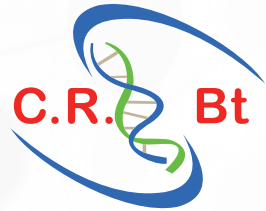


République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement
Technologique

Centre de Recherche en Biotechnologie

GUIDE DES PRESTATIONS DE SERVICE



Maîtriser les technologies du vivant ...
Pour une bioéconomie durable

DG RSDT
البحث العلمي في خدمة المواطن

Table des matières

Préambule	1
------------------	----------

Plateformes de recherche et développement

Plateforme de microbiologie	3
Plateforme de « Culture <i>in vitro</i> végétale »	5
Plateforme de « Pharmacotoxicologie »	7
Plateforme de « Détection des Organismes Génétiquement Modifiés (OGMs) »	9

Equipements de biologie moléculaire et cellulaire

Séquenceur	11
Q-PCR	13
Station cytogénétique	14
Oligosynthétiseur	15
Analyseur de la semence par ordinateur (CASA)	16
Cytomètre en flux (FACS)	17

Equipements d'analyse physico-chimique

Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS)	19
Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)	20
Chromatographie Liquide Couplée à la Spectrométrie de Masse (LC-MS)	21
Chromatographie Ionique	22
Spectrométrie de Masse à Plasma à Couplage Inductif (ICP-MS)	23
Analyseur de Carbone Total (TOC)	24
Infra Rouge à Transformée de Fourier (FTIR)	25
Microscope RAMAN	26
Microscope à Force Atomique (AFM)	27
Spectrophotomètre à fluorescence	28
MilkoScan™	29

Le Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt – Constantine) est le seul Centre de recherche, au niveau national, dédié entièrement à la Recherche et l'Innovation (R&I) dans le domaine des biotechnologies. Les technologies développées au C.R.Bt s'appuient principalement sur l'ingénierie du vivant afin de développer des procédés et des produits innovants pour garantir la sécurité alimentaire, améliorer la santé publique et remédier à la détérioration de l'environnement.

Le C.R.Bt ambitionne à être un des principaux acteurs participants au développement du secteur socio-économique de notre pays. En effet, les projets de R&I menés par le Centre sont principalement axés sur les domaines de la Santé et de l'Agriculture ; deux priorités nationales.

Le C.R.Bt, par son statut, se distingue par l'ouverture sur son environnement académique et industriel dans un but de coordination et de synergie entre la formation, la recherche et l'innovation. Cette ouverture est déjà concrétisée par des collaborations avec différents acteurs régionaux et nationaux (Universités, Ecoles, Instituts, Entreprises) afin de promouvoir une formation de qualité et une stratégie de recherche et d'innovation à valeur ajoutée.

Le C.R.Bt s'est engagé dans la formation par et pour la recherche en accueillant, par année, une centaine d'étudiants (doctorants et mastérants) des quatre coins du pays pour effectuer des stages et des formations de courtes et de moyennes durées. La stratégie tracée par le C.R.Bt consiste à soutenir la formation universitaire

afin d'attirer plus d'étudiants nationaux vers l'expertise locale réduisant ainsi les dépenses liées à la formation à l'étranger, protégeant de ce fait les ressources génétiques et préservant les compétences nationales ; forces motrices du développement du pays.

Pour concrétiser cette vision, une nouvelle méthodologie de fonctionnement a été adoptée et basée exclusivement sur la maîtrise technologique. Pour ce faire, l'infrastructure est organisée en plusieurs plateformes ; orientées vers le savoir-faire et la technologie. Elles seront gérées comme services communs, afin d'offrir aux secteurs académique et industriel l'environnement et l'expertise nécessaires pour mener convenablement des projets de développement à haute valeur ajoutée.

Plateforme de microbiologie

La plateforme de **microbiologie** est dédiée à la recherche et au développement sur les microorganismes et leurs molécules pour des applications bio-industrielles ; ses principales missions sont :

- Production pilote de biomasse par fermentation ;
- Soutien à l'industrie agroalimentaire, amélioration des souches et production d'enzymes microbiennes ;
- Bio-contrôle des maladies des plantes ;
- Consolidation de la banque de souches et enrichissement du catalogue.

La plateforme comprend deux laboratoires :

- I- Laboratoire de microorganismes et bioprocédés ;
- II- Laboratoire de mycologie.

I- Laboratoire de microorganismes et bioprocédés : conçu pour répondre aux normes nationales et internationales de « niveau de confinement 2 » selon le principe « marche en avant ». Les principaux espaces de ce laboratoire sont :

- Salle de lavage (verrerie) ;
- Salle de préparation des milieux de culture : avec tous les équipements nécessaires ;
- Salle de manipulation bactériologique : une zone contrôlée comprenant un espace de travail équipé de trois hottes bactériologiques à flux laminaire (BSL2), une chambre d'anaérobiose, deux fermenteurs (5L et 15L), un lyophilisateur, un microscope optique et



une chambre d'incubation avec différents incubateurs. Aussi, un espace réservé à l'étude génétique des microorganismes équipé d'une PCR en temps réel.

- Salle de destruction : réservée à l'élimination et la destruction des cultures microbiennes et des échantillons après utilisation.
- Souchier : se compose de deux chambres froides, à des températures de $+4^{\circ}\text{C}$ et 20°C , destinées à la conservation des souches microbiennes.



II- Laboratoire de mycologie : spécialisé en phytopathologie comprenant deux espaces:

- Zone de préparation : un espace commun équipé de paillasses humides pour la préparation des milieux de culture et la manipulation des plantes. Aussi, le nécessaire pour la destruction du matériel biologique après utilisation. Contenant

également une enceinte de phytoculture, réservée aux plantes saines, et une enceinte de germination.

Zone de manipulation et d'incubation : réservée aux inoculations, identifications et ensemencements.

Equippé de hottes BSL2, microscope optique, stéréomicroscope, enceinte de phytoculture pour plantes inoculées et incubateurs.



Plateforme de « Culture *in vitro* végétale »

La culture *in vitro* végétale est une technique qui permet de régénérer une plante entière à partir de cellules ou de tissus végétaux (explants) ou de maintenir une partie de la plante (racines, pousses) au même stade de développement sur milieu nutritif adéquat (avec ou sans régulateurs de croissance) et en conditions d'asepsie.

La plateforme de « **Culture *in vitro* végétale** » comprend divers espaces avec des niveaux de confinement différents. Ses missions principales sont :

- Assainissement des cultures (plantes exemptes de virus) ;
- Conservation des ressources biologiques ;
- Création variétale ;
- Mise en place et standardisation de systèmes de culture (plantes cultivées et plantes médicinales).

La plateforme respecte le principe de la «*marche en avant*», notamment :

- **Salle de préparation des milieux de culture** : équipée avec le matériel nécessaire à la préparation, la stérilisation et la conservation des milieux de culture ainsi que les outils de travail.
- **Salle de transfert** : équipée de trois hottes à flux laminaire horizontal indépendantes ; chacune avec deux postes de travail, où la température de la salle est fixée à 23 °C.
- **Salles de culture** : trois salles de niveau de confinement 2 ; chacune équipée de son propre système de contrôle automatique de



la température, de l'intensité lumineuse et de la photopériode. Toutes les chambres ont des étagères adaptées aux besoins des utilisateurs.

- **Salles d'acclimatation** : deux chambres ; chacune avec six étagères, contrôle automatique de l'humidité, de la température, de l'intensité lumineuse et de la photopériode.
- **Serre vitrée contrôlée** : d'une superficie totale de 184 m² séparée en deux parties, la première dédiée aux cultures saines et la seconde aux expérimentations sur les pathogènes des plantes cultivées.

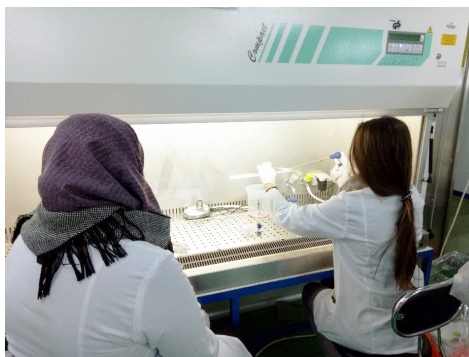


Plateforme de « Pharmacotoxicologie »

Cette plateforme est dédiée au développement de tests in-vitro permettant l'évaluation de l'activité biologique de composés naturels ou de synthèse à potentiel thérapeutique ou autres intérêts. Elle offre un panel de tests varié et adaptable allant des tests (bio)chimiques jusqu'aux tests sur cellules (lignées saines ou tumorales, cultures primaires).

Activités Antioxydantes (Format 96 Puits)

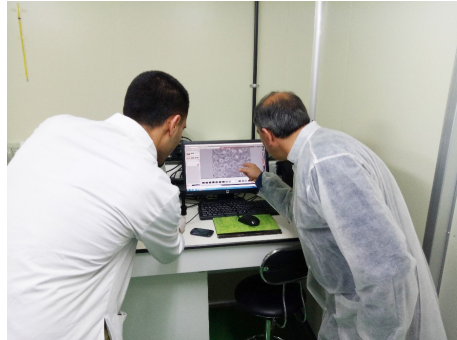
- Piégeage du radical libre DPPH ;
- Piégeage du radical ABTS •+ ;
- Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC) ;
- Blanchiment de la β -carotène / Acide linoléique ;
- Evaluation du pouvoir réducteur ;
- Piégeage du radical superoxyde par le DMSO alcalin ;
- Chélation des ions de fer ;
- Piégeage du radical hydroxyl ;
- Piégeage du peroxyde d'hydrogène ;
- Chélation des ions de fer avec la phénanthroline ;
- Chélation du cuivre (CCA) ;
- Piégeage du radical superoxyde (pyrogallol) ;
- Piégeage du radical galvinoxyl (GOR) ;
- Nanoparticules d'argent – méthode SNP ;
- Capacité d'absorbance du radical oxygène (ORAC) ;
- Total phénolique et flavonoïdes ;



- Total tannins.

Activités enzymatiques (Formats 96 Puits)

- Activité anticholinestérase (AChE et BChE) ;
- Activité tyrosinase ;
- Activité α -amylase ;
- Activité α -glucosidase ;
- Activité uréase ;
- Activité anti-brunissement.



Tests sur Cellules (format Multi-puits)



- Évaluation du pouvoir antiprolifératif ;
- Évaluation de la cytotoxicité ;
- Évaluation de la viabilité cellulaire (Test au MTT, Test au XTT, ...) ;
- Évaluation du pouvoir apoptotique.

Autres activités (format Multi-puits)

- Activité cytotoxique (Brine shrimp) ;
- Activité anti-inflammatoire ;
- Evaluation de la phytotoxicité ;
- Evaluation du facteur de protection solaire (SPF).



Plateforme de « Détection des Organismes Génétiquement Modifiés (OGMs) »

La plateforme de détection des OGMs du C.R.Bt est une plateforme nationale accompagnant le plan de surveillance du pays à l'égard de la réglementation algérienne dédiée au transport, à l'importation et à la production d'OGM.

Arrêté ministériel n° 910 du 24 décembre 2000 interdisant l'importation, la production, la distribution, la commercialisation et l'utilisation du matériel génétiquement modifié :

- **Article 1** : Dans le cadre des dispositions des articles 2,20,23,25 et 43 du décret exécutif n° 284-93 du 9 Jomada Ethania 1417 correspondant au 23 novembre 1993, susvisé, l'importation, la production, la distribution, la commercialisation et l'utilisation du matériel végétal génétiquement modifié sont interdites.
- **Article 3** : Les institutions scientifiques et les organismes de recherche, sur leur demande, être autorisés à introduire, détenir, transporter et utiliser du matériel végétal génétiquement modifié dans des conditions qui seront définies par décision du ministre chargé de l'agriculture.

La plateforme offre des prestations de services pour divers secteurs étatique ou privé et permet la détection d'OGMs afin de mieux contrôler l'alimentation (humaine et animale) et l'environnement. Elle répond aux normes internationales avec un niveau de confinement 02 et tel que décrit dans la norme ISO17025.



Qu'est-ce qu'un OGM ?

Un organisme génétiquement modifié est un organisme dont le patrimoine génétique a été volontairement modifié (introduction d'un ou plusieurs gènes étrangers) en ayant recours à des méthodes d'ingénierie génétique.

Qu'est-il possible d'analyser ?

La mise en évidence de composants génétiquement modifiés est techniquement possible pour tous les produits à savoir les semences, les matières premières et les produits transformés.



Exemple d'échantillons à analyser :

- Plantes fraîches, organe ou tissu végétal frais ;
- Graines ;
- Denrée alimentaire ;
- Aliments pour animaux.

Prestations proposées ?

- Identification qualitative d'OGM par technique de PCR classique (criblage de la présence d'un transgène chez les plantes par amplification de l'ADN du promoteur P35 du virus de la mosaïque du chou-fleur/ du terminateur NOS du plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*);
- Identification quantitative des OGMs (identification du pourcentage de produits OGM) par PCR en temps réel ;
- Offre de formations.



Séquenceur

Le 3500XL Genetic Analyzer est un séquenceur 24 capillaires basé sur la détection de produits par fluorescence et une séparation par électrophorèse capillaire. Ce système permet une analyse de 24 échantillons simultanément par injection ce qui réduit le temps de l'analyse.



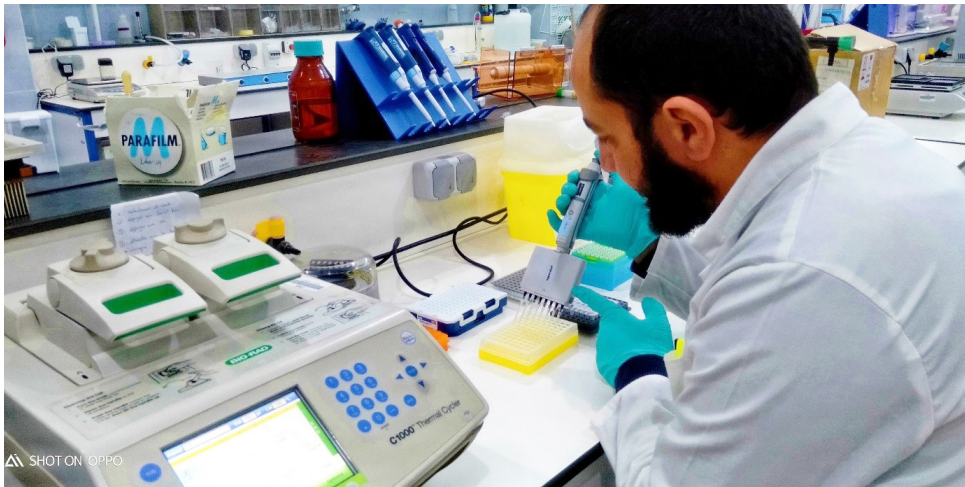
Il offre une large gamme d'applications :

1. Le séquençage :

Basé sur la technique de Sanger. La longueur de lecture est habituellement de 900 pb à 1000 pb et peut aller plus en utilisant des amorces optimales.

2. L'analyse de fragment :

Utilisée dans plusieurs projets incluant le génotypage, le profilage par ADN et l'analyse des mutations génétiques. Ces applications comprennent l'analyse par les marqueurs moléculaires (SSR, ISSR, AFLP et RFLP) et le génotypage par SNP. Le 3500 XL peut détecter jusqu'à 6 fluorophores simultanément ce qui permet une analyse en multiplexage.

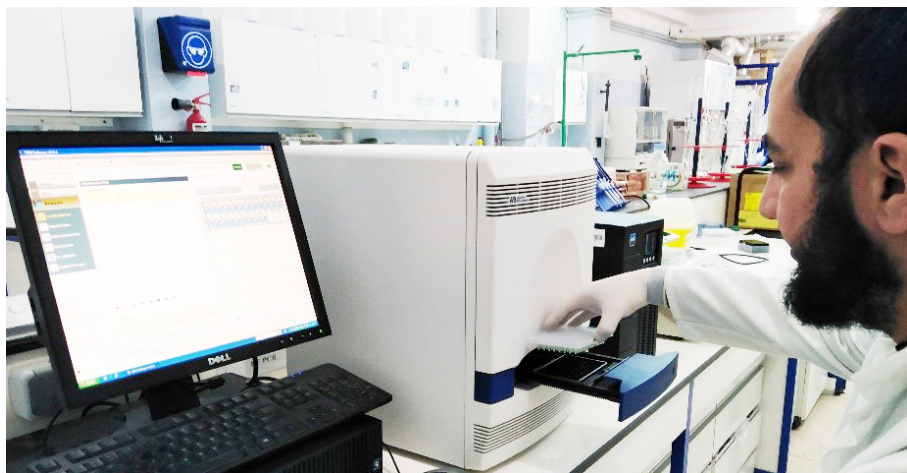


Q-PCR

La PCR en temps réel du type 7500 ABI est une plateforme puissante pour les analyses moléculaires qui requièrent une grande performance et une adaptabilité dans l'utilisation des fluorophores. Elle utilise la technique de la PCR pour une amplification d'une séquence d'ADN cible couplée à un système optique innovant avec une grande sensibilité permettant la quantification de l'ADN amplifié à chaque cycle. La 7500 ABI Q-PCR permet de détecter jusqu'à 5 fluorophores différents pour des réactions en multiplexage.

Application et utilisateurs potentiels :

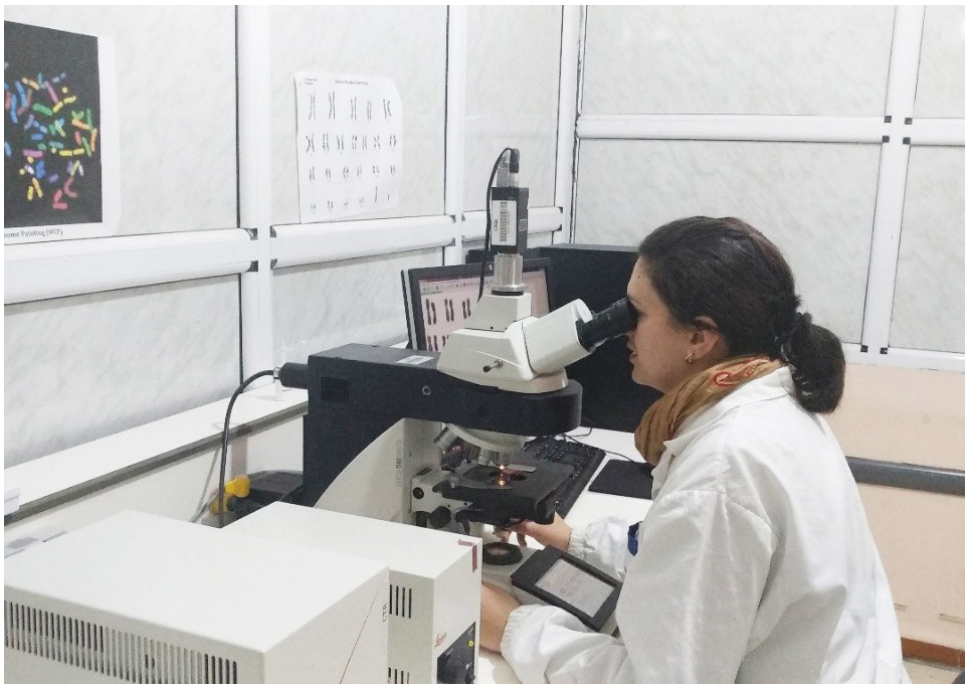
- L'analyse de l'expression génétique et la capacité d'identifier correctement et différenciellement les gènes exprimés ;
- La détection de mutation en décelant les altérations associées à des maladies par exemple ;
- Diagnostic et suivi des maladies infectieuses par quantification des agents infectieux (identification de la charge virale, microbienne et parasitaire) ;
- Détection et quantification d'organisme génétiquement modifié.



Station cytogénétique

Permet de réaliser des caryotypes standards et d'observer des lames de FISH (Fluorescence *In Situ* Hybridization) grâce à un microscope droit motorisé à épifluorescence globale, ce dernier est l'étape ultime d'un protocole commençant par une mise en culture de l'échantillon (tissus frais – entre autres sang –, plantes, champignons) ou à partir d'un tissu fixé.

Son logiciel « cytovision » facilite le dénombrement des chromosomes et leur classement selon leurs tailles, afin de détecter des anomalies de nombres et/ou de structures grâce aux techniques de marquage chromosomique (caryotype, bandes R et G) et l'identification des remaniements et d'amplifications géniques par la technique de FISH.



Oligosynthétiseur

Le synthétiseur d'oligonucléotides est un robot permettant de préparer des fragments d'ADN de séquences choisies. Les simples brins sont synthétisés de façon séquentielle sur support par une suite de réactions de déprotection et d'ajout d'un nucléotide (base + sucre + phosphate) en utilisant la chimie phosphoramidite.



Analyseur de la semence par ordinateur (CASA)

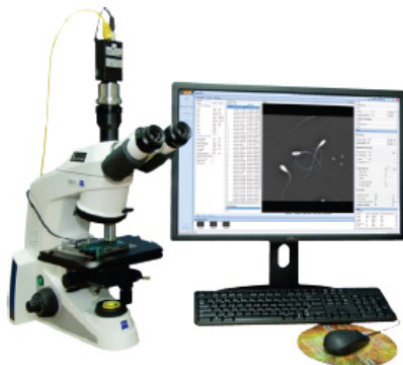
Analyseur de la semence par ordinateur ou *Computer Aided Semen Analysis* (CASA) est un système qui permet de gérer et d'analyser les échantillons de sperme dans une large gamme de paramètres. Il est, par ailleurs, suffisamment malléable pour s'adapter à un large spectre d'espèces animales : bovins, ovins, caprins, volailles, équidés, canins, rats et souris de laboratoire.

Les paramètres évalués sur un échantillon de spermatozoïdes par ce système sont :

- La Mobilité ;
- La Concentration ;
- La Morphologie.

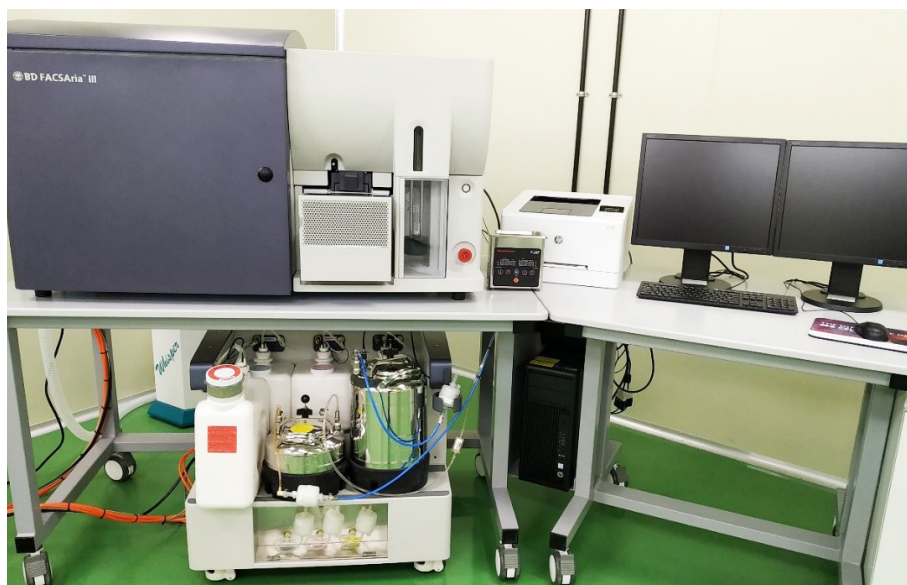
Les principaux avantages de ce système sont :

- Une grande précision dans l'analyse ;
- Standardisation du résultat (impossible avec une analyse subjective) ;
- Fiabilité des résultats ;
- Analyses rapide et gestion de l'information obtenue.



Cytomètre en flux (FACS)

BD FACS ARIA III est un analyseur trieur de cellules à haut débit équipé d'un module de clonage et d'une interface logiciel d'acquisition et d'analyse Diva. Il peut trier une large gamme de tailles, de types cellulaires ou particules. C'est un équipement sophistiqué doté de six lasers et trois buses (nozzles) mesurant simultanément plusieurs caractéristiques physiques d'une seule cellule. En analyse, le système peut mesurer 60 000 événements par seconde et 20 000 événements pour le tri cellulaire.



Applications potentielles

- Immunophénotypage (hématologie, immunologie) ;
- Expression quantitative d'antigènes de surface ou intracellulaires ;
- Quantification de l'ADN (cancérologie, cytogénétique) ;
- Viabilité cellulaire ;
- Etude du cycle cellulaire ;
- Détection de cytokine intracellulaire ;
- Mesure du stress oxydatif ;
- Tri cellulaire.

Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS)

Identification de composés organiques volatils ou susceptibles d'être volatilisés dans différents mélanges complexes à l'état de trace et ultra-trace.

1. Santé

Pour le dépistage de plusieurs maladies métaboliques congénitales (exemple : trace de composés dans l'urine).

2. Environnement

La surveillance des polluants est une application importante (dibenzofurans, dioxines, herbicides, pesticides, phénols, chlorophénols et autres).

3. Agroalimentaire

Détection des additifs alimentaires (arômes, conservateurs, émulsifiants et autres). La technique peut également être employée pour l'analyse d'un large éventail de composés naturels telles que les huiles essentielles et l'huile d'olive.

4. Applications pharmaceutiques

Dans l'industrie pharmaceutique, la GC-MS est utilisée dans la recherche et le développement, la production, et le contrôle qualité.

5. Applications légales

Utilisée en toxicologie légale pour recenser des poisons et dans les laboratoires d'anti-dopage (recherche de stéroïdes).



Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

La HPLC est particulièrement utile pour la séparation de matériaux à poids moléculaire élevé de très faible volatilité et qui ne peuvent être séparés par la chromatographie en phase gazeuse. Parmi les principales applications :

Analyse qualitative : séparation de produits chimiques thermiquement instable et de composés biologiques.

Analyse quantitative : détermination de la concentration d'un composé dans un échantillon.

Préparation de substances pures pour l'évaluation des activités biologiques et des études toxicologiques.



Chromatographie Liquide Couplée à la Spectrométrie de Masse (LC-MS)

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide (séparation) et de la spectrométrie de masse pour l'identification. Elle trouve diverses applications dans différents domaines, principalement :

- Applications biomédicales ;
- Applications environnementales ;
- Applications pharmaceutiques.



Chromatographie Ionique

La Chromatographie Ionique Dionex™ ICS+5000- de très haute capacité de résolution utilisant un système modulaire capable de fonctionner jusqu'à 5000 psi. Ses principales utilisations sont :

- Séparation des molécules en fonction de leurs charges ;
- Contrôle de la qualité de l'eau ;
- Identification de petites molécules tels que les acides aminés et les sucres ;
- Caractérisation de molécules (médicaments).



Spectrométrie de Masse à Plasma à Couplage Inductif (ICP-MS)

La spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) est un type de spectrométrie de masse rapide, précise et sensible capable de détecter les métaux et plusieurs non-métaux à des concentrations très faibles (traces), pouvant aller jusqu'à une partie par million et même par billion.

Applications

Analyses atomique quantitatives et qualitatives multi-élémentaires de la quasi-totalité des éléments du tableau périodique dans les domaines suivants : environnement, géochimie, biochimie alimentaire et toxicologie.



Analyseur de Carbone Total (TOC)

Le Carbone Organique Total (TOC) est l'un des plus importants paramètres composites dans l'évaluation de la pollution organique de l'eau. Comme il inclut tous les composés carbonés en une seule masse, il est exactement défini et représente une quantité absolue. Par conséquent, il peut être déterminé directement. En relation avec le TOC, d'autres paramètres comme le CT, le CIT, le TIC, les DOC, (POC, COV) sont utilisés.

Les raisons à mesurer le TOC varient selon les secteurs, mais se classent généralement en deux catégories :

- Le contrôle des procédés ;
- La conformité à la réglementation.

Les principaux domaines d'application sont :

- Qualité des eaux potables ;
- Qualité des eaux usées ;
- Fabricants de produits pharmaceutiques.



Infra Rouge à Transformée de Fourier (FTIR)

L'Infra Rouge à Transformée de Fourier (FTIR) permet :

- L'analyse des fonctions chimiques présentes dans les matériaux ;
- L'identification des contaminants organiques (particules, résidus) ;
- La caractérisation des matériaux organiques.

Le FTIR trouve des applications de contrôle de qualité dans les domaines suivants :

- Agroalimentaire ;
- Environnement ;
- Pharmaceutique.



Microscope RAMAN

La spectroscopie RAMAN est une méthode non destructive d'observation et de caractérisation de la composition moléculaire et de la structure externe des matériaux.

Exemples d'application :

- Caractérisation de la composition moléculaire des matériaux ;
- Visualisation de la cartographie des surfaces des matériaux.



Microscope à Force Atomique (AFM)

Le microscope à force atomique est un type de microscope à sonde locale permettant de visualiser la topographie de la surface d'un échantillon chimique ou biologique. Ce type de microscopie repose essentiellement sur l'analyse d'un objet point par point au moyen d'un balayage via une sonde locale, assimilable à une pointe effilée.

Exemples d'application :

Visualisation de la topographie des surfaces de matériaux à l'état solide et liquide.



Spectrophotomètre à fluorescence

La spectrophotométrie à fluorescence est généralement la méthode de choix pour l'identification, la quantification et le dosage des substances fluorescentes. Elle est plus sélective car les spectres d'émission et d'absorption peuvent être obtenus.

Exemples d'analyse :

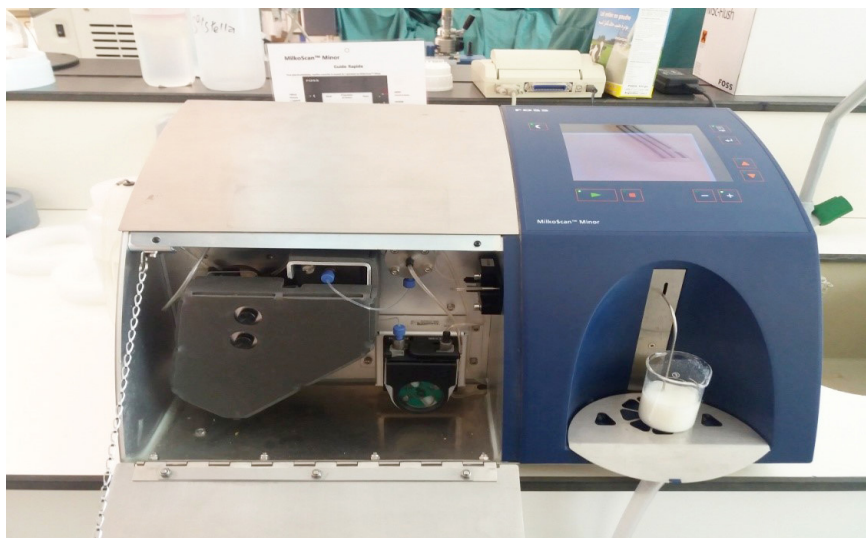
- Détermination de substances fluorescentes dans une formulation à faible dose en présence d'un excipient non fluorescent ;
- Dosage des substances pharmaceutiques.



MilkoScan™

L'analyseur MilkoScan™ Minor (Mesure des taux de composants du lait et produits laitiers) est basé sur le principe reconnu de mesure en moyen infrarouge. La précision des résultats est conforme aux méthodes de référence sur des échantillons du lait cru (vache, brebis et chèvre), lait transformé et crème fraîche.

Son grand avantage se résume dans sa capacité d'analyser jusqu'à six paramètres clés (paramètres de composition : matière grasse, protéine, lactose, extrait sec total et extrait sec dégraissé et point de congélation), avec un seul échantillon, en réduisant ainsi le nombre d'analyses de référence et répondant à la fois aux besoins spécifiques de l'industrie laitière et de la R&D.





CONTACT:



Ali Mendjli Nouvelle Ville
UV 03 BP E73 Constantine



+213 (31) 77.50.37/39



+213 (31) 77.50.44



relations-ext@crbt.dz



www.crbt.dz



<https://www.facebook.com/CRBtNews>



<https://twitter.com/CRBtNews>



<https://www.youtube.com/channel/UCQlpAN2Bz9ysY6HHLnldq2w>