

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا التطبيقية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master Professionnel

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière: Sciences Biologiques
Spécialité : Bio-industrie, Analyse et Contrôle (BAC)

Intitulé:

**Traitement et contrôle qualité de deux types d'eau
à usage pharmaceutique : eau purifiée et eau pour
préparations injectables**

Présenté par :

Henni Nassiba et Benzine Bornia Yasmine

Devant le jury :

Président :	Dr. Kara Ali Mounira	M.C.A Université Frères Mentouri Constantine 1.
Rapporteur :	Dr. Cherfia Radia	M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1.
Examineur :	Dr. Sakhri Afaf	M.C.B Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2.
Responsable de stage :	Mr. BAHOUH M. Lamine	Entreprise SAIDAL - Constantine.

Année universitaire 2020 – 2021

Remerciements

Tout d'abord nous remercions ALLAH, le tout puissant, d'avoir nous donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.

Nous souhaitons exprimer nos sincères et respectueuses reconnaissances et remerciements à notre enseignante et encadreur Dr. CHERFIA RADIA, Maître de Conférences B au département de Biologie Appliquée, Faculté des SNV, Université Frères Mentouri-Constantine 1, pour ses fructueux conseils ainsi que les discussions scientifiques que nous avons eu la chance d'avoir avec elle.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury ;

A la présidente Dr. KARA ALI MOUNIRA, Maître de Conférences A au département de Biologie Appliquée, Faculté des SNV, Université Frères Mentouri Constantine 1 ;

A l'examinatrice Dr. SAKHRI AFAF, Maître de Conférences B à l'Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2 d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de nous donner son temps pour examiner ce travail.

Un remerciement particulier au Pr. KACEM CHAOUCHE NOREDDINE, chef de département de Biologie Appliquée, Faculté des SNV, Université Frères Mentouri Constantine 1, et responsable de notre spécialité.

Nos vifs remerciements sont aussi à l'ingénieur BAHOUH LAMINE pour nous avoir accueilli au sein de l'entreprise SAIDAL et avoir aidé à réaliser ce travail.

Nous adressons nos remerciements à toutes les personnes de laboratoire pour les explications et leur disponibilité.

Nous remercions pareillement Mr. BENZAÏDE ADLEN et Mr. SEDRATI, chef du laboratoire, pour leur accueil.

Enfin nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de cette étude.



Dédicace

Je commence tout d'abord par rendre grâce dieu et à banté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédicace ce modeste travail :
A mes chers parents ma mère FARIDA, et mon père AZEDDIN pour leur patience, leur amour, et surtout leur soutien et encouragement.

- ✓ A mon âme sœur NACIRA.
- ✓ A mes chers frères OUSSAMA et sa femme NOUHA /AYOUB et MED ACHRAF.
- ✓ A mes grands-parents présents et partie.
- ✓ Je remercie chaleureusement mes tantes HOURIA et ABLA qui m'adonnée la force.
- ✓ A ma belle HINDA et ces enfants MED HASSEN et ZIAD.
- ✓ A ma cousine HALA qui ma encourage et m'aide durant ce travail.
- ✓ A ma famille paternel et maternel HENNI et BOUREMA.
- ✓ A mon cher binôme YASSMIN.
- ✓ A mes chères collègues de spécialité bio-industrie, analyse et contrôle (BAC).

HENNI NASSIBA



Dédicace

Chaque fois qu'on achève une étape importante dans notre vie, on fait une pensée pour se rappeler de ces personnes qui ont partagé avec nous tous les bons moments de notre existence, mais surtout les plus durs. Que le tout puissant nous garde ces personnes qui nous sont très chères.

Je rends un grand hommage à travers ce modeste travail, en signe de respect et de reconnaissance et je le dédie en premier lieu :

À mes très chers parents Hassouna et Faiza qui n'ont jamais préservé un effort pour moi et à qui je dois beaucoup pour leurs sacrifices, leur amour, leur aide et leur soutien qui m'ont donné le courage le long de ma vie ;

*À mes frères Salah et Ahmed
À mes très chères sœurs Sabrinel et Nada*

À toute la famille benzine surtout mon grand- père Bachir, ma grand- mère Zohra, ma tante Noura, et mes oncles Baby, Halim, Chawki, Lwardi, Khaled et Walid

À toute la famille Begouge surtout mon grand- père Makhloof, ma grand- mère Fatiha, mes tantes Karima, Dalila, Nabila, Nahda, et mes oncles Abdou, khaled, Saleh et Yassin

À toute la famille kerkoube surtout Hafiza, Naissa, Moubek, Mourad, Karima, Cherifa, Hassiba, Aida et sihem,

À mes meilleures chères amies Chaima, Chaima, Zainb, Islem, soufienne, Saïd, Khalil.

*À mon binôme noussaiba
A toute ma promotion de B.A.C*

Le long de ma vie, j'ai été entouré des personnes magnifiques qui m'ont donné le meilleur d'eux même sans rien attendre en retour, je crois qu'aujourd'hui il est temps de leur dédier du fond du coeur ce modeste travail pour les remercier

yasmine

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
I- Synthèse Bibliographique	3
I.1- Connaissance générale sur l'eau.....	3
I.1.1- Propriétés physicochimiques des eaux	3
I.1.1.1- Propriétés physiques	3
• Etats des eaux	3
• Masse volumique.....	4
• Viscosité	5
• Propriété électrique.....	5
I.1.1.2- Propriétés chimiques.....	5
• Pouvoir solvant	5
• Propriété acido-basique.....	5
• Oxydoréduction.....	6
I.2- Eaux potables.....	6
I.2.1- Paramètres organoleptiques	7
I.2.2- Paramètres physiques	7
I.2.3- Paramètres chimiques	7
I.2.4- Paramètres microbiologiques	7
I.3- Eaux à usage pharmaceutique.....	7
I.3.1- Pharmacopée européenne.....	7
I.3.2- Eau inscrite dans la pharmacopée européenne.....	8
I.3.2.1- Eau purifiée (EP).....	8
I.3.2.2- Eau hautement purifiée (EHP).....	8
I.3.2.3- Eau pour préparations injectables (EPPI).....	9

I.3.3 - Contrôle qualité d'eau à usage pharmaceutique.....	9
I.3.2.1- Contrôle physico-chimique de l'EP et de l'EPPI.....	9
I.3.2.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPPI.....	9
I.3.4- Comparaison des différentes qualités de l'eau.....	10
I.4- Qualité au sein de l'industrie pharmaceutique.....	10
I.4.1- Qualité	10
I.4.2- Contrôle qualité	10
I.5- Méthodes de traitement de l'eau.....	11
I.5.1- Adoucissement.....	11
I.5.1.1- Principe.....	11
I.5.1.2- Produits chimiques et appareillages.....	12
I.5.2- Déminéralisation par permutation	12
I.5.2.1- Principe.....	12
I.5.2.2- Produits chimiques et appareillages.....	14
I.5.3- Osmose inverse.....	14
I.5.3.1- Principe.....	14
I.5.3.2- Produits chimiques et appareillages.....	15
I.5.3.3- Membrane utilisée	16
I.5.4- Distillation.....	16
I.5.4.1- Principe.....	17
I.5.4.2- Produits chimiques et appareillages.....	17
I.5.5- Ultrafiltration.....	18
I.5.5.1- Principe.....	19
I.5.5.2- Produits chimiques et appareillages.....	19
II. Matériel et méthodes	20
II.1- Présentation générale de l'entreprise SAIDAL Constantine	20
II.2- Chaîne de traitement des eaux.....	21
II.2.1- Chaîne de traitement de l'eau purifiée	21
II.2.2- Chaîne de traitement de l'eau pour préparations injectables.....	21
II.3- Prélèvement des eaux à usages pharmaceutiques.....	23
II.4- Contrôle qualité de l'eau à usage pharmaceutique	23

II.4.1- Analyses physico-chimiques de l'EP et de l'EPPI.....	23
II.4.1.1- Caractères organoleptiques.....	24
II.4.1.2- Conductivité.....	24
II.4.1.3- Substances oxydables.....	25
II.4.1.4- Nitrate.....	25
II.4.2- Analyses microbiologiques de l'EP et de l'EPPI	26
II.4.2.1- Contrôle microbiologique de l'air.....	26
II.4.2.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPPI par filtration sur membrane	26
III- Résultats et discussion.....	29
III.1- Analyses physicochimiques de l'EP et de l'EPPI.....	29
III.1.1- Analyse de l'EP.....	29
III.1.1.1- Caractères organoleptiques de l'EP.....	29
III.1.1.2- Conductivité de l'EP.....	30
III.1.1.3- Substances oxydables de l'EP.....	30
III.1.1.4- Nitrate de l'EP.....	31
III.1.2- Analyse de l'EPPI.....	32
III.1.2.1- Caractères organoleptiques de l'EPPI.....	33
III.1.2.2- Conductivité de l'EPPI.....	33
III.1.2.3- Nitrate de l'EPPI.....	33
III.2- Analyses microbiologiques de l'EP et de l'EPPI	34
III.2.1- Contrôle microbiologique de l'air	34
III.2.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPPI.....	35
III.2.2.1- Contrôle microbiologique de l'EP.....	35
III.2.2.2- Contrôle microbiologique de l'EPPI.....	37
IV- Conclusion et perspectives	39
V - Références bibliographiques	40

ملخص

Abstract

Annexes

Liste des figures

Figure 1	Géométrie de la molécule d'eau.	3
Figure 2	Trois états des eaux ; A: Solide, B: Liquide, C: Vapeur.	4
Figure 3	Principe de l'adoucissement de l'eau dure par lit de résine.	11
Figure 4	Montage d'une station par des adoucissements en Doublex au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	12
Figure 5	Principe de déminéralisation par permutation par résine échangeuse d'ions à l'échelle microscopique.	13
Figure 6	Station de déminéralisation par permutation d'eau brute au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	14
Figure 7	Principe de l'osmose et l'osmose inverse.	15
Figure 8	Station de traitement d'eau industrielle par osmose inverse au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	15
Figure 9	Modules spirals.	16
Figure 10	Principe de distillation.	17
Figure 11	Station de traitement d'eau brute par distillation au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	18
Figure 12	Principe d'une chaîne d'ultrafiltration.	19
Figure 13	Station d'ultrafiltration d'eau brute au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	19
Figure 14	Carte géographique représentative de l'industrie pharmaceutique SAIDAL Constantine (2021).	20
Figure 15	Chaines de traitement de l'EP au sein de l'établissement SAIDAL (2021).	21
Figure 16	Distillation multi-effets.	21
Figure 17	Schéma d'infraction de contrôle de la boucle EPPI.	22
Figure 18	Flacon de prélèvement (1 L) .	23
Figure 19	Conductimètre.	24

Figure 20	Technique de filtration A:membrane de filtration, B : Rampe de filtration.	27
Figure 21	Méthode de filtration d'un échantillon d'eau à l'aide de la rampe de filtration au niveau du laboratoire de SAIDAL (2021).	28
Figure 22	Evaluation quotidienne de la conductivité de l'EP pendant 5 jours.	30
Figure 23	Test des substances oxydables ; A : Avant le chauffage, B : Après le chauffage.	31
Figure 24	Test de nitrate de l'EP.	31
Figure 25	Evaluation quotidienne de la conductivité de l'EPPI pendant 5 jours.	33
Figure 26	Test de nitrate de l'EPPI.	34
Figure 27	Contrôle microbiologique de l'air passif.	35
Figure 28	Membrane filtrante d'EP après incubation.	35
Figure 29	Evaluation quotidienne du DGAT de l'EP pendant 5 jours.	36
Figure 30	Membrane filtrante de l'EPPI après incubation.	37

Liste des tableaux

Tableau 1	Masse volumique de l'eau en fonction de la température.	5
Tableau 2	Quelques Normes Mondiales de potabilité des eaux.	6
Tableau 3	Comparaison entre différentes qualités de l'eau.	9
Tableau 4	Températures (°C) correspondent aux conductivités ($\mu\text{S}/\text{cm}$) de l'EP et de l'EPPI préconisées par la pharmacopée européenne (2019).	25
Tableau 5	Analyses physicochimiques de l'EP pendant 5 jours.	29
Tableau 6	Analyses physicochimiques de l'EPPI pendant 5 jours.	32
Tableau 7	Analyses microbiologiques de l'EP pendant 5 jours.	36
Tableau 8	Analyses microbiologiques de l'EPPI pendant 5 jours.	38

Liste des abréviations

Abbréviation	Signification
ARS	Agence Régionale de Santé.
CE	Conductivité électrique.
D.T	Dureté totale.
DEQM	Direction Européenne de la Qualité du Médicament.
DGAT	Dénombrement des germes aérobies totaux.
EHP	Eau hautement purifiée.
EP	Eau purifiée.
EPPI	Eau pour préparations injectables
EPv	Eau purifiée en vrac.
PH	Potential Hydrogène.
Ph. Eu.	Pharmacopée européenne .
RO	Reverse osmose (osmose inversé).
SHMP	Sodium Hexa Meta Phosphate.
SMBS	Sodium Metabisulphite.
TA	Titre Alcalimétrique.
TAC	Titer alcalimétrique complet.
TOC	Carbone organique totale.
TSA	Trypticase Soy Agar.
UCV	Unités de Couleur Vraie.
UFC	Unité formant colonie.
µg/L	micro gramme par litre.
µs/cm	micro Siemens par centimeter.

Annexes

Annexe I: Tableau représentant la composition et la préparation des solutions pour les analyses physico-chimiques de l'EP et l'EPPI.

Test	Solutions	Préparations
Substance oxydable	Acide sulfurique dilué	-60mL d'eau purifiée, - 5,5 ml d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) de 95 à 97 (m/m). - Laisser refroidir et compléter à 100mL avec le même solvant.
	Permanganate de potassium 0,02M	-Dissoudre 3.2 g de permanganate de potassium dans l'eau purifiée et compléter à 1000 ml avec le même solvant. - Chauffer la solution au bain-marie pendant 1h, laisser refroidir et filtrer sur un filtre de verre fritté
Nitrate	Chlorure de potassium 10%	Dissoudre 100g de chlorure de potassium dans 1000 ml de l'eau purifiée.
	Diphénylamine	Dissoudre 1g dans 1000 ml d'acide sulfurique de 95% à 97% (m/m) de H ₂ SO ₄ (0.1% dans H₂SO₄ 95% à 97%)
	Acide sulfurique exempt d'azote	-5 ml d'eau, - Ajoute avec précaution 45 mL acide sulfurique - Laisser refroidir à 40°C et ajouter 8 mg de diphénylbenzidine R.
	Eau exempte de nitrate	-A 100 ml d'eau purifiée ajouté quelque milligramme de permanganate de potassium et d'hydroxyde de baryum distiller en utilisant un appareil pour la distillation - Éliminé les premiers 10 ml et recueillir les 50 mL suivants, préparée exactement - Cette préparation d'eau exempte de nitrate peut être remplacée par l'eau milli-Q fraîchement prélevée.
	Solution 2ppm de nitrate (NO ₃)	- Dissoudre dans de l'eau purifiée une quantité de nitrate de potassium correspondante à 0,815 g de KNO ₃ et compléter à 500 ml avec même solvant dilué au 1/10 avec de l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi puis diluer - Cette solution au 1/10 avec l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi et rediluer la solution obtenue au 1/5 avec l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi.

Annexe II: Tableau représentant les milieux de culture utilisés dans le contrôle microbiologique de l'EP et l'EPPI.

Milieu de culture	Composition	Quantité
<p>R2A (Reasoner's 2A Agar) pH 7.2 ± 0.2 à 25 °C</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 0.5 g - Peptone protéase..... 0.5 g - Hydrolysate de caséine (bovine) 0.5 g - Glucose 0.5 g - Amidon..... 0.5 g - Pyruvate de sodium..... 0.3 g - Phosphate di potassique..... 0.3 g - Sulfate de magnésium anhydre..... 0.024 g - agar 15.0 g - Eau distillée 1000mL 	
<p>TSA (Trypton Soy Agar) pH 7.3 ± 0.2 à 25 °C</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pancréatique de caséine..... 15.0g - Peptone papaique de soja..... 5.0g -Chlorure de sodium 5.0 g -Agar bactériologique..... 15.0 g - Eau distillée 	1000 mL

Synthèse bibliographique

I- Synthèse Bibliographique

I.1- Connaissance générale sur l'eau

L'eau est un liquide très stable qui est souvent perçue comme une substance assez ordinaire car elle est transparente, inodore, insipide et se présente sur terre en grande quantité (Rodriguez, 2004).

La molécule d'eau est formée d'hydrogène et d'oxygène, elle est composée de deux atomes d'hydrogène qui entourent un atome d'oxygène. La formule chimique de l'eau est donc H_2O ; chaque molécule d'eau possède deux pôles chargés électriquement :

- Un pôle chargé positivement du côté des atomes d'hydrogène.
- Un pôle chargé négativement du côté des atomes d'oxygène.

Dans une molécule d'eau, les deux atomes d'hydrogène et l'atome d'oxygène complètent leurs couches d'électrons en mettant ceux-ci en commun. Chaque atome d'hydrogène, avec un électron seulement en orbite autour de son noyau, a besoin d'un électron supplémentaire pour atteindre un état stable. L'atome d'oxygène avec ses six électrons sur la couche externe, en a besoin de deux autres pour compléter celle-ci. Lorsque ces trois atomes instables mettent en commun leurs électrons, ils forment une molécule d'eau stable (figure 1) (OMS, 2016).

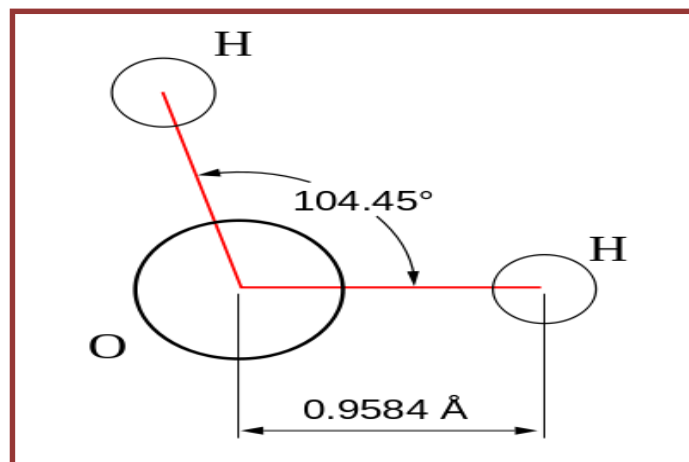


Figure 1 Géométrie de la molécule d'eau (Anonyme 1).

I.1.1- Propriétés physicochimiques des eaux

I.1.1.1- Propriétés physiques

- **Etats des eaux**

L'eau sous l'action du soleil, de la pression atmosphérique et de la température, elle change son état. On peut la trouver sous trois formes ; solide, liquide et gazeuse (vapeur) (Figure 2) :

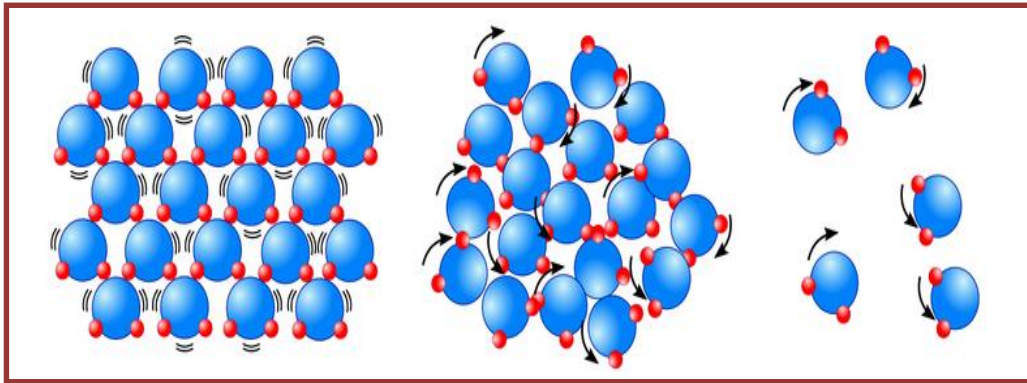


Figure 2 Trois états des eaux. A: Solide, B: Liquide, C: Vapeur (Anonyme 2).

Etat solide

Il est obtenu en dessous de 0 °C sous la pression atmosphérique. Les molécules d'eau sont disposées suivant un tétraèdre avec une molécule d'eau centrale et quatre autres disposées suivant les quatre sommets d'un tétraèdre régulier. Le réseau cristallin qui en résulte est hexagonal.

Les molécules sont assemblées par des liaisons hydrogène, chaque atome d'hydrogène d'une molécule d'eau étant lié à l'atome d'oxygène de la molécule voisine (Quali, 2018).

Etat liquide

Au cours de la fusion de la glace, les liaisons hydrogènes se rompent, le cristal s'effondre et les molécules se rapprochent les unes des autres, la masse volumique augmente jusqu'à une valeur maximale correspondant à une température de 4 °C sous 1 atmosphère (Baouia, 2018).

Etat vapeur

Dans l'atmosphère, l'eau existe sous forme de gaz. C'est la vapeur d'eau présente dans l'air humide. Elle ne correspond qu'à 0.001 % de l'eau de la terre (Paul, 2010).

- **Masse volumique**

La masse volumique ρ (kg/m) c'est la masse (kg) par unité de volume d'une substance c.-à-d. la masse m d'une substance de volume V (m³) (DMV, 2001).

La masse volumique de l'eau change en fonction de la température (Tableau 1).

Tableau 1 Masse volumique de l'eau en fonction de la température (Anonyme 3).

T (°C)	Masse volumique kg/dm ³	T (°C)	Masse volumique kg/dm ³
0	0.999839	20	0.998204
4	0.999972	25	0.997045
10	0.999699	30	0.995647
15	0.999099	100	0.958365

- **Viscosité**

Cette propriété de l'eau change en fonction de la température et de la salinité de l'eau. La viscosité de l'eau diminue lorsque la température croît. En revanche, elle augmente avec la teneur en sels dissous ; l'eau de mer est donc plus visqueuse que l'eau de rivière (Jean et *al.*, 2005).

- **Propriété électrique**

L'eau est légèrement conductrice. La conductivité de l'eau pure ne doit pas dépasser 4.2 µS/cm à 20°C, elle augmente lorsque des sels sont dissous dans l'eau et elle varie en fonction de la température (Jean et *al.*, 2005).

I.1.1.2- Propriétés chimiques

La molécule d'eau présente des propriétés chimiques remarquables.

- **Pouvoir solvant**

L'eau n'est pas seulement un ensemble de molécules d'H₂O. Elle contient naturellement une très grande variété de matières dissoutes, inertes ou vivantes : des gaz, des substances minérales ou organiques, des microorganismes (bactéries, virus, plancton), ainsi que des particules en suspension (fines particules d'argiles, limons et déchets végétaux). En effet, l'eau est un excellent solvant qui se charge en composés solides ou gazeux tout au long de son parcours, à travers les rivières, zones humides, roches, atmosphère, etc. (Sardi, 2014).

- **Propriété acido-basique**

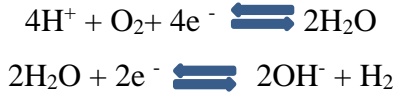
Par autoprotolyse, une molécule d'eau peut se dissocier partiellement suivant la réaction :



L'eau présente une faible conductivité liée à la formation d'ions hydroxyle et oxonium. Deux propriétés sont possibles : l'eau est à la fois un donneur et un accepteur de protons (Jean et *al.*, 2005).

• **Propriété d'oxydoréduction**

Les phénomènes d'oxydoréductions présentent une grande importance dans tous les domaines du traitement de l'eau. L'eau elle-même peut participer, suivant les conditions expérimentales, à des réactions d'oxydoréduction:



Dans le premier cas, l'eau est un donneur d'électrons, elle est réductrice. Dans le deuxième cas, l'eau est un accepteur d'électrons, elle est oxydante (Jean et *al.*, 2005).

I.2- Eaux potables

L'eau potable constitue la qualité minimale exigée pour les fabrications ou les besoins annexes de l'industrie pharmaceutique. La production d'eau purifiée se fait en générale à partir de l'eau potable. Selon l'OMS, l'eau potable est définie comme une eau ayant les caractéristiques microbiennes, chimiques et physiques qui répondent aux directives de l'OMS ou aux normes nationales relatives à la qualité de l'eau de boisson (tableau 2). En clair ; une l'eau potable est une eau qui ne contient pas d'agent pathogène ou d'agent chimique à des concentrations pouvant nuire à la santé. Plus couramment, l'eau potable est issue du réseau de distribution public. Cette dernière ne nécessite pas de traitement supplémentaire de l'industrie mais seulement un suivi de la qualité (WHO, 2012).

Tableau 2 Quelques normes mondiales de potabilité des eaux (Anonyme 4).

Variable	Niveau guide	Concentration max admissible	Concentration min requise
Ph	6.5-8.5	9.5	6.0
Conductivité µS/cm	400	1250	
Minéralisation totale résidu sec mg/l		1500	
Nitrates mg/l NO3		50	
Nitrites mg/l NO2		0.1	
Oxygène dissous	5		
Coliformes totaux / 100 ml		0	
Coliformes fécaux / 100 ml		0	
Streptocoques fécaux / 100 ml		0	
Clostridium sulfito-réducteurs /20 ml		2	
Salmonelles / 5000 ml		0	
Staphylocoques pathogènes / 100 ml		0	
Bactériophages fécaux / 100 ml		0	
Protozoaires		0	

I.2.1- Paramètres organoleptiques

Ces paramètres concernent les qualités sensibles de l'eau : la couleur, la saveur, l'odeur, la transparence. Ils n'ont pas de valeur sanitaire directe, une eau de consommation doit être inodore et incolore (Dégréement, 1984).

I.2.2- Paramètres physiques

Ils englobent le potentiel hydrogène (pH), la température, la turbidité, la conductivité, la minéralisation... (Ouahrani, 2012).

I.2.3- Paramètres chimiques

Ils sont la dureté totale (D.T), le titre alcalimétrique (T.A), le titre alcalimétrique complet (T.A.C), les chlorures nitrate et nitrite (NO_3^- et NO_2^-) (Ouahrani, 2012).

I.2.4- Paramètres microbiologiques

Parmi les caractères d'une eau à usage sanitaire, on y trouve les caractères biologiques ou bien bactériologiques. Les microorganismes recherchés dans l'eau de consommation sont les suivants : germes totaux ; coliforme totaux ; coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants) (Edberg et al, 2000 ; Lepeltier, 2005).

I.3- Eaux à usage pharmaceutique

Dans le monde, la production d'eaux à usage pharmaceutique est gérée par trois pharmacopées en l'occurrence ; l'américaine (USP), l'européenne (EP) et la japonaise (JP). Celles-ci présentent quelques différences suffisamment marquées pour engendrer des confusions et des incompatibilités entre continents ; retour sur ces subtilités réglementaires.

I.3.1- Pharmacopée européenne

La pharmacopée est une norme pharmaceutique qui uniformise la composition qualitative et quantitative des médicaments grâce à un recueil de monographies. La conformité d'un produit à une monographie définit un niveau de qualité. Ce recueil comprend, selon l'article R5001 du Code de la Santé Publique :

- La nomenclature des drogues et des médicaments ;
- La liste des dénominations communes des médicaments ;
- Les caractères des médicaments, les moyens d'identification ;
- Les méthodes d'essai et d'analyse à utiliser pour assurer leur contrôle.

La pharmacopée européenne est élaborée par la commission européenne de pharmacopée composée de délégations nationales sous l'égide de la direction européenne de la qualité du médicament (DEQM). La première version de la pharmacopée européenne a vu le jour en 1964 et a permis de standardiser la qualité des produits pharmaceutiques au niveau communautaire (Boudier, 2014).

I.3.2- Eau inscrite dans la pharmacopée européenne

I.3.2.1- Eau purifiée (EP)

L'eau purifiée est « destinée à la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes, sauf exception justifiée et autorisée ». Elle est préparée soit par distillation, soit à l'aide d'un échangeur d'ions, soit par tout autre procédé approprié, à partir de l'eau potable destinée à la consommation humaine et stockée dans des conditions limitant la croissance des micro-organismes et les contaminations (Ph. Eu., 2008).

- **Eau purifiée en vrac (EPv)**

L'eau purifiée en vrac est préparée par distillation, par échange d'ions, par osmose inverse ou par tout autre procédé approprié (deminéralisation et/ou distillation) à partir d'une eau destinée à la consommation humaine comme établi par l'autorité compétente (Lehir et *al*, 2009).

- **Eau purifiée conditionnée en récipients**

Eau purifiée en vrac répartie en récipients et conservée dans des conditions visant à assurer la qualité microbiologique requise. L'eau purifiée conditionnée en récipients est exempte de tout additif (Ph. Eu., 2009).

Elle doit satisfaire aux essais prescrits dans la section EPvrac ainsi qu'aux essais complémentaires suivants :

Acidité ou alcalinité, substances oxydables, NH_4^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , Ca^{2+} Mg^{2+} , résidus secs : $\leq 0.001\%$ (sur 100 ml), contamination microbienne (Lehir et *al*, 2009).

I.3.2.2- Eau hautement purifiée (EHP)

L'eau hautement purifiée est destinée à être utilisée dans la préparation de médicaments lorsqu'une eau de qualité biologique élevée est nécessaire, sauf dans le cas où l'emploi d'eau pour préparations injectables est requis.

Elle est obtenue par des procédés appropriés à partir d'une eau destinée à la consommation humaine. Les procédés de production de cette eau comportent un système d'osmose inverse à

double passage combinée à d'autres techniques appropriées telles l'ultra filtration et l'ionisation (Ph. Eu., 2011).

I.3.2.3- Eau pour préparations injectables (EPPI)

L'eau pour préparations injectables est une eau destinée à la préparation de médicaments administrés par voie parentérale, dont le véhicule est aqueux (EPPI en vrac), à la dissolution ou à la dilution des substances ou préparations pour administration parentérale au moment de l'emploi (eau stérilisée pour préparations injectables). L'EPPI est obtenue à partir de l'eau potable ou purifiée par distillation (GT).

- **Eau pour préparations injectables en vrac**

C'est une eau destinée à la préparation industrielle de médicaments, dont le véhicule est aqueux, administrés par voie parentérale. Elle doit répondre aux exigences de qualité de la Pharmacopée Européenne pour l'eau purifiée en vrac. Elle n'est pas nécessairement stérile car c'est le produit final qui sera stérilisé (GT).

- **Eau stérilisée pour préparations injectables**

L'eau pour préparations injectables stérilisée est destinée à la dissolution de préparation pour administration parentérale au moment de l'emploi. Elle doit répondre aux exigences de qualité de la pharmacopée européenne pour l'eau hautement purifiée, mais en plus doit être stérile (GT ; SME, 2002).

I.3.3 - Contrôle qualité d'eau à usage pharmaceutique

I.3.3.1- Contrôle physico-chimique de l'EP et de l'EPPI

Le contrôle physico chimique consiste à vérifier plusieurs paramètres comme l'aspect de la solution et ses propriétés organoleptiques, conductivité, substances oxydables, nitrate et métaux lourds.

I.3.3.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPPI

La qualité microbiologique de l'EP et l'EPPI est confirmée par la présence ou l'absence des germes aérobies totaux ; *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus*.

- *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une bactérie Gram - du genre *Pseudomonas*. Germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieu humide (nuages, robinets, bouchons), très résistant à de nombreux antiseptiques (ré-

sistance aux antibiotiques), fréquent au milieu hospitalier. Elle peut survivre dans de l'eau distillée ou salée, voire se développer dans certaines solutions antiseptiques ou antibiotiques. Elle fait partie des germes couramment recherchés lorsque l'on procède à une analyse microbiologique d'un échantillon d'eau (Mans, 2008).

- Bacillus

Ce sont des bactéries à Gram +, les cultures âgées peuvent apparaître à Gram -. Les Bacillus sont des bâtonnets droits à extrémité carrée ou arrondie ; de taille variable. Leur GC% est de 32 à 69%. Ils forment des endospores. Le plus souvent mobiles, à flagelles périt riches. Ils sont aérobies, parfois facultatifs, et catalase + (Prescott et al., 2003).

I.3.4- Comparaison des différentes qualités de l'eau

Le tableau 3 résume la différence entre les trois types d'eau à usage pharmaceutique.

Tableau 3 Comparaison entre différents types d'eau à usage pharmaceutique (Documentation SAI-DAL).

Essai	E.P		E.H.P	E.P.P.I	
	Vrac	conditionnée en récipients		Vrac	Stérilisée
Carbone Organique totale	<0.5 mg/l	<0.5 mg/l	<0.5 mg/l	<0.5 mg/l	< 0.5mg/l
Acidité ou alcalinité	Non	Oui	Non	Non	Oui
Conductivité (20°C) µS/cm	4.3	1.1	1.1	1.1	25 (≤ 10ml) 05 (>10 ml)
Substances oxydables	Oui	Oui	Non	Non	Oui
Nitrate : ≤ 0,2 ppm	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Sulfates	Non	Oui	Non	Non	Oui
Aluminium : <10 ppb	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Ammonium : < 0,2 ppm	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Ca et Mg	Non	Oui	Non	Non	Oui
Métaux lourds : ≤ 0,1 ppm	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Contamination particulière	Non	Non	Non	Non	PNV Essai A / Essai B
Stérilité	Non	Non	Non	Non	Oui
Endotoxines bactériennes	<0,25 UI/ml		<0.25 UI/ml	<0,25 UI/ml	<0,25 UI/ml
Germes aérobie viables totaux	100 UFC/ml	10UFC/ml	10UFC/100ml	10 UFC/ml	stérile

I.4- Qualité au sein de l'industrie pharmaceutique

I.4.1- Qualité

La qualité est l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites (Willya, 1996).

I.4.2- Contrôle qualité

Le contrôle qualité est l'ensemble d'opérations qui permettent de vérifier qu'un lot fabriqué répond aux critères auparavant selon des monographies appropriées et que les résultats trouvés sont conformes par rapport aux normes autorisées par la monographie. Le contrôle de la qualité regroupe les activités de contrôle physiques, chimiques et microbiologiques, ainsi que le contrôle du dossier de lot de médicament (Willya, 1996). Le contrôle qualité consiste à déceler les différents types d'erreurs, dépassant les limites jugées raisonnables, de manière à en corriger les causes ou les prévenir. En général, dans tous les laboratoires d'analyse, le contrôle qualité permet de vérifier le fonctionnement des appareils, la manipulation ainsi que la précision et l'exactitude d'une technique, afin d'éviter qu'un résultat faux ne soit rendu, ce qui porte atteinte à la santé des patients et la renommés du laboratoire (Vandeville, 1985).

I.5- Méthodes de traitement de l'eau

Adoucissement, déminéralisation par permutation, osmose inverse, distillation et ultrafiltration sont les techniques les plus utilisées pour le traitement de l'eau.

I.5.1- Adoucissement

Traitement physico-chimique dont l'objectif est de limiter l'entartrage des canalisations et des équipements de distribution de l'eau (dépôt de CaCO_3 , MgCO_3). Il constitue le plus souvent un prétraitement dans la filière des traitements nécessaires à l'obtention d'eau purifiée, d'eau déminéralisée, d'eau pour dilution des solutions concentrées de dialyse rénale. Les ions de Na^+ remplacent les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} . La conductivité n'est donc pas ou peu modifiée par rapport à la conductivité de l'eau Initiale (Groupe eau santé, 2005 ; G.T).

I.5.1.1- Principe

L'eau dure passe sur un lit de résine cationique, préalablement chargée de sodium (Na), qui échange les ions calcium (Ca^{2+}) et magnésium (Mg^{2+}), responsables de la dureté de l'eau, contre des ions sodium (Na^+) (figure 3) (Beutler et *al.*, 2003; Abdelghani, 2016).

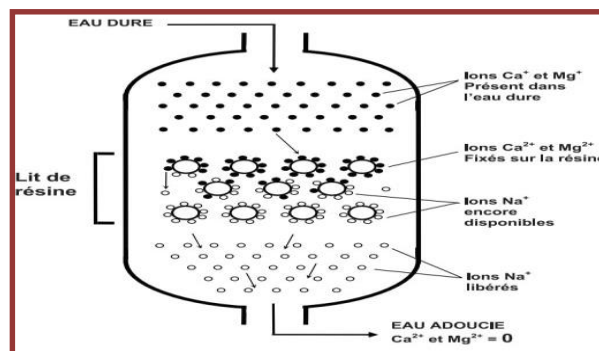


Figure 3 Principe de l'adoucissement de l'eau dure par lit de résine (Anonyme 5).

I.5.1.2- Produits chimiques et appareillages

Le produit chimique utilisé dans le traitement des eaux industrielles, en particulier, pour le mécanisme d'adoucissement est la résine échangeuse d'ions (cations et anions) (Figure 4).

La saturation de la résine impose la régénération de celle-ci qui se déclenche et se déroule automatiquement selon un processus d'échange ionique à rebours :



Elle s'effectue avec des pastilles de NaCl. Les ions Na⁺ se fixent à nouveau sur la résine tandis que les ions Ca²⁺ et Mg²⁺ sont évacués à l'égout sous forme de CaCl₂ et MgCl₂ (Beutler et *al.*, 2003).



Figure 4 Montage d'une station par des adoucissements en Doublex au sein de l'établissement SAIDAL (photo personnelle).

I.5.2- Déminéralisation par permutation

La déminéralisation par permutation est une étape du traitement physico-chimique d'une filière de production d'eau purifiée, d'eau pour dilution des solutions concentrées de dialyse rénale et d'eau pour le fonctionnement de certains appareils hospitaliers (autoclaves) (figure 5) (Abdelghani, 2016).

I.5.2.1- Principe

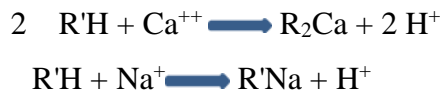
Passage de l'eau à purifiée par des résines échangeuses de cation puis des échangeurs d'anion: les ions de l'eau traitée sont échangés avec des ions H⁺ et OH⁻. Ceux-ci vont se recombiner pour former de nouvelles molécules d'eau (figure 5).

Tous les cations et les anions de l'eau seront donc échangés, et le résultat net est une “disparition” quasi-totale des contaminants ionisés (Abdelghani, 2016).

• **Échangeurs de cations**

Les résines échangeuses de cations sont des polymères présentent des charges électriques négatives grâce à des groupements sulfonâtes ou carboxylates le plus souvent. Contrairement aux résines faibles utilisées pour l'adoucissement, les résines de déminéralisation libèrent un proton en présence d'un cation (Miltner et al., 1992 ; Abdelghani, 2016).

La réaction d'échange de cations se déroule comme suit :



• **Échangeurs d'anions**

Les résines échangeuses d'anion présentent des groupements ammonium quaternaires (Miltner et al., 1992 ; Abdelghani, 2016).

La réaction d'échange d'anions se déroule comme suit :

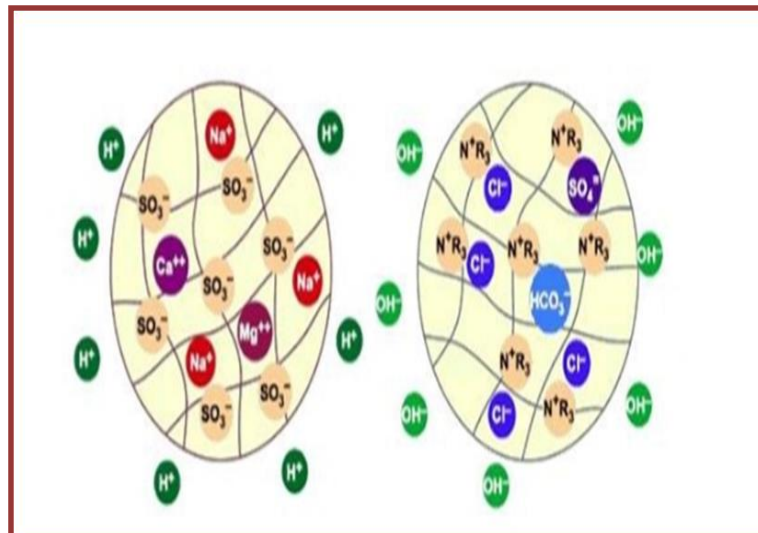
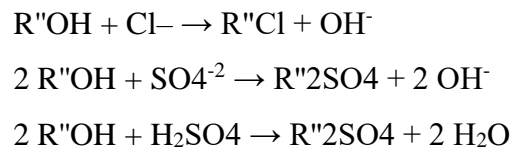


Figure 5 Principe de déminéralisation par permutation par résine échangeuse d’ions à l’échelle microscopique (Anonyme 6).

I.5.2.2- Produits chimiques et appareillages

Lorsque les résines sont saturées, elles sont régénérées sous forme:

- Hydrogène H^+ pour la résine cationique à l'aide d'un acide fort (HCl , H_2SO_4) ;
- Hydroxyde OH^- pour la résine anionique à l'aide d'une base forte ($NaOH$).



Figure 6 Station de déminéralisation par permutation d'eau brute au sein de l'établissement SAIDAL (photo personnelle).

I.5.3- Osmose inverse

Traitements physico-chimiques et antimicrobiens. Il est le plus souvent mis en œuvre après un adoucissement et une plusieurs filtrations et peut constituer le dernier traitement d'une filière de traitement d'eau purifiée, d'eau pour dilution des solutions concentrées d'hémodialyse (Farshad ; Abdelghani, 2016).

I.5.3.1-Principe

Osmose inverse est réalisée par passage de l'eau à traiter sur une membrane semi-perméable qui assure la rétention de la majorité des composés présents dans l'eau (particules, colloïdes, ions, contaminants organiques y compris endotoxines bactériennes et micro-organismes), comme présenté dans la figure 7 (Abdelghani, 2016).

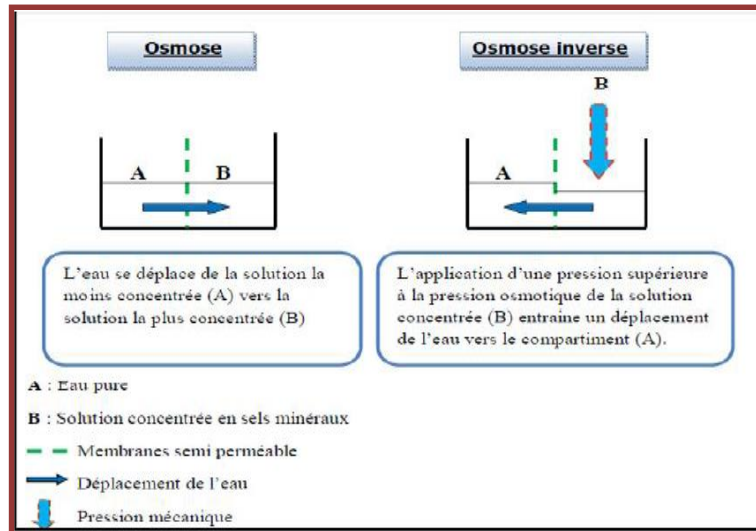


Figure 7 Principe de l'osmose et l'osmose inverse (Anonyme 7).

I.5.3.2- Produits chimiques et appareillages

- **Dosage SMBS :** Le Sodium Meta biSulfate (SMBS) est ensuite dosé dans l'eau chlorée pour neutraliser le chlore libre.
- **Dosage SHMP:** Le dosage de Sodium Hexa Meta Phosphate (SHMP) est prévu pour prendre soin de dureté de l'eau. SHMP chimique permet de garder les ions calcium et magnésium en suspension et ne permettra pas de former l'échelle sur la membrane RO. Ceci est la sécurité supplémentaire fournie à membrane d'osmose inverse
- **Dosage NaOH :** Système de correction de pH automatique est prévu pour atteindre le pH désiré (Abdelghani, 2016).



Figure 8 Station de traitement d'eau industrielle par osmose inverse au sein de l'établissement SAIDAL - Constantine 2- (photo personnelle).

I.5.3.3- Membrane utilisée

Membrane en acétate de cellulose disposée en spirale dans des modules cylindriques (figure 9).

- Fibre creuse en nylon : chaque module contient plusieurs millions de fibres.
- Installation complète comprend généralement plusieurs modules montés soit en parallèle soit en série.
- En amont, l'eau d'alimentation doit subir un prétraitement qui dépend des caractéristiques de cette eau, de la nature de la membrane et de la qualité d'eau à obtenir.
- En aval, l'eau peut subir des traitements complémentaires : dégazage, distillation, passage sur un deuxième osmoseur, passage sur échangeurs d'ion.
- Dans la pratique, le traitement par osmose inverse ne conduit pas à une déminéralisation totale.
- Le taux de rejet moyen $\approx 95\%$ (88% petites M^o , 98% grosse M^o) (Abdelghani, 2016).

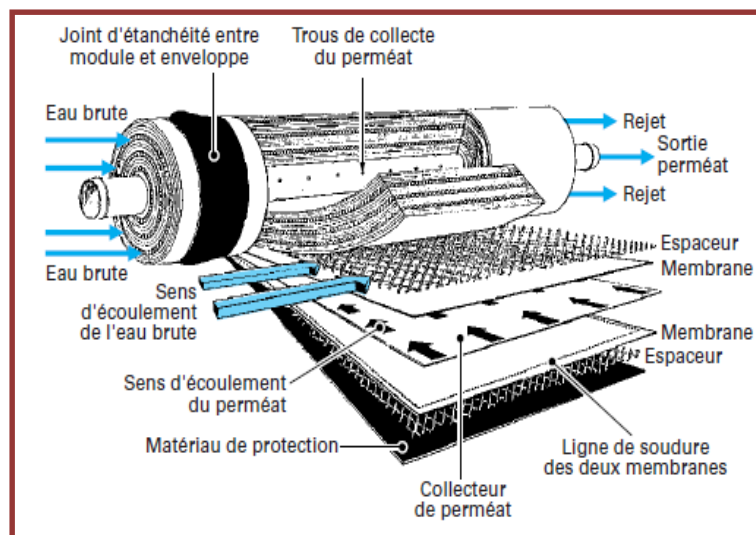


Figure 9 Modules spirales (Anonyme 8).

I.5.4- Distillation

La distillation constitue le plus souvent le traitement thermique ultime d'une filière de production d'eau purifiée ou d'eau pour préparations injectables. L'eau obtenue est d'une très grande pureté physico-chimique et microbiologique, sa conductivité est extrêmement faible (jusqu'à $0.06 \mu S/cm$) et sa corrosivité importante. Si la distillation est pratiquée dans de bonnes conditions, l'eau distillée est exempte d'endotoxines (Miltner et al., 1992).

I.5.4.1- Principe

Le mélange placé dans le ballon est chauffé jusqu'à ébullition. L'eau qu'il contient est alors vaporisée tandis que les composés dissous restent.

La vapeur d'eau traverse ensuite un réfrigérant. A son contact, la vapeur d'eau se refroidit et se liquéfie pour former des gouttelettes qui coulent et forment le distillat (figure 10).

Bilan de distillation

Il reste dans le ballon tous les composés solides initialement dissous dans l'eau (Caire et Clair, 2002).

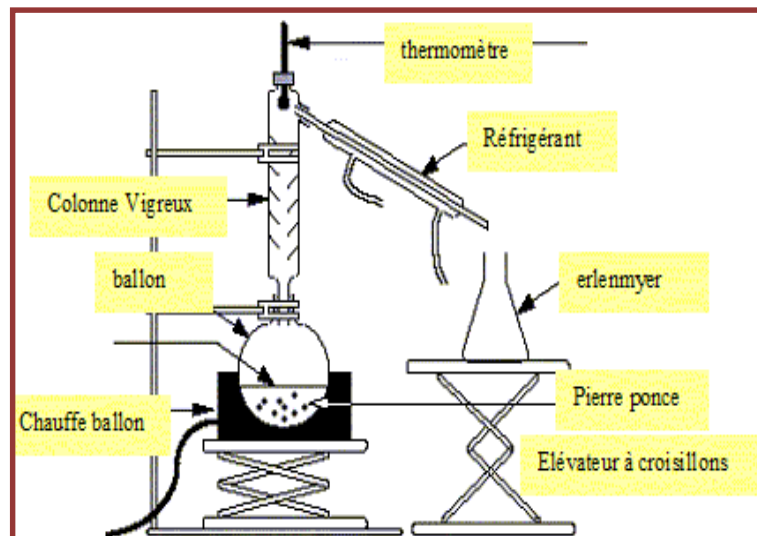


Figure 10 Principe de distillation (Anonyme 9).

I.5.4.2- Produits chimiques et appareillages

Les différents types de distillateurs que l'on peut trouver au niveau industriel sont:

- **Distillation à simple effet**

Ce procédé est le plus simple à mettre en œuvre. L'eau est chauffée jusqu'à son point d'ébullition puis refroidie par un condenseur. L'eau condensée est stockée puis distribuée. Cette technique est peu utilisée aujourd'hui contrairement à la distillation à multiples effets en raison de son faible rendement énergétique (Caire et Clair, 2002; Dureuil, 2013).

- **Distillation à multiples effets**

La distillation à multiples effets est le procédé le plus couramment utilisé pour produire de l'EPPI.

Des colonnes avec des condenseurs de chaleur sont disposées en série. L'échangeur de la première colonne est chauffée par de la vapeur industrielle à haute pression jusqu'à ébullition de

la colonne d'eau. La vapeur est transférée sur la deuxième colonne où l'on maintient une pression plus faible, la vapeur issue de la première colonne se condense et transfère son énergie vers l'eau à traiter dans la seconde colonne. Cette eau se vaporise et est dirigée vers la colonne suivante.

Toutes les colonnes produisent de l'EPPI mais avec des valeurs décroissantes de températures d'ébullition et de pressions. Des valeurs croissantes de vide sont appliquées en tête des colonnes (figure 11) (Caire et Clair, 2002).



Figure 11 Station de traitement d'eau brute par distillation au sein de l'établissement SAIDAL (photo personnelle).

- **Thermo compression**

La technique de distillation par thermo compression est un procédé alternatif pour produire de l'EPPI. Elle est utilisée en routine dans le dessalement de l'eau de mer. Dans ce procédé, la colonne à distillation est couplée à un compresseur pour condenser la vapeur pure produite. Cette technologie est aujourd'hui plébiscitée pour son rendement énergétique meilleur que la distillation à multiples effets (Denis, 2003; Ph. Eu., 2011).

I.5.5- Ultrafiltration

Technique de filtration sous pression permettant de séparer les molécules en fonction de leur taille à l'aide de membranes de perméabilité très sélective.

- N'éliminent pas les sels minéraux.
- Éliminent les pyrogènes, les particules non dissoutes, les virus.
- Nécessite une pré-filtration pour éviter le colmatage rapide (figure 13) (Abdelghani, 2016).

I.5.5.1- Principe

Le principe de ce procédé est de fractionner, par passage à travers d'une membrane poreuse sous l'action d'un gradient de pression, les constituants d'un liquide en fonction de leurs caractéristiques de taille et/ou de charge à partir d'un liquide donné, on obtient deux fractions :

- Le retenta retenu dans le circuit d'alimentation / recyclage
- Le per méat ou filtrat qui est le liquide ayant traversé la membrane (figure 12) (Abdelghani, 2016).

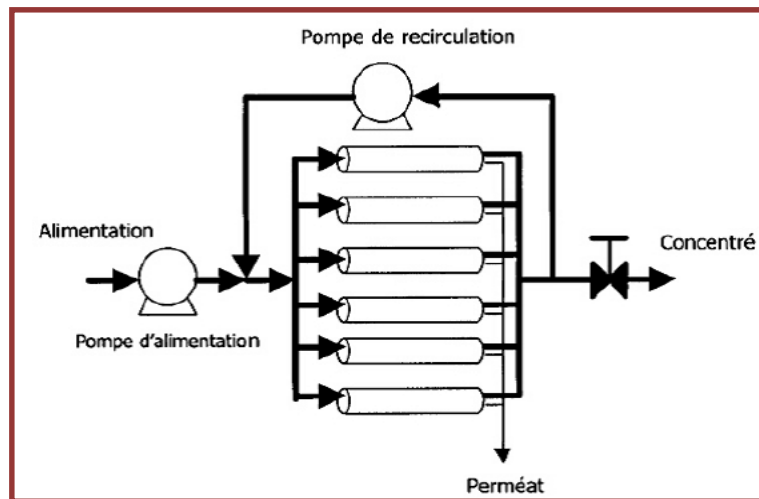


Figure 12 Principe d'une chaîne d'ultrafiltration (Anonyme 10).

I.5.5.2- Produits chimiques et appareillages



Figure 13 Appareil d'ultrafiltration au sein d'une station d'eau purifiée de SAIDAL (photo personnelle).

Matériel et méthodes

II- Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau de l'entreprise SAIDAL, Constantine. Cette entreprise est un groupe pharmaceutique national fondé en 1982 aux plusieurs sites dans l'Algérie (dar el Beida, Médéa, Cherchell, Annaba, Batna, El Harrach et Constantine); durant la période de 28/03/2021 au 27/04/2021, dont l'objectif principal est de contrôler et surveiller la conformité physico-chimique et microbiologique de l'eau purifiée (EP) et de l'eau pour préparations injectables (EPPI) selon les normes en vigueur.

II.1- Présentation générale de l'entreprise SAIDAL-Constantine-

Le groupe SAIDAL-Constantine-, situé dans la zone industrielle 24 Février 1956 (Figure 14), regroupe les activités de fabrication et de commercialisation des produits pharmaceutiques à usage humain.

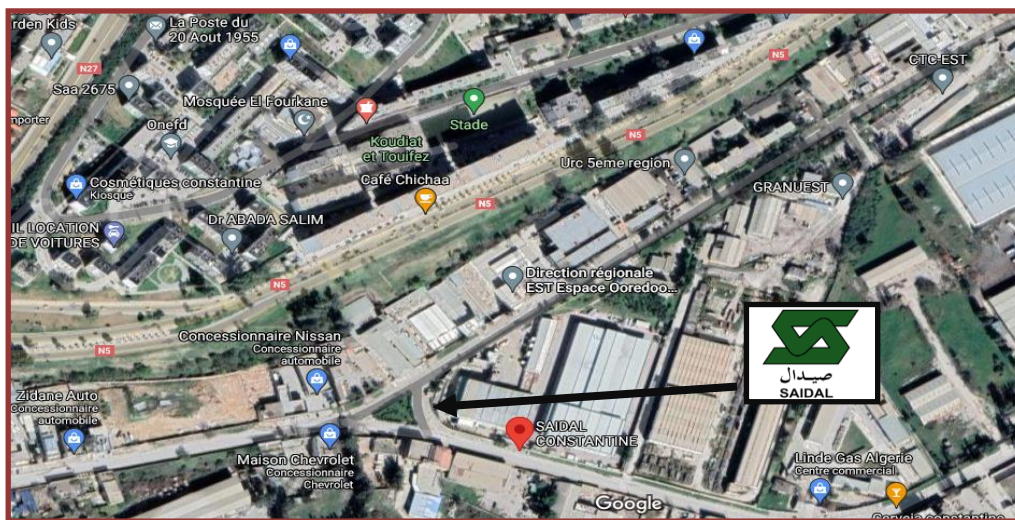


Figure 14 Carte géographique représentative de l'industrie pharmaceutique SAIDAL Constantine (Google Maps 2021).

Le groupe SAIDAL - Constantine- contient un laboratoire de contrôle qualité et deux usines de production (documentation SAIDAL) :

- **Usine SAIDAL Constantine 01** spécialisée à la fabrication des formes liquides et à la production d'insuline humaine à trois types d'action ; rapide, lente et intermédiaire.
- **Usine SAIDAL Constantine 02** se compose de deux parties distinctes ; fabrication des formes galéniques (suppositoires, ampoule, gélule et comprimés) et production des solutés massifs en utilisant une technologie très récente (poches et flacons).

II.2- Chaîne de traitement des eaux

Chaque type d'eau à usage pharmaceutique a une chaîne de production spécifique.

II.2.1- Chaîne de traitement de l'eau purifiée (EP)

Trois (3) phases importantes ; prétraitement, traitement et distribution ont bien été distinguées dans la station de traitement de l'EP. Chaque phase est constituée de plusieurs étapes différentes (filtration à sable, filtration à charbon actif, stockage, changeurs des ions et distribution) pour l'obtention d'une EP nettement utilisant dans l'industrie. Cette chaîne de traitement est présentée dans la figure 15.

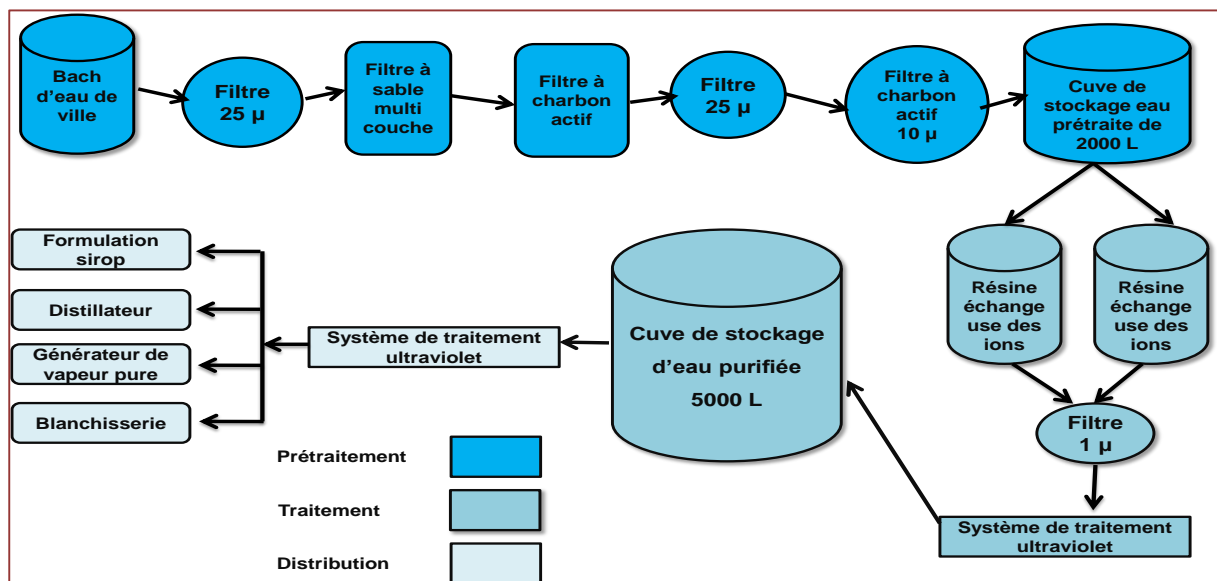


Figure 15 Chaîne de traitement de l'EP au sein de l'établissement SAIDAL.

II.2.2- Chaîne de traitement de l'eau pour préparations injectables (EPPI)

La distillation à multiples effets est le procédé le plus couramment utilisé pour produire l'EPPI (Figure 16).

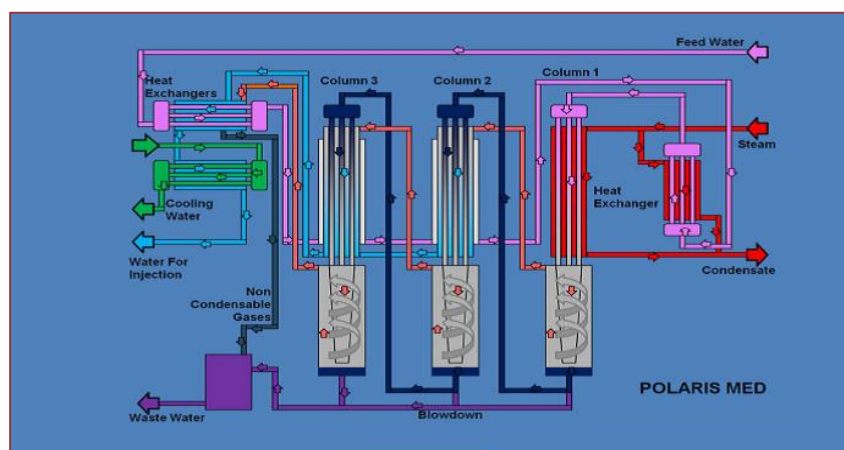


Figure 16 Distillation multi-effets (documentation SAIDAL).

- **Premier effet**

Cet effet est alimenté par une source de chaleur externe (vapeur industrielle), où l'eau purifiée est préchauffée dans le premier des deux échangeurs finaux par la vapeur produite. Toute l'eau d'alimentation atteint la température maximale (environ 140°C) dans le premier effet.

- **Deuxième, troisième et quatrième effets**

La vapeur produite et l'eau qui n'a pas été évaporée, passent dans la colonne suivante où la température et la pression sont plus faibles.

La vapeur pure est condensée produisant du distillat après avoir vaporisé à nouveau une portion de l'eau d'alimentation. Ce processus est répété dans les autres effets. La vapeur pure produite dans la dernière colonne est condensée par l'eau d'alimentation dans les deux derniers échangeurs.

En baissant la pression à chaque colonne on arrive donc à faire fonctionner toutes les colonnes alors qu'on en chauffe une seule.

La vapeur pure produite sera condensée et transmise vers la boucle de distribution d'eau pour préparations injectables (EPPI).

Boucle de L'EPPI

La boucle de distribution de l'EPPI (Figure 17) est composée d'une cuve de stockage de 5000 L, une sous boucle principale avec une température de $80 \pm 5^\circ\text{C}$; une sous boucle à température d'EPPI $20 \pm 3^\circ\text{C}$ et une autre sous boucle d'EPPI à 55°C .

- Chaque boucle fournit l'EPPI vers des points d'utilisation bien déterminés.

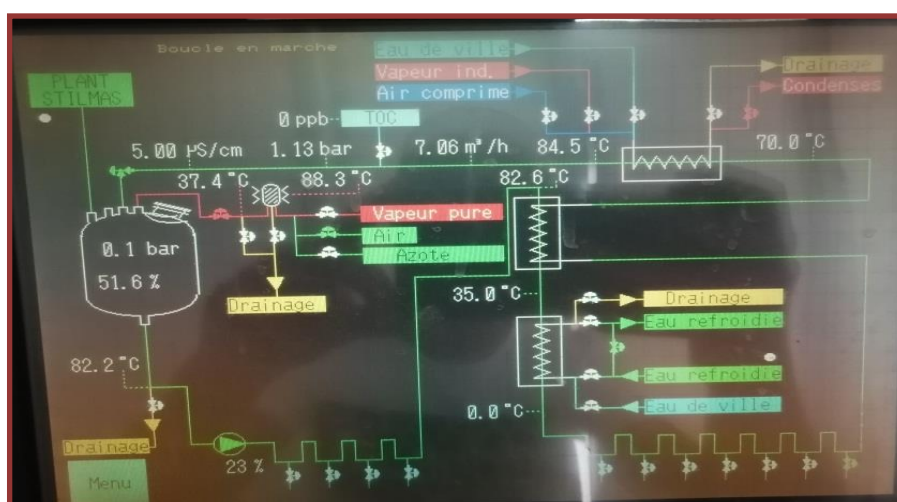


Figure 17 Schéma d'infraction de contrôle de la boucle EPPI (2021).

II.3- Prélèvement de l'eau à usage pharmaceutique

Les prélèvements ont été effectués la matinée avant 10 h pour permettre le lancement du contrôle dans la journée.

II.3.1- Mode de prélèvement

Le mode de prélèvement des eaux a été réalisé comme suit :

En cas d'un prélèvement microbiologique, des gants stériles ont été utilisés et l'embout de la canalisation a préalablement été désinfecté. Puis, le site de prélèvement a été nettoyé à l'aide d'un désinfectant (Klercide) et les flacons ont également été flambés si l'environnement et le matériel de la canalisation le permettent. Le maximum de précaution est toujours pris pour éviter la contamination du point de prélèvement ; le robinet est ouvert et laissé couler librement pendant environ une minute avant le prélèvement, ensuite, un volume de 1 litre pour l'EP et 200 ml pour l'EPPI a été prélevé. Enfin, le flacon de prélèvement a été bouché et stocké à 2-8°C, si l'analyse n'est pas réalisée immédiatement.

II.3.2- Étiquetage des flacons de prélèvement

Étiqueter convenablement les différents flacons de prélèvement (Figure 18) en mentionnant :

- Date de prélèvement ;
- Type d'échantillon ;
- Point de prélèvement ;
- Destination : contrôle microbiologique ou physico-chimique ;
- Visa du prélèvement.



Figure 18 Flacon de prélèvement (1 L).

II.4- Contrôle qualité d'eau à usage pharmaceutique

La production des eaux pharmaceutiques, EP et EPPI, nécessite des contrôles physico-chimiques et microbiologiques.

II.4.1- Analyses physico-chimiques de l'EP et de l'EPPI

Les paramètres physico-chimiques de l'EP et de l'EPPI contrôlés par le laboratoire de l'entreprise SAIDAL ont été réalisés selon les directives établies par la pharmacopée européenne (2019):

- Caractères organoleptiques (aspect et couleur) ;
- Conductivité ;

- Substances oxydables (seulement pour l'eau purifiée) ;
- Nitrate.

Remarque

Un examen visuel doit être effectué pour détecter toute présence de particules, puis une agitation successive, 3 fois, du flacon de l'échantillon a également été réalisée avant l'analyse.

II.4.1.1- Caractères organoleptiques

L'eau à analyser doit être liquide, limpide et incolore (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).

II.4.1.2- Conductivité

La conductivité électrique (CE) est la mesure de la capacité d'une eau à conduire un courant électrique. Cette méthode sert à déterminer la conductivité et la salinité des eaux (Québec, 2015).

• Principe

La mesure de la CE est basée sur la circulation des ions entre deux électrodes plongées dans la solution. La valeur de la CE est proportionnelle à la concentration en ions. Ainsi, une valeur très élevée de la CE est le signe d'une contamination en éléments minéraux.

La CE a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de type (METTLER TOLDO) (Figure 19). Elle est généralement mesurée en micro siemens par cm ($\mu\text{S}/\text{cm}$) (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).



Figure 19 Conductimètre (2021).

- **Mode opératoire**

La cellule de mesure de la conductivité premièrement a été rincée par l'EP ou l'EEPI ; puis plongée dans l'échantillon de l'EP ou de l'EPPI jusqu'à la stabilisation de conductimètre sur une valeur de la température et de la conductivité (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).

L'EP et L'EPPI satisfaites aux exigences si la CE mesurée à la température enregistrée n'est pas supérieure aux valeurs indiquées dans le tableau 4 :

Tableau 4 Températures (°C) correspondent aux conductivités ($\mu\text{S}/\text{cm}$) de l'EP et de l'EPPI préconisées par la pharmacopée européenne (2019).

EP				EPPI					
T°C	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	T°C	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	T°C	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	T°C	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	T°C	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
0	2.4	50	7.1	0	0.6	35	1.5	70	2.5
10	3.6	60	8.1	5	0.8	40	1.7	75	2.7
20	4.3	70	9.1	10	0.9	45	1.8	80	2.7
25	5.1	80	9.7	15	1.0	50	1.9	85	2.7
30	5.4	90	9.7	20	1.1	55	2.1	90	2.7
40	6.5	100	10.2	25	1.3	60	2.2	95	2.9
/	/	/	/	30	1.4	65	2.4	100	3.1

II.4.1.3- Substances oxydables (méthode colorimétrique)

L'analyse de la présence des substances oxydables est vraiment très importante au cours de la production de l'EP. Parce que ce test pendant longtemps était le seul essai qui permet de prouver l'absence ou la présence très limitée de résidus organiques dans l'eau à usage pharmaceutique.

Mode opératoire

100 mL d'EP ont été mélangés avec 10 mL d'acide sulfurique dilué 0.01M (H_2SO_4) et 0.1 mL de permanganate de potassium 0.02 M (KMnO_4). Le mélange est chauffé à ébullition pendant 5 min (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).

La solution reste légèrement rose ce qui confirme l'absence des substances oxydables.

II.4.1.4- Nitrate (test semi-quantitatif)

L'ion nitrate est la forme la plus stable de l'azote, il est formé par l'association d'un atome d'azote avec trois atomes d'oxygène (NO_3^-) (Ward, 2005).

- **Mode opératoire**

Deux solutions doivent préparées ;

Solution essai

Dans un tube à essai placé dans l'eau glacée, 5 mL d'EP et 0.4 mL d'une solution de chlorure de potassium R à 10% dans l'EP sont ajoutés, puis goutte à goutte 0.1 mL de la solution de diphénylamineR (0.1% dans H₂SO₄ à 97%) a été ajouté. Après agitation, 5 mL d'acide sulfurique exempt d'azote R ont été additionnés.

Puis les solutions ont été placées au bain-marie à 50°C. Après 15 min d'incubation, une coloration bleue est apparue. Cette coloration ne doit pas être plus intense que celle du témoin.

Solution témoin

Elle contient 4.5 mL d'eau distillée, 0.5 mL de solution à 0.2 ppm de nitrate, 0.4 mL d'une solution de chlorure de potassium R à 10%, 0.1 mL de solution de diphénylamine et 5 mL d'acide sulfurique exempt d'azote R (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).

Norme : ≤ 0.2 ppm.

II.4.2- Analyses microbiologiques de l'EP et de l'EPPI

L'analyse microbiologique de l'EP et de l'EPPI est faite périodiquement et dans plusieurs points d'échantillonnage afin de contrôler tout risque de contamination de la tuyauterie de l'usine de production. L'analyse a pour but de dénombrer les germes aérobies totaux (DGAT) par la technique de filtration sur membrane dont la taille n'excède pas 0.45 µm en utilisant le milieu gélosé R2A.

II.4.2.1- Contrôle de l'air

Afin d'assurer les conditions aseptiques durant l'analyse microbiologique de l'EP et de l'EPPI, un contrôle microbiologique de l'environnement de la hotte à flux laminaire a été effectué en utilisant le milieu gélosé TSA (Trypton Soy Agar) où la totalité des bactéries, des levures et des moisissures peuvent se développer grâce à sa composition particulière.

Le contrôle de l'environnement durant l'analyse a été effectué en plaçant une boîte de gélose (TSA) sous hotte (Ph. Eu., 2019; MOMB, 2020).

II.4.2.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPP par filtration sur membrane

La technique de filtration sur membrane a particulièrement été utilisée pour le dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT).

Ces GAT représentent la flore microbienne globale capable de pousser en présence d'oxygène à une température de 25-30°C sur un milieu riche. Ce sont principalement des bactéries, mais

certains champignons sont également capables de se développer sur ce milieu riche. En règle générale, plus l'eau contient de matière organique, plus il y aura de GAT.

- **Principe de la filtration sur membrane**

Un volume d'eau, EP et EPPI, bien déterminé à analyser sur une membrane poreuse $0.45\mu\text{m}$ et les bactéries présentes sont retenus à la surface de la membrane. Puis, le filtre est transféré dans un milieu de culture R2A dont les éléments nutritifs pénètrent à travers les pores pour nourrir les bactéries retenues qui multiplient en colonies après incubation. Ce contrôle se fera aussitôt le prélèvement effectué.

En attente des résultats, les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur entre 2 et 8°C (Ph. Eu., 2019 ; MOPC, 2020).



Figure 20 Technique de filtration.

A : Membrane de filtration, B : Rampe de filtration.

- **Mode opératoire**

L'analyse microbiologique de l'EP et de l'EPPI en utilisant la technique du filtre (figure 21) est réalisée selon les étapes suivantes:

Le poste de travail sous flux laminaire a été préparé ; puis le dispositif (passoirs) de filtration, le filtre de $0.45\mu\text{m}$ et l'entonnoir ont aseptiquement été placés; consécutivement. Ensuite et d'une façon aseptique, les entonnoirs avec 1 L d'EP et 200 ml d'EPPI ont été remplis. Après la filtration des échantillons, les filtres ont aseptiquement été récupérés puis déposés sur la gélose R2A. Pour vérifier les conditions opératoires, un test négatif en filtrant 10 mL d'EP et 200 mL d'EPPI de solution tampon a été effectué puis placé sur le même milieu de culture, gélose R2A.

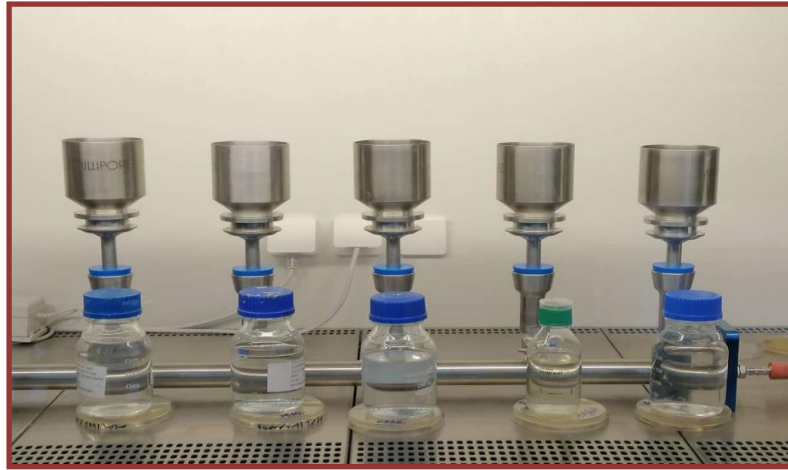


Figure 21 Méthode de filtration d'un échantillon d'eau à l'aide de la rampe de filtration au niveau du laboratoire de SAIDAL (2021).

Les boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé R2A et le milieu gélosé TSA et le filtre ont été incubés à une température de 30- 35°C pendant 5 jours. puis les boîtes ont été vérifiées après 24 et 48 heures.

La lecture est faite à l'aide d'un compteur de colonies. Si le nombre de colonies est supérieur à 300, des dilutions doivent être effectuées dans la solution tamponnée peptone stérile.

N.B : Le nombre de colonies sur la membrane permet de calculer la concentration bactérienne (N) en Unité Formant Colonies (UFC) par mL selon la formule suivante :

$$N = \frac{\text{Nombre d'UFC sur la membrane filtrante}}{\text{Volume de produit filtré(en mL)}}$$

- ✓ **Norme :** ≤ 100 UFC /mL pour l'EP.
- ✓ **Norme :** ≤ 10 UFC /mL pour l'EPPI.

Résultats et discussion

III- Résultats et discussion

Dans cette partie, nous présentons les résultats et la discussion des analyses faites sur l'eau purifiée (EP) et l'eau pour préparations injectables (EPPI) qui alimentent la production journalière de l'usine SAIDAL pour évaluer leur qualité ; physicochimique et microbiologique.

III.1- Analyses physicochimiques de l'EP et de l'EPPI

Plusieurs analyses physico- chimiques de l'EP et de l'EPPI ont été réalisées.

III.1.1- Analyse de l'EP

Les caractères organoleptiques, la conductivité, les substances oxydables et le nitrate de l'EP sont résumés dans le tableau ci-dessous (tableau 5) :

Tableau 5 Analyses physicochimiques de l'EP pendant 5 jours.

Dates	Vignes	Caractères organoleptiques	Conductivité (µS/cm)		Substances oxydables	Nitrate
			Valeurs	Moyennes		
11/04/2021	VHE 04	C	0.4 à 20.0°C	0.4 à 21.25°C	C	C
	VHE 05	C	0.4 à 22.5°C		C	C
13/04/2021	VHE 06	C	0.4 à 24.6°C	0.3 à 23.08 °C	C	C
	VHE 07	C	0.3 à 25.0°C		C	C
	VHE 08	C	0.3 à 22.0°C		C	C
	VHE 09	C	0.3 à 21.8°C		C	C
	VHE 42	C	0.4 à 22.7°C		C	C
14/04/2021	VHE 10	C	0.4 à 25.0°C	0.5 à 24.33 °C	C	C
	VHE 11	C	0.3 à 23.0°C		C	C
	VHE 42	C	0.8 à 25.0°C		C	C
15/04/2021	VHE 42	C	0.9 à 21.8°C	0.9 à 21.80 °C	C	C
18/04/2021	VHE 04	C	0.5 à 21.0°C	0.5 à 21.0 °C	C	C
	VHE 05	C	0.4 à 21.0°C		C	C
	VHE 42	C	0.7 à 21.0°C		C	C
Normes		- Limpide - Incolore	≤ 4.3 à 20-25°C		solution légèrement rose	≤ 0.2 ppm

VHE : Vanne manuelle d'échantillonnage ; **C** : conforme; **ppm** : particule par million.

III.1.1.1- Caractères organoleptiques de l'EP

L'eau analysée (EP) est incolore et limpide. Ceci indique l'absence d'ions métalliques qui sont les facteurs principaux du changement de la couleur et elle ne contient pas de particules ou de troubles en vue. En fait, ces caractères sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne (Ph. Eu., 2019).

III.1.1.2- Conductivité de l'EP

La conductivité électrique (CE) de l'EP a été mesurée par l'indicateur et les moyennes des valeurs données comprirent entre 0.3 et 0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à des températures entre 20 °C et 25 °C (Figure 22). D'après les normes utilisées par SAIDAL, où la $\text{CE} \leq 4.3\mu\text{S}/\text{cm}$, l'EP à analyser a des propriétés électriques conformes aux normes.

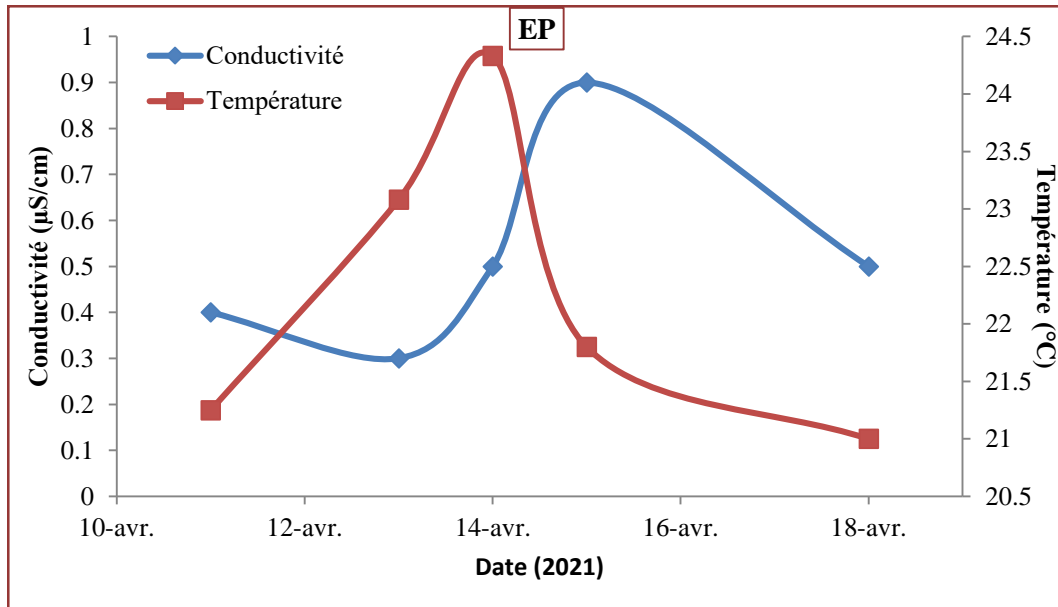


Figure 22 Evaluation quotidienne de la conductivité de l'EP pendant 5 jours (2021).

Le graphe ci-dessus (Figure 22) exprime la relation proportionnelle entre la T° et la CE. Où, une variation dans les valeurs de ces deux paramètres, T° et CE, d'un jour à un autre est clairement enregistrée. Cette variation peut être expliquée par la différence de la composition chimique de l'eau analysée.

III.1.1.3- Substances oxydables de l'EP

La visibilité de la couleur rose a été observée durant toute la période de ce test (figure 23), indiquant l'absence des substances oxydables dans l'EP analysée. Ce paramètre, substances oxydables, est toujours conforme selon les normes employées par le laboratoire de SAIDAL (Ph. Eu., 2019). Cela peut pareillement signifier la bonne fonction de la station de production de l'EP.

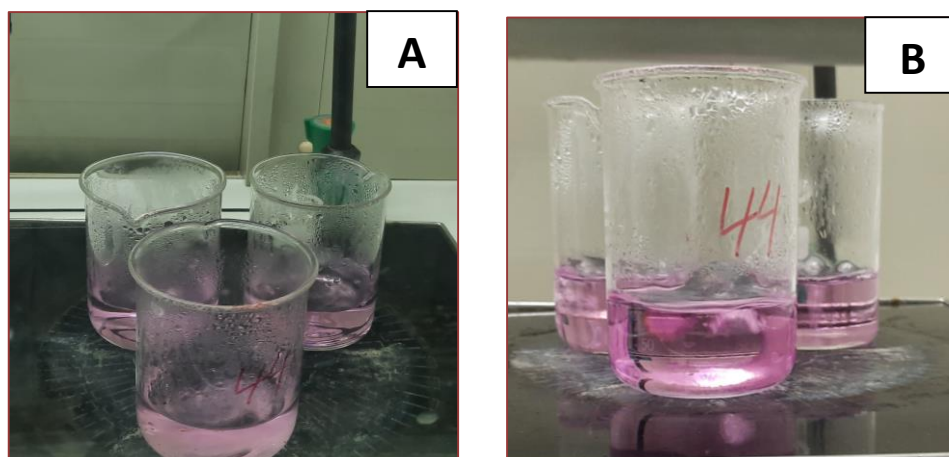


Figure 23 Test des substances oxydables; **A:** Avant le chauffage; **B:** Après le chauffage.

III.1.1.4- Nitrate de l'EP

L'EP apparaît incolore pendant les 5 jours du test, alors que le témoin avait une couleur bleue (figure 24). Ce résultat indique l'absence de nitrate dans l'échantillon à tester. D'après les normes employées par le laboratoire de SAIDAL, ce qui concerne ce test, l'EP est conforme.

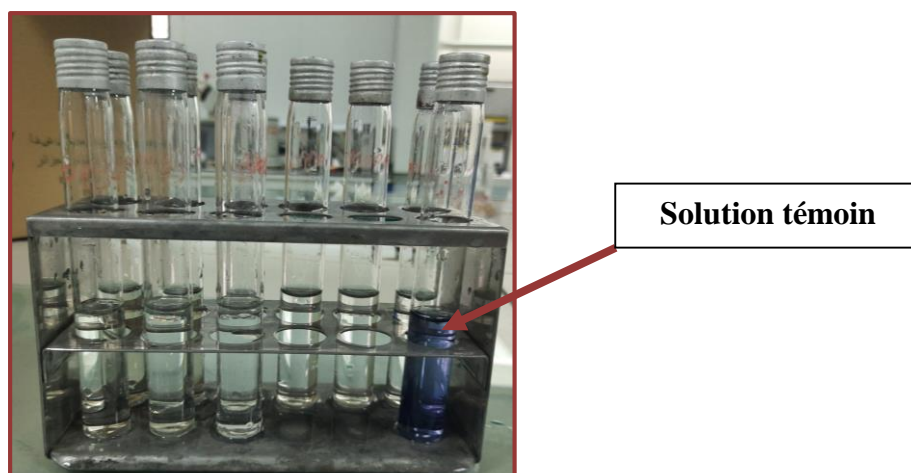


Figure 24 Test de nitrate de l'EP.

Nos résultats des analyses physicochimiques de l'EP (Tableau 5) indiquent que notre échantillon est conforme selon les normes de la Ph. Eu. (2019).

Ces analyses de l'EP peuvent, également, comparer à ceux de Saadouni (2019). En effet, une petite distinction dans la valeur de la conductivité et dans le test de nitrate a été signalée ; où dans l'étude actuelle, la conductivité est comprise entre 0.2 et 0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ et l'eau est incolore ; en revanche, l'EP dans le travail de Saadouni (2019) a révélé une conductivité entre 0.2 et 0.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ avec une couleur bleue moins intense que la solution témoin. Ces résultats sont toujours

conformes selon la Ph. Eu. (2019). L'ensemble de nos résultats peut aussi être comparable à ce de Sehla (2018) qui a révélé une conductivité de l'EP égale à 1.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, supérieure à la nôtre.

A titre de comparaison, les résultats de la présente étude sont similaires à ceux de Ghelmi (2016) avec une différence légère dans la valeur de la conductivité qui est comprise entre 0.8 et 2.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20-25°C, alors que dans le travail actuel ; elle est entre 0.3 et 0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à 20-25°C, mais toujours sont conformes. Cette différence peut être expliquée par la distinction de la méthode de traitement utilisée dans chaque étude ; où dans le présent travail la méthode d'échange des ions a été développée ; en revanche, l'osmose inverse a été appliquée par Ghelmi (2016). De ce fait, un autre paramètre, métaux lourds, a également été analysé ; car la conductivité électrique était supérieure à 1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

On peut conclure que tous les résultats précédents de l'EP sont conformes selon les mêmes normes.

III.1.2- Analyse de l'EPPI

Les caractères organoleptiques, la conductivité et le nitrate de l'EPPI analysée sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 Analyses physicochimiques de l'EPPI pendant 5 jours.

Dates	Vignes	Caractères organoleptiques	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)		Nitrate
			Valeurs	Moyennes	
12/04/2021	VHE 24	C	0.7 à 21.1 °C	0.5 à 21.24 °C	C
	VHE 26	C	0.5 à 21.4 °C		C
	VHE 06	C	0.6 à 21.1 °C		C
	VHE 40	C	0.5 à 21.6 °C		C
	VHE 41	C	0.5 à 20.8 °C		C
	VHE 42	C	0.5 à 21.5 °C		C
	VHE 13	C	0.5 à 21.2 °C		C
13/04/2021	VHE01	C	0.4 à 20.4°C	0.4 à 20.60 °C	C
	VHE02	C	0.4 à 20.8°C		C
14/04/2021	VHE 03	C	0.4 à 22.0°C	0.5 à 21.26 °C	C
	VHE 04	C	0.3 à 20.8°C		C
	VHE 05	C	0.8 à 21.0°C		C
18/04/2021	VHE 26	C	0.6 à 21.0°C	0.6 à 21.50 °C	C
	VHE 01	C	0.5 à 21.0°C		C
	VHE 02	C	0.6 à 24.0°C		C
	VHE 16	C	0.8 à 20.0°C		C
19/04/2021	VHE 06	C	0.6 à 22.3°C	0.6 à 22.30 °C	C
Normes		- Limpide - Incolore	≤ 1.1 à 20-25°C		≤ 0.2 ppm
VHE : Vanne manuelle d'échantillonnage ; C : conforme ; ppm : particule par million.					

III.1.2.1- Caractères organoleptiques de l'EPPI

L'EPPI analysée est incolore et limpide parce qu'elle ne contient pas de particules ou de troubles en vue. Donc, l'EPPI est conforme.

III.1.2.2- Conductivité de l'EPPI

La CE de l'EPPI a été mesurée par l'indicateur et les moyennes des valeurs données sont entre 0.4 et 0.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à des températures variant de 20 à 24 °C (Figure 25). D'après les normes utilisées par SAIDAL ($\text{CE} \leq 1.1 \mu\text{S}/\text{cm}$), l'EPPI est conforme.

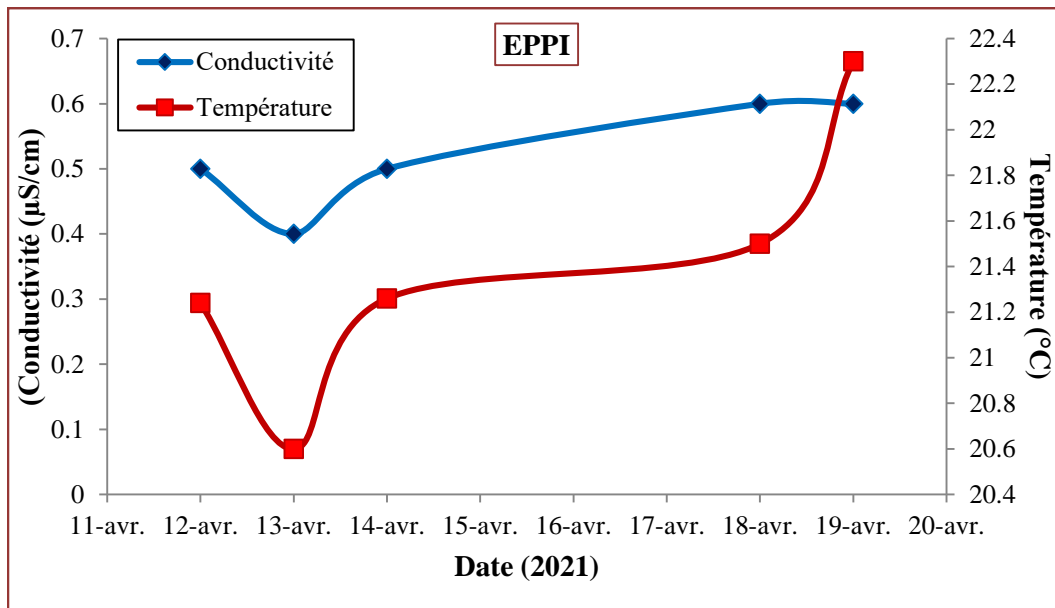


Figure 25 Evaluation quotidienne de la conductivité de l'EPPI pendant 5 jours.

Le graphe ci-dessus (Figure 25) montre la corrélation proportionnelle entre la T° et la CE ; plus la T° est élevée, plus la CE est également élevée. En effet, une différence de ces deux paramètres, d'un jour à un autre, est évidemment marquée. Cette différence est due à la composition chimique de l'eau testée.

III.1.2.3- Nitrate de l'EPPI

L'EPPI, après le test de nitrate, est incolore ; en revanche, le témoin a une couleur bleue (Figure 26). Le même résultat a été trouvé durant les 5 jours du test, indiquant l'absence de nitrate dans notre échantillon à tester. Selon les normes adoptées par SAIDAL, l'EPPI analysée est conforme.



Figure 26 Test de nitrate de l'EPPI.

Tous les résultats des analyses physicochimiques de l'EPPI dans la présente étude sont conformes aux normes de la Ph. Eu. (2019).

A titre de comparaison, ces résultats sont similaires à ceux rapportés par l'entreprise HUPP (2020). En effet, les caractères organoleptiques (limpide et incolore), la CE ($0.4 \mu\text{s/cm}$) et le test de nitrate (incolore) sont les mêmes que dans ce travail. En revanche, le résultat de Ghelmi (2016), ce qui concerne la conductivité, est largement supérieur ($> 1.1 \mu\text{s/cm}$) à ce obtenu dans l'étude actuelle et même à ce exigé par les normes ($\leq 1.1 \mu\text{s/cm}$). Cette valeur très élevée de la conductivité dans l'étude de Ghelmi (2016) a été expliquée par la haute salinité de l'eau analysée.

III.2- Analyses microbiologiques de l'EP et de l'EPPI

Les analyses physicochimiques de l'EP et de l'EPPI précédentes sont suivies par un autre contrôle de qualité ; analyses microbiologiques.

III.2.1- Contrôle microbiologique de l'air

Avant la réalisation des analyses microbiologiques de nos échantillons, EP et EPPI, l'air de la hotte a été contrôlé pour assurer les meilleures conditions de notre travail; aseptiques et favorables.

Le résultat de l'analyse microbiologique de l'air passif est présenté dans la figure 27.



Figure 27 Contrôle microbiologique de l'air passif.

Le résultat obtenu révèle une absence totale des colonies microbiennes sur la boîte TSA, utilisée pour le contrôle microbiologique de l'environnement de la hotte, indiquant la propreté et l'asepsie de la zone analytique sous flux laminaire.

III.2.2- Contrôle microbiologique de l'EP et de l'EPPI

- Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) sur membrane de filtration

Le nombre de colonies sur la membrane permet de calculer la concentration bactérienne (N) en Unité Formant Colonies (UFC) par mL selon la formule suivante :

$$N = \frac{\text{Nombre d'UFC sur la membrane filtrante}}{\text{Volume de produit filtré (en mL)}}$$

III.2.2.1- Contrôle microbiologique de l'EP

L'aspect des boîtes de Pétrie après 5 jours d'incubation à 30-35°C pour la recherche des GAT dans l'EP est présenté dans la figure 28 :

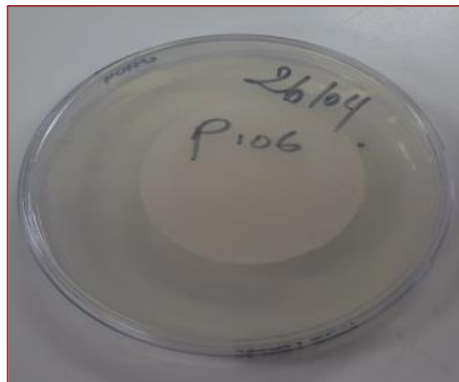


Figure 28 Membrane filtrante de l'EP après incubation.

Le contrôle de la pureté microbiologique de l'eau analysée, a révélé une absence de toute trace microbienne (figure 28). De ce fait, cette eau (EP) est conforme à la norme de la Ph. Eu. (2019).

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'EP aux différents points de prélèvement pendant les 5 jours du test sont aussi présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 Résultats des analyses microbiologiques d'EP pendant 5 jours.

Dates	Vignes	Germes recherchés	Norme	Résultats	Moyennes	Interprétations
11/04/2021	VHE 04	germes aérobies totaux	≤ 100 UFC/mL	0	0.5	C
	VHE 05			1		C
13/04/2021	VHE 06			0	1	C
	VHE 07			2		C
	VHE 08			2		C
	VHE 09			1		C
	VHE 42			0		C
14/04/2021	VHE 10			2	1.6	C
	VHE 11			1		C
	VHE 42			2		C
15/04/2021	VHE 42			5	5	C
18/04/2021	VHE 04			0	3.3	C
	VHE 05			8		C
	VHE 42			2		C
Test négatif						Absence

VHE: Vanne manuelle d'échantillonnage; **C:** conforme ; **UFC/mL:** unité formant colonies par millilitre

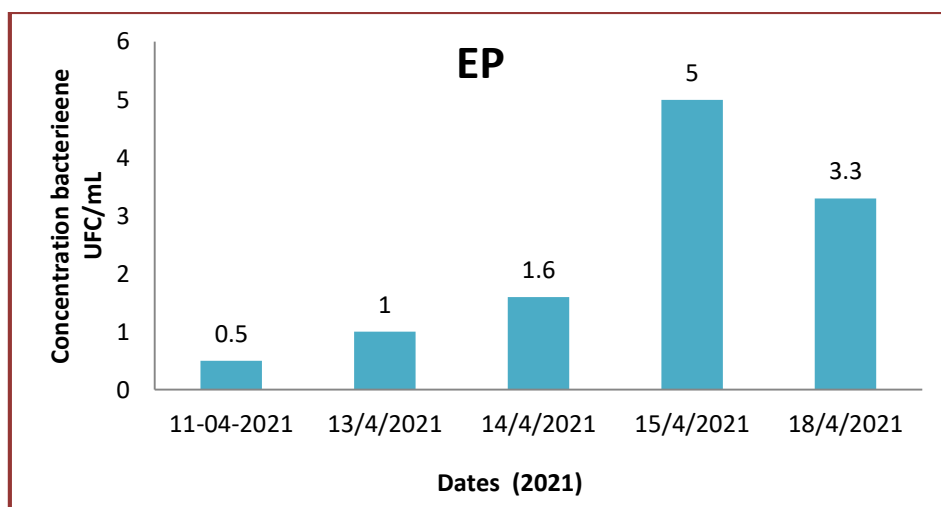


Figure 29 Evaluation quotidienne du DGAT de l'EP pendant 5 jours.

Il apparaît par les résultats obtenues que les moyennes des valeurs de dénombrement pendant les 5 jours de prélèvement soient variées, où la moyenne la plus élevée des germes est enregistrée au quatrième jour (15/04/2021) avec 5 UFC/mL, alors que la plus faible est indiquée dans le premier jour (11/04/2021) avec 0.5 UFC/mL (Figure 29).

Pour le témoin (contrôle négatif), les germes sont absents carrément au cours de toute la période d'incubation. D'après les normes ($N \leq 100$ UFC/mL) utilisées par le laboratoire de SAIDAL (Ph. Eu., 2019), l'EP analysée est conforme à la norme. Cela signifie que l'EP est pure et ne contient pas de contamination. Donc, elle est de bonne qualité qui confirme la bonne fonction de l'installation de purification de l'EP.

Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par Beldi (2016) qui a indiqué des valeurs de dénombrement compressaient entre 0 et 9 UFC /mL. En revanche, les résultats de Boukhelif (2016) sur le dénombrement des germes totaux ont révélé des valeurs stables égales à 1 UFC/mL. Mais, les résultats de deux travaux (Beldi, 2016 ; Boukhelif, 2016) sur l'EP restent toujours conformes aux normes de la Ph. Eu.

III.2.2.2- Contrôle microbiologique de l'EPPI

L'aspect des boîtes de Pétrie après 5 jours d'incubation à 30-35°C pour la recherche des GAT dans l'EPPI est montré dans la figure 30 :

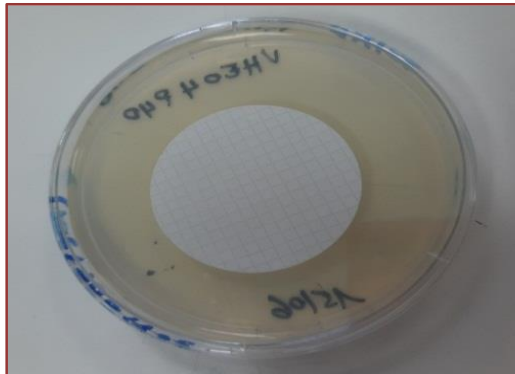


Figure 30 Membrane filtrante de l'EPPI après incubation.

Le contrôle de la pureté microbiologique de l'eau analysée, EPPI, a révélé une absence de toute trace microbienne. En effet, cette EPPI testée est conforme à la norme de la pharmacopée européenne (2019).

Les résultats du contrôle microbiologique de l'EPPI réalisé aux différents points de prélèvement pendant les 5 jours d'analyse sont également présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 Analyses microbiologiques d'EPPI pendant 5 jours.

Dates	Vignes	Germes recherchés	Norme	Résultats	Interprétations
12/04/2021	VHE 24	germes aérobies totaux	≤ 10 UFC /mL	0	C
	VHE 26			0	C
	VHE 06			0	C
	VHE 40			0	C
	VHE 41			0	C
	VHE 42			0	C
	VHE 13			0	C
13/04/2021	VHE 01			0	C
	VHE 02			0	C
14/04/2021	VHE 03			0	C
	VHE 04			0	C
	VHE 05			0	C
18/04/2021	VHE 26			0	C
	VHE 01			0	C
	VHE 02			0	C
	VHE 16			0	C
19/04/2021	VHE 06			0	C
Test négatif				absence	C
VHE: Vanne manuelle d'échantillonnage; C: conforme; UFC/mL: unité formant colonies par millilitre					

Les résultats obtenus indiquent que les valeurs de dénombrement pendant les 5 jours de prélèvement sont similaires, avec 00 UFC/mL. D'après les normes utilisées par le laboratoire de SAIDAL ($N \leq 10$ UFC/mL), l'EPPI est conforme à la norme. Cela signifie que l'EPPI est pure et ne contient pas de contamination. En effet, elle est de bonne qualité hygiénique.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par l'entreprise HUPP (2020) qui a révélé un nombre de 0.266 UFC/mL dans l'EPPI, chiffre très loin du seuil d'alerte exigé par la Ph. Eu. (10 UFC/mL) (Ph. Eu., 2019).

Pour ce contrôle de qualité, analyses microbiologiques, on peut conclure que l'absence de toutes formes de contamination microbienne dans les deux types d'eau à usage pharmaceutique, l'EP et l'EPPI, confirme l'efficacité du procédé de désinfection effectué qui assure une haute pureté microbiologique des eaux.

Conclusion et perspectives

IV- Conclusion et perspectives

Au cours de notre travail, un système d'installation des matériaux d'une technologie très moderne a été réalisé pour le traitement des eaux, pour assurer une meilleure qualité physicochimique et microbiologique de l'eau purifiée (EP) et de l'eau pour préparations injectables (EPPI), durant une période de 30 jours à l'usine de SAIDAL -Constantine.

En effet, ce manuscrit nous a permis de connaître les techniques de traitement de l'eau à usage pharmaceutique et la qualification de la boucle de distribution de l'EP et de l'EPPI. Où, on a pu aborder la qualité d'un point de vue pratique et opérationnel avec la qualification d'équipements et de station, tout en considérant les exigences réglementaires propres à l'industrie pharmaceutique. Par ailleurs, les analyses physicochimiques et microbiologiques ont également été réalisées.

Les résultats des analyses sur les prélèvements journaliers de deux types d'eau sont conformes aux normes décrites par la pharmacopée européenne (2019). Ceux-ci confirment d'un côté l'efficacité de traitement et d'un autre coté la bonne qualité des produits. Cette expérience enrichissante et conforte dans l'entreprise va contribuer à notre insertion dans le domaine professionnel, en exerçant notre futur métier dans l'industrie pharmaceutique.

Cependant, ces résultats restent insuffisants pour estimer correctement la qualité de l'eau, pour cela, quelques perspectives peuvent être envisagées :

- Mise en évidence les analyses endotoxines car elles sont importantes pour contrôler les substances toxiques dans l'eau à usage pharmaceutique;
- Contrôler d'autres paramètres physico-chimiques comme le carbone organique totale, le pH et la turbidité.

Références bibliographiques

V- Références bibliographiques

Abdelghani M. (2016). Séminaire Veolia Water Journée Pharma Alger ; Présentation N°1.5 mai.L'eau matière première pour l'industrie pharmaceutique.

Baouia K. (2018). Traitement des eaux Mémoire de master en génie civil et hydraulique, Université Kasdi Merbah, Ouargla.

Beutler M., Kropf A., Steiner S. (2003). Production et stockage d'eau purifiée a l'officine: Recommandations de la Commission des médicaments des pharmaciens suisses AKA. *Journal suisse de pharmacie*.vol. 14, p. 506.

Boudier Y. (2014). Qualification d'un système de production et de distribution d'eau pour préparations injectables (Thèse de doctorat. Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Bourgeois C., Mesclé J. (1996). Microbiologie alimentaire: aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Edition Lavoisier .P : 5- 6.

Caire M., Clair P. (2002). Production et distribution d'eau à usage pharmaceutique. Application à la Pharmacie centrale des armées. *Médecine et armées*. Vol. 30, no 4, p. 391-396.

Cole G. (1990). Pharmaceutical production facilities : design and applications (Chichester, West Sussex ; Ellis Horwood Ltd).

Danis P. (2003). Dessalement de l'eau de mer. Ed. Techniques de l'ingénieur.

Dégréement. (1952). Mémento technique de l'eau, 1 édit.

Dégréement. (1984). Mémento technique de l'eau, 10ème éd., t. e. doc, 3-38.

Densité et masse volumique. (2001).

Dubreuil A. (2013). Dossier "Eau pharmaceutique une matière première clé". Industrie Pharma. 07/08.73.

Edberg S., Rice E., Karlin R., Allen M. (2000). Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, n°88: 106-116.

Entreprise pharmaceutique ; Huppe pharma ; analyse physico-chimique et microbiologique de l'eau pour préparation injectable, 2020.

Farshad S. Cours 2ème année master en pharmacie introduction à la formulation pharmaceutique, école de pharmacie Genève Lausanne EGLP.

Fiche de spécification de l'eau pour préparation injectable code : FC.UCO.DT.008.

Fiche de spécification de l'eau pour préparation injectable(2020) codes : FC.UCO.DT.00.

Fiche de spécification de l'eau purifiée (2020), code : FC.UCO.DT.002.

Fiche de spécification de l'eau purifiée, code : FC.UCO.DT.006.

Ghelmi A. (2016/2017). Master en Sciences et Technique, les techniques de traitement de l'eau à usage pharmaceutique et qualification la boucle de distribution de l'eau pure et l'eau pour préparation injectable.

Google Maps (2021).

Groupe Eau Santé. (2005). L'eau dans les établissements de santé «Qualité de l'eau dans les établissements de santé », pp36.

Guide technique. L'eau dans les établissements de la santé ; p 35.

Jean L., Gérard M., Denis M., Laurent A. (2005). Mémento technique de l'eau Dixième édition Tome 1 Dégrèvement suez. ISBN 2-7430-0717-6.

Lehir A., Chameil J., Brossard D. (2009). Pharmacie galénique ; Bonne pratique de fabrication de médicament. 9^{ème} Ed. Paris ; Masson. 51-52 p. ISBN : 978_2_294_61204_6.

Lepeltier S. (2005). Un bon état écologique des eaux.

Mars A. (2004). *Les panels: outils incontournables des études de marché dans l'industrie pharmaceutique*. Heures de France.

Mans S. Dr S. (2008). Canouet, « Pseudomonas aeruginosa : Une histoire d'eau », Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales du Sud-Ouest, 27 mars 2008 (consulté le 5 novembre 2013).

Miltner Richard J., Shukairy Hiba M., Summers R. (1992). Scott. Disinfection by-product formation and control by ozonation and biotreatment. *Journal-AmericanWater Works Association*. Vol. 84, no 11, p. 53-62.

Mode opératoire .UCO.PC.015. VERSION G, 2020.

Mode opératoire.UCO.MC.014. VERSION J.

Mode opératoire.UCO.MC.015. VERSION I.

Mode opératoire.UCO.PC.014. VERSION H, 2020.

(OIE, 1998). Synthèse bibliographique réalisée par l'Office international de l'eau

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2004). Directives qualité pour l'eau de boisson –3^{ème} édition, vol 1.GENEVE.

Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2016). Economie d'eau et d'énergie Activer.

Ouahrani H. (2012). Suivre de la stabilité des paramètres physico-chimique etbactériologiques de l'eau, université de bejaia.

Ouali S. (2008). Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux, 2^{ème} édit.

Paul L. (2010). Méthodes d'analyse et d'appréciation des cours d'eau. Analyses physico-chimiques, nutriments. L'environnement pratique n°1005. Office fédéral de l'environnement, Berne.44 p.

Pharmacopée européenne 9^{ème} Edition (2019) : Réf 04/2017 :0169.

- Pharmacopée européenne 9^{ème} Edition (2019) : Réf 04/2017 :0169.
- Pharmacopée européenne 9^{ème} Edition (2019) : 9,8 Réf 04/2018 :0008.
- Pharmacopée européenne. (2002).
- Pharmacopée Européenne. (2008). p. 1907.
- Pharmacopée européenne. (2009). Monographie "Eau hautement purifiée" (01/2009 :1927).
- Pharmacopée européenne. (2011). Monographie "Eau pour préparation injectables" (01/2009:0169). Vol. 2, pp. 2059 - 2062.
- Pharmacopée européenne. (2011). Monographie "Eau pour préparations injectables" (01/2009:0169). Vol. 2, pp. 2059 - 2062.
- Quality of water for pharmaceutical use, CPMP/QWP/158/01, mai 2002.
- Québec. (2015). Centre d'expertise en analyse environnementale.
- Rodriguez G. (2004). Etude de la congélation comme technique de traitement des eaux: applications spécifiques, Thèse de doctorat. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- Saadouni I., Chibouti K. (2020). Du diplôme de technicien supérieur en étude de la qualité physico-chimique et microbiologique d'un échantillon d'eau industrielle.
- Sahla S. (2018). Master en Sciences et Technique, Traitement d'eaux pharmaceutique.
- SARDI K. (2014).Thèse en Chimie, Option ; Contrôle de qualité. Soutenu le 25 juin, Contrôle de la qualité de l'eau de la station d'hémodialyse De l'EHU 1 er Novembre.
- SME. (2002). Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, 2002.
- Vandeville. (1985). « Gestion et contrôle de la qualité ». Edition Fnor, PP.410- 435.
- Ward MH: Workgroup Report: Drinking-Water Nitrate and Health—Recent Findings an Research Needs. Environ Health Perspect. 2005, 113(11): 1607–1614.
- WHO. (2012). Eau à usage pharmaceutique. Bonne pratique de fabrication Annexe 2, Technical Report Series 970.
- Willya S. (1996). « Le manager, la qualité et les normes ISO », Edition Masson, Paris, PP.148.
- Documentation SAIDAL, 2020.

Anonyme 1: <https://forum.mikroskopia.com/topic/17956-plus-petit-que-petit-les-femtoorganismes-planctoniques>

Anonyme 2: https://www.assistancescolaire.com/eleve/3e/physique-chimie/reviser-une-notion/les-etats-de-la-matiere-et-les-changements-d-etat-3_pc_01/print?print=1&printSheet=1

Anonyme 3: http://www.google.com/url?q=https://www.suezwaterhandbook.fr/eau-et_generalites/l-eau-ses-proprietes/physique-de-l-eau/proprietes-physiques&sa=U&ved=2ahUKEwjAm9Wat_HwAhUNshQKHRR0Dq8Qr4kDMAZ6BAGOEAI&usg=AOvVaw2yYgMjItyX60woy9V7iLe

Anonyme 4: <http://www.lenntech.fr/applications/potable/normes/normes-oms-eaupotable.htm>.

Anonyme 5: http://www.google.com/url?q=https://elyotherm.fr/principe-fonctionnement-adoucisseur&sa=U&ved=2ahUKEwjg8ufUhf_wAhXjDGMBHdtSAd4Qr4kDMAF6BAGREAI&usg=AOvVaw1ZN0_3aroi8ubonedohY5Y.

Anonyme 6: http://www.google.com/url?q=https://docplayer.fr/47514427-Les-eaux-a-usage-pharmaceutique-d-r-chikh.html&sa=U&ved=2ahUKEwjL_LnhivfwAhWS3OAKHSsLANw4FBCviQMwCXoECAoQAg&usg=AOvVaw2mvdS4t7utRF6qKeC3uOUq.

Anonyme 7: <https://rainbowpurification.com/fr/quest-ce-que-losmose-inverse>

Anonyme 8: <http://hmf.enseeiht.fr/travaux/bei/beiere/book/export/html/1280>

Anonyme 9: <http://www.chimix.com/an8/cap8/ag80.htm>

Anonyme 10: http://www.google.com/url?q=https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-dune-chaine-dultrafiltration-dapres-Bon05_fig3_237621195&sa=U&ved=2ahUKEwi3jsHg_fwAhWsC2MBHaEqA7cQr4kDMAF6BAGTEAI&usg=AOvVaw0YyVRaJTNOroM7FCdjEKnr

Anonyme 11: http://www.google.com/url?q=https://www.laboandco.com/rampe-3-postes-combisart-inox-avec-entonnoir-100ml-sartorius-SAR-16824CS&sa=U&ved=2ahUKEwj_cKOaXxAhUEZMAKHSRdBR8Qr4kDMAN6BAGREAI&usg=AOvVaw3mjPIryK8fvQMjQz81AWis

Résumés

ملخص

يلعب الماء دوراً رئيسياً في الإنتاج الدوائي، حيث يلبي متطلبات الجودة العالية، سواء كمكون للمنتج أو أثناء احتياجات الإنتاج. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو متابعة مراحل معالجة المياه للاستخدام الصيدلاني. تنقية المياه (EP) والمياه للحقن (EPPI)؛ على مستوى شركة صيدال - قسنطينة - والتحكم في صفاتهم الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية. بادئ ذي بدء، تمت معالجة هذه المياه بطرق مختلفة؛ التليين، التنقية عن طريق التقلاب، التناضح العكسي، التقطير والترشيح الفائق. ثم أجريت التحاليل الفيزيائية والكيميائية (الخصائص الحسية، الناقلية، المواد المؤكسدة، النترات والمعادن الثقيلة). أظهرت نتائج هذا التحكم مؤهلات نظام الإنتاج وامتثال EP و EPPI؛ مع التوصيل الكهربائي المحترم بين 0.3 S/cm و 0.9 S/cm لـ EP وبين 0.4 S/cm و 0.6 S/cm لـ EPPI، الغياب التام للمواد المؤكسدة في EP وغياب النترات في نوعي الماء، EP و EPPI. أعقب هذه التحليلات الفيزيائية والكيميائية الأخيرة تحليل ميكروبيولوجي. في الواقع، تكشف النتائج التي تم الحصول عليها عن الغياب التام للجراثيم الهوائية (*Bacillus*، *Pseudomonas aeruginosa*)، لذا فإن نتائجنا تتوافق مع المعايير المنصوص عليها في دستور الأدوية. في النهاية، يمكن أن نستنتج أن نتائجنا الملائمة لمراقبة جودة نوعين من الماء، EP و EPPI، تؤكد كفاءة نظام إنتاج المياه للاستخدام الصيدلاني على مستوى مجموعة صيدال قسنطينة.

الكلمات المفتاحية: المياه النقية (EP)، الماء للحقن (EPPI)، معالجة المياه للاستخدام الصيدلاني، التحليلات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية، دستور الأدوية الأوروبي.

Abstract

Water plays a vital role in pharmaceutical production, where it meets high quality requirements, whether as a component of a product or during production needs. The main objective of this study is to follow the different treatment phases of water for pharmaceutical use; purified water (EP) and water for injections (EPPI); at the level of the SAIDAL company -Constantine-, and to control their physicochemical and microbiological qualities. First of all, these waters were treated by various methods; softening, demineralization by permutation, reverse osmosis, distillation, and ultra-filtration. Then, physicochemical analyses (organoleptic characteristics, conductivity, oxidizable substances, and nitrate) were carried out. The results of this control showed the qualification of the production system and the compliance of EP and EPPI; with respectful electrical conductivity between 0.3 and 0.9 $\mu\text{S} / \text{cm}$ for EP, and between 0.4 and 0.6 $\mu\text{S} / \text{cm}$ for EPPI, additionally to a total absence of both oxidizable substances in EP, and nitrate in the two types of water, EP and EPPI. These last physicochemical analyses were followed by a microbiological analysis. Indeed, the obtained results revealed the total absence of total aerobic germs (*Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus*). So, our findings comply with the standards prescribed by the pharmacopoeia. At the end, it can be concluded that our adequate quality control's results of the two types of water, EP and EPPI, confirm the efficiency of the water production system for pharmaceutical use at the level of the SAIDAL group - Constantine.

Keywords: Purified water (EP), Water for injections (EPPI), water treatment for pharmaceutical use, physicochemical and microbiological analyses, European pharmacopoeia.

Annexes

Annexe I: Tableau représentant la composition et la préparation des solutions pour les analyses physico-chimiques de l'EP et l'EPPI.

Test	Solutions	Préparations
Substance oxydable	Acide sulfurique dilué	-60mL d'eau purifiée, - 5,5 ml d'acide sulfurique (H ₂ SO ₄) de 95 à 97 (m/m). - Laisser refroidir et compléter à 100mL avec le même solvant.
	Permanganate de potassium 0,02M	-Dissoudre 3.2 g de permanganate de potassium dans l'eau purifiée et compléter à 1000 ml avec le même solvant. - Chauffer la solution au bain-marie pendant 1h, laisser refroidir et filtrer sur un filtre de verre fritté
Nitrate	Chlorure de potassium 10%	Dissoudre 100g de chlorure de potassium dans 1000 ml de l'eau purifiée.
	Diphénylamine	Dissoudre 1g dans 1000 ml d'acide sulfurique de 95% à 97% (m/m) de H ₂ SO ₄ (0.1% dans H₂SO₄ 95% à 97%)
	Acide sulfurique exempt d'azote	-5 ml d'eau, - Ajoute avec précaution 45 mL acide sulfurique - Laisser refroidir à 40°C et ajouter 8 mg de diphénylbenzidine R.
	Eau exempte de nitrate	-A 100 ml d'eau purifiée ajouté quelque milligramme de permanganate de potassium et d'hydroxyde de baryum distiller en utilisant un appareil pour la distillation - Éliminé les premiers 10 ml et recueillir les 50 mL suivants, préparée exactement - Cette préparation d'eau exempte de nitrate peut être remplacée par l'eau milli-Q fraîchement prélevée.
	Solution 2ppm de nitrate (NO ₃)	- Dissoudre dans de l'eau purifiée une quantité de nitrate de potassium correspondante à 0,815 g de KNO ₃ et compléter à 500 ml avec même solvant dilué au 1/10 avec de l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi puis diluer - Cette solution au 1/10 avec l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi et rediluer la solution obtenue au 1/5 avec l'eau purifiée immédiatement avant l'emploi.

Annexe II: Tableau représentant les milieux de culture utilisés dans le contrôle microbiologique de l'EP et l'EPPI.

Milieu de culture	Composition	Quantité
<p>R2A (Reasoner's 2A Agar) pH 7.2 ± 0.2 à 25 °C</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrait de levure 0.5 g - Peptone protéase..... 0.5 g - Hydrolysate de caséine (bovine) 0.5 g - Glucose 0.5 g - Amidon..... 0.5 g - Pyruvate de sodium..... 0.3 g - Phosphate di potassique..... 0.3 g - Sulfate de magnésium anhydre..... 0.024 g - agar 15.0 g - Eau distillée 1000mL 	
<p>TSA (Trypton Soy Agar) pH 7.3 ± 0.2 à 25 °C</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Peptone pancréatique de caséine..... 15.0g - Peptone papaique de soja..... 5.0g -Chlorure de sodium 5.0 g -Agar bactériologique..... 15.0 g - Eau distillée 	1000 mL

Université Frères Mentouri Constantine 1 Département : Biologie Appliquée	Présenté par: Henni Nassiba et Benzine Bornia Yasmine Date de soutenance 13/ 07/ 2021
Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master professionnel en Bio-industrie Analyse et Contrôle (BAC)	
Thème : Traitement et contrôle qualité de deux types d'eau à usage pharmaceutique : eau purifiée et eau pour préparations injectables.	
<p>Résumé</p> <p>L'eau joue un rôle primordial dans la production pharmaceutique, où elle répond à de hautes exigences de qualité que ce soit en tant que composant de produit ou lors des besoins de la production. L'objectif principal de cette étude consiste à suivre les étapes de traitement des eaux à usage pharmaceutique ; l'eau purifiée (EP) et l'eau pour préparations injectables (EPPI) ; au niveau de l'entreprise SAIDAL - Constantine- et à contrôler leurs qualités physico-chimiques et microbiologiques. Tout d'abord, ces eaux étaient traitées par différentes méthodes; adoucissement, déminéralisation par permutation, osmose inverse, distillation et ultrafiltration. Ensuite, des analyses physicochimiques (caractères organoleptiques, conductivité, substances oxydables, nitrate et métaux lourds) ont été effectuées. Les résultats de ce contrôle ont montré d'un côté la qualification du système de production et d'un autre côté la conformité d'EP et d'EPPI ; avec une conductivité électrique respectueuse entre 0.3 et 0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour l'EP et entre 0.4 et 0.6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ pour l'EPPI, une absence totale des substances oxydables dans l'EP et une absence aussi de nitrate dans les deux types d'eau, l'EP et l'EPPI. Ces dernières analyses physicochimiques ont été suivies par une analyse microbiologique. En effet, les résultats obtenus révèlent l'absence totale des germes aérobies totaux (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Bacillus</i>); donc nos résultats sont conformes aux normes prescrites par la pharmacopée. A la fin, on peut conclure que nos résultats adéquats de contrôle qualité de deux types d'eau, l'EP et l'EPPI, confirment l'efficacité du système de production de l'eau à usage pharmaceutique au niveau du groupe SAIDAL - Constantine.</p> <p>Mots clés : Eau purifiée (EP), Eau pour préparations injectables (EPPI), traitement d'eau à usage pharmaceutique, analyses physicochimiques et microbiologiques, pharmacopée européenne.</p>	
Laboratoire d'accueil: Entreprise SAIDAL- Constantine-	
Jury d'évaluation: Président: Dr. KARA ALI Mounira M.C.A Université Frères Mentouri Constantine 1. Rapporteur : Dr. CHERFIA Radia M.C.B Université Frères Mentouri Constantine 1. Examinatrice : Dr. SAKHRI Afaf M.C.B Université Mostefa Ben Boulaïd Batna 2. Responsable de stage : Mr. BAHOUH.M.Lamine Entreprise SAIDAL - Constantine	
Année universitaire : 2020-2021	