le 7KC donnerait un effet stimulateur de la croissance et non pas inhibiteur, chez la levure.

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 (WafaMihoubi, NajehDabbebi, RabiaaSayehi) Nous avions déjà exploité notre système levure, où la surexpression de la P53 humaine engendrait l'apoptose, en mettant en évidence que l'extrait de nigelles avait un effet anti-apoptotique très puissant. Nous avions entamé des analyses par RMN, grâce à l'aide d'une équipe Française mais la quantité et la qualité de la fraction purifiée faisait défaut. Dans le but de connaitre la structure moléculaire exacte du principe actif, nous avons refait les expériences chromatographiques de purification sur près de 6 Kg de nigelles. Nous avons abouti à une fraction pure qui est en train d'être analysée par Spectrométrie de masse, grâce au nouvel appareil de LC-MS/MS acquis récemment par le CBS.

Projet 4: BIOMARQEURS D'INTERET DIAGNOSTIC (Responsable : R. MOKDAD-GARGOURI)

Cancer seins/ovaires (Dr Ben Ayed, Dr Ammous)

En Tunisie, 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. Le cancer du sein 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 à environ 30 à 40% des cancers héréditaires sein/ovaires.
Nos objectifs consistent à utiliser le NGS pour cribler les gènes de prédisposition majeurs BRCA1/BRCA2 chez des patientes avec un contexte familial et des patientes jeunes Triple négative sans antécédant familial, afin d'identifier les mutations BRCA causales .
Nous avons analysé 134 patientes sélectionnées pour une histoire familiale au cancer sein/ovaires. Nos résultats ont montré que 19 (14.17%) patientes sont porteuses de mutations (10 dans BRCA1 et 9 dans BRCA2. Parmi les 13 variants identifiés, 5 (38.46%) ont été trouvé au moins 2 fois chez des patients non apparentés comme les mutations c.1310-1313 delAAGA dans BRCA2 identifiée chez 4/98 patientes avec un cancer du sein et la mutation c.5030_5033 delCTAA trouvée chez 3 patientes sur 15 avec un cancer de l'ovaire suggérant qu'il s'agirait de mutations récurrentes dans notre population puisqu'elle seraient responsables de 4% et 20% des cas de cancer du sein et de cancer de l'ovaire respectivement. Une corrélation significative a été observée entre les porteuses de mutations BRCA carriers et la localisation tumorale (p=0.029) et le statut Triple négative TNBC (p=0.008).

Par ailleurs, nous avons utilisé le séquençage à haut débit pour cribler les gènes de prédisposition aux formes héréditaires des cancers du sein/ovaires et colorectaux (polypose et syndrome de Lynch) afin de donner un conseil génétique et de faire bénéficier les patientes BRCA+ de la thérapie ciblée anti-PARP. Nous avons également analysé par NGS des tissus tumoraux de l'ovaire pour la prescription d'une thérapie ciblée en cas de l'identification d'une mutation BRCA.

Pour les patientes négatives pour les mutations BRCA, nous avons réalisé un séquençage de l'exome (ES) chez 8 patientes à haut risque de cancer sein/ovaires. Nous avons identifié des variants faux sens dans les gènes de réponse aux dommages de l'ADN, tels que ATM, RAD52, RAD54 ; cependant, aucun variant dans les gènes PALB2, Chek2 et TP53 n'a été trouvé. Afin d'identifier de nouveaux gènes candidats, nous avons sélectionné des variants portant une perte de fonction et avons identifié 17 stop-gain et 11 frameshift dans des gènes qui ne sont pas généralement connus comme prédisposant cancer sein/ovaires. Nous avons ciblé les gènes rares et à fort impact commun pour au moins 3 patients non apparentés de chaque famille et avons sélectionné 16 variants. Grâce à une analyse combinée des données de MCODE, Gene Ontology et KEGG, nous avons retenu une courte liste de 8 gènes candidats (ATM, EP300, LAMA1, LAMC2, TNNI3, MYLK, COL11A2, LAMB3).

Nous avons également utilisé un panel couvrant 31 gènes (OncoriskCelemics) impliqué dans les cancers pour analyser 16 patients avec un cancer sein/ovaires, polypose familiale, syndrome de Lynch afin d'identifier les mutations germinales. D'autre part, nous avons analysé par NGS, l'ADN extrait de biopsies tumorales ovariennes pour identifier les mutations somatiques BRCA pour un traitement ciblé à base d'inhibiteurs de PARP.

PRODUCTION CIENTIFIQUE

1. Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture :

1. Abdelmaksoud-Dammak, R., N. Ammous-Boukhris, A. Saadallah-Kallel, S. Charfi, S. Khemiri, R. Khemakhem, N. Kallel, W. Ben Kridis-Rejeb, T. Sallemi-Boudawara, A. Khanfir, I. Yangui, J. Daoud and R. Mokdad-Gargouri**(2022)**. Predominance of the Rare EGFR Mutation p.L861Q in Tunisian Patients with Non-Small Cell Lung Carcinoma. ***Genes*** 13(8).
2. Abed, A. S., R. Mokdad-Gargouri and W. M. Raoof**(2022)**. Association between interleuleukin-1β polymorphism (rs16944) and biomarkerslevels in Iraqi patients with prostate cancer. ***MolecularBiology Reports***.
3. Adhar, M., B. HadjKacem, S. Périno-Issartier, I. Ben Amor, A. Feki, J. Gargouri, A. Gargouri, S. Tounsi, F. Chemat and N. Allouche **(2022)**. Thymol-enrichedextractfrom Thymus vulgaris L leaves: Green extraction processes and antiaggreganteffects on humanplatelets. ***BioorganicChemistry*** 125.
4. Ayadi, W., A. Taktak, S. Gargouri, F. Smaoui, A. Chtourou, H. Skouri-Gargouri, R. Derbel, A. H. Sassi, A. Gargouri, A. Hammami, H. Karray-Hakim, R. Mokdad-Gargouri and L. Fki-Berrajah**(2022)**. Development of a simple genotypingmethodbased on indel mutations to rapidlyscreen SARS-CoV-2 circulatingvariants: Delta, Omicron BA.1 and BA.2. ***Journal of VirologicalMethods*** 307.

5. Ben Ayed, R., M. Bouzid, R. Zbidi, M. Aouioua, A. Gargouri, H. Belghith and I. Belhaj**(2022)**. Two-in-One Surfactant DisinfectantPotential of XylitolDicaprylateand Dilaurate Esters Synthesized by Talaromycesthermophilusgalactolipase for Cleaning Industries. ***AppliedBiochemistry and Biotechnology*** 194(6): 2700-2719.
6. BenAyed-Guerfali, D., C. Kifagi, W. BenKridis-Rejeb, N. Ammous-Boukhris, W. Ayedi, A. Khanfir, J. Daoud and R. Mokdad-Gargouri**(2022)**. The Identification by ExomeSequencing of Candidate Genes in BRCA-NegativeTunisian Patients at a High Risk of HereditaryBreast/Ovarian Cancer. ***Genes*** 13(8).
7. Guerfali, M., I. Ayadi, W. Ayadi, S. Smaoui, K. Elhadef, H. Zaghden, L. Jlaiel, E. Sahli, H. Belghith and A. Gargouri**(2022)**. Concomitant production of multifunctionalmetabolites on biodiesel-derivedcrudeglycerol by the oleaginousyeastRhodotorulababjevae Y-SL7. ***Biomass Conversion and Biorefinery***.
8. Kouidhi, S., W. Mnif, N. Alqarni, S. Abdelwahed, A. Redissi, N. Ammous, B. Selmi, A. Gargouri, S. Achour, A. Cherif and A. Mosbah**(2022)**. Design and use of chimeric peptides in a new non-destructive ecologicalprocessapplied to the extraction of all trans/9-cis β-caroteneisomersfromDunaliella salina. ***Food Science and Nutrition*** 10(6): 1928-1936.
9. Mihoubi, W., E. Sahli, F. Rezgui, N. Dabebi, R. Sayehi, H. Hassairi, N. Masmoudi-Fourati, K. Walha, K. Ben Khadhra, M. Baklouti, I. Ghzaiel, S. Fattouch, H. Menif, R. Mokdad-Gargouri, G. Lizard and A. Gargouri**(2022)**. Whole and PurifiedAqueousExtracts of Nigellasativa L. SeedsAttenuateApoptosis and the Overproduction of ReactiveOxygenSpeciesTriggered by p53 Over-Expression in the Yeast Saccharomyces cerevisiae. ***Cells*** 11(5).
10. Neifar, A., A. Koubaa, M. Chelly, S. Chelly, I. Borgi, W. Kammoun, M. Boudawara, C. Kallel, S. Sadok, H. Bouaziz and A. Gargouri**(2022)**. Safetyassessment of fishoil green extraction and in vivo acute toxicityevaluation. ***Environmental Science and Pollution Research***.
11. Rekik, I., R. Ben Ameur, W. Ayadi, A. Soussi, A. Gargouri and N. Allouche **(2022)**. Anti-oxidant, anti-diabetic and anti-lipidemicactivities of rootbarkextractsfromRhustripartitum and cytotoxicityevaluation of isolatedcompounds. ***South African Journal of Botany*** 147: 71-80.
12. Jemaà, M., R. Mokdad Gargouri and F. Lang **(2022)**. Polo-like kinase inhibitor BI2536 induceseryptosis. ***Wiener MedizinischeWochenschrift***.

2. Chapitre dans un ouvrage : *Néant*

3. Acte de conférences/colloque : *Néant*

4. Brevets d'invention nationaux :

1. **HaithamElleuch , AsmaHaffouz, , Ikram Ben Amor, AmiraFeki, JalelGargouri, Ali Gargouri, FarhatRezgui, et BasmaHadjkacem.** *(en co-propriété entre le Centre de Biotechnologie de Sfax, la faculté des sciences de Tunis et la faculté de médecine de Sfax) :* Sels de phosphoniumissus des accepteurs de Michael en

tantqu'agentsantiagrégantsplaquettaires. ***INNORPI ; N° TN 2022/0155 en date du 09 Juin 2022).***

FORMATION DIPLOMANTE

- **Thèses de doctorat soutenues :**

1. **Amin JABLAOUI :** Investigation du rôle des protéases à serine et leursinhibiteurs dans la physiopathologie des MICI. ***Soutenue le 26 Décembre 2022.*** **(Faculté Des Sciences De Sfax). (Encadreur : Pr. Ali Gargouri&MoezRhimi).**
2. **Aicha KRIAA :** Implication des protéases à sérine du microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires digestives humaines. ***Soutenue le 26 Décembre 2022.*****(Faculté Des Sciences De Sfax). (Encadreur : Pr. Ali Gargouri&MoezRhimi).**

- **Mastères soutenus :**

✓ **Mastères de Recherche :**

1. **MarwaAmmous:** Identification des mutations EGFR et BRAF chez des patients atteints de cancer de poumon non à petites cellules afin de bénéficier d'une thérapie ciblée. ***Soutenue le 28 Juin 2022.(Faculté de pharmacie de Monastir).*** **(Encadreur : Pr. Raja Mokdad-Gargouri& Dr. Rania Abdelmaksoud-Dammak).**
2. **AméniBedoui :**Intérêt de l'étude de la clonalité lymphocytaire par réarrangement génique dans le diagnostic et le suivi des hémopathies lymphoïdes malignes. ***Soutenue le 30 Décembre 2022.*****(Faculté Des Sciences De Sfax). (Encadreur : Dr .Wajdi Ayadi).**

✓ **Mastères professionnels :**

1. **Mariam Zaidi :**Scale-up de la bioproduction de prébiotiques et étude de leur effet sur des souches probiotiques. ***Soutenue le 01 Juillet 2022.(Institut Supérieur de Biotechnologie de Sfax).*** **(Encadreur : Dr. ManelBoudabbous& Pr. Ali Gargouri).**
2. **SiwarCherif :** Recherche de marqueurs de réactivation du virus d'Epstein-Barr chez les patients COVID-19.

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

1. **NawelZribi :** Production de la protéine de la nucléocapside (N) et du domaine de liaison RBD (receptor binding domain) du virus SRAS-Cov-2 chez *Pichia Pastoris* ».***Soutenue le 23 Juin 2022.*** **(ÉcoleNationaled'Ingénieurs de Sfax (ENIS)). (Encadreur :DrHoudaSkouri).**

SEMINAIRES, ATELIERSET JOURNEES

1. Young researchers in Life Sciences Conférence YRLS 13^{éme} édition, **du 8 au 10 juin 2022** à l'Institut Necker Enfants Malades, Paris, France. Communication par poster:

Concomitant multifunctional metabolites production by the oleaginous yeast *Rhodotorulababjevea* Y-SL7. **Mohamed Guerfali**, Ines Ayadi,WajdiAyadi, Hafedh Belghith, Ali Gargouri

2. Participation par une communication orale au 31éme Congrès International des Sciences Biologique et de la Biotechnologie, organisé par l'Association Tunisienne des Sciences Biologiques (ATSB), **21-24 Mars 2022** à Hammamet, Tunisie. Titre de la communication: BIODIESEL-DERIVED CRUDE GLYCEROL AS ALTERNATIVE FEEDSTOCK FOR SINGLE CELL OIL PRODUCTION BY THE OLEAGINOUS YEAST *Candida viswanathii*Y-E4. **Mohamed Guerfali**, Ines Ayadi, Houssem-eddinSassi, AmeniBelhassen, Ali Gargouri, HafedhBelghith.
3. Participation par une communication orale au Congrès International Health and Environnemental Protection for SustainableDevelopment, organisé par l'Association Tunisienne de Toxicologie (ATT), **12-14 Mars 2022** à Hammamet, Tunisie. Titre de la communication : CONCOMITANT MULTIFUNCTIONAL METABOLITES PRODUCTION BY THE OLEAGINOUS YEAST *Rhodotorulababjevea*Y-SL7. **Mohamed Guerfali**, InesAyadi, Houssem-eddinSassi, AmeniBelhassen, HafedhBelghith, Ali Gargouri.
4. Participation par une communication orale au congrès national de l'ATB en Décembre 2022 : the use of phage display technique for the selection of peptides targeting LMP1 oncoprotein.**NihelAmmous.**

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

- ✓ **Liste des projets dans le cadre du Programme d'Encouragement des Jeune Chercheurs (PEJC)**

1. Prolongation du **Projetd'Encouragement des JeunesChercheurs** intitulé «Intérêt de l'étude de la clonalité lymphocytaire par réarrangements géniques dans le diagnostic et le suivi des hémopathies lymphoïdes malignes » et sous le code **19PEJC06-11** et sous la supervision du docteur **Wajdi AYADI.**
2. Prolongation du **Projet d'Encouragement des Jeunes Chercheurs** intitulé « Bioconversion des déchets industriels en lipides microbiens à usage chimique et énergétique »**,** sous le code **19PEJC05-10** et sous la supervision du docteur **Mohamed GUERFALI.**
3. Renouvellement du **Projet d'Encouragement des JeunesChercheurs** intitulé « Sélection et caractérisation de molécules anti-agrégantes à vocation thérapeutique pour les pathologies cardio-vasculaires » et sous le code **20PEJC05-18** et sous la supervision du docteur **Basma Hadj Kacem.**
4. **Projet d'Encouragement des Jeunes Chercheurs** intitulé « Un nouveau détergent-désinfectant biologique destiné pour les industries agro-alimentaires » et sous le code **21PEJC D1P13** et sous la supervision du docteur **Inès Belhaj**.

✓ Liste des projets de Recherche Fédères (PRF)

1. Prolongation du **Projet PRF** intitulé **« Tests moléculaires à visée théranostique et diagnostique pour une meilleureprise en charge des patients atteints de cancer »** et sous le code **PRF2017-D3P2.**
2. **Projet PRF** intitulé « COVID19 : Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques » et sous le code **PRFCOV19 :DDP2.**

✓ Liste des projets PAQ-PAES «Pré-Amorçage et essaimage Scientifique»

1. **Projet de Modernisation de l'enseignementsupérieur en soutien à l'employabilité** sous le titre**« Production, Formulation et commercialisationd'enzymesfongiques 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'enseignementsupérieur en soutien à l'employabilité sous letitre« Spin-off de tests génétiques pour le diagnostic et la thérapie en oncologie.»**, sous le code **PAQ-PAES T2-PAES2** et sous la supervision du docteur**Rania ABDELMAKSOUD-DAMMAK**.

✓ Liste de projets Mobidoc Promesse

1. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**ABDELJALIL Salma** avec **l'HôpitalUniversitaireHabib-Bourguiba de Sfax***« Clonage, expression de deuxrécepteursoncogéniques: CLTA-4 et PD-1 suivi de criblage de peptides antagonistes par la technique de phage display ».*
2. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**BOUDABBOUS Manel** avec **la Société FAYDERMA COSMETIC***« Formulation de nouveaux produitscosmétiques à base de nouvellesbiomolécules bio-synthétisées pour la société FAYDERMA COSMETIC ».*
3. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**BEN HMAD-KRID Inès**avec **la Société des détergents de Tunisie (SODET)***« Production, formulation et étude de la stabilité des enzymes d'unesouchefongique locale incorporéesdans le produitdétergentDet machine de la société des détergents de tunisie « SODET ».*
4. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**SADALLAH-KALLEL Amana** avec**l'HôpitaluniversitaireHabib-Bourguiba de Sfax***« Biomarqueursgénétiques pour l'évaluation de la chimiotoxicitéet la chimiorésistancedans le traitement des cancers ».*
5. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**TOUNSI Hajer**avec **le Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS)***« Amélioration de l'extraction des huilesvégétales et valorisation de grignons par des enzymes pectinolytiquesproduiteslocalement ».*
6. Projet**MOBI-POSTDOC** du docteur**KETATA Emna**avec **la SociétéAgricoleRéunieAbid (SARA)***« Recherched'inhibiteursbiologiquesd'uréasedans le but de désodoriser et valoriser les fientes de volailles ».*
7. Projet **MOBI-POSTDOC** du docteur **ABDELMAKSOUD Rania** avec **le Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS)***« Montage d'une spin-off de tests génétiques pour le diagnostic et la thérapie en oncologie ».*

8. Projet **MOBI-POSTDOC** du docteur **HADJ-SASSI Azza** avec **le Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS)***« Production, formulation et application d'enzymes fongiques pour diverses applications biotechnologiques »*.

✓ **Liste des conventions spécifiques de recherche :**

1. Convention Spécifique avec **l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer (I.N.S.T.M)** qui a pour objetla réalisationd'uneétude intitule *"Valorisation des bioressources marines, notamment les algues, pour extraire des molecules inhibitrices de proteases"*Signée**le 03 Décembre 2021** pour une**duréed'un an et demirenouvelable**.
2. Convention Spécifique avec la **Faculté des sciences de Tunis (F.S.T)** qui a pour objet la rélisationd'une etude intitule *" Sélection de nouvelles molecules à potentialité anti-agrégante"*Signée**le 31 Décembre 2021** pour **unedurée de 03 ansrenouvelable.**
3. Convention Spécifique avec la **Faculté de Médecine de Sfax (F.M.S)**qui a pour objet la réalisationd'une etude intitule *" Sélection de nouvelles molecules à potentialité anti-agrégante"*Signée**le 24 Novembre 2021** pour **une durée de 03 ans renouvelable.**
4. Convention Spécifique avec **CHU Habib BourguibaSfax**qui a pour objet d'assurer une cooperation scientifique dans le domaine de la Biotechnologie de la santé et plus spécifiquement la réalisation de tests génétiques et moléculaires en Oncologie pour uneprise en charge thérapeutique et un conseil génétique Signée**le 21 Octobre 2022pour une durée de 05ansrenouvelable.**
5. Convention Spécifique avec **la Faculté des Sciences de Sfax** qui a pour objet la réalisation d'une étude intitulée*" Synthèse et identification structurale de biomolecules synthétisées par voie enzymatiques"* **Signée le 01 juin 2020** pour **une durée de 02 ans renouvelable.**

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1. **Projet « MICAfrica »**intitulé **« Towards a North-African Consortium of the HumanMicrobiome (NACHM) throughstrengthening the Capacities in MicrobiomeAnalysis for HumanDiseasesatUniversity of Sfax »**approuvédans le cadre du programme 2020-WIDE SPREAD-05-02020-Twinning Grant agreement (952583) 2021-2023pour la périodeallant**du 01janvier 2021 au 31Décembre 2023.**
2. Prolongantion du **Projet de recherche dans le cadre de la coopération universitaire Tuniso – Française (PHC-Utique) (Année 2019)** intitulé « Identification d'inhibiteurs de la trypsine-3, cible thérapeutique pour le traitement du syndrome de l'intestin irritable » et sous le code **19G 0819.**

PRIX ET DISTINCTIONS

✓ ***Prix et Distinction nationaux :***

1. **3ème Prix** à l'occasion du séminaire de clôture du projet MOBIDOC-EMORI **le 28 Mars 2022 *à Laico Hôtel Tunis*** organisé par l'Agence Nationale de la Promotion de la Recherche scientifique (ANPR) pour le Projet **MOBI-POSTDOC** du docteur

ABDELMAKSOUD Rania avec **Le Centre d'Investigation Clinique (CIC) du CHU Habib Bourguiba-Sfax**« *Analyse Moléculaire de marqueurs décisionnels pour la chimiothérapie.*

2. **2ème prix** a l'occasion de la 3ème édition du Concours national de l'invention dans le cadre des manifestations parallèles à la Conférence de Tokyo pour le Développement en Afrique –TICAD 8 a été décerné **à *Mme Basma HadjKacem*,** pour son invention d'une préparation pharmaceutique à fort pouvoir antihémorragique

✓ ***Prix et Distinction Internationaux :***

le premier prix *catégorie inventeur* du 1er Championnat international de l'invention et de la recherche scientifique, lors de la conférence « Tunisia Ticad Innovation 2022 », événement parallèle qui se tient en marge de la Huitième Conférence internationale de Tokyo sur le développement de l'Afrique (TICAD 8) a été décerné **à *Mme Basma HadjKacem*,** pour son invention d'une préparation pharmaceutique à fort pouvoir antihémorragique

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	Bouhlel Marwa	Post-doc
Khoudi Habib	Professeur	Ayadi Malika	Ingénieur Principal
Saibi Walid	Professeur	Namani Sarra	Secrétaire
Ben Saad Rania	Maitre de Conférences	Brahmi Mohamed	Agent de Laboratoire
Yacoubi Inès	Maitre-Assistant	Jrad Olfa	Technicienne (Contractuelle)
Choura Mouna	Maitre-Assistant	Omaima Rebai	Technicienne (Contractuelle)
Saidi Mohamed Nejib	Maitre-Assistant	Zribi Ikram	En Thèse
Zaidi Ikram	Maitre-Assistant	Khanfir Emna	En Thèse
Feki Kaouthar	Maitre-Assistant	Kamoun Hanen	En Thèse
Drira Marwa	Maitre-Assistant	Bouteraa Mohamed Taieb	En Thèse
Kammoun Radhouane	Professeur (ISBS)	Soltani Najeh	En Thèse
Ben Hssouna Anis	Maitre de Conférences (ISSAT-Mahdia)	Regaig Nour	En Mastère
Tounsi Sana	Post -doc	Chermiti Sara	En Mastère
Hamdi Karama	Post -doc	Salhi Emna	En Mastère
Zouari Nabil	Post -doc	Mnissi Amel	En Mastère
Bouazzi Hassiba	Post -doc	Jlali Dalel	En Mastère
Merghebi Dhawiya	Post-doc	Jridi Nesrine	En Mastère
Missaoui Khawla	Post-doc	Chouaibi Yosra	En Mastère
Guiza Marwa	Post-doc	Harrabi Wissal	En Mastère

OBJECTIFS GENERAUX ET SPECIFIQUES :

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. En effet, 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

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

Projet 2 : Signalisations hormonales liées à la tolérance aux stress chez le blé dur et l'orge (*Responsable : Pr. Habib Khoudi*).

Projet 3 : Evaluation des potentialités (tolérance aux contraintes abiotiques et qualité) des variétés Tunisiennes de blé dur (variétés améliorées et landraces) et d'orge (Tilling population) pour l'amélioration variétale (*Responsable : Dr. Inès Yaccoubi*).

Projet 4 : Les plantes, source de phytométabolites à intérêt biotechnologique (*Responsable : Pr. Walid Saibi*).

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

***Action 1* : Etude du rôle des protéines de transfert de lipides (LTPs) dans la réponse des plantes aux stresses abiotiques et biotiques**

Au cours de cette action, nous avons étudié le mécanisme d'action d'une LTP2 du blé dur et son implication dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques in vitro et in planta. Pour ce faire, nous avons isolé et caractérisé une nouvelle protéine de transfert de lipides à partir du blé dur nommée (TdLTP2). Nous avons étudié sa localisation cellulaire et son profil d'expression chez différents tissus de blé dur et ceci sous différentes conditions de stress abiotiques et biotiques. Ensuite, nous avons cherché à évaluer le potentiel allergénique de la protéine recombinante TdLTP2 en la comparant avec d'autres allergènes majeurs de blé tendre (Tri a 14). Une population de 30 individus bien caractérisés et sensibilisés au Tri a 14 a été recrutée dans cette étude. L'analyse des données du test ELISA révèle que la protéine TdLTP2 possède une forte capacité de liaison aux IgE des sérums des patients allergiques. Ces données ont permis de qualifier TdLTP2 comme un allergène. En outre, TdLTP2 a montré une forte réactivité croisée avec l'allergène modèle Tri a 14. Ceci concorde bien avec l'analyse de la structure tridimensionnelle qui a révélé que TdLTP2 partage plus de régions conservées à sa surface avec Tri a 14. A cet égard, on s'est intéressée à investiguer l'affinité lipidique de la protéine TdLTP2 avec le ligand biologique de la protéine Tri a 14 et qui a montré une forte corrélation, ainsi qu'avec d'autres lipides. Finalement, nous avons généré des plantes transgéniques d'*Arabidopsis thaliana* qui surexpriment TdLTP2 de blé dur. Ces lignées transgéniques ont été soumises à différents types de stress et ont été testé pour leur tolérance à ces stress par le NaCl, ABA et AS. Les résultats ont montré un phénotype plus tolérant en comparaison avec le contrôle en condition de stress. Ceci confirme bien la fonction jouée par TdLTP2 dans l'amélioration de la tolérance aux stresses abiotiques et biotiques. Des tests de phytopathogénicité *in vivo* ont été aussi réalisés sur ces lignées transgéniques en utilisant quatre champignons phytopathogènes. Les résultats ont montré que la surface de la nécrose provoquée par ces champignons est plus grande chez le sauvage (WT) que chez les lignées transgéniques d'*A. thaliana*, ce qui suggère que TdLTP2 pourrait entrainer une meilleure résistance à certains pathogènes et donc peut être impliquée dans la réponse d'*A. thaliana* aux stress biotiques.

***Action 2* : Etude du rôle des protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant Protein) dans la réponse des plantes aux stress abiotiques et biotiques**

Au cours de cette action, nous avons investigué le rôle d'une protéine LEA appartenant au groupe 1 dans le mécanisme de tolérance à la dessiccation chez les graines d'orge. Dans une première partie, une étude de l'expression de ce gène a été menée chez la variété d'orge Rihane. Nos résultats montrent que dans des conditions du stress, ce gène est induit à partir de 4 heures de traitement dans les racines et dans les feuilles. Le niveau d'expression le plus élevé a été observé à 24 h de traitement par le froid et le NaCl au niveau des racines. Pour caractériser d'avantage ce gène, le cDNA complet a été cloné dans le vecteur Pet28a+ et exprimée dans des cellules BL21 d'*E. coli* puis purifiée par chromatographie d'affinité. La pureté de la protéine a été évaluée par SDS-PAGE. La migration aberrante de cette protéine sur gel et la sensibilité à la thermolysine ainsi que la stabilité à la chaleur est en faveur de l'état désordonné de *HV*LEA5. En ajoutant la TFE, solvant largement utilisé comme un stabilisateur de structure secondaire, en imitant les conditions hydrophobes, afin de révéler les propensions structurales cachées des protéines, nos données expérimentales montrent que la protéine *HV*LEA5 persiste à la protéolyse par la thermolysine, ceci suggère que cette protéine peut accueillir une structure donnée. Une transition de structure « désordre – ordre » est un mécanisme nécessaire pour accomplir la fonction de la protéine. Dans le but d'investiguer plus largement le rôle potentiel de *HV*LEA5, il a été utile de réaliser une étude fonctionnelle de cette dernière où nous avons eu recours à des tests *in vitro*. Nos résultats montrent que *HV*LEA5 est capable de protéger la LDH et préserver son activité enzymatique lors d'un stress d'une manière plus efficace que la BSA connue par sa protection de différents enzymes soumise à différents types de stress. L'ensemble de ces actions nous fournirait une idée sur le rôle de *HV*LEA5 dans le mécanisme de tolérance à la dessication chez les graines d'orge.

***Action 3*: Approche bioinformatiques et moléculaires pour l'étude fonctionnelle des protéines GASAs chez *Lobularia maritima* en réponse aux stress environnementaux**

Les protéines Snakin/GASA sont largement distribuées parmi les espèces végétales, elles sont impliquées dans différents aspects de croissance et de développement des plantes. Dans ce contexte, nous avons déterminé l'implication du gène *GASA1* de *L. maritima* dans le développement des plantes dans des conditions environnementales optimales et sous-stress. Pour ce faire, nous avons déterminé l'impact de l'expression du gène *LmGASA1* sur la tolérance aux stress abiotiques chez la levure. La souche W303 (MATaade2 ura3 leu2 his3 trp1) de levure a été transformée par la construction pYES2-*LmGASA1* sous le contrôle du promoteur inductible GAL1 ou par le vecteur vide pYES2 utilisé comme un contrôle négatif. Les cellules recombinantes de levure surexprimant *LmGASA1* ou le vecteur vide pYES2 ont été testées sur le milieu solide YNBUra-Gal 2% en présence de plusieurs stress abiotiques tels que le NaCl, LiCl, PEG6000 et H_2O_2 afin de déterminer leurs niveaux de tolérance aux stress abiotiques. Le test de goutte a révélé, qu'en condition contrôle, la croissance des cellules de levure vide ou exprimant *LmGASA1* sont similaires. Par contre, en présence de stress, la croissance de levure recombinante est visiblement meilleure que celle de levure vide. Ces résultats indiquent que *LmGASA1* est capable de conférer une meilleure tolérance aux stress abiotiques chez la levure transgénique. Ces résultats nous ont encouragé à étudier la réponse du gène *LmGASA1* dans le blé dur en condition contrôle et en condition de stress hydrique. Pour cela, nous avons procédé à la transformation *in embryo* du blé dur par la souche d'*Agrobacterium* EHA105 portant la construction *PrAct1-LmGASA1* dépourvue de gène marqueur de sélection. L'analyse par PCR

a montré que 526 parmi 1927 plantules ont intégré le transgène. Ces plantes positives pour la présence du transgène ont continué leur croissance jusqu'à la production des graines F3. L'intégration et l'expression du gène *LmGASA1* a été confirmées par PCR et RT-qPCR chez cinq lignées transgéniques homozygotes. Deux lignées homozygotes transgéniques de blé (KG1 et KG2) ont été sélectionnées pour évaluer leur niveau de tolérance au stress hydrique en condition *in vitro* et en serre.

Projet 2 : Signalisations hormonales liées à la tolérance aux stress chez le blé dur et l'orge

***Action 1* : Identification de gènes candidats de type ERF chez le blé dur et l'orge**

Les facteurs de transcription répondant à l'éthylène (ERF) sont impliqués dans le développement et la tolérance des plantes aux stress biotiques et abiotiques. Deux gènes, *TdSHN1* et *HvSHN1*, ont été isolés à partir de blé dur et d'orge, respectivement et codent pour des homologues aux facteurs de transcription de types WIN1/SHN1 (WAX INDUCER1/SHINE1) d'*Arabidopsis*. La surexpression de *TdSHN1* et HvSHN1 dans le tabac transgénique a permis d'améliorer significativement la tolérance aux stress abiotiques via des changements anatomiques tels que la réduction de la densité stomatique et l'altération de la structure et de la perméabilité cuticulaire ainsi que la modulation d'autres gènes tels que le gène *PR5*. Grâce à ces changements anatomiques, les lignées transgéniques *TdSHN1* et HvSHN1 sont plus efficientes dans l'utilisation de l'eau, une qualité hautement recherchée dans le contexte actuel de raréfaction des ressources en eau. Nous avons exploré aussi l'implication de ces deux facteurs de transcription dans la tolérance aux stress métalliques et thermique. En effet, nos résultats ont clairement montré que ces deux gènes agissent au sein d'un réseau de régulation complexe permettant au tabac transgénique de tolérer les métaux lourds et la chaleur en plus de la sécheresse et la salinité. Parallèlement, nous avons complété l'étude du gène *TdPR-5* du blé dur dont l'expression est contrôlée par le facteur de transcription *TdSHN1*. *TdPR5* s'est révélé homologue à des allergènes d'origine végétale connus et son expression est fortement induite par divers stress. Son expression dans la levure a permis de conférer une tolérance à divers stress abiotiques incluant le stress métallique.

***Action 2*: 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 cette action, nous avons isolé la protéine PR de type 1 (TdPR1.2) à partir du blé dur. La protéine TdPR1.2 est fortement homologue à TaPR1 et à son orthologue chez *A. 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'AS 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 huit 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.

Projet 3 : Evaluation des potentialités des variétés Tunisiennes de blé dur et d'orge par développement de marqueurs moléculaires et d'outils génomiques

***Action 1* : Evaluation de la tolérance au stress salin et de la qualité technologique de variétés /landraces Tunisiennes de blé dur**

Au cours de l'année 2022, l'objectif était l'évaluation des composantes du rendement et des principaux caractères de qualité de dix-huit génotypes de blé dur tunisien cultivés au cours du XXe siècle. Le matériel végétal à étudier, a été divisé en trois groupes : G1 : Landraces (période de sélection avant 1940) ; G2 : Variétés anciennes (période de sélection entre 1940 et 1970) et G3 : Variétés modernes (période de sélection après 1970). Les résultats obtenus ont mis en évidence l'impact du génotype et des programmes d'amélioration sur les principaux attributs de la qualité. En particulier, la sélection après 1970 a augmenté de manière significative le rendement en grain, le nombre de grains par épi, l'amidon total, mais a réduit le poids de mille grains, les protéines, les concentrations de gluten humide et sec. En outre, l'analyse en composante simple a montré deux groupes distincts, où les variétés modernes (G3) étaient significativement éloignées des variétés traditionnelles et anciennes (G1 et G2), ce qui confirme le fort impact de l'introduction de variétés de blé dur semi-naines générées par la "révolution verte" sur les programmes de sélection tunisiens. En particulier, l'exemple de la variété « Khiar », une variété moderne appartenant au groupe (G3), qui a un rendement en grain intéressant, un gluten fort et une concentration en pigments jaunes la plus élevée et répond parfaitement aux spécifications de l'utilisation finale des pâtes. Cependant, « Jenah-Khottifa », une variété nord-africaine (G1), a montré de manière intéressante un poids de mille grains et une concentration en protéines élevée, ce qui en fait un génotype attrayant pour l'utilisation finale du "couscous".

***Action 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**

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). 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. Nous avons généré un réseau de co-expression à partir de la matrice d'expression des gènes identifiés (2373 gènes partagés). Concernant l'étude fonctionnelle *in planta*, les plantes transgéniques d'*Arabidopsis* surexprimant *TtNAC2A* ont montré une meilleure tolérance à la sécheresse et une hypersensibilité à l'ABA. Ce phénotype s'accompagne d'une grande capacité de rétention d'eau, d'accumulation de proline, d'une fuite d'électrolytes plus faible par rapport aux plantes sauvages. L'amélioration de tolérance à la sécheresse médiée par *TtNAC2A* se traduit par l'activation des gènes marqueurs de stress, notamment *AtRD22*, *AtRD29A* et *AtRD29B*.

Projet 4 : Les plantes, source de phytométabolites à intérêt biotechnologique

Action 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, cent grammes de poudre de *L. maritima* ont été soumis d'abord à une étape de macération dans l'éthanol 80%. Le filtrat hydro-alcoolique obtenu a 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. 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). Cependant, pour les Gram négatif, la zone inhibitrice la plus élevée a été observée contre *S. enteritidis* (18 mm). Ceci a été confirmé par les valeurs faibles de CMI contre *S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus* et *L. monocytogens* (Gram+) et contre *S. 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 EC50 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 EC50 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.

Action 2 : **Etude fonctionnelle et exploitation de la richesse métabolique d'Agave americana dans de plausibles applications biotechnologiques**

Au cours de cette action, nous avons montré que l'extrait de feuilles d'*A. americana* renferme des tannins, des saponins, des phlobatanins, des glycosides, des terpenoides, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des anthraquinones, des carbohydrates, de la vitamine C…etc. Concernant les carbohydrates, nous avons injecté l'extrait aqueux de feuilles 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 existante dans l'extrait de la plante par injection de l'extrait de feuilles d'*A. 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 l'extrait préparé. 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 oxidoreductases) à travers l'activité protéase, l'activité α-amylase et l'activité β-glucosidase d'une part et l'activité tyrosinase, l'activité lipase et l'activité peroxidase 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 ce 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 étudié biochimiquement une activité protéase à partir de l'extrait de feuilles de l'Agave americana. Cette dernière a été exploitée dans des tests de candidatures dites aussi tests de performances pour des plausibles usages industriels.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1. Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture :

1- Missaoui Kh, Gonzalez-Klein Z, Pazos-Castro D, Hernandez-Ramirez G, Garrido-Arandi M, Brini F, Diaz-Perales A, Tome-Amat J (2022) Plant non-specific lipid transfer proteins: An overview. *Plant Physiology and Biochemistry* 171: 115-127.

2- Choura M, Brini F, Rebai A (2022) The intrinsically disordered protein: a literature landscape. *Current Chinese Science* 2: 183- 188.

3- Ben Hssouna A, Hfaiedh M, Ben Slima S, Ben Romdhane W, Ben Akacha B, Bouteraa MT, Dhifi W, Mnif W, Brini F, Ben Saad R, Ben Salah R (2022) Antioxidant and hepatoprotective effects of novel heteropolysaccharide isolated from *Lobularia maritima* on CCl4-induced liver injury in rats. *Food Science Nutrition* 10: 2271-2284.

4- Missaoui Kh, Gonzalez-Klein Z, Jemli S, Garrido-Arandia M, Diaz-Perales A, Tome-Amat J, Brini F (2022) Identification and molecular characterization of a novel non-specific lipid transfer protein (TdLTP2) from durum wheat. *PLOS ONE* 17(4): e0266971.

5- Tounsi S, Jemli S, Feki K, Brini F, saidi MN (2022) Superoxide dismutase (SOD) family in durum wheat: promising candidates for improving crop resilience. *Protoplasma* doi.org/10.1007/s00709-022-01767-w

6- Benderradji L, Bennaceur M, Djerboua R, Mazaoui SN, Medjekal S, Ghadbane M, Saibi W, Brini F (2022) *In vitro* effects of culture media on potential regeneration of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Boussaâda oasis, Algeria. *Journal of Oasis Agriculture and Sustainable Development* 87-92.

7- Ben Hsouna A, Boye A, Ben Ackacha B, Dhifi W, Ben Saad R, Brini F, Mnif W, Kačániova M (2022) Thiamine Demonstrates Bio-Preservative and Anti-Microbial Effects in Minced Beef Meat Storage and Lipopolysaccharide (LPS)-Stimulated RAW 264.7 Macrophages. *Animals* 12(13):1646.

8- Ben Hsouna A, Sadaka C, El Beyrouthy M, Hfaiedh M, Dhifi W, Brini F, Ben Saad R, Mnif W (2022) Immunomodulatory effect of Linalool (Lin) against CCl4-induced hepatotoxicity and oxidative damage in rats. *Biotechnology and Applied Biochemistry* doi:10.1002/bab.2371.

9- Drira M, Ghanmi S, Zaidi I, Brini F, Miled N, Hanin M (2022) The heat-stable protein fraction from *Opuntia ficus-indica* seeds exhibits an enzyme protective effect against thermal denaturation and an antibacterial activity. *Biotechnology and Applied Biochemistry* DOI: 10.1002/bab.2382.

10- Ghorbel M, Feki K, Tounsi S, Haddaji N, Hanin M, Brini F (2022) The Activity of the Durum Wheat (Triticum durum L.) Catalase 1 (TdCAT1) Is Modulated by Calmodulin. *antioxidants* 11: 1483.

11- Brini F, Mseddi Kh, Brestic M, Landi M (2022) Hormone-mediated plant responses to light quality and quantity. *Environmental and Experimental Botany* 202: 105026.
12- AlHudaied Kh.A, Alanazi N.A, Ghorbel M, El-Ghanainy Sh.M, Brini F (2022) Isolation and Characterization of a Novel Pathogenesis-Related Protein-1 Gene (*AvPR-1*) with Induced Expression in Oat (*Avena sativa* L.) during Abiotic and Hormonal Stresses. *Plants* 11(2284): 1-18.
13- Choura M, Brini F (2022) WRKYs in Durum wheat: Intrinsic disorder and interactions. *Network Biology* 12(3): 116-119.
14- Ghorbel M, Feki K, Tounsi S, Bouali N, Besbes M, Brini F (2022) The Putative Auto-Inhibitory Domain of Durum Wheat Catalase (TdCAT1) Positively Regulates Bacteria Cells in Response to Different Stress Conditions. *antioxidants* 11: 1820.
15- Ben Akacha B, Švarc-Gají´c J, Elhadef Kh, Ben Saad R, Brini F, Mnif W, Smaoui S, Ben Hsouna A (2022) The Essential Oil of Tunisian Halophyte *Lobularia maritima*: A Natural Food Preservative Agent of Ground Beef Meat. *Life* 12: 1571.
16- Ghorbel M, Besbes M, Haddaji N, Bouali N, Brini F (2022) Identification and Expression Profiling of Two Saudi Arabia Catalase Genes from Wheat and Barley in Response to Abiotic and Hormonal Stresses. *antioxidants* 11: 2208.
17- Abdul Aziz M, Brini F, Rouached H, Masmoudi Kh (2022) Genetically engineered crops for sustainably enhanced food production systems. *Frontiers in Plant Science* 13: 1027828.
18- Sabeem M, Abdul Aziz M, Mullath SK, Brini F, Rouached H, Masmoudi Kh (2022) Enhancing growth and salinity stress tolerance of date palm using *Piriformospora indica. Frontiers in Plant Science* 13:1037273.
19- Alanazi NA, Ghorbel M, Brini F, Mseddi Kh (2022) The Life Cycle of the Xylophagous Beetle, *Steraspis speciose* (Coleoptera, Buprestidae), Feeding on *Acacia* Trees in Saudi Arabia. *Life* 12: 2015.
20- Ben Hsouna A, Michalak M, Ben Akacha B, Dhifi W, Ben Saad R, Brini F, Mnif W (2022) Assessment of the phytochemical composition, antimicrobial activity and anti-inflammatory effects of *Lobularia maritima* extracts on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells and their capacity to extend the shelf life of raw minced beef. *Journal of Functional Foods* 99: 105327: 1-11.
21- Ben Akacha B, Najar B, Venturi F, Quartacci MF, Ben Saad R, Brini F, Mnif W, Kacániová, Ben Hsouna A (2022) A New Approach in Meat Bio-Preservation through the Incorporation of a Heteropolysaccharide Isolated from *Lobularia maritima* L. *Foods* 11(3935): 1-19.
22- Djemal R, Khoudi H (2022) The ethylene-responsive transcription factor of durum wheat, *TdSHN1*, confers cadmium, copper, and zinc tolerance to yeast and transgenic tobacco plants. *Protoplasma* 259: 19-31.
23- Djemal R, Bahloul O, Khoudi H (2022) A novel thaumatin-like protein from durum wheat, TdPR-5, is homologous to known plant allergens, responsive to stress exposure, and confers multiple abiotic stress tolerances to transgenic yeast. *Plant Gene* 31: 100360.
24- Ben Saad R, Ben Romdhane W, Bouteraa MT, Jrad O, Ben Hsouna A (2022) *Lobularia maritima thioredoxin-h2* gene mitigates salt and osmotic stress damage in tobacco by modeling plant antioxidant system. *Plant Growth Regulation* 41: 848-862.
25- Bouteraa MT, Mishra A, Ben Romdhane W, Ben Hsouna A, Siddique KHM, Ben Saad R (2022) Bio-Stimulating Effect of Natural Polysaccharides from Lobularia maritima on Durum Wheat Seedlings: Improved Plant Growth, Salt Stress Tolerance by Modulating Biochemical Responses and Ion Homeostasis. *Plants* 11: 1991.
26- Bouteraa MT, Ben Romdhane W, Ben Hsouna A, Amor F, Ebel C, Ben Saad R (2022) Genome-wide characterization and expression profiling of GASA gene family in *Triticum turgidum* ssp. durum (desf.) husn. (Durum wheat) unveils its involvement in environmental stress responses. *Phytochemistry* 206: 113544.

27- Ben Hsouna A, Michalak M, Kukula-Koch W, Ben Saad R, Ben Romdhane W, C´avar Zeljkovic´ S, Mnif W (2022) Evaluation of Halophyte Biopotential as an Unused Natural Resource: The Case of *Lobularia maritima. Biomolecules* 12: 1583.

28- Saidi M.N, Mergby D, Souibgui A, Yacoubi I (2022) Overexpression of durum wheat NAC transcription factor TtNTL3A promotes early flowering and increases multiple stress tolerance in transgenic *Arabidopsis. Plant Physiology and Biochemistry* 192: 1-9.

29- Ghazala I, Chiab N, Saidi M.N, Gargouri-Bouzid R (2022) Volatile organic compounds from Bacillus mojavensis I4 promote plant growth and inhibit phytopathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 121: 101887.

30- Sayahi N, Djemal R, Ben Merdes K, Saidi M.N, Yengui M, Gdoura R, Ebel Ch, Aydi S, Mechichi T, Hanin M (2022) Characterization of Siccibacter sp. Strain C2 a Novel Rhizobacterium that Enhances Tolerance of Barley to Salt Stress. *Current Microbiology* 79(8): 239.

31- Saidi M.N, Mahjoubi H, Yacoubi I (2022) Transcriptome meta-analysis of abiotic stresses-responsive genes and identification of candidate transcription factors for broad stress tolerance in wheat. *Protoplasma* https://doi.org/10.1007/s00709-022-01807-5.

32- Yacoubi I, Gadaleta A, Mathlouthi N, Hamdi K, Giancaspro A (2022) Abscisic Acid-Stress-Ripening Genes Involved in Plant Response to High Salinity and Water Deficit in Durum and Common Wheat. *Frontiers in Plant Science* 13.

33- Yacoubi I, Kharrat N, Boukid F, Khanfir E, Hamdi K, Sayar R, Seo Y (2022) Durum wheat breeding before and after 1970 in Tunisia: Changes in yield components and quality attributes. *BAOJ Biotechnology* 6(1): 1001.

2. Chapitre dans un ouvrage :

1- Ghorbel M, Rajput V.D, Brini F (2022) New Insight on Plant Salt Tolerance. In a book entitled ‘’Understanding of Abiotic Stresses’’ edited by Rajput V.D. et al. Nova Science Publishers Inc, ISBN: 978-1-68507-508-8, pp: 33-99.

2- Brini F (2022) *Arabidopsis thaliana* as a Model Organism to Understand Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Crop Plants. In a book entitled ‘’Agricultural Research Updates’’ edited by Prathamesh Gorawala and Srushti Mandhatri, Nova Science Publishers Inc, ISBN: 978-1-68507-703-7, Volume 40, pp: 1-31.

3- Benderradji L, Messaoudi N, Elhadef-Elokki L, Ghadbane M, Medjakel S, Brini F (2022) Multiple Genes (SOS, HKT, TVP) Expression in Two Contrasting Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.), Cultivars on In Vitro Saline Stress Conditions. In a book entitled ‘’Sustainable Energy-Water-Environment Nexus in Deserts’’ edited by Eggy H et al. Springer Link, ISBN: 978-3-030-76081-6, pp: 635-642.

4- Brini F, Landi M (2022) Boron, hormones and secondary metabolites in plants: a molecular point of view. In a book entitled ‘’Boron in Plants and Agriculture: Exploring the Physiology of Boron and Its Impact on Plant Growth regulation’’ edited by Aftab T et al. Elsevier, ISBN: 978-0323--90857-3, https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90857-3.00001-1, pp: 271-291.

5- Ghorbel M, Brini F (2022) Plant Catalases under Abiotic Stress: On Overview. In a book entitled ‘’Catalase and its applications’’. Edited by Rutherford K, 2022, ISBN: 979-8-88697-421-8, Published by Nova Science Publishers, Chapter 3, DOI: https://doi.org/10.52305/YAEW1520, pp: 55-76.

3. Acte de conférences/ colloque

1- Faiçal Brini. Conférence dans le cadre du projet PRIMA-IMPRESA. ‘’Phenotyping plant response to induced water, heat and salt stresses’’. 21 Février 2022, University of Tuscia, Viterbo-Italy (online).

2- Faiçal Brini. Conférence dans le cadre du projet CIVIS’. ‘’Molecular Breeding and Genetic Engineering of Salt and Drought Tolerance in Wheat’’. 16-17 Juin 2022, University of Sapienza, Rome, Italy.

3-Rania Ben Saad. Communication orale au 4ème congrès francophone de bioanalyses : environnement - aliment & santé (BEAS-2022). Titre: « Assessment of cadmium and copper phytoremediation potential of *lobularia maritima Thioredoxin 2* gene using genetically engineered tobacco”. Mahdia Palace & Thalasso, Tunisie 19 -21 Décembre 2022.

4- Inès Yakoubi. Conférence à International Conference from Seed to Pasta IV. Titre : ’’Revisiting the Tunisian Durum Wheat: From landraces to Modern varieties Towards Global Assessement for Full Pictures’’, October 26-29, 2022- Bologna-Italy.

5-Kaouther Feki. Communication orale au 4ème congrès francophone de bioanalyses : environnement - aliment & santé (BEAS-2022). Titre: "Metals detoxification of *Arabidopsis* plants through the expression of durum wheat ascorbate peroxidase’’. Mahdia Palace & Thalasso, Tunisie 19 -21 Décembre 2022.

4. Brevets d’invention nationaux :

1- **Ben Akacha B, Smaoui S, Brini F, Ben Saad R, Ben Hsouna A (2022**). Huile essentielle à base d’une halophyte pour l’amélioration de la conservation du produit carné. ***INNORPI, TN2022/0252*** en date du 31 Octobre 2022.

FORMATION DIPLOMANTE

- **Thèses de doctorat soutenues :**

1- Khawla Missaoui (Faculté des Sciences de Bizerte). Thèse soutenue le 22 Octobre 2022. Titre : **‘’**Identification et caractérisation fonctionnelle d’une protéine de transfert de lipides TdLTP2 de blé dur en réponse aux stress abiotiques et biotiques’’. (Directeur de Thèse : Pr. Faiçal Brini).

2- Maroua Guiza (Faculté des Sciences de Gabès). Thèse soutenue le 18 Février 2022. Titre : ‘’ Evaluation de la variabilité de résistance au stress salin de quelques accessions locales de la Luzerne (*Medicago sativa* L.). (Directeur de Thèse : Pr. Walid Saibi).

3- Dhawya Mergbi (Faculté des sciences de Sfax). Thèse soutenue le 11 Octobre 2022. Titre : ‘’Identification, caractérisation et étude fonctionnelle des facteurs de transcription TtNAC2A et TtNAC2B impliqués dans la réponse du blé dur aux stress abiotiques’’. (Co-Directeur de Thèse : Dr. Mohamed Nejib Saidi).

- **Mastères soutenus :**

1- Nesrine Jridi (Faculté des Sciences de Gafsa). Mastère en Ecologie et Environnement, soutenu le 08 Décembre 2022. Titre : Effet des métaux lourds sur la réponse physiologique et le statut oxydatif des plantes de blé dur surexprimant le gène AlSAP4. (Encadrant : Dr. Rania Ben Saad).

2- Yosra Chouaibi (Faculté des Sciences et Techniques de Sidi Bouzid). Mastère en Ecophysiologie et Adaptation Végétale, soutenu le 28 Octobre 2022. Titre : ‘’ Effet des

stress abiotiques sur la réponse physiologique et le statut oxydatif des plantes de blé dur surexprimant le gène AlMYB''. (Encadrant : Dr. Rania Ben Saad).

3- Amel Mnissi (Faculté des Sciences de Tunis). Mastère de recherche en Ecophysiologie et Adaptation Végétale, soutenue le 14 Décembre 2022. Titre : '' Caractérisation Biochimique et métabolique du quinoa''. (Encadrant : Pr. Walid Saibi).
4- Emna Salhi (Faculté des Lettre et Sciences Humaines de Sfax), Mastère de recherche en Gestion Intégré en Eau et Agriculture Durable, soutenu le 12 Mars 2022. Titre : '' Etude des caractéristiques agronomiques et nutritionnelles de mutants de blé dur obtenues par Tilling''. (Encadrant : Dr. Mohamed Nejib Saidi).
5- Wissal Harrabi (Faculté des Sciences et Techniques de Sidi Bouzid). Mastère en Ecophysiologie et Adaptation Végétale, soutenu le 28 Octobre 2022. Titre : ''Etude physiologiques, biochimiques et moléculaires des haricots (*Phaseolus vulgaris* L) en réponse aux différents stress combinés''. (Encadrant : Dr. Kaouthar Feki).

- **Projets de Fin d'Etudes soutenus :** (Aucun projet de Fin d'Etude pour l'année 2022).

SEMINAIRES, ATELIERS ET JOURNEES

1- Organisation d'un workshop dans le cadre du projet EXPLOWHEAT : ''Improving durum wheat stress resilience and nutritional quality under climate change in the Mediterranean region'', du 21 au 22 Septembre 2022 Sfax-Tunisie.
2- Organisation d'un workshop dans le cadre du projet CIVIS' : "Towards a Sustainable Agriculture in a Warmer Climate : An Integrated Approach", du 27 au 29 Septembre 2022 Sfax-Tunisie.

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

1- Convention avec la Société Philadelphia Pharma sur la thématique : ''Exploration et valorisation des molécules bioactives d'origine végétale à haute valeur ajoutée : applications dans le domaine pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique et médicinal''.
2- Une convention avec l'Institut des Régions Aride de Médenine.
3- Une convention avec l'Unité de Biochimie Macromoléculaire et Génétique (BMG) à la Faculté des Sciences de Gafsa.
4- Convention de partenariat entre le Laboratoire de Biotechnologie de Sfax (LBAP/CBS) et l'Institut National de La Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT) sur la thématique « Exploitation de la diversité génétique de pastèque en Tunisie en vue d'identification de cultivars avec une résilience agronomique et de bonne qualité nutritionnelle ». (Signée et validée par les différents partenaires le 05 Octobre 2022).
5- Mobi-Postdoc ANPR-LBAP/CBS (Dr. Karama Hamdi). Titre du projet: '' Research, characterization and production of bioactive molecules with antibacterial and antifungal effects antibacterial and antifungal effects from cereals (wheat and barley) and legumes (alfalfa) for pharmaceutical and paramedical applications.

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1- Projet i-COOP 2019 (2019-2022) (ref: COOPB 20426): Tailored Genomic Edition to Improve Rice Resilience (Coordinateur: Pr. Faiçal Brini).

2- Projet Prima (2019-2022): ‘’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’’ (IMPRESSA) (Coordinateur: Pr. Faiçal Brini).

3- Project PRIMA-2019 (2020-2022): ‘’Exploring durum wheat genotypes to minimize drought stress impact on grain yield and nutritional quality’’ (Coordinateur: Dr. Mohamed Nejib Saidi).

4- Project PRIMA-2022 (2022-2025): “New AgroEcological approach for soil fertility and biodiversity restoration to improve economic and social resilience of Mediterranean farming systems” (Coordinateur: Dr. Inès Yakoubi).

5- Projet CIVIS’ (2022- 2023): Towards a sustainable agriculture in a warmer climate: An integrated approach (Coordinateur: Pr. Faiçal Brini).

6- Projet d’encouragement des jeunes chercheurs (code projet: 20 PEJC 04-09) (2021-2022), intitulé : ‘’Exploring barley Late Embryogenesis Abundant (LEA) genes for improving tolerance to climate change’’ (Coordinateur: Dr. Ikkram Zaidi).

7- Projet d’encouragement des jeunes chercheurs (code projet: 19PEJC07-04) (2021-2022), intitulé « Transcriptomic Analysis of Abiotic Stress Response in Wheat » (Coordinateur: Dr. Mohamed Nejib Saidi).

PRIX ET DISTINCTIONS

1- Dr. Ikram Zaidi. UK-Tunisia bilateral meeting for early career researchers, du 13 au 15 Juillet 2022 à Tunis.

2- Dr. Mohamed Nejib Saidi. UK-Tunisia bilateral meeting for early career researchers, du 13 au 15 Juillet 2022 à Tunis.

LR15CBS04 : Laboratoire des Biopesticides (LB)

مخبر المبيدات البيولوجية

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

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Souad Rouis	Professeur/Directeur du Laboratoire	Jihen Mseddi	Doctorant
Slim Tounsi	Professeur	Mariam Ladhaar	Doctorant
Kais Jamoussi	Professeur	Maissa Chakroun	Post -doc
Hichem Azzouz	Maitre de Conférences	Sahar keskes	Post-doc
Raïda Zribi	Maitre de Conférences /IPEIS	Nouha Abdelmlak	Post-doc/MEDIS
Olfa Frikha	Maitre de Conférences	Sahar Keskes	Doctorant
Wafa Jallouli	Maitre de Conférences	Sarra Yousfi	Doctorant
Fatma Driss Zouari	Maitre assistante	Fatma ben Jeddou	Doctorant
Saoussen Ben Khedher	Maitre assistante/ESAK	Nya DINANGO Vanessa	Doctorant/ Université de Yaoundé - Cameroun
Ameny Farhat	Maitre assistante/FSG	Saoussen Gafsi	Ingénieur/contrat
Sameh Sellami	Maitre assistante/FSG	Fathi Hertelli	Technicien
Hanen Dhouib	Post -doc	Zina Salhi	Technicien
Imen Zouari	Post -doc/Technoriat	Faten Nasri	Assistante Administrative/contrat
Samar Makni	Post -doc		

OJECTIF GENERAL

La vocation principale du Laboratoire de Biopesticides est de réaliser les étapes requises de R& D devant mener à la mise sur le marché des biopesticides les plus prometteurs pour les systèmes agricoles, efficaces contre les ravageurs (insectes) et les pathogènes des plantes (bactéries et champignons) et respectueux de l'environnement et de la santé humaine.

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) les bioassays en champ pour valider son action.

4) Evaluer 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 et production de Bioinsecticides microbiens et végétales actifs contre les lépidoptères, les moustiques et les vecteurs de maladies tropicales

A. Mise en évidence et identification de nouveaux bioinsecticides à Base de *B. thuringiensis*

1- Séquençage et analyse des génomes (NGS) des souches de *B. thuringiensis* prometteuses dans le domaine des biopesticides appliquées à l'agriculture et à la lutte contre les vecteurs de maladies dans la santé publique

Le génome de deux souches de *B. thuringiensis* appartenant à la collection du laboratoire, qui ont montré leur potentiel pesticide contre les larves de Diptères *Aedes aegypti*, a été séquencé via la technologie NGS en utilisant la technologie Illumina MiSeq. Les deux souches sont BLB516 et BLB461. Les 1ères analyses du génome de la souche BLB516 ont montré l'originalité de cette dernière. L'analyse a montré que le génome est de 6.418886 Mb avec un pourcentage de GC de 34,7%. En utilisant IDOPS, la souche BLB516 contient des toxines de type Spp1Aa1, Xpp22Bb1, Mpp5Aa1, Cry54Ab1, Cry30Ea2, Cry4Ca1, Cry4Ca1, Vip3Aa64, Cry54Ba1, Cry40Aa1.

Des analyses plus développées sont en cours simultanément avec l'analyse du génome BLB461.

2. Etude moléculaire, des gènes codant toxines des souches sélectionnées

Serratia marcescens est l'une des bactéries entomopathogènes à Gram- qui présentent une grande source potentielle de nouvelles toxines et métabolites pouvant être utilisés dans les programmes de lutte contre les insectes. En effet, elle est reconnue comme un agent insecticide grâce à la production de plusieurs facteurs de virulence y compris les protéases.

2.2 Cinétique de la production des protéases par *Sm2*

Cultivée dans un milieu de culture optimisé, la souche Sm2 de *S. marcescens* secrète une protéase extracellulaire. L'optimum de production a été repéré vers 52 h de culture comme rapporté dans la littérature. Ainsi, le surnageant de culture à cet horaire de culture, réalisée dans le milieu optimisé, a été collecté et a servi à la purification de la protéase en question.

2.3 Purification de la protéase

La stratégie adoptée pour la purification a débuté par une concentration par précipitation au sulfate d'ammonium suivie par une dialyse et une concentration au PEG. Les protéines ont subi une

précipitation fractionnée 40-80 %. Ensuite, le précipité dessalé a été appliqué sur une colonne Sephacryl S-200 HR qui est une chromatographie d'exclusion sur gel utilisée en vue d'une séparation des protéines selon leurs tailles moléculaires. Les protéines contaminantes retrouvées dans l'éluat de cette première chromatographie ont été éliminées selon leurs charges par une autre chromatographie d'échange d'ions (HPLC). La purification a fourni 41,4 % de protéase homogène nommée « PSm2 ». La masse moléculaire sur SDS-PAGE a été estimée de 48 kDa **(Figure 1)**.

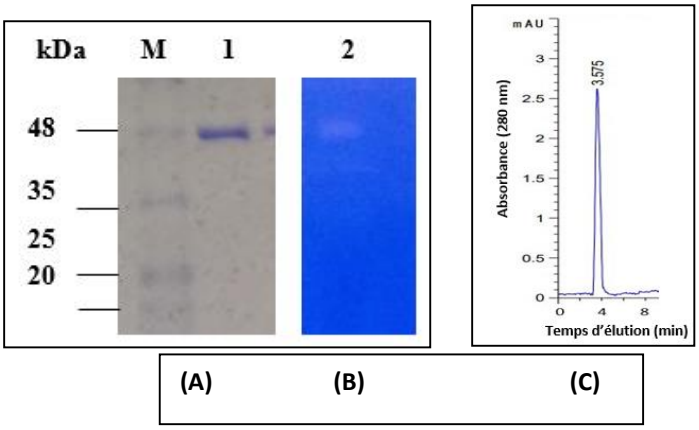


Figure 1. Mise en évidence de PSm2 par SDS-PAGE (A), zymographie (B) et HPLC.

2.4 Caractérisation de la protéase PSm2

La caractérisation de la protéase purifiée, nommée PSm2, a été faite en déterminant plusieurs paramètres biochimiques et cinétiques.

2.4.1. Paramètres biochimiques

Les tests biochimiques ont montré que PSm2 présente une affinité à une large gamme de substances protéiques avec une meilleure affinité à la caséine. A une concentration de 1 % de caséine, 48 °C et 8 présentent, respectivement, les conditions optimales de température et de pH d'activité pour la protéase PSm2. Ces valeurs ne sortent pas des gammes de température et de pH décrites dans la littérature pour *S. marcescens*. En effet, un pH optimal entre 6 et 10 et des températures optimales de 42 °C, 45 °C et 50 °C, ont été rapportés pour les protéases purifiées de plusieurs souches de *S. marcescens*. Etant une protéase alcaline, la PSm2 serait une protéase prometteuse pour l'application en tant qu'agent de lutte biologique adéquat avec le pH alcalin des larves d'insectes. A cet égard, des études ultérieures peuvent être conduites pour élucider son action sur différentes larves d'insectes, outre celles du criquet pèlerin.

PSm2 a montré une stabilité sur une large gamme de pH (6-11) (activité résiduelle > 75 %). De plus, elle a montré une bonne thermostabilité en étant stable à 4 °C pendant un mois et ayant une demi-vie de 16 h à 30 °C. En outre, cette enzyme a également montré une bonne tolérance et stabilité en présence de plusieurs ions (Ni^{2+}, Ba^{2+} et Mn^{2+}) et une amélioration d'activité en présence des ions Ca^{2+}, Mg^{2+} et Cs^{+}. Contrairement à la majorité des protéases qui présentent un effet positif de l'ion Zn^{2+}, la PSm2 perd la moitié de son activité en sa présence. Néanmoins, elle partage la sensibilité aux métaux lourds Hg^{2+} et Co^{2+} avec la plupart des protéases. Ce profil témoigne de son potentiel prometteur pour les éventuelles applications qui nécessitent une stabilité enzymatique dans de larges gammes de pHs et de températures et en présence de certains ions métalliques.

Les essais conduits pour la détermination du type d'activité de PSm2 ont permis de déduire qu'il s'agit d'une métalloprotéase alcaline à cystéine. Toutefois des études de mutagenèse dirigée peuvent être conduites pour élucider cette classification.

2.4.2. Paramètres cinétiques

La détermination des paramètres cinétiques a montré que la protéase a une vitesse maximale de la concentration saturante du substrat V_{max} = 1,401 10^3 U/ml et une constante de la réaction enzymatique K_m = 1,132 mg/ml (**Figure 2**).

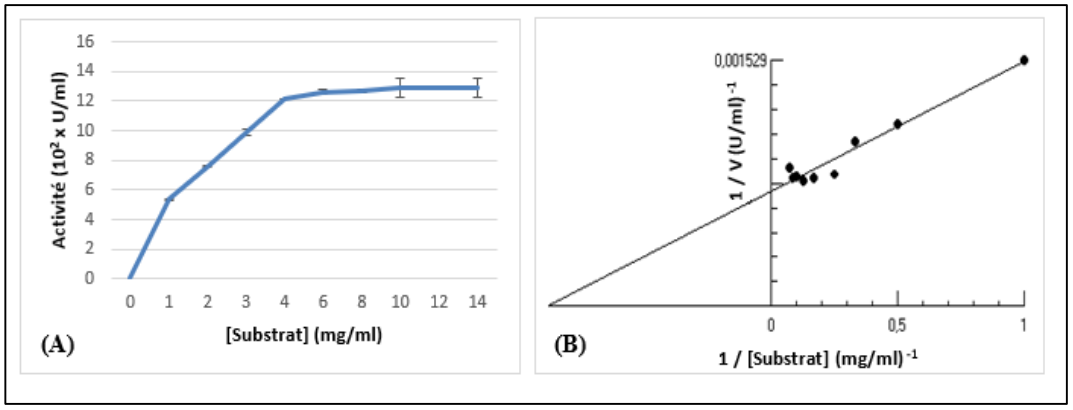


Figure 2. Cinétique de PSm2 : (A) Effet de la concentration du substrat sur la vitesse initiale de PSm2 ; (B) Diagramme de Lineweaver-Burk pour la PSm2.

B. Développement de bioinsecticides à base de bactéries entomopathogènes

1. *Photorhabdus temperata*

Au cours des dernières décennies, la protection de l'environnement s'impose de plus en plus comme une préoccupation mondiale majeure. Dans le domaine de l'agriculture, il est indéniable que l'expansion et la productivité doivent passer par une gestion optimale des insectes nuisibles. Ainsi, les producteurs ont eu souvent recours à des pesticides de synthèse pour lutter contre ces ravageurs de culture. En effet, l'utilisation de ces pesticides a contribué à augmenter les rendements des cultures de près de 70 % en Europe et 100 % aux USA (Pretty, 2008). Cependant, ces substances ont des conséquences néfastes sur l'environnement comme l'accumulation de résidus, la pollution des sols et le déséquilibre écologique dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également d'autres populations de l'écosystème (Thakore, 2006). De plus, ils engendraient l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les insectes cibles (Copping, 2005). Etant donné que l'élimination de leurs effets pervers et de leurs dérivés de l'environnement est quasi impossible, il est nécessaire de chercher d'autres moyens plus spécifiques et sécuritaires que les insecticides chimiques, mais plus efficaces et moins polluants.

Le développement de nouveaux produits de lutte contre les insectes suite à l'utilisation de bactéries entomopathogènes tel que *Photorhabdus temperata* peut être une bonne alternative. *P. temperata* est une bactérie Gram négatif, dotée d'une activité entomopathogène spécifique sur les larves d'insectes, due à une panoplie de toxines comme le complexe protéique toxique (Tc) *(Ffrench-Constant et coll., 1999),* les protéines Pir AB « insect-related protein » (Waterfield et coll., 2005) et les toxines Mcf « Makes caterpillars floppy » (Dowling et coll., 2004). La souche K122 de *P. temperata* a été démontré toxique par voie orale sur la teigne de la farine *Ephestia kuehniella.* En effet, l'inhibition de croissance des larves d'*E. kuehniella* nourries d'une alimentation contenant 4×10^8 cellules/ml de *P. temperata,* est de l'ordre de 27 % (Jallouli et coll., 2008). 100 % de mortalité peut être atteint en utilisant une densité bactérienne de 12×10^8 cellules/ml (Jallouli et coll., 2013). D'autres études ont montré que la souche K122 de *P. temperata,* est aussi toxique par voie orale sur *Prays oleae,* insecte menaçant la récolte des olives méditerranéens (Tounsi et coll., 2006). De plus, la souche K122 de *P. temperata* a été démontrée comme hautement virulente contre le ravageur de la canne à sucre *Diatraea saccharalis* (Carneiro et coll., 2008) et les insectes *Culex pipiens* (Ahn et coll., 2013).

Au sein du laboratoire des Biopesticides, du Centre de Biotechnologie de Sfax (CBS), nous nous sommes intéressés à l'amélioration de la production économique des biopesticides à base de

P. temperata, en utilisant les eaux usées industrielles (EUI) WS4. Ainsi, une investigation de l'effet du prétraitement chimique de ces rejets, avant inoculation, sur la production a été réalisée. Ainsi 4 types de prétraitements ont été testés : traitement acide, alcalin, thermo-acide et thermo-alcalin. L'application du traitement acide a fait diminuer la phase de latence, amélioré la biomasse finale, la cultivabilité et l'activité insecticide qui ont devenues de l'ordre de 20×10^8 cellules/mL, 262×10^6 cellules/mL et 68,4 %, respectivement. Par contre, l'application de traitement thermo-acide n'a permis qui une légère amélioration de ces paramètres, alors que l'utilisation de traitement alcalin ou thermo alcalin a fait chuter l'ensemble de ces paramètres. Ainsi, parmi les prétraitements chimiques effectués, l'hydrolyse acide s'est avérée être la seule prometteuse pour la production de bioinsecticides à base de *P. temperata*. L'investigation de la composition organique des EUI après différents prétraitements par GC-MS a montré que seul le traitement acide a permis de réduire la génération de composés aromatiques (0,4 %) suivi du prétraitement thermo-acide (2,26 %) puis l'EUI non traitée (5,24 %). Par contre, les prétraitements alcalin et thermo-alcalin ont induit des concentrations plus élevées de ces composés avec 15,21 et 9,88 %, respectivement ce qui explique les résultats obtenus.

L'ensemble de ces résultats, nous a incité dans une étape suivante à optimiser les conditions de l'hydrolyse acide afin d'améliorer la toxicité de la souche K122. Ainsi, avec le plan de criblage Plackett-Burman, nous avons réussi à identifier trois facteurs influants qui sont la nature de l'acide, le pH et l'agitation. A partir des courbes d'isoréponses et de surfaces de réponses établies en utilisant le design composite central, nous avons pu constater que la réponse optimale est obtenue en utilisant une hydrolyse acide faite avec le H_2SO_4 à pH 2 et une agitation de 200 rpm. Ceci nous a permis définir le milieu WS4 T2. L'utilisation de ce milieu a permis d'obtenir une amélioration de l'activité insecticide de la souche K122 de 38,4% et de 114% et par rapport à celle obtenue en utilisant le milieu WS4T1 et l'EUI non traitée, respectivement.

L'utilisation du milieu WS4 T3 qui est la combinaison du milieu WS4 T2 avec le milieu WS4 I (C/N=12,5 ; [NaCl]= 4 g/L et inoculum=4%), contribue encore dans l'amélioration de l'activité insecticide qui a atteint 96 % à une densité de 4×10^8 cellules/mL. Ceci correspond à une amélioration de la toxicité de 128% par rapport celle obtenue en utilisant l'EUI non traitée. Par conséquent, le milieu WS4 T3 représente un atout considérable dans la production économique de bioinsecticides de *P. temperata*.

2. *Bacillus thuringiensis*

Dans des travaux antérieurs, Dr. Zghal et al., 2018, ont réussi l'optimisation d'un milieu de culture à la base de gruau (source de carbone) et de tourteau de soja (source d'azote) pour la production d'un biopesticides à la base de la souche de *Bacillus thuringiensis israelensis* « BUPM98 » hautement active contre les larves de moustiques (*Aedes aegypti*). Avec ce milieu, la production optimale en delta-endotoxines a atteint 2375,36 ± 48,52 mg/L avec une amélioration de 30% par rapport au milieu complexe à la base de gruau. Néanmoins, le coût des matières premières est l'un des principaux coûts globaux de la production du *B. thuringiensis*. Il varie entre 30 et 40 % du coût total en fonction de la capacité de production de l'usine. Par conséquent, l'utilisation des supports de production basés sur des sources disponibles localement, notamment agro-industrielles, les sous-produits et les déchets (résidus) doivent être développés. Donc, dans le but de produire une formulation à la base de la souche *B. thuringiensis israelensis* BUPM98 stable au cours du temps, active contre les moustiques et à faible cout, Melle Fatma Benjeddou a testé de nouveaux substrats pour développer un nouveau milieu de production à faible coût :

1- Remplacer les oligo-éléments nécessaires à la croissance de *B. thuringiensis* (K_2HPO_4, KH_2PO_4, $MnSO_4$, $FeSO_4$, $MgSO_4$) par l'eau de mer diluée.

2- Substituer le gruau par la farine du cladode du Figuier de Barbarie : En se basant sur des travaux antérieurs, Melle Fatma a choisi l'une des plantes les plus cultivées en Tunisie et qui ne coute rien : le Figuier de Barbarie (famille : cactées / genre : Opuntia) comme substrat pour la production des biopesticides à base de *B. thuringiensis israelensis*. En fait, vu sa richesse en sucres, elle a choisi de travailler avec le cladode, l'organe le plus disponible durant toute l'année, sous forme de farine en tant que source de carbone.

En première étape, elle a fait un criblage entre trois farines (CFB) différentes : farine des cladodes d'Opuntia-ficus-indica (CI), d'Opuntia megacantha (CE) et d'Opuntia megacantha (CSE) par caractérisation chimique et des essais de production préliminaires. La farine CSE a montré la meilleure composition pour être une bonne source de carbone pour la production de *B. thuringiensis israelensis*. En deuxième étape, une méthodologie de surface de réponse en utilisant un plan composite a été adoptée pour l'optimisation du nouveau milieu de culture à la base de tourteau de soja (N), de la farine des cladodes sélectionnée (CSE) et de l'eau de mer diluée. Ainsi, une production maximale et un rendement optimal de production, sont atteints en présence de 40 g/l farine CSE, 30 g/l farine de soja et taille d'inoculum 0,2. Dans ces conditions, la production de delta-endotoxines prédite par le modèle est de l'ordre de 1890 mg/l. L'optimum de production prédit est vérifié expérimentalement par des cultures réalisées en triplicata. L'analyse statistique confirme que la valeur expérimentale de production qui est de 1890 mg/l est en accord avec la valeur prédite (2011, 85 ± 75, 62 mg/l).

En 3ème étape, dans le but d'améliorer la production des delta-endotoxines par la souche BUPM98 dans le nouveau milieu optimisé, elle a étudié l'effet de différents paramètres externes : pH, température et vitesse d'agitation. Les résultats sont en cours de d'analyse

C Mise en place de tout le processus permettant d'assurer la liaison de la fermentation avec la formulation

Dans le cadre des travaux du projet IPM-4-Citrus et afin d'optimiser les conditions d'application des produits développés au champ, une étude a été réalisée sur champs afin de montrer les résultats obtenus lors de l'utilisation d'un biopesticide alternatif à base de Bacillus thuringiensis testé à l'échelle du laboratoire dans le département de la protection des végétaux de l'université de Çukurova et dans les champs d'agrumes de Mersin ciblant deux principaux lépidoptères : Phyllocnistis citrella et Phyllocnistis citrella. Prays citri, Les deux souches utilisées sont: La souche de Bacillus thuringiensis "Lip" qui a été identifiée sur le sol libanais, et la souche de Bacillus thuringiensis "BLB1" qui a été récupérée sur le sol tunisien. L'objectif principal de nos recherches est d'évaluer l'efficacité de nos deux produits conçus contre la teigne des fleurs des agrumes (Prays citri) et la mineuse des feuilles des agrumes (Phyllocnistis citrella), ainsi que d'estimer la concentration létale de la dose (LD50) et de vérifier la persistance des spores tout au long du test. À l'échelle du champ, les résultats ont montré que l'efficacité des deux produits chimiques appliqués sur les deux insectes atteignait 70 % dans les 3 jours suivant la pulvérisation et augmentait entre 80 et 85 % après 14 jours. A l'échelle du laboratoire, la quantité mortelle se situe entre 50 et 70 ug/ml. Les tests de persistance des spores ont confirmé nos résultats. La quantité de spores a chuté avec le temps, indiquant une faible persistance après application.

En Conclusion : Dans l'ensemble, nos résultats indiquent que nos deux produits sont compétitifs par comparaison au produit commercialisé (golden standard) .

Dans le cadre du projet B4G Afin de caractériser les cultures et de maitriser les méthodes biochimiques et biologiques pour le suivi de la bioproduction aux étapes « clé » (croissance bactérienne, sporulation et lyse cellulaire et libération de l'endotoxine dans le milieu), plusieurs cultures ont été conduites en erlenmeyer (200-250mL). L'objectif premier était de comparer les 2 souches (Bt kurstaki HD1, référence industrielle et BLB1, souche tunisienne) sur le milieu semi – synthétique, MSS.

Dans un travail précédent, en utilisant trois concentrations initiales de glucose différentes (5 ; 10 et 15 g/L) dans le milieu semi synthétique en erlenmeyer, il a été démontré qu'en utilisant un 15 g/L, la concentration de la biomasse de BLB1 augmentait par rapport aux deux autres concentrations, pourtant, les cellules ont été bloquées à une phase végétative avec des endospores à l'intérieur. Même après 72h, la lyse cellulaire ne s'est pas produite. Ces résultats suggèrent un mécanisme de limitation métabolique induit par l'augmentation de la concentration en glucose dans le milieu, comme précédemment rapporté par Zouari et al., (2002). Afin de confirmer cette hypothèse, au cours de cette période de travail, nous avons réalisé quelques cultures de la souche B. thuringiensis kurstaki BLB1 en erlenmeyer de 1L en milieu semi-synthétique et à différentes concentrations des composantes du milieu. Chaque concentration de milieu a été réalisée en triple

exemplaire. La consommation de glucose, les delta-endotoxines et les concentrations de biomasse ont été suivies pendant 48 à 72h de culture aux temps critiques (0 ; 6 ; 10 ; 24 ; 30 ; 34 ; 48 ; 54 et 72h). Cette activité avait comme but de familiariser l'étudiante à la microbiologie et le travail sur paillasse. En plus, l'étudiante s'est familiarisé avec le traitement des données et les analyses biochimiques à faire pour établir le bilan de la matière et comprendre le comportement de la bactérie. Les résultats de son travail ont montré qu'en utilisant une concentration multipliée par 3 des différentes composantes du milieu, la cinétique de croissance reprenait l'aspect normal qu'on obtient toujours avec une concentration en glucose égale à 5 g/L. Il a été suggéré qu'en utilisant un tel milieu (milieu 3C), le mécanisme de limitation métabolique serait levé et la lyse cellulaire se produirait pour libérer les cristaux et les spores dans le milieu. Ceci a été vérifié par des observations microscopiques des échantillons de culture. Il a été montré précédemment que certains nutriments tels que l'extrait de levure, PO4 3−, Mg2+ et K+ sont nécessaires à la sporulation, mais leur épuisement très rapide du milieu de culture peut retarder la sporulation (Yang et Wang, 1998), ce qui peut expliquer la différence entre les résultats obtenus et ceux observés dans des travaux antérieurs. D'autre part, nous avons initié la mise en place de 50 articles, qui constituent une base de données de travail préliminaire. Cette base (end note) était conçue en utilisant les mots clés suivants : Bacillus thuringiensis, Bioprocess, Wheat bran, protéines Cry, Fed-batch et en utilisant le programme Zootero pour constituer et gérer la base de données de travail et les références citées. L'enrichissement de cette base sera assurée par la nouvelle étudiante tout en réalisant une analyse quantitative (rapport sujets et des titres / différents profils, éliminer les doublons) et une analyse qualitative (contenu des articles, état de l'art des connaissances, informations permettant d'évaluer et positionner notre stratégie scientifique).

Projet 2 : Etude, production et formulation d'agents antibactériens

Travaux se rapportant à la maladie de la galle du collet :

Ce travail rentre dans le cadre du projet PHC-Utique entre le Laboratoire des Biopesticides et l'UMR 1158 BioEcoAgro Institut Charles Viollette (ICV) de l'Université de Lille ; intitulé : « Etude du potentiel biopesticide des lipopeptides, des polykétides et de la bacilysine dans la lutte contre la maladie de la galle du collet ». Il vise à identifier de nouveaux composés de biocontrôle efficaces agissant contre A. tumefaciens et à améliorer la production de ces composés par l'outil biotechnologique pour une application ultérieure en tant qu'agent de biocontrôle. Nous nous sommes focalisés sur les lipopeptides, les polykétides et la bacilysine. Le travail a porté sur la souche 32a de B. velezensis. Cette souche a été isolée et identifiée comme étant la souche de biocontrôle la plus efficace contre les souches phytopathogènes A. tumefaciens C58 et A. tumefaciens B6. Les métabolites de la souche 32a ont présenté une forte activité bactéricide contre A. tumefaciens C58 et B6 et ont inhibé la formation de tumeurs suggérant que l'application de ces métabolites peut représenter un outil de lutte biologique contre la maladie de la galle du collet. C'est dans ce cadre que la valorisation des métabolites de la souche de B. velezensis 32a a été proposée pour le développement d'un nouveau biobactéricide contre la galle du collet.

L'analyse par HPLC-MS du surnageant de culture de la souche 32a montre que les pics détectés se répartissent en des rapports m/z situés entre 270 et 1505,84. Ces masses ont été comparées à celles des métabolites connus du genre Bacillus. En effet, des lipopeptides (surfactine, fengycine et iturine), des polykétides (macrolactine, difficidine et bacillaene) et de la bacilysine ont été identifiées dans les deux milieux de culture comme présents en suspension dans le surnageant de l'antagoniste B. velezensis 32a.

L'évaluation qualitative et quantitative du pouvoir antagoniste des lipopeptides purifiés et de leur synergie contre le phytopathogène A. tumefaciens a été testée. En se basant sur la méthode de diffusion à partir d'un puits, l'évaluation qualitative du pouvoir antagoniste des lipopeptides purifiés a montré que ces composés seuls ou en synergie à 100 mg/L n'ont pas d'effet sur les souches d'A. tumefaciens.

Concernant l'évaluation quantitative par la méthode de microdilution en série, les résultats ont montré que les lipopeptides n'étaient efficaces qu'à des concentrations relativement élevées avec des CMI comprises entre 62,5 mg/L et 1 g/L. En plus, la détermination des pourcentages de

diminution de croissance par rapport au témoin montre que les synergies entre les molécules de lipopeptides étaient les plus efficaces.

Les résultats obtenus ont montré le faible pouvoir inhibiteur des lipopeptides vis-à-vis des souches d'A. tumefaciens ce qui nous a amené à purifier et identifier les composés les plus actifs. Pour cela, le surnageant de 32a a été fractionné par chromatographie liquide à basse pression LPLC en 14 fractions selon la formation des pics nommées F1 à F14. Les fractions ont donc ensuite été testées à 100 mg/L contre A. tumefaciens C58 et B6 en milieu solide par la méthode des puits. Les fractions F10 et F14 étaient les seules actives. L'analyse de la fraction active F10 par LC-MS permet de conclure qu'elle est formée d'un mélange de chlorotétaïne, d'oxydifficidine, de macrolactine N, de fengycine A, de fengycine B et d'iturine A. Tandis que dans la fraction F14, des masses correspondantes à la chlorotétaïne et des molécules inconnues ont été détectées.

Travaux se rapportant à la maladie de la pourriture fusarienne

La pourriture fusarienne des épis et des racines du maïs causée par Fusarium verticillioides est devenue l'une des maladies fongiques les plus graves associées à la production de maïs. En raison de leurs capacités à favoriser le développement des plantes et à gérer les maladies, les endophytes bactériens offrent une approche plus prometteuse pour traiter cette maladie vasculaire. Ce travail a été entrepris pour la sélection et l'identification d'isolats prometteurs comme promoteurs de la croissance et agents de lutte biologique contre F. verticillioides sur les agroécosystèmes de maïs. Une procédure de criblage consistant en des tests in vitro et in situ a été appliquée aux 27 souches endophytes provenant de plantes du désert ; Euphorbia antiquorum, Calotropis procera et Alcasia albida. Les études in vitro ont indiqué que les bactéries présentaient des résultats variables en rapport aux traits de biocontrôle, d'endophytisme et de croissance des plantes. Par ailleurs, les expériences in situ de promotion de la croissance et de lutte biologique ont permis d'identifier les endophytes bactériens les plus prometteurs. Les résultats des études comparatives in vitro et in situ ont indiqué une faible corrélation révélant que le criblage in situ doit être considéré comme la méthode de sélection des agents de lutte biologique contre la pourriture fusarienne de l'épi et des racines du maïs. Sur la base des résultats in situ, sept souches intéressantes ont été sélectionnées pour leur capacité de promotion de la croissance et du biocontrôle. Ces souches ont été identifiées comme Bacillus subtilis (RA24, EcA7 et RA15), Bacillus velezensis (FC9), Bacillus tequilensis (FC6), Stenotrophomonas maltophilia (LPR6+) et Klebsiella pneumoniae (RR19). Ces souches semblent être des candidats prometteurs en tant que fertilisants et agents de lutte biologique contre la pourriture fusarienne des épis et des racines du maïs.

Cinq isolats de la collection ont été sélectionnés et ont fait l'objet du test in vivo sur plantules de mais âgées de 3 semaines pour leur activité antifongique contre F. verticillioides. Deux souches parmi les cinq se sont avérées les meilleures et ont été choisies pour une investigation plus approfondie. Il s'agit des souches RA15 de Bacillus subtilis et FC6 de Bacillus tequilensis. Les cinétiques de croissance, de sporulation et de production des composés antifongiques ont été étudiées. Le maximum de production des composés bioactifs contre F. verticillioides correspond à 36 h de culture. Les composés antifongiques étaient résistants aux températures élevées, aux pH extrêmes et à la dégradation protéolytiques rappellent les caractéristiques des lipopepetides. Les gènes codant les familles des surfactines, des iturines et des fongycines ont été amplifiés à partir de l'ADN génomique des deux souches. La production des lipopeptides dans le milieu LB par les deux souches a été confirmée par HPLC avec une prédominance de la famille des iturines. La détection des lipopeptides a été également réalisée à partir des plantules de mais infectées par le champignon et traitées par les souches de biocontrôle. Les résultats obtenus ont montré que la famille des iturines et des fengycines ont été détectées aussi bien dans les racines que les feuilles de la plantule de maïs. L'évaluation de l'effet protecteur des molécules antifongiques est en cours de réalisation.

4. **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.**

L'utilisation massive de ces composés ont induit des effets néfastes sur l'environnement et sur la santé humaine. Afin de surmonter tous ces problèmes, la lutte intégrée (IPM) est de plus en plus

appliquée. Les champignons entomopathogènes sont révélés être des agents efficaces de lutte biologique contre plusieurs insectes nuisibles. Toutefois, ces champignons bien qu'efficaces sont souvent très dépendants des conditions environnementales notamment climatiques.
L'effet du stress thermique pendant 3h d'exposition à la température 45°C sur le temps de la récupération de la germination des conidies a été évalué pour les dix isolats de Beauveria sp. sélectionnés ainsi que les deux souches B. bassiana BNat et B12. Après 12h d'incubation à 25°C, les conidies des isolats testés sont incapables de germer. Pourtant, ces isolats ont des taux de germination qui dépassent 50% lorsqu'ils n'ont pas subi un traitement thermique. Après 18h d'incubation à 25°C (F= 22,25 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001), seul les isolats B53, B54, B59 et B62 sont capables de germer avec des taux de germination faible (entre 4,7 et 6,6%). Après 24h d'incubation à 25°C (F=172 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001), sept isolats arrivent à reprendre leur germination avec des taux de germination supérieurs à celle de B. bassiana BNat (7,17%) et B12 (13,17%). Les isolats B13, B61 et B62 ont des taux de germination de 18,67, 14,87 et 20,17%, respectivement. Les 4 isolats B53, B54, B55 et B59 présentent des taux de germination qui varient entre 25 et 48%. Après 36h d'incubation à 25°C (F= 371,46 ; ddl = 11, 60 ; P < 0,001), tous les isolats arrivent à reprend leur germination avec des taux de germination qui varient entre 21,83 et 72,2%. Les isolats B31, B49, B58 et B61 ont des taux de germination significativement comparables à celle de BNat (24,35%). Les isolats B13 et B59 présentent des taux de germination (52,83 et 60,17%, respectivement) comparables à la souche B12 (58,33%). Les isolats B53, B54, B55 sont capables de reprendre leur germination rapidement avec des taux de germination de 69, 72,17 et 68,67%, respectivement. Après 48h d'incubation à 25°C (F=254,34 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001), les isolats B31, B49, B58 et B61 ont des taux de germination plus faibles (45,17 ; 47,67 ; 41,33 et 47,83%, respectivement) que la souche BNat (54,83%). Les isolats B13 et B62 germent plus rapidement que la souche BNat (68,17 et 64,17%, respectivement). Les isolats B53, B54, B55 et B59 ont les taux de germination les plus élevés (83,17 ; 80,83 ; 85,17 et 81,83%, respectivement). Ces derniers sont significativement comparables à la souche B. bassiana B12 (81,17%).
L'effet de la fluctuation de la température (35°C/25°C, 38°C/25°C et 40°C/25°C) sur la germination de dix isolats de Beauveria a été évalué par rapport à une température constante (25°C). Ainsi, nous avons trouvé une différence significative entre les isolats à différents régimes de température : 35°C (F= 17,86 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001), 38°C (F= 10,43 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001), et 40°C (F = 88,61 ; ddl = 11, 60 ; P<0,001). Tous les isolats de Beauveria ont montré plus de 94% de germination après 24h à la température constante (25°C). À des cycles de température de 35 et 38°C (8h) / 25°C (16 h), tous les isolats ont bien germé avec des taux de germination supérieurs à 92 et 87%, respectivement. La plus grande variabilité a été obtenue lorsque les conidies ont été exposées à la température 40°C pendant 8 heures puis incubées à la température 25°C pendant 16 heures. En effet, les pourcentages de germination varient entre 32,17% (B61) et 84,02% (B13). La souche BNat et les isolats B61, B59 sont les plus affectés par cette fluctuation (34,5 ; 32,17 et 41,48%, respectivement). En revanche, la souche B12 et les isolats B13, B31 et B53 sont les plus résistants à la fluctuation de la température 40°C/25°C.

4. Projet 4 : Optimisation d'un milieu économique de production des biofongicides par *Bacillus amyloliquefaciens*

La publication des résultats de l'optimisation des composants du milieu de culture pour la production des activités antifongiques d'une souche de B. amyloliquefaciens efficace dans la lutte biologique contre F. graminearum. Des modèles expérimentaux statistiques de culture qui a abouti à une. La production maximale d'activité antifongique était de (250 UA/ml). Le plan de Plackett-Burman a été d'abord appliqué pour élucider les composants du milieu ayant des effets importants sur la production antifongique. Ensuite, la SAM (Steepest Ascent Method) est utilisée pour approcher l'espace de conception expérimentale, suivie d'une application de la Conception composée centrale (Central Composite Design (CCD). Trois facteurs ont été retenus (les déchets de bonbons, la peptone et le chlorure de sodium) et l'activité antifongique a été représentée par deux modèles mathématiques. Le modèle trigonométrique assure un meilleur ajustement : coefficient de détermination ajusté supérieur (AR2) de 0,95, valeur inférieure du critère d'information d'Akaike

corrigé et le manque insignifiant d'ajustement. Par conséquent, la capacité de B. amyloliquefaciens de surproduire l'activité antifongique a indiqué son application potentielle pour la lutte contre les maladies fongiques agricoles tel que Fusarium graminearum.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1. Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture 2022:

1. Imen Zalila-Kolsi, Sameh Kessentini, Slim Tounsi and Kaïs Jamoussi (2022). Optimization of Bacillus amyloliquefaciens BLB369 Culture Medium by Response Surface Methodology for Low Cost Production of Antifungal Activity. https://doi.org/10.3390/microorganisms10040830; Microorganisms**2022**, 10, p: 830.
2. Jihen Mseddi, Dalel Ben Farhat-Touzri and Hichem Azzouz(2022). Selection and characterization of thermotolerant Beauveria bassiana isolates and with insecticidal activity against the cotton-melon aphid Aphis gossypii (Glover) (Hemiptera: Aphididae). (wileyonlinelibrary.com) https://doi.org/10.1002/ps.6844.vol. 78, no 6, p. 2183-2195.
3. Mariem Adhar, Basma HadjKacem, Sandrine P´erino-Issartier, Ikram Ben Amor, Amira Feki, Jalel Gargouri, Ali Gargouri, Slim Tounsi, Farid Chemat, Noureddine Allouche.(2022) . Thymol-enriched extract from *Thymus vulgaris* L leaves: Green extraction processes and antiaggregant effects on human platelets. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105858. *Bioorganic Chemistry*, 2022, vol. 125, p. 105858.
4. Nancy Fayad, Joanna Abboud, Fatma Driss , Nicolas Louka and Mireille Kallassy Awad 1, Optimization of Culture Conditions and Wheat Bran Class Selection in the Production of Bacillus thuringiensis-Based Biopesticides. https://doi.org/10.3390/fermentation8120666, fermentation,2022, vol. 8, no 12, p. 666.
5.

2. Chapitre dans un ouvrage : *Néant*

3. Acte de conférences/ colloque

-Frikha-Gargouri O, Ben Abdallah D, Tounsi S. « Multiple factor analysis of genetic and metabolite profiles as an improved strategy for potential *Bacillus* biocontrol agents' selection to control crown gall and fire blight diseases ». Journées Internationales de Biotechnologie, December 19th - 22th 2022, Hammamet, Tunisia.

- Yousfi S, Krier F, Coutte F, Frikha-Gargouri O. Communication orale intitulée « Identification and evaluation of bioactive compounds produced by *Bacillus velezensis* 32a towards *Agrobacterium tumefaciens* strains » au 20 th International Days of Biotechnology du 19 - 22 décembre 2022 à Hammamet-Tunisie.

- Frikha-Gargouri O « Plant-beneficial function prediction of *Bacillus subtilis* species through NGS technology », ICGEB Theoretical and Practical Course November 06th-13th, 2022, CBS, Sfax, Tunisia.

- Frikha-Gargouri O, Nessrine Ben Cheikh, Dorra Ben Abdallah, Slim Tounsi, « Study of the in vitro interaction between the biocontrol 32a strain of *Bacillus velezensis* and the phytopathogenic strains of *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia amylovora* » 16-21 Octobre, 2022, Hammamet, Tunisie.

- Yousfi S, Krier F, Frikha-Gargouri O, Coutte F. Communication d'un poster intitulé « Bioactive metabolites from *Bacillus velezensis* 32a and their potential management of crown gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens* strains » au congrès Plant BioProTech du 28 Juin-01 juillet 2022 à Reims-France.

- Yousfi S, Participation à la 7ième Conférence portant sur les Moyens Alternatifs de Protection pour une Production Intégrée, 8 et 9 mars 2022 à Lille-France.

- Modelling and Dynamic Optimization of protein and spore production by Bacillus thuringiensis. Tatiana Segura MONROY, Nouha ABDELMALEK, Souad ROUIS, Mireille KALLASSY, Joanna ABDOUD, Julien CESCUT, Nadia BEN SAÏD, Luc FILLAUDEAU, César Arturo ACEVES-LARA

- Study of ecotoxicological effects and efficacy tests of biopesticides based on Bacillus thuringiensis "Lip" and "BLB1" against Phyllocnistis citrella and Prays citri. Rayan NASSEREDDINE, Zhanerke

AMANGELDI, Gül AYYILDIZ, Fatma IDRIS5, Souad ROUIS, Mireille KALLASY AWAD, Asime Filiz CALISKAN KEÇE, Stephan DIETRICH.
- Economic maturation & business plan development for new Bacillus thuringiensis based biopesticide. Souad ROUIS, Nadia BEN SAID, Tayssir HAMMAR, Sara FALVO

2. Brevets d'invention nationaux :

Identification : « un procédé d'extraction de biopesticides à partir des eaux usées industrielles fermentées avec la bactérie entomopathogène *Photorabdus temperata* souche K122 » . INNORPI ; N° TN. En date du 15 Mai 2022

FORMATION DIPLOMANTE

- **Thèses de doctorat soutenues :**

1. ***Sahar Keskes*** : Thèse de doctorat en Sciences Biologiques ; Faculté des Sciences de Sfax,
   Titre : Production économique des bioinsecticides à base de *Photorhabdus temperata* en utilisant les eaux usées industrielles comme substrat de fermentation
   Encadreur : Slim Tounsi ; **Co encadreur** : Jallouli Wafa.
   Soutenance : le 04/03/ 2022.
2. ***Jihen Mseddi*:** Thèse de doctorat en Sciences Biologiques ; Faculté des Sciences de Sfax,
   Titre : Etude de la présence et de la diversité des champignons entomopathogènes dans différentes régions de la Tunisie : mise au point de bioinsecticide.
   Encadreur : Dr Hichem Azzouz
   Soutenance : 29/06/ 2022
3. ***Mariem Laadhar* :** Thèse de doctorat en Chimie ; Faculté des Sciences de Sfax,
   Titre: Etudes chimique et biologique d'eco-extraits et l'huiles essentielles de Thymus vulgaris et Peralgonium graveolens valorisation et applications biotechnologiques
   Directeur de thèse : Nourredine Allouch **.Co directeur** : Slim Tounsi
   Soutenance : 27 Décembre 2022.

- **Mastères soutenus :**

1. ***Sirine Ben Abdallah* :** Mastère de recherche, Institut Supérieur Agronomique de Chott-mariem

   Titre : Investigation de souche de Bacillus nouvellement isolé pour le bio contrôle de la maladie de la galle du collet.
   Encadreur : Olfa Frikha
   Soutenance : 2022

2. ***Marime Louati :*** Mastère de recherche en Science Agronomique et Environnement, Institut Supérieur Agronomique de Chott-mariem

   Titre : Purification et caractérisation d'une protéase de serratia marcescens apotentialité bioinsecticide vis avis du criquet pèlerin Schistocerca gregaria.
   Encadreur : Fatma Driss
   Soutenance : le 06 Décembre 2022

SEMINAIRES, ATELIERS ET JOURNEES

1. ICGEB du 06 Novembre au 13 Novembre**:** (ProposalW/TUN22-01) Course « Plant- beneficial function prediction of Bacillus subtilis species through NGCtechnology »
2. Journée du projet Tuniso-Coréen le 18 Octobre 2022**:** Salt/Drought tolerant bacteria and biochar biotechnologies as biosafety tools for sustainable agriculture.
3. Laboratoire « BioEcoAgro», Université de Lille, France: 1-7 Septembre 2022.
4. North-South-South Network on Xanthomonads "Diagnostic des bactéries pathogènes transmises par les semences", 10-14 Octobre 2022, CERAAS, Thiès, Senegal.
5. ICGEB Theoretical and Practical Course "Genomic/Metagenomic and NGS approaches for discovering new enzymes useful for industrial applications", 13-23 Juin 2022, CBS, Sfax, Tunisie.

6. Progress meeting 5dans le cadre du projet Citrus, le 22 juin 2022, Adana, Turquie
7. Final meeting CITRUS 19 Décembre 2022.

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

1. **Projet PRF, 2017-2022 en collaboration avec Pr. Momen Kallel** : 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
2. **Projet PRF, 2017-2022 en collaboration avec Pr. Ahmed Mliki** :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 .
3. **Projet PRF: 2020-2022, Coordinateur : Slim Tounsi** : Covid-19 : Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques
4. **Projet d'encouragement des jeunes chercheur, Wafa Jallouli** : Code : 20PEJC 04-10.

« Valorisation et recyclage des eaux usées issues de la société Tunisienne de Levure pour la production des biopesticides à base de la bactérie entomopathogène *Photorhabdus temperata*.

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1/ IPM-4-Citrus: Citrus disease Integrated Pest Management: from Research to Market (**2017-janvier 2023**), **RISE-H2020** : IPM-4-Citrus vise principalement à renforcer la collaboration entre 11 partenaires académiques et non académiques basés dans 3 États membres européens (France, Allemagne et Italie), 2 pays associés (Turquie et Tunisie) et 1 pays tiers (Liban) pour le développeront de deux nouveaux biopesticides basés sur la souche tunisienne BLB1 et la libanaise LIP, actives contre les parasites des agrumes, et leur accompagnement du laboratoire au marché. Pour atteindre ses objectifs, IPM-4-CITRUS a été organisé en 6 modules de travail basés sur les compétences complémentaires des partenaires: WP 1: gestion et coordination; WP2: Preuve de concept, de la culture de *B. thuringiensis kurstaki* à la production d'endotoxines delta; WP3: Optimisation de la nouvelle activité de biocontrôle; WP4: maturation économique; WP5: Activités de communication, de mise en réseau et de communication et WP6: Diffusion et exploitation, Les deux premières étapes relatives à la preuve de concept et à la maturation technologique ont été conduites par étude de référence et normalisation de la méthodologie; comparaison objective des souches avec la référence industrielle HD1 en utilisant un milieu semi-synthétique Un dispositif expérimental pour les activités de première formulation (séchage) est actuellement mis au point, permettant la production de lots pilotes dont la formule de formulation est approuvée en laboratoire et sur le terrain. Parallèlement à la validation par des tests sur le terrain, un rapport d'évaluation de la technologie a été préparé en tenant compte des besoins du marché et des aspects réglementaires. Plusieurs activités de mise en réseau et de sensibilisation ont été réalisées pour renforcer les liens entre la science et la société et une société à long terme fondée sur la connaissance.

2/ Projet PHC-Utique : Etude de l'efficacité des lipopeptides, des polykétides et de la bacilysine en tant que biopesticides (2021-2023). L'objectif principal de ce projet de recherche vise à identifier de nouveaux composés de biocontrôle efficaces agissant contre *A. tumefaciens* et à améliorer la production de ces composés par l'outil biotechnologique pour une application ultérieure en tant qu'agent de biocontrôle.

3/ Projet PHC-Utique : B4G : vers une montée en échelle et une optimisation de la production de biopesticides (btk / son de blé) pour la lutte intégrée contre les ravageurs des grenadiers (2022-2024). Ce projet se focalise sur l'optimisation des bioperformances et le changement d'échelle des bioprocédés lors de la production d'un biopesticide par la souche bactérienne endémique tunisienne, *Bacillus thuringiensis kurstaki* BLB1 cultivée dans un milieu industriel à base de son de blé.

4/ Projet Twinning NGS-4-ECOPROD: from next generation sequencing microorganisms towards ecofriendly biotech-based products. Les objectifs spécifiques de ce projet (2022-2025). Consistent à : (i) améliorer la créativité, la capacité d'excellence et les ressources, (ii) accroître la notoriété, le profil de la recherche et l'attractivité, et (iii) renforcer les capacités de gestion de la recherche et les capacités administratives. Compétences dans le CBS, en comblant les lacunes existantes dans le domaine des séquençages haut débit. NGS-4-ECOPROD vise à renforcer avec succès les capacités de CBS à exploiter efficacement sa plateforme NGS pour développer des produits biotechnologiques originaux (extremozymes, biopesticides sans spores, antioxydant-ergothionéine et bioplastiques) utiles comme éco- alternative aux produits chimiques.

5/ Projet Tuniso-Coréen: Salt/Drought tolerant bacteria and biochar biotechnologies as biosafety tools for sustainable agriculture (2022-2025). Ce projet vise à étudier les efficacités de deux bio-ressources comme outils de biosécurité pour agriculture durable notamment dans la bio-fertilisation des sols et l'atténuation de la sécheresse et le stress salin des cultures (cas de la tomate)

6/ Projet Tuniso-Qatari financé par QNRF - Qatar National Research Fund: Halotolerant bacteria-based Biofertilizer: Promising Alternative Towards Improvement of the Plant Productivity, Salt Tolerance and Fruit Quality. Ce projet vise à développer des alternatives sûres et durables qui peuvent faire face au climat aride tout en améliorant la productivité des plantes, le halo-tolérance et la qualité du sol. Les biofertilisants à base de bactéries se sont révélés capables de jouer ce rôle, en améliorant la croissance des plantes ainsi qu'en renforçant leur capacité à surmonter les facteurs biotiques et les facteurs de stress abiotiques. Plus intéressant, l'utilisation de biofertilisants conduit à la production de bio aliments.

LR19CBS01 : Laboratoire de Biotechnologie Microbienne et d'Ingénierie des Enzymes

مخبر بيوتكنولوجيا الأحياء الدقيقة وهندسة الأنزيمات

مخبر الأحياء الدقيقة وهندسة الأنزيمات
Laboratory of Microbial Biotechnology and Enzyme Engineering

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

COMPOSITION DU LABORATOIRE

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Mamdouh BEN ALI	Professeur/Directeur du Laboratoire	Wassim BEJAR	Post-Doc (MOBIDOC)
Samir BEJAR	Professeur	Mouna BEN ELHOUL	Post-Doc (MOBIDOC)
Lotfi MALLOULI	Professeur	Rihab AMERI	Post-Doc
Riadh BEN SALAH	Professeur	Fatma ABDMOULEH	Post-Doc
Bassem JOUADI	Professeur	Sahar TRABELSI	En Thèse
Mahdi ELARBI	Maitre de Conférences/ISBS	Sondes MECHRI	En Thèse
Sonia JEMLI	Maitre assistant/FSS	Sawssan NEIFAR	En Thèse
Slim SMAOUI	Maitre assistante	Sonia MHIRI	En Thèse
Nadia ZARII	Maitre assistante	Mouna JLIDI	En Thèse
Fakher kammoun	Maitre assistante	Asmahen AKREMI	En Thèse
Monia BLIBECH	Ingénieur en Chef	Sondes HAMDI	En Thèse
Ines KARRAY	Ingénieur en Chef	Ahlem DAB	En Thèse
Monia MEZGHANI-ABID	Technicien en Chef	Wided BRABRA	En Thèse
Adel HADJ IBRAHIM	Technicien principal	Fadoua JABEUR	En Thèse
Kameleddine BOUCHAALA	Assistant d'application principal	Fakhreddine BEN AMARA	En Thèse
Boutaina Mnejja	Technicien adjoint	Khawla Elhadef	En Thèse
Riadh Ben Ali	Ouvrier	Sarra Akermi	En Thèse
Manel BEN ALI	Post-Doc	Mofida Chaari	En Thèse
Fatma EL GHARBI	Post-Doc		

OBJECTIFS GENERAUX ET SPECIFIQUES

Le laboratoire LBMIE-CBS, 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, lipase, amylase, 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)
- Principaux résultats obtenus

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)

Chef du projet : Prof. Samir BEJAR

1.1. Amélioration des performances anti-rassissantes de la CGTase US132

Afin de promouvoir les performances anti-rassissantes de la CGTase US132, un triple mutant a été généré par mutagenèse aléatoire. Ce mutant appelé MJ13 a montré une amélioration des propriétés anti-rassissantes suite à un changement de la spécificité de l'enzyme mutée (Jemli et al., 2016). Par mutagenèse dirigée et en se référant à MJ13, nous avons généré 6 mutants hébergeant soit des simples mutations (K47E, S382P et N655S) soit des doubles mutations (K47E+S382P, K47E+N655S et S382P+N655S). Les 6 CGTases mutées ont été produites, purifiées, caractérisées biochimiquement et comparées avec la CGTase sauvage (CGTase US132) et avec le triple mutant (MJ13). L'analyse a montré que les 6 mutants engendrent une amélioration du ratio dextrinisation/cyclisation par 4,4 à 6 fois en comparaison avec l'enzyme sauvage. Parmi ces 6 mutants, le simple mutant (N655S) est le meilleur. Les tests de panification ont montré que l'addition de ce mutant à raison de 0,06 unité/g de farine a diminué la dureté de la pâte et du pain. Ceci nous a permis de dire que le mutant (N655S) est un agent anti-rassissant performant. Ce travail a fait l'objet d'un article scientifique publié au journal « Colloids and Surfaces B : Biointerfaces » (Sahnoun et al., 2022)

1.2. Production des β-cyclodextrines et leurs nanoparticules

Les nanoparticules à base de cyclodextrines est une technologie émergeante qui trouve un essor considérable permettant de contourner les problèmes liés à la faible solubilité et stabilité des molécules bioactives et d'améliorer la diffusion contrôlée des molécules bioactives. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet d'encouragement des jeunes chercheurs (PEJC) intitulé « Les cyclodextrines comme vecteurs d'encapsulation des molécules bioactives : production, purification et génération des nanoparticules » ; porté par Dr Sonia JEMLI (2020-2022). Au cours de ce projet, nous avons amélioré la production de la CGTase US132 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 Taguchi et le plan Box-Behnken). Afin de minimiser le coût de production des cyclodextrines, nous avons mis au point un procédé de valorisation de l'amidon de bonne qualité à partir des pelures de pomme de terre. Cet amidon a été utilisé pour optimiser la production des cyclodextrines par la CGTase US132 en utilisant le plan d'expériences Box-Behnken, ce qui a permis d'atteindre une production des β-CDs de l'ordre de 67 g/l contre seulement 49 g/l en utilisant l'amidon commercial. Par la suite, les β-CDs ont été purifiées à homogénéité grâce à la mise au point d'un protocole simple et sans utilisation des solvants organiques. L'ensemble de ces travaux ont fait l'objet d'un brevet d'invention national et d'un article publié (Ben Amara et al 2022). Des nanoparticules sous forme de complexes d'inclusion β-CDs avec des molécules bioactives (huile de nigelle, huile d'eucalyptus, $AgNO_3$) ont été préparées en utilisant la méthode de co-précipitation. La formation de ces complexes d'inclusion a été vérifiée par des méthodes adéquates (FTIR, X-Ray, DSC, Zeta-potential). L'exploration de leurs activités anti-oxydantes, antibactériennes, pesticides et virales est en cours de réalisation.

1.3. Application pour la synthèse de cyclodextrines modifiées virucides

Les cyclodextrines auxquelles des ramifications sont ajoutées par synthèse chimique sont décrites en tant qu'agent virucide puissant. C'est dans ce cadre que nous avons coordonné l'action 2 « CDs et Covid19 » du projet de recherche fédérée PRFCOV19-DDP219 "Développement d'outils de diagnostic et thérapeutiques" et nous avons proposé avec nos partenaires de produire et purifier les CDs puis de générer des CDs modifiées par greffage de chaînes sulfonatées de diverses longueurs et ce, afin d'obtenir des agents antiviraux efficaces et à large spectre. Actuellement, quelques molécules sont en train d'être synthétisées selon un protocole presque optimisé. 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 la propagation SARS-CoV2 ou autres virus similaires au niveau de leurs portes d'entrée à l'organisme (nez et bouche essentiellement). L'importance de ces cyclodextrines pour l'adsorption des virus a été élucidée dans une revue de synthèse publié dans un journal scientifique prestigieux (Sellaoui et al., 2021).

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

Chef du projet : Prof. Bassem JAOUADI

I- Les hydrolases microbiennes d'interets industrielles

a) Procédés de production et de purification des enzymes protéolytiques – Application industrielle dans le domaine des détergents et d'agroalimentaire

Dans ce travail, trois protéases SPPS, SAPTEX et SPTC secrétées respectivement par les souches fongiques *Pleurotus sajor-caju* CTM 10057, *Penicillium chrysogenium* X5 et *Trametes cingulata* CTM 10101 ont été purifiées et caractérisées. Ces protéases présentent une stabilité remarquable en présence des surfactants, des tensioactifs et certains détergents commerciaux liquides et solides.

D'après l'évaluation morphologique, la physico-chimique et l'évaluation métrologique des tissus traitées par SAPTEX, cette enzyme est orientée d'être appliquée dans le processus d'ennoblissement. SPPS possède un degré d'hydrolyse notable. Etant donné que cette protéase est une enzyme acido-résistante, d'où l'idée qu'elle soit apposée pour la coagulation de lait. Grâce à ces propriétés intéressantes de SPPS dans la coagulation du lait, nous pensons à monter une start-up « AgroTN BioTech » et contribuer à une étude technico-économique afin d'avoir une estimation du coût de la production de SPPS et de voir la possibilité de son utilisation dans la coagulation du lait. Les résultats du modèle obtenu suite à l'étude technico-économique développée a permis de bien confirmer l'intérêt financier de produire cette enzyme. Cette simulation effectuée montre une production de 75000 U/mL obtenues après 72 h de fermentation.

b) Etudes biochimiques et moléculaires des protéases bactériennes issues des milieux extrêmes d'intérêts biotechnologiques

Une optimisation des conditions de la production de protéases à partir des souches de l'extrême (eau chaude algérien, gisement pétrolier tunisien et deux lacs salins algériens) a été réalisée, à l'échelle Erlenmeyer. Ainsi, des protéases prometteuses produites par les souches *Aeribacillus pallidus* VP3, *Lysinibacillus fusiformis* C250R, *Anoxybacillus kamchatkensi* M1V, *Virgibacillus natechei* sp. nov $FarD^T$ et *Melghiribacillus thermohalophilus* gen. nov., sp. nov $Nari2A^T$ ont été purifiées et caractérisées. Ces enzymes sont des condidates potentielles pour la détergence et la déprotéinisation de coproduits de la mer. Les gènes codants pour les activités SAPA, SAPV et SAPN respectivement de M1V, $FarD^T$ et $Nari2A^T$ ont été isolés, étudiés sur le plan structural et exprimés dans *E. coli*. Le gène codant pour SAPN a été exprimé dans *P. pastoris* SMD1168 et X-33 sous ces trois cassettes de lectures (SAPN + PS + Pro), (SAPN + Pro - PS) et (SAPN - Pro - PS) par électroporation des plasmides dérivés du PICZαC. Par la suite, l'enzyme rSAPN X-33 (Pro-M5) est purifiée sur une colonne chromatographique d'affinité Ni^2-NTA. Les protéases SPVP, SAPLF, rSAPA, et rSAPV présentent une stabilité remarquable en présence de divers détergents. Des meilleurs taux de déprotéinisation enzymatique des sous-produits de crustacés avec une récupération des chitines de bonne qualité ont été trouvés par l'extrait brut de M1V et par SAPN. Des fractions peptidiques à partir des déchets de crevettes, obtenues avec une hydrolyse par les protéases purifiées SPVP et SAPA présentent des peptides (15 et 1,42 kDa) possèdent des activités biologiques très intéressantes. A notre connaissance, le potentiel inhibiteur des activités tyrosinases et acétylcholinestérases d'un hydrolysat protéique obtenu à partir d'un coproduit marin a été signalé pour la première fois au cours de ce travail.

c) Immobilisation de l'enzyme SPSM et étude comparative entre les différentes formes immobilisées

l'immobilisation de la protéase SPSM de la souche TN-X30 a été réalisée moyennant deux méthodes et cinq supports, et ceci moyennant les ions de Ca^{2+} comme agent de gélification. L'optimisation de différents facteurs a montré que l'immobilisation est optimale avec une concentration du support alginate de 2%, un temps d'incubation de 20 min et une concentration du calcium de 200 mM. Parmi les cinq supports utilisés, les supports alginate de sodium, alginate de sodium-argile blanche et alginate de sodium-kaolin sont retenus pour le reste de travail. La concentration optimale de ces supports inorganiques utilisés sont respectivement de 1 ; 0,6, 0,8 et 1% pour le charbon actif, l'alumine, le kaolin et l'argile blanche. L'application de ces conditions optimales sur l'immobilisation de SPSM a permis d'obtenir des activités retenues respectivement de 35, 43 et 71% avec l'alginate de sodium, l'alginate-argile blanche et l'alginate-kaolin. Les rendements d'immobilisation atteignent 90% pour l'alginate et 100% pour l'alginate-argile blanche et l'alginate-kaolin. Les formes SPSM immobilisées par l'alginate et l'alginate-kaolin ont montré leur efficacité pour être utiliser respectivement pour 3 et 7 cycles. Ces trois formes immobilisées se distinguent par une meilleure stabilité vis-à-vis le pH et la température et la compatibilité dans divers détergents. Les billes de la protéase alcaline immobilisée par le support hybride alginate-kaolin se distinguent par des temps de demi-vie de 12 et 19 h respectivement à 40 et 70°C et une

activité résiduelle de 90 et 74% après un stockage de 12 mois respectivement à 4 et 23±2°C. Les paramètres thermodynamiques de la dénaturation thermique irréversible pour le SPSM ont indiqué que les valeurs d'enthalpie, d'énergie libre et d'entropie étaient 1,7, 1,0 et 0,72 fois plus élevées pour SPSM immobilisée que pour la forme libre.

e) Etude des α-amylases bactériennes pour la formulation des détergents de lavage

Nous avons commencé à étudier le potentiel amylolytiques de 13 souches bactériennes isolées à 60 °C à partir d'un échantillon d'eau de la source hydrothermale de Hammam Righa (Algérie). Après la mise en évidence de l'activité amylolytique sur des milieux solides et liquides, 5 souches bactériennes ont été retenues : M1V, Nari11A^T, KB-HR44, HB23 et MerV^T. Par la suite, nous avons noté que l'activité amylolytique la plus intéressante a été enregistrée chez les souches HB23 (320 U/mL) et KB-HR44 (280 U/mL) sur un milieu optimisé. Deux α-amylases nommées TfAmy48 et GtAmy53 produites par les souches *Tepidimonas fonticaldi* HB23 et *Geobacillus thermodenitrificans* KB-HR44 ont été purifiées et caractérisées. L'analyse par zymogramme sur l'amidon à 1% (*w*/*v*) a montré que chaque souche secrète une seule α-amylase. Ces enzymes présentent des masses moléculaires apparentes de 48 et 53 kDa, respectivement. Une fermentation de 60 litres de la souche KB-HR44 sur milieu économique à base du lait en poudre a permis d'enregistrer une activité maximale de 30600 U/mL. Cette activité est de 109,3 fois par rapport à celle obtenu en Erlenmeyer. Les caractéristiques de TfAmy48 et GtAmy53 ont montré que l'activité optimale est située à pH 8 et 80°C et pH 7 et 70°C, respectivement. Les résultats ont aussi révélé que les deux enzymes ne sont pas inhibées par l'EDTA et l'EGTA. L'alignement de la séquence NH_2-terminale obtenue (25 aa) de la TfAmy48 a montré une importante homologie avec des séquences d'α-amylases produites par plusieurs Gammaprotéobactéries. L'analyse des performances des α-amylases TfAmy48 et GtAmy53, en comparaison avec l'enzyme commerciale Termamyl® 300L, en présence de divers détergents ainsi que leurs constituants a montré des activités relatives et résiduelles très concluants, souvent meilleures que celles de l'enzyme commerciale. Aussi les tolérances des deux α-amylases en présence de divers solvants organiques ayant différentes polarités ouvrent la voie vers une potentielle utilisation en synthèse organique et notamment dans la production d'oligosaccharides ayant un intérêt pharmaceutique. Par la suite, le gène *Tfamy48* codant l'enzyme TfAmy48 a été amplifié et séquencé pour ensuite être cloné et surexprimé dans un système d'expression basé sur *E. coli* BL21(DE3) pLys. Le niveau de production ayant atteint 500 U/mL lors de cette expression, l'enzyme recombinante rTfAmy48 a été purifiée en utilisant la même stratégie que pour l'enzyme native. Les valeurs optimales de pH et de température, ainsi d'autres paramètres physico-chimiques de rTfAmy48 sont les mêmes que celles de l'enzyme native.

f) Etude biochimique et moléculaire des nouvelles lipases fongiques pour la biodégradation des huiles usées

Les études ont montré qu'une souche nommée « CBS », ayant comme identifiant de la Collection Tunisienne de Microorganismes (CTM<TUN>:10621) du CBS (Sfax-Tunisie), est la souche la plus performante de point de vue activité lipase, cette souche a été identifiée par approche moléculaire entant que *Fusarium annulatum* Bugnicourt par le «CBS Fungal Biodiversity Centre » au Pays-Bas moyennant le séquençage des régions 1 et 2 de l'espaceur transcrit interne (ITS) de l'ADNr 5.8S, un fragment partiel du facteur d'élongation EF1α et des fragments contenant la sous-unité 2 partielle d'ARN polymérase B (RPB2). Il est à mentionner que nous avons séquencé le génome entier de cette souche avec la même équipe hollandaise. L'assemblage et l'annotation du génome séquencé du champignon d'ascomycète *Fusarium annulatum* Bugnicourt CBS sont en cours de réalisation avec une équipe française. Par la suite l'étude de la production de l'activité lipase consiste à l'ajout de 1% d'huile d'olive comme seule source de carbone dans les milieux de culture de la souche CBS ce qui a fait augmenter le niveau d'activité par un facteur 6 par comparaison aux cultures en présence du glucose comme source de carbone. Par ailleurs, l'étude cinétique de la croissance de cette souche et de la production de lipase montre que l'activité

lipolytique apparait dès le 1er jour de culture pour atteindre un maximum d'activité de 10 U/mL du milieu de culture sur des triglycérides à chaîne moyenne (TC8) à la fin de la phase exponentielle, correspondant au 5ème jour de culture. Une des propriétés les plus intéressantes de cette souche est sa capacité d'hydrolyser efficacement les phospholipides

II- Les oxydoreductases fongiques d'interets biotechnologiques et environnementales

a) Etude biochimique et moléculaire et immobilisation de deux peroxydases fongiques

Deux peroxydases purifiées, issues des deux champignons *Tramates cingulata* CTM10101 et *Aspergillus niger* CTM10002, présentent des masses moléculaires d'environ 41 et 30 kDa, respectivement. Il s'agit de deux vraies peroxydases par la détermination des séquences NH2-terminales des enzymes LiP TC41 et MnP AN30. En effet, les séquences NH_2-terminales ainsi obtenues ont montré une forte homologie avec les séquences de peroxydases, à lignine et à manganèse, fongiques déjà étudiées. Il s'agit aussi de deux peroxydases hémiques du fait qu'elles sont totalement inhibées par le cyanure de potassium et l'azoture de sodium. Les optima de pH et de température sont de 9 et 80 °C pour la LiP TC41 contre 5 et 40 °C pour la MnP AN30. La thermostabilité de ces deux peroxydases est améliorée en présence du magnésium à une concentration de 1 mM pour la LiP TC41 et en présence de manganèse à une concentration de 1 mM pour la MnP AN30. Ces deux peroxydases sont actives sur 2,4-DCP et 2,6-DMP. Ainsi, les deux enzymes pourraient être des candidates potentielles pour la détergence et la dégradation des colorants textiles.

Les travaux ont porté par la suite sur le clonage des ADNc codants des deux peroxydases LiP TC41 et MnP AN30 des souches *Aspergillus niger* CTM10002 et *Tramates cingulata* CTM10101, respectivement dans le vecteur navette (*E. coli*/*Pichia*) nommé pGAPZαB. Il s'agit donc de l'expression dans le système bactérien (*E. coli*) dans le but d'effectuer l'expression hétérologue de ces deux activités peroxydases dans le système levure (*Pichia pastoris*). Particulièrement, l'ADNc du gène *mnp AN30* contient 1314 nucléotides et la région codante à une teneur en G + C de 67,63%. La protéine MnP AN30 mature déduite contient 357 aa et est précédée d'un peptide signal de 21 aa. La séquence NH2-terminale déterminée expérimentalement (27 aa) de l'enzyme MnP AN30 (pI = 4,59) correspond à la séquence NH2-terminale déduite du gène *mnp AN30*. Alors que l'ADNc du gène *lip TC40* contient 1275 pb et la région codante à une teneur en GC de 66,39%. La protéine MnP AN30 mature déduite contient 346 aa et est précédée d'un peptide signal de 21 aa. La séquence NH_2-terminale déterminée expérimentalement (26 aa) de l'enzyme MnP AN30 (pI = 4,46) correspond à la séquence NH_2-terminale déduite du gène *lip TC40*. Dans la suite du travail, il s'agit de réaliser des mutations spécifiques par mutagénèse dirigée sur les deux gènes d'intérêt (*mmp AN30* et *lip TC40*) afin de comprendre les relations structure-fonctions de ces types d'oxydoréductases. Dans un autre volet de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'immobilisation des deux peroxydases MnP AN30 et LiP TC41. Il s'agit de piéger les peroxydases dans les hydrogels de gomme de guar et alginate et ces préparations de peroxydases immobilisées vont être utilisées pour le traitement des effluents textiles. La gomme de guar est un polysaccharide hydrophile naturel, dont la taille moyenne augmente sous sa forme hydratée qui aide à retenir l'enzyme à l'intérieur du support de piégeage. Par conséquent, la rétention d'activité par la gomme de guar et alginate devient supérieure à celle de l'alginate seul. Les peroxydases seront très stables contre divers dénaturants physiques et chimiques lors de la décoloration des effluents textiles. L'enzyme a été mélangé avec de l'alginate de sodium et une solution de gomme de guar préparée dans 20ml de tampon (acétate de sodium). Le mélange résultant a été lentement extrudé sous forme de gouttelettes dans une solution de chlorure de calcium à 2% et agité doucement pendant 2 h. Les billes obtenues ont été lavées avec un tampon d'acétate de sodium 100 mM, pH 5 et stockées dans une solution chlorure de sodium (NaCl 0.9%) à 4°C pour son utilisation ultérieure. Les conditions de piégeage de l'enzyme dans des billes ont été optimisées à diverses concentrations d'alginate, de gomme de guar (1 ; 2 ; 2,5 et 3%) et de solution de $CaCl_2$. On a observé que l'activité maximale est conservée dans une solution à 3% d'alginate, 3% de gomme de guar et 2% de $CaCl_2$. Nos résultats ont montré qu'après une 4ème utilisation répétée, l'activité reste stable et par conséquent l'enzyme

immobilisée va être plus efficace pour éliminer jusqu'à le plus possible de la couleur des effluents textiles.

b) Dégradation et traitement des colorants textiles synthétiques par un procédé enzymatique

Nous nous sommes intéressés dans ce travail à la sélection de souches fongiques productrices d'activités peroxydases. Ainsi, la peroxydase purifiée, issue de la souche *Aspergillus niger*, CTM10002 présente une masse moléculaire d'environ 30 kDa, estimée sur gel SDS-PAGE. Il s'agit d'une peroxydase hémique du fait qu'elle est totalement inhibée par le cyanure de potassium (KCN) et l'azoture de sodium NaN3. Les optima de pH et de température de la nouvelle peroxydase nommée MnP AN30 sont de 5 et 40°C. La thermoactivité ainsi que la thermostabilité de cette peroxydase est améliorée en présence du manganèse à une concentration de 1 mM. La capacité de la souche CTM10002 ainsi que de l'enzyme MnP AN30 de biodégradation de quatre colorants synthétiques couramment utilisés en industrie textile a été étudiée. Le % de décoloration de ces colorants est amélioré au cours du temps et atteint son maximum le 8ème jour. D'autre part, nous remarquons que la concentration optimale du colorant, permettant à la souche CTM10002 d'effectuer les meilleurs % de décoloration, est de l'ordre de 50 mg/l pour les quatre colorants testés. La variation du % de décoloration des différents colorants textiles testés est combinée à une variation du pH du milieu. En effet, le pH initial du milieu a été fixé à 5,6 et l'augmentation de la capacité de décoloration a été accompagnée d'une augmentation des valeurs de pH. Les meilleurs % de décoloration ont été enregistrés pour des valeurs de pH neutre à légèrement alcalins. Par la suite, La capacité de la MnP AN30 de biodégradation de ces colorants a été surveillée. Cette enzyme présente plus d'affinité pour le colorant RBBR avec un % de décoloration de l'ordre de 85% après seulement 12h. Ces données fournissent un soutien supplémentaire pour les performances prometteuses que MnP AN30 peut offrir en tant que biocatalyseur pour la désinfection des colorants textiles synthétiques.

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

Chef du projet : Prof . Riadh BEN SALAH

Action 1 : polysaccharides et probiotiques en agroalimentaires: impact technologiques, organoleptiques et microbiologique

1- Criblage et étude des activités biologiques de probiotiques isolées à partir de lait de chamelle

140 souches ont été isolées sur milieu MRS. Pour déterminer les propriétés probiotiques de ces souches, nous avons adopté la méthode de criblage soustractif.

Dans un premier temps, un criblage soustractif basé sur le suivi de la cinétique de croissance des souches nouvellement isolées, dans les conditions du transit gastro-intestinal (GIT). Ainsi, une seule souche qui a montré une bonne résistance à pH 3 et 5 % de bile bovine. Cet isolat nommé LC38 a été testé pour sa capacité d'autoagrégation, hydrophobicité de surface, sensibilité aux antibiotiques, activités hémolytiques et antimicrobiennes. Cette souche présente une forte activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes dont le diamètre d'inhibition varie entre 28 et 43 mm, une bonne croissance à pH 3 et en présence de 5 % de sel biliaire, une sensibilité à plusieurs antibiotiques et ne présente pas d'activité hémolytique. De plus, cette souche a montré de bonnes caractéristiques d'autoagrégation après 18 h d'incubation et une hydrophobicité de surface élevée qui a permet d'améliorer sa capacité d'adhésion aux cellules épithéliales et par conséquence la formation de biofilm. En utilisant la méthode d'identification classique avec API50CH et la technique moléculaire qui consiste au séquençage du gène de l'ARNr 16S, nous avons démontré que la souche LC38 est une nouvelle bactérie de *Lactiplantibacillus plantarum*.

L'Analyse de la composition structurale du surnageant de la souche LC38 par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a montré la présence des acides organiques (lactique acide, acide succinique et acides citriques).

2- Encapsulation de la souche probiotique *Lactiplantibacillus plantarum* LC38 pour une utilisation comme additifs en alimentation animale

Au cours de ce projet, nous avons optimisé les facteurs impliqués (type et concentration de support ainsi que la concentration en biomasse) dans l'immobilisation de la souche probiotique LC38 sur différents support (alginate de sodium seul et carraghénane) seul et ayant subi un recouvrement par les polymères de chitosane en vue de la protéger contre les conditions défavorables et afin de les utiliser pour une application comme additifs en alimentation animale. les résultats ont démontré que l'immobilisation dans des billes d'alginate-chitosane améliore la survie de L. plantarum LC38 suite à son exposition à différents pH et à différentes concentrations en oxgall et aprés un traitement thermique. Compte tenu de sa forte stabilité à des traitements thermiques, LC38 immobilisée pourrait être considéré un bon candidat pour une application comme additif dans l'alimentation animale.

3- Etude de l'activité antioxydante, antibactérienne et effet cicatrisant de la souche probiotique *Lactobacillus plantarum* TN8

Les souches de BLs probiotiques ont gagné un très grand intérêt dans le domaine agro-alimentaire (alimentation animal et humaine) ainsi que pharmaceutique essentiellement prévenir les infections liées aux blessures et aux plaies cutanées

L'objectif de ce travail était la sélection d'une bactérie lactique probiotique qui pourrait être exploitées comme agent cicatrisant des plaies mécaniques. Ainsi à partir d'une collection de bactéries lactiques isolées au sein de Laboratoire de Biotechnologies Microbiennes, Enzymatiques et de Biomolécules du Centre de Biotechnologies de Sfax, nous avons choisi 4 souches probitiques (TN8, TN9, LC38 et *Pediococcus acidilactici*) afin de sélectionner une seule souche ayant la meilleure propriété antibactérienne et antioxydante. La souche retenue sera appliquée in *vivo* pour étudier son effet dans le traitement des plaies mécaniques sur des modèles de rats Wistar.

A la lumière des résultats obtenus concernant l'activité antibactériénne, les 4 souches probiotiques ont une activité antibactérienne contre les souches pathogènes. Ainsi, la souche *« L. plantarum* TN8 » a montré une inhibition plus importante contre souches pathogènes Gram positif et Gram négatif. Pour déterminer la nature des substances antibactériennes produites par cette souche, nous avons étudié l'effet des enzymes telles que la catalase, la trypsine et la protéinase K sur le surnageant de culture. Les résultats obtenus montrent que cette souche produit en plus de l'acide organique plusieurs molécules bioactives dont certaines peuvent être de nature peptidique. L'évaluation *in vivo* de l'activité antioxydant moyennant trois tests (test au DPPH, test du pouvoir réducteur, et test d'ABTS), montre que la souche *L. plantarum* TN8 présente un potentiel antioxydant à différents niveaux. Ainsi La souche TN8 semble être une source prometteuse d'agents antioxydants, pouvant exercer un effet protecteur contre le stress oxydant.

Dans une autre partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet la souche TN8 dans la cicatrisation des plaies mécaniques chez des rats. Les résultats ont révélé que cette souche probiotique possède une activité cicatrisante comparable au médicament de référence. Donc cette souche est prometteuse pour une éventuelle application pharmaceutique.

4- Purification, caractérisation et application du polysaccharide de *Lepidium sativum* dans le cake

Nous avons étudié l'effet de l'ajout du PLS à différentes concentrations sur la texture, les propriétés physico-chimiques et microbiologiques, la stabilité oxydative et les paramètres sensoriels du cake. L'incorporation de PLS dans le cake a un effet sur le produit fini. En effet, l'addition du PLS a un effet sur les paramètres de la couleur du cake (a*, b*, L*). Ainsi, le PLS incorporé dans le cake

améliore les paramètres texturaux, et la formulation contenant 0,3 % du PLS est la plus acceptable pour les consommateurs. Également, les échantillons contenants le PLS augmentent la durée de vie du produit. En effet, l'addition du PLS a un effet bénéfique sur l'amélioration de la qualité microbiologique du produit durant son stockage à température ambiante. En outre, cette incorporation a également amélioré l'activité antioxydante du produit, ce qui suggère une amélioration de sa stabilité oxydative.
En conclusion, le PLS peut être exploité commercialement par les industries de fabrication des produits de pâtisserie en tant que source potentielle d'antioxydants et d'améliorant le produit fini.

5- Purification, caractérisation et étude des activités biologiques du polysaccharide de la graine de *Lepidium sativum* (L.)

Au cours de cette étude expérimentale, nous nous étudier in vitro les propriétés physico-chimiques et techno-fonctionnelles et les activités antioxydantes de PLS . A la lumière des résultats obtenus concernant l'activité antioxydante du PSL évaluée par cinq tests (test au ABTS, test au DPPH, test du pouvoir réducteur, test du pouvoir chélateur, et test de l'activité antioxydante totale), il ressort que ce polymère présente un potentiel antioxydant intéressant. Ainsi, le PSL semble être une source prometteuse d'agents antioxydants, pouvant exercer un effet protecteur contre le stress oxydant. De plus, l'étude des propriétés fonctionnelles montre 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. Dans un deuxième volet, nous avons étudié l'effet de l'hydrogel de PSL sur le processus de la cicatrisation des plaies induites mécaniquement chez des rats Wistar diabétiques. L'évaluation de ce processus a été réalisée à travers une analyse chromatique, une suivie de l'évolution de contraction des plaies, une étude biochimique par dosage de l'hydroxyproline et une étude histologique. Les résultats ont révélé que le traitement par le PSL a accéléré la cicatrisation avec une cicatrisation complète au bout de 14 jours par rapport à celle observée chez les rats traités par le sérum physiologique, le glycérol et le cicatrisant de référence « Cytol Centella® ». De plus, l'observation microscopique des coupes histologiques des zones cicatricielles des rats traités par l'hydrogel PSL ont montré une régénération épithéliale complète et bien organisée par rapports aux autres groupes. En outre, le tissu de granulation était plus élaboré indiquant une prolifération de fibroblastes synthétisant le collagène et une néovascularisation chez les rats traités par l'hydrogel PSL. L'observation microscopique a été confirmée grâce au dosage de l'hydroxyproline qui a indiqué une teneur en collagène plus élevée que celle des autres groupes. Donc, ce polymère est prometteur pour une éventuelle application pharmaceutique.

Action 2 : Bactéries probiotiques vecteurs d'enzymes pour des applications

Un total de 96 rhizobactéries ont été isolées à partir de la partie endophytique des plantes halophiles (*Salicornia brachiata*) et de l'olivier, elles ont été soumises à une identification préliminaire par des examens biochimiques. Tous les isolats ont été ensuite évalués pour estimer leurs différentes activités PGP : la production de l'acide indole acétique, la solubilisation du phosphate, la production des sidérophores et la production de l'HCN et l'ammonium.

Parmi ces bactéries isolées, seulement 26 isolats ayant des multiples caractères de PGP, ont été retenus pour les identifier génétiquement et évalués pour la recherche de l'activité de la production des exopolysaccharides (EPS), l'ACC déaminase et l'activité de réduction de l'acétylène. La majorité de ces isolats bactériens ont la capacité de produire l'AIA et de solubiliser le phosphate avec des taux variés, 65% étaient capable de produire les sidérophores. Tous les isolats (100%) étaient positifs pour le test de l'ammonium par contre aucune de ces isolats n'était capable de produire l'HCN. Cependant, 50% de ceux-ci ont été capables de réduire l'acétylène traduisant leur capacité de fixer l'azote atmosphérique, par contre presque la majorité possède l'enzyme de l'ACC-déaminase.

Sur la base de ces derniers critères, l'étude s'est principalement focalisée sur la sélection des diazotrophes performants parmi l'ensemble des isolats, pour les utiliser comme inoculum dans

les plantules de blé dur cultivées sous stress salin. Cette évaluation a conduit à la sélection de cinq isolats de *Bacillus*

Les bactéries sélectionnées ont été testées pour leur tolérance au sel à savoir leur croissance et l'efficacité de certaines activités PGP (réduction de l'acétylène, production de l'AIA et solubilisation du phosphate) à des concentrations croissantes de NaCl. Les résultats obtenus dans ces tests montrent que les diazotrophes utilisés ont toléré des taux élevés de sel et ont révélé une capacité à produire les activités PGP même à des concentrations élevées de NaCl (de 200 à 500 mM) avec un optimum en NaCl de production des différents métabolites à 125 mM.

Enfin, une étude faite sur la capacité de promotion de croissance sous stress et la suppression d'un agent phytopathogène majeur chez le blé dur, d'une souche endophyte nouvellement isolée à partir des oliviers. Des plantes bioprimées avec *Bacillus sp.* BCLRB2 a montré la meilleure croissance de semis de blé dur par rapport à un témoin dans des conditions avec et sans stress salin. La longueur totale, le poids frais et le poids sec total étaient significativement plus élevés chez les plantes bioprimées par rapport aux plantes non bioprimées. La souche BCLRB2 a permis d'éliminer de manière significative la pourriture grise fongique du blé de 56,5% dans l'essai en serre, tandis que les feuilles des plantes non bioprimées étaient desséchées et relâchées et que l'incidence de la maladie était de 89,9%. Avec l'analyse par CCM, trois tâches bioactives ont été observées (valeurs de Rf de 0,10, 0,45 et 0,77) et une tâche inactive avec une Rf de 0,37. Après avoir vérifié son puissant effet antagoniste contre *Fusarium sp*L'ensemble des caractères PGP des divers diazotrophes étudiés dans la présente expérience ainsi que les résultats expérimentaux de la culture du blé dur suggèrent que ces microorganismes particuliers peuvent favoriser la croissance des plantes par plus d'un mécanisme et que ces activités pourraient être mieux exploitées. Cependant, la conservation de leurs activités PGP représente un défi majeur pour ces isolats. En outre, les résultats de cette étude ont été obtenus dans des conditions contrôlées alors que la compétence et la capacité de survie dans différentes écosystèmes doivent être plus étudiées par des expérimentations plus larges en plein champ dans des sols affectés par la salinité, car la réussite de leur utilisation dépend principalement sur la capacité de ces microorganismes à coloniser efficacement la rhizosphère ainsi que leur pouvoir à synthétiser des métabolites à effet direct ou indirect sur la croissance du végétal.

Action 3 : Les phages comme agent de contrôle des pathogènes en Agriculture et agroalimentaire

Dans le cadre de ce travail six souches d'*Erwinia amylovora* Ea1, Er4, Er7, Erw, Eaw et EaJd ont été isolées à partir des différentes régions de la Tunisie et ont été identifiées utilisant des méthodes chimiques et moléculaires avec un séquençage complet des six génomes.

Au cours de ce projet et pour la première fois nous avons réussi l'isolement et la caractérisation de six phages filamenteux contre *E. amylovora*. De manière analogue à Ike et M13, ces linéavirus pourraient potentiellement être mis en œuvre comme outils biotechnologiques pour la recherche sur *Erwinia*. De plus, l'application d'un cocktail de phages sur des tranches de poires présente un résultat important qui montre leur potentiel en tant qu'agents de lutte biologique.

L'activité de biocontrôle de cinq isolats bactériens présentant une activité inhibitrice efficace et importante contre les différentes souches Tunisienne du phytopathogène *E. amylovora* a été caractérisée. Ces isolats Sa7, Sa9, Sa10, Sa11 et Sa12 ont été identifiées avec le séquençage génomique complet entant que *Serratia marcescens, Leuconostoc fallax, Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc citreum* et *Bacillus amyloquefaciens spp plantarum* respectivement. L'analyse antiSMASH suggère que *Serratia marcescens* Sa7 et *Bacillus amyloquefaciens* Sa12 possèdent la machinerie biosynthétique pour la production de plusieurs Cluster de peptides synthétases non ribosomiques et de polykétides. Pour la souche Sa7, un total de 13 clusters de gènes biosynthétiques putatifs (BGC) ont été prédits, dont 6 correspondent à des fonctions connues y compris les peptides synthétases non ribosomiques (NRPS) attribuées à la biosynthèse de la prodigiosine, xenotetrapeptide, et rhimozide A/B/C et des polykétide synthases (PKS) codant pour

lankacidine C et le prodigiosine. Pour la souche Sa12, un total de 23 BGC ont été trouvées, dont 11 correspondent à des NRPS attribuées à la biosynthèse de la surfactine, fengycine, plipastatine et bacillibactine et de PKS codant pour bacillaene, macrolactine et difficidine.
L'étude de l'activité antibiofilm a montré que la plupart des souches antagonistes et des phages filamenteux isolées au cours cette étude possèdent une activité antibiofilm contre les trois souches d'*E. amylovora* Ea1, Eaw et Er7 et aussi le cocktail des phages et des bactéries antagonistes présente des activités antibiofilm importantes. Cette activité a été évaluée par un test de pré-traitement (anti-adhésion) et par un test de post-traitement (éradication) du biofilm.

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

Chef du projet : Prof . Lotfi MELLOULI

Résumé des Résultats

I. Développement de nouvelles biomolécules à partir des sources naturelles

I.1. A partir de microorganismes

I.1.1. Bactéries Lactiques

Dans le cadre du programme ANPR-MOBIPOSDOC avec l'industriel VITALAG, nous avons réalisé un criblage de nouvelles bactéries lactiques (LAB) produisant des bactériocines ayant des activités biologiques notamment contre le phytopathogène le champignon *Verticillium dahliae* causant la verticilliose chez l'olivier. Plusieurs LAB ont été isolées et sélectionnées dont la souche YB1 qui a été identifiée comme étant une nouvelle bactérie lactique du genre Leuconostoque. Il a été démontré que l'activité biologique de cette souche est de nature protéique (bactériocine BacYB1) les conditions de production de BacYB1 par la souche YB1 ont été optimisées. Dans une seconde étape, nous avons testé in *vivo* (sous serre) le surnageant bioactif semi purifié de la souche YB1 sur des plantules d'oliviers. Pour ce faire, les plantules d'oliviers ont été 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 (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.

Les résultats obtenus sont intéressants un nouveau contrat ANPR-MOBIPOSTDOC a été engagé (Avril 2022-Mars 2024) avec le même industriel VITALAG

I.1.2. Les Streptomyces

Durant le contrat programme 2019-2022, nous avons poursuivi l'isolement et la sélection de nouvelles bactéries de *Streptomyces* ainsi que la purification et la caractérisation chimique des biomolécules pures de quelques isolats les plus intéressants dont la souche de *Streptomyces* TN638.

La souche d'actinomycète 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*.

I.2. A partir de plantes

1.2.1. *Inula graveolens*

Par analyse GC / MS nous avons identifié 30 composés pour les quatre huiles essentielles (quatre saisons) de cette plante. Nous avons noté une variation surtout quantitative que qualitative en fonction de la saison. Nous avons révélé une présence prédominante d'acétate de bornyle et de bornéol. Les activités biologiques étaient également liées à la saison des récoltes ; par conséquent, IGEO du printemps a donné les meilleurs résultats d'activité antioxydante et IGEO de l'automne semblait être le plus puissant contre les micro-organismes pathogènes, tandis que les huiles d'été et d'hiver étaient les inhibiteurs les plus puissants de l'acétylcholinestérase et de la tyrosinase.

.2.2. *Punica granatum*

Nous avons déterminé les composés phytochimiques: la teneur totale en composés phénoliques (TPC), la teneur totale en flavonoïdes (TFC) et la teneur en anthocyanes totales (TAC) et les activités antibactériennes contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enterica* des écorces de *P. granatum*. Les effets du temps d'extraction (10 à 60 min), de vitesse d'agitation (120 à 180 tr / min) et du rapport solvant / solide (10 à 30) sur le contenu phytochimique et activité antibactérienne ont été déterminés. Les méthodes de la surface de réponse (RSM) et du réseau de neurones artificiels (ANN) ont été utilisées pour l'optimisation. Par rapport aux conditions initiales, TPC, TFC et TAC ont augmenté respectivement de 56,22, 63,47 et 64,6%. D'autre part, le maximum d'activité antibactérienne était supérieur à celui obtenu dans des conditions pré-optimisées. En effet, avec un temps d'extraction de 11 min, une vitesse d'agitation de 125 tr / min et un rapport solvant/solide de 12, la concentration minimale inhibitrice (CMI) inhibitrice de *S. aureus* a diminué de manière remarquable de 1,56 à 0,171 mg / mL. Egalement, nous avons démontré que les modèles ANN étaient meilleurs que le modèle RSM pour prévoir le contenu photochimique et l'activité antibactérienne.

1.2.3. *Ephedra alata*

Concernant cette plante, nous nous sommes intéressés à : (i) étudier l'effet de la distribution géographique des plantes, appartenant à différentes 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.

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).

1.2.4. *Cupressus sempervirens*

L'analyse de l'huile essentielle de cette plante (HECS) définie par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS), a révélé la présence de 27 composés. Les composés majeurs sont α-pinène, δ-3-pinène et le limonène. L'activité antioxydante de (HECS) a été évaluée en mesurant le piégeage des radicaux du DPPH et en utilisant le dosage du 2,2'-azinobis ABTS. La détermination de la concentration inhibitrice à 50% montre que le (HECS) présente une IC50 de l'ordre de 9 µg/mL. Egalement, l'étude des activités antibactériennes *in vitro* de (HECS) a montré une forte inhibition contre tous les microorganismes testés. Les pathogènes les plus sensibles au (HECS) sont *L. monocytogenes* et *S. aureus*.

II. Clusters des voies de biosynthèses de métabolites secondaires biologiquement actifs chez les *Streptomyces*

II.1. Biomolécules de la famille des rhamnopyranosides

Cette étude génétique a été initiée depuis plusieurs années et durant le contrat programme 2019-2022, nous avons démontré que la biosynthèse de ces biomolécules de rhamnopyranosides secrétées par la souche de *Streptopmyces* TN58 n'est pas liée aux gènes glycosyltransférases mais plutôt, cette biosynthèse fait intervenir des aryles transférases. Ce résultat est très original et n'a jamais été décrit. Il s'agit d'aryles-transférases (benzoyles ou phényles transférases) qui seraient responsables du transfert du groupement aryle (benzoyle ou phényle) sur le rhamnose, ces enzymes auraient comme substrat le benzoyle-CoA ou phényl/ acétyl-CoA. L'activation du substrat pourrait être réalisée par une benzoyle-CoA ligase ou une phényl/acétyl-CoA ligase. Un génome mining de *Streptomyces* sp.TN58 a permis d'identifier quelques gènes candidats. Particulièrement un gène appelé *orf0054* codant une phényle-acétyle CoA ligase putative a été retenu. L'inactivation de ce gène ne permet plus à la souche de produire les molécules d'acyle-rhamnopyranosides.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1. Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture en 2022:

1. Sawssen Hajji, et al. Development of Nanocomposite Films Based on Chitosan and Gelatin Loaded with Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles: Antioxidant Potentials and Applications in Wound Healing. Journal of Polymers and the Environment. (2022).
2. Sahnoun M., et al. Highlight on mutations affecting the US132 cyclodextrin glucanotransferase binding specificity, thermal stability, and anti-staling activity. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces ,212, 112375.
3. Ameri R, et al. Genome sequence and Carbohydrate Active Enzymes (CAZymes) repertoire of the thermophilic Caldicoprobacter algeriensis TH7C1^{T}. Microb Cell Fact. 2022 May 21;21(1):91.
4. Sondes Mechri, et al. Anti-biofilm, antioxidant and cytotoxic potential of F5, a peptide derived from waste generated during the processing of the white shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricius, 1798). *Waste & Biomass Valorization* 13 (2022) 3233-3244.
5. Sondes Mechri, et al. A Taguchi design approach for the enhancement of a detergent-biocompatible alkaline thermostable protease production by *Streptomyces mutabilis* TN-X30. *Journal of Surfactants & Detergents* 25 (2022) 487-504.
6. Fadoua Jabeur, et al. Extraction and characterization of chitin, chitosan, and protein hydrolysate from the invasive Pacific blue crab, *Portunus segnis* (Forskål, 1775) having potential biological activities. *Environmental Science & Pollution Research* 29 (2022) 36023–36039.

7. Fakher Kamounet al. Multiple regression models to simulate spore yields of *Bacillus amyloliquefaciens* BS13 through optimization of medium composition. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. In press (2022) 1-12.
8. Sidali Kourdali, et al. An ecotoxicological approach for assessing marine pollution: Comparative study of multi-responses of marine mussels, My*tilus galloprovincialis* and *Perna perna*, exposed to pollutant heavy metals (copper and lead). *Regional Studies in Marine Science* 52, (2022), 102334.
9. Fadia Ben Taheur, et al. Does probiotic Kefir reduce dyslipidemia, hematological disorders and oxidative stress induced by zearalenone toxicity in wistar rats? *Toxicon: X* 14 (2022) 100121.
10. Fadia Ben Taheur, et al. Protective effects of dietary Kefir against aflatoxin B1-induced hepatotoxicity in Nile tilapia fish, *Oreochromis niloticus*. *Food Science and Nutrition.* In Press 2022.
11. Houssam Abouloifa, et al. Bio-preservation effect of probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* S61 Against *Rhodotorula glutinis* and *Listeria monocytogenes* in poultry meat. *Current Microbiology* 79(8) (2022) 232
12. Fakhreddine Ben Amara et al. Valorization of potato peels starch for efficient β-cyclodextrin production and purification through an eco-friendly process. *Current Microbiology* (2022) 2200037 (1 of 8).
13. Rihab Ameri, et al. Genome sequence and Carbohydrate Active Enzymes (CAZymes) repertoire of the thermophilic *Caldicoprobacter algeriensis* TH7C1^{T}. *Microbial Cell Factories* 21(1) (2022) 91.
14. Karim Ennouri et al. Chemometric Multivariate Analyses of Kernel Biometric Techniques and Shell Morphological Attributes for Analyzing Pistacia vera L. Genotypes Variability. Erwerbs-Obstbau (2022).
15. Sarra Akermi, et al. Cupressus sempervirens Essential Oil: Exploring the Antibacterial Multitarget Mechanisms, Chemcomputational Toxicity Prediction, and Safety Assessment in Zebrafish Embryos. Molecules (2022), 27, 2630.
16. Lamia Boubakri, et al. Ruthenium(II) complexes bearing benzimidazole-based N-heterocyclic carbene (NHC) ligands as potential antimicrobial, antioxidant, enzyme inhibition, and antiproliferative agents. Journal of Coordination Chemistry, DOI: 10.1080/00958972.2022.2060745
17. Sonda Sametet al. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Erodium arborescens Aerial Part Extracts and Characterization by LC-HESI-MS2 of Its Acetone Extract. Molecules (2022), 27, 4399
18. Sarra Akermi, et al. In-Depth Study of Thymus vulgaris Essential Oil: Towards Understanding the Antibacterial Target Mechanism and Toxicological and Pharmacological Aspects. BioMed Research International Volume 2022,
19. Akremi, Ismahen, et al. "Isolation and Characterization of Lytic *Pseudomonas aeruginosa* Bacteriophages Isolated from Sewage Samples from Tunisia" *Viruses* 14, no. 11: 2339.
20. Jlidi Mouna, et al.. .Probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from the gastrointestinal tract against pathogenic Vibriosis Frontiers in Marine Science, 9, 2022.URL
21. Hadj Brahim, et al. "Biopriming of Durum Wheat Seeds with Endophytic Diazotrophic Bacteria Enhances Tolerance to Fusarium Head Blight and Salinity" *Microorganisms* 10, no. 5: 970.
22. Houssam Abouloifa, et al. Ennouamane Saalaoui & Abdeslam Asehraou. Bio-preservation effect of probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* S61 Against *Rhodotorula glutinis* and *Listeria monocytogenes* in poultry meat. *Current Microbiology* 79(8) (2022) 232.
23. Ameni Dammak et al. Antioxidant and Antibacterial Activities of a Purified Polysaccharide Extracted from *Ceratonia siliqua L.* and Its Involvement in the Enhancement Performance of Whipped Cream. *Separations 2022, 9, 117.*
24. Anis Ben Hsouna, et al . Antioxidant and hepatoprotective effects of novel heteropolysaccharide isolated from Lobularia maritima on CCl4-induced liver injury in rats. Food Science Nutrition. 2022 Apr 4;10(7):2271-2284. doi: 10.1002/fsn3.2836

25. Sirine Ben Slima et al . Antioxidant activities, functional properties, and application of a novel Lepidium sativum polysaccharide in the formulation of cake. Food Science Nutrition. 2022;10:822–832
26. Sirine Ben Slima et al. Extraction, Characterization, and Structure of a Novel Heteropolysaccharide from Lepidium sativum and Its Effects on Wound Healing in Diabetic Rats. BioMed Research International. 23;2022:7858865.
27. Houssam Abouloifa et al. Characterization of antimicrobial compounds obtained from the potential probiotic Lactiplantibacillus plantarum S61 and their application as a biopreservativ. 53(3):1501-1513.doi: 10.1007/s42770-022-00791-5.
28. Aicha Chouikhi, et al. A novel probiotic strain, Lactiplantibacillus plantarum LC38, isolated from Tunisian camel milk promoting wound healing in Wistar diabetic rats. Archives of Microbiology (2022) 204:24.

3. Chapitre dans un ouvrage :

Slim Smaoui, Hajer Ben Hlima, Loleny Tavares, Olfa Ben Braïek, Karim Ennouri, Slim Abdelkafi Lotfi Mellouli, Amin Mousavi Khaneghah (2022). Review: Application of eco-friendly active films and coatings based on natural antioxidant in meat products: A review. Progress in Organic Coating 166 (2022) 106780. doi.org/10.1016/j.porgcoat.2022.106780

4. Acte de conférences/ colloque : *Néant*

4. Brevets d'invention nationaux : Néant

FORMATION DIPLOMANTE

- **Thèses de doctorat soutenues :**

  Fakhreddine BEN AMARA Production des β-cyclodextrines par la cyclodextrine glucanotransférase US132 et génération de nanoparticules à base de cyclodextrines comme vecteurs d'encapsulation des molécules bioactives (FSS : Thèse en Sciences Biologiques : Date de soutenance en Septembre 2022)..
- **Mastères soutenus : *Néant***
- **Projets de Fin d'Etudes soutenus :** (Aucun projet de Fin d'Etude pour l'année 2022).

SEMINAIRES, ATELIERS ET JOURNEES

- Organisation des Journées Internationale de Biotechnologie (JIB 2022) de l'Association Tunisienne de Biotechnologie (A.T.Biotech.) ; du 19 au 22 Décembre 2022 à Hammamet, TUNISIE.
- Organisation d'un cours ICGEB Genomics/Metagenomics and NGS approaches for discovering new enzymes useful for industrial applications du 1 au 23 June 2022

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

- MOBIDOC-POSTDOC : (***Dr. Fatma ELGHARBI***); *intitulé* «Montage d'une startup pour la production d'enzyme comme additif alimentaire en alimentation animale ».
- Programme National de Promotion de l'Innovation Technologique « **PNRI** Dégraissage-Reverdissage » 2017-2022/CNCC-CBS-ENIS
- 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)

- Projet de Programme d'Encouragement des Jeunes Chercheurs PEJC, 2ème Edition (2019), ***Dr Nadia ZARAI***
- Projet PEJC (2019) ***Dr Slim SMAOUI***
- Convention de coopération de recherche scientifique entre le LBMIE-CBS et la Faculté de Pharmacie de Monastir à l'Université de Monsatir 2021-2023
- Convention de coopération de recherche scientifique entre le LBMIE-CBS, l'UVRR-CBS et la Société Tunisienne de Savon et Produits Détergents (**STSPD**) 2022-2023
- Convention de coopération de recherche scientifique entre le LBMIE-CBS, l'UVRR-CBS et la Société de produits de détergents et d'Entretiens (**CHIMI-DET**) 2021-2022
- Convention de coopération de recherche scientifique entre le LBMIE, le CBS et la startup **Astrum Biotech** 2021-2023

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1. Horizon Europe Framework Programme (HORIZON) (HORIZON) - Call: HORIZON-WIDERA-2021-ACCESS-03-01: Twinning, Project: 101079425 — **NGS-4-ECOPROD**
2. Projet Multilatéral de Partenariats Hubert Curien (PHC)-Maghreb Transversal 2020 Program (**FranMaghZYM** 2020-2023), code Campus France : 43791TM & code PHC : 01MAG20
3. 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
4. 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**
5. Projet **Tuniso/Algérien** : 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

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

Nom et Prénom	*Qualité*	*Nom et Prénom*	*Qualité*
Saber Masmoudi	Professeur/Directeur du Laboratoire	Jihéne Elloumi	Post-doc
Ahmed Rebai	Professeur	Rihab Kallel	Post-doc
Mohamed Sami Aifa	Professeur	Faten Rmida	Post-doc
Manel Turki	Professeur/CHU Hedi Chaker	Sabrine BelMabrouk	Post-doc
Najla Kharrat	Maitre de Conférences	Rania Abdelhedi	Post-doc
Nacim Louhichi	Maitre de Conférences	Hela Gargouri	Post-doc
Sami Mnif	Maitre de Conférences	Amal Bouzid	Post-doc
Mariem Ben Said	Maitre assistant	Mariem Ayedi	Post-doc
Mohamed Ali Mosrati	Maitre assistant	Fériel Bouzid	Post-doc
Dorra Driss	Maitre assistant	Marwa Jardak	Post-doc
Adel Tekari	Maitre assistant	Smeti Ibtihel	Post-doc
Imen Ayedi	Maitre assistant/FSS	Abdelli Faten	Post-doc
Boutheina Cherif	Maitre assistant/ISBS	Hana Triki	En thése
Benrebeh Imen	Maitre assistant/IPEIG	Amal Souissi	En thése
Soumaya Triki	Maitre assistant	Ikhlass Ben Ayed	En thése
Bochra Mellouli	Ingénieur	Nadia Ayadi	En thése
Riadh Ben Marzoug	Ingénieur	Marwa Ghariani	En thése
Nesrine Triki	Enseigant informatique	Dhouha Msalbi	En thése
Salma Zouari	Technicienne	Ameni Chelly	En thése
Fida Jbeli	Technicienne	Awatef Sallah	En thése
Monia Mlaouh	Secrétaire de Laboratoire	Imen Gtif	En thése
Rayda Ben Ayed	Post-doc	Syrine Nebli	En thése

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, Prof. Manel Turki Bouzguinda, 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

Notre activité de recherche dans le cadre de ce projet a concerné au moins 4 actions dont nous décrivons, dans ce qui suit, l'avancement de l'activité de chacune.

Ciblage des voies de signalisation impliquées dans la multirésistance microbienne (cas des biofilms)

- **Etude du pouvoir filmogène de souches microbiennes (*Pseudomonas aeruginosa*) isolées à partir d'un environnement hospitalier et développement de stratégies de contrôle**

La formation de biofilms et la production de certains facteurs de virulence ont été évaluées chez 33 souches bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de plusieurs sites d'environnements hospitaliers. Parmi ces souches, 13 ont été sélectionnées comme formatrices de biofilm et les résultats ont montré que généralement l'addition du glucose dans le milieu de culture améliore la capacité de formation du biofilm. L'étude de la production des facteurs de virulence des 13 souches filmogènes sélectionnées montre des résultats assez proches avec la production de pyocyanine, de rhamnolipide,de lasA (staphylolytique), alors que la production d'EPS et les test de motilité ont montré des profils assez variables. Suite à ce travail, un bon modèle d'étude a été sélectionné et représenté par la souche 2529. La deuxième partie du travail a été consacrée à l'étude des activités anti-biofilm (principalement l'activité antiadhésive) de quelques ionophores pures et de leurs produits commercialisés (monensin et narasin) sur les 2 modèles *Staphylococcus aureus* Gram+ et *Pseudomonas aeruginosa* Gram-. Ces anticoccidiens ont montré des activités antiadhésives plus importantes contre la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* dépassant les 70%.

- **Comparaison entre deux souches de *Staphylococcus* coagulase + et coagulase - en relation avec la résistance aux antibiotiques, la formation et le contrôle de biofilms**

Cette partie du travail vise à comparer l'effet de certaines molécules bioactives contre les biofilms microbiens, et à analyser l'expression protéique chez les bactéries planctoniques vs sessiles de deux souches de *Staphylococcus*. Ces deux souches filmogènes sont affiliées à deux espèces différentes : *S. aureus* SARM (Staph dorée coagulase +) et *S. epidermidis* S61 (Staph blanche, coagulase -). Les antibiogrammes réalisés contre les 2 souches montrent que la souche *S. epidermidis* est généralement plus sensible à la majorité des antibiotiques. L'évaluation des activités anti-biofilm de 4 HE (huiles essentielles) montre des activités antiadhésives qui peuvent atteindre 60% (l'HE de MP à concentration 3,12µl/ml), et des activités d'éradication de 80% (l'HE de GB et MP à 3,12 µl/ml) contre le biofilm de *S. aureus* SARM. Le lysozyme à forte concentration favorise l'agrégation cellulaire, alors qu'avec des concentrations plus faibles il a montré une activité anti-biofilm modérée. La trypsine a montré une activité d'éradication importante de 100% contre le biofilm de SARM et une activité plus faible contre le biofilm *S. epidermidis* S61. Finalement, des analyses électrophorétiques ont été réalisées afin de comparer le profil protéique à l'état planctonique et l'état biofilm au sein d'une même souche, ainsi que la comparaison entre les deux souches modèles. Des bandes protéiques spécifiques aux biofilms peuvent être décelées et nécessitent une identification ultérieure par spectrométrie de masse. D'autre part, la synthèse de la staphyloxanthine par SARM a été inhibée en présence de l'HE GB à une concentration de CMI/2. L'activité a été confirmée *in vitro* et *in silico* par modélisation et amarrage moléculaire avec la CrTM.

- **Mise en évidence de l'activité QSI (inhibiteur du quorum sensing) d'une molécule de la famille des phénylpropènes contre la souche de *Serratia* sp.**

Le genre *Serratia* est communément considéré comme genre comportant des agents pathogènes opportunistes et qui sont souvent associés à des infections nosocomiales. En plus de sa haute résistance aux antibiotiques, il présente un large éventail de facteurs de virulence qui lui confèrent sa pathogénicité. Le quorum sensing (QS) peut être ciblé comme une option thérapeutique pour le traitement de telles infections, car il régule l'expression de différents facteurs de virulence de *Serratia*, particulièrement *S. marcescens*. L'inhibition du QS et le blocage de certaines voies de signalisation peuvent priver *Serratia marcescens* de sa virulence bactérienne sans exercer de stress sur la croissance bactérienne et facilite l'éradication de la bactérie par immunité. Dans cette étude, une molécule de la famille des phénylpropènes est étudiée pour ses propriétés antibactériennes et anti-virulentes contre *Serratia* sp.. Les résultats de cette étude ont montré que cette molécule pouvait inhiber la croissance de *Serratia* à une valeur de CMI de 2,5 µl/ml. Des concentrations sous-inhibitrices de cette molécule pourraient inhiber la formation de biofilm (activités antiadhésives et d'éradication), réduire la production de prodigiosine et bloquer significativement l'activité protéolytique. De plus, la présence de cette molécule a diminué la motilité de nage et d'essaimage (swimming et swarming motility). Cette étude a démontré par modélisation moléculaire et amarrage que cette molécule inhibait la formation de biofilm et la production de facteurs de virulence chez *Serratia* en se liant au récepteur de type *luxR* et en bloquant ainsi la formation du complexe *AHL-luxR*.
Durant l'année 2022, nous avons continué le travail de collaboration sur les nanopoudres de CuO dopées et non-dopées pour des applications antibactériennes et antiadhésives en relation avec le domaine médical.

Ciblage des voies de signalisation en cancer :

De nombreuses méthodes ont été développées pour l'authentification des lignées cellulaires allant de l'analyse enzymatique à l'analyse moléculaire qui pourrait être coûteuse. Durant cette année nous avons pu présenter une alternative chimique simple basée sur la cytotoxicité de composés connus sur les cellules. En plus du cisplatine, un pool de 8 composés dérivés du tamoxifène a été utilisé pour comparer les effets cytotoxiques sur trois lignées cellulaires différentes de cancer du sein : MCF-7, T47D et MDA-MB-231.
Nos résultats ont montré que la moitié des composés apparentés aux cytotoxiques distinguent les différentes lignées cellulaires grâce à des valeurs de CI50 (concentration inhibitrice moitié maximale) dépendantes du type de cellule. Les produits chimiques restants, en particulier le P15 le plus cytotoxique, ont des valeurs IC50 proches sur toutes les lignées cellulaires. Fait intéressant, les expériences de cytométrie en flux ont identifié des différences claires entre les 3 lignées cellulaires traitées avec P15.

En fait, les cellules T47D ont été bloquées en phase SubG1 et les cellules MDA-MB231 en phase S, tandis que les cellules MCF-7 n'ont pas de changement significatif dans le profil du cycle cellulaire. Des différences ont également été remarquées au niveau de l'activité de la caspase-3 et de la prolifération cellulaire dans les cellules traitées avec P15 (Msalbi et al. 3 Biotech. 2022 Mar;12(3):78. doi: 10.1007/s13205-022-03144-z).

Dans un autre volet, nos collaborateurs chimistes de la Faculté des Sciences de Sfax ont synthétisé dix nouvelles molécules 3-benzyl-5-aryl-3,5-dihydro-4H-benzo[6,7] chroméno[2,3-d]pyrimidin-4,6,11-triones 3 substituées différemment. Tous les nouveaux composés ont été criblés dans notre laboratoire pour leur activité antiproliférative contre deux lignées cellulaires de cancer colorectal. Les résultats ont montré que les composés 3-benzyl-5-phényl-3,5-dihydro-4H-benzo [6,7] chroméno[2,3-d] pyrimidine-4,6,11-trione (3a) et 3- benzyl-5-(3-hydroxyphényl) -3,5-dihydro-4H-benzo[6,7]chroméno[2,3-d]pyrimidine-4,6,11-trione (3g) ont présenté la plus puissante activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses humaines LoVo et HCT-116 (*Molecules* **2022**, *27*(22), 7878; https://doi.org/10.3390/molecules27227878).

Repositionnement médicamenteux en otospongiose : Au cours de la dernière année du **contrat programme**, nous avons montré à travers des **études génétiques et épigénétiques** l'implication du système de signalisation **RANKL/RANK/OPG** (RANKL – receptor activator of nuclear κ B ligand) dans la maladie de l'OTSC. Ces résultats soutiennent la proposition du denosumab comme traitement de l'otospongiose. Le **denosumab** est un **anticorps monoclonal qui se lie spécifiquement RANKL**, ce qui empêche son interaction avec le récepteur RANK sur les cellules de la lignée ostéoclastique. Actuellement, le denosumab est utilisé comme **médicament contre l'ostéoporose et les métastases osseuses**, et présentés en solution pour injection sous-cutanée.

Par ailleurs, nous avons effectués quelques tests préliminaires pour l'**extraction** des cellules d'origine osteoblastiques à partir des étriers de cadavres (post-mortem) et des étries OTSC fournis par nos collaborateurs en **ORL de l'hôpital régional Tahar Sfar de Mahdia**. Ces étriers ont été mises en cultures (à base de DMEM, 10% FBS et 1% PS). Les essais ont été effectués mais on n'a pas encore une forte preuve d'excroissance de ces cellules en culture.

En ce moment, on continue nos **efforts** en augmentant le nombre des étriers et d'essayer des **protocoles d'extraction alternatives** comme la digestion enzymatique du tissue. Ces ostéoblastes pourraient être **utilisés** comme un **modèle *in vitro*** plus tard, en parallèle des **essais cliniques** avec denosumab sur les patients atteints par OTSC, pour le test de **repositionnement médicamenteux** en otospongiose en ciblant le système de signalisation RANKL/RANK/OPG.

Amélioration de la biodisponibilité de la L-Dopa dans la maladie de Parkinson :
Au cours de cette année on a pu mettre en évidence l´activité potentielle de la COMT2 comme étant une enzyme catécholamine-o-métyltransférase *in silico* essentiellement de la modélisation moléculaire. Nous avons réussi á créer notre propre modèle correspondant à la protéine LRTOMT ou COMT2 qui est formé par 7 feuillets β et 8 hélices α. Nous avons pu détecter une différence remarquable entre les deux sites catalytiques au niveau de la triade catalytique D141K144N170 et D203K79E97 respectivement malgré une homologie supérieure à 80% entre les deux protéines.
Nous avons pu confirmer que la L-DOPA est un substrat de COMT2 via la modélisation et l'amarrage moléculaire et de montrer l'interaction d'un des inhibiteurs médicamenteux avec la COMT2. Une étape de dynamique moléculaire est en cour. D'autres inhibiteurs seront sélectionnés et proposés pour améliorer la biodisponibilité de la L-Dopa dans le cerveau de malades Parkinsoniens.

En parallèle nous avons exprimé la COMT chez la souche de levure *Pichia Pastoris* X33. Des séries de travaux de biochimie sont en cour de réalisation pour confirmer nos résultats in silico.

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 (Maitre de conférences)

Membres impliqués : Prof. Ahmed Rebai, Prof. Saber Masmoudi, Manel Turki Bouzguenda (PA), Mariem Ben Said (MA), Boutheina Hammami-Cherif (MA), Fériel Bouzid (AC), Rihab BouattourKallel (PostDoc), Amal Bouzid (PostDoc), Rania Abdelhedi (PostDoc), Ben Marzoug Riadh (Ing.)
Doctorants mobilisés : Ikhlas Ben Ayed, Amal Souissi, Imen GTIF, Awatef SALLAH et Hana Triki.

Mise en place d'un pipeline de criblage bioinformatique pour le développement de nouveaux panels de gènes candidats / le microbiome salivaire : 16S ADNr signature pathologique chez les coronariens

Au cours de l'année2022 du contrat programme, nous avons 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 révision visant à modéliser l'évolution de la maladie coronarienne en fonction du niveau d'adhésion au régime méditerranéen. Par ailleurs, nous avons aussi commencé l'étude de l'insuffisance cardiaque par une synthèse bibliographique générale sur la maladie d'insuffisance cardiaque. A ce propos, un article de revue dans le journal *Archives of_Cardiovascular Diseases* a été publié et intitulé : « Heart failure disease: An African perspective L'insuffisance cardiaque : une perspective africaine ». Nous avons également procédé à une étude de survie pour un échantillon de 116 malades atteints d'insuffisance cardiaque. Des facteurs cliniques et biologiques ont été étudiés et corrélés avec la sévérité de la maladie. Trois modèles statistiques ont été développés (Régression logistique, XGBoost et le Random Forrest) afin de prédire la mortalité chez ces patients. Une collaboration avec le Centre numérique de Sfax, nous a permis de développer une interface de prédiction du score de sévérité de l'insuffisance cardiaque en Tunisie. Ce travail a fait l'objet d'un article dans le journal Front Cardiovasc et intitulé : « Oxidative stress markers-driven prognostic model to predict post-discharge mortality in heart failure with reduced ejection fraction ».

D'autre part, nous avons entamé la Mise en place d'un pipeline de criblage bioinformatique pour le développement de nouveaux panels de gènes candidats de la maladie cardiovasculaire en tenant compte de la littérature, des études d'association (GWAS), d'expression (GEO) et des réseaux d'interaction protéine-protéine. La mise en place du pipeline, nous a permis de cribler 84 pathologies cardiaques et d'identifier les panels de gènes incriminés dans ce genre de pathologies. Les gènes ont été prioritisés selon le degré de leur interaction protéique et ainsi nous avons pu identifier ces hubs gènes. Par ailleurs, les facteurs de transcription, les miRNA, les médicaments reliés à ces différentes pathologies ont été aussi identifiés. Ce travail est en cours de rédaction. Une autre approche sera testée, cette dernière se basera sur le principe de la similarité ontologique comme mesure, afin d'identifier les réseaux biologiques (de régulation, de signalisation, métabolique, ...) communs impliqués dans ces 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. De 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.

Au cours de l'année 2022, nous avons pu mettre en évidence, grâce à des méthodes statistiques avancées, l'implication du Genre Eikienella dans le développement de l'athérosclérose.

A ce propos, ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal Bioscience Report journal, intitulé : « A potential oral microbiome signature associated with coronary artery disease in Tunisia ». De plus, nous avons pu augmenter notre échantillon de 12 autres individus sains. L'ensemble a été réanalysé de nouveau par deux pipelines d'analyse (QIIME2.2020.8 et MOTHUR). 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. Un article à ce propos est en cours de révision. Dans ce cadre ; un projet Mobi-POSTDOC en partenariat avec l'entreprise OLABO, est en cours. Ce dernier vise à développer un outil moléculaire d'aide au diagnostic précoce pour prédire la progression de la parodontite et prévenir ses éventuelles complications cardiovasculaires.

Élargissement du panel de kits de séquençage haut débit

Nous avons réussi à **répondre aux besoins de nos collaborateurs** en termes de diagnostic moléculaire de pathologies génétiques très hétérogènes sur le plan génétique et phénotypique ou dissection de la basse génétique de maladies complexes par **le développent de kits de séquençage haut débit (SHD).** Cette action a été réalisée dans le cadre de trois projets :

Un projet de recherche fédéré national PRF2019-D3P3 intitulé « Reconnaissance faciale pour orienter la génomique et le diagnostic des dysmorphies en Tunisie (FGDYS) » cordonné par notre équipe. Au cours de l'année 2022 ; nous avons **développé un nouveau kit de SHD permettant de cribler une centaine de gènes** impliqués des syndromes génétiques dysmorphiques responsables de **mortalité infantile et d'handicap moteur et congnitif**. Notre expertise cumulée au cours des années dans le domaine de SHD nous a permis d'obtenir des **résultats satisfaisants avec un taux de diagnostic dépassant les 60**%. Comme retombés directs de nos résultats, nous avons réussi à :

- **Améliorer la qualité de soins** en termes **de prise en charge, conseil génétique et prévention** pour des patients/familles suivis pendant plusieurs années et **diminuer les retombés socioéconomiques** lourdes de ces pathologies.
- **Booster l'expertise de nos partenaires socioéconomiques dans le domaine de la santé** par la confirmation génétique de plus de 80 nouveaux cas pour divers syndromes dysmorphiques.
- **Offrir l'opportunité** à nos chercheurs et à nos collaborateurs pour intégrer une **recherche basée sur le numérique** par le développement d'application basée sur l'intelligence artificielle pour assister les cliniciens dans le diagnostic des syndromes dysmorphiques (cette action est développée dans le projet 3 de ce contrat programme) et par le développement d'une base de données pour mieux exploiter et valoriser les données générées par le SHD
- **Elargir notre collaboration avec des experts nationaux et internationaux** pour améliorer la qualité de recherche axée sur l'exploration génomique et les applications numériques des pathologies génétiques.
- **Augmenter la visibilité nationale et internationale de notre équipe ainsi que de nos collaborateurs** par la dissémination des résultats des travaux de recherche au cours des manifestations scientifiques et par la publication des résultats obtenus :
    - ✓ **Un papier publié** (et trois autres articles en cours de soumission) intitulé: Genetic diagnosis in Sudanese and Tunisian families with syndromic intellectual disability through exome sequencing'' Ann Hum Genet. 2022 Jul;86(4):181-194. doi: 10.1111/ahg.12460. Epub 2022 Feb 3.
    - ✓ **Organisation d'une session satellite au cours du congrès ESBM 2022** (Fifth Internatinal Conference Engineering Sciences on Biology and Medicine'' October 21-23, 2022, Hotel of El Mouradi Palm Marina - Sousse-Tunisie) pour disséminer les résultats de notre action A2. réalisée au cours du projet PRF-FGDYS à travers une conféence intitulée «Diagnostic yield of custom targeted

gene panel –based genetic testing in dysmorphic syndromes: first Tunisian cohort>>.

- ✓ **Une communication au cours du congré ESHG 2022** (European Society of Human Genetics conference, Vienna, Austria 2022) intitulé: The c.1274_1277dupTATC variant causing Tay-Sachs disease in Tunisian family: a case report.

- **Participation à d'autres projets de recherche nationaux** organisés par la direction générale de la recherche scientifique (dépôt d'un projet pour le Programme d'Encouragement d'Excellence Scientifique P2ES, 3émeEdition (2022) intitulé Génomique structurale et fonctionnelle de la Déficience Intellectuelle) et **des projets internationaux** à savoir **un projet twinning NGS-4-ECOPROD** (From next generation sequencing microorganisms towards ecofriendly biotech-based products) porté par le centre de Biotechnologie de Sfax et dont notre laboratoire fait partie.

Un projet Européen H2020- WIDESPREAD-03-2018 intitulé 'Strengthening the Sfax university Expertise for Diagnosis and management of Epileptic Encephalopathies (SEED)'. Ce projet est le fruit d'une collaboration étroite et solide de notre équipe avec nos partenaires nationaux dans le domaine de **SHD** et une opportunité pour profiter de l'**expertise internationale** de nos partenaires européens renommés dans le domaine de la génétique **des encéphalopathies épileptiques (EE)** qui **posent un problème de santé publique sur le plan diagnostique, thérapeutique et théranostique**. Au cours de l'année 2022, notre équipe a assuré l'exploration **d'une série de 85 patients par un kit de SHD que notre équipe a développé** permettant d'explorer 116 gènes impliquées dans les encéphalopathies développementales et épileptiques (EDE). **Deux workshops ont été réalisés** dans le cadre du projet SEED en collaborations avec nos partenaires français de l'équipe de AMU (Next Generation Sequencing Data Analysis in "real life" Semptemre 2022-CBS et "Practical aspects of using UCSC Genome Browser for analysis of genetic data en mode distanciel). Ces deux workshops étaient une opportunité à notre équipe pour approfondir son expertise dans l'analyse des données du SHD et approfondir la connaissance des chercheurs de l'équipe dans l'interprétation des variants. L'analyse des données de notre panel SEED, en collaboration avec nos partenaires nationaux et internationaux, ont permis d'atteindre **un taux de diagnostic positif dépassant les 40%.** Nous avons réussi à **aider nos collaborateurs cliniciens** à améliorer la classification phénotypique de leurs patients, à **adapter leurs stratégies thérapeutiques** offrant ainsi à leurs patients une meilleure prise en charge. **Ces résultats sont en cours de valorisation** (trois papiers soumis et dont **un est déjà accepté** intitulé Functional analysis of p.Arg507Trp variant of PIGT gene supporting the moderate epilepsy phenotype of mutations in the C-terminal region.", Frontiers in Neurology DOI: 10.3389/fneur.2023.1092887).
Ce travail, qui représente la première grande série de patients EDE explorée sur le plan génétique dans le Nord Afrique, a permis à notre équipe de se positionner comme un leader dans la région MENA dans l'exploration génétique des EDE. Dans l'horizon d'une **meilleure valorisation et dissémination,** ces résultats ont été présentés au cours des deux Summer Courses réalisés dans le cadre du projet SEED et impliquant des participants du Magreb de l'Afrique. Pour garantir la pérennité de ces résultats, notre équipe a **intégré le nouveau consortium** qui a été créé dans le cadre du projet Twinning : **SEED-EMR** qui englobent des pays de l'Afrique et du moyen Orient (Tunisie. Maroc, Egypte, Mauritanie, Tchad, Arabie Saoudite, Belgique).

Un projet national d'Encouragement des jeunes chercheurs 20-PEJC 05-13 intitulé : 'Développement d'un kit à haut débit pour l'aide au diagnostic de maladies neurologiques dans la population Tunisienne ' : Ce projet a été renforcé par le projet européen SEED. Le kit de SHD développé durant ce projet est celui pour le criblage des EDE chez 24 patients tunisiens présentant différentes formes de EDE. Un article valorisant ces résultats intitulé 'Customized targeted massively parallel sequencing enables identification of novel pathogenic variants in Tunisian patients with Developmental and Epileptic Encephalopathy' a été soumis. De plus, une communication par Poster a été acceptée en Décembre 2022 lors du 32éme Congrès de la Société Francaise de Neurologie Pédiatrique.

De même, au cours de l'année 2022, nous avons réussi à valoriser les résultats déjà obtenus au cours de l'année précédente par la publication de quatre articles intitulés :

-Molecular insights into MYO3A kinase domain variants explain variability in both severity and progression of DFNB30 hearing impairment. J Biomol Struct Dyn. 2022;40(21):10940-10951. doi: 10.1080/07391102.2021.1953600. Epub 2021 Aug 23.
-A Tunisian patient with CLCN2-related leukoencephalopathy. Clin Case Rep. 2022 Dec 26;10(12): e6737. doi: 10.1002/ccr3.6737. eCollection 2022 Dec.
-Custom Next Generation Sequencing Identifies Novel Mutations Expanding the Molecular and clinical spectrum of isolated Hearing Impairment or along with defects of the retina, the thyroid and the kidneys Mol Genet Genomic Med. 2022 Jan 8:e1868
- Functional characterization of *MLH1* missense variants unveils mechanisms of pathogenicity and clarifies role in cancer.2022.PlosOne.
En conclusion, les travaux de recherche réalisés à travers cette action nous a permis de consolider notre position comme leader dans le domaine des technologies haut débit et **d'intégrer le projet Genome Tunisia (GTCA : Genome Tunisia Collaborative Alliance)** qui est une alliance nationale de plusieurs institutions et structures de recherche qui visent à renforcer la chaîne allant de l'exploration des pathologies jusqu'au bénéfice thérapeutique pour le patient et intégrer un nouveau domaine de recherche **à savoir la médecine génomique** qui va révolutionner le parcours de soin des patients et offrir de nouvelles opportunités dans le développement de solutions biotechnologiques

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 (Maitre de Conférences) , 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

Base de données de variants génomiques de la population tunisienne : La performance de notre équipe dans l'utilisation des techniques de séquençage haut débit pendant une décennie et la grande masse de données accumulée par plusieurs projets nous ont motivé pour développer notre propre base de données de variants génomiques de la population tunisienne afin de valoriser tout d'abord ces informations et ensuite d'améliorer nos compétences dans les aspects de gestion et exploitation des données (stockage, transfert, compression, sécurisation, interprétation…).
Ainsi, durant la première année du contrat programme en cours, nous avons mis en place une base de données NOSQL adaptée aux contraintes Big Data et accessible via une interface web sécurisée. Cette application web comporte plusieurs modules de filtration permettant de retrouver les variants uniques (présents chez un seul individu), les variants partagés ou communs entre individus. Un module de fréquence permet d'extraire les variants de type SNP pour un groupe ou des sous-groupes d'individus et de déterminer leurs fréquences génotypique et allélique par rapport à la base de données ou encore d'extraire une liste de variants pour une région génomique d'intérêt par rapport à un groupe ou un sous-groupe d'individus. Durant la dernière année d'autres modules et options ont été ajoutées :

- Recherche des variants (SNPs) par le code 'rs', par une étendue de fréquences alléliques dans différentes populations (à partir des bases internationales comme gnomAD, 1000 Genome, etc.)
- Visualisation des fréquences alléliques des variants afin de comparer la distribution allélique de nos variants par rapport aux autres populations.
- Accès authentifié à la base permettant aussi à l'administrateur ou un utilisateur authentifié (et validé par l'administrateur) de : supprimer un ou plusieurs profils Ajouter des statistiques intéressantes comme le nombre total de variants ou de SNPs.

L'application web est maintenant déployée et accessible via le serveur du laboratoire en phase de test et de validation.

Caractérisation par la génomique des caractères visibles du visage et de la dysmorphie faciale

Mise à part le **projet PRF2019-D3P3-** FGDYS**,** cette action est supportée par un autre projet à **PAQ-Collabora intitulé KAFSS «** Kits moléculaires et applications numériques de prédiction faciale et de dysmorphies à **visée sécuritaire et en santé »** qui vise à acquérir de l'expertise dans le domaine de développement d'outils moléculaires et numériques d'analyse faciale afin d'améliorer l'identification de personnes pour des applications en sécurité et d'orienter le diagnostic médical de syndromes génétiques en Tunisie. Les résultats obtenus à travers l'action A.2 du projet 2 nous ont permis d'avancer dans la réalisation de l'action 3 de ce projet en partenariat avec notre collaborateur expert dans le domaine des systèmes intelligents et du Machine Learning (équipe ReGIM-Lab de l'ENIS). En effet, nos résultats de SHD ont aidé nos collaborateurs généticiens cliniciens à évaluer la performance et la spécificité de la première version du système développé par l'équipe informatique. De plus, les données générées par le SHD ont permis de développer un système de décision multi-classes basé sur le degré de ressemblance d'une image d'un patient à une entité syndromique bien particulière. Cet algorithme est basé sur l'application de recherche d'images similaires du syndrome dysmorphique (Dysmorphic Syndrome Similar Image Retrieval Application : DSSIR). Le potentiel principal de ce système permettra de pouvoir dégager le degré de ressemblance entre les patients dysmorphiques même en absence d'une confirmation moléculaire.
Ce système d'aide à décision va servir pour les cliniciens généticiens à s'orienter vers une piste diagnostique et de proposer une stratégie diagnostique avec le moindre cout. En effet, chaque image détectée est introduite dans un réseau neuronal convolutif profond (Pre-trained Face Feature Extraction) qui la convertit en descripteurs faciaux mathématiques dépersonnalisés (descripteurs faciaux). Ensuite, le système compare le vecteur descripteur facial de l'image test avec les images dans la base de données d'apprentissage par l'algorithme de plus proches voisins, et affiche un nombre donné d'images d'apprentissage voisines ayant une dysmorphie similaire de l'image demandée avec le taux de similarité entre l'image testée et les images similaires (figure 1).

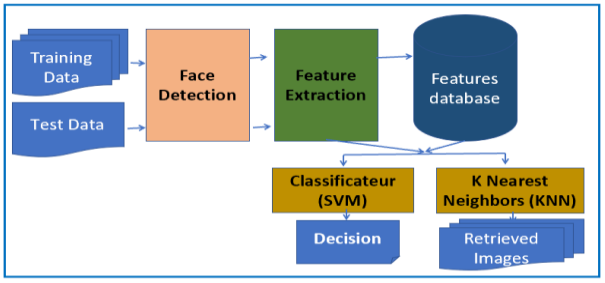


Figure 1 : Le processus du système de recherche/classification d'images similaires du syndrome dysmorphique.

Ce système a servi pour le développement d'application mobile comportant trois parties principales : l'interface d'acquisition d'image 2D du patient, un système de diagnostic rapide d'identification de dysmorphie éventuelle pour les 11 syndromes les plus récurrents ou bien dans le cas échant de détecter le degré de ressemblance avec d'autres patients dysmorphiques et prédire une éventuelle démarche du diagnostic moléculaire.
Ces résultats ont été communiqués au cours de la première Coupe du Monde de l'Invention et de la Recherche Scientifique à l'initiative de l'Organisation Internationale de l'Invention Everest et en partenariat avec l'Agence pour la Promotion de l'Industrie sous la tutelle des Ministères de l'Industrie, des Mines, de l'Energie, de l'Enseignement Supérieur et de la Science Recherche et en coopération avec l'Agence Nationale pour l'Avancement de la Recherche Scientifique et l'Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle : **TUNISIA TICAD INNOV22** qui s'est tenu dans le cadre des activités parallèles du Huitième Sommet de la Tokyo International Symposium sur le développement en Afrique **(TICAD8).** Au cours de cette manifestation, les résultats de l'action 3 de ce projet ont été présentés par un **travail intitulé « Smart Diagnosis of Dysmorphic Syndromes Application »** dans cette coupe et **nous avons y obtenu la première place de La Coupe du Monde de l'Invention et de la Recherche Scientifique dans la catégorie « Chercheurs ».**

De plus, un article « Interval Type-2 Fuzzy Deep Face for Dysmorphie Detection in Medical Images » a été soumis dans le journal international « IEEE transaction on Medical Imaging » et deux chapitres d'un ouvrage sont en cours de publication.

Application Mobile pour l'alerte dans les Allergies alimentaires : Ce travail se situe dans le cadre du projet PRF2017D3P1 sur les allergies alimentaires dont l'objectif est de construire une plateforme Big Data et une application mobile pour l'alerte du consommateur allergique. La collecte de données par enquête de terrains (500 individus) et par extraction des données à partir des forums de santé (2500 profils allergiques) a permis de construire et valider durant les 3 premières années du projet (2018-2020) un score d'évaluation du risque conséquent à la consommation d'un produit alimentaire contenant des composés allergènes selon l'étiquetage du produit. Un article relatif à ces données a été soumis fin 2022 (Belmabrouk S, Abdelhedi R, Bouzid F, Ayadi I, Gargouri, Abdellaoui N, Abdelmoula B, Ben Marzoug R, Triki N, Najla Kharrat N, Rebai A. Prevalence of self-reported food allergy in Tunisia: General trends and Probabilistic modeling. *World Allergy Organization Journal*) En parallèle à cela, une base de données des produits alimentaires vendus dans le commerce en Tunisie (de production locale ou importés) a été construite par la saisie une à une de la composition selon étiquetage de milliers de produits. Durant les années 2021-22 une application mobile qui permet à l'utilisateur après avoir saisie son profil allergique d'avoir un éventuel message d'alerte en scannant le code à barre d'un produits alimentaires emballés. Cette application a été testée et validée à l'échelle d'un panel d'utilisateurs et la version publique sera disponible courent 2023.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1/ Publications dans des revues scientifiques indexées à comité de lecture :

1- Affes S, Maalej H, Li S, Abdelhedi R, Nasri R et Nasri M **(2022)** Effect of glucose substitution by low-molecular weight chitosan-derivatives on functional, structural and antioxidant properties of maillard reaction-crosslinked chitosan-based films. ***Food Chemistry***. 366: 130530.

2- Msalbi D, Elloumi-Mseddi J, Hakim B, Sahli E et Aifa S **(2022)** Chemical alternative for cell identification and cross-contamination detection. ***3 Biotech***. 12(3): 1-15.

3- Jardak M, Atoissi A, Msalbi D, Atoui D, Bouizgarne B, Rigane G, Salem R B, Aifa S, Mnif S **(2022)** Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic properties of prodigiosin produced by a newly isolated Serratia sp. C6LB from a milk collection center. ***Microbial Pathogenesis***. 164: 105449.

4- Yahia A, Ayed I B, Hamed A, Mohammed I N, Elseed M A, Bakhiet A M, Guillot-Noel L, Abozar F, Adil R, Emad S, Abubaker R, Musallam M A, Eltazi Z M I, Omer Z, Maaroof O M, Souissi A, Bouzid A, Kmiha S, Kamoun H, Salih M A, Ahmed A E, Elsayed L, Masmoudi S, Stevanin G **(2022)** Genetic diagnosis in Sudanese and Tunisian families with syndromic intellectual disability through exome sequencing. ***Annals of Human Genetics***.

5- Gargouri S, Souissi A, Abid N, Chtourou A, Feki-Berrajah L, Karray R, Kossentini H, Ayed I B, Abdelmoula F, Chakroun O, Nasri A, Hammami A, Rekik N, Masmoudi S, Karray-Hakim H et Rebai A **(2022)** Evidence of SARS-CoV-2 symptomatic reinfection in four healthcare professionals from the same hospital despite the presence of antibodies. ***International Journal of Infectious Diseases***. 117: 146-154.

6- Gargouri S, Abid N, Karray-Hakim H et Rebai A **(2022)** Reply to letter to the editor by Lippi and Plebani:«The presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies does not necessarily reflect efficient neutralization»(THEIJID-D-22-00085). ***International Journal of Infectious Diseases***. 117: 137-138.

7- Said M B, Ayed I B, Elloumi I, Hasnaoui M, Souissi A, Idriss N, Aloulou H, Chabchoub I, Maâlej B et Driss D **(2022)** Custom Next-Generation Sequencing Identifies Novel Mutations Expanding the Molecular and clinical spectrum of isolated Hearing Impairment or along with defects of the retina, the thyroid, and the kidneys. ***Molecular Genetics & Genomic Medicine***. 10(2): e1868.

8- M'barek L, Sakka S, Megdiche F, Farhat N, Maalla K, Turki D, Feki S, Rebai A, Dammak M, Kallel C et Mhiri C **(2022)** Traditional risk factors and combined genetic markers of recurrent ischemic stroke in adults: Reply to comment from Wilson et al. ***Journal of thrombosis and haemostasis: JTH***. 20(1): 264-267.

9- Tekari A, Marazza A, Crump K, Bermudez-Lekerika P et Gantenbein B **(2022)** Inhibition of the extracellular signal-regulated kinase pathway reduces the inflammatory component in nucleus pulposus cells. ***Journal of Orthopaedic Research®***.

10- Bouzid A, Chelly A, Tekari A, Singh N, Hansdah K, Achour I, Ben Ayed I, Jbeli F, Charfeddine I et Puppala R V **(2022)** Genetic association of rs1021188 and DNA methylation signatures of TNFSF11 in the risk of Conductive Hearing Loss. ***Frontiers in medicine***. 853.
11- Abdellaoui N, Abdelmoula B, Abdelhedi R, Kharrat N, Tabebi M, Rebai A et Bouayed Abdelmoula N **(2022)** Novel combined UGT1A1 mutations in Crigler Najjar Syndrome type I. ***Journal of Clinical Laboratory Analysis***. 36(6): e24482.
12- Ayed R B, Moreau F, Hlima H B, Rebai A, Ercisli S, Kadoo N, Hanana M, Assouguem A, Ullah R et Ali E A **(2022)** SNP discovery and structural insights into OeFAD2 unravelling high oleic/linoleic ratio in olive oil. ***Computational and structural biotechnology journal***. 20: 1229-1243.
13- Akermi S, Smaoui S, Elhadef K, Fourati M, Louhichi N, Chaari M, Chakchouk Mtibaa A, Baanannou A, Masmoudi S et Mellouli L **(2022)** Cupressus sempervirens Essential Oil: Exploring the Antibacterial Multitarget Mechanisms, Chemcomputational Toxicity Prediction, and Safety Assessment in Zebrafish Embryos. ***Molecules***. 27(9): 2630.
14- Priyadarshi S, Hansdah K, Singh N, Bouzid A, Ray C S, Panda K C, Biswal N C, Desai A, Choudhury J C et Tekari A **(2022)** The risks of RELN polymorphisms and its expression in the development of otosclerosis. ***PloS one***. 17(6): e0269558.
15- Bouzid F, Gtif I, Alfadhli S, Charfeddine S, Ghorbel W, Abdelhédi R, Benmarzoug R, Abid L, Bouayed Abdelmoula N et Elloumi I **(2022)** A potential oral microbiome signature associated with coronary artery disease in Tunisia. ***Bioscience Reports***. 42(7): BSR20220583.
16- Mnif S, Jardak M, Bouizgarne B et Aifa S **(2022)** Prodigiosin from Serratia: Synthesis and potential applications. ***Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine***. 12(6): 233-242.
17- Selmi A, Kammoun O, Mnif S, Mosset P et Kammoun M **(2022)** Synthesis, crystal structure study, and evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities of a novel dihydroisoquinoline-derived. ***Journal of Molecular Structure***. 1252: 132190.
18- Kharrat M, Triki C C, Alila-Fersi O, Jallouli O, Khemakham B, Mallouli S, Maalej M, Ammar M, Frikha F, Kamoun F et Fakhfakh F (2022) Combined in Silico Prediction Methods, Molecular Dynamic Simulation, and Molecular Docking of FOXG1 Missense Mutations: Effect on FoxG1 Structure and Its Interactions with DNA and Bmi-1 Protein. ***Journal of Molecular Neuroscience***. 1-11.
19- Gargouri M, Gargouri H, Ghorbel H et Tlili A **(2022)** Is Intussusception in an Adult with Active COVID-19 Infection a Surprise? ***Indian Journal of Surgery***. 1-3.
20- Khlifi N, Mnif S, Ben Nasr F, Fourati N, Zerrouki C, Chehimi MM, Guermazi H, Aifa S, Guermazi S **(2022)** Non-doped and transition metal-doped CuO nano-powders: structure-physical properties and anti-adhesion activity relationship. ***RSC Adv.*** 12(36):23527-23543.
21- Tegally H, San JE, Cotten M, Moir M, Tegomoh B, Mboowa G, Martin DP, Baxter C, Lambisia AW, Diallo A, Amoako DG, Diagne MM, Sisay A, Zekri AN, Gueye AS, Sangare AK, Ouedraogo AS, Sow A, Musa AO, Sesay AK, Abias AG, Elzagheid AI, Lagare A, Kemi AS, Abar AE, Johnson AA, Fowotade A, Oluwapelumi AO, Amuri AA, Juru A, Kandeil A, Mostafa A, Rebai A, Sayed A, Kazeem A, Balde A, Christoffels A, Trotter AJ, Campbell A, Keita AK, Kone A, Bouzid A, Souissi A, Agweyu A, Naguib A, Gutierrez AV, Nkeshimana A, Page AJ, Yadouleton A, Vinze A, Happi AN, Chouikha A, Iranzadeh A, Maharaj A, Batchi-Bouyou AL, Ismail A, Sylverken AA, Goba A, Femi A, Sijuwola AE, Marycelin B, Salako BL, Oderinde BS, Bolajoko B, Diarra B, Herring BL, Tsofa B, Lekana-Douki B, Mvula B, Njanpop-Lafourcade BM, Marondera BT, Khaireh BA, Kouriba B, Adu B, Pool B, McInnis B, Brook C, Williamson C, Nduwimana C, Anscombe C, Pratt CB, Scheepers C, Akoua-Koffi CG, Agoti CN, Mapanguy CM, Loucoubar C, Onwuamah CK, Ihekweazu C, Malaka CN, Peyrefitte C, Grace C, Omoruyi CE, Rafaï CD, Morang'a CM, Erameh C, Lule DB, Bridges DJ, Mukadi-Bamuleka D, Park D, Rasmussen DA, Baker D, Nokes DJ, Ssemwanga D, Tshiabuila D, Amuzu DSY, Goedhals D, Grant DS, Omuoyo DO, Maruapula D, Wanjohi DW, Foster-Nyarko E, Lusamaki EK, Simulundu E, Ong'era EM, Ngabana EN, Abworo EO, Otieno E, Shumba E, Barasa E, Ahmed EB, Ahmed EA, Lokilo E, Mukantwari E, Philomena E, Belarbi E, Simon-Loriere E, Anoh EA, Manuel E, Leendertz F, Taweh FM, Wasfi F, Abdelmoula F, Takawira FT, Derrar F, Ajogbasile FV, Treurnicht F, Onikepe F, Ntoumi F, Muyembe FM, Ragomzingba FEZ, Dratibi FA, Iyanu FA, Mbunsu GK, Thilliez G, Kay GL, Akpede GO, van Zyl GU, Awandare GA, Kpeli GS, Schubert G, Maphalala GP, Ranaivoson HC, Omunakwe HE, Onywera H, Abe H, Karray H, Nansumba H, Triki H, Kadjo HAA, Elgahzaly H, Gumbo H, Mathieu H, Kavunga-Membo H, Smeti I, Olawoye IB, Adetifa IMO, Odia I, Ben Boubaker IB, Mohammad IA, Ssewanyana I, Wurie I, Konstantinus IS, Halatoko JWA, Ayei J, Sonoo J, Makangara JC, Tamfum JM, Heraud JM, Shaffer JG, Giandhari J, Musyoki J, Nkurunziza J, Uwanibe JN, Bhiman JN, Yasuda J, Morais J, Kiconco J, Sandi JD, Huddleston J, Odoom JK, Morobe JM, Gyapong JO, Kayiwa JT, Okolie JC, Xavier JS, Gyamfi J, Wamala JF, Bonney JHK, Nyandwi J, Everatt J, Nakaseegu J,

Ngoi JM, Namulondo J, Oguzie JU, Andeko JC, Lutwama JJ, Mogga JJH, O'Grady J, Siddle KJ, Victoir K, Adeyemi KT, Tumedi KA, Carvalho KS, Mohammed KS, Dellagi K, Musonda KG, Duedu KO, Fki-Berrajah L, Singh L, Kepler LM, Biscornet L, de Oliveira Martins L, Chabuka L, Olubayo L, Ojok LD, Deng LL, Ochola-Oyier LI, Tyers L, Mine M, Ramuth M, Mastouri M, ElHefnawi M, Mbanne M, Matsheka MI, Kebabonye M, Diop M, Momoh M, Lima Mendonça MDL, Venter M, Paye MF, Faye M, Nyaga MM, Mareka M, Damaris MM, Mburu MW, Mpina MG, Owusu M, Wiley MR, Tatfeng MY, Ayekaba MO, Abouelhoda M, Beloufa MA, Seadawy MG, Khalifa MK, Matobo MM, Kane M, Salou M, Mbulawa MB, Mwenda M, Allam M, Phan MVT, Abid N, Rujeni N, Abuzaid N, Ismael N, Elguindy N, Top NM, Dia N, Mabunda N, Hsiao NY, Silochi NB, Francisco NM, Saasa N, Bbosa N, Murunga N, Gumede N, Wolter N, Sitharam N, Ndodo N, Ajayi NA, Tordo N, Mbhele N, Razanajatovo NH, Iguosadolo N, Mba N, Kingsley OC, Sylvanus O, Femi O, Adewumi OM, Testimony O, Ogunsanya OA, Fakayode O, Ogah OE, Oludayo OE, Faye O, Smith-Lawrence P, Ondoa P, Combe P, Nabisubi P, Semanda P, Oluniyi PE, Arnaldo P, Quashie PK, Okokhere PO, Bejon P, Dussart P, Bester PA, Mbala PK, Kaleebu P, Abechi P, El-Shesheny R, Joseph R, Aziz RK, Essomba RG, Ayivor-Djanie R, Njouom R, Phillips RO, Gorman R, Kingsley RA, Neto Rodrigues RMDESA, Audu RA, Carr RAA, Gargouri S, Masmoudi S, Bootsma S, Sankhe S, Mohamed SI, Femi S, Mhalla S, Hosch S, Kassim SK, Metha S, Trabelsi S, Agwa SH, Mwangi SW, Doumbia S, Makiala-Mandanda S, Aryeetey S, Ahmed SS, Ahmed SM, Elhamoumi S, Moyo S, Lutucuta S, Gaseitsiwe S, Jalloh S, Andriamandimby SF, Oguntope S, Grayo S, Lekana-Douki S, Prosolek S, Ouangraoua S, van Wyk S, Schaffner SF, Kanyerezi S, Ahuka-Mundeke S, Rudder S, Pillay S, Nabadda S, Behillil S, Budiaki SL, van der Werf S, Mashe T, Mohale T, Le-Viet T, Velavan TP, Schindler T, Maponga TG, Bedford T, Anyaneji UJ, Chinedu U, Ramphal U, George UE, Enouf V, Nene V, Gorova V, Roshdy WH, Karim WA, Ampofo WK, Preiser W, Choga WT, Ahmed YA, Ramphal Y, Bediako Y, Naidoo Y, Butera Y, de Laurent ZR; Africa Pathogen Genomics Initiative (Africa PGI), Ouma AEO, von Gottberg A, Githinji G, Moeti M, Tomori O, Sabeti PC, Sall AA, Oyola SO, Tebeje YK, Tessema SK, de Oliveira T, Happi C, Lessells R, Nkengasong J, Wilkinson E **(2022)** The evolving SARS-CoV-2 epidemic in Africa: Insights from rapidly expanding genomic surveillance. **Science**. eabq5358.

22- Ayadi M, Chiab N, Abdelhedi R, Charfeddine S, Dabous A, Talbi O, Mieulet D, Guiderdoni E, Aifa S, Gargouri-Bouzid R and Hanana M (2022) Obtention of transgenic potato plants overexpressing either VvNHX, VvCLC, or both, with improved growth and better tubers quality. Plant Physiology and Biochemistry (Volume 189, Pages 46-58).

23- Gtif I, Abdelhedi R, Ouarda W, Bouzid F, Charrfeddine S, Zouari F, Abid L, Rebai A and Kharrat N. Oxidative stress markers-driven prognostic model to predict post-discharge mortality in heart failure with reduced ejection fraction. Front Cardiovasc Med 2022 Nov 7;9:1017673. doi: 10.3389/fcvm.2022.1017673. eCollection 2022.

24- Abu-Elmagd M, Assidi M, Alrefaei AF and Rebai A. Editorial: Advances in genomic and genetic tools, and their applications for understanding embryonic development and human diseases. Front Cell Dev Biol 2022 Nov 21; 10:1016400. doi: 10.3389/fcell.2022.1016400. eCollection 2022.

28- Emna Choura, Fares Elghali, Paul J. Bernard, Dhouha Msalbi, José Marco-Contelles, Sami Aifa, Lhassana Ismaili, Fakher Chabchoub (2022)
Benzochromenopyrimidines: Synthesis, Antiproliferative Activity against Colorectal Cancer and Physicochemical Properties. *Molecules* **2022**, *27*(22), 7878.

2/ Chapitre dans un ouvrage :

- Jardak M, Jayaprakashvel M, Aifa S, Mnif S. Endophytic Fungi: Important Source of Biologically Active Molecules. **(2022)**. In book: *Microbial BioTechnology for Sustainable Agriculture*. Volume 1 pp 325–352. *Edited by* Arora N K., Bouizgarne B, Springer.

3/ Acte de conférences/ colloque : Néant

4/ Brevets d'invention nationaux :

- **Emna Choura, Fakher Chabchoub, Fares Elghali, Mohamed Sami Aifa (2022).** Dérivés ENZOCHROMÉNOPYRIMIDINIQUES pour l'inhibition de la prolifération des cellules du cancer du côlon. INNORPI ; ***TN2022/0148***.
- **Manel Ben Hassen, Fakher Chabchoub, Dhouha Msalbi, Mohamed Sami Aifa (2022).** Composés TRIAZOLO[4,3-a] PYRIMIDINIQUES utilisés comme agents antiprolifératifs du cancer du sein. *INNORPI ;* ***TN2022/0202***.

FORMATION DIPLOMANTE

Thèses de doctorat soutenues :

Ikhlas Ben Ayed. Soutenue en Décembre 2022 à l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax. Application des technologies haut débit pour la recherche des gènes impliqués dans des troubles neurodéveloppementaux. Saber Masmoudi

- **Dhouha Msalbi.** Soutenue en Juillet 2022 à la Faculté des Sciences de Sfax. Criblage des antagonistes des voies de signalisations prolifératives sur des lignées tumorales en culture. Sami Aifa

Mastères soutenus :

- **Ibtissem Ibrahim.** Soutenu 2022 à la Faculté des Sciences de Sfax. Etude du rôle des protéines dans l'adhésion cellulaire de deux souches du genre Staphylococcus. Encadreur : Sami Aifa.
- **Achraf Bouazizi.** Soutenu 2022 à la Faculté des Sciences de Sfax. Etude du pouvoir filmogène de souches microbiennes isolées à partir d'un environnement hospitalier et développement de stratégies de contrôle. Encadreur : Sami Mnif.
- **Rim Gatran.** Soutenu 2022 à la Faculté des Sciences de Gabès. La mise en place d'un modèle cellulaire Humain afin de cribler et valider l'effet anti-inflammatoire de nouvelles molécules. Encadreur : Imen Benrebeh.
- **Mariem Chakroun.** Soutenu 2022 à la Faculté des Sciences de Sfax. Criblage in silico d'une banque peptidique ciblant l'ACE1. Encadreur : Fakher Frikha

SEMINAIRES, ATELIERS ET JOURNEES

Organisation de formations gratuites dans le cadre du projet SEED :

1-"Practical aspects of using UCSC Genome Browser for analysis of genetic data", formation animée par Dr Svetlana Gorokhova via zoom.
2- Webinaire de formation "Practical aspects of using UCSC Genome Browser For analysis of genetic data" assisté par 204 participants appartenant à différentes institutions.
3-Atelier de formation "E-health and database design" organisé à la faculté de médecine de Sfax assisté par 180 participants.
4- Ecole d'été de deux jours à Hammamet sur le Diagnostic clinique et génétique des encéphalopathies épileptiques et développementales.

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

3 Projets finalisés en 2022:

- 1PRF PARADIS, PRF2017D3P1 : Développement d'une application Smartphone pour les allergies alimentaires.
- 2 projets PRF dans le contexte du COVID19 : ADAGE, PRFCOV19-GP2 et PRFCOV19-DDP2

PROJETS DE COOPERATION INTERNATIONALE

1 Projet finalisé : Projet H2020 Twinning SEED

Activités des Unités Spécialisées

US119CBS01 : Unité Spécialisée de Valorisation des Résultats de la Recherche (USVRR)

وحدة مختصة: تثمين نتائج البحث

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

1/ MEMBRES DE l'UNITE :

Nom et prénom	*Grades[1]/Spécialité*	*Titulaires ou Contractuel*
Ilem HASSAIRI	Ingénieur Général/Génie Alimentaire	Permenant
Adel ZITOUN	Ingénieur en chef/Génie Biologie	Permenant
Najoua AYEDI	Ingénieur en chef/Génie Alimentaire	Permenant
Imen REKIK	Assistant principal hors grade à l'application et à la recherche / Agroalimentaire	Permenant
Nizar ELLEUCH	Assistant principal à l'application et à la recherche scientifique / Agroalimentaire	Permanant
Faiçal BOUKHILI	Technicien/industrie alimentaire	Permanant
Haitham MILADI	Agent technique/Maintenance électronique industriel	Permanant
Mohamed AMRI	Ouvrier	Permanant
Leila ELLOUZ	Ingénieur Principal/Génie Biologie	Contractuel
Med Amin CHIKHA	Technicien	Contractuel

2/ Activités de l'unité spécialisée

Les principales activités de l'Unité de Valorisation des Résultats de la Recherche (UVRR) 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 au niveau des différents laboratoires du CBS.

3/ 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 ;ainsi que l'innovation des entreprises tunisiennes dans le secteur agroalimentaire.

4/ Objectifs spécifiques

- Valorisation des coproduits des chaines de transformation des dattes ;
- Elargir la gamme des produits des chaines de transformation des dattes par la production des bioproduits innovants ;
- Améliorer les rendements des procédés d'extractions usuels et l'application des nouveaux procédés ;
- Contribuer à l'innovation des entreprises tunisiennes ;
- 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;
- Assister les chercheurs du CBS et les jeunes promoteurs size au pépinière du CBS dans l'utilisation et la maîtrise de différentes technologies disponible à l'US et participer à la maturation et la production de divers bioproduits à l'échelle pilote ;
- Produire à l'échelle pilote de grandes quantités de cellules ou de biomolécules par fermentation pour une éventuelle application industrielle ;

Activité 1 : Développement, valorisation et transfert de nouveaux procédés et/ou bioproduits destinés à l'innovation de l'entreprise tunisiens : Innovation de la chaine de transformation de dattes

Cette activité est cohérente avec l'orientation stratégique du CBS. Elle renforce la relation entre le CBS et le monde socioéconomique et aide à former du personnel qualifié dans la maitrise des technologies innovantes et d'acquérir une expérience pratique de haut niveau à l'échelle semi industrielle. Cette activité présente un aspect appliqué et vise essentiellement la résolution de contraintes rencontrées par le secteur de transformation de dattes dans un objectif de caractériser, valoriser, développer, identifier et donc d'innover l'entreprise tunisienne de transformation de dattes et /ou la création de nouvelles entreprises.

Cette activité a été subdivisée en trois actions

Action 1 : Développement d'un procédé d'extraction des huiles de noyau de dattes basé sur la technologie enzymatique.

Les noyaux de dattes constituent une biomasse locale, disponible et à bon marché. Ses potentialités d'utilisation sont immenses et peuvent intéresser les différents secteurs telle l'industrie agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Ces noyaux sont riches en sucre, en minéraux et en lipides. La richesse de l'huile des noyaux de dattes en acides gras essentiels, et en vitamine E ont en fait un bon atout pour son exploitation en cosmétologie. La fraction lipidique présente une importante source d'acides gras. La teneur en matières grasses de la

graine de datte varie entre 5,7% à 12,7%. L'acide oléique et l'acide linoléique constituent les composés majeurs des acides gras essentiels des graines de dattes.
À la lumière des résultats obtenus de criblage des enzymes montrant leur efficacité à extraire les huiles emmagasinées dans les sites de farine de noyaux de dattes. L'utilisation des enzymes combinées a amélioré nettement le taux d'extraction d'huile à partir de la farine de noyau de dattes ainsi que la qualité d'huile en acides gras essentiels. Le meilleur taux d'extraction (environ 93%) est atteint lors de l'utilisation de la combinaison des enzymes [Py], [Cy] et [Xy] avec un taux d'acide oléique de l'ordre de 70,5%. Toutefois, l'identification des acides gras montre que la nature d'enzyme appliquée affecte considérablement la composition et la concentration en acides gras identifiés dans les différents extraits enzymatiques varie d'un extrait à un autre. L'huile obtenue par extraction enzymatique a présenté une activité anti radicalaire par le DPPH et des activités antimicrobiennes vis-à-vis des souches de *Listéria, Salmonelle, Pseudomonas et Staphylocoques,* alors que l'huile obtenue par presse à froid n'a pas présenté ces activités. Il est à noter que le pourcentage maximal du degré d'extraction dépend non seulement de la nature et de l'activité de l'enzyme mais aussi des conditions opératoires. Une étude (faisabilité et optimisation) du procédé d'extraction des huiles par la technologie enzymatique, a montré que ce procédé est très performant pour extraire des extraits riches en stabilisants naturels, en vitamines et en acides gras essentiels avec un taux d'extraction élevé de l'ordre de 93% ; ainsi, l'huile extraite peut être conservée plus longtemps par rapport à celle extraite par presse à froid. Cependant, réduire le taux d'huile chez les tourteaux, les rends facilement exploitables.
En conclusion, nous avons pu prouver les performances des enzymes, qu'on dispose au CBS dans l'extraction des huiles, améliorer la stabilité, la qualité et l'enrichissement des extraits d'huile en AG essentiels, en composés phénoliques et en vitamines ainsi que la mise au point d'un procédé plus rentable avec un taux d'extraction est 20% supérieur comparé au procédé traductionnel appliqué.

Action 2 : Mise au point d'un procédé de valorisation des 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 et coproduits agricoles de faible valeur commerciale. Le recours à la biotechnologie pour la production industrielle de bioéthanol est d'une importance capitale et ceci pour remplacer les procédés chimiques.
Il ressort de l'étude de la production de bioéthanol chez les levures à partir des écarts et tourteaux de dattes, réalisée à l'UVRR durant l'an 2022 que la meilleure production est obtenue lors de l'utilisation de la souche de levure celle de référence Y30009. Cependant, le meilleur taux d'hydrolyse des fibres des tourteaux de noyaux de dattes est obtenu lors de l'utilisation de l'enzyme locale (Pec) à une activité de l'ordre de 12 u/g. Une étude de faisabilité et d'optimisation des conditions opératoires d'hydrolyse par les enzymes qu'on dispose à l'UVRR ont montré leurs performances et les analyses sont très satisfaisantes en ce qui concerne la production des sucres facilement fermentescibles. La liquéfaction enzymatique a constitué une solution pour transformer la totalité des fibres en sources énergétiques, offrant des possibilités

de culture des souches de levures pour la production de bioéthanol. L'identification des sucres par HPLC a montré que les hydrolysats obtenus par l'enzyme (Pec) contenant des quantités importantes de glucose et de fructose constituent également une excellente source de carbone pour les levures. Les cultures de production d'éthanol, conduites en batch en fermenteur de capacité totale 7 litres ont montré une capacité de production d'éthanol à un degré alcoolique de l'ordre de 9 degré avec un rendement exprimé en % (g d'éthanol par gramme de substrat carboné) est de l'ordre de 25%. Les conditions de culture par la souche de levure Y30009, seront optimisées et la production en batch alimenté seront réalisées ultérieurement afin de pouvoir améliorer les vitesses de production d'éthanol ainsi que le rendement et la productivité.

Action 3 : Développement d'un procédé hybride basé sur la technologie membranaire combinée au traitement enzymatique pour la clarification et/ou l'élaboration de nouveaux produits de dattes et de Cactus à faible valeur marchande.

L'hydrolyse enzymatique constitue une solution pour transformer la totalité des fibres de dattes en sources énergétiques, offrant des possibilités de production d'un jus de dattes clarifié, complet riche en molécules à haute valeur (vitamines, arômes, poly-phénols, etc.). Il s'est avéré nécessaire d'adopter les techniques membranaires innovantes couplées aux enzymes pour l'élaboration des nouveaux produits riches en fibres. Ce procédé offre les avantages d'une séparation à basse température et nécessite une faible consommation d'énergie. Les techniques de clarification membranaire ont permis de conserver les éléments nutritifs essentiels du fruit et ont préservé alors la qualité et la stabilité du produit. Les performances des procédés membranaires couplés aux enzymes traduites par le flux de filtration. L'hydrolyse enzymatique a amélioré nettement le flux de filtration ; ainsi, la performance du procédé membranaire appliqué.
Les essais d'hydrolyse enzymatique et de filtration tangentielle, réalisés à l'UVRR nous ont permis la mise au point d'un procédé innovant de séparation à basse température et à faible cout énergétique pour l'élaboration de nouveaux produits stable et de qualité (jus de datte clarifié à différents degré brix).

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

Cette activité a contribué à la dynamisation de l'interfaçage entre la recherche et les jeunes promoteurs de startups. Quatre startups (Biotech ECOZYM, ASTRUM Biotech, PhytoPLANT et Phytocare) et trois partenaires académiques potentiels (le Laboratoire des bioprocédés environnementaux (LBPE) du CBS, le laboratoire bio-pesticides (Biopest) et le laboratoire biotechnologie microbiennes, enzymatiques et biomolécules (LBMEB) ont été impliqués. La coopération étroite avec ces startups, size à la pépinière du CBS et leurs partenaires académiques et socioéconomiques dans l'assistance et l'accompagnement pour la réalisation de leurs idées de projets a permis d'édifier des outils et les technologies efficaces et de partager du savoir-faire dans le domaine de la technologie de fermentation, d'extraction et de formulation

dans un objectif d'extrapoler, de produire et de transférer de grandes quantités de bioproduits pour une future commercialisation.

Toutes les opérations unitaires de productions de certains produits à savoir les enzymes, les bio-pesticides, et d'autres biomolécules actives sont optimisées actuellement à l'échelle pilote et leurs faisabilité technologique ont été validées. Les différents bioproduits, produits à l'échelle pilote, à l'UVRR sont ensuite transférés aux différentes startups pour une future commercialisation. L'évaluation du potentiel des bioproduits livrés, dans le secteur industriel est faite par la mesure de l'efficacité de l'incorporation des produits dans son domaine d'application (Les détails des résultats et les fiches de satisfactions des clients seront présentées par les jeunes prometteurs et /ou leurs partenaires académiques). Il est à signaler que l'estimation des couts, de certains produits commercialisés par la startup Biotech ECOZYM à savoir celle de la gamme des enzymes commercialisés est établie à l'UVRR.

En conclusion et pour le compte de nous partenaires, nous avons :

- Evaluer la faisabilité technologique de production et formulation de certains bioproduits (enzymes et autres).
- Optimiser les chaines de production et l'estimation de leurs couts.
- La production des grandes quantités à l'échelle pilote pour une éventuelle application industrielle.

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

L'Unité de Valorisation des résultats de la recherche assure régulièrement des prestations de services dédiées aux différents laboratoires du CBS pour la réalisation d'expérimentations d'opérations unitaires (fermentation, séparation, séchage etc.).

L'activité 3 s'est appuiée sur une ouverture sur six laboratoires du CBS ainsi que leurs partenaires académiques et socioéconomiques ont été impliqués dans cette activité Les objectifs de cette activité sont :

- Assister les chercheurs dans la réalisation et le développement de leurs projets de recherche et développement ;
- Prendre en charge des expériences de scale-up, de production, de séparation et de conditionnement pour le développement de divers procédés moyennant la technologie de fermentation et les opérations unitaires de formulation des produits;
- Assister les chercheurs dans la maîtrise et l'utilisation des différentes technologies de formulation des bioproduits (broyage, extraction, séparation, concentration, séchage et autres) ;
- Productions de grandes quantités de bioproduits, à l'échelle pilote et les faire transférer au monde socioéconomique pour une future application industrielle (biopesticides, enzymes et autres) ;

Le nombre de prestations de services pour la conduite d'opérations unitaires (fermentation, séparation, concentration, séchage et broyage) réalisées pour le compte des laboratoires du CBS durant l'an 2022 est présenté dans le tableau 1

Tableau 1: Prestations de services pour la conduite d'opérations unitaires (fermentation, séparation, concentration, séchage et broyage) réalisées pour le compte des laboratoires du CBS

Laboratoire	Fermentation	Séparation / concentration	Séchage par lyophilisation	Broyage / atomisation	Analyses
LBMEB	9	11	8	2	20
LBPE	10	4	3	-	10
LB Pest	3	3	2	3	2
LBAP	-	-	1	3	10
LBME	2	2	2	6	-
Total	24	20	16	14	42

AUTRES ACTIVITES

1. **Prestation de services pour les différentes autres structures de recherche et le tissu socio-économique**

L'unité spécialisée (UVRR) a assuré également une assistance technique aux établissements publics et au tissu socio-économique (industriels) dans la réalisation d'analyses et d'opérations unitaires avec participation à la résolution de certaines contraintes rencontrées dont leurs activités.

L'Unité de Valorisation des Résultats de la Recherche a assuré, durant l'an 2022 les prestations de service suivantes.

- Analyses physico-chimiques et microbiologiques : dosage d'activité enzymatique, dénombrement des souches, détermination des bilans énergétiques et autres dans des produits laitiers pour le compte de la société AGROMED.
- Contrôle qualité des produits commercialisés par les sociétés HAZEM et GIPA.
- Réalisation de plusieurs cycles de lyophilisation et de séparation membranaire des solutions agroalimentaires pour le compte de l'ANPR (projet rima artisan Food).
- Réalisation de 4 cycles de lyophilisations des solutions enzymatiques et des produits végétaux pour le compte de l'unité 'enzyme et bioconversion' de l'ENIS.
- Réalisation de fermentations pour le compte du Laboratoire de Biodiversité Marine et Environnement du FSS.
- Contrôle qualité des produits commercialisés par la société Luxor
- Production des métabolites moyennant la technologie de fermentation pour le compte de la société Chim-det
- Réalisation 3 cycles de lyophilisations, et des (20) analyses pour l'évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH pour le compte de la société Boudjbel.
- Réalisation 5 cycles de lyophilisations pour le compte du département de géologie de la Faculté de Science de Sfax (FSS).
- Analyse de l'activité d'eau des échantillons (AW) pour le compte de la société New Park

De plus, dans le cadre des conventions payantes formalisées avec des entreprises tunisiennes à savoir l'entreprise « GIPA », « AGROMED », « HAZEM », et « CHIM-DET'», l'unité spécialisée (UVRR) a assuré plusieurs prestations de services pour la production de certains bioproduits (enzymes) pour le compte de la société « CHIM-DET'», et le contrôle qualité de

certains produits commercialisés par les entreprises « GIPA », « AGROMED » et « HAZEM».

2. **Partenariat scientifique et ouverture socio-économique en cours de réalisation dans le cadre de projets de coopération nationale**

L'unité spécialisée (UVRR) a participé, l'an 2022 en tant que partenaire dans l'extrapolation, la production et la maturation des résultats de la recherche et/ou de la valorisation dans les projets suivants :

- **Projet Tuniso-algérien LABEX** « Hydro-BIOTECH) (2020-2022) portant sur Formulation d'un Aliment pour Poisson à base de bio-additifs (hydrolysats enzymatiques et antioxydants) issus de sous-produits d'Agro-ressources.
- **Projet PAQ COLABORA (2019-2022)** intitulé 'Développement de produits biotechnologiques innovants à intérêt industriels: Biotech-INNOV' de la recherche à l'industrie
- **Projet PRF D1P1 (2019-2022)** portant sur la *Valorisation de souches halophiles dans la production de nouvelles biomolécules antioxydants : évaluation des performances protectrices et stabilisatrices dans la formulation de nouvelles crèmes antisolaires en vue de promouvoir le secteur des bio-cosmétiques en Tunisie (VASBA)*. Il est à signaler que dans le cadre de ces projets, l'UVRR a assuré une dizaine de fermentations pour l'optimisation de la production d'ectoine et d'hydroxy-ectoine à l'échelle fermenteur.par *Paludifilum halophilum* et la production des enzymes moyennant la technologie de fermentation et les opérations unitaires en amont et en aval pour la formulation des enzymes en forme solide et liquide.

US119CBS02 : Unité Spécialisée de Transfert de Technologie (USTT)

وحدة مختصة: نقل التكنولوجيا

UTT-CBS

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

1/ MEMBRES DE l'UNITE :

- **Hekma Ayadi :** Ingénieur principal /chef de l'Unité
- **Aicha Boukhriss :** Analyste **(temps partiel)**
- **Comité de Transfert de Technologie au CBS :**

Composé par des représentants de différentes structures de recherche et d'appui (6 référents des laboratoires de recherche et 4 responsables unités spécialisées)

2/ Activités de Valorisation et de Transfert de Technologie 2021

- **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

Dans le cadre de cette activité, l'USTT a continué durant l'année 2022 à appuyer les chercheurs du CBS dans :

I- La contractualisation :

- Mettre à la disposition des chercheurs des contrats modèles adaptés à leurs besoins
- Assistance à la rédaction des contrats de partenariat :

1/ Aide à la contractualisation :

Contrat cadre/contrat spécifique	Bénéficiaires
Convention cadre et convention spécifique CBS-Hôpital militaire	LBME
Convention spécifique : INRAT - CBS	LBAP

- ✓ **Avec le monde socio-économique**
- ✓

Contrat	Bénéficiaires
Préparation du projet Contrat de licence d'exploitation sur savoir-faire CBS	LB/Start-up IZAGRI
Convention d'occupation à la pépinière d'entreprises du CBS	CBS-KMW Natural Labs
Contrat de prestation de service (CHU-CIC)	LBME

II- La Protection des actifs de la PI du CBS

1/ Protection des inventions par brevet

- Assistance des chercheurs du CBS à la protection de leurs inventions par brevet d'invention : « Ce travail d'accompagnement comprend la (i) Vérification des critères

de brevetabilité, (ii) recherche d'antériorité afin de confirmer la nouveauté et (iii) l'assistance à la rédaction de la demande de **brevets d'inventions** et au dépôt. *« La collaboration continue avec l'experte en PI de la DGVR».*

Tableau 1 : Les demandes de brevet déposées à l'INNORPI durant l'année 2022

Titre du brevet	Structure Bénéficiaire	Propriété CBS/ Co-propriété
SELS DE PHOSPHONIUM ISSUS DES ACCEPTEURS DE MICHAEL EN TANT QU'AGENTS ANTIAGREGANTS PLAQUETTAIRES.	**LBME**	**CBS-FST**
DÉRIVÉS BENZOCHROMÉNOPYRIMIDINIQUES POUR L'INHIBITION DE LA PROLIFÉRATION DES CELLULES DU CANCER DU COLON	**PCMC**	**CBS-FSS**
COMPOSITIONS DE BIOPESTICIDES A PARTIR DES EAUX USEES INDUSTRIELLES FERMENTEES AVEC LA BACTERIE ENTOMOPATHOGENE PHOTORHABDUSTEMPERATA »	**LB**	**CBS**
"COMPOSÉS TRIAZOLO[4,3-a] PYRIMIDINIQUES UTILISÉS COMME AGENTS ANTIPROLIFÉRATIFS DU CANCER DU SEIN «, a été déposée à l'INNORPI le 27/07/2022 sous le N° TN 2022/0202.	**PCMC**	**CBS-FSS**
HUILE ESSENTIELLE A BASE D'UNE HALOPHYTE POUR L'AMELIORATION DE LA CONSERVATION DU PRODUIT CARNE	**LBAP-LBMIE**	**CBS**

- **Extension PCT : dépôt internationale**

L'USTT a collaboré avec **la DGVR du MESRS, INSERM Transfert et la chercheure inventeuse** en vue de l'Extension internationale « PCT » du brevet d'invention « TN 2021/0209 » en copropriété CBS-Inserm (Tunisie - France)

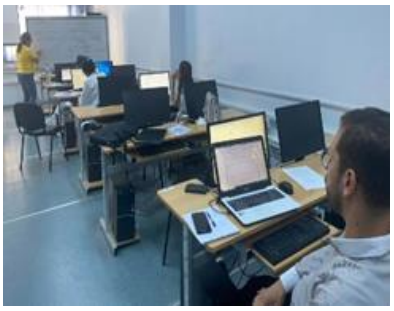
Le dépôt PCT sous la Référence. BIO22424 a été réalisé le 12 octobre 2022

2/ Organisation et animation d'un cycle de formation en propriété intellectuelle :

- ✓ Animation d'une formation « L'Introduction à la Propriété Intellectuelle et à la méthodologie de recherche » (**11 mars 2022) /CBS (23 Acteurs de recherche du CBS)**
- ✓ Animation de 3 thèmes de formations liées à la propriété intellectuelle **au profit de 15 chercheurs et Mobidoc du CBS :**

Veille brevet et recherche dans les bases de données brevets	**27 Mai 2022**
Management de la propriété intellectuelle	**18 Juillet 2022**
Méthodes et critères d'évaluation d'un brevet d'invention	**25 Novembre 2022**

- ✓ Animation d'une journée de formation « **Introduction à la Propriété Intellectuelle et à la recherche brevet d'invention »** (14 octobre 2022/ FMS) dans le cadre de collaboration CBS-ADRIC



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

- **Objectif** : Renforcer la visibilité du CBS, les activités de R&D, les offres technologiques les offres de services et les compétences et des équipements de pointes

USTT a réalisé plusieurs actions à savoir :

-La Contribution au développement d'une stratégie marketing au CBS
-La Préparation d'un annuaire de tous les chercheurs du CBS format numerique
-La Préparation d'un catalogue de prestations de services du CBS
-Le partenariat CBS-Industrie :

- ✓ Participation à l'organisation du forum scientifique CBS SMA MED FOOD (18-22 Mai 2022)
- ✓ Contribution à l'organisation du Forum CBS-industrie (20 Juillet 2022)
- ✓ Réunions avec les industriels au CBS : Manehel LAJMI : 10/06/2022 (10 juin 22), Gérant SoGEA Environnement (11Novembre 22)

Activité 3 : Veille normative, veille financement et veille technologique

- **Veille normative :**

USTT a continué durant l'année 2022 à diffuser les bulletins de veille normative aux structures réalisant des prestations de service (LB, LBPE, UPSA et UVRR) suite à l'abonnement annuel CBS-INNORPI

- **Veille technologique**

-Recherche de l'état de la technique avant tout dépôt de demande de brevet
-Recherche des normes techniques pour les prestations de service à la demande des structures de recherche (LB, UVRR)

- **Veille financement**

- diffusion de l'appel à candidature du Concours National de l'Invention 2022 organisé par l'APII (3ème édition) à la communauté scientifique du CBS
-Participation à l'organisation d'un workshop Horizon Europe au CBS : Opportunités, Appels à projets & Networking" en tant que membre du PMO du CBS. (**10/11/2022)**

- Montage de projets RDI

L'USTT a collaboré avec les chercheurs inventeurs du CBS pour la préparation à la participation au concours national de l'invention (2022) : « Inventeur institutionnel » : Etablissements publics ou privés
Puis après la première sélection, USTT a accompagné l'inventeur du CBS à la préparation de son offre technologique et aux supports de communication nécessaires (flyer, carte visite)

Success story pour l'USTT : obtention du chercheur inventeur du LBME le 2ème prix national et le premier prix mondial « **Tunisia Ticad Innovation » (TICAD 2022)**

- ⇨ **Une attestation de reconnaissance a été délivrée au chef USTT pour sa contribution précieuse de l'accompagnement de la chercheuse.**

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	Professeur/ 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 Sahli	Ingénieur (Contractuelle)/Biologie Industrielle

OBJECTIFS GENERAUX DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :

- Prestations de services destinées aux industriels en analyse chimique et en séquençage génomique
- Appui aux laboratoires de recherche pour la réalisation de leurs projets.
- Appui aux chercheurs d'autres universités/prestations de services
- Etablissement des conventions de recherche avec le monde socioéconomique
- Accréditation des analyses réalisées par les différentes plateformes de l'Unité

OBJECTIFS SPECIFIQUES et ACTIVITES DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :

L'Unité Prestataire de Services Analytiques a pour objectif de mettre à la disposition des chercheurs une technologie performante en chromatographie (HPLC, FPLC, GCMS, HPLC /MS /MS), en génomique fonctionnelle et en imagerie cellulaire. Pour répondre à la variété des demandes d'analyses et pouvoir proposer une prestation digne, l'Unité Prestataire de Services Analytiques a pu élargir la gamme de ses analyses par l'octroi de nouveaux équipements.

Les différents types d'analyses effectuées sont:

❖ Analyses Chromatographiques

- Détermination de la composition des huiles essentielles dans différents extraits par GC-MS.
- Analyse des pesticides par GC-MS.
- Analyse des hydrocarbures par GC-MS.
- Analyse des tocophérols par GC-MS.
- Analyse des stérols par GC-MS.
- Analyse des phtalates par GC-MS.
- Analyse des HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) dans les produits alimentaires, l'eau…..par GC-MS
- Analyse des acides gras dans les produits alimentaires par GC-MS
- Dosage de l'éthanol et de l'isopropanol dans les gels hydroalcooliques par GC-MS.
- Dosage des solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques par GC-MS.
- Analyse des sucres par GC-MS.

- Dosage du Sorbitol dans des produits pharmaceutiques par HPLC
- Dosage du Dextrose dans des produits pharmaceutiques par HPLC
- Dosage du Mannitol dans des produits pharmaceutiques par HPLC
- Dosage du Maltitol dans des produits pharmaceutiques par HPLC
- Dosage du glucose, fructose et saccharose dans le miel par HPLC
- Dosage de monosaccharides, disaccharides et oligosaccharides dans des extraits végétaux par HPLC
- Dosage du glucose, fructose, saccharose et sorbitol dans les jus de fruits et de légumes par HPLC
- Dosage des aflatoxines B1, B2, G1 et G2 dans les céréales et produits dérivés par HPLC-FLD.
- Analyse des mycotoxines dans les céréales et produits dérivés, fruits secs et épices par HPLC-FLD.
- Analyse des HAP dans les eaux de rejets par HPLC-FLD.
- Dosage des vitamines (Hydrosolubles et liposolubles) dans les matrices alimentaires par HPLC
- Analyse des conservateurs alimentaires dans les Fruits, légumes et leurs dérivés par HPLC
- Contrôler les médicaments (antibiotiques) par HPLC.
- Dosage de l'éthanol dans les jus de fermentation par HPLC-RID
- Dosage des acides phénoliques (acid caféique, coumaric acid …) par HPLC-DAD
- Dosage des Flavonoïdes (apigenine, oleuropein, luteolin…) par HPLC-DAD
- Dosage de l'hydroxytyrosol par HPLC-DAD
- Dosage des composés phénoliques par LC/MS/MS
- Dosage des colorants (Sudan) par LC/MS/MS
- Dosage des antibiotiques par LC/MS/MS
- Dosage des alcaloïdes par LC/MS/MS
- Dosage des toxines par LC/MS/MS
- Dosage des lipopeptides par LC/MS/MS
- Dosage des pesticides-biopesticides par LC/MS/MS
- Dosage des biosulfactants par LC/MS/MS
- Dosage des tensioactifs par LC/MS/MS
- Dosage du bisphénol A par LC/MS/MS
- Dosage des carotenoïdes par LC/MS/MS
- Dosage des sucres par LC/MS/MS

❖ Analyses microbiologiques et génomiques

- Quantification de l'ADN chez les procaryotes et les eucaryotes par cytométrie en flux
- Etude de cycle cellulaire chez les procaryotes et les eucaryotes par cytométrie en flux
- Viabilité cellulaire chez les procaryotes et les eucaryotes par cytométrie en flux
- Apoptose chez les procaryotes et les eucaryotes par cytométrie en flux
- Analyse des fonctions cellulaires par cytométrie en flux : potentiel de la membrane cytoplasmique et mitochondriale, mesure oxydatif.....
- Séquençage d'ADN plasmidique et fragment PCR par séquençeur 4 capillaires
- Analyse génomique de fragments PCR par séquençeur 4 capillaires
- Séquençage de génomes de bactérie par séquençeur Haut débit

- Séquençage de génomes de virus par séquençeur Haut débit
- Séquençage d'exomes humains par séquençeur Haut débit
- Quantification des bactéries lactiques par cytométrie en flux
- Contrôle de la qualité microbiologique des aliments: comptage des microorganismes cultivables et non cultivables par cytométrie en flux
- Mesure instantanée de la qualité microbiologique des eaux (eau de surface, eau souterraine, eau potable, eau osmosée, eau de process) par cytométrie en flux
- Evaluation de l'efficacité des procédés de désinfections par cytométrie en flux
- Etude de la stabilité antibactérienne des produits désinfectants par cytométrie en flux
- Identification et énumération des Microorganismes (Bactéries,levures, microalgues, phytoplancton, champignons…) dans un consortium par cytométrie en flux

PLATEFORMES DE L'UNITE PRESTATAIRE DE SERVICES ANALYTIQUES :

L'unité prestataire de services analytiques a pu élargir sa gamme de techniques analytiques par l'achat d'un chromatographe liquide couplé à un spectromètre de masse (MALDI-TOF MS) et a pu également renouvelé son séquençeur d'ADN par l'otroi d'un nouveau séquençeur 4 capillaires. 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
	Chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse GC/MS	2021
	Chromatographie liquide haute performance avec 3 détecteurs DAD/RID/FLD	2021
	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse UPLCMS/MS (Maldi ESI)	**2022**
Plateforme Génomique	**Séquenceur 4 capillaires SeqStudio**	**2022**
	Fluorimètre (Qubit)	2016
	Electrophorèse automatisée	2015

	Lecteur de plaques photométrique/Fluorimétrique	2015
	Séquenceur haut débit Miseq Illumina	2014
	QPCR en temps réel cfx96	2015
	PCR Digitale	2021
	Spectrophotomètre UV/vis pour micro volume Nanodrop 2000 (x2)	2013
	Extracteur automatique d'acides nucléiques	2018
Plateforme d'Imagerie et de cytométrie en flux	Molecular Imager VersaDoc	2009
	Systéme de photodocumentation des gels	2021
	Cytomètre en flux	2017
	Un microscope à fluorescence (Olympus BX51)	2004

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 2022

Tableau 1 : Inventaire des analyses effectuées au profit des chercheurs du CBS

TYPE D'ANALYSE	NOMBRE DES ANALYSES EFFECTUEES EN 2022
GC/MS	58
HPLC	276
Séquençage d'ADN	771
Cytomètre en flux	123
SEQUENCEUR MISEQ	14 RUNS
QPCR	303
PCR digitale	5
VARIOSKAN	79

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	121/18
Tissus industriels	HPLC/ GC/MS	146/23
TOTAL = 308		

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:

Nom et prénom	Grades / Spécialité
Fathi ALOUI	Ingénieur Général /chef de l'Unité
Yesmine BOUGACHA	License en Finance/ Assistante de direction (Poste contractuel)
Hekma AYADI	Ingénieur principal/ Transfert de Technologie (Temps partiel)
Nadia DAOUD	Attachée de direction/ Marketing (Temps partiel)

PRINCIPALES ACTIVITES DE L'UNITE

I. Thématiques de recherche Programme de recherche 2022

- **Activité 1 :** Pérennisations et durabilité du système QSE mis en place au CBS
- **Activité 2 :** Démarche pour l'Accréditation de 2 paramètres analytiques des laboratoires du CBS

II. Programme de recherche 2022

- **II-1- Activité 1 :** Pérennisations et durabilité du système QSE (Qualité,Sécurité, Environnement) mis en place au CBS

Dans le cadre de cette activité, plusieurs actions ont été réalisées durant l'année 2022 :

1) Exécution des simulations liés à la sécurité et l'environnement

Dans ce cadre, et en application du plan SST programmé pour l'année 2022, l'équipe HSE constituée au CBS a organisé des simulations qui concernent les thèmes suivants :

- Secourisme (1ers secours)
- Evacuation
- Lutte contre les incendies
- Déversement des produits chimiques

Au cours de ces simulations exigées par les normes ISO 14001/2015 et ISO 45001/2018, les équipes HSE du CBS a coordonné avec le personnel des différentes structures concernées, et ont fourni des rapports de ces missions décrivant les différentes étapes réalisées avec les recommandations pour les corrections et les améliorations.

2) Réunions et ateliers

- 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.
- Organisation des réunions pour sensibiliser le personnel du CBS afin de les impliquer davantage dans **la démarche Environnementale du CBS**.

- Organisation des réunions pour sensibiliser le personnel du CBS à la démarche Sécurité.
- Organisation des réunions sous la direction du DG à une fréquence de 1 fois par semaine (Tous 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 : Application des exigences normatives et réglementaires.

3) Organisation des formations liées aux actions QSE

- Organisation d'une formation de 2 jours du 24 au 25/02/2022 pour un groupe de 35 participants : Management des risques selon la norme ISO 31000. Cette formation destinée aux acteurs qualité et chefs des projets peut permettre la création de la valeur et la préserve par le management du risque, la prise de décisions, la définition et l'atteinte d'objectifs et l'amélioration de la performance. Les organismes de tous types et de toutes tailles sont confrontés à des facteurs et des influences internes et externes qui rendent l'atteinte de leurs objectifs incertaine. Le management du risque est une activité itérative qui aide à développer une stratégie, atteindre des objectifs et prendre des décisions éclairées. Le management du risque fait partie intégrante de la gouvernance et du leadership et a une importance fondamentale dans la façon dont l'organisme est géré à tous les niveaux. Il contribue à l'amélioration des systèmes de management. Le management du risque est intégré à toutes les activités d'un organisme et inclut l'interaction avec les parties prenantes.

4) Autres actions

- Réalisation d'un **audit interne complet du CBS** sur 3 cycles (23 audits) par l'équipe des auditeurs internes du CBS : 08/03, 09/03, 10/03, 04/10, 05/10, 25/10 et 26/10/2022
  - ✓ Processus Management
  - ✓ Processus GRH
  - ✓ Processus ACH
  - ✓ Processus MEI
  - ✓ Processus SIF
  - ✓ Processus HSE
  - ✓ Processus RDV (6 laboratoires et l'unité UVRR)
  - ✓ Processus VTT (6 laboratoires+ Unité UVRR+ Unité UPSA)
- Préparation et réalisation de la **revue de direction le 21/11/2022**
- Coordination de **l'audit de de suivi N°1 QSE du CBS** le 09/12/2022.
- Correction des écarts issus de l'audit de suivi N°1 et envoie du rapport au cabinet VERITAS.

- **Encadrement scientifique**
  Ahlem Nasri : Mastère professionnel soutenu à la Faculté des sciences de Bizerte le 28/12/2022 : Gestion des Rejets au Centre de Biotechnologie de SFAX dans le cadre de sa démarche environnementale.

Résultat de l'activité 1 : Maintien de la certification QSE du CBS pour une 2ème année

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 :

- 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.
- 2 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)
  - ✓ Analyse des sucres par HPLC (Unité UPSA)
- Formation d'une équipe de 10 participants sur l'audit interne des systèmes de management des laboratoires d'analyses et des essais selon les normes ISO 19011/2018 et ISO 17025/2017 pendant 4 jours 9-10 et 13-14/06/2022 (Action financée dans le cadre du projet PAQ-CR-2S).
- Constitution d'une équipe de **7 auditeurs internes accréditation** du CBS à la suite des formations (démarche accréditation et techniques d'audit) et qualification par suite d'un examen théorique et pratique réalisé par le cabinet IMPQ.
- Définition dans une 1ère étape d'un planning d'action par suite d'un diagnostic de 2 laboratoires par rapport à la norme ISO 1702/2017 (Laboratoire LBPE et l'unité spécialisée UPSA).
- Démarrage de la rédaction des procédures et des différents documents nécessaires en collaboration avec l'unité UPSA et le laboratoire LBPE.
- Organisation des réunions régulières en présence du DG-CBS et des représentants du laboratoire LBPE et de l'unité UPSA pour suivre les préparations nécessaires à l'accréditation.
- Entamer la partie « Comparaisons inter-laboratoires » pour les 2 paramètres sélectionnés et qui est une exigence de la norme ISO 17025/2018.

Selon le programmé planifié, et après la résolution de quelques problèmes, essentiellement la recherche de cabinets qui effectuent les comparaisons inter-laboratoires de 2 paramètres sélectionnés, la demande de l'accréditation sera envoyée au TUNAC le mois d'avril- Mai 2023 suite à un audit interne et une revue de direction.

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/ Chef de l'unité
Nadia DAOUD	Attaché de direction/ Marketing (Temps partiel)
Hedia BEN BELGACEM	Technicienne principale/ Informatique liée à la gestion (Temps partiel)
Najla KHARRAT	Maitre de conférences/ Génomique & Bioinformatique (Temps partiel)

PRINCIPALES ACTIVITES DE l'UIDS

Les principales activités de l'Unité d'Information et de Documentation Scientifique sont les suivantes :

Activité1 : Veille documentaire

Activité2 : Gestion de l'information et de la production scientifique

Activité3 : Communication et diffusion de l'information scientifique et technique

A cet effet, le bilan des actions réalisées en cours de 2022 sont comme suit :

- **Activité 1 : Veille informationnelle/ documentaire**

1.1 Veille informationnelle et documentaire réalisée en collaboration étroite avec le CNUDST

- Organisation de la recherche documentaire et de la veille bibliographique en collaboration avec le CNUDST et moyennant la base de données bibliographiques Scopus et l'outil d'analyse et de benchmark SciVal produisant des indicateurs bibliométriques.
- Organisation au CBS d'un infoday portant sur la veille des appels à projets Horizon Europe « Opportunités & Networking » en relation avec les principaux axes de recherche du Centre en collaboration avec l'UGPO-**MESRS** en présence de PCN nationaux : « Food, Bioeconomy, Natural Resources, Agriculture and Environment » ; Health et ICT et ce le *10 Novembre 2022*

1.2 ***Diffusion de l´information scientifique et technique se rapportant aux thématiques et domaines d'activité du centre et offrir aux utilisateurs du Centre des ressources bibliographiques pertinentes et fiables***

- Continuer à assurer la coordination en Information Scientifique et Technique « IST » au CBS avec le CNUDST depuis 2007
- Diffusion régulière des informations se rapportant aux ressources électroniques, revues et bases de données bibliographiques offertes par le CNUDT

- Diffusion des résultats de veille sur le classement et les performances scientifiques et Benchmark réalisés par la cellule de veille Rankus de L'université de Sfax dont le CBS est membre.
- Diffusion des appels à projets dans le cadre des appels à projets R&D&I nationaux et internationaux Horizon Europe, H2020, PRIMA, appels nationaux PRF, VRR, PEJC,… et autres organismes internationaux : COMSTECH ; ICGEB, à la communauté scientifique du CBS

- **Activité 2 : Gestion de l'information et de la production documentaire.**

- Préparation de rapports statistiques concernant 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 et des outils d'analyse

- Développement, gestion et mise en ligne d'un fonds propre de documentation réalisés jusqu'à présent via le CNUDST qui permet un accès convivial à un fonds documentaire couvrant une partie importante de la recherche scientifique et technologique à l'échelle mondiale

- - Participation à des formations en ligne organisées par le CNUDST en lien avec cette activité sur les outils bibliométriques (bases de données de Scopus) et outils d'analyse (**SciVal** par Elsevier, l'éditeur de Scopus)

  - ✓ Session de rafraichissement Refresher Session SciVal 2022 et ce le *28 Février 2022*
  - ✓ Session sur Rankings and Journal Quartiles, organisée par Elsevier en collaboration avec le CNUDSTet ce le *25 Mars 2022*
  - ✓ SciVal Deep-dive Session about Sustainable Development Goals, organisée par Elsevier en collaboration avec le CNUDST et ce le *25 Mai 2023*
  - ✓ Session de mise à jour et suivi des améliorations de l'outil SCIVAL, organisée par le CNUDST en collaboration avec CLARIVATE et ce le 13 Octobre 2022.

- **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 ceci moyennant un accès rapide et sécurisé aux résultats de la recherche scientifique concrétise par notamment :

-Offrir l'accès à l'information scientifique et technologique via le site web et et les réseaux sociaux (page Facebook.du centre).
-Participation à l'organisation de manifestations scientifiques au CBS avec les structures concernées
- Participation aux foires, salons et colloques reliés au domaine des biotechnologies
- Coordination des manifestations scientifiques organisées et des visites de délégations scientifiques au CBS en concertation avec les structures concernées
- Suivi et mise à jour périodique du site web du CBS
- Alimentation régulière de la page FB et chaine YouTube de toutes les actions audio-visuelles et médiatiques en rapport avec les activités scientifiques et techniques du CBS
-Créer des supports de communication promotionnels Film, affiches, flyers, carte visite, Participation , 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
-Coordination avec des spécialistes de l'audiovisuel pour la réalisation d'outils de communication (Poster, brochure, cartes visite, dépliants,…) et film documentaire sur les activités du CBS ;

A cet effet et en cours de 2022, les actions réalisées dans le cadre de cette activité sont comme suit :

- Alimentation permanente du contenu de la page Facebook créée (Nadia Marrakchi+ Nadia Daoud) et chaine YouTube (Hedia Ben Belgacem)
- Organisation d'une vingtaine de visites au CBS et promotion des évènements scientifiques organisés ou auxquelles participe le CBS (Nadia Marrakchi)
- Mise à jour des données du site web et lancement d'une nouvelle conception d'un nouveau design
- Utilisation d'un support numérique (écran TV) pour informer à temps réel les chercheurs du CBS de tout type d'informations utiles (annonces d'événements, instructions qualité, …).
- Coordination de la rédaction du rapport d'activités du centre et autres rapports scientifiques

Organisation/participation à des manifestations scientifiques en 2022 :

- ✓ Organisation d'un Forum scientifique pour la promotion des activités du CBS en en marge du **SMA Food**, *18-22 Mai 2022* à la foire internationale de Sfax
- ✓ Participation au **Salon de l'entreprise**, *1-2 Juin 2022* à la Foire Internationale de Sfax
- ✓ Participation à la Foire Universitaire **"Univ-Expo"**, à la Foire Internationale de Sfax, *19-21 Juillet 2022* à la Foire internationale de Sfax
- ✓ Participation à la **journée EMORI** (Award Ceremony) de célébration de l'association de la Tunisie au 9 -ème programme- cadre de L'UE Horizon Europe pour la R&I , le *5 Septembre 2022* à Tunis
- ✓ Participation par un stand à la Foire de l'Artisanat de Sfax (*25 - 29 septembre 2022*) à la salle de conférences municipale de Sfax
- ✓ Organisation d'une **Journée Horizon Europe** « Opportunités, appels à projets & Networking », *le 10 Novembre 2022* au CBS
- ✓ Organisation de la réunion de lancement **Kick-Off Meeting** du projet Horizon Europe Twinning NG-4-ECOPROD coordonné par le CBS aven collaboration avec 2 leaders internationaux de la France et de l'Allemagne dans la technologie de NGS, *12-13 Décembre 2022* au CBS

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